

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**CAMBIOS EN LA ABUNDANCIA NATURAL DE ^{15}N DEBIDOS A
LA PERTURBACIÓN AGRÍCOLA**

Por

Cristina MORI ALVEZ

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el Título de Magíster
en Ciencias Agrarias, Opción Ciencias del Suelo

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2009**

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

Tesis aprobada por:

Ing. Agr. (Msc)_ Jorge Hernández _____

Ing. Agr. (PhD)_ José Terra _____

Ing. Agr. (PhD)_ Gervasio Piñeiro _____

Ing. Agr. (PhD)_ Jorge Sawchick _____

Fecha de aprobación: 30 de Junio de 2009

Autor: _____
Ing. Agr. Cristina Mori

Director de tesis: _____
Ing. Agr. Carlos H. Perdomo (PhD)

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer muy especialmente a mi profesor y director de tesis, Ph.D. Carlos Perdomo. Su asistencia en la definición y la dirección del tema ha sido crucial para el desarrollo de este trabajo, pero además es de destacar su supervisión, la cual fue más que adecuada en todo momento.

A Msc. Jorge Hernández, que aún en tiempo de licencia realizó correcciones minuciosas y detalladas a este manuscrito, sugiriendo aportes valiosos para cumplir con los estándares exigidos para una publicación científica.

A los revisores externos a la Facultad de Agronomía, los Sres. Ph.D Gervasio Piñeiro, Ph.D José Terra y Ph.D Jorge Sawchik por el aporte y el tiempo dedicado para la culminación de esta tesis. Quiero reconocer particularmente la colaboración de Piñeiro asistiendo en material bibliográfico para la revisión de este trabajo.

Al Ing. Agr. Esteban Hoffman, consultor privado, por facilitar las muestras de suelo y la información agrícola de los sitios evaluados en este estudio.

A las doctoras de la cátedra de Fertilidad de Suelos Mónica Barbazán y Amabelia del Pino por sus aportes a este trabajo. También quiero agradecer a Amabelia por su asistencia en este trabajo con material bibliográfico.

A todos mis compañeros de Dpto. de Suelos y aguas, especialmente reconocer el apoyo de los profesores Alvaro Califra y Marcelo Ferrando en relación a “soil taxonomy” y los maestrands Patricia Barreto, Laura Arló y Lucía Salvo por el “soporte” y la palabra de ánimo.

Al Dpto. de Suelos y Aguas y al Centro de Aplicaciones de Tecnología Nuclear en Agricultura Sostenible (CATNAS) de la Facultad de Agronomía de la UDELAR (Director Carlos Perdomo) por permitir el desarrollo de esta investigación. El equipamiento, un Espectrómetro de Masa de Relaciones Isotópicas (IRMS-Finnigan MAT DELTA^{plus} XL) y los recursos generados en este laboratorio fueron fundamentales para llevar a cabo esta investigación. También deseo reconocer a Msc. Verónica Berriel por su apoyo y conocimiento aportado para el uso y manejo de los equipos de éste laboratorio.

Y finalmente, muchas gracias a toda mi familia y a Tina por su apoyo en todo tiempo

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
I-INTRODUCCIÓN GENERAL	8
II-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
II 1. Técnicas basadas en Isótopos estables.....	12
II 1.1. La notación "Delta": proporción de los isótopos estables.....	12
II 2. Procesos que causan fraccionamiento isotópico	13
II 3. Modelos que describen cambios de abundancia isotópica.....	15
II 3.1. Modelo “Keeling plot”.....	15
II 3.2. Modelo de destilación Rayleigh.....	16
II 4. Uso de técnicas isotópicas para el estudio de la dinámica del nitrógeno en el sistema suelo - planta.....	18
II 4.1. Uso de técnicas isotópicas basadas en el enriquecimiento artificial con ¹⁵ N.....	18
II 4.2. Uso de técnicas isotópicas basadas en la abundancia natural de ¹⁵ N.....	19
II 4.3. Ventajas y limitantes del uso de técnicas isotópicas.....	21
II 4.4. Uso de modelos para el estudio de la dinámica de N a través de las variaciones de delta ¹⁵ N del suelo.....	21
II 5. REFERENCIAS	24

III. ARTÍCULO N° 1: CAMBIOS DE DELTA ^{15}N DE NITRÓGENO TOTAL DEL SUELO CON EL USO AGRÍCOLA.....	28
III 1. RESUMEN	28
III 2. ABSTRACT	29
III 3. INTRODUCCIÓN	30
III 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
III 4.1. Muestreo y caracterización de suelos agrícolas	33
III 4.2. Metodología de análisis químicos, físicos e isotópicos.....	35
III 4.3. Análisis estadístico	36
III 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
III 6. CONCLUSIONES	47
III 7. REFERENCIAS.....	48
IV. ARTÍCULO N° 2: CAMBIOS DE DELTA ^{15}N DE LA MATERIA ORGÁNICA PARTICULADA CON EL USO AGRÍCOLA.....	51
IV 1. RESUMEN.....	51
IV 2. ABSTRACT	52
IV 3. INTRODUCCIÓN	53
IV 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
IV 4.1. Muestreo y caracterización de suelos agrícolas	56
IV 4.2. Metodología de análisis químicos, físicos e isotópicos.....	58

IV 4.3. Análisis Estadístico	59
IV 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
IV 5.1. Cambios de Nitrógeno post-perturbación.....	60
IV 5.2. Cambios de ¹⁵ Nitrógeno post-perturbación	61
IV 6. CONCLUSIONES	68
IV 7. REFERENCIAS.....	69
V. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GLOBALES	72

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Capítulo/Nº Cuadro	Página
III 1. Información acerca de las Unidades Cartográficas, suelos dominantes, y textura de los 20 sitios.....	34
III 2. ANOVA de NT y $\delta^{15}\text{N}$ para 8 sitios asumiendo un modelo de un factor (Sitios).....	37
III 3. Algunas características químicas de áreas no perturbadas (ANP) y áreas perturbadas (AP) de los suelos relevados.....	38
III 4. ANAVA de NT y $\delta^{15}\text{N}$ para 20 sitios asumiendo un modelo de cuatro factores (manejo, textura, manejo * textura y sitios (textura)).....	40
IV 1. Información acerca de las Unidades Cartográficas, suelos dominantes y textura de los 15 sitios.....	57
Capítulo/Nº Figura	Página
I 1. Ubicación geográfica de los veinte sitios evaluados en este estudio. Información suministrada por E. Hoffman, 2005.....	10
II 1. Cambios relativos de $\delta^{15}\text{N}$ de NH_4 y NH_3 de acuerdo al Modelo Rayleigh. (Adaptado de Högberg, 1997).....	17
II 2. Relación entre $\delta^{15}\text{N}$ vs. $\text{Ln}[\text{N}]$ representada por el modelo de Destilación Rayleigh. Adaptado de Sperry et al. (2006).....	23
III 1. Relación entre NT de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP). La línea continua representa la regresión entre NT de ambas áreas y la punteada la relación 1:1.....	39

III 2. Relaciones entre $\delta^{15}\text{N}$ y el inverso de NT, Modelo de Mezclado (a), ó $\delta^{15}\text{N}$ y el logaritmo natural de NT, Modelo Rayleigh (b), para varios grupos de suelos agrícolas del Uruguay colectados en áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) simbolizados por símbolos vacíos y rellenos, respectivamente. Los círculos corresponden a suelos arcillosos (AC) y los triángulos a suelos arenosos (AR). El Sitio 18 representado por el símbolo cuadrado no se incluyó en el modelo de regresión lineal.	43
III 3. Relación entre $\delta^{15}\text{N}$ y NT (Modelo Rayleigh) para varios grupos de suelos agrícolas del Uruguay de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) representados por círculos vacíos y rellenos, respectivamente. Las líneas continuas representan las pendientes de cambio de los suelos arcillosos, las > a cero (a) y próximas a cero (b) y las líneas punteadas (a) las pendientes de cambio de NT y $\delta^{15}\text{N}$ desde ANP a AP de los suelos arenosos.	44
III 4. Relación entre $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ y NT para varios grupos de suelos agrícolas de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) (a). Relación entre desvíos de $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ respecto al modelo y NT para suelos AC agrícolas de ANP y AP. En 4a y 4b los círculos vacíos y rellenos simbolizan los suelos ANP y AP, respectivamente (b). En 4a los triángulos vacíos representan los suelos arenosos en ANP y los rellenos en AP	46
IV 1. Relación entre la masa de N de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) para la fracción $> 50 < 200 \mu\text{m}$ (N50) (a) y para la fracción $> 200 \mu\text{m}$ (N200) (b). Las líneas punteadas en a) representan la relación 1:1.....	61
IV 2. Relación de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ entre áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) (a). Relación entre la diferencia de abundancia natural de ^{15}N de N50 de AP y ANP ($\Delta^{15}\text{N}_{50} = \delta_{\text{AP}} - \delta_{\text{ANP}}$) y la diferencia de abundancia natural de ^{15}N de NT de AP y ANP ($\Delta^{15}\text{NT} = \delta_{\text{AP}} - \delta_{\text{ANP}}$) (b). Los suelos arenosos (AR) representados con triángulos rellenos y cuatro suelos arcillosos (AC) (Sitios 5, 7, 9 y 16) por círculos rellenos fueron excluidos de la regresión descrita (2b) por el resto de los AC simbolizados con círculos vacíos. En 2a, la línea punteada representa la relación 1:1. En 2b, la línea discontinua que corta en el valor 0 del eje de las ordenadas delimita los sitios que manifestaron aumento (valores positivos de y) o disminución (valores negativos de y) de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ en AP.	64
IV 3. Relación entre $\delta^{15}\text{N}_{200}$ de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) (a). Relación entre la diferencia observada de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ entre AP y ANP ($\Delta^{15}\text{N}_{200}$) y NT de ANP (b). En a) y b) los triángulos rellenos representan los suelos arenosos (AR) y los círculos vacíos los suelos arcillosos (AC). Los dos suelos AC más alejados de la relación 1:1 (Sitios 3 y 5); se simbolizaron con cuadrados rellenos. En a) estos dos suelos AC y los tres AR fueron excluidos de la regresión; la línea punteada representa la relación 1:1. En b) la línea discontinua que corta en el valor 0 del eje de las ordenadas, delimita los sitios que manifestaron enriquecimiento ($y > 0$) o empobrecimiento ($y < 0$) de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ en AP.....	65

I-INTRODUCCIÓN GENERAL

Las aplicaciones de isótopos estables en estudios agronómicos, ecológicos, medioambientales y biológicos son muy diversas. Además continuamente están surgiendo nuevas metodologías y enfoques. En el ámbito agronómico algunos de sus usos se basan en el agregado de fertilizantes enriquecidos con ^{15}N (concentración del isótopo pesado por encima de la natural) y otros en variaciones de la abundancia natural de este isótopo de N.

En la actualidad el uso más extendido de los isótopos estables es a nivel de su abundancia natural. Esta metodología se ha desarrollado gracias al desarrollo de técnicas instrumentales capaces de determinar con precisión las variaciones naturales de relaciones isotópicas que existen en diversas fases y productos como consecuencia del fraccionamiento isotópico per. se y del provocado por variados factores bióticos y abióticos. Como ejemplo de estas diferencias de abundancia natural se pueden citar las existentes en el valor de $\delta^{15}\text{N}$ (unidad estándar de medida de abundancia natural) entre el suelo y el aire, sin necesidad de agregados de fertilizante marcado, lo que posibilita estimar la fijación de nitrógeno en cualquier cultivo y en cualquier momento del mismo sin necesidad de realizar previamente un experimento (Carranca et al., 1999). En el área de suelos existen estudios nacionales relativos a cambios en la materia orgánica (MO) como consecuencia del cambio de uso del suelo o del manejo del mismo (Salvo, 2008). Estas tendencias pueden ser detectadas con mayor sensibilidad utilizando técnicas isotópicas. Analizando la relación isotópica del carbono orgánico del suelo es posible estimar el tiempo medio de residencia de la MO en el suelo, lo cual tiene relevancia en estudios de capacidad de captura de carbono (Qiming et al., 2003). El presente trabajo usó el valor de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo como un indicador de calidad del mismo, ya que se ha encontrado que existe una relación entre el manejo anterior del suelo y este valor (Evans y Belnap, 1999; Díaz-Raviña et al., 2005). Así, se relevaron algunas propiedades químicas asociadas a la fertilidad del suelo (carbono total, bases de intercambio, amino-

azúcares, N potencialmente mineralizable, pH) en una zona de extensa trayectoria agrícola ubicada en un radio a menos de 100 km de la ciudad de Paysandú. En la zona se seleccionaron 20 sitios con áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) por la agricultura (Figura 1).

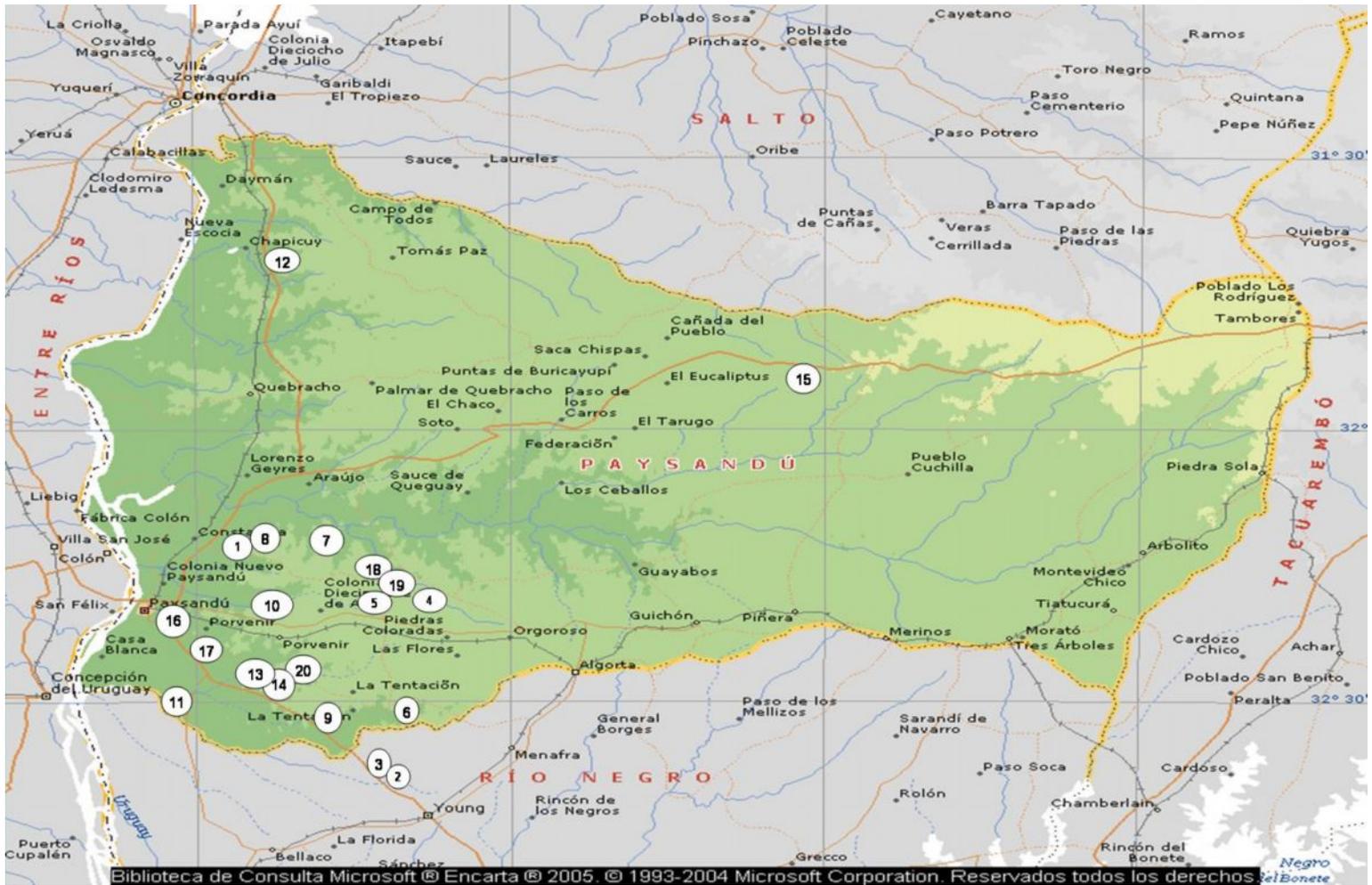


Figura 1. Ubicación geográfica de los veinte sitios evaluados en este estudio. Información suministrada por E. Hoffman, 2005

El trabajo de investigación se realizó en 2 partes. La primera abarcó el estudio de las variaciones de $\delta^{15}\text{N}$ del nitrógeno total del suelo (NT) por efecto de la agricultura, además de otros índices asociados a la capacidad de suministro de N y al nivel de fertilidad del suelo. La segunda, en cambio, se centró en cuantificar los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ y N en las fracciones de la materia orgánica particulada (MOP) debidos al uso agrícola, y estudiar si estas fracciones fueron más sensibles que el NT en detectar esos cambios. Por tanto, el objetivo general, fue evaluar la sensibilidad de diferentes indicadores para detectar los cambios producidos por el manejo de suelos y eventualmente identificar aquellos capaces de discriminar los sitios de mayor perturbación de los más cercanos al estado prístino. Cabe señalar que a nivel nacional no existe información publicada referente al patrón de variación natural de $\delta^{15}\text{N}$ de N del suelo ni de otros pools de N de los suelos agrícolas, así como del posible impacto de la agricultura en estos índices del recurso suelo. Además, se pretende verificar si existe una relación cuantitativa entre intensidad de uso y $\delta^{15}\text{N}$ para la zona del país analizada.

