

DESNITRIFICACION EN SUELOS MOLISOLES DE LA PRADERA PAMPEANA

N. Giambiagi (1), M. Rimolo (1) y V. Bianchi (2)

- 1) Instituto de Suelos, INTA. 1712 Castelar, provincia de Buenos Aires.
- 2) Secretaría de Agricultura. Serv. de Microbiología y Química Agrícola.

RESUMEN

Se estudió la desnitrificación en Molisoles (Hapludoles, Haplustoles y Argiudoles) de la pradera pampeana. Se analizaron 20 suelos en cada caso y se estudió la influencia que el tipo de suelo (I), la agricultura continua (II) y la humedad (III) ejercen sobre el proceso. En (I) se observó que los Hapludoles, con los más bajos contenidos de C y de N, tienen una correlación altamente significativa de estos elementos con el N_2O . Los Argiudoles con los valores más altos y los Haplustoles, con valores intermedios no presentan esta correlación. En (II), contrariamente a lo esperado, los suelos cultivados disminuyeron la capacidad de desnitrificar del testigo en Hapludoles (6 veces) en Haplustoles (1,5 veces) y la mantuvieron casi igual en Argiudoles. En (III) se analizó un suelo representativo de cada Gran Grupo. Se encontró en ellos una alta correlación ($r \approx 0,9$) entre $N(N_2O)$ producido y porcentaje de humedad, tanto por debajo del punto de marchitez permanente como por encima de la humedad equivalente.

Palabras clave: desnitrificación, Molisoles, humedad del suelo.

DENITRIFICATION IN MOLLISOLS OF THE PAMPEAN PRAIRIE

ABSTRACT

Denitrification was studied in Mollisols (Hapludolls, Haplustolls and Argiudolls) of the Pampean Region. In each case, 20 soils were analysed and the influence that: type of soil (I), continuous agriculture (II), and moisture (III) exert on the process. It was observed in (I) that Hapludolls, with the lowest levels of C and N, have a very high significant correlation of both elements with N_2O . Argiudolls, with the highest levels, and Haplustolls, with intermediate values, do not present this correlation. Inversely to expected, the cultivated soils decreased the denitrification capacity of the test soil in Hapludolls (6 times), in Haplustolls (1.5 times) and remained almost unchanged in Argiudolls. A representative soil of each great group was analysed for moisture (III). It was observed a high correlation ($r \approx 0.9$) between $N(N_2O)$ produced and moisture contents, both below permanent wilting point and above humidity equivalent.

Key words: denitrification, Mollisolls, soil water content.

INTRODUCCION

El proceso de desnitrificación en el suelo implica la reducción desasimilatoria de nitratos o nitritos para formar productos gaseosos, principalmente óxido nitroso (N_2O), que puede ser finalmente reducido a dinitrógeno (N_2). Este mecanismo se produce especialmente cuando disminuye la presión parcial de oxígeno en el suelo, actuando los óxidos de nitrógeno como aceptores terminales de electrones.

En la Argentina no hay trabajos relativos al tema. Acerca de la ecología de los microorganismos desnitrificadores se han ocupado Tiedje (1980) y Knowles (1982). Su importancia económica y agronómica está fuera de toda duda, ya que el nitrógeno del suelo se pierde principalmente por esa vía.

El estudio de la evolución que experimentan los fertilizantes nitrogenados en el suelo se hace realmente importante, pues su consumo es cada día mayor, habiéndose sugerido que los niveles globales de desnitrificación exceden 5 veces la fijación industrial de nitrógeno (Cast Report, 1976). Desde el punto de vista ecológico, el incremento en el uso de los fertilizantes nitrogenados fue seguido por un apreciable aumento del contenido de nitratos en

los ríos, lagos y arroyos, con todos los inconvenientes que ello acarrea. También se incrementa el contenido de N_2O en la atmósfera, el que ejerce un efecto destructor sobre la capa de ozono estratosférico.

