

NITRÓGENO DE AMINO-AZÚCARES EN SUELOS: CALIBRACIÓN Y RELACIÓN CON EL NITRÓGENO INCUBADO ANAERÓBICO

MARÍA F GENOVESE¹; HERNÁN E ECHEVERRÍA^{2,3*}; GUILLERMO A STUDDERT³
& HERNÁN SAINZ ROZAS^{2,3}

¹ Becaria UNMDP, ² Estación Experimental INTA Balcarce, ³ Facultad de Ciencias Agrarias (UNMP), C.C. 276 (7620) Balcarce, Argentina. * Correo electrónico: hecheverr@balcarce.inta.gov.ar

Recibido: 13-03-09

Aceptado: 29-05-09

RESUMEN

La determinación de los requerimientos de nitrógeno (N) para maíz se realiza en base al contenido de nitrato en suelo, pero la fracción orgánica de N puede realizar aportes significativos durante el ciclo del cultivo. Para estimarlos, se emplea el N obtenido de una incubación anaeróbica del suelo (Nan), aunque presenta el inconveniente del relativamente largo período de incubación. Se planteó como objetivo calibrar un método alternativo, la determinación del contenido de N bajo la forma de amino-azúcares (Illinois soil nitrogen test = ISNT) para los suelos del SE bonaerense. Además, se planteó evaluar su capacidad para discriminar manejos contrastantes y su asociación con el Nan. Para ello se diseñaron recipientes de difusión, los que permitieron lograr porcentajes de recuperación de N bajo la forma de glucosamina similares a los obtenidos con los recipientes originales. Con el calentamiento en plancha eléctrica tapada se obtuvieron mayores porcentajes de recuperación que en incubadora, baño termostático o estufa. Con los recipientes adaptados y empleando la plancha tapada se determinaron valores de ISNT similares a los obtenidos con muestras de referencia analizadas en la Universidad de Illinois, Estados Unidos. En muestras de suelo de un ensayo de sistemas de cultivo de larga duración, el ISNT se asoció débilmente a los años de agricultura, contenido de materia orgánica y Nan. Además, no presentó diferencias entre sistemas de cultivo (años de agricultura y labranza) y dosis de N. Si bien se requiere mayor investigación para evaluar el comportamiento del ISNT para detectar sitios con diferente respuesta a la aplicación de N, estos resultados no constituyen un antecedente auspicioso al respecto.

Palabras clave. Nitrógeno orgánico, test de nitrógeno en suelo de Illinois, fertilización nitrogenada en maíz, nitrógeno potencialmente mineralizable.

AMINO-SUGAR NITROGEN IN SOILS: CALIBRATION AND RELATIONSHIP WITH ANAEROBICALLY INCUBATED SOIL NITROGEN

ABSTRACT

In the southeastern Buenos Aires province (Argentina), nitrogen (N) fertilizer recommendations for maize are based on soil nitrate contents. However, the organic fraction is a major component of soil N supply which should be estimated in order to improve NO_3^- testing reliability. The currently used method to estimate this supply is the anaerobically incubated soil N test (Nan). The main inconvenient about Nan is the relatively long incubation period required. The purpose of this work was to calibrate the Illinois soil nitrogen test (ISNT) for N-amino-sugar determination in southeastern Buenos Aires province, to evaluate its ability to identify different cropping systems and the relationship between ISNT and Nan. Diffusion units were designed and high N-glucosamine recovery percentages were reached, similar to those obtained with the original diffusion units. Recovery was greater when heating in enclosed griddles than heating in an incubator, thermostatic bath or oven. Similar ISNT values were obtained in our laboratory compared to standard samples from the University of Illinois. A weak relationship was determined between ISNT and years under cash-cropping, organic matter content and Nan. No differences in ISNT values were found between cropping systems (cash-crop years and tillage) and nitrogen rates. In summary, even though an adequate calibration for the ISNT could be achieved, the method was not able to identify different cropping systems. Even though further research is required to evaluate the ISNT as a means of detecting different N fertilization response sites, the results from this work are not promising for that purpose.

Key words. Organic nitrogen, Illinois soil nitrogen test, nitrogen fertilization in corn, potentially mineralizable nitrogen.

INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) es un macronutriente esencial para el óptimo desarrollo de los cultivos puesto que es clave en la síntesis proteica, se requiere en grandes cantidades y contribuye a determinar el rendimiento y la calidad de

los granos (Echeverría & Sainz Rozas, 2005). Otro aspecto no menos importante del N, lo constituye el eventual impacto desfavorable que podría producir sobre el ambiente (Gambrell *et al.*, 1974; Jacobs & Gilliam, 1985; citados en Williams *et al.*, 2007a).

Los suelos del sudeste (SE) bonaerense presentan, por lo general, importantes contenidos de N total pero bajos niveles de N disponible (Berardo, 1985; González Montaner *et al.*, 1991). Es por ello que para lograr elevados rendimientos de los cultivos, es generalizada la aplicación de fertilizantes nitrogenados (García, 1996). En esta zona, el método de diagnóstico más difundido se basa en el cálculo de la diferencia entre los requerimientos de N para un rendimiento objetivo y el N aportado por el suelo, teniendo en cuenta tanto el N mineral al momento de la siembra como el contenido de materia orgánica, la historia agrícola del lote y la duración del barbecho (González Montaner *et al.*, 1991; Álvarez *et al.*, 2003). Para los cultivos de verano, cobra relevancia estimar el aporte de la fracción orgánica de N, a fin de evitar sobreestimar los requerimientos. Aplicaciones excesivas de N incrementan innecesariamente el costo de producción (Pagani *et al.*, 2008), a la vez que aumentan el riesgo de contaminación ambiental (Khan *et al.*, 2001).

Las prácticas de manejo (sistema de labranzas, fertilización, rotación de cultivos, entre otras) pueden afectar la fracción activa del N orgánico. El laboreo podría contribuir a la mineralización de N al exponer la materia orgánica ocluida a la descomposición microbiana rompiendo las unidades estructurales del suelo (Elliott, 1986; Beare *et al.*, 1994; Franzluebbbers & Arshad, 1997; Mikha & Rice, 2004). La materia orgánica expuesta también podría estimular el crecimiento microbiano, de ese modo se facilitaría la inmovilización del N, lo que podría llevar a una reducción temporal del N disponible en el suelo (Franzluebbbers, 1999).

