

DINAMICA Y CALIDAD DE LAS FRACCIONES ORGANICAS DE UN HAPLUSTOL DURANTE LA ROTACION TRIGO-LEGUMINOSAS

JA GALANTINI¹, RA ROSELL², G BRUNETTI³, N SENES¹

¹ Comisión de Investigaciones Científicas (CIC, Pcia. Bs.As.), Dpto. Agronomía – UNS, 8000 Bahía Blanca, Argentina. E-mail: jgalanti@criba.edu.ar

² CONICET – UNS, Dpto. Agronomía UNS, 8000 Bahía Blanca, Argentina.

³ DIBCA, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Bari, Via Amendola 165/A, 70126 Bari, Italia.

Recibido 17 de septiembre de 2001, aceptado 23 de marzo de 2002

SOIL ORGANIC MATTER DYNAMICS AND QUALITY DURING A WHEAT-CLOVER ROTATION IN A SEMIARID HAPLUSTOLL

Several studies have reported modifications in soil chemical and physical parameters under rotations with legume inclusion. This modification had the potential of improving soil fertility and grain production. The objective of this research was to evaluate changes in the distribution and quality of soil organic fractions during a 3 year wheat (*Triticum aestivum*) – 3 year red clover (*Trifolium pratense*) rotation. Soil samples at 0 - 0.15 m depth were taken in five of the six year rotation. Organic fractions, physically (particulate organic carbon, COP) and chemically (humic and fulvic acids, AH and AF, respectively) separated were determined and chemically and spectrometrically characterised. The quantity and distribution of the organic fractions were different along the rotation. The more labile soil organic matter fractions, COP and AF, were higher during legume phase and diminished during wheat phase. This decrease of labile relative to recalcitrant organic matter resulted in significative differences in COP:total organic carbon (COT) and AH:AF ratios between wheat and clover phase. The COP:COT ratios were lower than 19 under wheat and higher than 21 under clover. The AH presented higher nitrogen and lower sulphur contents during clover phase, while the opposite was observed during wheat phase. This compositional changes were clearly reflected by the N:S and C:S atomic ratios. Total acidity in AH was slightly increased during the legume phase, as a consequence of the significative increase in –OH phenolic groups. Infrared and fluorescence spectra of the AH from soils under wheat and clover were similar among them, probably due to the short rotation period that produce only minor changes in the AH molecular structure. Legume inclusion in the rotation increased labile organic matter fractions and modified the composition of the recalcitrant ones. Both changes would improve soil fertility and grain production.

Key words: Crop rotation, Wheat-clover, Soil organic matter, Semiarid region

INTRODUCCION

Numerosos trabajos desarrollados sobre el sistema de rotación trigo – leguminosa han puesto en evidencia la influencia positiva de las pasturas con leguminosas sobre la producción del trigo siguiente, así como sobre las propiedades químicas y físicas del suelo (Wortmann *et al.* 2000). Sin embargo, el período requerido para observar estos resultados, el costo de implantación y la relación entre la superficie agrícola-ganadera requerida limita su implementación, especialmente en establecimientos de pequeña a mediana superficie.

Una alternativa es la utilización de leguminosas para pastoreo, solas o consociadas,

utilizando tréboles o vicia y avena o triticale como gramínea en ciclos de 2-3 años. Estos cultivos presentan la ventaja de poseer ciclos cortos, son fáciles de incluir en establecimientos de pequeña superficie y con escasas dificultades para su manejo. En el corto plazo es posible observar un efecto positivo sobre la fertilidad nitrogenada y la estructura del suelo (Haynes 1999).

Desde el punto de vista de la fertilidad, se han observado importantes efectos de las leguminosas consociadas sobre las propiedades químicas del suelo (Miglierina *et al.* 2000), sobre la nutrición y el balance nutricional (Galantini *et al.* 2000a) y la productividad del cultivo de trigo implantado

posteriormente (Galantini *et al.* 1992). Esto es el resultado del aporte de nitrógeno atmosférico que realizan las leguminosas mediante simbiosis y de las características de su rizosfera, que incrementan la disponibilidad de fósforo. La asociación con gramíneas se traduce en un incremento de la producción de biomasa total y una utilización complementada de los recursos disponibles, lo que favorece el reciclado posterior de la mayor cantidad de nutrientes absorbidos.

El incremento de la producción de materia seca y grano del trigo debido a la rotación con verdes de invierno consociados puede ser equivalente a la aplicación de 64 kg de nitrógeno y 37 kg fósforo ha⁻¹ de fertilizante (Galantini *et al.* 1992). Este incremento en la producción es máximo en el trigo inmediatamente posterior y disminuye rápidamente.

