



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Agrarias

Trabajo Final de Graduación

Modalidad Pasantía

Título

**Entrenamiento en la determinación de Nitrógeno anaeróbico en suelos bajo
pastizal natural y forestaciones de pinos en Inceptisoles de Corrientes.**

Pasante

Álvarez, Gabriel Hernán

Directora

Ing. Agr. Grancic, Carla Eliana

Año 2023

Introducción:

El nitrógeno (N) es el nutriente más limitante para la producción de cultivos en las zonas agrícolas, especialmente en los cultivos de cereales (Zebarth *et al.*, 2009). Las formas orgánicas de N constituyen hasta el 95% del N total en la capa arable de los suelos. A pesar de la gran cantidad de N orgánico que se encuentra en el suelo, se estima que sólo del 1 al 3% del total es mineralizado (Keeney y Nelson, 1982; Curtin Wen, 1999). Los vegetales toman el N bajo las formas minerales (NH_4^+ y NO_3^-) constituyendo estas formas minerales al sustento de la biomasa en crecimiento (Echeverría y García, 2005). El concepto del potencial del suelo para mineralizar el nitrógeno orgánico (NPM), fue propuesto inicialmente por Stanford y Smith, 1972. El mismo hace referencia a la cantidad del N orgánico que puede ser convertido, por la actividad de la biomasa microbiana aerobia heterótrofa, a formas inorgánicas solubles (fundamentalmente NH_4^+ y NO_3^-). Es decir, es una alternativa eficaz para cuantificar el aporte de N del suelo para los cultivos, ya sea para generar recomendaciones de aplicación de fertilizantes nitrogenados (Campbell *et al.*, 1996) o para evaluar la eficacia de nuevas alternativas (Gianello y Bremner, 1986).

Urquieta (2008), determinó contenidos promedios del nitrógeno potencialmente mineralizable (NPM) en suelos prístinos de 138 mg kg^{-1} , con valores máximos y mínimos de 222 y 71 mg kg^{-1} respectivamente en suelos del sudeste bonaerense. En un relevamiento de suelo realizado en la provincia de Buenos Aires, Reussi Calvo *et al.*, (2011), determinaron niveles promedio de NPM desde 25 hasta 115 mg kg^{-1} según la zona, siendo mayores los valores en el Este y menores en el Oeste de la provincia. Esto constituye una evidencia de los diferentes potenciales de mineralización de N que poseen los suelos, los cuales deberían ser considerados al momento de ajustar la dosis de N para los cultivos (Reussi Calvo *et al.*, 2013). El potencial de mineralización de N de los suelos se ve afectado por el uso del suelo, por la historia agrícola, las prácticas de manejo, como así también por las condiciones climáticas principalmente humedad y temperatura. (Alvarez y Steinbach, 2011).

En ensayos controlados, la mayoría de las estimaciones de la contribución de N por mineralización del suelo, se basan en las incubaciones aeróbicas durante largos períodos (Stanford y Smith, 1972). Sin embargo, esta metodología demanda mayor tiempo de procesamiento (Walley *et al.*, 2002), existiendo diferentes métodos biológicos y químicos, más rápidos y sencillos utilizados para la determinación del potencial de mineralización de N orgánico (Waring y Bremner, 1964). Estas metodologías permiten determinar la fracción del N del suelo que es susceptible de ser transformada en formas minerales.

Waring y Bremner (1964), propusieron un método biológico para estimar el NPM, el mismo se basa en una incubación anaeróbica corta a 40°C, metodología que ha sido recomendada luego por autores como Gianello y Bremner (1986). El N-NH_4^+ , producido durante un corto período anaeróbico de incubación (Nan), es extractado con ClK y luego destilado. Esta destilación es recogida en ácido bórico + indicador, para luego determinar el N-NH_4^+ de la muestra por medio de una titulación con ácido sulfúrico diluido (exactamente valorado). Es importante mencionar también, que para conocer el valor del Nan, se realiza la medición del N luego de la incubación anaeróbica y la medición del N inicial (N-NH_4^+ del suelo sin incubar) (Gianello y Bremner, 1986; Mulvaney, 1996). La diferencia entre ambos, permite determinar el nitrógeno orgánico mineralizado anaeróbicamente (Nan), proveniente de la materia orgánica lábil. El Nan ha sido propuesto como un estimador rápido y preciso de NPM, ya que existe una alta correlación entre ellos (Echeverría *et al.*, 2000; Soon *et al.*, 2007).

En el presente Trabajo Final de Graduación, el entrenamiento en la determinación del potencial de mineralización del nitrógeno se realizó empleando muestras de suelos ya obtenidas bajo pastizales y forestaciones de pinos que pertenecen a un Proyecto acreditado de la Cátedra de Edafología. Hasta el momento son escasos los estudios que incluyen NPM ó Nan como atributos de calidad evaluados en Inceptisoles de Corrientes.

