BIOLOGIA Y BIOQUIMICA.

FRACCIONAMIENTO DE NITROGENO ORGANICO EN DOS SUELOS NO CULTIVADOS DE MENDOZA (República Argentina)

Amelia Moyano* y Juan F. Gallardo**
Colaboración Técnica: C. Pérez**
*IADIZA/CONICET Casilla de Correo 500 CC
Mendoza, Argentina
**CEBA/CSIC Apartado 257
37071, Salamanca, España

RESUMEN

Se han estudiado diversas fracciones de nitrógeno en dos suelos no cultivados de Mendoza (Argentina). Los suelos fueron sometidos a una hidrólisis ácida en caliente durante 12 y 24 horas. Se observaron variaciones estadísticamente significativas para la fracción N–hexosamina únicamente en el perfil del Molisol. Asímismo, se ha encontrado una distribución de las fracciones diferentes para cada uno de los suelos.

Palabras claves: suelos no cultivados, formas de nitrógeno.

ORGANIC NITROGEN FRACTIONS IN TWO NON - DISTURBED SOILS OF MENDOZA (República Argentina)

ABSTRACT

Soil nitrogen fractions of two non–disturbed soil profiles belonging to the Mendoza province (Argentina) has been studied. Soils samples have been submited to a hot acid hidrolysis during 12 and 24 hours. Statistical variation has been observed have only in the N–hexosamine fraction of the Mollisol. Furthemore each soil shows a different pattern of distribution of the nitrogen fractions.

Keys words: non–disturbed soil, nitrogen forms.

INTRODUCCION

El nitrógeno contenido en el suelo varía ampliamente, oscilando desde valores inferiores a 0.02 g% en subsuelos hasta valores superiores a 2.5 g% en suelos orgánicos (Bremner, 1967). Las magnitudes de estos valores dependen de numerosos factores: clima, vegetación, naturaleza del terreno, características físicas y químicas del suelo, así como de la actividad de microorganismos.

En los horizontes superficiales del suelo el nitrógeno se encuentra, principalmente, en forma orgánica y es recuperado mediante la hidrólisis ácida; sin embargo, durante este proceso también se libera amonio de origen inorgánico (Stevenson, 1957). Según la literatura los valores de nitrógeno hidrolizado varían cuantitativamente, dependiendo entre otras razones, de los métodos empleados en la determinación.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores y la importancia del nitrógeno en la relación suelo–planta, así como la falta de estudios referentes al mismo en los suelos de Mendoza (Argentina), se ha creído conveniente analizar diferentes formas de nitrógeno contenidas en hidrolizados de dos suelos pedológicamente diferentes (Moyano et. al., 1982; Gaviola, 1985).

MATERIAL Y METODOS

En la **tabla 1** se presentan las principales características de los suelos estudiados; ambos proceden de la provincia de Mendoza (Argentina) y son suelos no cultivados.

En primer perfil pertenece al sector Este de la provincia y se encuentra a 700 m de altitud dentro de la planicie que se extiende en el sector oriental, recibe una precipitación inferior a los 250 mm/año y posee un marcado déficit hídrico; estas condiciones han determinado que el suelo posea un escaso desarrollo edáfico.

En contraposición, el segundo perfil se ubica en el sector Oeste, a 1.500 m de altitud, sobre una altiplanicie rodeada de formaciones montañosas pertenecientes al Sistema Frontal del complejo montañoso andino; es un suelo poco profundo A/C, sobre cantos rodados; la precipitación, medida con pluviometro, es de 300 mm/año a la que debe sumársele aquella en forma de nieve. La nieve permanece cubriendo el suelo durante gran parte del invierno, favoreciendo la formación de un horizonte mólico.

Las muestras de suelos fueron secadas al aire, molidas y tamizadas determinándose el carbono orgánico mediante un horno de combustión (Carmograph 8), previa eliminación del carbono inorgánico. El pH fue determinado en pasta saturada con un electrodo de vidrio. El nitrógeno total fue valorado mediante micro–Kjeldahl de acuerdo con el procedimiento propuesto por Bremner (1965): el nitrógeno total hidrolizado y las fracciones contenidas en él se valoraron según los métodos propuestos por Keeney y Nelson (1982), modificando el tiempo de la hidrólisis, según se detalla.