Esta tesis fue escrita en formato de artículo científico, siguiendo las especificaciones de la revista Soil Sci. Soc. Am. J.: <https://www.agronomy.org/publications/pdfs/sssajsugcont.pdf>

II-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Técnicas basadas en Isótopos estables

Los isótopos estables son aquellos isótopos que no sufren decaimiento radioactivo; por tanto sus núcleos son estables y sus masas no cambian. Sin embargo, ellos pueden en sí mismos ser el producto del decaimiento de isótopos radioactivos (Ehleringer y Cerling, 2002). El N tiene dos isótopos, el ^{14}N el cual es abundante y liviano y el ^{15}N que es relativamente menos abundante y pesado. Ambos isótopos tienen idénticas propiedades químicas, pero un ligero y distinto comportamiento físico como consecuencia de su masa atómica diferente.

La notación "Delta": proporción de los isótopos estables

La concentración de isótopos estables de un compuesto o material se representa como la relación molecular del isótopo pesado al isótopo liviano. Dado que esta relación generalmente es muy pequeña, la abundancia de isótopos estables se presenta relativa a un estándar aceptado internacionalmente, la cual se denomina notación delta y se simboliza como:

$$\delta_x (\text{‰}) = \left[\left(\frac{R_m}{R_s} \right) - 1 \right] \times 1000 \quad [1]$$

donde: δ_x : es el valor delta de la muestra para el elemento x en partes por mil (‰)

R_m : relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ de la muestra

R_s : relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ de un estándar

El estándar de N aceptado internacionalmente es el N atmosférico, el cual es el mayor reservorio de N de la tierra (Högberg, 1997). La concentración de ^{15}N en el aire es muy estable, con un valor promedio de $0.3663 \pm 0.0004\%$ (Létolle, 1980; Axmann y Zapata, 1990). A esta concentración se le denomina abundancia natural, y expresada como δ va a ser igual a cero, ya que R_m es igual a R_s . Un mayor valor de $\delta^{15}\text{N}$ indica que la muestra es más pesada (o enriquecida) y consecuentemente más positiva respecto al material estándar.

La Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) y otros institutos ofrecen materiales estándar orgánico e inorgánico con el fin de proporcionar mediciones exactas de las relaciones isotópicas de muestras desconocidas y facilitar la comparación de resultados inter-laboratorios.

Procesos que causan fraccionamiento isotópico

Muchos procesos naturales causan una distribución desigual de isótopos pesados y livianos entre dos compuestos o fases, conduciendo a una separación o fraccionamiento isotópico. Este efecto de fraccionamiento ocurre porque los isótopos más livianos forman enlaces químicos que requieren menos energía para romperse, por lo tanto, estos reaccionan más rápido y tienden a quedar más concentrados en los productos (Dawson y Brooks, 2001). El fraccionamiento es importante porque causa variación en la relación de isótopos estables de un elemento desde un pool a otro dentro de un ecosistema, estableciendo así una señal isotópica que puede indicar la existencia y/o magnitud de algún proceso en el cual el elemento se involucró.

El fraccionamiento isotópico puede ocurrir vía dos fenómenos principales: 1- reacciones en equilibrio y 2- procesos cinéticos. El primer fenómeno, en un sentido estricto, sólo ocurriría en un sistema cerrado y bien mezclado a tasas que mantienen el equilibrio químico. En esta situación las tasas de reacción hacia un lado y otro ($A \leftrightarrow B$) (reacción reversible) de un isótopo particular son idénticas. Pero, aunque el proceso está en equilibrio esto no significa que la composición isotópica de los dos compuestos sea igual, sino sólo que las relaciones de los diferentes isótopos en cada compuesto son constantes a una temperatura particular. Por ejemplo, cuando la urea se hidroliza ocurren fraccionamientos de equilibrio entre el NH_4 y el NH_3 en solución (Kendall, 1998)



El factor de fraccionamiento es frecuentemente representado por el símbolo α que en reacciones de equilibrio expresa la relación entre la composición isotópica del sustrato y del producto:

$$\alpha = R_A / R_B \quad [3]$$

donde R_A y R_B son las relaciones isotópicas del sustrato y del producto, respectivamente. Como en la ecuación [2] el NH_4 y el NH_3 están en equilibrio la distinción entre sustrato y producto es irrelevante, aunque generalmente se usa como numerador el compuesto más enriquecido. En este equilibrio el NH_4 estará 20‰ más enriquecido que el NH_3 , por lo que el valor de α será mayor a 1:

$$\alpha = \frac{\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{NH_4}}{\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{NH_3}} \quad \alpha \cong 1,02 \quad [4]$$

Los efectos de fraccionamiento cinético, por el contrario, ocurren en sistemas fuera de equilibrio donde las tasas de reacción hacia un lado y otro no son idénticas, y las reacciones podrían, incluso, ser unidireccionales si el producto de la reacción quedara físicamente aislado del sustrato. Estos efectos dependen primariamente de las tasas de reacción de los isótopos o moléculas involucrados en algún proceso particular (Dawson y Brooks, 2001). Los factores de fraccionamiento cinético también son representados por el símbolo α , pero expresando la relación entre las constantes de las tasas de reacción, k_L y k_P , de los isótopos livianos y pesados, respectivamente; aunque también es equivalente a la relación entre la composición isotópica del sustrato y del producto.

$$\alpha = k_{14}/k_{15} \cong \frac{\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{SUSTRATO}}{\left(\frac{^{15}N}{^{14}N} \right)_{PRODUCTO}} \quad [5]$$

En general, los isótopos livianos reaccionan más fácilmente, resultando por ende el producto de la reacción más liviano que el sustrato; por lo cual los valores de fraccionamiento cinético (α) son generalmente $>$ a 1 (Kendall, 1998; Haughn et al. 2003).

En muchos estudios es de interés conocer la separación isotópica (Δ o ϵ), que es la diferencia entre el valor de δ del sustrato y del producto expresado en unidades ‰.

$$\Delta \text{ ó } \epsilon = \delta_{SUSTRATO} - \delta_{PRODUCTO} \quad [6]$$

Algunas disciplinas utilizan una terminología diferente para describir el mismo concepto; por ejemplo en estudios biológicos Δ simboliza la discriminación isotópica, mientras que en estudios geológicos u oceanográficos se usa ϵ , que representa el enriquecimiento isotópico. Si

se conoce el valor de Δ o ϵ se puede calcular α , que se denomina fraccionamiento isotópico o efecto isotópico, según se asuma o no condiciones de equilibrio.

Los efectos isotópicos son vistos solamente cuando las reacciones son incompletas, es decir, cuando no todos los átomos de N de un sustrato llegan a formar parte del producto (Högberg, 1997). Si todo el sustrato fuera consumido, no se deberían encontrar diferencias en la composición isotópica entre los sustratos y los productos (Squeo y Ehleringer, 2004). Los efectos isotópicos también son dependientes de la temperatura (Dawson y Brooks, 2001) debido a que ésta influye sobre la energía vibracional de los átomos, la cual es definida por la diferencia respecto a la energía de punto cero. Los isótopos livianos tienen mayor energía de punto cero, lo cual se traduce en una energía de unión más débil y menos estable. La diferencia respecto a la energía de punto cero disminuye con el incremento de temperatura y por ende es necesaria menos energía para romper la unión de un isótopo. Por lo tanto, es esperable mayor efecto de fraccionamiento isotópico a bajas que a altas temperaturas (Dawson y Brooks, 2001). A su vez, en ambientes de muy baja temperatura, los factores de fraccionamiento cinético de reacciones unidireccionales son usualmente mayores que los de equilibrio para la misma reacción.

Modelos que describen cambios de abundancia isotópica

De acuerdo a Mariotti et al. citado por Robinson (2001), un proceso que fracciona isótopos de N puede ser distinguido de uno que involucra la mezcla de pools con señal isotópica diferente. Los autores señalan que los procesos de mezclado causan una relación lineal entre $\delta^{15}\text{N}$ y el inverso de la concentración de N (Modelo Keeling plot), mientras que los procesos de fraccionamiento producen una relación lineal entre $\delta^{15}\text{N}$ y el logaritmo de la concentración de N (Modelo Rayleigh).

Modelo “Keeling plot”

El método Keeling plot se usa para describir procesos de mezclado y tiene como base la conservación de la masa. Por ejemplo, la concentración de CO_2 atmosférico dentro de un dosel (Canopy) forestal (CO_{2m}) refleja la combinación de una concentración atmosférica

background (CO_{2b}) y cantidades variables de CO_2 de otras fuentes del ecosistema (CO_{2s}) que incrementan la concentración de CO_2 atmosférico por encima del background.

Entonces:

$$CO_{2m} = CO_{2b} + CO_{2s} \quad [7]$$

Dada la Ley de conservación de la masa,

$$\delta^{13}C_m CO_{2m} = \delta^{13}C_b CO_{2b} + \delta^{13}C_s CO_{2s} \quad [8]$$

Donde, $\delta^{13}C_x$ representa la relación isotópica de carbono de cada componente de CO_2 . A partir de la combinación de las ecuaciones 7 y 8 se obtiene una ecuación lineal cuyo intercepto es el valor de $\delta^{13}C_s$ (fuente) que contribuye a los cambios del CO_2 atmosférico en un ecosistema forestal

$$\delta^{13}C_m = CO_{2b}(\delta^{13}C_b - \delta^{13}C_s) \times \frac{1}{CO_{2m}} + \delta^{13}C_s \quad [9]$$

Es importante señalar que el modelo descrito por las ecuaciones 7 a 9 envuelve dos asunciones básicas. Primero se asume un mezclado simple al considerar sólo dos gases componentes, (la fuente, s y el background, b). En segundo lugar se asume que la relación isotópica de estos dos componentes no cambia en el curso de la observación. La verdad de estas asunciones no se conserva bajo las condiciones naturales de campo, en un sentido estricto, sin embargo, son aceptables bajo tiempo y espacio apropiado (Pataki et al., 2003).

Modelo de destilación Rayleigh

El modelo o ecuación Rayleigh (Robinson, 2001) se utiliza para describir la evolución de la composición isotópica de un sustrato residual, como resultado de los procesos de fraccionamiento, tanto los de equilibrio como los cinéticos. A modo de ejemplo, los cambios de $\delta^{15}N$ de un sustrato residual pueden ser descritos por la siguiente ecuación Rayleigh:

$$\delta^{15}N_s = \delta^{15}N_o + \varepsilon \times Ln(1 - f) \quad [10]$$

Donde $\delta^{15}N_s$ y $\delta^{15}N_o$ indican la composición isotópica del sustrato residual y del sustrato inicial respectivamente, y f es la fracción del sustrato que ha sido consumida en la reacción. Este modelo describe relaciones que pueden ser explicadas de forma similar a lo que ocurre durante un proceso de destilación de NH_4 a NH_3 , donde al principio de la reacción el

producto (NH_3) es muy empobrecido en ^{15}N respecto al sustrato (NH_4), debido a que el ^{14}N pasa preferentemente a NH_3 (discriminación contra ^{15}N). Cuando la reacción se completa el NH_3 destilado tendrá el mismo enriquecimiento que el NH_4 inicial (Figura 1).

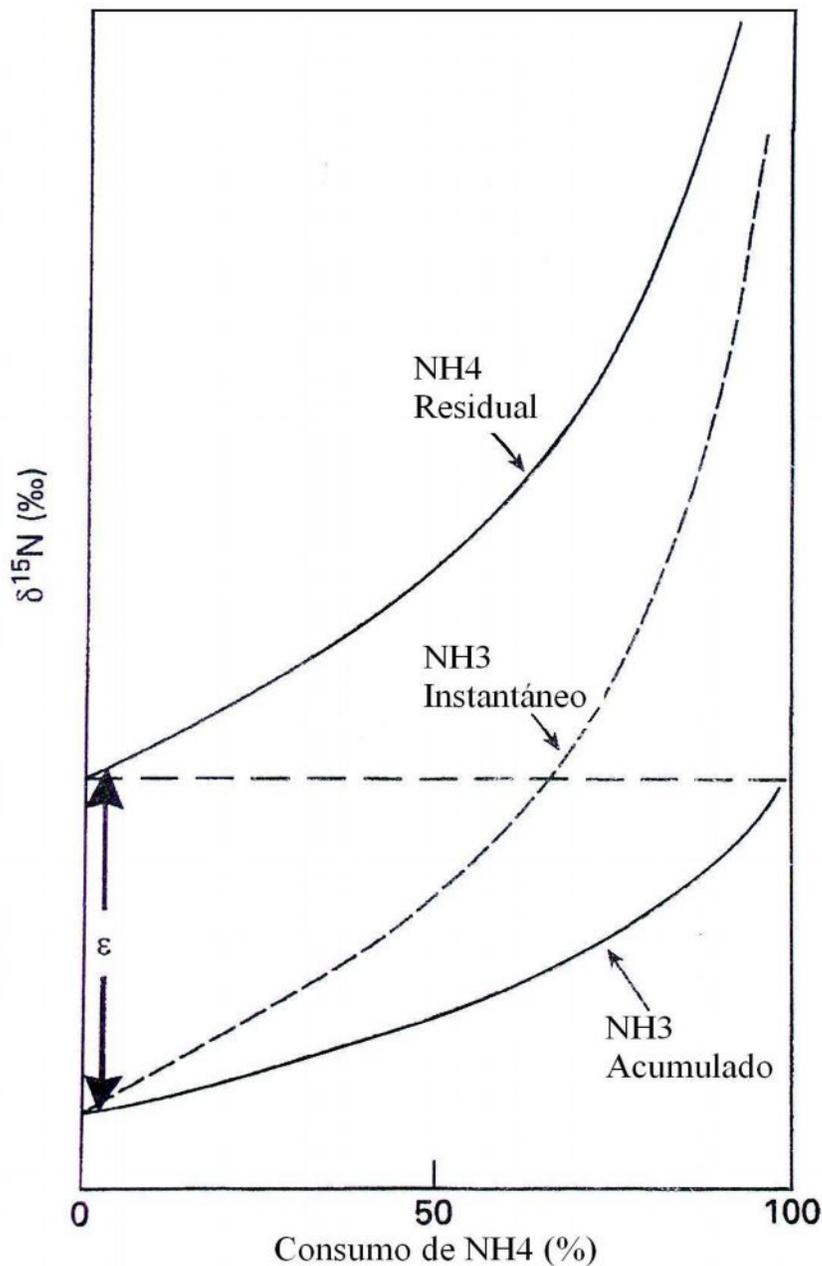


Figura 1. Cambios relativos de $\delta^{15}\text{N}$ de NH_4 y NH_3 de acuerdo al Modelo Rayleigh. (Adaptado de Högberg, 1997).

A diferencia del modelo Keeling plot, el modelo Rayleigh asume que el cambio en la composición isotópica de los compuestos reaccionantes es más acelerado a medida que el sustrato inicial es consumido. Por lo tanto, aunque ambos modelos son capaces de describir los cambios de abundancia natural de ^{15}N en la naturaleza, el modelo Keeling plot debería ser usado sólo cuando una pequeña proporción (menor al 30%) del sustrato reacciona (Criss, 1999).

Uso de técnicas isotópicas para el estudio de la dinámica del nitrógeno en el sistema suelo - planta

Las posibilidades de uso que ofrecen las técnicas isotópicas son considerables. Algunas de estas técnicas están basadas en el agregado de fertilizantes enriquecidos con ^{15}N y otras en variaciones de la abundancia natural de este isótopo de N. Cuando se trabaja en la región de variación natural de los isótopos de N, la consideración de los efectos isotópicos es significativa mientras que cuando se utilizan materiales enriquecidos con ^{15}N tales efectos raramente afectan la exactitud de las medidas o la interpretación de los resultados (Hauck y Bremner, 1976). Por tanto, las técnicas que trabajan a nivel de abundancia natural, se basan en la leve variación existente en la relación de los isótopos estables de N (^{15}N y ^{14}N), debido al fraccionamiento isotópico que ocurre durante los procesos físicos, químicos y biológicos en que interviene dicho elemento (Högberg, 1997; Dawson y Brooks, 2001). Un cambio del $\delta^{15}\text{N}$ del NT sólo podría ser observado si las pérdidas o ganancias de N ocurren en forma continua y durante varios años, y si además existe una diferencia de varias unidades de δ entre el NT y las formas de entrada o salidas de N.