Durante las últimas décadas, se han hecho considerables esfuerzos para desarrollar un método que pudiera estimar la fracción activa del N orgánico en los suelos. Se han propuesto numerosos índices que se basan ya sea en principios químicos o biológicos (Griffin, 2008, citado por Sharifi *et al.*, 2008). Muchos de estos índices se han usado para determinar los efectos del laboreo sobre la fracción activa del N orgánico, incluyendo el N potencialmente mineralizable (N_0); el N incubado anaeróbico (Nan); la fracción liviana de la materia orgánica del suelo, la biomasa microbiana del suelo, y el C y el N orgánicos particulados (C-MOP y N-MOP, respectivamente) (Carter, 1986; Franzluebbbers & Arshad, 1997; Needelman *et al.*, 1999; Wander & Bidart, 2000; Balota *et al.*, 2004; Eiza *et al.*, 2006; Mikha *et al.*, 2006). Liang *et al.* (2004) investigaron el impacto de la rotación de cultivos, del sistema de labranza y de la textura del suelo en la fracción activa del N orgánico usando mineralización acumulativa en suelos de Saskatchewan, Canadá y reportaron que aumentos en el N orgánico del suelo bajo labranzas con-servacionistas no siempre están asociados con aumentos en el N mineralizable. Carter y Rennie

(1982) reportaron que, en contraste con el C y el N orgánico, el C y N mineralizables y la biomasa microbiana eran sensibles a cambios en el sistema de labranza y el manejo del suelo en las praderas canadienses. Algunos autores informaron que las mayores diferencias en estos índices debidas al sistema de labranza se encuentran en los primeros 5 cm, en tanto que al considerar 0-20 cm, las diferencias no se detectan (Needelman *et al.*, 1999; Wander & Bidart, 2000; Eiza *et al.*, 2006). En contraste, Banerjee *et al.* (1999), analizando suelos de Manitoba, reportaron que el COS, el C de biomasa microbiana y el N potencialmente mineralizable proveniente de incubaciones aeróbicas a 30 °C por 20 semanas, no fueron afectados por el sistema de labranza, pero fueron controlados por la textura del suelo, el COS y el contenido de humedad.

El N potencialmente mineralizable (N_0), es una fracción del N orgánico del suelo que ha sido utilizado para estimar los aportes de N por mineralización (Echeverría *et al.*, 1994). El N_0 es determinado en incubaciones aeróbicas de 224 días (Stanford & Smith, 1972), por lo que presenta claros inconvenientes para su uso en la práctica. Un método alternativo lo constituye el Nan, que consiste en la incubación anaeróbica de muestras de suelo por siete o catorce días (Keeney, 1982), por estar asociado al N_0 (Echeverría *et al.*, 2000). El Nan es muy sensible a los cambios producidos por las prácticas de manejo (Morón & Sawchick, 2002; Fabrizzi *et al.*, 2003) y ha sido señalado también como promisorio indicador temprano de los efectos del uso sobre las propiedades del suelo (Carter, 2002; Morón & Sawchick, 2002; Fabrizzi *et al.*, 2003).

Sin embargo, para el análisis de rutina de gran cantidad de muestras de suelo, el principal inconveniente del Nan radica en el relativamente prolongado período de incubación (mínimo siete días). La determinación de alguna fracción (*pool*) lábil que sea indicador de la mineralización del N durante el ciclo del cultivo, podría ser una alternativa promisorio. Tal es el caso del N proveniente de amino-azúcares (N-amino-azúcares), los que pueden ser cuantificados por el «método de difusión simple» de fraccionamiento de N en extractos de suelo hidrolizados (Mulvaney & Khan, 2001). Esta metodología fue mejorada por Khan *et al.* (2001) y el contenido de N-amino-azúcares puede ser fácilmente estimado en aproximadamente 5 h (Sharifi *et al.* 2008), empleando muestras de cuatro ensayos de labranza de larga duración en Canadá, evaluaron trece índices de disponibilidad de N y encontraron que el ISNT y otros cuatro índices fueron los más sensibles a los cambios inducidos por el sistema de labranza en la fracción activa de N orgánico. En tal sentido, se ha reportado que el ISNT resultó ser un método apropiado para predecir la respuesta a la fertilización nitrogenada. (Mulvaney & Khan, 2001; Hoefl *et al.*, 2005;

Mulvaney *et al.*, 2005; Ruffo *et al.*, 2005; Ruffo *et al.*, 2006; Bushong *et al.*, 2007; Williams *et al.*, 2007a y 2007b; Lawrence *et al.*, 2009).

La factibilidad el empleo del ISNT como indicador de cambios en la fracción activa del N orgánico debido a diferentes prácticas de manejo, aún no ha sido reportada en la Argentina. En este trabajo se propone evaluar el efecto de las prácticas de manejo sobre los valores de dos índices de mineralización potencial de N, el Nan y el ISNT, y la capacidad de los mismos para detectar suelos con diferentes sistemas de cultivos.

Debido a que la técnica aún no ha sido calibrada en el país, en este trabajo se plantea como hipótesis que: 1) es factible calibrar la técnica de ISNT para suelos del SE Bonaerense, 2) el ISNT discrimina el efecto de prácticas de manejo contrastantes en suelos de Balcarce, 3) el ISNT se relaciona con el Nan. Se plantean como objetivos: 1) calibrar la técnica ISNT para suelos del SE Bonaerense. Para ello, se adaptarán recipientes para actuar como unidades de difusión, se cuantificará la recuperación del N-amino-azúcares y se compararán instrumentos de calentamiento, 2) evaluar la variabilidad de la determinación y la recuperación de ISNT en muestras de suelo de contenidos conocidos, 3) determinar el ISNT en suelos con manejos contrastantes y 4) establecer la relación entre el ISNT y el Nan en suelos de aptitud agrícola con diferente manejo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El contenido de N-amino-azúcares (ISNT) se cuantificó según lo propuesto por Khan *et al.* (2001). La técnica original emplea recipientes herméticos en los cuales 1,00 g de suelo seco al aire es hidrolizado con hidróxido de sodio (NaOH 2 M) y calentado

a 50 °C por 5 h sobre plancha caliente. El amoníaco liberado por la hidrólisis es recogido en ácido bórico (H_3BO_3 al 4% con solución indicadora) en un recipiente provisto para tal función. Se cuantifica el amoníaco por titulación del $(NH_4)_3BO_3$ con ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 0,01 M). Se calcula el ISNT en $mg\ kg^{-1}$ como $V \times T$, donde V es el volumen de H_2SO_4 empleado en la titulación y T es el título del mismo. En este trabajo se diseñó un recipiente de difusión similar al propuesto por Khan *et al.* (2001) con un frasco de vidrio de 350 mL con una tapa metálica de 84 mm de diámetro, modificada para sostener un recipiente de plástico transparente de 40 mm de diámetro (Fig. 1).

Experimentos de recuperación

Evaluación de recipientes de difusión

Se comparó la recuperación de N proveniente de glucosamina (N-glucosamina) empleando dos tratamientos: i) los recipientes originales, descritos en la técnica de Khan *et al.* (2001) y ii) los recipientes adaptados a partir de los originales, diseñados para este trabajo (Fig. 1). Se analizaron en un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones de alicuotas de 0,5 mL de glucosamina ($1\ mg\ N\ mL^{-1}$) por recipiente en una sola tanda, con calentamiento en plancha eléctrica y respetando el resto de las condiciones del método original de Khan *et al.* (2001).

Evaluación de instrumentos de calentamiento

Se determinó el porcentaje de recuperación empleando sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$) para evaluar el proceso de difusión y glucosamina (Khan *et al.*, 2001), para evaluar el proceso completo (hidrólisis y difusión). En los experimentos de recuperación de N- $(NH_4)_2SO_4$ se emplearon dos instrumentos de calentamiento: i) incubadora y ii) baño termostático. Se analizaron alicuotas de 0,5 mL de $(NH_4)_2SO_4$ con una concentración de $1\ mg\ N\ mL^{-1}$. Para los experimentos con glucosamina ($1\ mg\ N\ mL^{-1}$), se analizaron alicuotas de 5 mL y se evaluaron cuatro instrumentos de calentamiento: i) incubadora, ii) baño termostático, iii) estufa y iv) plancha eléctrica.