En un ensayo de rotaciones de aproximadamente 20 años de duración en Bordenave, la secuencia verdes de invierno consociados – trigo produjo un incremento significativo de los rendimientos medios del trigo pero de corto plazo (H. Krüger, comunicación personal). El beneficio sobre la fertilidad potencial del suelo y sobre el rendimiento en las rotaciones de corta duración con leguminosas depende de la especie de leguminosa utilizada, su duración en la rotación, su capacidad de fijación del nitrógeno atmosférico y de la biomasa retornada al suelo (Whitbread *et al.* 2000a). Sidiras *et al.* (1999) encontraron que el cultivo de *Vicia sativa* acumuló entre 54 y 109 kg de N ha⁻¹ en la parte aérea y entre 73 y 173 kg N ha⁻¹ en las raíces. Papastylionou (1999) determinó valores de nitrógeno fijado de alrededor de 184 kg ha⁻¹, considerando la parte aérea y la radical. Otros estudios han determinado que la *Vicia faba* fijó entre 165 y 240 kg N ha⁻¹ con una ganancia neta de entre 12 y 84 kg de N ha⁻¹ cuando se cosechó solamente el grano (Amanuel *et al.* 2000). En todos los casos los valores pusieron de manifiesto un importante aporte de nitrógeno aprovechable por el cultivo siguiente, dependiendo de la extracción a través de la cosecha de grano y/o pasto de la leguminosa.

Los cambios en el nivel de carbono orgánico (CO) del suelo en las rotaciones cortas con leguminosas es menor que en rotaciones prolongadas, como consecuencia del bajo

aporte de residuos, por su cosecha o pastoreo, y de la calidad de los aportes que favorecen su rápida transformación (Whitbread *et al.* 2000b). Si bien este efecto es limitado como consecuencia de la corta duración de la fase con leguminosas, pueden existir cambios significativos del balance de nutrientes y las propiedades físicas.

También se ha observado mayor disponibilidad de nitrógeno, fósforo y azufre en el suelo a la siembra del cultivo posterior a la leguminosa (Whitbread *et al.* 2000b), con mayor formación de compuestos orgánicos lábiles. La vicia ha sido utilizada como cultivo protector del suelo, debido a sus características de aportar nitrógeno y mejorar la estructura edáfica (Blevins *et al.* 1990). Los macro polisacáridos extracelulares producidos por los microorganismos podrían ser la principal causa de los cambios en la estructura, siendo el cultivo de vicia un buen estimulante para su producción. Durante los primeros años de pastura existe una rápida acumulación de compuestos fácilmente metabolizables que, medido a través de la relación entre el carbono de la biomasa microbiana y el CO total, llega a valores máximos durante el segundo o tercer año (Sparling 1992). La incorporación de nitrógeno a través de las leguminosas está sujeta a pérdidas al igual que la aplicación de fertilizantes. Sin embargo, existe una ganancia en el nitrógeno residual, como consecuencia de la mayor fijación del nitrógeno atmosférico y de la conservación más eficiente (Azam *et al.* 1986).

Si bien los efectos benéficos se pueden visualizar (mejor aspecto del cultivo), cuantificar (mayor rendimiento y mejor calidad) y parcialmente detectar en el suelo (mayor contenido de CO y nitrógeno), existe escasa información sobre los cambios en las diferentes fracciones orgánicas. Continúan sin resolver interrogantes tales como ¿cuáles son las fracciones orgánicas del suelo más afectadas durante la rotación trigo-leguminosas, qué modificaciones se producen y en qué medida puede utilizarse esta información como herramienta para el manejo del sistema de producción? En base a los antecedentes sobre el tema se estableció la siguiente hipótesis: el efecto de la fase con leguminosas dentro de una rotación se traduce en la modificación de los

contenidos y la calidad de las fracciones orgánicas más dinámicas del suelo. Surgen de esta hipótesis las predicciones: durante la fase con leguminosas habrá un aumento de las fracciones orgánicas estructuralmente más simples, se observarán cambios en la relación entre las diferentes fracciones orgánicas y se observarán contenidos de nutrientes diferentes, especialmente nitrógeno, respecto de la fase con trigo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios cuali y cuantitativos en la distribución de las fracciones orgánicas durante la rotación trébol - trigo en un Haplustol de la región semiárida pampeana.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó sobre un ensayo de Sistemas de Producción en la Estación Experimental Agropecuaria Bordenave del INTA (63° 01' 20" de longitud W y 37° 51' 55" de latitud S), provincia de Buenos Aires. El clima es continental templado, con una temperatura media anual de 15°C. La precipitación media anual es 654 mm (1928-1995), concentrada en otoño y primavera; con una estación seca a fines del invierno y otra semiseca a mediados del verano.

El suelo fue un Haplustol Entico, térmico, de textura franco arenosa, típico de la región, de mediana a baja fertilidad y susceptible a la erosión eólica, con tosca aproximadamente entre 0,8 y 1 m.

El sistema de producción estudiado fue iniciado en 1983 sobre una pastura, tenía una superficie de media hectárea y consistió en una rotación de 3 años de trébol rojo (*Trifolium pratense*) y 3 años de trigo (*Triticum aestivum*). El sistema de labranza fue conservacionista (herramientas verticales, arado de cincel y sembradora de surco profundo con separación de 25 cm entre hileras) y sin aplicación de fertilizantes. El trébol rojo fue pastoreado con bovinos. Se realizaron muestreos en 1991 (segundo año consecutivo de trigo, 2T), 1992 (primer año de leguminosa, 1L), 1993 (2L), 1994 (3L) y 1997 (3T). Se incluyó como referencia el suelo sin cultivar adyacente al tratamiento, mantenido con la pastura original desde el inicio de la experiencia, muestreado en 1991. Se tomaron 9 muestras al azar, tanto en el sistema de producción como en el suelo de referencia a una profundidad de 0-15 cm, durante el mes de octubre de cada uno de los años mencionados.