Los inceptisoles son suelos de reciente formación, caracterizados por presentar un desarrollo incipiente del perfil, se definen como suelos inmaduros con débil expresión morfológica, muestran horizontes alterados que han sufrido pérdida de bases, hierro y aluminio, pero conservan considerables reservas de minerales meteorizables. Una secuencia de horizontes representativa de Inceptisoles, incluye un epipedón pobre en materia orgánica o muy corto (epipedón ócrico), apoyado sobre un horizonte de alteración, (horizonte cámbico) (Escobar *et al.*, 1996).

Objetivo:

El objetivo de este trabajo fue adquirir entrenamiento en la técnica de determinación del nitrógeno potencial en muestras de suelos correspondientes a Inceptisoles de Corrientes, mediante una incubación anaeróbica en laboratorio.

Materiales y métodos:

Se trabajó con muestras de suelo correspondientes a Inceptisoles del Departamento Ituzingó (Corrientes) bajo forestaciones de Pinos y pastizales naturales, obtenidas por personal perteneciente a la Cátedra de Edafología. Las mismas ya fueron secadas al aire, molidas y tamizadas por malla de 2 mm (tamiz N°10). (Foto N° 1-a)



Foto N° 1-a: Muestras de suelo y Tamiz N° 10

La metodología que se empleó para determinar el potencial del suelo para mineralizar nitrógeno, se basa en el método propuesto por Waring y Brenner (1964) modificado por Kenney y Nelson (1982), se encuentra descripto en detalle en Arzuaga *et al.*, 2022.

Se emplearon los siguientes materiales:

- Tamiz de 2 mm
- Recipientes con tapón hermético, tubos de centrifuga tipo Falcón con pollerita de 100 ml

- Balanza analítica (precisión)
- Estufa para incubación calibrada a 40°C
- Agitador oscilatorio
- Balón de destilación de 100 ml
- Pipeta automática de 5 y 10 ml
- Equipo de destilación tipo Kjeldahl
- Pipetas de vidrio de 10 ml
- Matraces Erlenmeyer de 50 ml
- Microbureta de titulación con precisión de 0,01 ml
- Agitador orbital para titulación
- Centrífuga (3500 rpm)

Los elementos y reactivos que se emplearon fueron:

- Agua destilada
- Cloruro de potasio (ClK) para preparar soluciones concentradas de 2N y 4N
- Hidróxido de sodio (NaOH) para preparar soluciones concentradas de 10N
- Solución indicadora de Ácido bórico + mezcla de indicadores. Se colocaron 40 g de ácido bórico p.a. (H_3BO_3) en un vaso de precipitado de 2 litros y se agregaron 40 ml de la mezcla de indicadores. Se agitó hasta la disolución completa, se midió el pH y ajustó a 5 con el agregado de NaOH 0,01N
- Mezcla de indicadores: se disolvieron 0,3 g de verde de bromocresol y 0,165 g de rojo de metilo en 500ml de etanol (Keeney y Nelson, 1982. In: Page *et al.* 1982). Se trasvasó a un matraz de 2 litros y se aforó
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,01N valorado: para obtener ácido sulfúrico 0,01N exactamente valorado, cuyo factor de corrección es incorporado en los cálculos (Fc), se prepararon las soluciones de biftalato de potasio 0,01N, hidróxido de sodio 0,01N y H_2SO_4 0,01N, para luego valorar esta última
- Verde de bromocresol
- Rojo de metilo
- Etanol
- Ácido bórico
- Azul de Bromotimol

Descripción de tareas:

El procedimiento se dividió en tres partes: determinación de nitrógeno inicial del suelo, determinación de nitrógeno incubado y determinación de NPM por diferencia entre el N incubado y el N inicial del suelo.

1- Se pesaron en una balanza de precisión, 5 g de suelo de cada muestra tanto para la determinación de Nitrógeno inicial como para la determinación Nitrógeno incubado, en tubos de centrifuga previamente tarados. (Foto N° 2-a, 2-b)



Foto N° 2-a: Balanza de precisión + dosificador Foto N° 2-b: Tubos de centrifuga

2- Las incubaciones anaeróbicas se realizaron colocando 15 ml de H₂O destilada en tubos de centrifuga con 5 g de suelo tamizado por malla de 2 mm, luego se taparon herméticamente para mantener la anaerobiosis, y se llevaron a estufa durante 7 días a 40°C, metodología propuesta por Waring y Brenner (1964). Después del tiempo de incubación, se agregaron 15 mL de CIK 4N y se llevaron a un agitador mecánico donde fueron colocadas durante 1 hora a 125 rpm, luego se depositaron en celdas de una centrifugadora a 2.800 rpm durante 6 minutos y del sobrenadante se tomó una alícuota de 5 ml por muestra, se agregaron 3 ml de NaOH 10N para realizar una micro destilación por arrastre de vapor (Kenney y Nelson, 1982), obteniendo como resultado el N-NH₄⁺ de incubación. (Foto N° 3-a, 3-b, 3-c, 3-d)