Se emplearon los recipientes diseñados para este trabajo (Fig. 1), tanto para el caso del $(NH_4)_2SO_4$ como para la glucosamina.

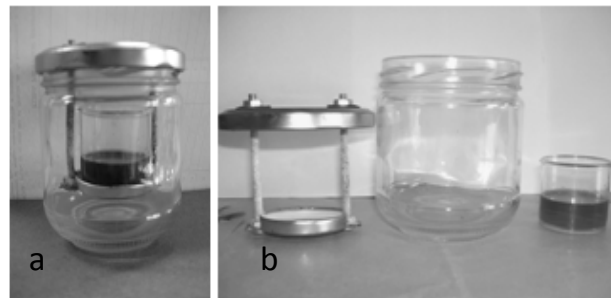


Figura 1. a) Unidad de difusión adaptada a partir de la propuesta por Khan *et al.* (2001). b) Tapa de la unidad de difusión modificada para sostener el recipiente de plástico, frasco de vidrio y recipiente de plástico para contener el H_3BO_3 .

Figure 1. a) Diffusion unit adapted from Khan *et al.* (2001). b) Diffusion unit lid modified to support the plastic recipient; glass jar and 50 mL H_3BO_3 container.

Se realizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones, comparando los instrumentos de calentamiento. Se calculó el porcentaje de recuperación como $NO/NT \times 100$ donde NO es el contenido de N obtenido mediante el análisis y NT es el valor de N teórico calculado como $Va \times C$ (volumen de alícuota \times concentración: $0,5 \text{ mL} \times 1.000 \mu\text{g N mL}^{-1}$).

Variabilidad empleando plancha eléctrica con y sin tapa

Análisis de muestras con diferente contenido de materia orgánica

Se analizaron por triplicado dos muestras de suelo del partido de Balcarce, con contenidos contrastantes de materia orgánica (MO, 65 y 46 g kg^{-1}) y dos tratamientos empleando plancha eléctrica como instrumento de calentamiento: i) plancha tapada y, ii) plancha sin tapar. Para el primer tratamiento se colocó una bandeja plástica invertida sobre los frascos. Se procedió según la técnica. Se empleó un diseño factorial 2×2 (2 suelos \times 2 tratamientos), además se calculó el desvío estándar y el coeficiente de variación de ISNT.

Análisis de muestras con contenido de ISNT conocido

Se analizaron por triplicado y con los tratamientos de calentamiento plancha tapada y destapada 2 muestras de suelos contrastantes de Illinois, cuyo contenido de ISNT fue determinado en la Universidad de Illinois (118 y 240 mg kg^{-1}). Se empleó un diseño factorial 2×2 (2 suelos \times 2 tratamientos), además se calculó el desvío estándar y el coeficiente de variación de ISNT.

Análisis de muestras de suelos con diferente manejo

Las muestras de suelo (0-20 cm) fueron tomadas del ensayo denominado de Rotaciones Mixtas y Labranzas (Studdert, 2006) llevado a cabo en la Unidad Integrada Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata – Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Balcarce (UIB) ($37^\circ 45' \text{ S}$, $58^\circ 18' \text{ W}$, 138 m.s.n.m.) sobre un complejo de Argiudol típico y Paleudol

petrocálcico de textura franca con 2% de pendiente (sin erosión). El ensayo fue iniciado en 1976 bajo un esquema de rotaciones mixtas y labranza convencional. A partir de 1994 se incorporó la variable siembra directa y se reorganizó en un diseño en bloques completos aleatorizados con arreglo de tratamientos en parcelas divididas y tres repeticiones (Tabla 1). En este ensayo se evalúa el efecto de siete sistemas de cultivo contrastantes: 1) Pastura permanente (P), 2) Rotación 3 años de agricultura con labranza convencional (LC) - 3 años de pastura, 3) Rotación 3 años de agricultura con siembra directa (SD) - 3 años de pastura, 4) Rotación 9 años de agricultura con LC - 3 años de pastura, 5) Rotación 9 años de agricultura con SD - 3 años de pastura, 6) Agricultura continua con LC y 7) Agricultura continua con SD (parcelas principales). Las parcelas principales se dividieron en dos según la dosis de fertilización con nitrógeno, 0 y 120 kg N ha^{-1} (subparcelas que se designarán como 0N y 120N, respectivamente). La secuencia de cultivos en los períodos bajo agricultura fue maíz (*Zea mays* L.) - soja (*Glycine max* L. Merr.) - trigo (*Triticum aestivum* L.) (Studdert, 2006).

Se determinó el ISNT en tandas de 12 recipientes. Las muestras se analizaron por triplicado. Como método de calentamiento se empleó la plancha eléctrica tapada. Los contenidos de MO fueron determinados en trabajos previos (Studdert, 2006).

Se determinó el Nan (Keeney, 1982) por triplicado. Se colocaron 10 g de suelo en tubos de ensayo ($150 \times 16 \text{ mm}$) y se completó el volumen de los mismos con agua destilada. Los tubos se cerraron herméticamente con tapones de goma y se incubaron a 40° C durante 7 días. Finalizado el período de incubación, se trasvasó la suspensión a un balón de destilación y se agregaron 16 mL de cloruro de potasio ($\text{KCl } 4 \text{ M}$), determinándose el N-NH_4^+ liberado de la mezcla de suelo-agua en presencia de óxido de magnesio calcinado (MgO) por micro destilación por arrastre de vapor (Bremner & Keeney, 1966).

$$\text{Nan (mg kg}^{-1}\text{)} = \frac{V \text{ (mL)} \times N \text{ (meq/mL)} \times P \text{ meq N (g/meq)}}{10 \text{ g} \times 1.000 \text{ g/kg}}$$

donde: V y N son el volumen y la normalidad del H_2SO_4 empleado en la titulación, respectivamente. P es el peso miliequivalente del N.

Tabla 1. Evolución del uso de la tierra en los siete sistemas de cultivos evaluados. P: Pastura. T: Trigo. M: Maíz. S: Soja. Filas sombreadas: Siembra directa. Filas blancas: Labranza convencional.

Table 1. Land use evolution in the seven crop systems evaluated. P: pasture. T: wheat. M: corn. S: Soybean. Dark rows: No tillage. White rows: conventional tillage.

Nº	AÑO												
	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2	P	P	P	M	S	T	P	P	P	M	S	T	P
3	P	P	P	M	S	T	P	P	P	M	S	T	P
4	P	P	P	M	S	T	M	S	T	M	S	T	P
5	P	P	P	M	S	T	M	S	T	M	S	T	P
6	M	S	T	M	S	T	M	S	T	M	S	T	M
7	M	S	T	M	S	T	M	S	T	M	S	T	M

Análisis estadístico

Los análisis de la varianza (ANOVA) de los ensayos de recuperación y variabilidad fueron realizados con el procedimiento GLM del programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1985). Cuando el ANOVA fue significativo se realizó la comparación entre las medias de tratamientos con las pruebas de la diferencia mínima significativa.

