

NH₃-N, NO₃-N y N-MINERAL EN LOS SUELOS DEL VALLE DEL CAUCA CON Y SIN ADICION DE CO₃Ca Y PRODUCCION DE CO₂

Mario Blasco L. (*) y A. H. Cornfield (**)

I — INTRODUCCION

El conocimiento del metabolismo de los compuestos orgánicos nitrogenados y la formación de N-Mineral es de excepcional importancia en el estudio de la fertilidad de los suelos. En este trabajo mineralización o amonificación significa la conversión de compuestos orgánicos nitrogenados en NH₃-N y nitrificación está restringido a la conversión de NH₄-N en NO₃-N. Como es obvio N-Mineral es la suma de NH₃-N y NO₃-N.

II — REVISION DE LITERATURA

En síntesis el mecanismo de la amonificación y nitrificación consiste en que la fracción orgánica nitrogenada de los suelos (principalmente proteínas, ácidos nucleicos y sus derivados) es metabolizada por acción enzimática (proteinasas, peptidasas, amidasas, etc.) de los microorganismos, o por agentes químicos, a compuestos más simples y NH₃-N. La conversión de NH₃-N a NO₂-N procede vía NH₂OH. Y en la última parte de la reacción está envuelto un Fe-citocroma que, como transportador de oxígeno, interviene en la oxidación de NO₂-N a NO₃-N. (Alexander, 1; Anderson, 2; Lees y Simpson, 16; Nichol, 18; Winogradsky, 26).

Una gran diversidad de bacterias, hongos, actinomicetos, etc. puede intervenir en la amonificación. En cambio la nitrificación es un proceso aeróbico realizado por bacterias caracterizadas por su metabolismo quimioautotrófico obligatorio, derivando su entera energía de la oxidación de NH₃-N a NO₂-N, y de NO₂-N a NO₃-N (Meiklejohn, 17; Winogradsky, 26; Winogradsky y Winogradsky, 25). No obstante estudios desarrollados a partir de Barrit (3), Jensen (14), Quastel, et alia (19) y Schmidt (21) señalan que en la nitrificación también pueden intervenir organismos heterotróficos.

El pH es uno de los factores más influyentes en las reacciones estudiadas. Anderson (2) ha encontrado que el pH óptimo para la

(*) M. Blasco L., Ph. D. Prof. Depto. Suelos Fac. Agronomía. Palmira. U. Nal.

(**) A. H. Cornfield. Prof. Dpto. Química Imperial College Sci. Tech. U. Londres.

oxidación de $\text{NH}_3\text{-N}$ es 8.6 y los valores óptimos de pH para las formaciones de NH_2OH y $\text{NO}_2\text{-N}$ son 8.6 y 7.2 respectivamente. La nitrificación ocurre mejor en reacciones neutras y aunque se deprime considerablemente por debajo de pH 6.0 puede continuar a pH 4.0 o inferiores (Alexander, 1; Weber, y Gainey 24). En suelos ácidos la adición de calcio tiene un efecto estimulante para obtener una nitrificación aceptable (Harmsen y van Schreven, 13).

El único estudio sistemático anterior en suelos colombianos fue realizado por Ramírez (20), quien mediante la técnica de incubación de Stanford y Hanway (23) y determinación por ácido fenoldisulfónico, encontró que la producción de $\text{NO}_3\text{-N}$ en suelos del Valle representaba 1.78% del N-Total.

III — MATERIALES Y METODOS

Los suelos utilizados en este experimento aparecen descritos en el número anterior de Acta Agronómica (Blasco y Cornfield, 6).

La determinación de $\text{NH}_3\text{-N}$ y $\text{NO}_3\text{-N}$ fue realizada en los suelos originales y en los incubados utilizando el método de microdifusión de Bremner y Shaw (8), utilizándose celdas Conway modificadas. En la cámara central se colocaron 2 ml. de 2% H_3BO_3 y en la cámara exterior una alícuota (5 ml.) del extracto del suelo (extracción con N-CINa , 25 ml./10 gr. suelo) más 3 ml. de una suspensión recién preparada de 12% MnO (p/v) para determinar $\text{NH}_3\text{-N}$. Para $\text{NH}_3\text{-N}$ más $\text{NO}_3\text{-N}$ a la cámara exterior se adicionó además 1 ml. de una solución de $(\text{SO}_4)_3\text{Ti}_2$ (15 ml. de 15% $(\text{SO}_4)_3\text{Ti}_2$ diluido a 50 ml.). Por rotación cuidadosa se conseguía la mezcla homogénea en la cámara exterior.