Uso de técnicas isotópicas basadas en el enriquecimiento artificial con ^{15}N

La menor abundancia relativa de ^{15}N da la oportunidad de usar fuentes enriquecidas en este isótopo, y de utilizar a éstos como “trazadores” en estudios bioquímicos, biológicos y ambientales. En estos casos, el enriquecimiento del isótopo es expresado como % átomos ^{15}N en exceso a su abundancia natural. Esta técnica provoca por tanto una perturbación del sistema bajo estudio, al alterar los valores de abundancia natural de ^{15}N . La técnica de dilución

isotópica ha permitido develar algunas interrogantes que no se pueden conocer a través de metodologías convencionales. Entre ellas se destacan estudios con referencia a:

- 1- Conocer el destino del fertilizante aplicado (Hart et al., 1993)
- 2- Cuantificar pérdidas de fertilizante N (Jenkinson et al., 2004).
- 3- Cuantificar las tasas brutas o reales de los procesos de N en el suelo:
Mineralización - inmovilización (Videla, 2004).
- 4- Evaluar prácticas de manejo de fertilizantes (Recous, 1992).
- 5- Cuantificar la fijación biológica del N₂ atmosférico (Mallarino et al., 1990; Ramos et al., 2001).

La interpretación de datos provenientes de experimentos marcados artificialmente muchas veces es limitada. Al respecto, se ha visto que el método isotópico no es adecuado para determinar en forma absoluta la eficiencia del uso del fertilizante por las plantas, dados los ciclos de mineralización-inmovilización (MIT) en el suelo, los cuales diluyen la cantidad de ¹⁵N del pool de N inorgánico, sin cambiar necesariamente la cantidad total de N disponible para el cultivo (Jansson y Persson, 1982).

Uso de técnicas isotópicas basadas en la abundancia natural de ¹⁵N

En el caso de la técnica de abundancia natural se mide la variación de $\delta^{15}\text{N}$ que ocurre por procesos naturales, sin alterar los valores de ¹⁵N. El uso de la abundancia natural de ¹⁵N se ha utilizado en estudios para:

- 1- Identificar fuentes de NO₃ en cuencas combinando pares de isótopos:
 $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{18}\text{O}$ (Mayer et al., 2002; Kellman y Hillaire, 2003).
- 2- Cuantificar la fijación biológica del N₂ (Carranca et al., 1999).
- 3- Identificar fuentes de deposición atmosférica (Heaton, 1986).
- 4- Estudios de nutrición animal (Domi et al., 2005).

En términos de abundancia natural, los materiales biológicos fluctúan entre 0.3626 at.% ¹⁵N y 0.3718 at.% ¹⁵N, los que se corresponden con valores de $\delta^{15}\text{N}$ de -10‰ a + 15‰ (Axmann y Zapata, 1990). Estas pequeñas diferencias pueden, sin embargo, ser medidas con exactitud y precisión ya que en la actualidad se dispone de la instrumentación adecuada.

Durante la génesis de los suelos se acumula N, siendo éste generalmente enriquecido en ^{15}N respecto a la relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ del N_2 atmosférico. El N del suelo contiene alrededor de + 7‰ de $\delta^{15}\text{N}$, con excepción de los suelos forestales los cuales fluctúan en valores de +1‰. En teoría, este enriquecimiento en ^{15}N del suelo podría explicarse por dos procesos opuestos:

- 1- entradas de N al sistema con altas relaciones $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
- 2- salidas de N del sistema con bajas relaciones $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$,

Los estudios realizados han demostrado que la segunda causa es la responsable de este enriquecimiento en ^{15}N del suelo, como resultado del fraccionamiento isotópico durante el metabolismo del N del suelo (Yoneyama, 1996). Además, las entradas principales de N al suelo proceden de la fijación biológica del N_2 y los fertilizantes, las cuales tienen valores de $\delta^{15}\text{N}$ cercanos al valor cero del N_2 atmosférico, debido a que la discriminación isotópica del proceso de fijación de N (pasaje de N_2 a NH_3) es de poca entidad (-0.2 a - 2.0‰) (Yoneyama, 1996). Shearer et al. citado por Boddey et al. (2000) propusieron un modelo simplificado para explicar como el N orgánico del suelo en los ecosistemas no áridos llega usualmente a ser más enriquecido respecto al N atmosférico. Este modelo asume que los procesos de asimilación de NH_4 por los microorganismos y la nitrificación ocurren simultáneamente, y que el fraccionamiento isotópico es constante para la nitrificación y a su vez mayor que el de la asimilación de NH_4 . Se asume además que la desnitrificación y asimilación de NO_3 por los microorganismos son despreciables. Bajo estas condiciones, el modelo predice que el NO_3 producido sería disminuido en ^{15}N y el N asimilado enriquecido, y que algo de este último se depositaría en la materia orgánica recalcitrante. Entonces, en el largo plazo el pool de N orgánico (la mayoría del NT del suelo) mostraría un enriquecimiento en ^{15}N con respecto al aire.

A su vez las plantas tienen en general valores de $\delta^{15}\text{N}$ más bajos que el suelo (Shearer y Kohl, 1986; Natelhoff y Fry, 1988), ya que reflejan más la composición de ^{15}N de las fuentes de N disponible (N mineral, fijación biológica y fertilizantes) que el del total del suelo, debido a que este último está integrado mayormente por un pool estable, recalcitrante y de baja disponibilidad para las plantas. Sin embargo, el valor de $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas es también afectado por la discriminación durante la asimilación de NH_4 y transformaciones metabólicas

subsiguientes (Högberg, 1997), ya que durante el proceso de absorción de N no habría discriminación. Esto último se debe a que en la mayoría de los ecosistemas naturales las concentraciones de N inorgánico son bajas, y por tanto las plantas absorberán esta forma de N de forma muy eficiente (reacción completa), causando nulo o escaso fraccionamiento.

Ventajas y limitantes del uso de técnicas isotópicas

En teoría, las técnicas basadas en enriquecimiento artificial serían más precisas, pero su principal problema radica en la dificultad de distribuir uniformemente el ^{15}N en el suelo (variación espacial), y el cambio continuo en la composición isotópica del pool de N inorgánico que ocurre luego de que el marcador es aplicado (variación temporal) (Hauck y Bremner, 1976). Las técnicas basadas en abundancia natural, en cambio, no se restringen a un área de suelo determinada ni perturban el sistema en estudio, por lo que en principio se minimizarían posibles sesgos espaciales o temporales de las variables bajo estudio.

Las críticas al uso de la abundancia natural como marcador isotópico son, paradójicamente, la alta variabilidad espacial “background” de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo y los cambios rápidos de composición isotópica de los pools más lábiles, como por ejemplo las formas minerales de N (Högberg, 1997; Haughn et al., 2003). Dada esta complejidad, las inferencias a partir de datos de abundancia natural sólo pueden ser posibles cuando los diferentes pools en estudio difieren claramente tanto en cantidad como en composición isotópica. A modo de ejemplo, en estudios de fijación biológica donde se relaciona una especie de referencia (no fijadora) con la especie fijadora, se recomienda que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ de la especie no fijadora difiera en más de 5‰ del $\delta^{15}\text{N}$ derivado de la fijación biológica (Högberg, 1997).

Uso de modelos para el estudio de la dinámica de N a través de las variaciones de delta ^{15}N del suelo

En ecosistemas áridos, Sperry et al. (2006) utilizaron la variación de $\delta^{15}\text{N}$ para explicar los cambios de N en el perfil del suelo (hasta 1 metro de profundidad) debidos a la invasión de *Bromus tectorum* en tres pasturas con diferente grado de irrupción de ésta especie (no invadidas, de invasión reciente y de largo tiempo de invasión). Esta gramínea no nativa redujo

la entrada de N en las comunidades invadidas respecto a las no invadidas al ocasionar sombreado de las especies fijadoras de N, las cuales componen la costra microbiana. Esta costra es una matriz consolidada de cianobacterias, líquenes, musgos y algas verdes, cuya microflora generalmente es capaz de fijar N_2 atmosférico. La alteración física de ésta costra que se desarrolla sobre el suelo de los ecosistemas áridos fue uno de los factores primarios que explicaron la disminución del N del suelo. Para describir los cambios en el balance de N de éstos sistemas, Sperry et al. (2006) emplearon el modelo de Destilación Rayleigh, relacionando los valores de $\delta^{15}N$ y $\ln[N]$ correspondientes a seis profundidades del perfil del suelo (Figura 2). El modelo fue significativo para todas las comunidades, y en aquellas no invadidas y recientemente invadidas este modelo describió pendientes negativas, aunque la asociación entre $\delta^{15}N$ y N fue aún más negativa en las comunidades prístinas. Por lo tanto, cuanto menor fue el efecto de la gramínea invasora sobre las entradas de N por fijación biológica, mayor fue la concentración de N en los primeros cm de suelo y menor el valor de $\delta^{15}N$. Por el contrario, en las comunidades con larga historia de invasión la relación que describió el modelo Rayleigh fue positiva, observándose mayor concentración de N y de ^{15}N en la superficie del suelo. Sperry et al. (2006) concluyeron que el patrón de variación en $\delta^{15}N$ en función del N medido a diferentes profundidades de suelo fue un indicador de los efectos de la invasión de *Bromus* sobre la fuente primaria de N al sistema, la fijación biológica de N.

Bajo las mismas condiciones agro-ecológicas, Evans y Ehleringer (1993) también emplearon este modelo para describir los efectos de la perturbación de la costra microbiana (principal fuente de N en ecosistemas áridos) sobre los cambios en el balance de N del suelo. Estos autores encontraron que la perturbación causó enriquecimiento de ^{15}N de los suelos respecto a los sitios prístinos o no perturbados. La explicación reportada en este estudio respecto al aumento de $\delta^{15}N$ del suelo fue que habría sido una consecuencia de la pérdida de la costra microbiana constituida por microflora fijadora de N_2 atmosférico, es decir, pérdida de una fuente de N empobrecida con valor de $\delta^{15}N$ próximo a cero. Ellos interpretaron el aumento de $\delta^{15}N$ observado a través del modelo Rayleigh, indicando que procesos de fraccionamiento isotópico como volatilización y desnitrificación causaron la pérdida preferencial de ^{14}N provocando enriquecimiento del N remanente. Robinson (2001), sin

embargo, argumentó que lo observado por estos autores debería haber sido interpretado a través del modelo Keeling plot, ya que las variaciones de $\delta^{15}\text{N}$ fueron el resultado de la supresión de la costra microbiana, es decir la disminución y/o eliminación del mezclado de entradas de N derivadas de la fijación biológica (fuente principal de N en ecosistemas áridos). Este balance negativo de NT, por consiguiente, causó enriquecimiento en ^{15}N del N remanente del suelo respecto a sitios no perturbados.

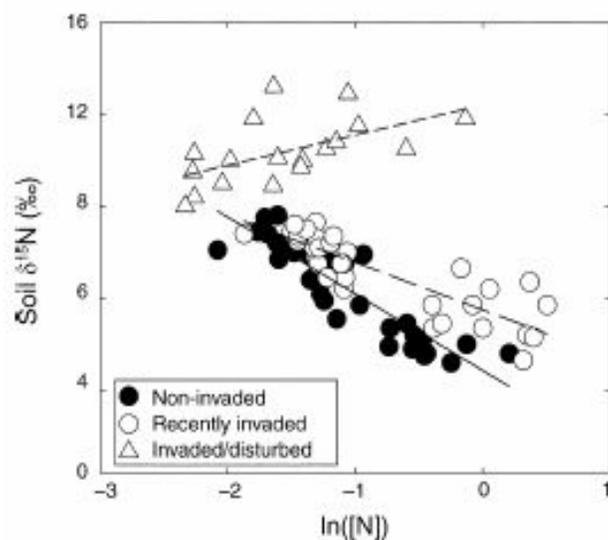


Figura 2. Relación entre $\delta^{15}\text{N}$ vs. $\ln([N])$ representada por el modelo de Destilación Rayleigh. Adaptado de Sperry et al. (2006).

REFERENCIAS

- Axmann, H. and F. Zapata. 1990. Stable and radioactive isotopes. In: Use of Nuclear Techniques in studies of soil- plant relationships. (G. Hardarson. ed.) Training course series N° 2. International Atomic Energy Agency. Vienna. Austria. p. 9-25.
- Boddey, R.M., M.B. Peoples, B. Palmer and P.J. Dart. 2000. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 57: 235-270.
- Carranca, C., A. de Varennes and D.E. Rolston. 1999. Biological nitrogen fixation estimated by ^{15}N dilution, natural ^{15}N abundance, and N difference techniques in a subterranean clover-grass sward under Mediterranean conditions. *European J. Agron.* 10:81-89.
- Criss, R. 1999. Principles of stable isotope distribution. Oxford University Press. 264 p.
- Dawson, T.E. and P.D. Brooks. 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. p.1-18. *In* Unkovich M, Pate J, McNeill A, Gibbs DJ (Eds.) *Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems*. Kluwer. Dordrecht. Holanda.
- Díaz-Raviña, M., J. Bueno, S.J. González-Prieto and T. Carballas. 2005. Cultivation effects on biochemical properties, C storage and ^{15}N natural abundance in the 0-5 cm layer of an acidic soil from temperate humid zone. *Soil Tillage Res.* 84: 216-221.
- Domi N., K. Bouquegneau and K. Das. 2005. Feeding ecology of five commercial shark species of the Celtic sea through stable isotope and trace metal analysis. *Marine Environ. Res.* 60:551-569.
- Ehleringer, J. R. and T. E. Cerling. 2002. Stable isotopes. p. 544-550. *In* Mooney H. A. y J. G. Canadell. (Eds.) *Encyclopedia of Global Environmental Change Vol. II*.
- Evans, R.D. and J.R. Ehleringer. 1993. A break in the nitrogen cycle in aridlands? Evidence from $\delta^{15}\text{N}$ of soils. *Oecología* 94:314-317.
- Evans, R.D. and J. Belnap. 1999. Long- term consequences of disturbance on nitrogen dynamics in arid ecosystem. *Ecology* 80: 150-160.

- Hart, P.B., D.S. Powlson, P.R. Pulton, A.E. Johnstson and D.S. Jenkinson. 1993. The availability of the nitrogen in the crop residues of winter wheat to subsequent crops. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* 121:355-362.
- Hauck, R. and J.M. Bremner. 1976. Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research. *Adv. Agron.* 28: 219-266.
- Haughn, A.B., J. W. van Groenigen and C. van Kessel. 2003. Tracing ^{15}N through landscapes: potential uses and precautions. *J. Hydrol.* 272(1-4): pp.175-190.
- Heaton, T.H.E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review. *Chem. Geol.* 5: 87-102.
- Högberg, D. 1997. Tansley Review N° 95. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytol.* 137: 179-203.
- Jansson, S.J. and J. Persson. 1982. Mineralization and immobilization of soil Nitrogen. p. 229 - 251. In: F. Stevenson (ed.) *Nitrogen in agricultural soils*. Agronomy Series N° 22. Soil Science Society of America. Inc. Publisher. Madison. Wisconsin. USA.
- Jenkinson D.S., P.R. Poulton, A.E. Johnstson and D.S. Powlson. 2004. Turnover of Nitrogen-15-labeled fertilizer in old grassland. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:865-875.
- Kellman L.M. and M.C. Hillaire. 2003. Evaluation of nitrogen isotopes as indicators of nitrate contamination sources in an agricultural watershed. *Agriculture, Ecosystems Environ.* 95: 87-102.
- Kendall, C. 1998. Tracing Nitrogen sources and cycling in catchments. p.519-576. *In* Kandell, C and J.J McDonnell (Eds.). *Isotope tracers in catchments hydrology*. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Létolle, R. 1980. Nitrogen-15 in the natural environment. p. 407-433. *In* Fritz. P. y Fontes. J (Eds.). *Handbook of environmental Isotope Geochemistry Vol. 1. The Terrestrial Environment*. Amsterdam.
- Mallarino, A.P., W.F. Wedin, R.S.Goyenola, C.H. Perdomo and C.P. West. 1990. Legume species and proportion effects on symbiotic dinitrogen fixation in legume –grass mixtures. *Agron. J.* 82: 785-789.
- Natelhofer, K.J. and B. Fry. 1988. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52: 1633-1640.