Con los resultados de ISNT y Nan del ensayo de rotaciones mixtas se realizó ANOVA con un diseño en parcelas divididas donde la parcela principal correspondió al sistema de cultivo y la subparcela, a las dosis de nitrógeno. Para ello se promediaron los resultados de las tres repeticiones de determinación en laboratorio. Además, se determinó la correlación con el procedimiento CORR (SAS Institute Inc. 1985) entre los resultados de ambos métodos de análisis de suelo.

Para describir la relación entre años de agricultura e ISNT y Nan se empleó el modelo propuesto por Bartholomew y Kirkham (1960):

$$V_t = V_e - (V_e - V_0) * \exp(-r * t) \quad [1]$$

donde V_t es el valor de la variable bajo análisis (ISNT o de Nan, en mg kg^{-1}), al tiempo t ; V_e es el valor de la variable al equilibrio; V_0 es el valor inicial de la variable; r es la tasa exponencial de variación (año^{-1}) y t es el tiempo en años bajo agricultura. El ajuste de las curvas fue realizado con el procedimiento NLIN del programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimentos de recuperación

Evaluación de los recipientes adaptados

Los contenidos de N-glucosamina obtenidos con los recipientes de la técnica original y los adaptados para este trabajo no difirieron (datos no mostrados). El porcentaje de recuperación superó en todos los casos el 97% (umbral mínimo propuesto por Khan *et al.*, 2001) y el coeficiente de variación (CV) fue de 3,3 y 4,0% para los recipientes originales y los adaptados, respectivamente. Estos resultados permiten afirmar que ambos recipientes son igualmente aptos para la determinación del ISNT.

Evaluación de instrumentos de calentamiento

En la prueba con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ utilizando el baño termostático se logró un elevado porcentaje de recuperación (97%) y bajo CV (3%). Cuando se empleó incubadora, el porcentaje de recuperación fue significativamente menor (77%) y el CV considerablemente mayor (10,4%) (Fig. 2).

En la prueba de recuperación con glucosamina, el calentamiento con plancha presentó el mayor porcentaje de recuperación (98,5%), el que difirió significativamente

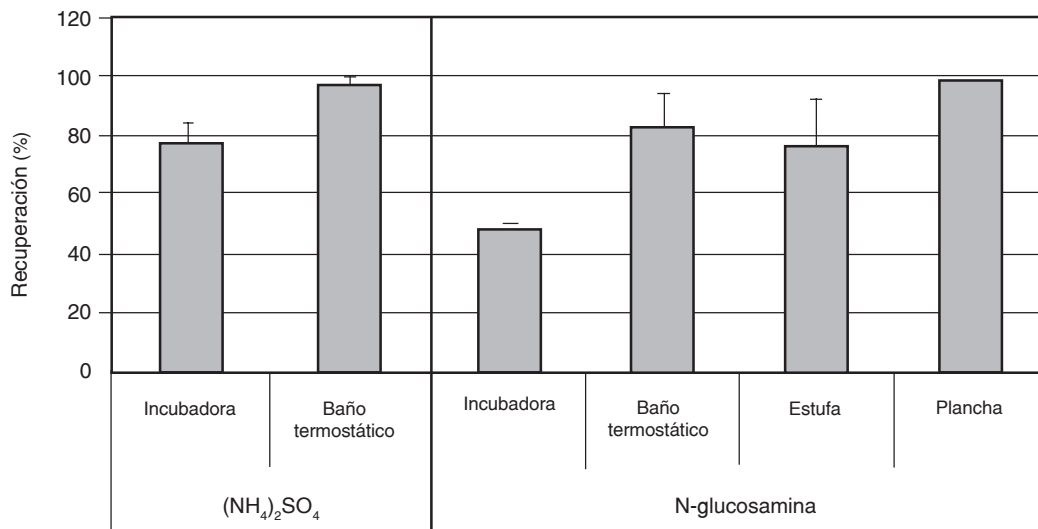


Figura 2. Recuperación de N bajo la forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y de glucosamina mediante ISNT («Illinois Soil Nitrogen Test») en incubaciones de 5 h a 49 °C en incubadora, baño termostático, estufa y plancha. Líneas verticales indican 0,5 de desvío estándar.

Figure 2. N- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and N-glucosamine recovery using the ISNT (Illinois Soil Nitrogen Test) after 5 h heating in incubator, thermostatic bath, oven and griddle (49 °C). Vertical lines indicate 0,5 standard deviation.

del obtenido con incubadora (48%). No hubo diferencias en los valores de recuperación obtenidos con baño termostático (82%) y estufa (76,4%) con respecto a los otros métodos de calentamiento (Fig. 2).

En las pruebas de recuperación de N-(NH₄)₂SO₄ se evaluó el proceso de difusión, en tanto que en los ensayos de recuperación de N-glucosamina se evaluaron los procesos de difusión e hidrólisis en forma conjunta. Empleando el baño termostático se logró un aceptable grado de difusión pero la hidrólisis fue incompleta. Por otro lado, la incubadora presentó deficiencias tanto en la difusión como en la hidrólisis. Los bajos porcentajes de recuperación obtenidos con la estufa no pueden atribuirse a ninguno de los dos procesos en particular ya que con éste método de calentamiento se evaluó únicamente la recuperación de N-glucosamina. La menor recuperación con estufa e incubadora podría ser debido al mayor tiempo requerido en lograr la temperatura óptima en el interior de los frascos puesto que la transmisión de calor ocurre por convección. En el caso de baño termostático, la menor recuperación podría ser explicada por un descenso de la temperatura del agua al ingresar los recipientes, por lo que se necesitaría también de un tiempo adicional para alcanzar la temperatura óptima nuevamente. Los resultados obtenidos con la incubadora coinciden con los reportados por otros autores (Khan *et al.*, 1997; Klapwyk & Ketterings, 2005; Williams *et al.*, 2007a). Spargo y Alley (2008), empleando incubadora, obtuvieron valores de recuperación de N-glucosamina similares a los de este ensayo. Para elevar el porcentaje de recuperación y disminuir la variabilidad, propusieron ampliar el período de incubación a 15 h. Con la plancha eléctrica se lograron porcentajes de recuperación similares al umbral mínimo aceptable de 97% mencionado por Khan *et al.* (2001). Con

este método se considera que tanto la hidrólisis como la difusión se llevaron a cabo de manera prácticamente completa. Si bien el método propuesto por Spargo y Alley (2008) es una alternativa que debería ser evaluada debido a sus posibles ventajas, el método de calentamiento que se eligió para determinar el ISNT en este trabajo fue la plancha eléctrica por los elevados porcentajes de recuperación y los bajos valores de variabilidad, además de la ventaja de requerir un corto período de incubación.

Variabilidad empleando plancha eléctrica con y sin tapa

Los ensayos de variabilidad se realizaron con el fin de comprobar las ventajas de las adaptaciones al método de calentamiento propuestas por algunos autores. Khan *et al.* (2001) y Klapwyk y Ketterings (2005) proponen tapar la plancha eléctrica durante el calentamiento para minimizar el efecto de la temperatura del laboratorio y las corrientes de aire sobre la variabilidad de las determinaciones y eliminar la necesidad de rotar los frascos.