Las muestras de suelos, molidas a 0.15 mm fueron hidrolizadas con 6N HCl a reflujo, durante 12 y 24 horas. En alicuotas del hidrolizado y previa neutralización (Yonebayashi y Hattori, 1979), se determinó el nitrógeno hidrolizado total (N–hid.), el amonio hidrolizado (N–amonio), aminoazúcares (N–hexosamina), multiplicándose estos valores por un factor de corrección (1.04 y 1.26 cuando la hidrólisis se porlongó durante 12 y 24 horas respectivamente). El nitrógeno derivado de aminoácidos, fue determinado en una alicuota del hidrolizado donde previamente se había eliminado N– (amonio + hexosamina). Las fracciones N–insoluble y N–residual hidrolizado son valores relativos y fueron obtenidos por diferencias. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado; los valores medios se expresan como porcentaje del N–total.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados se exponen en las **tablas 1 y 2**. Dadas las marcadas diferencias entre los dos suelos la discusión se presentará en forma separada.

Las condiciones de aridez que soporta el perfil 1, se reflejan en los escasos contenidos de materia orgánica inferior a 1% , con una relación C/N cercana a 6,10 que sugiere una población rica en microorganismos (Kononova, 1966), situación poco probable en estos suelos, así como una riqueza en proteínas microbianas. El contenido de nitrógeno (870 ppm en superficie), es bajo; sin embargo parecen existir mecanismos que están protegiendo la mineralización del nitrógeno más que la del carbono (Stewart y Porter, 1963). Ello a pesar de que predominan las fracciones elementales gruesas, o que los microorganismos fijadores de nitrógeno estén aportando cantidades no determinadas.

Al comparar los porcentajes de N–hidrolizado se aprecia un incremento cercano al 11% cuando la hidrólisis se prolonga 24 horas; sin embargo, no existe diferencia significativa ($p = 5\%$) entre el conjunto de

TABLA 1. Características generales de los perfiles estudiados.

Suelo	Ubicación	Clasificación	Profundidad cm	pH	C %	C/N
I	Ñacuñan	Torripsamment	0 - 30	7.96	0.56	6.4
			30 - 60	8.32	0.43	5.9
			60 - 90	8.60	0.40	6.3
II	Aguaditas	Haplustol	0 - 35	7.56	1.33	11.0
			35 - 50	8.10	1.27	12.0

TABLA 2. Resultados de la hidrólisis durante 12 y 24 horas, a y b respectivamente.

Perfil	Prof.	N–total ppm	N– hidrol. (1)		N– NH_4^+ (1)		N–hexos. (1)		N–aa (1)		N–residual (1)	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
I	0 - 30	870	68	69	33	36	3.0	2.8	26	28	5.8	2.0
	30 - 60	730	71	82	37	42	8.2	6.7	15	21	11.0	12.0
	+ 60	640	69	69	41	41	1.9	1.6	13	14	15.0	12.0
II	0 - 35	1.170	83	85	25	27	13.0*	6.8*	31	36	14.0	16.0
	35 - 50	1.100	89	90	22	26	13.0*	6.6*	28	35	26.0	24.0

	N–no hidrol (1)		N– aa/N–hexosamina		N–no protéico (1)		HUN (1)	
	a	b	a	b	a	b	a	b
I	32	31	8.6	10.0	70	69	55	52
	29	18	1.8	3.2	83	76	58	51
	31	31	6.8	8.8	86	84	56	63
II	17	15	2.4*	5.1*	66	61	47	45
	11	9	2.1*	5.3*	68	61	50	46

(1) Valores expresados como porcentajes de N–total.
* Presentan una variación estadísticamente significativa (p = 0.05)

valores, lo que hace suponer que la hidrólisis a reflujo durante 12 horas es suficiente para liberar el N–hidrolizado por lo menos para este suelo. Los valores medios en ambos casos son más bajos que los que citan otros autores (Sowden y col., 1977).

El amonio hidrolizado proviene de amidas (Bremner 1965 y 1967), de la descomposición de aminogricares y aminoácidos, así como de la destrucción de purinas y pirimidinas (Schnitzer y Hudle, 1981); también puede provenir de formas inorgánicas, en especial el nitrógeno fijado de las arcillas (Keeney y Brenner, 1964), que generalmente aumenta en profundidad. Al aumentar el tiempo de la hidrólisis, se incrementan no significativamente los valores de amonio hidrolizado, tanto en valores relativos como en absolutos, lo que podría deberse a un mayor desdoblamiento de aminoazúcares posiblemente no controlados por los factores de corrección empleados. Los valores de amonio en ambas hidrólisis son altos y se atribuyen a altas concentraciones de glutamina y asparagina (Greenfield, 1972). Diversos autores (Aldag, 1977, entre otros), asocian valores altos de amonio hidrolizado a latas concentraciones de ácidos fúlvicos, er tal caso éstos se encontrarían precipitados como fulvatos por acción del calcio.