- Pataki, D.E., J.R. Ehleringer, L.B. Flanagan, D. Yakir, D.R. Bowling, C.J. Still, N. Buchmann, J.O. Kaplan and J.A. Berry. 2003. The application and interpretation of Keeling plots in terrestrial carbon cycle research. *Global Biogeochem. Cycles*. Vol 17 (1). 1022. doi:10.1029/2001GB001850.
- Qiming, L.; W. Shijie; P. Hechun and O. Ziyuan. 2003. The variation of soil organic matter in a forest-cultivation sequence traced by stable carbon isotopes Chinese. *J. Geochem.* 22 (1)
- Ramos, M.G., M.A. Villatoro, S. Urquiaga, B. Alves and R. Boddey. 2001. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ^{15}N -isotope techniques. *Journal of Biotechnology* 91: 105-115.
- Recous, S., J.M.Machet and B.Mary. 1992. The partitioning of fertilizer-N between soil and crop: Comparison of ammonium and nitrate applications. *Plant and Soil* 144: 101-111.
- Robinson, D. 2001. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. Review. *Trends Ecol. Evol.* Vol.16 (3):153-162.
- Salvo, L. 2008. Cambios en los contenidos y distribución del Carbono orgánico del suelo bajo distintas rotaciones agrícolas ganaderas y sistemas de laboreo. Estudio de las fracciones de las fracciones físicas de la materia orgánica y abundancia natural de ^{13}C . Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Opción Suelos y aguas. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Shearer, G. and D.H.Kohl. 1986. N_2 - fixation in field settings: Estimations based on natural ^{15}N abundance. *Aus. J. Plant Phys.* 13:699-756.
- Squeo, F.A. y J.R.Ehleringer. 2004. Isótopos estables: Una herramienta común para la ecofisiología vegetal y animal. p.59-80. *In* Cabrera. H.M. (Ed.). Fisiología ecológica de plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas. Cap. 4. Valparaíso (Chile).
- Sperry, L.J., J. Belnap and R.D. Evans. 2006. *Bromus tectorum* invasion alters nitrogen dynamics in an undisturbed arid grassland ecosystem. *Ecology* 87 (3):603-615.
- Videla, C. 2004. Mineralização bruta de nitrogênio em um Molisol do sudeste da província de Buenos Aires (Argentina). Tesis de doctorado. Centro de Energía Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, Brasil. 124 pp.

Yoneyama, T. 1996. Characterization of natural ^{15}N abundance of soils. In: Boutton. T.W. Yamasaki. S.I. (Eds.) Mass Spectrometry of soils. Marcel Dekker. New York. pp. 205-223.

III- CAMBIOS DE DELTA ^{15}N DE NITRÓGENO TOTAL DEL SUELO CON EL USO AGRÍCOLA

Cristina Mori

Dpto. de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía de la República Oriental del Uruguay, Garzón 780, CP.: 12900, Montevideo, Uruguay. Tel.: +598 (2) 3544688, e-mail: cristinamori@fagro.edu.uy

RESUMEN

Algunos trabajos han mostrado la existencia de una relación entre $\delta^{15}\text{N}$ y la concentración de Nitrógeno total (NT) del suelo. Consecuentemente, variaciones de $\delta^{15}\text{N}$ y NT constituirán un indicador de los cambios ocurridos en los suelos en relación a su estado original. Se tomaron muestras de suelo de 0-20 cm de profundidad de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) por la agricultura en 20 suelos de Uruguay de diferente textura. En todas las muestras se midió $\delta^{15}\text{N}$, NT, Carbono Total (CT), N-aminoazúcares (NAA), N potencialmente mineralizable (NPM), pH y bases de intercambio (BI). Con respecto a ANP, AP tuvo en promedio una disminución significativa de NT, CT, NAA, NPM, pH y BI. Estos resultados confirman que ANP estaba efectivamente menos perturbada que AP. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de AP también disminuyeron (0,36‰; $P < 0,11$) respecto a ANP. La exclusión de tres suelos arenosos (AR) aumentó significativamente estas diferencias en 0,83% y 0,60‰ para NT y $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente. El cambio de $\delta^{15}\text{N}$ y NT de ANP a AP en suelos arcillosos (AC) fue opuesto a lo observado por otros autores, mientras que en los AR la tendencia fue similar. En suelos AC perturbados, la pérdida de ^{14}N fue más que compensada por el N inmovilizado con $\delta^{15}\text{N}$ cercano a cero, lo cual condujo a una disminución de NT y de $\delta^{15}\text{N}$. En suelos AR, en cambio, la entrada de ^{14}N fue muy débil debido a su bajo poder inmovilizador, y aunque NT disminuyó, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se incrementaron en AP. Por consiguiente, los suelos AC y AR más prístinos tendrían valores de NT relativamente altos, pero los valores de $\delta^{15}\text{N}$ serían altos en AC y bajos en AR.

PALABRAS CLAVE: ^{15}N , discriminación isotópica de N, indicador de calidad de suelo.

CHANGES OF DELTA ^{15}N OF SOIL TOTAL NITROGEN WITH THE AGRICULTURAL USE

Cristina Mori

Dpto. de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía de la República Oriental del Uruguay, Garzón 780, CP.: 12900, Montevideo, Uruguay. Tel.: +598 (2) 3544688, e-mail: cristinamori@fagro.edu.uy

ABSTRACT

Previous works have shown the existence of a relationship between ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) natural abundance and Nitrogen concentration (TN) of soil. As a result, variations between $\delta^{15}\text{N}$ and TN would constitute an index of soil changes in relation to their original state. Soil samples (0-20 cm) were collected from undisturbed (UA) and agriculture-disturbed (DA) areas in 20 Uruguayan soils of different texture. Soil samples were analyzed for TN, total organic carbon (TOC), N-amino-sugars (NA), potential mineralizable N (PMN), pH and total cations (TC). With respect to UA, DA showed significant decrease of TN, TOC, NA, PMN, pH and TC. The values of $\delta^{15}\text{N}$ of UA also diminished (0.36 ‰; $P < 0.11$) with respect to DA. All these results confirm that UA was in fact less disturbed than DA. The exclusion of the three sandy soils (S) significantly increased the TN and $\delta^{15}\text{N}$ differences between UA and DA in 0.83 and 0.60 respectively. In disturbed clay soils (C) the change of $\delta^{15}\text{N}$ and TN was opposed to the trend detected by other authors in arid ecosystems, whereas in S soils the tendency was similar. In disturbed C soils, this loss of N depleted in ^{15}N was more than compensated by the N immobilized with $\delta^{15}\text{N}$ near zero, which lead to a decrease in both TN and $\delta^{15}\text{N}$. In S soils with low immobilization capacity, the input of N depleted in ^{15}N was very weak and although TN felt the values of $\delta^{15}\text{N}$ increased with respect to the undisturbed state. Therefore, in both textural groups the more pristine soils would have relatively high values of TN, but in the C-pristine soils $\delta^{15}\text{N}$ would be higher while in the S-pristine soils $\delta^{15}\text{N}$ would be lower.

KEY WORDS: ^{15}N , isotopic discrimination of N, index of soil quality.

INTRODUCCIÓN

El valor de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo se utiliza frecuentemente como trazador en estudios relacionados a la fijación biológica de Nitrógeno (Carranca et al., 1999), contaminación de aguas superficiales y subterráneas (Kellman y Hillaire, 2003 y Mayer et al., 2002), y trazabilidad del origen de los alimentos (Bahar et al., 2005). Como esta metodología se fundamenta en variaciones de abundancia natural de ^{15}N , el sistema en estudio no se restringe a un área determinada, minimizando por consiguiente el riesgo de introducir sesgos espaciales a las variables bajo observación. Además, el uso de esta técnica permite soslayar las alteraciones temporales de los ciclos biológicos del sistema suelo-planta provocadas por el agregado de N marcado.

Algunos estudios en suelos arenosos de ecosistemas áridos han encontrado que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ es afectado por alteraciones provocadas por el pisoteo de animales u otras modificaciones, y por lo tanto este valor puede ser usado como indicador del grado de perturbación del sistema (Evans y Belnap, 1999; Sperry et al., 2006). En estos estudios se observó un incremento del valor de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo post-perturbación, como consecuencia de una menor entrada de N por fijación biológica (FBN) debido a la desaparición de la costra microbiana responsable de la misma. La alteración de esta costra también condujo a una menor tasa relativa de FBN en la microflora remanente, a una disminución de NT en el suelo y a un enriquecimiento isotópico de la costra y las plantas.

Varios autores han obtenido un ajuste lineal al relacionar el valor de $\delta^{15}\text{N}$ con el logaritmo de NT (Evans y Ehleringer 1993; Diaz Raviña et al., 2005; Sperry et al., 2006). Esta relación, que supone un modelo de tipo Rayleigh, indicaría que la variación de $\delta^{15}\text{N}$ es causada principalmente por procesos de fraccionamiento, como puede ocurrir cuando los cambios se dan por pérdida preferencial del isótopo liviano (desnitrificación, volatilización). Robinson (2001), sin embargo, ha cuestionado la validez de este modelo para interpretar la información de Evans y Ehleringer (1993), ya que en ese estudio el proceso principal de aumento de $\delta^{15}\text{N}$ fue la pérdida de la costra microbiana y consecuentemente la menor entrada de N al suelo. Asimismo este enriquecimiento de ^{15}N en los suelos perturbados fue sostenido

por el reciclaje de N a través de las plantas, las cuales absorbieron fuentes de N más enriquecidas como consecuencia de la eliminación de la costra microbiana especializada en fijar N atmosférico ($\delta^{15}\text{N}$ cercano a cero). Por consiguiente, este autor sostiene que el modelo de mezclado (Keeling plot) hubiera sido más adecuado para describir e interpretar esos cambios (Robinson, 2001).

Poco se conoce, sin embargo, acerca del efecto de las prácticas agrícolas en el valor de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo. En un suelo arenoso de España se observó que la introducción de la agricultura aumentó los valores de $\delta^{15}\text{N}$ respecto a la situación original (Díaz-Raviña et al., 2005), lo que concuerda con la información anterior obtenida en suelos no agrícolas de ecosistemas áridos. Tiessen et al. (1984), en cambio, trabajando con suelos arcillosos, no encontraron efectos significativos de distintos usos y manejos del suelo sobre la composición isotópica del N. Otros autores han encontrado además que el valor de la concentración isotópica de N de los suelos es afectado por factores pedogenéticos. Entre estos factores, el efecto del material parental sobre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de una determinada localidad es de al menos 3‰, mientras que la posición topográfica podría estar influyendo entorno al 2‰ (Amundson et al., 2003). Al respecto, se ha encontrado que el NT y el NO_3 de suelos pobremente drenados son más enriquecidos en ^{15}N que aquellos presentes en suelos bien drenados (Tiessen et al., 1984; Choi y Ro, 2003). Esta diferencia isotópica de N entre suelos es causada por la desnitrificación, donde los microorganismos a través de los efectos de fraccionamiento isotópico metabolizan preferencialmente ^{14}N , y enriquecen en ^{15}N el N remanente (Mayer et al. 2002).

Como ha ocurrido en otras partes del mundo, el uso agrícola ha provocado en Uruguay una importante disminución de la MO y el NT de los suelos, los cuales originalmente estaban destinados a ganadería bajo campo natural (Morón, 2003). Este deterioro en la calidad del suelo no ha sido homogéneo, debido a diferencias de intensidad de uso, tipo de laboreo y duración de las pasturas que integran la rotación. En el país no se conocen los valores típicos de $\delta^{15}\text{N}$ de los suelos agrícolas ni tampoco el efecto del cambio de uso del suelo pastoril (bajo campo natural) a agrícola sobre este valor isotópico. Los objetivos de este trabajo fueron: i) conocer los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de suelos agrícolas y su variabilidad y ii) identificar relaciones

entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y factores edáficos y de manejo, como por ej. la relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y la intensidad de uso del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y caracterización de suelos agrícolas

Se realizaron muestreos de suelo de 20 sitios localizados en el litoral oeste del país, los cuales originalmente estaban bajo una vegetación nativa de pradera (constituida por gramíneas autóctonas como especies predominantes), y actualmente bajo uso agrícola. La actividad agrícola-ganadera de la mayoría de los sitios estuvo representada de una sucesión de cultivos de invierno (trigo, cebada) y verano (sorgo, soja, maíz) y en rotación con pasturas mixtas de leguminosas (trébol blanco, rojo y lotus) y gramíneas (festuca), aunque éstas últimas no formaron parte de la composición botánica en algunas praderas. El sistema de manejo de suelo para la preparación del barbecho fue básicamente siembra directa, la excepción se dio en los Sitios 2, 3, 9, 10, 11 y 12 en dónde el manejo fue convencional. En cada sitio se colectó la capa superior del suelo (0-20 cm de profundidad) de dos áreas de muestreo, la agrícola (AP) y la zona bajo alambrado, considerada como no perturbada (ANP) por la agricultura. En este estudio se asumió que el suelo debajo del alambrado representaba una situación menos perturbada que el área agrícola.

Cada muestra estuvo compuesta de 20 tomas extraídas al azar de cada área de muestreo. En el Cuadro 1 se presenta información detallada acerca de las unidades de suelo dominantes (clasificación USDA y de Uruguay), textura, índice cualitativo de fertilidad, cultivo previo y edad de la chacra de los sitios. En referencia a este cuadro, cabe señalar que los datos de edad de chacra y los de cultivo previo son cualitativos, ya que los mismos surgen de una red de ensayos realizados en chacras comerciales bajo régimen de arrendamiento o propiedad, lo cual limitó el rigor de la encuesta.

N° Sitio	Unidad Cartográfica de Suelo †	Suelos dominantes según los sistemas de clasificación de USDA y Uruguay		Familia Textural ¶	Información brindada por el agrónomo		
		USDA ‡	Uruguay §		Índice cualitativo de Fertilidad #	Edad chacra ††	Cultivo previo
1	Algorta	THdalf	AD	Ar	Baja	Sd.‡‡	Pastura de 3 años
2	Young	PA	BE	Fr	Alta	Sd.	Pastura
3	Young	PA	BE	Fr	Media-Alta	Sd.	Girasol
4	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Sd.	Pastura de 3 años
5	San Manuel	TA	BE	Fr	Baja-Media	Sd.	Maíz
6	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Sd.	Pastura
7	San Manuel	TA	BE	Fr	Media	Sd.	Girasol
8	Young	PA	BE	ArFr	Baja	Sd.	Girasol
9	Young	VA	BE-VR	Fr	Media-alta	Vieja	Sorgo
10	San Manuel	TA	BE	Fr	Media	Vieja	Pastura de 3 años
11	Young	PA	BE	L	Media-alta	Vieja	Sorgo
12	Chapicuy	TA	BS-AS	Ar	Media	Vieja	Girasol
13	Young	PA	BE	Fr	Alta	Nueva	Sorgo
14	Young	PA	BE	Fr	Alta	Nueva	Sorgo
15	Arapey	THdert	VH	Fr	Media	Nueva	Soja
16	San Manuel	TA	BE	Fr	Media	Nueva	Sorgo
17	Young	PA	BE	Fr	Media-alta	Nueva	Pastura de 3 años
18	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Nueva	Soja
19	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Nueva	Pastura + de 3 años
20	Young	PA	BE	Fr	Alta	Nueva	Girasol

†Fuente: Uruguay, Carta de Reconocimiento de Suelos del Uruguay a escala 1:1000000. Dirección de Suelos y Fertilizantes - MAP, Montevideo, Uruguay, 1976.

‡Fuente: Durán et al, 2005. Keys to soil taxonomy for Uruguay. Unites States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. THdalf = Typic Hapludalf; THdert = Typic Hapludert; PA = Pachic Argiudoll; TA = Typic Argiudoll; VH = Vertic Argiudoll.

§Fuente: Uruguay, Compendio Actualizado de Información de Suelos del Uruguay, División de Suelos y Aguas, MGAP, Montevideo, Uruguay, 2001. (Programa y Base de Datos en formato CD). AD = Argisoles Dútricos; BE = Brunosoles Eútricos; VR = Vertisoles Rúpticos; BS = Brunosoles Subeútricos; AS = Argisoles Subeútricos; VH = Vertisoles Hápticos.

¶ Ar: arenosa; ArFr: areno francosa; Fr: francosa; L: limosa. Fuente: Carta de Reconocimiento de Suelos del Uruguay. Tomo I. Clasificación de suelos. Altamirano et al., 1976.

#Índice de Fertilidad: definido por el agrónomo de acuerdo a la historia de la chacra y uso del suelo

††Edad chacra: nueva: 4 años o menos de agricultura; vieja: más de 4 años de agricultura + período de laboreo convencional equivalente a un 50% o más de la edad de la chacra.

‡‡S.d.: Sin datos

Metodología de análisis químicos, físicos e isotópicos

Todas las muestras de suelo (ANP y AP) se secaron a 40 °C durante 48 h. y se molieron y tamizaron a un tamaño menor a 2 mm. En una submuestra de las mismas se realizaron análisis no isotópicos, determinándose N en Amino Azúcares (NAA) de acuerdo al procedimiento sugerido por Khan et al. (2001) y Mulvaney y Khan (2001) y N potencialmente mineralizable (NPM) según Keeney (1982). Los cationes intercambiables Ca y Mg se determinaron por absorción atómica, mientras que K y Na por espectrofotometría de llama, previa extracción con Acetato de amonio 1M a pH 7 (Thomas, 1982). Se midió además el pH del suelo en agua (relación 1:2,5 de suelo: agua) con electrodo de pH Orion Research 701. También se analizó la composición granulométrica del suelo por el método del hidrómetro de acuerdo a Gee y Bauder (1979). Algunos suelos (Sitios 1, 8 y 12) difirieron claramente en su textura del resto por lo cual se los incluyó en el grupo de suelos arenosos (AR); estos suelos tenían más del 50% de arena y menos del 20% de arcilla. El resto de los sitios, que en promedio tenían más del 20% arcilla y más del 30% de limo fueron incluidos en el grupo de suelos arcillosos (AC), aunque ninguno de ellos integró esa categoría.