Análisis de muestras con diferente contenido de materia orgánica

El contenido de ISNT de la muestra con 65g MO kg⁻¹ fue 12 y 15% superior a la muestra con 46g MO kg⁻¹ para el calentamiento en plancha destapada y tapada, respectivamente. Empleando la plancha tapada se obtuvieron valores más altos que con la plancha destapada para ambas muestras (Tabla 2). Los CV fueron bajos en todos los casos (< 5%). En este ensayo no sólo se confirmaron diferencias en la variabilidad sino que también se obtuvieron mayores valores cuando se empleó la plancha con tapa. Para confirmar las ventajas del empleo de la plan-

Tabla 2. Contenido de ISNT («Illinois Soil Nitrogen Test») y desvío estándar de dos muestras de suelo con contenido de materia orgánica (MO) contrastante (A) y dos muestras de suelo de contenido de ISNT conocido (B), empleando 2 métodos de calentamiento: plancha destapada y plancha tapada.

Table 2. ISNT (Illinois Soil Nitrogen Test) values and standard deviation of two contrasting organic matter content soil samples (A) and two known ISNT soil samples (B), using two heating methods: open griddle and enclosed griddle.

A)	MO mg kg ⁻¹	Método de calentamiento	
		Plancha destapada mg kg ⁻¹	Plancha tapada mg kg ⁻¹
	65	314 ± 3,7	409 ± 6,0
	46	280 ± 13,5	356 ± 6,0
B)	Valor conocido mg kg ⁻¹		
	118 ± 10	98,5 ± 3,6	119,4 ± 7,4
	240 ± 15	220,0 ± 8,4	258,5 ± 5,2

cha eléctrica con tapa se analizaron muestras de contenido de ISNT conocido.

Análisis de dos muestras con contenido de ISNT conocido

Los valores obtenidos con la plancha tapada superaron a los obtenidos con la plancha destapada. A su vez, sólo los resultados que se obtuvieron con la plancha tapada fueron próximos a los valores conocidos (Tabla 2). Los CV fueron similares con o sin el empleo de la tapa.

En todos los casos, si bien se estableció una estrecha relación entre ambos métodos de calentamiento (Fig. 3), se observó que el empleo de la plancha destapada subestima los contenidos de ISNT. La subestimación es menor cuando los valores son muy bajos y aumenta a medida que los contenidos de ISNT en el suelo se incrementan. Por ello, si bien los resultados obtenidos en esta experiencia no son concluyentes con respecto a la disminución de la variabilidad, por la información bibliográfica y por los resultados de las muestras de suelos de Illinois, se decidió adoptar como método de referencia para el resto de las determinaciones de ISNT al calentamiento con plancha tapada.

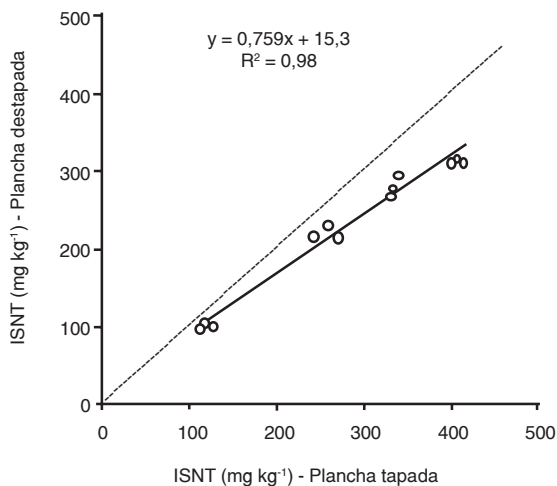


Figura 3. Relación entre los valores de ISNT de diferentes muestras de suelo obtenidos empleando 2 métodos de calentamiento: plancha tapada y plancha destapada. Trazo continuo: línea de ajuste de los datos obtenidos. Trazo discontinuo: línea de 45°.

Figure 3. Relationship between ISNT values for several soil samples using two heating methods: enclosed griddle and open griddle. Continuous line: fitted regression line. Dashed line: 45° line.

Análisis de muestras de suelos con diferente manejo

El valor promedio de ISNT del ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas fue de 341 mg kg⁻¹ y el desvío estándar fue de tan sólo 27 mg kg⁻¹ (CV = 7,92%). El ISNT no detectó diferencias por efecto de manejo, fertilización nitrogenada ni de la interacción entre ambos (Tabla 3).

Se determinó una estrecha asociación entre los contenidos de ISNT y los años de agricultura (Fig. 4), pero es de destacar que el valor de la pendiente de dicha relación es muy bajo. No se obtuvo un adecuado ajuste de la asociación entre los valores de ISNT y los años de agricultura según el modelo de Bartholomew y Kirkham (1960) para las parcelas sin fertilizar con N, en tanto que para las parcelas fertilizadas el ajuste arrojó un R² de 0,38 (datos no mostrados). Los resultados de ISNT mostraron además un bajo coeficiente de determinación (0,11) cuando se los asoció con el contenido de MO. Debido a la secuencia de rotaciones planteada, en el año del muestreo sólo los sistemas de cultivo identificados con los códigos 6 y 7 (Tabla 1) fueron destinados al cultivo de maíz en el año de muestreo y por lo tanto sólo en ellas se determinó la respuesta al agregado de N. La respuesta en grano de maíz fue de 662 kg ha⁻¹ (3.717 y 4.379 kg ha⁻¹ para el tratamiento testigo y fertilizado, respectivamente) y 2.709 kg ha⁻¹ (3.412 y 6.121 kg ha⁻¹ para el tratamiento testigo y fertilizado, respectivamente) para LC y SD, respectivamente (Studdert, comunicación personal), a pesar de que no hubo diferencias en los valores de ISNT. Además, en el ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas se ha determinado respuesta en rendimiento en granos de maíz por el agregado de N y que la misma fue mayor bajo SD que bajo LC (Domínguez *et al.*, 2001; Studdert 2006). Por otro lado, estos autores reportaron que la respuesta aumentaba con los años de agricultura, lo que fue atribuido a disminuciones en las fracciones lábiles de la MO (Eiza *et al.*, 2006). La escasa variación en los valores de ISNT indica falta de sensibilidad de esta determinación para detectar situaciones contrastantes de manejo.

La falta de sensibilidad también fue reportada por Laboski *et al.* (2006), los que analizaron muestras de una recopilación de ensayos realizados en la región central norte de EU, por Osterhaus *et al.* (2008) analizando resultados de 80 experimentos en suelos de Wisconsin (EU), y por Marriott y Wander (2006), quienes evaluaron suelos de nueve ensayos de sistemas de cultivo en varios estados de EU. Según estos autores, el ISNT no sería una determinación sensible por representar una fracción constante del contenido de la MO del suelo y por lo tanto, para predecir la respuesta del maíz a la fertilización con N.