Las celdas convenientemente selladas (goma de acacia) se mantuvieron a 30°C durante 48 horas. La titración de la cámara central fue realizada con 0.01 N-HCl utilizando metil rojo más metileno azul como indicador. Se llevaron los correspondientes blancos.

Para la incubación se procedió así: 10 g. de cada suelo (secos al aire, 2 mm tamiz) con y sin adición de 1% de CO_3Ca fueron colocados en tubos de ensayo y se ajustó la humedad a 33% de la máxima capacidad de retención de agua (mcra). Para suministrar aireación y absorber la producción de CO_2 , siguiendo la técnica de Cornfield (11), se introdujo en cada tubo de ensayo un vial conteniendo 0.2 g. de peróxido de bario y 0.1 ml. de solución saturada de hidróxido de bario. Los viales se reemplazaron periódicamente, midiéndose el CO_2 absorbido en un calcímetro. Los tubos de ensayos se taponaron con caucho, preparándose suficientes replicaciones para incubar a 30°C durante 3, 6 y 12 semanas.

IV — RESULTADOS

En la Tabla I se indican los pH y los resultados obtenidos en los suelos originales (sin incubación). Las Tablas II, III y IV muestran los valores obtenidos después de 3, 6 y 12 semanas de incubación res-

pectivamente (suelos con y sin adición de 1% de CO₃Ca). Los valores de estas tres Tablas son acumulativos con relación a los que aparecen en la Tabla I.

— T A B L A I —

pH, NH₃-N, NO₃-N y N-Mineral en suelos originales (sin incubación).
Resultados en p p m

S u e l o s	pH	NH ₃ -N	NO ₃ -N	N-Mineral
1—Palmira	6.30	8.0	4.9	12.9
2—Villarrica	4.70	19.5	2.8	22.3
3—Jamundí	5.00	12.1	18.8	30.9
4—Cerritos	5.60	12.6	2.1	14.7
5—Salino Palmaseca	7.20	7.3	4.9	12.2
6—Salino Sódico Palmas.	7.70	5.9	3.2	9.1
7—Risaralda	5.90	11.5	3.5	15.0
8—Buenaventura	5.20	8.1	7.7	15.8

— T A B L A II —

Acumulación de NH₃-N, NO₃-N y N-Mineral durante 3 semanas de incubación (30°C-33% mcra) de los suelos con y sin adición de CO₃Ca. Resultados en ppm.

S u e l o s	Sin CO ₃ Ca			Con 1% CO ₃ Ca		
	NH ₃ -N	NO ₃ -N	N Min.	NH ₃ -N	NO ₃ -N	N Min.
1—Palmira	26.2	25.9	52.1	-5.4	37.3	31.9
2—Villarrica	71.0	-2.8	68.2	54.7	9.8	64.5
3—Jamundí	105.1	2.6	107.7	66.4	4.7	71.1
4—Cerritos	100.5	24.0	124.5	71.1	3.8	74.9
5—Sal. Palmaseca	-1.5	3.2	1.7	-4.8	11.8	7.0
6—Sal. Sod. Palmaseca	-2.4	4.6	2.2	-3.8	1.7	-2.1
7—Risaralda	108.0	24.9	132.9	43.1	41.7	84.8
8—Buenaventura	57.4	8.0	65.4	49.3	10.0	59.3

— T A B L A III —

Acumulación de NH₃-N, NO₃-N y N-Mineral durante 6 semanas de incubación (30°C-33% mcra) de los suelos con y sin adición de CO₃Ca. Result. en ppm.