Las submuestras de suelo utilizadas en análisis isotópicos tuvieron un molido adicional en molino rotativo para reducir aún más el tamaño de partícula, ya que la masa de suelo a pesar fluctuó en valores de 0,015 g ± 0,001. Cada muestra de suelo fue pesada dentro de cápsulas de estaño, y éstas fueron dispuestas en un analizador elemental Flash EA 112 acoplado a un espectrómetro de masa Finnigan MAT DELTAplus XL (Bremen, Alemania), donde se determinó la concentración de NT y CT y la abundancia natural de ¹⁵N. La precisión (desvío estándar) de la determinación de estos índices, basada en el valor de estándares de suelo fue de 0,1%, 0,2% y 0,3%, respectivamente. La relación isotópica se expresó en notación delta (δ) en partes por mil (‰):

$$\delta^{15}N = \left(\frac{R_{muestra}}{R_{estandar}} - 1 \right) \times 1000 \quad [1]$$

donde $\delta^{15}\text{N}$ es la composición isotópica de la muestra y R es la relación molar del isótopo pesado sobre el liviano ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) para la muestra y el estándar. Sin embargo, la baja concentración de N de algunas muestras no permitió determinar con precisión su composición en ^{15}N , por lo que se adicionó una cantidad conocida de N y ^{15}N (estándar interno o spike) para aumentar la señal en el espectrómetro de masa. Luego, en estas muestras el valor de $\delta^{15}\text{N}$ se estimó utilizando el modelo de mezclado o Keeling plot (Pataki et al., 2003).

Análisis estadístico

El estudio de la variación natural de $\delta^{15}\text{N}$ y NT se analizó con un modelo de Análisis de varianza (ANOVA) de un factor usando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1990), considerando como variable clasificatoria el sitio. En este análisis se utilizó información de 8 sitios (Sitios 1 al 8, ver Cuadro 1) con repeticiones dentro del área de muestreo de $\delta^{15}\text{N}$ y NT de AP. Para evaluar los efectos de manejo (ANP y AP) y de "textura" (AC y AR) sobre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y NT se realizó otro ANOVA utilizando la información de todos los sitios (Sitios 1 al 20) asumiendo el siguiente modelo: manejo, "textura", manejo * textura" y "textura" anidado a sitios. Además se realizaron comparaciones de medias apareadas entre ANP y AP en todos los sitios (Sitios 1 al 20) mediante el test T disponible en Microsoft Excel 2002 (Microsoft Inc., Redmond, WA). Se ajustó también un modelo de Regresión No Lineal mediante el procedimiento SOLVER (Wraith and Or, 1998) también disponible en Microsoft Excel 2002.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ANOVA realizado en los 8 sitios (Sitios 1 al 8, ver Cuadro 1) donde se contó con repeticiones, reveló que la varianza de $\delta^{15}\text{N}$ y NT entre sitios (muestras AP) fue significativamente superior a la existente dentro de sitios (Cuadro 2). Este resultado sugiere que las variaciones introducidas por diferencias pedogenéticas (3 de los suelos eran AR) y de manejo generaron mayor variabilidad entre sitios que la existente previamente (variabilidad espacial). De acuerdo a Haughn (2003), la variabilidad de $\delta^{15}\text{N}$ inducida por factores inherentes, existente aún en suelos imperturbados, debería diferir suficientemente de aquella debida a los factores que se pretende describir y/o interpretar, de lo contrario, las inferencias a través de este índice podrían ser limitadas o aún erróneas.

Cuadro 2. ANOVA de NT y $\delta^{15}\text{N}$ para 8 sitios asumiendo un modelo de un factor (Sitios).

Índice	Fuente de variación	GL	CM	F	P
NT †	entre sitios	7	0,0096	46,22	< 0,0001
	dentro de sitios	13	0,0002		
$\delta^{15}\text{N}$ ††	entre sitios	7	0,2030	5,81	0,0030
	dentro de sitios	13	0,0350		

† NT, nitrógeno total

†† $\delta^{15}\text{N}$, abundancia natural de ^{15}N

El cambio de uso del suelo de pastoril (ANP) a agrícola (AP) provocó una disminución promedio de NT de $0,75 \text{ g kg}^{-1}$ (Cuadro 3); este resultado fue el esperado y ocurrió como consecuencia del balance negativo entre entradas y salidas de N (Morón, 2003). Además, los valores de NT de ANP y AP se relacionaron significativamente, evidencia de que los sitios con mayor NT en ANP tendieron a tener mayores valores de este índice en AP (Figura 1). En valores absolutos, sin embargo, la pérdida de NT tendió a ser mayor en los suelos con alto NT y menor en aquellos de bajo NT original. Esto surge del valor del coeficiente de regresión ajustado, para la relación de NT entre áreas (Figura 1), el cual es inferior a la unidad.

Cuadro 3. Algunas características químicas de áreas no perturbadas (ANP) y áreas perturbadas (AP) de los suelos relevados.

Sitios	ANP							AP						
	NT †	CT †	NAA †	NPM †	pH	BI †	$\delta^{15}\text{N}$ †	NT	CT	NAA	NPM	pH	BI	$\delta^{15}\text{N}$
	— g kg ⁻¹ —		— mg kg ⁻¹ —			cmol _c kg ⁻¹	‰	— g kg ⁻¹ —		— mg kg ⁻¹ —			cmol _c kg ⁻¹	‰
1	0,77	9,01	128,8	42,2	5,9	7,5	8,01	0,62	7,04	106,4	43,3	5,6	4,6	7,90
2	3,08	33,84	240,8	91,5	6,3	27,6	7,67	2,78	33,01	219,8	87,4	6,3	27,4	6,76
3	3,20	36,19	282,8	105,0	6,9	37,2	6,80	2,30	29,84	200,2	69,7	5,8	25,4	6,53
4	2,90	33,60	239,8	70,0	7,2	41,4	6,89	2,86	32,89	243,6	89,1	6,4	25,6	6,54
5	2,41	28,67	221,2	69,2	7,0	27,9	6,50	1,97	24,85	179,2	45,9	5,9	22,6	6,45
6	2,93	30,73	212,8	89,0	7,0	30,3	6,75	2,25	27,88	177,8	58,3	5,8	22,8	6,62
7	3,18	36,80	243,6	94,3	6,8	30,2	6,85	2,23	27,25	193,2	52,5	6,0	24,7	6,78
8	1,24	13,50	112,0	76,4	6,8	23,6	7,17	0,97	11,12	168,0	44,7	5,7	13,3	7,42
9	3,78	41,77	197,1	112,0	7,2	34,9	6,52	2,78	34,70	160,2	72,1	7,3	40,9	6,75
10	3,58	40,70	271,0	82,4	6,8	29,7	7,37	2,93	37,64	197,1	124,4	7,2	34,4	6,09
11	2,77	31,74	197,1	73,0	6,0	16,1	9,24	1,61	19,99	98,6	54,6	6,2	17,1	7,21
12	1,22	12,10	123,2	76,2	7,2	11,3	6,17	0,70	7,32	73,9	33,0	7,0	6,1	8,92
13	4,51	49,82	197,1	67,1	7,2	44,8	7,20	3,86	46,53	184,8	72,0	7,0	46,3	6,43
14	4,29	46,36	197,1	98,9	7,3	37,2	8,28	2,54	33,00	147,8	70,4	7,0	40,2	6,51
15	2,96	34,67	246,4	83,9	6,9	25,4	6,86	2,20	30,10	197,1	37,7	5,7	20,6	6,83
16	3,84	46,32	221,8	36,6	7,6	37,8	6,02	2,55	36,30	172,5	43,9	7,3	39,9	6,00
17	3,41	40,81	221,8	96,5	6,8	24,4	7,25	2,36	31,00	197,1	72,0	5,9	21,0	6,80
18	2,93	32,60	197,1	77,4	6,3	21,4	8,65	2,43	29,85	184,8	51,5	5,6	16,3	8,12
19	4,28	47,77	271,0	115,0	7,1	41,3	7,09	2,57	36,59	221,8	52,6	6,8	36,0	6,55
20	3,34	36,37	221,8	124,3	6,8	30,4	7,58	3,04	37,01	172,5	73,5	6,3	26,3	6,37
Media ‡	3,03	34,2	212,2	84,0	6,9	29,0	7,24	2,28	28,70	174,8	62,4	6,3	25,6	6,88
<i>P</i> ANP > AP §	0.0001	0.0001	0.0001	0.0007	0.0001	0.006	0.05	No corresponde						
Media ¶	3,38	38,2	228,3	87,4	6,9	31,6	7,26	2,54	32,26	185,2	66,3	6,4	28,7	6,67
<i>P</i> ANP > AP ††	0.0001	0.0001	0.0001	0.002	0.0002	0.03	0.0007	No corresponde						

† NT, nitrógeno total; CT, carbono orgánico total; NAA, N-aminoazúcares; NPM, N potencialmente mineralizable; BI, bases de intercambio; $\delta^{15}\text{N}$, abundancia natural de ^{15}N .

‡ Media de los 20 sitios.

§ Probabilidad (ANP > AP) considerando los 20 sitios

¶ Media de sitios excluyendo los suelos arenosos (Sitios 1, 8 y 12).

†† Probabilidad (ANP > AP) excluyendo los suelos arenosos (Sitios 1, 8 y 12).

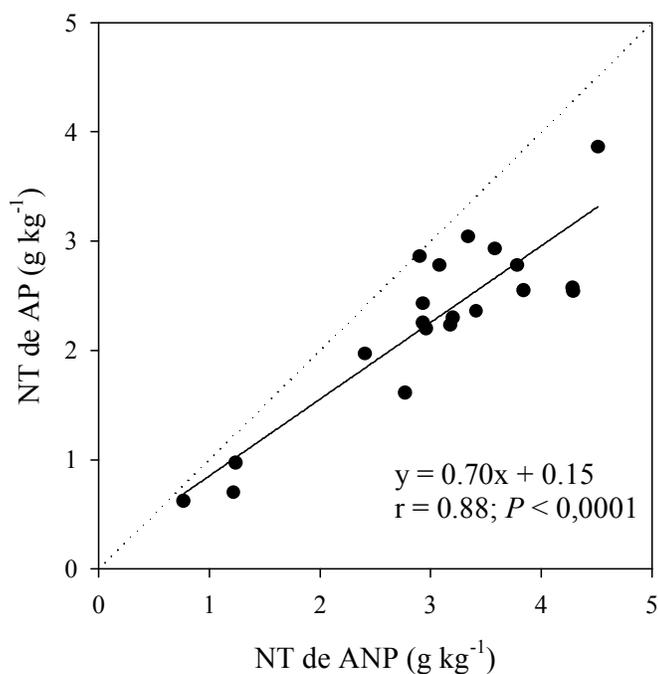


Figura 1. Relación entre NT de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP). La línea continua representa la regresión entre NT de ambas áreas y la punteada la relación 1:1.

Una similar disminución por el cambio de uso del suelo se observó en CT (Cuadro 3), lo que sería esperable ya que generalmente existe una estrecha asociación entre CT y NT ($r = 0,97$; $P = 0,0001$). En los suelos perturbados existieron también caídas significativas e importantes de NAA y NPM, las cuales fueron en promedio de 37 y 22 mg N kg⁻¹ respectivamente (Cuadro 3), aunque la correlación entre los valores de cada parámetro para ambas áreas fue significativa sólo para NAA ($r=0,73$, $P=0,0002$). Asociado a esto, en AP existió también una acidificación promedio de 0.5 unidades de pH, provocada probablemente por la nitrificación de los fertilizantes amoniacales (Darusman et al., 1991), la descomposición de la MO (Morón, 2003) y la pérdida de BI (Coventry y Slattery, 1991). En promedio, esta última fue cuantificada en 3,4 cmol_c kg⁻¹. Todas estas diferencias estadísticamente significativas constituyen una fuerte evidencia de que el suelo estaba efectivamente más perturbado en AP que en ANP (Cuadro 3).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de AP también disminuyeron significativamente, en promedio 0,36‰ con respecto a ANP (Cuadro 3), aunque de acuerdo a los resultados del ANOVA este efecto de manejo no fue significativo (Cuadro 4).

Cuadro 4. ANAVA de NT y $\delta^{15}\text{N}$ para 20 sitios asumiendo un modelo de cuatro factores (manejo, textura, manejo * textura y sitios (textura)).

Índice	Fuente de variación	GL	CM	F	P
NT †	Manejo	1	1,670	16,48	0,001
	Textura	1	21,230	209,50	0,0001
	Manejo*textura	1	0,342	3,37	0,083
	Sitios (textura)	18	7,951	4,36	0,002
$\delta^{15}\text{N}$ ††	Manejo	1	0,169	0,53	N.S §
	Textura	1	2,036	6,33	0,022
	Manejo*textura	1	3,111	9,67	0,006
	Sitios (textura)	18	11,409	1,97	0,079

† NT, nitrógeno total

†† $\delta^{15}\text{N}$, abundancia natural de ^{15}N

§ N.S, no significativo ($P < 0,05$)

La interacción manejo*textura, sin embargo, fue significativo para $\delta^{15}\text{N}$ ($P = 0,006$), expresando que el efecto del uso del suelo sobre esta variable fue diferente según la textura de los suelos. Analizando entonces los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ sólo en suelos AC se encontró que la diferencia de cambio de ANP a AP se incrementó a casi el doble (0,60‰). Una tendencia similar se observó en este subgrupo de sitios (sin suelos AR) en NT, donde la diferencia entre ANP y AP pasó a ser de 0,83 g kg⁻¹. Por consiguiente, la mayoría de los suelos incluidos en el presente trabajo mostraron una caída tanto de NT como de $\delta^{15}\text{N}$ debido al uso agrícola. Este último resultado fue opuesto a lo reportado por Evans y Belnap (1999) y Diaz Raviña et al. (2005) en suelos AR. Lo citado por estos autores, sin embargo, coincidiría con los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ de suelos AR, en los cuales los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de AP no cambiaron o se incrementaron

con respecto a ANP. Por consiguiente, los resultados obtenidos en suelos arenosos de zonas desérticas o agrícolas de otras regiones serían extrapolables sólo a los suelos AR de nuestro país, pero no al resto con textura más pesada.

Este comportamiento diferencial de los suelos AC y AR puede ser explicado asumiendo que en ambos grupos de suelos la perturbación agrícola produce una pérdida de NT, como consecuencia de que la mineralización bruta es mayor que la inmovilización bruta (mineralización neta). Pero el N que se pierde por mineralización neta está relativamente más empobrecido en ^{15}N que el remanente en forma orgánica en el suelo (Shearer et al. citado por Boddey et al., 2000), lo que produciría el enriquecimiento en ^{15}N de los suelos AR. En los suelos AC ocurriría lo mismo, pero existiría junto con la pérdida de ^{14}N una entrada por inmovilización neta de N aún más empobrecido en ^{15}N proveniente del fertilizante y de la fijación simbiótica de N, ambas fuentes con señal isotópica similar a la del aire ($\delta^{15}\text{N}$ cercano a cero). Por consiguiente, en los suelos AC el resultado final de la perturbación sería un empobrecimiento en N y en ^{15}N de la MO. Entonces, el cambio de $\delta^{15}\text{N}$ por agricultura en suelos AC sería consecuencia del fraccionamiento durante la mineralización bruta con pérdida de N empobrecido y del mezclado de N aún más empobrecido por inmovilización bruta (FBN y fertilizantes N), mientras que en suelos AR la mineralización neta de N sería cada vez más enriquecida en ^{15}N debido a la preponderancia de los procesos de pérdida de ^{14}N sobre los de ganancia por inmovilización bruta. Por lo tanto, ambos procesos, mezclado y fraccionamiento son responsables de los cambios de ^{15}N en los suelos agrícolas.

Aunque la mayoría de los suelos AC incluidos en este estudio provinieron de la misma zona, no pueden ser considerados como formando parte de una secuencia del mismo suelo con diferente grado de perturbación, como sí lo fueron los estudios realizados por otros autores (Evans y Ehleringer, 1993; Sperry et al., 2006). Los sitios AR, por otra parte, tuvieron una génesis edafológica diferente. Con estas salvedades, se estudió igualmente la relación entre NT y $\delta^{15}\text{N}$ utilizando tanto el modelo Keeling Plot (mezclado) como Rayleigh (fraccionamiento). Cada modelo fue utilizado para describir la relación NT y $\delta^{15}\text{N}$ pero separando los suelos según nivel de perturbación, los ANP de los AP. Ninguno de estos modelos fue apropiado para describir la relación observada en los suelos ANP, aunque en esta condición de no perturbación los tres suelos AR se apartaron claramente de los AC (Figura 2 a

y 2b). Esta falta de significación estadística podría explicarse por la menor variabilidad relativa de NT en relación a la de $\delta^{15}\text{N}$, particularmente en los suelos AC bajo campo natural.