Si bien se determinó una estrecha asociación entre los contenidos de ISNT y los años de agricultura (Fig. 4), tal como fue obtenido por Daverede (2005) en suelos de Santa Fe, es de destacar que la pendiente de dicha relación es muy baja y que, por lo tanto, no es un reflejo de los cambios ocurridos en el suelo por los años de agricultura. En experiencias previas con muestras de suelo del ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas, se ha determinado que la cantidad de años bajo actividad agrícola incide sobre las fracciones lábiles de la MO del suelo (Studdert *et al.*, 1997; Eiza *et al.*, 2006).

Por otro lado, el valor promedio de Nan del ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas fue de 55 mg kg⁻¹ y el

desvío estándar fue de 15 mg kg⁻¹ (CV = 27,27%), lo que sugiere que podrían existir diferencias apreciables entre tratamientos. Esto se confirma con los resultados del ANOVA (Tabla 3), que mostró que el Nan presentaba diferencias por efecto del sistema de cultivo y de la fertilización nitrogenada. Los valores de Nan para las subparcelas fertilizadas fueron menores que los detectados en las subparcelas sin fertilización.

La asociación entre los valores de Nan con los años de agricultura fue estrecha (Figura 4) y se describió adecuadamente con el modelo de Bartholomew y Kirkham (1960) (Tabla 3). Para todas las situaciones se observó una rápida disminución (aproximadamente el 50%) de los

Tabla 3. Contenido y análisis de varianza de ISNT y Nan en función de sistemas de cultivo (años de agricultura - labranza) y fertilización nitrogenada. Valores seguidos por letras iguales no difieren ($P > 0,05$) según prueba de diferencia mínima significativa. LC= labranza convencional. SD= siembra directa. ISNT= «Illinois Soil Nitrogen Test». Nan= nitrógeno incubado en anaerobiosis.

Table 3. Variation in ISNT and Nan values due to cropping systems and nitrogen fertilization. Values followed by same letter ($P > 0,05$) indicate no significant differences between treatments by the minimal significant difference test. LC= conventional tillage. SD= no tillage. ISNT= «Illinois Soil Nitrogen Test». Nan= anaerobically incubated soil nitrogen test.

Código	Sistema de cultivo		Dosis de N kg ha ⁻¹	ISNT kg ha ⁻¹	Nan
	Años agricultura	Labranza			
1	0	§	0	345	82
1	0	§	120	380	89
2	3	LC	0	310	59
2	3	LC	120	345	54
3	3	SD	0	372	62
3	3	SD	120	392	59
4	9	LC	0	343	51
4	9	LC	120	336	42
5	9	SD	0	344	52
5	9	SD	120	347	44
6	30	LC	0	301	47
6	30	LC	120	336	40
7	30	SD	0	321	44
7	30	SD	120	305	38
Promedio tratamiento		1			85,8 a
		2			56,5 bc
		3			60,5 b
		4			46,8 d
		5			48,3 cd
		6			43,7 d
		7			41 d
Promedio dosis de N		0			57
		120			52
Valor de P	Tratamiento			0,20	0,02
	Dosis de N			0,17	0,07
	Tratamiento x Dosis de N			0,75	0,52

§= Pastura permanente

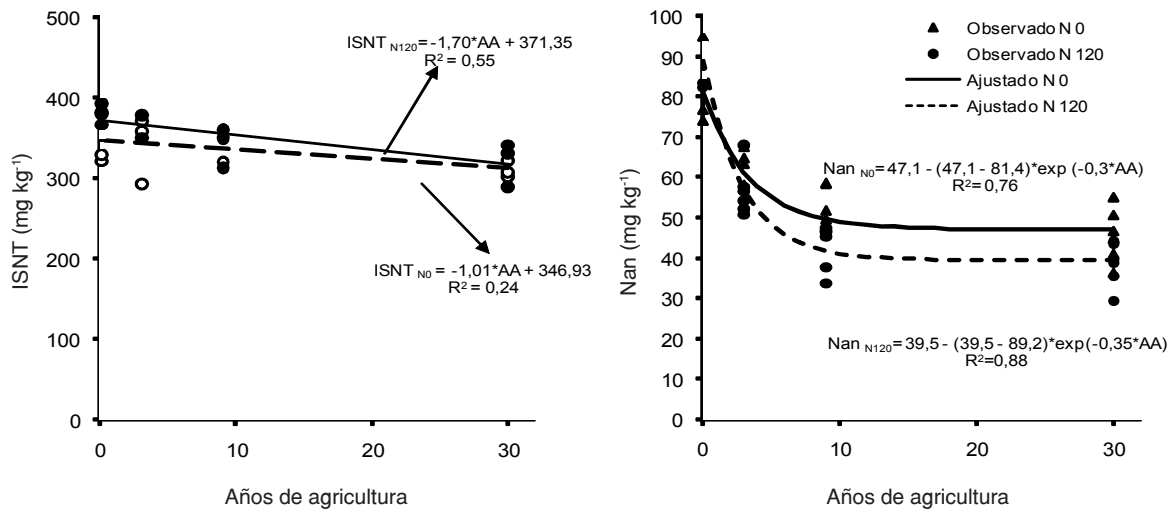


Figura 4. Asociación entre años de agricultura y contenido de ISNT («Illinois Soil Nitrogen Test») y de Nan (nitrógeno incubado anaeróbico) en suelos de un ensayo de rotaciones mixtas y labranzas en Balcarce.

Figure 4. Relationship between years under cash-cropping and ISNT (Illinois Soil Nitrogen Test) and Nan (anaerobic incubated nitrogen) content in soil samples from a cropping systems field experiment in Balcarce.

contenidos iniciales de Nan. No obstante, los tratamientos con 120N presentaron un valor inicial superior al testigo, pero en el equilibrio, menores que el tratamiento con 0N. Por lo tanto, la tasa de disminución es mayor en los tratamientos con el agregado de N, lo que confirma el mayor reciclaje (*turnover*) del nutriente asociado a la fertilización nitrogenada. La elevada tasa de disminución se traduce en bajos valores de vida media de esta fracción, la que es de sólo 2 años para el tratamiento con el agregado de N y de 2,4 años para el testigo. Para suelos similares a los de esta experiencia se ha determinado que la vida media de la MO es de más de 10 años y la del N en la biomasa microbiana (NBM) es de 0,69 años (Studdert *et al.*, 1997). Estos resultados indican que el Nan es una fracción más sensible a los cambios producidos por la actividad agrícola que la MO y que sólo alguna fracción extremadamente dinámica como el NBM, posee un mayor reciclaje (Ferrari *et al.*, 1997). De esta forma, y considerando que la metodología empleada para la determinación del NBM resulta compleja para determinaciones de rutina, como las que se adaptan a las recomendaciones de diagnóstico de fertilización, el Nan resulta ser un método más simple para diferenciar suelos con manejos contrastantes. Esto coincide con la información presentada por Calviño y Echeverría (2003) y Sainz Rozas *et al.* (2008), quienes concluyeron que esta técnica es un ade-

cuado complemento para el diagnóstico de la fertilización nitrogenada en maíz. En esta experiencia, los valores de Nan para las subparcelas fertilizadas fueron menores que los determinados en las subparcelas sin fertilización (Tabla 3). Una posible explicación a estos resultados, supondría que el agregado de N incrementaría el reciclaje (*turnover*) de la MO, sugiriendo algún mecanismo de pérdida de N. Para condiciones parecidas a las de este ensayo, en años anteriores, se determinaron resultados similares de Nan entre parcelas con y sin N (Diovisalvi *et al.*, 2008).