Determinaciones químicas

En las muestras de suelo secadas al aire y tamizadas por 2 mm, se determinaron las siguien-

te propiedades químicas: Carbono orgánico (CO), método de combustión (1500°C) con analizador automático LECO C Analyser; Nitrógeno total (N), método de Kjeldahl (Bremner 1996) y pH (relación suelo- agua 1:2,5).

Extracción y caracterización de las sustancias húmicas (SH)

Se obtuvieron los ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF) mediante extracción alcalina (NaOH 0,5 M y $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M) y posterior precipitación ácida (HCl concentrado hasta pH 1,5) para su separación. Los AH fueron purificados utilizando membrana Spectrapor (8000 daltons) y finalmente liofilizados. Los AF fueron purificados utilizando las resinas XAD-8 e IR-120, fueron ultrafiltrados y finalmente liofilizados.

Se efectuó el análisis elemental de los AH y AF en un Analizador Elemental Fisons Instruments, modelo EA1108. Se determinaron los contenidos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre, calculándose el oxígeno por diferencia. Los contenidos de carbono y nitrógeno de las huminas se determinaron mediante el analizador automático de carbono y el método Kjeldahl, ya citados.

Se determinó la acidez total utilizando entre 50 y 100 mg de AH más 20 mL de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,2 N, preparando un blanco simultáneo y previniendo la contaminación con CO_2 . Se agitó 24 horas y se realizó una titulación potenciométrica usando una solución patrón de HCl 0,5 N hasta pH 8,4.

Se determinó el contenido de grupos carboxílicos utilizando entre 50 y 100 mg de muestra y 10 mL $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ 1N, agitando 24 h y titulando con NaOH hasta pH 9,8. Como en el caso anterior se incluyó un blanco y se protegió de la contaminación con CO_2 .

Se realizaron los espectros infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) utilizando un espectrómetro FT-IR Nicolet PC. Se realizaron pastillas de KBr (relación muestra:KBr grado espectrométrico 5:400) mortereando y homogeneizando cuidadosamente la mezcla y posteriormente aplicando una presión de 10-11 atmósferas durante 5 minutos en vacío.

Se realizaron los espectros de fluorescencia en un espectrómetro de luminiscencia Perkin Elmer LS-5, usándose una solución acuosa 100 mg L^{-1} de la muestra ajustada a pH 8 con NaOH.

Se determinó la relación $\text{E}_4:\text{E}_6$, utilizando 3 mg de muestra, solubilizada en NaHCO_3 0,05 N, homogeneizada y llevada a 10 mL en matraz aforado.

Determinaciones físicas

Se realizó el fraccionamiento físico por tamaño de partícula mediante agitación de suelo y agua, a través de un tamiz con abertura de malla

de 0,1 mm. Se obtuvieron las fracciones fina (FF: <0,1 mm, arcilla, el limo y las arenas muy finas, junto con la materia orgánica más transformada y asociada a la fracción mineral, MOM) y gruesa (FG: >0,1 mm, con el resto de las arenas y el material orgánico más joven o particulado, MOP). En la FF y en la FG se determinaron los contenidos de CO (COM y COP) y nitrógeno (N-MOM y N-MOP), respectivamente, por los mencionados métodos.

Se determinó la textura por el método de la pipeta (Gee, Bauder 1986) en todas las muestras de suelo para verificar la homogeneidad textural de las mismas.

Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de la varianza para la comparación entre el suelo de referencia (muestreado solamente en 1991) y el suelo cultivado obtenido en 1991. Para la comparación estadística entre las diferentes fechas de muestreo se aplicó la prueba para medidas repetidas (2v del programa BMDP, BMDP 1992) y posteriormente la prueba de Tukey ($P=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

El contenido de arcilla (101 g kg^{-1}) y de limo (218 g kg^{-1}) fue semejante dentro del tratamiento y con el suelo de referencia, indicando suficiente homogeneidad textural como para la comparación de los resultados..

El contenido de COT del suelo presentó diferencias significativas entre las fechas de muestreo (Tabla 1). Se observaron valores más

bajos durante los años con trigo y más elevados, semejantes a los observados en el suelo de referencia, durante el período con trébol.

El COM del suelo, la fracción más estable de la MO y ligada a la fracción mineral, fue poco variable en las diferentes fases del ciclo productivo, presentando valores semejantes a los del suelo de referencia y levemente superiores durante el período con leguminosas. Por las características del fraccionamiento granulométrico aplicado, dentro de esta fracción se incluyen compuestos orgánicos solubles de transformación intermedia, como los ácidos fúlvicos y los polisacáridos, los que serían responsables de las pequeñas variaciones encontradas. Estudios previos han demostrado que esta fracción lábil del COM puede representar entre el 10 y el 25% y que es sensible al manejo agronómico del suelo (Galantini 1994).

El contenido de COP en todos los suelos cultivados resultó ligeramente inferior al encontrado en el suelo de referencia, y variable en el tiempo. Se observó un neto aumento del COP durante el período de la rotación con trébol ($2,8\text{-}3,0 \text{ g kg}^{-1}$) y una disminución en el período con trigo ($1,9\text{-}2,1 \text{ g kg}^{-1}$). Los resultados indicarían que esta fracción de la MO es influida positivamente por la incorporación de las leguminosas dentro de la rotación. Resultados semejantes han sido encontrados por

Tabla 1. Contenido de carbono orgánico y de N asociado a la fracción mineral (COM y N-MOM), particulado (COP y N-MOP) y total (COT) de un Haplustol en las diferentes fases de la rotación trigo – trébol.