En los sitios AP, en cambio, existió una correlación alta y similar en valor absoluto entre $\delta^{15}\text{N}$ y NT para ambos modelos, con excepción de un outlier (Sitio 18); lo cual indica que los suelos con menor concentración de NT tendieron a estar más enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$. Esta relación, que se verificó a través de todos los suelos (AR y AC) coincidió con la reportada por Evans y Belnap (1999) y Díaz-Raviña et al. (2005); aunque ambos autores utilizaron únicamente el modelo Rayleigh en una secuencia de suelos de similar textura. Algunos autores han cuestionado, sin embargo, el uso de este modelo en estudios de $\delta^{15}\text{N}$ como trazador natural, ya que consideran que el modelo de mezclado (Keeling plot) sería más adecuado para describir los cambios conjuntos de NT y $\delta^{15}\text{N}$ que ocurren por una perturbación (Robinson, 2001; Haughn et al. 2003). El modelo Keeling plot, sin embargo, tampoco debería ser usado cuando el cambio en la concentración de N original fuera mayor a un 30% (Criss, 1999). El hecho de que en este trabajo ambos modelos tuvieron el mismo ajuste pudo ser debido a que el valor promedio de pérdida de NT post perturbación fue aproximadamente un 30% del NT presente en ANP.

Las relaciones encontradas con estos dos modelos a través de los suelos AP, sin embargo, no aportaron información sobre la causa real del cambio de $\delta^{15}\text{N}$ de ANP a AP en cada suelo, sino que manifestaron simplemente el resultado de estos cambios a través de todos los suelos. De hecho, la pendiente negativa de la relación $\delta^{15}\text{N}$ y NT (incremento del primero cuando decrece el segundo) observada en el modelo Rayleigh en el grupo AP para todos los suelos (Figura 2b) resultó opuesta al cambio de $\delta^{15}\text{N}$ y NT de ANP a AP observado en los suelos AC. Esta contradicción derivaría de que la causa principal de los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ en el caso de los suelos AC fue el mezclado de fuentes de N empobrecidas en ^{15}N (fertilizantes y FBN), mientras que en los AR lo fue el fraccionamiento y el débil mezclado debido a la pobre capacidad de inmovilización de N de estos suelos. Por lo tanto los suelos de mayor calidad (menos perturbados) tendrían valores relativamente altos de NT con altas concentraciones de ^{15}N en los suelos AC y bajas en los AR.

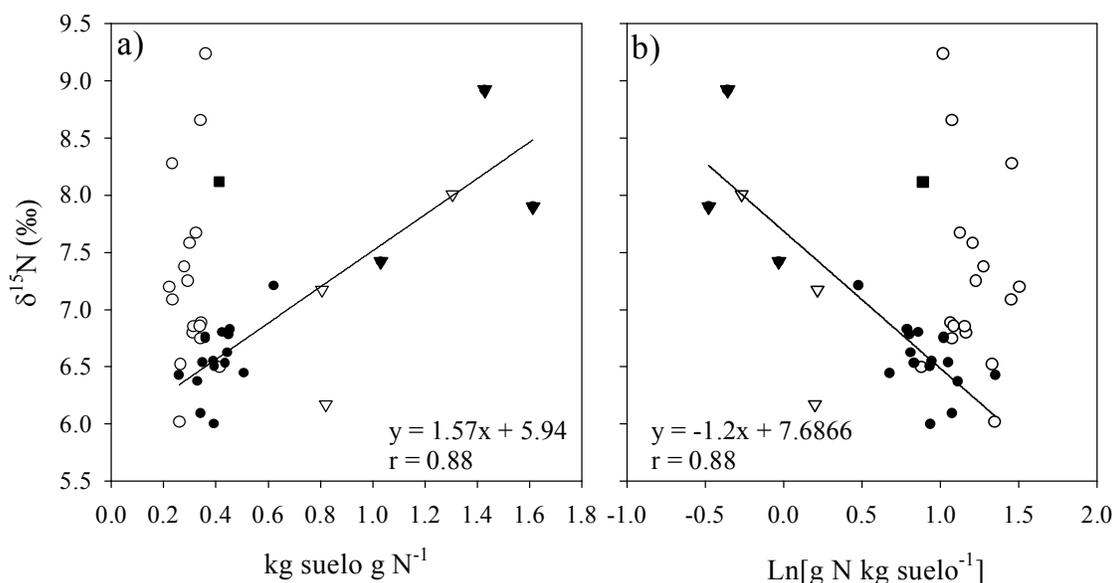


Figura 2. Relaciones entre $\delta^{15}\text{N}$ y el inverso de NT, Modelo de Mezclado (a), ó $\delta^{15}\text{N}$ y el logaritmo natural de NT, Modelo Rayleigh (b), para varios grupos de suelos agrícolas del Uruguay colectados en áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) simbolizados por símbolos vacíos y rellenos, respectivamente. Los círculos corresponden a suelos arcillosos (AC) y los triángulos a suelos arenosos (AR). El Sitio 18 representado por el símbolo cuadrado no se incluyó en el modelo de regresión lineal.

Un análisis detallado de la Figura 2b reveló que aunque todos los suelos AC disminuyeron su NT por la perturbación, sólo 10 decrecieron su $\delta^{15}\text{N}$ y todos estos últimos tuvieron un cambio similar de pendiente $\Delta\delta^{15}\text{N}/\Delta\text{NT}$ (Figura 3a). Estos suelos en ANP serían los más prístinos, constituidos de una MO más humificada y más enriquecida en ^{15}N (más de 7‰). En el resto el cambio de pendiente fue cercano a cero, debido a que cambiaron poco sus valores de $\delta^{15}\text{N}$ y NT o a que sólo NT cambió (Figura 3b). Estos suelos posiblemente ya estaban más perturbados en ANP y tenían valores de $\delta^{15}\text{N}$ menores a 7‰. Por último, en los tres suelos AR el decrecimiento de NT fue escaso o nulo en términos absolutos aunque importante desde el punto de vista relativo, y además dos de ellos se enriquecieron en ^{15}N debido básicamente a la pérdida preferencial de ^{14}N y a la escasa inmovilización de N (Figura 3a). Estos resultados confirman la idea de que el sentido de la pendiente de la Figura 2b no constituye una indicación de que los suelos AP se enriquecieron en ^{15}N al perder N, ya que

sólo los AR mostraron esta tendencia, mientras que por el contrario la mayoría de los AC se empobrecieron o no cambiaron, al menos para el estado de perturbación existente.

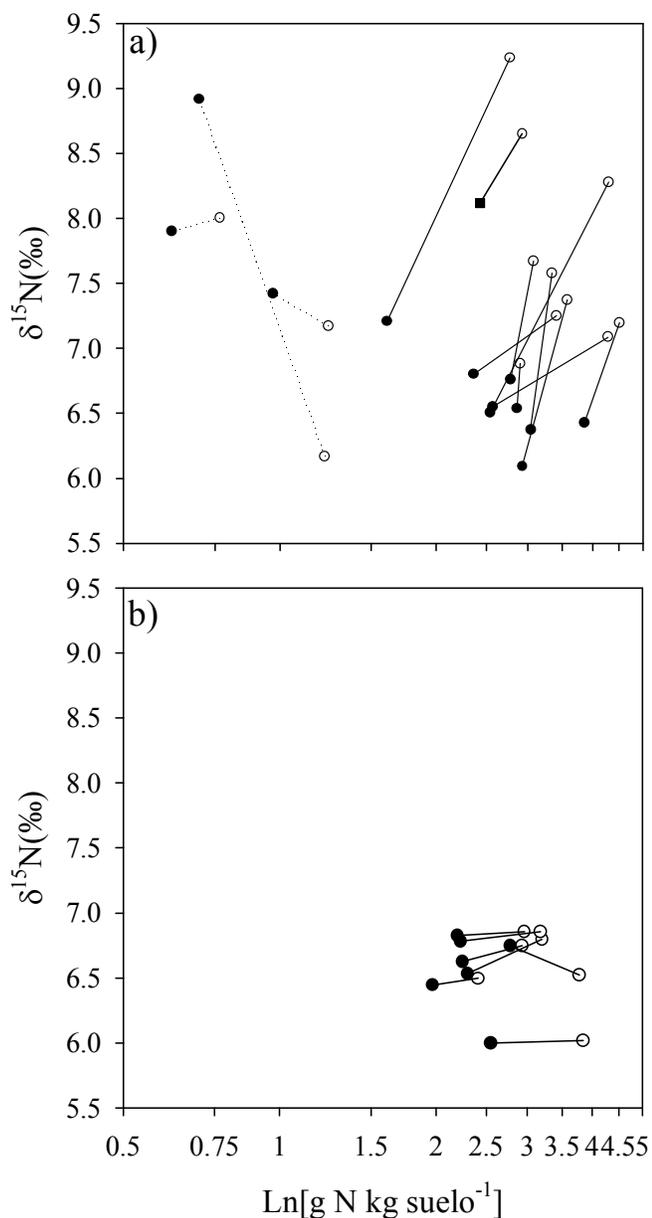


Figura 3. Relación entre $\delta^{15}\text{N}$ y NT (Modelo Rayleigh) para varios grupos de suelos agrícolas del Uruguay de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) representados por círculos vacíos y rellenos, respectivamente. Las líneas continuas representan las pendientes de cambio de los suelos arcillosos, $>$ a cero (a) y próximas a cero (b) y las líneas punteadas (a) las pendientes de cambio de NT y $\delta^{15}\text{N}$ desde ANP a AP de los suelos arenosos.

El comportamiento de los suelos en tres grupos observado en las Figuras 3a y 3b sugeriría que la relación $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ podría ser un indicador del efecto del uso del suelo sobre la calidad del mismo, ya que esta relación varió en función de NT en una secuencia única, independientemente de la clase textural o del nivel de perturbación (Figura 4a). El alto R^2 del modelo se debe en parte a autocorrelación, ya que NT se encuentra tanto en el eje de las abscisas como en el de las ordenadas. Los sitios de ANP tendieron a ubicarse más a la derecha de la gráfica, mientras que los de AP se ubicaron más hacia la izquierda, debido a diferencias en NT. Los suelos AC de ANP más prístinos (chacras nuevas, ver Cuadro 1) tendieron a ubicarse por encima de la línea del modelo, frente a un mismo nivel de NT, mientras que los menos prístinos y los AP se ubicaron por debajo del modelo (Figura 4a). La posición relativa de los suelos AC de ANP y de AP respecto a la línea del modelo, se expresó más claramente a través de la relación entre los desvíos del índice $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ respecto al modelo y los valores de NT (Figura 4b). Los suelos AR, en cambio, manifestaron pérdidas insignificantes de NT pero aumentos muy importantes de $\delta^{15}\text{N}$, lo cual incrementó su relación $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$, como resultado de la preponderancia de los procesos de pérdida sobre los de ganancia de ^{14}N . Independientemente del cambio ANP a AP, los tres suelos AR mostraron en AP los valores mayores de $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$. De acuerdo a este análisis, se podría incorporar un nuevo suelo en esta figura y evaluar el grado de perturbación del mismo por su ubicación en la figura sin necesidad del dato de ANP. Estos resultados, si bien promisorios, deben considerarse con cautela ya que podrían no ser válidos en zonas del país con diferentes condiciones de suelo y clima.

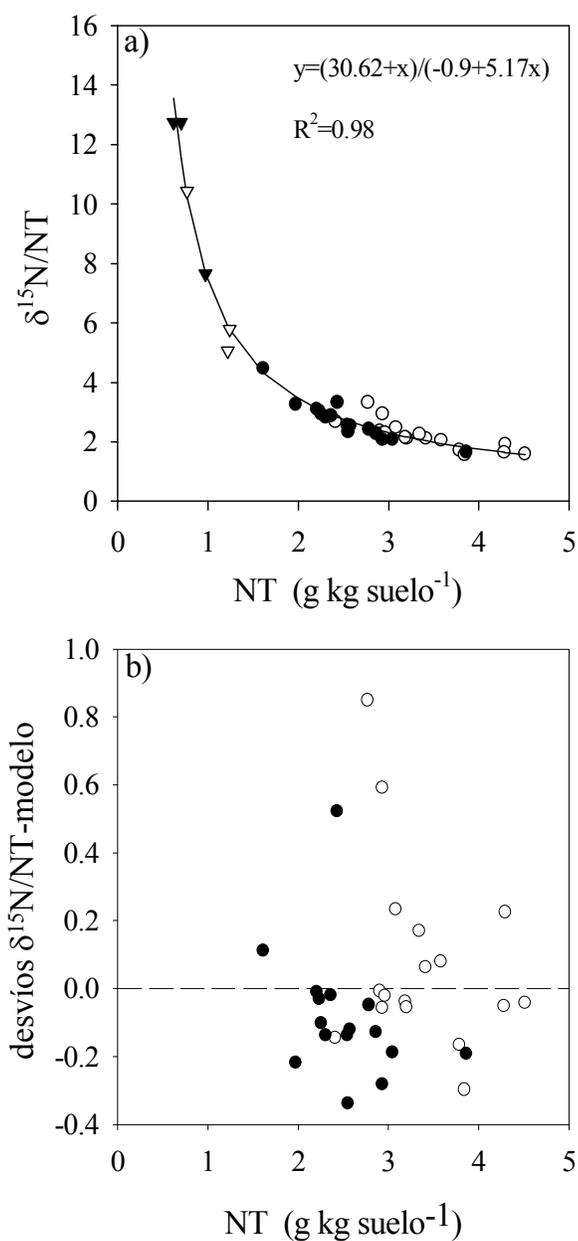


Figura 4. Relación entre $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ y NT para varios grupos de suelos agrícolas de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP) (a). Relación entre desvíos de $\delta^{15}\text{N}/\text{NT}$ respecto al modelo y NT para suelos AC agrícolas de ANP y de AP (b). En 4a y 4b los círculos vacíos y rellenos simbolizan los suelos ANP y AP, respectivamente. En 4a los triángulos vacíos y rellenos representan los suelos arenosos de ANP y de AP, respectivamente.

CONCLUSIONES

Existió diferencia significativa de $\delta^{15}\text{N}$ entre sitios derivada tanto de factores edáficos como de manejo. Este índice podría entonces ser usado como trazador natural de diferentes procesos del N.

En los suelos AC los valores de $\delta^{15}\text{N/NT}$ tendieron a disminuir o no modificarse como consecuencia del cambio en el uso y manejo del suelo, mientras que en los AR tendieron a aumentar. Esto podría ser debido a la pérdida preferencial del N empobrecido y a diferencias en la capacidad de inmovilización de N aún más empobrecido, relativamente mayor en los suelos AC. Esto manifestaría que los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ observados en suelos AC y AR fueron explicados por la importancia relativa de los procesos de discriminación isotópica frente a los de mezclado.

La relación $\delta^{15}\text{N/NT}$ en función de NT integró en una secuencia única las dos clases de perturbación y todas las texturas, por lo que esta relación podría usarse como un diagrama de clasificación de calidad de suelos, ya que la posición de un nuevo suelo en el diagrama revelaría su calidad relativa.

REFERENCIAS

- Altamirano, A., H. da Silva, A. Durán, A. Echevarría, D. Panario, R. Puentes. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay. Tomo I. Clasificación de suelos. Montevideo, Uruguay.
- Amundson, R., A.T. Austin, E.A.G. Schuur, K. Yoo, V. Matzek, C. Kendall, A. Uebersax, D. Brenner and W. T. Baisden. 2003. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Global Biogeochem. Cycles* 17 (1), 1031, doi: 10.1029/2002GB001903.
- Bahar, B., F. Monahan, A. Moloney, P. O'Kiely, Ch. Scrimgeour and O.Schmidt. 2005. Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19:1937-1942.
- Boddey, R.M., M.B. Peoples, B. Palmer and P.J. Dart. 2000. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 57: 235-270.
- Carranca, C., A. de Varennes and D.E. Rolston. 1999. Biological nitrogen fixation estimated by ^{15}N dilution, natural ^{15}N abundance, and N difference techniques in a subterranean clover-grass sward under Mediterranean conditions. *European J. Agron.* 10:81-89.
- Coventry, D.R. and W.J. Slattery. 1999. Acidification of soil associated with lupins grown in a crop rotation in north-eastern Victoria. *Aust. J. Agricul. Res.* 42: 391-397.
- Criss, Robert. 1999. Principles of stable isotope distribution. Oxford University Press. 264 p.
- Choi, W. J. and H.M. Ro. 2003. Differences in isotopic fractionation of nitrogen in water saturated and unsaturated soils. *Soil Biol. Biochem.* 35: 483 - 486.
- Darusman, S., L.R. Whitney, D. Janssen and J. Long. 1991. Soil properties after twenty years of fertilization with different nitrogen sources. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55: 1097-1100.
- Díaz-Raviña, M., J. Bueno, S.J. González-Prieto and T. Carballas. 2005. Cultivation effects on biochemical properties, C storage and ^{15}N natural abundance in the 0-5 cm layer of an acidic soil from temperate humid zone. *Soil Tillage Res.* 84: 216-221.
- Durán, A., A. Califra, J.H. Molfino and W. Lynn. 2005. Keys to soil taxonomy for Uruguay. Unites states department of agriculture, natural resources conservation service.