S u e l o s	Sin CO ₃ Ca			Con 1% CO ₃ Ca		
	NH ₃ -N	NO ₃ -N	N Min.	NH ₃ -N	NO ₃ -N	N Min.
1—Palmira	-8.0	70.5	62.5	-8.0	70.8	62.8
2—Villarrica	77.9	6.5	84.4	71.4	27.0	98.4
3—Jamundí	97.5	19.5	117.0	89.7	26.3	116.0
4—Cerritos	135.3	8.7	144.0	66.1	25.1	91.2
5—Sal. Palmaseca	-5.3	18.0	12.7	-7.3	18.9	11.6
6—Sal. Sod. Palmaseca	-5.9	31.0	25.1	-5.9	7.5	1.6
7—Risaralda	148.0	9.8	157.8	77.2	26.4	103.6
8—Buenaventura	44.7	38.1	82.8	20.7	67.4	88.1

— T A B L A IV —

Acumulación de $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ y N-Mineral durante 12 semanas de incubación (30°C -33% mcra) de los suelos con y sin adición de CO_3Ca . Result. en ppm.

S u e l o s	Sin CO_3Ca			Con 1% CO_3Ca		
	$\text{NH}_3\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	N Min.	$\text{NH}_3\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	N Min.
1—Palmira	—8.0	72.9	64.9	—8.0	71.8	63.8
2—Villarrica	78.3	12.4	90.7	77.4	33.0	110.4
3—Jamundí	99.7	20.3	120.0	150.8	28.5	179.3
4—Cerritos	140.2	10.3	150.5	145.3	28.0	173.3
5—Sal. Palmaseca	—7.3	20.1	12.8	—7.3	17.4	10.1
6—Sal. Sod. Palmaseca	—5.9	33.5	27.6	—5.9	6.6	0.7
7—Risaralda	109.5	30.2	139.7	117.0	30.5	147.5
8—Buenaventura	38.2	45.2	93.5	79.6	31.9	111.5

La tabla V presenta los resultados obtenidos en la producción de CO_2 en los suelos sin adición de carbonato de calcio.

— T A B L A V —

Producción de CO_2 , en miligramos por 10 gramos de suelo, durante 3, 6 y 12 semanas de incubación (30°C -33% mcra). Suelos sin adición de carbonato de calcio.

S u e l o s	Semanas de Incubación		
	3	6	12
Palmira	18.9	10.6	8.0
Villarrica	27.5	18.4	10.3
Jamundí	35.8	13.7	9.5
Cerritos	38.3	18.0	11.2
Sal. Palmaseca	18.9	13.1	7.0
Sal. Sod. Palmaseca	23.0	16.5	11.1
Risaralda	33.4	29.8	15.3
Buenaventura	18.6	12.4	9.8

V — DISCUSION

Los resultados obtenidos en el experimento son concordantes con los encontrados en suelos de áreas templadas (Cornfield, 9; Harmsen y van Schreven, 13). En los suelos ácidos sin adición de CO_3Ca , la acumulación de N-Mineral se debió principalmente a $\text{NH}_3\text{-N}$. Es bien conocido (Alexander, 1) que la formación de $\text{NO}_3\text{-N}$ en suelos ácidos es escasa a causa de la sensibilidad de los microorganismos nitrificantes a bajos pH. En los suelos halomórficos (Palmaseca) durante la incubación solamente se acumuló $\text{NO}_3\text{-N}$. En el suelo Palmira (cercano a la neutralidad) el $\text{NH}_3\text{-N}$ acumulado durante las tres primeras semanas fue transformado en $\text{NO}_3\text{-N}$ en los periodos posteriores de

incubación. Este suelo produjo mayor cantidad de nitratos que el resto debido a que el máximo de la actividad bacteriana ocurre a pH cercanos a la neutralidad.

La más alta mineralización del nitrógeno se obtuvo en suelos ácidos. Como sugiere Cornfield (10) es posible que los residuos orgánicos nitrogenados hayan tendido a acumularse en mayor proporción en los suelos ácidos. La más baja mineralización del nitrógeno se presentó en los suelos salinos. Boon y Laudelout (7) señalan que en medio alcalino la oxidación de nitritos está restringida por la disolución de un lugar activo en el sistema enzimático de los microorganismos.