Table 1. Organic carbon and nitrogen mineral associated fraction (COM and N-MOP), particulate (COP and N-MOP) and total (COT) in an Haplustoll under a wheat-clover rotation.

	COM	COP	COT	COP/COT	N-MOM	C:N	N-MOP	C:N
		g kg^{-1}			g kg^{-1}		g kg^{-1}	
Ref.	9,3 ^{ns}	3,7 ^{**}	12,6 [*]	0,29	0,81 ^{ns}	11,5	0,14 ^{ns}	26,4
2T	9,3 ^{ab}	2,1 ^b	11,4 ^b	0,18	0,90 ^a	10,3	0,14 ^{bc}	14,8
3T	9,2 ^{ab}	1,9 ^b	11,1 ^b	0,17	0,89 ^a	10,3	0,08 ^c	14,9
1L	8,7 ^b	2,5 ^{ab}	11,2 ^b	0,22	0,86 ^a	10,2	0,19 ^{ab}	13,1
2L	9,7 ^{ab}	3,0 ^a	12,7 ^a	0,24	0,90 ^a	10,7	0,25 ^a	12,1
3L	10,1 ^a	2,8 ^a	12,9 ^a	0,22	0,85 ^a	11,9	0,25 ^a	11,2

Ref., suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente; ns, * y **: diferencia no significativa y significativa ($P<0,05$ y $P<0,01$) respectivamente, entre el suelo de referencia y 2T; en cada columna letras diferentes indican diferencia significativas ($P<0,05$) entre los diferentes años de muestreo.

otros investigadores (Blair, Crocker 2000), quienes han destacado la importancia de esta fracción sobre las propiedades químicas y físicas del suelo.

La relación COP:COT marcó claramente las fases de la rotación, con valores inferiores a 0,19 durante los años con la gramínea y mayores que 0,21 en aquéllos con leguminosa. El nivel de COT alcanzado luego del segundo año de leguminosa fue semejante al observado en el suelo de referencia, mientras que la relación COP:COT fue sensiblemente menor. Esto pone en evidencia que, si bien el período con leguminosas aumenta el nivel de COT, la distribución de las fracciones orgánicas se modificó respecto al suelo de referencia.

El contenido de nitrógeno en la MOM fue semejante en las diferentes fechas de muestreo, con una relación C:N de alrededor de 10-12. Por el contrario, los contenidos de nitrógeno en la MOP presentaron diferencias significativas entre las fechas de muestreo. Durante el período con trigo los valores fueron menores que durante el período con leguminosa. Cuando el suelo estuvo cultivado con leguminosas el contenido de nitrógeno en la MOP fue significativamente mayor, incluso mayor que en el suelo de referencia. Es decir, existió un enriquecimiento en nitrógeno de esta fracción de la MO que se reflejó en menores relaciones C:N, lo que influenciaría la dinámica de las transformaciones.

La variación en los contenidos de las fracciones orgánicas separadas químicamente mostraron tendencias semejantes a las observadas en las fracciones aisladas físicamente (Tabla 2). El AF fue la fracción más dinámica, aquélla que mostró cambios más importantes y con valores sensiblemente mayores durante el segundo y tercer año de trébol. Sin embargo, también el AH y las huminas mostraron variaciones en el tiempo. Estos cambios no ajustarían a la teoría que señala al AH y a las huminas como materiales de elevado grado de policondensación y químicamente resistentes (Stevenson 1994) y permitiría suponer diferencias debidas a la protección física o a la formación de los complejos organominerales (Balesdent 1996; Balesdent *et al.* 2000). Las relaciones AH:AF resultaron semejantes o inferiores a aquéllas encontradas en el suelo de referencia, predominando los valores más bajos durante el período con trébol.

Los contenidos de carbono, hidrógeno y oxígeno de los AH no presentaron diferencias significativas ni tendencias definidas en los diferentes momentos de muestreo (Tabla 3). El contenido de nitrógeno del AH fue menor en los años cultivados con trigo y mayor en los cultivados con el trébol. Una tendencia opuesta se observó en el contenido de azufre. Estos resultados ponen en evidencia una transformación de las moléculas húmicas, posiblemente ligadas a las características y cantidad

Tabla 2. Contenido de carbono en ácido húmico (C-AH), ácido fúlvico (C-AF), huminas (C-Hm) y sustancias húmicas (C-SH) de un Haplustol durante la rotación trigo – trébol.

Table 2. Humic acid (C-AH), fulvic acid (C-AF), humin (C-Hm) and humic substances (C-HS) in an Haplustoll under a wheat-clover rotation.