Foto N° 3-a: Estufa calibrada a 40° C



Foto N° 3-b: Agitador



Foto N° 3-c: ClK
(sustancia pura para preparar) ClK 4N y 2N

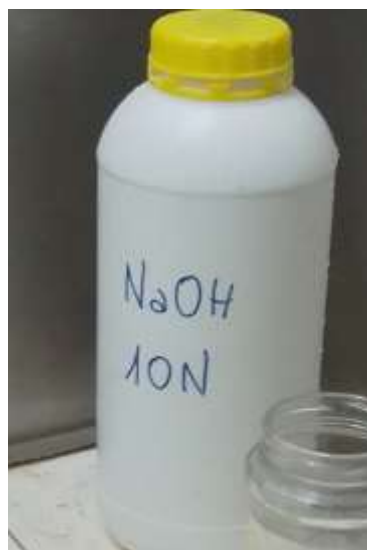


Foto N° 3-d: Solución de NaOH 10N

3- Para determinar el contenido de N-NH_4^+ inicial en las muestras, se pesaron 5 g de suelo seco al aire, se agregaron 30 ml de ClK 2N, se agitó 1 hora a 125 rpm, una vez

cumplido ese tiempo se colocaron las muestras en una centrifugadora durante 6 minutos a 2.800 rpm. (Foto N° 4-a, 4-b).



Foto N°4-a: Centrifugadora



Foto N°4-b: Muestras centrifugadas

4-Luego se tomó una alícuota de 5 ml por muestra, se agregaron 3 ml de NaOH 10N que se destiló por arrastre de vapor y se cuantificó el N-NH_4^+ titulando con un ácido débil y a través de los cálculos se obtuvieron los valores tanto para Nitrógeno inicial como Nitrógeno incubado (Kjeldahl, 1883). (Foto N° 5-a, 5-b).



Foto N° 5-a: Destilador por arrastre de vapor



Foto N° 5-b: Titulador

El trabajo de laboratorio se realizó con adecuada luz y ventilación, y el proceso de destilación bajo campana de extracción de gases por el uso de álcalis concentrados como NaOH 10N. Se emplearon guardapolvo, guantes, barbijo y gafas protectoras.

Conclusión:

Este trabajo me permitió adquirir conocimientos y práctica en el laboratorio, en la determinación de Nitrógeno anaeróbico en suelos bajo sistemas natural y forestal.

El Nitrógeno potencialmente mineralizable obtenido permite conocer el potencial del suelo para mineralizar el nitrógeno que se encuentra contenido en la materia orgánica del suelo.

En mi formación como futuro profesional, este trabajo me permitió conocer los pasos que se deben realizar en el laboratorio para la obtención de Nitrógeno anaeróbico en suelos, el manejo de material de vidrio, preparación de soluciones, limpieza del material, y conocer medidas de seguridad e higiene.

Lugar de realización:

Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias, Laboratorio Cátedra de Edafología.

Bibliografía:

Alvarez, R. y Steinbach, H.S. (2011). Modeling Apparent Nitrogen Mineralization Under Field Conditions Using Regressions and Artificial Neural Networks. *Agron. J.* 103: 1159-1168.

Arzuaga, S.A. ...[et al.]; (2022) coordinación general de María Elena CastelánMetodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo / - 1a edición para el alumno - Corrientes : Editorial de la Universidad Nacional del Nordeste EUDENE ; Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo . Libro digital, PDF - (Ciencia y técnica)

Campbell, C.A., Jame, Y.W., Akinremi, O.O. y Cabrera, M.L. (1996). *Adapting the potentially mineralizable N concept for the prediction of fertilizer N requirement*. In: Ahmad N. (Ed.) Nitrogen economy in tropical soils. Kluwer. Holanda. 61-76 pp.

Curtin, D. y Wen, G. (1999). Organic matter fractions contributing to soil nitrogen mineralization potential. *Soil Science Society of America Journal*, 63:410-415.

Echeverría, H.E., Garcia, F.O. (2005). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. Balcarce: Edición INTA.

Escobar, E. H., Ligier, H., Melgar, R., Matteio, H. y Vallejos, O. (1996). Mapa de suelos de la provincia de Corrientes, INTA. pp. 258

Gianello, C. y Bremner, J. M. A. (1986). *Simple chemical method of assessing potentially available organic nitrogen in soil*. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 17: 195- 236.