La adición del carbonato de calcio a los suelos ácidos incrementó la acumulación de nitrato y deprimió la acumulación de amoníaco. En las primeras seis semanas de incubación se encontró alguna disminución en la mineralización del nitrógeno. En conexión con este hecho Kononova (15) indica que la adición de carbonato de calcio a los suelos retarda la descomposición de las sustancias húmicas debido a la formación de Ca-humatos y compuestos órgano minerales. Esta condición desapareció después de 12 semanas de incubación ya que en todas las muestras se produjo más nitrógeno mineral con adición de carbonato de calcio. Es posible, según se desprende de los resultados, que los suelos usados en el experimento no contuviesen residuos orgánicos frescos, puesto que Cornfield (10) y Kononova (15) encontraron que el encalamiento de suelos ácidos tiende a dar un flujo de nitrógeno mineral incluso durante períodos cortos de incubación.

La adición de carbonato de calcio a los suelos halomórficos causó la depresión en la amonificación y nitrificación, especialmente en el suelo Salino Sódico Palmaseca, en donde se obtuvieron valores negativos e insignificantes. La adición de carbonato de calcio elevó el pH de estos suelos salinos a niveles en los cuales la actividad y población bacteriana aparece casi inhibida debido a exceso de sales (Alexander, 1). El suelo de Palmira, cercano a la neutralidad no mostró ningún cambio debido a la adición de carbonato de calcio. Este resultado está de acuerdo con los obtenidos por Cornfield (9, 10) quien encontró escaso incremento en la nitrificación arriba de pH 6.5, puesto que este punto es aproximadamente el óptimo para nitrificación.

La producción de CO_2 fue más grande en las primeras tres semanas que en subsiguientes períodos de incubación, concordando estos resultados con los obtenidos por Ekpete y Cornfield (12) y van Schreven (22). Con relación a la mineralización del nitrógeno Birch (4, 5) encontró que después de humedecer una muestra de suelo seco la población bacteriana que se desarrollaba era mucho más activa que las anteriores y también que las condiciones en la superficie del humus eran temporalmente mejores para mineralización. Por tanto la producción de CO_2 debe esperarse que sea mayor en los primeros estados de incubación. También, a medida de que el tiempo de incubación aumenta existe la posibilidad de que parte del CO_2 liberado sea asimilado por los organismos autotróficos.

VI — RESUMEN

Como se esperaba, la adición de carbonato de calcio a los suelos ácidos aumentó considerablemente, la acumulación de nitratos durante la incubación, y al mismo tiempo fué mineralizado más nitrógeno. En el suelo de Palmira (pH 6.3) la adición de carbonato de calcio no produjo ningún efecto, siendo los valores obtenidos casi idénticos a los encontrados en suelos no tratados. Cuando se adicionó carbonato de calcio a los suelos Salino Palmaseca (pH 7.20) y Salino Sódico Palmaseca (pH 7.70), la nitrificación y la mineralización del nitrógeno disminuyó, especialmente en el último suelo. La producción de dióxido de carbono fue más alta en los primeros estadios de incubación (3 semanas).

SUMMARY

$\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ Y MINERAL-N IN CAUCA VALLEY SOILS WITH AND WITHOUT ADDITION OF CALCIUM CARBONATE AND CO_2 EVOLUTION

As was expected, addition of calcium carbonate to acid soils considerably increased nitrate accumulation during incubation, and at the same time more nitrogen was mineralized. In the Palmira soil (pH 6.3) the addition of calcium carbonate did not produce any effect, the values obtained being almost identical with those of untreated soil. When calcium carbonate was added to the Saline Palmaseca (pH 7.20) and the Saline Sodic Palmaseca (pH 7.70) soils nitrification and mineralization of nitrogen were depressed, especially in the latter soil. The production of carbon dioxide was higher in the early stages of incubation (3 weeks).

BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDER, M.— 1964. Introduction to soil microbiology. John Wiley & Sons. Inc. New York. 472 p.
2. ANDERSON, J. H.— 1965. Estudios on the oxidation of ammonia by *Nitrosomonas* Biochem. Jour. 95: 688-698.
3. BARRIT, N. W.— 1933. The nitrification process in soils and biological filters. Ann. Appl. Biol. 20: 165-184.
4. BIRCH, H. F.— 1959. Forther observations on humus decomposition and nitrification. Plant and Soil. 11: 262-286.
5. BIRCH, H. F.— 1964. Mineralization of plant nitrogen following alternate wet and dry conditions. Plant and Soil. 20: 43-49.
6. BLASCO, M. y A. H. CORNFIELD — 1967. Comparación de diferentes extractantes para determinar el amonio intercambiable en los suelos del Valle del Cauca. Acta Agronómica 17: 1-12.
7. BOON, B. and H. LAUDELOUT.— Kinetics of nitrite oxidation by *Nitrobacter Winogradsky*. Biochem. Jour. 85: 440-447.
8. BREMNER, J. M. and K. SHAW.— 1955. Determination of ammonia and nitrate in soils. Jour. Agric. Sci. 46: 320-328.

9. CORNFIELD, A. H.— 1952. The mineralization of nitrogen of soils during incubation: Influence of pH total nitrogen and organic carbon content. *Jour. Sci. Food. Agric.* 3: 343-349.
10. CORNFIELD, A. H.— 1959 Mineralization of organic nitrogen compounds in soils as related to soil pH. *Jour. Sci. Food Agric.* 10: 27-28.
11. CORNFIELD, A. H.— 1961. A simple technique for determining mineralization of carbon during incubation of soils treated with organic materials. *Plant. and Soil.* 14: 90-93.
12. EKPETE, D. M. and A. H. CORNFIELD.— 1965. Effect of varying static and changing moisture levels during incubation on the mineralization of carbon in soil. *Jour. Agric. Sci.* 64: 205-209.
13. HARMSSEN, G. W. and D. A. VAN SCHREVEN.— 1955. Mineralization of organic nitrogen in soil. *Adv. In Agro.* 7: 299-398.
14. JENSEN, H. L.— 1951. Nitrification of oxime compounds by heterotrophic bacteria. *Jour. Gen. Microbiol.* 5: 360-368.
15. KONONOVA, M. M.— 1961. Soil organic matter. *Acad. Sci. URSS.* Pergamon Press, London 450 p.
16. LEES, H. and J. R. SIMPSON.— 1957. The biochemistry of nitrifying organisms. 5. Nitrite oxidation by *Nitrobacter*. *Biochem Jour.* 65: 297-305.
17. MEIKLEJOHN, J.— 1953. The nitrifying bacteria. A review. *Jour. Soil Sci.* 4: 59-68.
18. NICHOLAS, D. J. D.— 1963. The metabolism of inorganic nitrogen and its compounds in micro-organisms. *Biol. Rev.* 38: 530-568.
19. QUASTEL, J. H., P. G. SCHOLEFIELD and J. W. STEVENSON.— 1951. The isolation of bacteria from soil perfused with pyruvic acid oxime. *Biochem. Jour.* 51: 284-288.
20. RAMIREZ, A.— 1958. La producción de nitratos bajo incubación controlada como un método para medir la asimilabilidad del nitrógeno de los suelos. Tesis no publicada. *Fac. Agron. Palmira.* 26 p.
21. SCHMIDT, E. L.— 1954. Nitrate formation by a soil fungus. *Science.* 119: 187-189.
22. SCHREVEN, D. A. VAN.— 1964. A comparison between the effect of fresh and dried organic materials added to soil on carbon and nitrogen mineralization. *Plant and Soil.* 20: 149-165.
23. STANFORD, G. and J. HANWAY.— 1955. Predicting nitrogen fertilizer needs in Iowa soils. II, A simplified technique for determine nitrate production in soils. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.* 19: 74-77.
24. WEBER, D. F. and P. L. GAINEL.— 1962. Relative sensitivity of nitrifying organisms to hydrogen ions in soils and in solutions. 94: 138-145.
25. WINOGRADSKY, S. N. et H. WINOGRADSKY.— 1933. Etudes our la microbiologie du sol. *Ann. Ins. Pasteur.* 50: 350-432.
26. WINOGRADSKY, S. N.— 1949. *Microbiologie du sol.* Masson, et Cie. Paris 861 p.