	C-AH	C-AF	C-Hm	C-SH	AH:AF
	g kg ⁻¹				
Referencia	3,23 ^{ns}	1,54 ^{ns}	5,70 ^{ns}	10,5	2,10
2T	3,43 ^a	1,65 ^b	5,50 ^b	10,6	2,08
3T	2,91 ^b	1,87 ^b	5,31 ^b	10,1	1,56
1L	3,06 ^{ab}	1,88 ^b	5,32 ^b	10,3	1,63
2L	3,35 ^a	2,61 ^a	5,43 ^b	11,4	1,28
3L	3,08 ^{ab}	2,53 ^a	6,03 ^a	11,6	1,22

Ref., suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente. ns, * y **: diferencia no significativa y significativa ($P < 0,05$ y $P < 0,01$) respectivamente, entre el suelo de referencia y 2T; en cada columna letras diferentes indican diferencia significativas ($P < 0,05$) entre los diferentes años de muestreo.

Tabla 3. Composición elemental del ácido húmico durante la rotación trigo – trébol.

Table 3. Elemental composition of the humic acid from an Haplustoll under a wheat-clover rotation.

	C	N	H	S	O
	g kg ⁻¹				
Referencia	572	42,1	51,7	1,5	333
2T	587	42,0	51,3	1,0	319
3T	565	41,9	48,6	1,3	343
1L	592	42,7	53,5	1,1	312
2L	583	43,8	54,2	1,0	318
3L	572	43,3	46,4	0,9	337

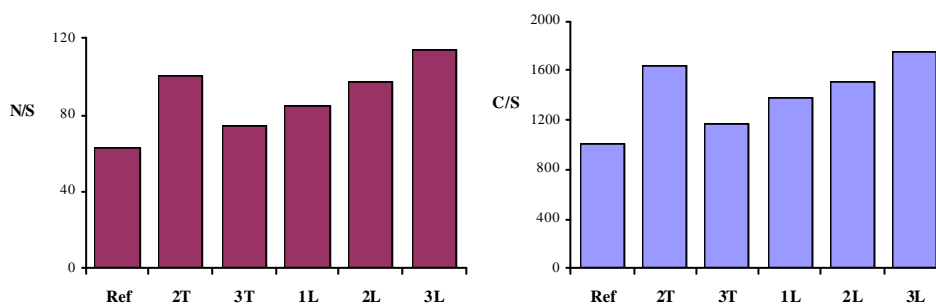
Ref., suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente.

de residuos que se incorporan al suelo en las diferentes fases de la rotación. Los cambios relativos de los contenidos de nitrógeno y azufre del AH se reflejaron en tendencias definidas de las relaciones N:S y C:S que pueden afectar la disponibilidad para los cultivos de ambos nutrientes (Figura 1).

La relación E₄:E₆ de los AH no mostró diferencias durante las diferentes etapas de la rotación (Tabla 5). El AH del suelo cultivado mostró contenidos de grupos carboxílicos ligeramente mayores y de grupos fenólicos menores que el suelo de referencia. El proceso de humificación produce aumento del contenido de grupos –COOH y disminución de los grupos –OH fenólicos (Schnitzer, Desjardins 1966; Tsutsuki, Kuwatsuka 1978). Estudios previos han puesto de manifiesto la estrecha relación entre los grupos –OH fenólicos y el contenido de MOP, posiblemente por la hidrólisis parcial de la lignina presente en esta fracción y la posterior inclusión en la molé-

cula de AH durante el proceso de extracción (Piccolo 1998). Estos resultados sugieren un AH más humificado en el suelo cultivado, posiblemente por la pérdida de la parte alifática y grupos simples como consecuencia del laboreo, y la inclusión de grupos –OH fenólicos durante el proceso de descomposición de los residuos orgánicos.

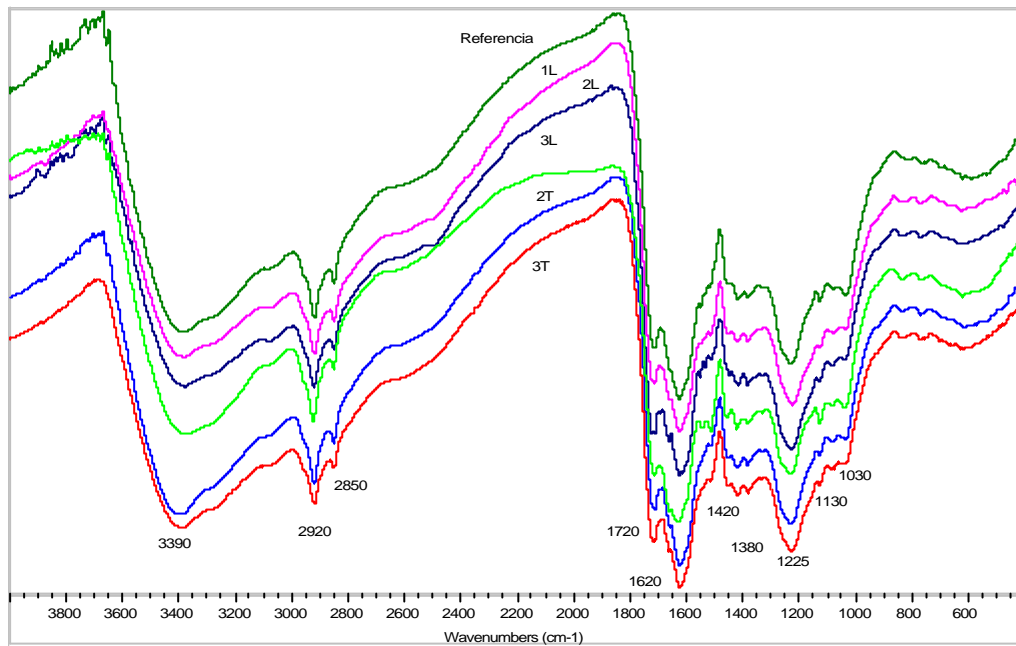
La región del espectro electromagnético más interesante para el estudio de las SH se encuentra entre 4000 y 400 cm⁻¹ (2,5 a 25 nm). En estas moléculas complejas se obtienen bandas con amplias superposiciones de grupos funcionales individuales de igual tipo pero con diferente ambiente químico. Más aún, ya que la mayoría de los grupos de átomos vibran con la misma frecuencia independientemente de la molécula a la cual están ligados, similares espectros infrarrojos de SH no significan estructura general semejante, sino que el contenido neto de grupos funcionales y entes estructurales es semejante. Los AH de