El N–hexosamina oscila entre 2 y 8% del N–total cuando la hidrólisis se prolonga doce horas y disminuye ligeramente cuando el tiempo de la hidrólisis se duplica. Al aumentar el tiempo de la hidrólisis, se produce una mayor destrucción de aminoazúcares que podría no estar corregida con el factor empleado, por lo que consecuentemente los valores disminuyen; este efecto es más notorio en el segundo horizonte, donde hay una reducción de los valores de N–hexosamina. El N–aminoácido varía entre 13 y 26% del N–total; el último valor se encuentra en superficie. Al aumentar el tiempo de la hidrólisis se observa un incremento de N–aminoácidos; hay que señalar que fue necesario adicionar 150 mg de ninhidrina para valorar N–aminoácido, modificación que concuerda con la señalada por Stevenson (1982); debe recordarse que la ninhidrina sólo actúa sobre los grupos próximos al radical ácido. Teniendo en cuenta esta observación, es posible suponer que el contenido de N–aminoácidos es superior al determinado. En estos suelos parece existir una relación directa entre el contenido de N–total y el N–aminoácido.

Asombra los bajos valores que presentan la rela-

ción N–aa/N–hexosamina, en especial en el horizonte B; valores tan bajos sólo se citan en suelos ricos en reservas orgánicas y provenientes de regiones tropicales o subtropicales.

El N–no proteico, calculado según Aldag y Kichuth (1973), es relativamente bajo, en especial en superficie. Por otra parte el N–no hidrolizado se mantiene constante y presenta valores altos que podrían estar asociados con el grado de polimerización de la materia orgánica (Rosell et. al. 1978).

Los valores estimados de Hun (N–residual no identificado + N–no hidrolizado + 1/2 N–amonio, para corregir el amonio no intercambiable y el amonio formado por amidas y aminoácidos–OH) tampoco se modifican al aumentar el tiempo de la hidrólisis; en ambos casos el Hun supera el 50%. Existen diversas teorías que tratan de explicar el origen de esta fracción, pero todos los autores coinciden en la necesidad de descubrir su origen real.

El N–no hidrolizado presenta valores más altos que los encontrados por otros autores (Chen y col., 1977), para suelos de regiones secas con menos de 250 mm de precipitación/año. Si bien existen contradicciones acerca del origen de esta fracción, es posible que durante la hidrólisis se produzcan condensaciones, resistentes a la acción hidrolítica del HCl. Asimismo Cheng et. al. (1975) suponen que existen mecanismos que a través de los coloides protegerían los compuestos nitrogenados durante la hidrólisis; sin embargo, la escasez de arcilla hace que existan otros mecanismos de protección.

El segundo perfil posee (**Tabla 1**), un mayor contenido de carbono orgánico y nitrógeno total, con una relación C/N superior a 11.

Respecto al nitrógeno hidrolizado (cercano al 80 por ciento), se puede señalar que no sufre modificaciones al incrementarse el tiempo de la hidrólisis; dentro del hidrolizado destaca cuantitativamente el N–aminoácido, encontrándose valores semejantes en ambos horizontes; a pesar de ser ésta una fracción relevante (30%) es escasamente disponible para plantas y microorganismos ya que se encuentra asociada con coloides. Esta fracción se incrementa, aunque no significativamente, al aumentar el tiempo de la hidrólisis. Los valores de N–aminoácido encontrados en el perfil II son superiores a los del perfil I. Si bien es posible encontrar en la bibliografía diferencias en la cantidad de aminoácidos presentes en los suelos, no parece existir grandes variaciones en cuanto a su naturaleza; esta observación no ha sido confirmada en estos suelos.

La segunda fracción de importancia cuantitativa dentro del hidrolizado es el N–amonio; los valores más altos se encuentran en el horizonte subsuperficial y no se modifican al incrementar el tiempo de la hidrólisis.

Cuando la hidrólisis se prolonga 12 horas la fracción N–hexosamina alcanza valores de 13% del N–total que se reduce significativamente al incrementar el tiempo de la hidrólisis; esta reducción no sería compensada suficientemente con el factor de corrección empleado. La relación N–aa/N–hexosamina que en la primera hidrólisis alcanza valores de 2,5 se incrementa a 5 cuando la hidrólisis dura 24 horas; esta variación se debe a la destrucción de aminoazúcares y al incremento de aminoácidos.

El nitrógeno no proteico no se modifica al incrementar el tiempo de hidrólisis, como tampoco lo hace el nitrógeno residual hidrolizado y el insoluble en ácido.

Las tres últimas fracciones señaladas se presentan en el segundo perfil con contenidos inferiores a los del suelo I, lo que haría suponer que el perfil I posee un mayor contenido de compuesto aminofenólicos resistentes a la acción hidrolítica del HCl.