- Evans, R.D. and J.R.Ehleringer.1993. A break in the nitrogen cycle in aridlands? Evidence from $\delta^{15}\text{N}$ of soils. *Oecología* 94: 314-317.
- Evans, R.D. and J. Belnap.1999. Long- term consequences of disturbance on nitrogen dynamics in arid ecosystem. *Ecology* 80: 150-160.
- Gee, G.W. and J.W. Bauder. 1979. Particle size analysis by hydrometer a simplified method for routine textural analysis and sensitivity test of measured parameters. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43: 1004-1007.
- Haughn, A.B., J. W. van Groenigen, and C. van Kessel. 2003. Tracing ^{15}N through landscapes: potential uses and precautions. *J. Hydrol.* 272(1-4): pp.175-190.
- Keeney, D.R. 1982. Nitrogen-availability indexes. p.711-734. In: A.L. Page (ed.) *Methods of soil analysis. Part 2.* 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Kellman L. M. and M. C. Hillaire. 2003. Evaluation of nitrogen isotopes as indicators of nitrate contamination sources in an agricultural watershed. *Agriculture, Ecosystems and Environ.* 95:87-102.
- Khan, S.A., R.L. Mulvaney and R.G. Hoefl. 2001. A simple soil test for detecting sites that are nonresponsive to nitrogen fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 1751-1760.
- Mayer B., E.W. Boyer, C. Goodale, N.A. Jaworski, N. van Breemen, R. W. Howarth, S. Seitzinger, G. Billen, K. Lajtha, K. Nadelhoffer, D. Van Dam, L. J. Hetling, M. Nosal and K. Paustian. 2002. Sources of nitrate in rivers draining sixteen watersheds in the northeastern U.S.: Isotopic constraints *Biogeochemistry* 57/58:171-197.
- Morón, A. 2003. Principales contribuciones del experimento de rotaciones cultivos-pasturas de INIA la Estanzuela en el área de Fertilidad de Suelos (1963-2003).p1-7. *In Simposio: 40 años de rotaciones agrícolas-ganaderas.* INIA La Estanzuela. Morón, A. y R. Díaz (Eds.). Serie Técnica 134.
- Mulvaney, R.L. and S.A. Khan. 2001. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. *Soil Sci. Soc. Am.J.* 65:1284–121.
- Pataki, D. E., J. R. Ehleringer, L. B. Flanagan, D. Yakir, D. R. Bowling, C. J. Still, N. Buchmann, J. O. Kaplan, and J. A. Berry. 2003. The application and interpretation of Keeling plots in terrestrial carbon cycle research. *Global Biogeochem. cycles* Vol. 17(1),1022, doi:10.1029/2001GB001850.

- Robinson, D. 2001. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. Review. Trends Ecol.Evol.16 (3):153-162.
- SAS Institute. 1990. SAS/STAT user`s guide. Versión 6. 4th ed. Vol.1. SAS Inst., Cary, N.C.
- Sperry, L.J., J. Belnap and R.D. Evans. 2006. Bromus tectorum invasion alters nitrogen dynamics in an undisturbed arid grassland ecosystem. Ecology 87 (3): 603-615.
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. p. 159-165. *In* A. L. Page (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Tiessen, H., R.E. Karamanos, J. W. B. Stewart, and F. Selles. 1984. Natural nitrogen-15 abundance as an indicator of soil organic matter transformations in native and cultivated soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 48: 312-315.
- Wraith, J.M., and D. Or. 1998. Nonlinear parameter estimation using spreadsheet software. J. Nat. Resour. Life Sci. Educ. 27:13-19.

IV. CAMBIOS DE DELTA ^{15}N DE LA MATERIA ORGÁNICA PARTICULADA CON EL USO AGRÍCOLA

Cristina Mori

Dpto. de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía de la República Oriental del Uruguay, Garzón 780, CP.: 12900, Montevideo, Uruguay. Tel.: +598 (2) 3544688, e-mail: cristinamori@fagro.edu.uy

RESUMEN

Algunos estudios han reportado que la abundancia natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) del suelo se relacionó con su grado de perturbación; sin embargo, poco se conoce de la magnitud de este efecto en las fracciones de la materia orgánica (MO). En el presente trabajo se pretendió conocer los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y nitrógeno (N) de la materia orgánica particulada (MOP) en 15 suelos agrícolas procedentes de áreas no perturbadas (ANP) y perturbadas (AP). La MOP integró la fracción de tamaño de partícula $> 50 < 200 \mu\text{m}$ (F50) y la de tamaño $> 200 \mu\text{m}$ (F200). El N de la MOP representó sólo un 17% del N total (NT) perdido, por lo cual otras fracciones que no integraron la MOP fueron fuente de N perdido post-perturbación. La disminución de N de F50 (N50) post perturbación fue proporcional a la cantidad de N en ANP, y el cambio de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ de ANP a AP fue similar al observado en $\delta^{15}\text{NT}$, pero sólo cuando ambas fracciones empobrecieron. Estas variaciones, sin embargo, fueron siempre mayores en F50, por lo que esta fracción sería más sensible a los cambios. La disminución de N derivado de F200 (N200) en AP fue cerca del 90% del N presente en ANP, por lo cual fue más lábil que N50. En la mayoría de los sitios, $\delta^{15}\text{N}_{200}$ no varió entre ANP y AP, debido posiblemente a que la disminución de N200 ocurrió por descomposición física, la cual no involucra discriminación isotópica ni mezclado. En los sitios que tenían bajo NT en ANP se observó enriquecimiento de N200 en AP, posiblemente relacionado a un menor aporte y ciclaje de ^{14}N y/o a un mayor aporte de N proveniente de otras fracciones del suelo más enriquecidas en ^{15}N . La escasa variación de N200 en AP limitaría su uso como indicador de calidad de suelos, aunque sí podría ser útil en ecosistemas no agrícolas sometidos a clases de perturbación mas leve.

PALABRAS CLAVE: fracciones de la materia orgánica, indicador de calidad de suelo, ^{15}N , perturbación agrícola.

CHANGES OF DELTA ^{15}N OF ORGANIC MATTER PARTICULATE WITH THE AGRICULTURAL USE

Cristina Mori

Dpto. de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía de la República Oriental del Uruguay, Garzón 780, CP.: 12900, Montevideo, Uruguay. Tel.: +598 (2) 3544688, e-mail: cristinamori@fagro.edu.uy

ABSTRACT

Some studies have reported that the ^{15}N soil natural abundance ($\delta^{15}\text{N}$) was related to its degree of disturbance, but little is known about the magnitude of this effect on the soil organic matter (SOM) fractions. In the present work we measured the $\delta^{15}\text{N}$ and N values of the particulate organic matter (POM) in 15 agricultural soils collected from undisturbed (UA) and disturbed (DA) areas. The POM was composed of two fractions, one with particle sizes within 50 and 200 μm (F50) and another larger than 200 $>\mu\text{m}$ (F200). The amount of N from POM was 17% of TN lost by agricultural, thus this fraction was not the main N source post-disturbance. The decrease of N derived from F50 (N50) after perturbation was proportional to the amount present in UA and the changes of $\delta^{15}\text{N}$ in F50 were similar observed in TN, but only when both fractions decreased its $\delta^{15}\text{N}$. Also these variations were always higher in F50, suggesting that this fraction would be more sensible to the changes. The decrease of N derived from F200 (N200) in DA was close to 90% of that present in UA, thus was more labile than N50. In almost all sites, $\delta^{15}\text{N}$ in F200 did not change between UA and DA, suggesting that the decrease of N200 possibly happened by physical decomposition, with neither isotopic discrimination nor mixing. All sites with low TN in UA showed a ^{15}N enrichment of N200 in DA, possibly linked to a small N cycling (less ^{14}N immobilization) and/or to a greater input of enriched N from other soil fractions. The small variability of F200-N in DA could limit its use as an indicator of soil quality; although it still could be useful in non-agricultural ecosystems subjected to a lower degree of disturbance.

KEY WORDS: organic matter fractions, index of soil quality, ^{15}N , agricultural disturbance.

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica (MO) juega un rol importante en determinar la calidad del suelo al mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo. Debido a que el detrimento en las propiedades mencionadas puede ser irreversible, la MO es crucial en la sostenibilidad de los ecosistemas agrícolas. Un efecto adicional de la MO en la productividad agrícola es su papel como fuente de nutrientes, y su cuantificación es esencial para orientar respecto a las prácticas más sostenibles de manejo del suelo (Christensen, 1992). La MO del suelo no es un material muy bien definido, compuesta de una serie de pools muy diferentes en composición y funcionamiento biológico, abarcando un amplio rango de procesos cuyas dinámicas pueden ser desde muy activas a muy pasivas o estables (Christensen, 1992). La acumulación de MO resulta del balance entre las entradas de materia orgánica (básicamente restos de plantas) y las pérdidas por descomposición, aunque de las entradas sólo una pequeña fracción llega a formar parte del pool más estable a través del reciclaje por los microorganismos (Six et al., 2000). Si bien la MO juega un papel importante en la determinación de la calidad del suelo, ella no es un buen indicador de calidad en sí misma, ya que cambia muy lentamente a través del tiempo (Biederbeck et al., 1994). El fraccionamiento físico de la MO permite separar pools de carbono orgánico esencialmente en dos componentes o fracciones, las lábiles y más activas y las pasivas (Janzen et al., 1992). El pool más lábil y activo se denomina materia orgánica particulada (MOP) y está relacionada con las fracciones de tamaño $>50 \mu\text{m}$. Esta fracción está constituida por las partículas de tamaño arena y restos frescos parcialmente descompuestos, y frente a cambios de manejo o uso del suelo estas fracciones responden más rápidamente que el contenido de MO total (Cambardella y Elliot, 1992). El pool más estable se denomina materia orgánica asociada a los minerales (MOAM) y la fracción que lo forma es aquella $< 50 \mu\text{m}$ (Cambardella y Elliot, 1992). Este pool se encuentra más transformado por lo que tiene más relación con la dinámica de la MO en el largo plazo (Christensen, 1992). Cuando un suelo sufre una transición desde agricultura a pastura permanente, el contenido de MOS se incrementa debido a una mayor entrada de material orgánico combinado con tasas de descomposición más lentas. Este incremento de la MO es un proceso lento, por lo cual los cambios en cantidad y calidad de la MO total son

usualmente difíciles de detectar en el corto plazo (Hassink et al., 1997). Por el contrario, la conversión de campo natural a cultivo conlleva a una degradación de la MO, y estas pérdidas son mayores en los primeros años de agricultura que en los años siguientes (Cambardella y Elliot, 1992). El pool que registra la mayor parte de la MO perdida inicialmente es la MOP (Chan, 1997), si bien se ha visto que no es la única fuente de N afectada (Fabrizzi et al., 2003). Por tanto este pool de MO es controlado por el manejo, mientras que la MOAM lo está principalmente por la textura del suelo (Hassink et al., 1997). Respecto a esto último, es bien sabido que los suelos arcillosos retienen más MO que los arenosos, debido a la existencia de diversos mecanismos de protección que restringen su biodegradación (Hassink, 1994). Si bien en varios trabajos se ha reportado que la MOP puede reflejar mejor los cambios en la calidad del suelo que la MO sola (Cambardella y Elliot, 1992; Fabrizzi et al., 2003; Morón y Sawchik, 2003), otros han reportado que el Carbono total (CT) fue igualmente sensible a los diferentes manejos que el carbono de la MOP (Chan, 1997; Franzluebbers y Stuedemann, 2008).

Otra herramienta eficaz en el estudio de la dinámica de la MO son los isótopos estables, particularmente ^{13}C y ^{15}N . La concentración de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de la MO es usualmente mayor que la de las plantas, debido a que éstas absorben N mineral, el cual es isotópicamente empobrecido en ^{15}N en relación al NT del suelo (Amundson et al., 2003; Handley y Raven, 1992). Es sabido, además, que la composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo es muy influida por un gran número de factores pedogenéticos como material parental, topografía, vegetación (Amundson et al., 2003), además de los efectos de fraccionamiento isotópico como resultado de la diferencia de masa entre isótopos (Högberg, 1997). Asimismo, la MO más descompuesta y humificada se torna gradualmente más enriquecida en ^{15}N y en ^{13}C (Tiessen et al., 1984). Si bien el carbono es liberado más rápidamente que el nitrógeno durante la descomposición de la MO, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del humus remanente se incrementan más que los valores de $\delta^{13}\text{C}$. Natelhoffer y Fry (1988) atribuyen esto a diferencias en el factor de discriminación isotópico (determinado bajo condiciones de incubación) que fue, en promedio, tres veces mayor para ^{15}N que para ^{13}C (2.6 y 0.8‰, respectivamente). En relación a las fracciones de la MO se ha encontrado que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ de estas fracciones (separadas por densidad) incrementa con el aumento de grupos alifáticos como resultado de una mayor actividad microbiana (Kramer et al. citado por Liao et al., 2006). Otros autores encontraron

además que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ incrementaron con el decrecimiento del tamaño de partícula, aunque estas observaciones se manifestaron en suelos bajo condiciones prístinas (Tiessen et al., 1984; Kerley y Jarvis, 1997). Luego de la introducción de cultivos, sin embargo, la diferencia observada entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las diferentes fracciones de la MO y los de $\delta^{15}\text{NT}$ ($\delta^{15}\text{N}$ del total del N del suelo) fue distinta que bajo la situación no perturbada o prístina (Tiessen et al., 1984). Por tanto el cambio de $\delta^{15}\text{N}$ de las fracciones de la MOP podría aportar alguna información adicional respecto a la suministrada por las variaciones de $\delta^{15}\text{N}$ del N total del suelo (NT) (Mori, 2008a). En el presente trabajo se planteó entonces conocer los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y N de las fracciones de la MOP (F50 y F200) en 15 suelos agrícolas procedentes de áreas no perturbadas (ANP) y áreas perturbadas (AP). Asimismo, se analizaron los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ y N en las fracciones de la MOP por el uso agrícola, y se sondeó si estas fracciones fueron más sensibles a estos cambios que el NT del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y caracterización de suelos agrícolas

Los muestreos de suelo de 15 de los 20 sitios realizados para el trabajo de Mori, 2008a, fueron utilizados en este estudio. Estos sitios localizados en el litoral oeste del país estaban originalmente bajo una vegetación nativa de pradera (constituida por gramíneas autóctonas como especie predominante), y actualmente bajo uso agrícola. La actividad agrícola de la mayoría de los sitios estuvo representada de una sucesión de cultivos de invierno (trigo, cebada) y verano (sorgo, soja, maíz) y en rotación con pasturas mixtas de leguminosas (trébol blanco, rojo y lotus) y gramíneas (festuca), aunque éstas últimas no formaron parte de la composición botánica en algunas praderas. El sistema de manejo de suelo para la preparación del barbecho fue básicamente siembra directa, la excepción se dio en los Sitios 3, 9, 11 y 12 en dónde el manejo fue convencional. En cada sitio se muestreó la capa superior del suelo (0 - 20 cm de profundidad) de dos áreas, la agrícola (AP) y la zona bajo alambrado, considerada como no perturbada (ANP) por la agricultura. Cada muestra estuvo compuesta de 20 tomas extraídas al azar de cada área de muestreo. En el Cuadro 1 se presenta información detallada de las unidades de suelo dominantes (clasificación USDA y de Uruguay), textura, índice cualitativo de fertilidad, cultivo previo y edad de la chacra de los sitios. En referencia a este cuadro, cabe señalar que los datos de edad de chacra y los de cultivo previo son cualitativos, ya que los mismos surgen de una red de ensayos realizados en chacras comerciales bajo régimen de arrendamiento o propiedad, lo cual limitó el rigor de la encuesta.

Cuadro 1. Información acerca de las Unidades Cartográficas, suelos dominantes y textura de los 15 sitios.