Ref: suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente.

Figura 1. Relación atómica N:S y C:S del ácido húmico extraído del suelo durante las fases de trigo (T) y leguminosa (L) de una rotación.

Figure 1. The N:S and C:S atomic ratios in humic acid from reference soil and during wheat (T) – clover (L) rotation.



Referencia: suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente.

Figura 2. Espectros FT-IR del AH en el suelo de referencia y durante la rotación trigo (T) – leguminosa (L).
Figure 2. The FTIR spectra of humic acid from reference soil and during a wheat (T) – clover (L) rotation.

suelos agrupados dentro del Tipo I (Stevenson, Goh 1971) presentan picos característicos a 3400, 2900, 1700, 1600, 1200-1000 cm^{-1} . Los espectros FT-IR de los AH del suelo de referencia y en las diferentes fases de la rotación fueron semejantes entre ellos y presentaron las características del Tipo I (Figura 2). Se observaron las bandas correspondientes a los siguientes grupos (Baes, Blom 1989):

Una banda intensa alrededor de 3400 cm^{-1} correspondiente a la absorción de alargamiento del OH presente en los grupos funcionales hidroxilos. Esta banda presentó una intensidad relativa mayor en los AH del suelo con trigo.

Dos bandas de absorción en la región 2900 cm^{-1} , atribuidas a vibración de alargamiento de los C-H alifáticos en grupos CH_3 y CH_2 .

Una banda pronunciada a 1720 cm^{-1} , generalmente asignada a la vibración de alargamiento de C=O presentes principalmente en los grupos COOH, pero también en los aldehídos y cetonas.

Una banda intensa a 1620 cm^{-1} , la cual es atribuida a la combinación de absorción

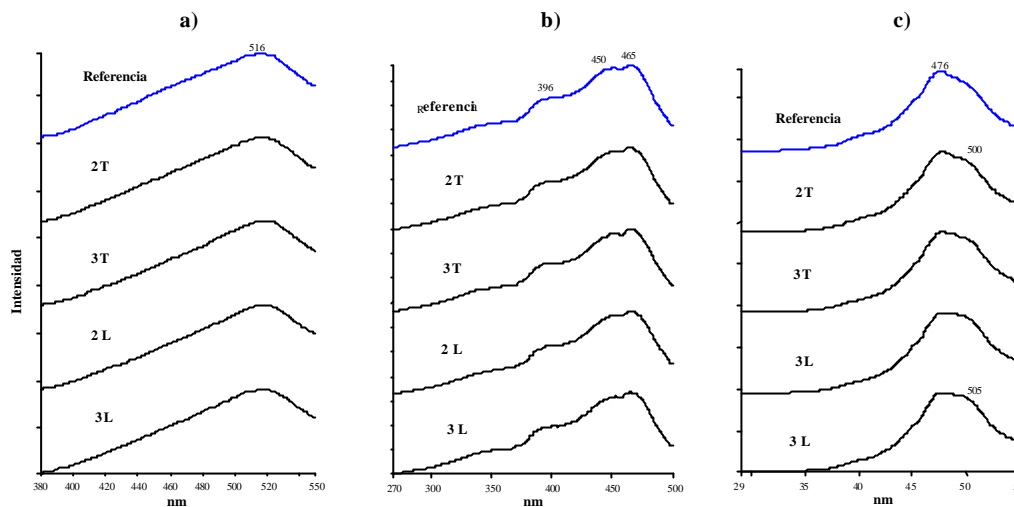
debida a varios grupos, principalmente a la vibración C=C de las estructuras aromáticas.

Un pico correspondiente a la deformación del enlace N-H y al estiramiento C=N de los grupos amino. Este pico resulta evidente en el AH del suelo de referencia, aumentó en los AH provenientes de suelos con leguminosas y fue menor en los provenientes de suelos con trigo.

Una banda de absorción a 1225 cm^{-1} , asignada al estiramiento C-O y a la deformación OH de los grupos COOH y al estiramiento C-O de los grupos fenólicos.

En la región 1130-1030 cm^{-1} se presentan bandas de poca intensidad debidas al estiramiento de grupos alcohólicos y de C-O de polisacáridos o compuestos similares a ellos. Sin embargo, en esta zona también pueden aparecer bandas asociadas a las vibraciones Si-O provenientes de arcillas co-precipitadas en las sustancias húmicas durante el proceso de extracción.