En nuestro país existen suelos sometidos a sucesivas inundaciones y sequías y otros a agricultura continua. Por eso es de interés conocer el efecto que el agua y el uso agrícola ejercen sobre las propiedades biológicas de los mismos.

El objeto del presente trabajo fue estudiar la importancia que la desnitrificación tiene en los distintos tipos de suelo y la influencia que varios años de agricultura y la humedad ejercen sobre ellos.

MATERIALES Y METODOS

Suelos. Se utilizaron cinco suelos de cada uno de los siguientes grandes grupos: Argiudoles, Hapludoles y Haplustoles. En cada suelo se estudiaron dos situaciones: testigo y con varios años de cultivo (Tabla 1). En ellos se determinaron C orgánico (Walkey y Black, 1934) y N orgánico total (método de Kjeldahl modificado; Bremner, 1965). De cada gran grupo se analizaron las muestras por duplicado.

Tabla 1. Ubicación geográfica de suelos muestreados y sus usos agrícolas.

Argiudoles		Hapludoles		Haplustoles	
1 - Rojas	Testigo	6 - Pirovano 20 años Trigo	Testigo 8 años Trigo	11 - Pirovano	Testigo 2 años Trigo
2 - Guido Spano	Testigo Trigo	7 - Caseros	Testigo 3 años Avena	12 - Caseros	Testigo Pastura 2 años -Trigo
3 - Las Saladas	Testigo 30 años Trigo	9 - Pirovano	Testigo Trigo - Avena	13 - Caseros	Testigo 4 años Verdeo
4 - La Angelita	Testigo Maíz	9 - Henderson	Testigo 40 años Agric. - Avena	14 - Arboledas	Testigo 3 años Avena
5 - Carabelas	Testigo 40 años Agric.	10 - Henderson	Testigo Verdeo	15 - Daireaux	Testigo 3 años Avena

Cromatografía en fase gaseosa. En un frasco de 130 ml de volumen se colocaron 40 g de suelo seco al aire. Luego fue cerrado herméticamente y la atmósfera reemplazada por un gas inerte (N_2). Se agregó acetileno (10 % del volumen gaseoso)

y una solución de KNO_3 y glucosa. El suelo quedó saturado, con una concentración final de 270 ppm $N(NO_3^-)$ y 4000 ppm C. En esas condiciones fue incubado 24 horas a $28^\circ C$. Se tomó muestra del espacio gaseoso con jeringa y se determinó N_2O en

un cromatógrafo Chrompack modelo 437 A con detector por captura de electrones con ^{63}Ni , columna de acero inoxidable de 1,5 m de largo y 2 mm de diámetro, rellena con Hayesep Q (malla 60-80). La temperatura de la columna era de 85°C , la del inyector 145°C y la del detector 250°C . El gas portador fue nitrógeno, con un flujo de 40 ml/minuto. Las muestras se hicieron por triplicado.

Humedad. En cada suelo se determinaron la capacidad de retención hídrica a 15 atm (PMP), 0,33 (HE) e intermedias: 0,05, 1 y 10 atm. Para conocer la influencia de la humedad sobre la desnitrificación se sometió un suelo testigo, representativo de cada gran grupo a una incubación previa de una semana a $\text{PO}_2 = 21\%$, con humedades comprendidas entre valores inferiores a PMP y superiores a HE. Posteriormente, para la medición de N_2O se procedió según lo descrito anteriormente pero con una incubación de 4 horas en lugar de 24.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Fig. 1 se grafica la relación entre tipo de suelo y actividad desnitrificadora de los mismos. Por la gran variabilidad que muestran los datos obtenidos sólo se indican tendencias. El Argiudol con agricultura presenta un coeficiente de variabilidad de 108 %, la mayor de todos los suelos estudiados. El resto está dentro del intervalo dado por otros autores para este tipo de ensayos (Myrold y Tiedje, 1985). El número de suelos analizados (20) en cada gran grupo no nos permite deducir cuál de los tres es el más propenso a desnitrificar.