Keeney, D. R. y Nelson, D. W. (1982). *Nitrogen-Inorganic Forms*. En: Page, A. L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Agronomy Monograph 9, Part 2* (2nd ed.). Madison, WI: ASA, SSSA. pp. 643-698

Kjeldahl, J. (1883). New method for the determination of nitrogen in organic substances, *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22 (1): 366-383.

Mulvaney, R. L. (1996). Nitrogen-Inorganic Forms. In D. L. Sparks, A. L. Page, P. A. Helmke, R. H. Loeppert, P. N. Soltanpoor, M. A. Tabatabai, C. T. Johnston, & M. E. Sumner (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods* (pp. 1123-1184). SSSA Book Series No. 5, Madison, WI: SSSA.

Page, A.L., Miller, R.H. y Keeney, D.R. (1982). *Methods of Soil Analysis*. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy. En: Soil Science Society of America, p. 1159.

Reussi Calvo, N., Echeverría, H.E. y Sainz Rozas, H. (2011). Diagnosing sulphur deficiency in spring red wheat: plant analysis. *J. PlantNutr.* 34: 573-589.

Reussi Calvo, N., Saiz Rozas, H., Berardo, A., Echeverría, H.E. y Diovisalvi, N. (2013). Simposio de Fertilidad 22 y 23 de mayo, Rosario, Santa Fé, Argentina 269-272.

Soon Y. K., Haq, A. y Arshad, M. A. (2007). Sensitivity of nitrogen mineralization indicators to crop and soil management. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38, 2029-2043.

Stanford, G. y Smith, S.J. (1972). *Nitrogen Mineralization Potentials of soils*. Soil Science Society of American Proceedings, 36 (3): 465-472.

Urquieta, J. F. (2008). Nitrógeno potencialmente mineralizable anaeróbico en suelos del sudeste bonaerense y su relación con la respuesta a nitrógeno en trigo. Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Argentina

Walley, F., Yates, T., Van Groenigen, J. W. y Van Kessel, C. (2002). Relationships between soil nitrogen availability indices, yield, and nitrogen accumulation of wheat. *Sci. Soc. Am. J.* 66 (5): 1549-1561.

Waring, S.A. y Bremner, J.M. (1964). *Ammonium production in soil under waterlogged condition as an index of nitrogen availability*. *Nature* 201: 951-952.
<https://doi.org/10.1038/201951a0>

Zebarth, B.J., Dury, C.F., Tremlay, N. y Cambourisan (2009). Opportunities for improved fertilizer nitrogen management in production of arable crops in eastern Canada: A review. *Canadian Journal of Soil Science*, 89:113–132.

ANEXO

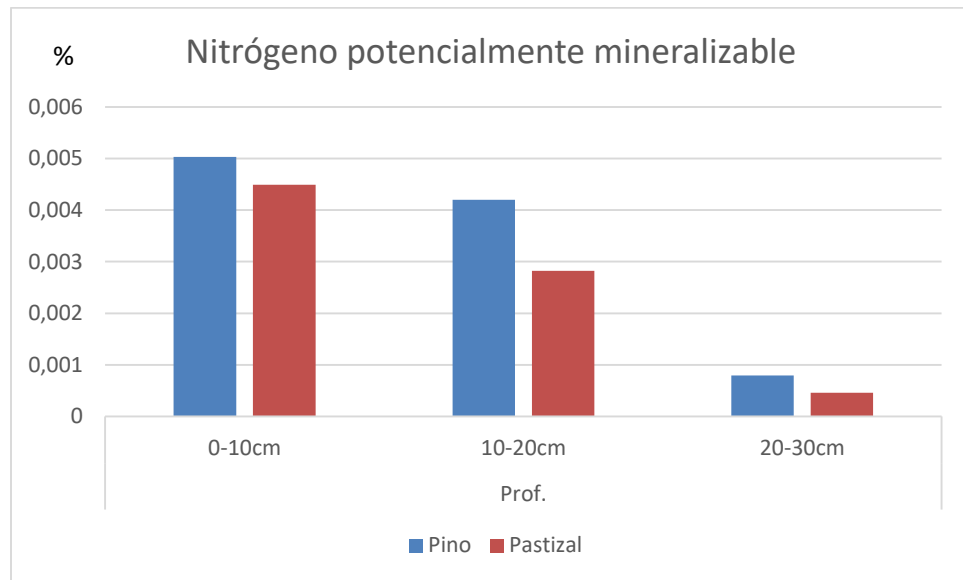


Fig. 1 : Promedios obtenidos para pastizal y pino en las distintas profundidades