En síntesis, los espectros infrarrojos presentan las bandas características de los AH de suelos y son semejantes entre ellos. Las leves diferencias entre la intensidad relativa de



Referencia: suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer años de leguminosa, respectivamente.

Figura 3. Espectros de fluorescencia en a) emisión, b) excitación y c) escaneo sincronizado del AH en el suelo de referencia, durante el cultivo con trigo (T) y con leguminosa (L).

Figure 3. Fluorescence spectra of humic acid in a) emission, b) excitation and c) synchronous scan mode from reference soil and during a wheat (T) – clover (L) rotation.

los grupos alifáticos, amino y polisacáridos, sugieren un ligero incremento de estos grupos en el AH durante el período con trébol respecto al período con trigo. Si bien las diferencias son pequeñas, considerando el breve período estudiado, esto pondría en evidencia un papel más dinámico del AH en el suelo que la tradicional calificación de sustancia orgánica químicamente estable. Otros autores le han asignado mayor importancia a la estabilidad física (Balesdent *et al.* 2000) y a los aspectos metodológicos (Piccolo 1998) que

a la estabilidad química como las posibles causas de las variaciones de la estructura de los AH.

Los espectros de fluorescencia en el modo de emisión fueron semejantes entre ellos, presentando una banda centrada a 516 nm en el AH del suelo de referencia y entre 515-518 nm en el AH del suelo cultivado (Figura 3a). Los espectros de fluorescencia en excitación de los AH analizados resultaron semejantes entre ellos, con picos e intensidades similares (Figura 3b). El espectro obteni-

Tabla 4. Grupos funcionales ácidos y relación $E_4:E_6$ de los ácidos húmicos extraídos en las diferentes etapas de la rotación Trigo-trébol.

Table 4. Functional acidic groups and $E_4:E_6$ ratio in humic acid from an Haplustoll under a wheat-clover rotation.

	Acidez Total	-COOH	-OH Fenol	E_4/E_6
	cmol kg ⁻¹			
Referencia	1080	290	790	4,8
2T	620	320	300	4,8
3T	540	300	240	4,9
1L	780	320	460	4,8
2L	810	330	480	4,8
3L	820	330	490	4,7

Ref., suelo natural no cultivado de referencia; 2T y 3T: segundo y tercer trigo consecutivo, respectivamente; 1L, 2L y 3L: primer, segundo y tercer año de leguminosa, respectivamente.

do en el modo de escaneo sincronizado del AH aislado del suelo de referencia presentó un pico principal centrado a 476 nm y un hombro localizado a longitud de onda más elevada (Figura 3c). En los espectros de los AH del suelo cultivado la intensidad del hombro se encontró a 489-490 nm y fue más intensa, especialmente en los extraídos durante el período con leguminosa.

Los espectros de fluorescencia representan la suma de los espectros de cada una de las estructuras fluorescentes de la molécula de AH. Si bien la heterogeneidad molecular de las SH hace difícil la identificación precisa de los componentes moleculares responsables de la fluorescencia, sobre la base científica actual es posible plantear hipótesis sobre la posible naturaleza de las estructuras presentes (Senesi, Lofredo 1998). En particular, la presencia de picos a valores relativamente bajos de longitud de onda y elevada intensidad de fluorescencia serían consecuencia de la presencia de compuestos estructurales simples, con bajo grado de policondensación aromática y limitado contenido de grupos cromóforos conjugados (Senesi *et al.* 1991). Por el contrario, la presencia de un sistema aromático conjugado y grupos funcionales con átomos de oxígeno y nitrógeno tienden a disminuir la diferencia de energía de activación entre el estado fundamental y el primer estado de excitación, con un desplazamiento del máximo de fluorescencia hacia longitudes de onda mayores, mientras que la presencia de grupos carbonilos y carboxilos causarían una disminución de la intensidad de fluorescencia (Senesi *et al.* 1991). Los resultados obtenidos indicarían leves modificaciones en la estructura del AH durante el curso de la rotación analizada, posiblemente asociadas a las variaciones en la concentración de N en las fracciones orgánicas.

CONCLUSION

Durante la rotación trigo-leguminosa se produjeron cambios en la cantidad, distribución y calidad de los componentes orgánicos del suelo. Las fracciones lábiles de la MO, así como su relación con la fracción resistente, reflejaron diferencias entre las dos fases de la rotación.

El efecto en el corto plazo de la fase

con leguminosas evidenció cambios en la composición y estructura de la fracción orgánica más compleja como son los AH.

La inclusión de ciclos cortos de leguminosas forrajeras dentro de la rotación con trigo aumenta el contenido de las fracciones orgánicas lábiles y modifica las más resistentes. Estos cambios pueden afectar positivamente la fertilidad química y física de los suelos, así como la productividad del sistema.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la EEA Bordenave del INTA, por permitir la utilización de parcelas y por los esfuerzos realizados para lograr su continuidad en el tiempo; al Rotary International y Rotary Club Bahía Blanca por el apoyo económico y, particularmente, humano durante el desarrollo de los trabajos en Italia; a la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC, Pcia. de Bs.As.) y al CONICET, por el apoyo económico brindado a esta investigación.