El contenido de C del suelo es uno de los factores que incide en la desnitrificación. Este elemento tiene mayor influencia que la cantidad de nitratos y oxígeno disponible, tanto para la síntesis de enzima como para la densidad de población, (Tiedje et al., 1982). El agregado de C (paja de alfalfa) a un suelo, aumentaba su capacidad de desnitrificación notoriamente respecto al testigo,

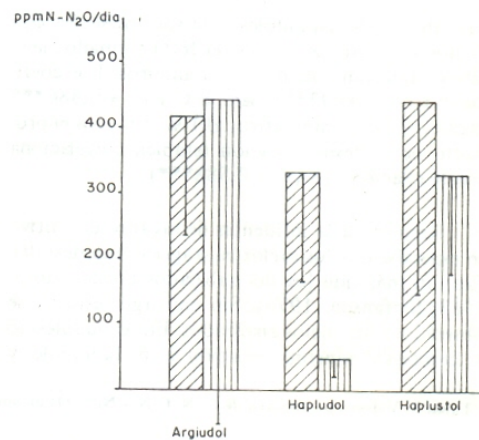


Fig. 1. Influencia del tipo de suelo y años de cultivo sobre la pérdida de N_2O .

 Suelo testigo.
 Suelo con muchos años de agricultura.

(Myrold y Tiedje, op. cit.). Algo similar encontraron Smid y Beauchamp (1976), quienes describieron reacciones de orden cero cuando el C está disponible o francamente limitante y de primer orden cuando pasa de francamente disponible a limitante. Steele et al. (1984) encontraron los más altos potenciales de desnitrificación en suelos con un alto contenido de C orgánico ($r^2 = 0.57^{***}$); una correlación $r^2 = 0.35^{***}$ con la relación C/N y de $r^2 = 0.26^*$ con el N total.

Se indican en la Tabla 2 los valores de C, N y la relación C/N para los tipos de suelo estudiados. Los promedios de testigo más suelo con años de agricultura muestran que los Argiudoles tienen las cantidades más altas de C y N pero no presentan ninguna correlación con el nitrógeno desnitrificado. Los niveles intermedios se encuentran en Haplustoles, tanto para C como para N, pero la desnitrificación tampoco correlaciona con ellos.

Tabla 2. Valores promedios de C, N y C/N en suelos Testigos + Cultivados y su correlación con el nitrógeno desnitrificado en 20 suelos analizados de cada grupo.

	N_2O	C	r^2	N_2O	N	r^2	N_2O	C/N	r^2
Argiudoles	423 ± 357	2.13 ± 0.27	0.229	423 ± 357	0.184 ± 0.027	0.309	423 ± 357	11.5 ± 0.72	0.03
Hapludoles	203 ± 189	1.18 ± 0.49	0.893^{***}	203 ± 189	0.106 ± 0.03	0.886^{***}	203 ± 189	11 ± 0.59	0.588^{***}
Haplustoles	401 ± 328	1.43 ± 0.30	0.18	401 ± 328	0.134 ± 0.03	0.123	401 ± 328	10.7 ± 0.8	0.208

***: significativo al 0,01

En cambio en Hapludoles, que son los suelos con menor cantidad de C y N, el N_2O formado tiene alta correlación con ambos parámetros. Los coeficientes $r^2 = 0,893^{***}$ para el C y $r^2 = 0,886^{***}$ para el N, son significativos al 1 %. En ellos el producto de la desnitrificación también correlaciona con la relación C/N ($r^2 = 0,588^{***}$).

Respecto a la influencia de los años de cultivo se esperaba que los suelos bajo agricultura desnitrificarían más que los no trabajados (Woldendorp, 1963; Stefanson, 1976). Sin embargo, esto no se observó en los suelos analizados. En Argiudoles no se comprobó ninguna variación y en Hapludoles y

Haplustoles el tratamiento agrícola disminuye la desnitrificación del suelo virgen. En la Tabla 3 se anotan los valores de C, N y C/N de suelos testigos y suelos cultivados. En cada caso se establece la relación entre ambos. De ellos se deduce que los suelos cultivados durante muchos años, respecto de los testigos disminuyeron la cantidad de C orgánico, la de N total y también la relación C/N. Calculando la relación testigo/cultivado para C y N se comprueba que hay una disminución de estos elementos en los suelos "cansados" de los Hapludoles, que muestran una relación de 1,6 y en Haplustoles 1,2. En cambio, en Argiudoles ésta es casi igual a 1.