Se determinó una asociación significativa ($P < 0,01$) entre los valores de Nan y de ISNT para las muestras del ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas (Fig. 5), lo que sugiere que ambas fracciones podrían tener una dinámica similar. De todos modos, en los tratamientos bajo pastura, donde el Nan presentó los valores más elevados, el ISNT no mostró igual comportamiento (Fig. 5). Estos resultados sugieren que el grado de asociación entre estas fracciones sería mayor en las condiciones actuales de producción en el SE Bonaerense, puesto que es poco frecuente la inclusión de pasturas en la rotación. No obstante, cuando se eliminaron los tratamientos bajo pastura se observó una disminución en el coeficiente de determinación de 0,19 a 0,17, lo que indicaría que la variación en Nan es poco explicada por cambios en ISNT.

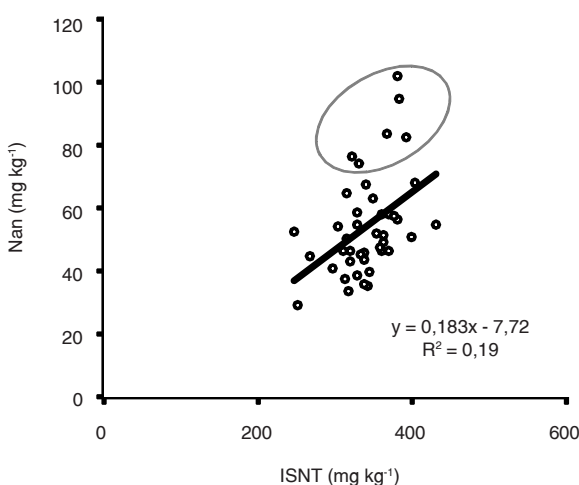


Figura 5. Relación entre los valores de ISNT («Illinois Soil Nitrogen Test») y de Nan (Nitrógeno incubado en anaerobiosis) de las muestras del ensayo de Rotaciones Mixtas y Labranzas. Los valores dentro de la elipse corresponden a muestras de suelo bajo pastura.

Figure 5. Relationship between ISNT (Illinois Soil Nitrogen Test) and Nan (anaerobically incubated soil nitrogen test) values from soil samples taken from a cropping systems field experiment. Values inside ellipse: pasture soil samples.

En síntesis, si bien se logró una adecuada calibración de la determinación de ISNT, para las condiciones en las que se realizó esta experiencia, la técnica no manifestó la capacidad de discriminar suelos con sistemas de cultivos y fertilización nitrogenada contrastantes. Si bien se deberían realizar investigaciones adicionales para evaluar al ISNT como herramienta de diagnóstico para la fertilización nitrogenada en maíz, estos resultados no constituyen un antecedente auspicioso al respecto.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. I.C. Daverede, por sus sugerencias, por haber facilitado las muestras de suelo de referencia y las unidades de difusión que fueron imprescindibles para la realización del trabajo.

Trabajo financiado con fondos del PE5656 de INTA y AGR261/08 de la UNMdP.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, R; HS Steinbach; CR Álvarez & MS Grigera. 2003. Recomendaciones para la fertilización nitrogenada de trigo y maíz en la Pampa Ondulada. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur* 18: 14-19.
- Balota, EL; AC Filho; DS Andrade & RP Dick. 2004. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. *Soil Till. Res.* 77: 137-145.
- Banerjee, MR; DL Burton & CA Grant. 1999. Influence of urea fertilization and urease inhibitor on the size and activity of the soil microbial biomass under conventional and zero tillage at two sites. *Can. J. Soil Sci.* 79: 255-263.
- Bartholomew, WV & D Kirkham. 1960. Mathematical descriptions and interpretations of culture induced soil nitrogen changes. *In: 7 International Congress of Soil Science.* (Madison, EU, 1960, Agosto 15-22). Pp 471-477.
- Beare, MH; ML Cabrera; PF Hendrix & DC Coleman. 1994. Aggregate protected and unprotected organic matter pools in conventional and no-tillage soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58: 787-795.
- Berardo, A. 1985. Hacia una tecnología de altos rendimientos. *En: El trigo en la agricultura permanente.* CREA, Buenos Aires. Pp 1-19.
- Bremner, J & D Keeney. 1966. Determination and isotoperatio analysis of 10 different forms of nitrogen in soil: 3. Exchangeable ammonium, nitrate and 11 nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Sci. Soc. Am. Proc* 30: 577-582.
- Bundy, LG & JJ Meisinger. 1994. Nitrogen availability indices. *In: Weaver, R.W. et al. (eds.) Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties.* Soil Sci. Soc. Am. Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI. Pp 951-984.
- Bushong, JT; TL Roberts; WJ Ross; RJ Norman; NA Slaton & CE Wilson, Jr. 2007. Evaluation of distillation and diffusion techniques for estimating hydrolyzable amino sugar-nitrogen as a means of predicting nitrogen mineralization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 992-999.
- Calviño, P & HE Echeverría. 2003. Incubación anaeróbica del suelo como diagnóstico de la respuesta a nitrógeno del maíz bajo siembra directa. *Ciencia del Suelo* 21: 24-29.
- Carter, MR & DA Rennie. 1982. Changes in soil quality under zero tillage farming systems: distribution of microbial biomass and mineralizable C and N potential. *Can. J. Soil Sci.* 62: 587-597.
- Carter, MR. 1986. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. *Soil Tillage Res.* 7: 29-40.
- Carter, MR. 2002. Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions. *Agron. J.* 94: 38-47.
- Daverede, IC. 2005. Illinois Soil Nitrogen Test: nuevo método para diagnosticar necesidades de nitrógeno en maíz. *En: Simposio Fertilidad 2005: Nutrición, Producción y Ambiente.* INPOFOS Cono Sur-Fertilizar Asociación Civil, Rosario, AR. (Rosario-Sta. Fe, 2005, Abril 27-28) Pp. 1-5.
- Diovisalvi, NV; GA Studdert; GF Domínguez & MJ Eiza. 2008. Fracciones de carbono y nitrógeno orgánicos y nitrógeno anaeróbico bajo agricultura continua. *Ciencia del Suelo* 26: 1-11.
- Domínguez, GF; GA Studdert; HE Echeverría & FH Andrade. 2001. Sistemas de cultivo y nutrición nitrogenada en maíz. *Ciencia del Suelo* 19: 47-56.