REFERENCIAS

- Amanuel G, Kuhne RF, Tanner DG, Vlek PLG. 2000. Biological nitrogen fixation in faba bean (*Vicia faba* L.) in the Ethiopian highlands as affected by P fertilization and inoculation. *Biol. Fert. Soils* 32: 353-359.
- Azam F, Malik KA, Sajjad MI. 1986. Uptake by wheat plant and turnover within soil fractions of residual N from leguminous plant material and inorganic fertilizer. *Plant Soil* 95: 97-108.
- Baes AU, Bloom PR. 1989. Diffuse reflectance and transmission Fourier transform infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 695-700.
- Balesdent J. 1996. The significance of organic separates to carbon dynamics and its modelling in some cultivated soils. *European J. Soil Sci.* 47: 485-493.
- Balesdent J, Chenu C, Balabane M. 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Till. Res.* 53: 215-230.
- Blair N, Crocker GJ. 2000. Crop rotation effects on soil carbon and physical fertility of two Australian soils. *Austr. J. Soil Res.* 38: 71-84.
- Blevins RL, Herbek JH, Frye WW. 1990. Legume cover crops as nitrogen source for no-till corn and grain sorghum. *Agron. J.* 82: 769-772.
- BMDP Statistical Software Inc. 1992. *BMDP Statistical Software Manual*. Los Angeles, CA, USA. 778 págs.

- Bremner JM. 1996. Nitrogen - Total. En DL Sparks (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods.*, SSSA-ASA, Madison, WI, USA. p. 1085-1123.
- Galantini JA. 1994. Modelos de simulación de la dinámica de la materia orgánica en suelos de la región semiárida bonaerense. Tesis de Magister en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. 72 págs.
- Galantini JA, Iglesias JO, Miglierina AM, Rosell RA, Glave A. 1992. Rotación y fertilización en sistemas de producción de la región semiarida argentina. I. productividad (calidad y rendimiento) del trigo. *Rev. Fac. Agronomía (U.B.A.)* 13: 67-75.
- Galantini JA, Landriscini MR, Iglesias JO, Miglierina AM, Rosell RA. 2000. The effects of crop rotations and fertilization on wheat productivity in the Pampean semiarid region of Argentina. 2. Nutrient balance, yield and grain quality. *Soil Till. Res.* 53: 137-144.
- Gee GW, Bauder JW. 1986. Particle-size Analysis. En A Klute (ed.) *Methods of Soil Analysis Part 1* Madison, WI, USA. p. 383-412.
- Haynes RJ. 1999. Labile organic matter fractions and aggregate stability under short-term, grass-based leys. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1821-1830.
- Miglierina AM, Iglesias JO, Landriscini MR, Galantini JA, Rosell RA. 2000. The effects of crop rotations and fertilization on wheat productivity in the pampean semiarid region of Argentina. 1. Soil physical and chemical properties. *Soil Till. Res.* 53: 129-135.
- Piccolo A. 1998. Hydrophobic interactions controlling molecular sizes of humic molecules in soils. Effects on the accumulation and decomposition of soil organic matter. 16th World Congress of Soil Science, Montpellier, France, SR 309.
- Papastylianou I. 1999. Estimation of nitrogen fixed by legumes in long-term vs. short-term cropping systems. *Agron. J.* 91: 329-334.
- Schnitzer M., Desjardins JG. 1966. Oxygen-containing functional groups in organic soils and their relation to the degree of humification as determined by solubility in sodium pyrophosphate solution. *Can. J. Soil Sci.* 46: 237-
- Senesi N., Loffredo E. 1998. The chemistry of soil organic matter. En Sparks (ed.) *Soil Physical Chemistry.* CRC Press, Washington DC, USA. p. 239-370.
- Senesi N, Miano TM, Provenzano MR, Brunetti G. 1991. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.* 152: 259-271.
- Sidiras N, Avgoulas C, Bilalis D, Tsougrianis N. 1999. Effects of tillage and fertilization on biomass, roots, N-accumulation and nodule bacteria of vetch (*Vicia sativa* cv. Alexander). *J. Agron. Crop Sci.* 182: 209-216.
- Sparling GP. 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Austr. J. Soil Res.* 30: 192-207.
- Stevenson FJ, Goh KM. 1971. Infrared spectra of humic acids and related substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* 35: 471-483.
- Stevenson FJ. 1994. *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions.* 2nd Edition, Wiley, New York, USA. p. 512.
- Tsutsuki K, Kuwatsuka S. 1978. Chemical studies on soil humic acids. II. Composition of oxygen-containing functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.* 24: 547-
- Whitbread AM, Blair GJ, Lefroy RDB. 2000a. Managing legume leys, residues and fertilisers to enhance the sustainability of wheat cropping systems in Australia. 1. The effects on wheat yields and nutrient balances. *Soil Till. Res.* 54: 63-75.
- Whitbread AM, Blair GJ, Lefroy RDB. 2000b. Managing legume leys, residues and fertilisers to enhance the sustainability of wheat cropping systems in Australia. 2. Soil physical fertility and carbon. *Soil Till. Res.* 54: 77-89.
- Wortmann CS, McIntyre BD, Kaizzi CK. 2000. Annual soil improving legumes: agronomic effectiveness, nutrient uptake, nitrogen fixation and water use. *Field Crops Res.* 68: 75-83.