Tabla 3. Valores promedios de C, N, C/N y $N(N_2O)$ en suelos testigos y en suelos cultivados.

		Testigos	Cultivado durante muchos años	Testigo/cultivado	Posición Relativa
C(%)	Argiudol	2,22 $\pm$ 0,27	2,03 $\pm$ 0,25	1,09	3 ^o
	Hapludol	1,43 $\pm$ 0,54	0,87 $\pm$ 0,23	1,6	1 ^o
	Haplustol	1,54 $\pm$ 0,10	1,26 $\pm$ 0,44	1,2	2 ^o
N(%)	Argiudol	0,188 $\pm$ 0,03	0,179 $\pm$ 0,01	1,06	3 ^o
	Hapludol	0,127 $\pm$ 0,04	0,081 $\pm$ 0,02	1,56	1 ^o
	Haplustol	0,140 $\pm$ 0,01	0,123 $\pm$ 0,04	1,13	2 ^o
C/N	Argiudol	11,8 $\pm$ 0,82	11,2 $\pm$ 0,48	1,05	2 ^o
	Hapludol	11,0 $\pm$ 0,68	10,7 $\pm$ 0,64	1,02	3 ^o
	Haplustol	11,0 $\pm$ 0,78	10,3 $\pm$ 0,74	1,07	1 ^o
$N(N_2O)$	Argiudol	416 $\pm$ 193	428,6 $\pm$ 463,4	0,97	3 ^o
	Hapludol	353 $\pm$ 154	55 $\pm$ 37	6,41	1 ^o
	Haplustol	472 $\pm$ 383	326 $\pm$ 276	1,44	2 ^o

Los Hapludoles cultivados perdieron 1,6 veces la cantidad de C y de N de los testigos, pero su capacidad de desnitrificación disminuyó más de 6 veces. A medida que disminuye esta relación en C y N también lo hace en N_2O aunque no proporcionalmente: los Hapludoles cultivados pierden la potencialidad desnitrificadora de los testigos en mayor proporción que los Haplustoles y esta tendencia parece revertirse en los Argiudoles.

Aparentemente, la desnitrificación está ligada a la disponibilidad de C y de N y los suelos empobrecidos por años de cultivo presentan menor cantidad de material energético utilizable por los desnitrificadores; en consecuencia, se libera menos N_2 a la atmósfera. Probablemente los valores de 0,87 de C y de 0,081 de N en Hapludoles estén por debajo de los niveles limitantes para que los des-

nitrificadores puedan manifestarse. Por lo tanto, estos elementos pueden ser utilizados en otros procesos bacterianos, más competitivos en estas circunstancias.

Estas observaciones concordan con la tasa anual media de degradación del N total y C orgánico en suelos de distintas regiones del país (Casas, 1984). En Hapludoles no existe coincidencia, ya que según el dato presentado por Oliverio (1984) (citado por Casas, op. cit.) este suelo en 15 años de cultivo presenta las menores pérdidas de nitrógeno respecto de los otros grupos.

Al parecer, el nitrógeno que se pierde en Hapludoles no es por desnitrificación sino por otro mecanismo; por lo tanto se puede pensar que este grupo presentan mejores perspectivas para el rendimiento de la fertilización.