- Echeverría, HE; R Bergonzi & JL Ferrari. 1994. Un modelo para estimación de la mineralización del nitrógeno en suelos del sudeste bonaerense. *Ciencia del Suelo* 12: 56-62.
- Echeverría, HE; N San Martín & R Bergonzi. 2000. Métodos rápidos de estimación del nitrógeno potencialmente mineralizable en suelos. *Ciencia del Suelo* 18: 9-16.
- Echeverría, HE & HR Sainz Rozas. 2005. Maíz. En: HE Echeverría y FO García (eds.). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. INTA, Balcarce, AR. Pp. 255-282.
- Eiza, MJ; GA Studdert & GF Domínguez. 2006. Dinámica de la materia orgánica del suelo bajo agricultura continua: I. Materia orgánica total. En: Actas «20 Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo» (Salta-Jujuy, 2006, Septiembre 19-22). [CD-ROM].
- Elliott, ET. 1986. Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 627-633.
- Fabrizzi, KP; A Morón & FO García. 2003. Soil carbon and nitrogen organic fractions in degraded vs. non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67: 1831-1841.
- Ferrari, JL; FO García & HE Echeverría. 1997. Evolución del carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana durante el desarrollo del cultivo de trigo. *Ciencia del Suelo* 15: 64-70.
- Franzluebbers, AJ & MA Arshad. 1997. Particulate organic carbon content and potential mineralization as affected by tillage and texture. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 1382-1386.
- Franzluebbers, AJ. 1999. Potential C and N mineralization and microbial biomass from intact and increasingly disturbed soils of varying texture. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1083-1090.
- García, FO. 1996. El ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas. EEA INTA- Balcarce. Boletín técnico N° 140. 15p.
- González Montaner, J; G Madonni, N Mailland & M Posborg. 1991. Optimización de la respuesta a la fertilización nitrogenada en el cultivo de trigo, a partir de un modelo de decisión para la subregión IV (SE de la provincia de Buenos Aires) *Ciencia del Suelo* 9: 41-51.
- Hoefl, RG; ED Nafziger; LC Gonzini; TK Lehman; M Ruffo & A Gulso. 2005. Illinois Soil Nitrogen Test: Temporal and spatial variation and prediction of nitrogen response. In: Illinois Fertilizer Conf. Proc. 2005. (Illinois, EEUU., 2005, Enero 25-26). Pp 39-45.
- Keeney, DR. 1982. Nitrogen availability indices. In Page, A.L. et al. (eds) Methods of Soil Analysis. Part 2 Agron. Monog 9 ASA and SSSA, Madison, Wisconsin, EEUU. Pp: 711-733.
- Khan SA; RL Mulvaney & CS Mulvaney. 1997. Accelerated diffusion methods for inorganic-nitrogen analysis of soil extracts and water. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 936-942.
- Khan SA; RL Mulvaney & RG Hoefl. 2001. A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 1751-1760.
- Klapwyk, JH & QM Ketterings. 2005. Reducing analysis variability of the Illinois soil nitrogen test with enclosed griddles. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69: 1129-1134.
- Laboski, CAM; JE Sawyer; DT Walters; LG Bundy; RG Hoefl; GW Randall & TW Andraski. 2006. Evaluation of the Illinois soil nitrogen test in the north central region. In: Proc. North-Central Industry-Extension Soil Fert. Conf., Des Moines, Iowa, PPI, Brookings, SD. Pp. 86-93.
- Lawrence, JR; QM Ketterings; MG Goler; JH Cherney & KJ Czymmek. 2009. Illinois Soil Nitrogen Test with organic matter correction for predicting nitrogen responsiveness of corn in rotation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73: 303-331.
- 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. Fertil. Soils* 39: 249-257.
- Marriott, EE & MM Wander. 2006. Total and labile soil organic matter in organic and conventional farming systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 950-959.
- Mikha, MM & CW Rice. 2004. Tillage and manure effects on soil and aggregate-associated carbon and nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68: 809-816.
- Mikha, MM; CW Rice & JG Benjamin. 2006. Estimating soil mineralizable nitrogen under different management practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 1522-1531.
- Morón, A & J Sawchik. 2002. Soil quality indicators in a long-term crop-pasture rotation experiment in Uruguay. Paper 1327. Proceedings 17th World Congress of Soil Science. Symposium N° 32. Bangkok, Tailandia. En CD.
- Mulvaney, RG & SA Khan. 2001. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 1284-1292.
- Mulvaney, RG; SA Khan & TR Ellsworth. 2005. Need for a soil-based approach in managing nitrogen fertilizers for profitable corn production. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 172-182.
- Needelman, BA; MM Wander; GA Bollero; CW Boast; GK Sims & DG Bullock. 1999. Interaction of tillage and soil texture: Biologically active soil organic matter in Illinois. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1326-1334.
- Osterhaus, JT; LG Bundy & TW Andraski. 2008. Evaluation of the Illinois Soil Nitrogen Test for predicting corn nitrogen needs. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 143-150.
- Pagani, A; HE Echeverría; P Barbieri & HR Sainz Rozas. 2008. Dosis óptima económica de nitrógeno en maíz bajo siembra directa en el sudeste bonaerense. *Ciencia del Suelo* 26(2): 183-193.
- Ruffo, ML; GA Bollero; RG Hoefl & DG Bullock. 2005. Spatial Variability of the Illinois Soil Nitrogen Test: Implications for Soil Sampling. *Agron. J.* 97: 1485-1492.
- Ruffo, ML; GA Bollero; DS Bullock & DG Bullock. 2006. Site-specific production functions for variable rate corn nitrogen fertilization. *Precision Agric.* 7: 327-342.
- Sainz Rozas, HR; P Calviño; HE Echeverría; M Redolatti & P Barbieri. 2008. Contribution of anaerobically mineralized nitrogen to the reliability of planting or presidedress soil nitrogen test in maize. *Agron. J.* 100: 1020-1025.
- SAS INSTITUTE INC. 1985. User's guide. Statistics. [CD-ROM]: Version 5. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, EU. Programa computacional.
- Sharifi, M; BJ Zebarth; DL Burton; CA Grant; S Bittman; CF Drury; BG McConkey & N Ziadi. 2008. Response of potentially mineralizable soil nitrogen and indices of nitrogen availability to tillage system. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 1124-1131.
- Spargo, JT & MM Alley. 2008. Modification of the Illinois soil nitrogen test to improve measurement precision and increase sample throughput. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 823-829.

- Stanford, G & SJ Smith. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36: 465-472.
- Studdert, GA; HE Echeverría & EM Casanovas. 1997. Crop-pasture rotation for sustaining the quality and productivity of a Typic Argiudoll. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 1466-1472.
- Studdert, GA. 2006. Ensayos de larga duración de rotaciones y labranzas: la experiencia de la Unidad Integrada Balcarce. Taller «Sustentabilidad Agrícola: el rol de los Ensayos de Larga Duración». En material actividades «30° Aniversario Ensayo de Rotaciones Mixtas y Laboratorio de Servicio de Suelo» (Balcarce, 2006, noviembre 21-22). [CD-ROM].
- Wander, MM & MG Bidart. 2000. Tillage practice influences on the physical protection, bioavailability and composition of particulate organic matter. *Biol. Fertil. Soils* 32: 360-367.
- Williams, JD; CR Crozier; JG White; RP Sripada & DA Crouse. 2007a. Comparison of soil nitrogen tests for corn fertilizer recommendations in the Humid Southeastern USA. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 71: 171-180.
- Williams, JD; CR Crozier; JG White; RW Heiniger; RP Sripada & DA Crouse. 2007b. Illinois Soil Nitrogen Test predicts southeastern U.S. corn economic optimum nitrogen rates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 71: 735-744.