CONCLUSIONES

i. No se observan variaciones significativas estadísticamente de los valores de N–hidrolizado cuando la hidrólisis se prolonga durante 12 ó 24 horas.

ii. La única fracción que se modifica al incrementar el tiempo de la hidrólisis es el N–hexosamina del perfil II (mólico), que presenta una reducción; en consecuencia se incrementan los valores de la relación N–aa/N–hexosamina.

iii. Los valores encontrados permiten señalar que las distribuciones de las fracciones de nitrógeno en ambos suelos son diferentes; en el primer suelo el orden es el siguiente:

N–amonio > N–aa > N–residual hidrolizado > N–hexosamina;

en el segundo suelo la distribución es:

N–aa > N–amonio > N–residual hidrolizado > N–hexosamina

iv. Cuando el suelo tiene bajo contenido de carbono el tiempo de hidrólisis parece no afectar a ninguna de las fracciones.

REFERENCIAS

Aldag, R.W., 1977. Relations between pseudo–amide nitrogen and humic acid nitrogen released under different hydrolysis conditions. Soil organic matter studies. Int. Atomic Energy Agency., 293-299.

Aldag, R.W.; R. Kickuth., 1973. Stickstoff verbindungen im Boden und ihre Besiehung zur Humusdynamik. 2, Z. Pflanzenernaech. Bodenkd, 136: 141-150, 193-202.

Bremner, J.M., 1965. Total nitrogen. C.A. Black et. al. (ed.). Methods of soils analysis. Part II. Agronomy, 9: 1149 –1178. Am. Soc. Agron. Madison.

Bremner, J.M., 1967. Nitrogen constituens. A.D. McLaren and G. Peterson (ed). Soil Biochemistry. Marcel Dekker. New York.

Chen, Y.; F.J. Sowden; M. Schnitzer, 1977. Nitrogen in mediterranean soil. Agrochimica., 21: 7-14.

Cheng, C.N.; R.C. Shuferldt; F.J. Stevenson, 1975. Amino acid analysis of soil and sediments: Extraction and desalting. Soil Biol. Biochem., 7: 143-153.

Gaviola de Heras, S., 1985. Micronutrientes en algunos suelos de la región árida y semiárida mendocina. Ciencia del Suelo, 3: 23-29.

Greenfield, L.G., 1972. The nature of organic nitrogen in soil. Plant Soil., 36: 191-198.

Keeney, D.R.; J.M. Bremner, 1964. Effect of cultivation on the nitrogen distribution in soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 28: 653-656.

Keeney, D.R.; D.W. Nelson, 1982. Nitrogen inorganic forms. A.L. Page et. al. (ed). Methods of soil analysis. Part. 2. 2th ed. Agronomy, 9: 643-698. Am. Soc. Agron. Madison.

Kononova, M.M., 1966. Soil organic matter. 2th ed. Pergamon Press. Oxford.

Moyano, A.; L. Nijensohn; Gaviola, S., 1982. Caracterización edafológica de los suelos ocupados por Stipa tenuissima en el alto valle de Las Carreras. Rev. Fac. Ciencias Agrarias, 22: 67-77.

Rosell, R.A.; J.C. Salfeld; H. Sochting, 1978. Organic compounds in Argentina soils. I. Nitrogen distribution in soils and their humic acids. Agrochimica, 22: 98-105.

Schnitzer, M.; D.A. Hindle, 1981. Effects of different methods of acid hydrolisis on the nitrogen distribution in two soils Plant Soil, 60: 237-243.

Sowden, J.F , 1959. Investigation on the amounts of hexosamines found in various soils and amino compounds in soil. Soil Sci., 88: 138-143.

Sowden J.F.; Y. Chen; M. Schnitzer 1977. The nitrogen distribution in soils formed under widely differing climatic conditions. Geochimica et Cosmochimica. Act., 41: 1.524-1.526.

Stevenson. J.F . 1957. Investigation of amino–polysaccharides in soil. I and II. Soil Sci., 83: 113-122; 84: 98-105.

Stevenson, F.J., 1982. Origen and distribution of nitrogen in soil. F.J. Stevenson (ed). Nitrogen in Agriculture Soils. Agronomy., 22: 1-39. Am. Soc. Agron. Madison.

Stewart, B.A.: K. Porter 1963. Inability of Kjeldahl method to fully measure indigeneous fixed ammonium in some soils. Soil Sci. Am. Proc., 27: 41-43.

Yonebayashi, K.; T. Hattori, 1979. Improvements in the method for fractional determination of soil organic nitrogen. Soil Sci. Plant Nutr., 26: 469-481.