Otro factor que incide en la desnitrificación es el agua. Myrold y Tiedje (op. cit.) demostraron baja respuesta de la capacidad desnitrificadora en relación al contenido de agua por debajo del punto de saturación y atribuyen la misma al pequeño tamaño de agregados que se usaron. Hay gran interrelación entre agregados, sus poros, sus capilares y la difusión de gases y el agua. Sextone et al. (1985) trabajaron comparativamente con un suelo arenoso sin agregados y con un suelo arcilloso con

agregados, e irrigados, observando su respuesta a la desnitrificación. Las pérdidas de nitrógeno del suelo arcilloso duplicaron las del suelo arenoso, aún cuando éstos habían recibido el doble de volumen de agua. En la Fig. 2, en cualquiera de los tres Molisoles pertenecientes a los grandes grupos analizados, la desnitrificación es función del agua agregada, tanto debajo del PMP como por encima del punto de saturación.

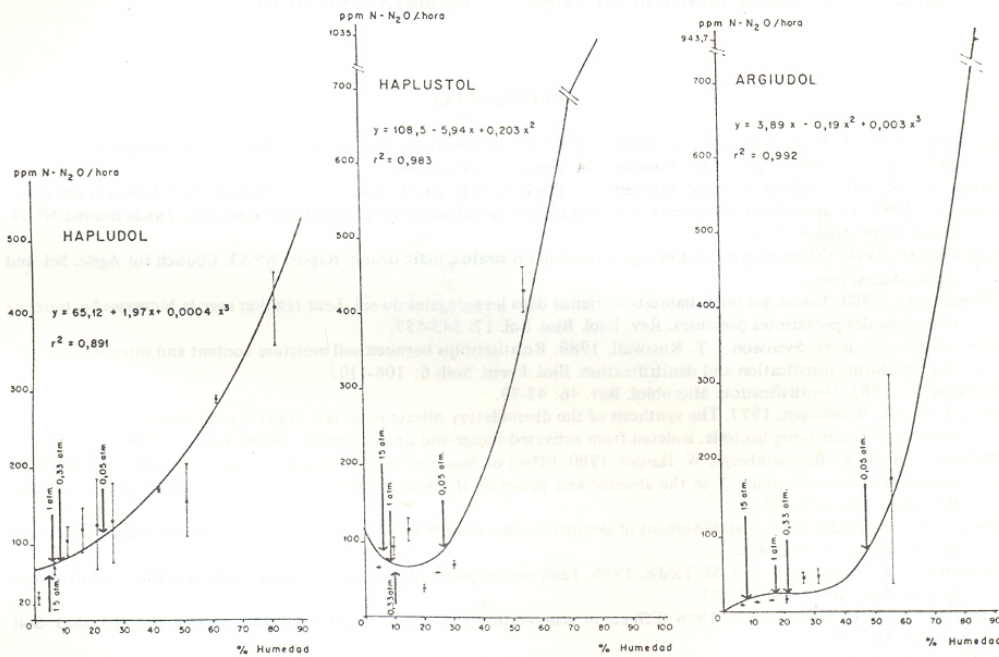


Fig. 2. Influencia de la humedad sobre la desnitrificación en tres suelos Molisoles de la pradera pampeana.

⊥ Indica desviación estándar.

Kilhertus (1980), estudiando los microhabitats contenidos en los agregados, observó que la superficie y el interior de los mismos pueden tener distintas condiciones de anaerobiosis. La superficie de los agregados puede estar bien aireada, pero puede no suceder lo mismo en su interior. La circulación del agua y de los gases es frenada por el diámetro de los poros capilares vecinos a $2 \mu\text{m}$. Estas retenciones son muy importantes. El espacio vital mínimo para una bacteria es de $0,8 \mu\text{m}$; dada la exigüidad de estos microhabitats en relación con el tamaño bacteriano y las dificultades de difusión de los gases, las condiciones de anaerobiosis pueden establecerse rápidamente.

La presencia de N_2O por debajo de PMP y entre PMP y HE podrían explicarse por: a) coexistencia de micrositios anaerobios en un ambiente aerobio debido a la velocidad de difusión de los gases y tamaño de poros; b) consumo de O_2 por los aerobios; c) liberación de N_2O durante la oxidación de NH_4 (Blackmer et al., 1980; Klemetsson et al., 1988); d) existencia probable de desnitrificación aerobia (Krul y Weening, 1977; Meiberg et al., 1980).

En cambio no es fácil explicar la linealidad observada en la producción de N_2O , aún por encima del punto de saturación. En estos suelos inundados no hay poros llenos de aire y se establece

un gradiente de O_2 en los milímetros superficiales. Si el cociente respiratorio de los aerobios móviles de la superficie es tal que el consumo de O_2 es mayor que su suministro, la anaerobiosis sería total en profundidad; entonces las posibilidades de vida en ese ambiente se verían facilitadas por la mayor altura de la capa acuosa sobrenadante.

Considerando una determinada cantidad de C soluble en el suelo, es probable que en las muestras más saturadas esta fuente energética se encuentre más diluida. En la película superficial, en compe-

tencia, pueden ser beneficiados los nitrificadores (quimiolitótrofos). En estas condiciones hay más nitratos en las muestras con mayor cantidad de agua, y se favorecería la síntesis y/o la actividad de las enzimas desnitrificadoras.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo pudo realizarse gracias a un convenio existente con la Comunidad Económica Europea y el CONICET.

REFERENCIAS

- Blackmer, A. M.; J. M. Bremner y E. L. Schmidt, 1980. Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 1060-1066.
- Bremner, J. M., 1965. Organic forms of Nitrogen. En: Black, C. A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis - Part 2*, Wisconsin. USA.
- Casas, R., 1984. La agricultura permanente y la degradación de los suelos en la República Argentina. Tirada interna N° 74. INTA. Dept. Suelos, 21 p.
- Cast Report., 1976. Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. Report N° 53. Council for Agric. Sci. and Tech. Ames, Iowa.
- Kilbertus, G., 1980. Etude des microhabitats contenus dans les agregates du sol. Leur relation avec la biomasse bacterienne et la taille des procariotes presentes. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 17: 543-557.
- Klemetsson, L.; B. H. Svensson y T. Rosswall, 1988. Relationships between soil moisture content and nitrous oxide production during nitrification and denitrification. *Biol. Fertil. Soils* 6: 106-110.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46: 43-70.
- Krul, J. M. y R. Weening, 1977. The synthesis of the dissimilatory nitrate reductase under aerobic conditions in a number of denitrifying bacteria, isolated from activated-sludge and drinking water. *Water Res.* 11: 39-43.
- Meiberg, J. B.; P. M. Bruinemberg y W. Harder, 1980. Effect of dissolved oxygen tension on the metabolism of methylated amines in *Hiphomicrobium X* in the absence and presence of nitrate: evidence for "aerobic" denitrification. *J. Gen. Microbiol.* 120: 453-463.
- Myrold, D. y J. Tiedje, 1985. Establishment of denitrification capacity in soil: effects of carbon, nitrate and moisture. *Soil Biol. Biochem.* 17: 819-822.
- Sextstone, A. J.; T. B. Parkin y J. M. Tiedje, 1985. Temporal response of soil denitrification rates to rainfall and irrigation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 99-103.
- Smid, A. E. y E. G. Beauchamp., 1976. Effects of temperature and organic mater on denitrification in soil. *Can. J. Soil Sci.* 56: 385-391.
- Steele, K. W.; P. M. Bonish y S. V. Sarathchandra, 1984. Denitrification potential and microbiological characteristics of some North. Islands soils. *New Zealand Journal of Agric. Res.* 27: 525-530.
- Stefanson, R. C., 1976. Denitrification from nitrogen fertilizaer placed at various depths in the soil-plant system. *Soil. Sci.* 121: 353-363.
- Tiedje, J. M., 1980. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. En: Zehnder, A. J. B. (Ed.). *Biology of Anaerobic microorganisms*, J. Wiley.
- Tiedje, J. M.; A. J. Sextstone; D. D. Myrold y J. A. Robinson, 1982. Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie van Leeuwenhoch*, 48: 569-583.
- Walkley, A. y T. A. Black, 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- Woldendorp, J. W., 1963. The influence of living plants on denitrification. *Meded Landbouwhogeschool Wageningen, Nederland* 63: 1-100.