Nº Sitio	Unidad Cartográfica de Suelo †	Suelos dominantes según los sistemas de clasificación de USDA y Uruguay		Familia Textural ¶	Información brindada por el agrónomo		
		USDA ‡	Uruguay §		Índice cualitativo de Fertilidad #	Edad chacra ††	Cultivo previo
1	Algorta	THdalf	AD	Ar	Baja	Sd.‡‡	Pastura de 3 años
3	Young	PA	BE	Fr	Media-Alta	sd.	Girasol
5	San Manuel	TA	BE	Fr	Baja-Media	sd.	Maíz
6	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	sd.	Pastura
7	San Manuel	TA	BE	Fr	Media	sd.	Girasol
8	Young	PA	BE	ArFr	Baja	sd.	Girasol
9	Young	VA	BE-VR	Fr	Media-alta	Vieja	Sorgo
11	Young	PA	BE	L	Media-alta	Vieja	Sorgo
12	Chapicuy	TA	BS-AS	Ar	Media	Vieja	Girasol
15	Arapey	THdert	VH	Fr	Media	Nueva	Soja
16	San Manuel	TA	BE	Fr	Media	Nueva	Sorgo
17	Young	PA	BE	Fr	Media-alta	Nueva	Pastura de 3 años
18	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Nueva	Soja
19	San Manuel	TA	BE	Fr	Alta	Nueva	Pastura + de 3 años
20	Young	PA	BE	Fr	Alta	Nueva	Girasol

†Fuente: Uruguay, Carta de Reconocimiento de Suelos del Uruguay a escala 1:1000000. Dirección de Suelos y Fertilizantes - MAP, Montevideo, Uruguay, 1976.

‡Fuente: Durán et al, 2005. Keys to soil taxonomy for Uruguay. Unites States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. THdalf = Typic Hapludalf; THdert= Typic Hapludert; PA= Pachic Argiudoll; TA= Typic Argiudoll; VH= Vertic Argiudoll.

§Fuente: Uruguay, Compendio Actualizado de Información de Suelos del Uruguay, División de Suelos y Agua, MGAP, Montevideo, Uruguay, 2001. (Programa y Base de Datos en formato CD).AD= Argisoles Dísticos; BE= Brunsoles Eutrícos; VR= Vertisoles Rúpticos; BS= Brunsoles Subeutrícos; AS= Argisoles Subeutrícos; VH= Vertisoles Hápticos.

¶ Ar: arenosa; ArFr: areno francosa; Fr: francosa; L: limosa. Fuente: Carta de Reconocimiento de Suelos del Uruguay. Tomo I. Clasificación de suelos. Altamirano et al., 1976.

#Índice de Fertilidad: definido por el agrónomo de acuerdo a la historia de la chacra y uso del suelo

††Edad chacra: nueva: 4 años o menos de agricultura; vieja: más de 4 años de agricultura con + período de laboreo convencional equivalente a un 50% o más de la edad de la chacra

‡‡S.d.: Sin datos

Metodología de análisis químicos, físicos e isotópicos

Las muestras de suelo se secaron a 40 °C durante 48 h y se molieron y tamizaron a un tamaño menor a 2 mm. En una submuestra de las mismas se realizó el fraccionamiento físico de la MOS basado en el método descrito por Cambardella y Elliot (1992), analizando solamente las fracciones correspondientes a la MOP (F50 y F200). Las muestras de suelo fueron agitadas durante 14 horas con hexametáfosfato de sodio en una relación 1:3 (30 g suelo/ 90 mL de $(\text{NaPO}_3)_6$ 0,5%). Luego de dispersar la muestra se procedió a lavar la solución con agua destilada, volcándola sobre dos tamices encimados de 200 y 50 μm . Luego de enjuagar varias veces, las fracciones colectadas en cada tamiz se colocaron en placas de petri y se secaron en estufa de aire forzado a 60 °C por 48 hs., hasta peso constante. Además se analizó la composición granulométrica del suelo por el método del hidrómetro de acuerdo a Gee y Bauder (1979). Algunos suelos (Sitios 1, 8 y 12) difirieron claramente en su textura del resto, por lo cual se los incluyó en el grupo de suelos arenosos (AR); estos suelos tenían más del 50% de arena y menos del 20% de arcilla. El resto de los sitios, que en promedio tenían más del 20% arcilla y más del 30% de limo fueron incluidos en el grupo de suelos arcillosos (AC), aunque ninguno de ellos integró esa categoría.

Las fracciones de la MO utilizadas en análisis isotópicos fueron molidas en molino rotativo, para reducir el tamaño de partícula, ya que la masa de suelo a pesar fluctuó en valores de $0,015 \text{ g} \pm 0,001$. Cada muestra de suelo fue pesada dentro de cápsulas de estaño, y éstas fueron dispuestas en un analizador elemental Flash EA 112 acoplado a un espectrómetro de masa Finnigan MAT DELTAplus XL (Bremen, Alemania), donde se determinó la concentración de N total y la abundancia natural de ^{15}N de las fracciones. La precisión (desvío estándar) de la determinación de estos índices, basada en el valor de estándares de suelo, fue de 0,1% y 0,3‰, respectivamente. La relación isotópica se expresó en notación delta (δ) en partes por mil (‰):

$$\delta^{15}\text{N} = \left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \times 1000 \quad [1]$$

donde $\delta^{15}\text{N}$ es la composición isotópica de la muestra y R es la relación molar del isótopo pesado sobre el liviano ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) para la muestra y el estándar. Sin embargo, la baja concentración de N de algunas muestras no permitió determinar con precisión su composición en ^{15}N , por lo que se adicionó una cantidad conocida de N y ^{15}N (estándar interno o spike) para aumentar la señal en el espectrómetro de masa. Luego, en estas muestras el valor de $\delta^{15}\text{N}$ se estimó utilizando el modelo de mezclado o Keeling plot (Pataki et al., 2003).

Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos de las variables analizadas incluyeron comparaciones de medias apareadas entre ANP y AP mediante el test T, análisis de regresión utilizando los paquetes estadísticos de Microsoft Excel 2002 (Microsoft Inc., Redmond, WA) y análisis de correlación disponibles en el PROC CORR del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1990). Se ajustaron además modelos de regresión No Lineal mediante el procedimiento SOLVER (Wraith and Or, 1998) también disponible en Microsoft Excel 2002.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios de Nitrógeno post-perturbación

La masa promedio de N de F50 (N50) se redujo por la agricultura de 154 a 86 mg kg⁻¹ suelo ($P < 0,0001$), por lo cual ésta fracción fue fuente de N lábil. Además, los sitios con mayores valores de N50 en ANP tendieron a tener mayores valores en AP (Figura 1a). Un resultado similar existió entre las respectivas concentraciones de N (mg kg⁻¹ N50), consecuencia de que la masa de F50 no se erosionó por la agricultura (datos no mostrados). La masa promedio de N de F200 (N200) también se redujo por la agricultura de 74 a 34 mg kg⁻¹ suelo ($P < 0,0096$), pero no existió una relación entre áreas debido a que los valores de N200 en AP fueron bajos en todos los sitios, (Figura 1b). Este resultado se debió a que la pérdida de N200 en AP fue siempre cercana al 90% del valor de ANP, por lo cual el valor de N200 dependió más del manejo que del tipo de suelo. Esta alta labilidad de N200 indica que este índice podría ser útil para discriminar sitios prístinos de aquellos perturbados por el uso agrícola, ya que N200 sólo se acumularía en los primeros. Un resultado similar se observó en la concentración de N (mg kg⁻¹ N200), debido a que en esta fracción tampoco existió erosión.

Es importante señalar que la suma de las cantidades de N50 y N200 representó en promedio una pequeña proporción del NT del suelo, tanto en ANP (9%) como en AP (7%), y que la pérdida promedio de N por la perturbación (diferencia ANP-AP) de ambas fracciones sumadas representó un 17% de la pérdida total de N del suelo. Este resultado indica que otras fracciones que no integran la MOP fueron también fuente de N, resultado coincidente con lo reportado por Fabrizzi et al. (2003). Por consiguiente, en este caso el contenido de N de la MOP aportaría poca información adicional respecto al status de N del suelo, lo cual es acorde a los resultados obtenidos por Chan (1997) y Franzluebbbers y Stuedemann (2008). Es importante señalar que estos autores evaluaron la MOP de los primeros 3 o 5 cm de suelo, mientras que en el presente trabajo se consideraron los primeros 20 cm.

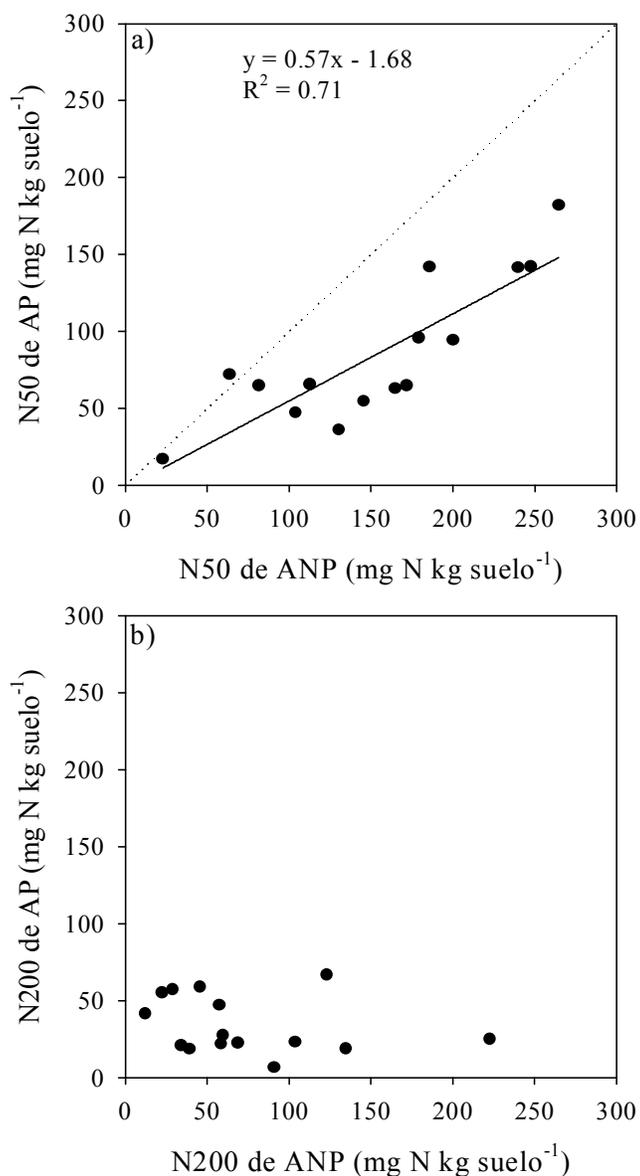


Figura 1. Relación entre la masa de N de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) para la fracción $> 50 < 200 \mu\text{m}$ (N50) (a) y para la fracción $> 200 \mu\text{m}$ (N200) (b). Las líneas punteadas en a) representan la relación 1:1.

Cambios de ^{15}N Nitrógeno post-perturbación

En F50 no existió diferencia significativa entre las señales isotópicas ($\delta^{15}\text{N}_{50}$) de ANP y AP (5,47 y 5,19‰, respectivamente), ni relación entre ellas (Figura 2a). Esta falta de relación se explica básicamente por la existencia de dos grupos de suelos, diferenciados según

su posición respecto a la línea 1:1 y a su valor de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ en ANP. El primer grupo que estuvo compuesto por algunos de los sitios de menor fertilidad (Sitios 1, 5, 7, 8, 9, 12 y 16) y tuvo un valor promedio de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ de 4,54‰ en ANP aumentó este valor en AP 1,1‰ ($P = 0,019$). El segundo grupo, en cambio, que tuvo un valor promedio de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ de 6.10‰ en ANP disminuyó este valor en AP 1,4‰ ($P = 0,0009$); este grupo estuvo integrado por el resto de los sitios, entre los cuales se encontraban los de mayor fertilidad. Este comportamiento contrastante en el cambio de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ post-perturbación podría ser explicado para el caso del primer grupo por un balance negativo de ^{14}N , debido a que la mineralización preferencial de ^{14}N no fue compensada por inmovilización, como consecuencia de la pobre capacidad de ciclaje de N que tienen estos suelos de baja fertilidad. En el segundo grupo, en cambio, la pérdida preferencial de ^{14}N habría sido acompañada de inmovilización de fuentes de N (fijación biológica y fertilizantes) con señal cercana a cero (Mori, 2008a), las cuales habrían más que compensado las pérdidas de ^{14}N de la fracción (Figura 2a).

Los cambios de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ de ANP a AP fueron similares a los de ^{15}N de NT ($\delta^{15}\text{NT}$) (Mori, 2008a), pero sólo cuando ambas fracciones empobrecieron, ya que N50 también se enriqueció. La diferencia promedio de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ fue menor a la de $\delta^{15}\text{NT}$ tanto en ANP (1,72‰; $P = < 0,0001$) como en AP (1,81‰; $P = < 0,0001$). Al respecto, Tiessen et al. (1984) reportaron que las fracciones más humificadas son generalmente más enriquecidas en ^{15}N . La mayoría de los sitios del Grupo 1 (Sitios 1, 5, 7, 8, 9, 12 y 16) que mostraron enriquecimiento en N50 no cambiaron los valores de $\delta^{15}\text{NT}$ ($\Delta^{15}\text{NT} = \delta\text{AP} - \delta\text{ANP} = 0$), a excepción del Sitio 12, el cual enriqueció este índice en AP 2.8‰ (Figura 2b). Los cambios de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ respecto a los de $\delta^{15}\text{NT}$ manifestarían que las pérdidas de ^{14}N fueron mayores desde las fracciones de N más lábiles y relativamente más empobrecidas en ^{15}N . En el resto de los sitios correspondientes al Grupo 2 se observó disminución de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ y de $\delta^{15}\text{NT}$ en AP, aunque la tasa de cambio de delta fue mayor en N50, lo cual fue manifiesto en el valor del coeficiente de regresión ($b = 0,89$; $P = 0,0048$) de la relación entre $\Delta^{15}\text{N}_{50}$ y $\Delta^{15}\text{NT}$ (Figura 2b). A su vez, $\delta^{15}\text{N}_{50}$ y $\delta^{15}\text{NT}$ se relacionaron positivamente en ANP, ($r = 0,72$; $P < 0,0028$), pero esta relación se desvaneció en AP, debido a los cambios diferenciales observados en ambos grupos (Figura 2b).

A diferencia de F50, en F200 el cambio de $\delta^{15}\text{N}$ de ANP a AP sólo se observó en cinco sitios, ya que en el resto de ellos no cambió significativamente (Figura 3a). Por tanto, en F200, el único criterio utilizado para delimitar los grupos de suelos de comportamiento diferente fue la magnitud de cambio de $\delta^{15}\text{N}$. Además, los sitios integrantes de ambos grupos de N50 y de N200 no fueron los mismos. En F200, el primer grupo (Sitios 1, 3, 5, 8 y 12) se integró con los suelos que mostraron un aumento importante (3,82‰; $P = 0,002$) de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ en AP (Figura 3a). El segundo grupo estuvo integrado por el resto de los sitios que no manifestaron cambios importantes de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ en AP, pese a que las pérdidas de N200 fueron cercanas al 90% en ANP como se señaló oportunamente.

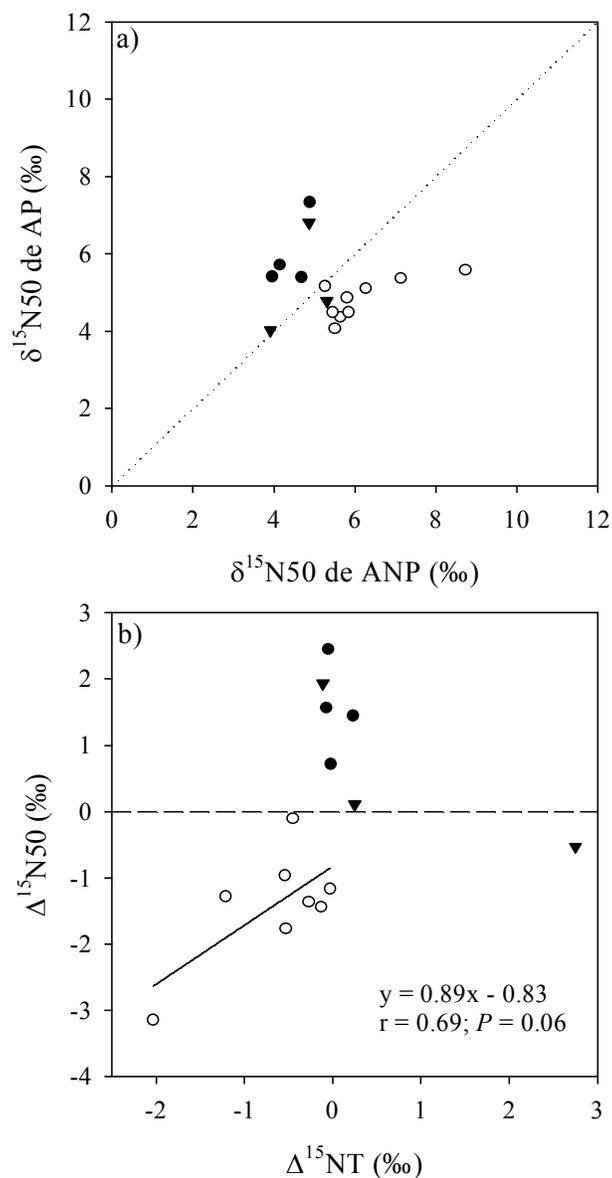


Figura 2. Relación de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ entre áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) (a). Relación entre la diferencia de abundancia natural de ^{15}N de N50 de AP y ANP ($\Delta^{15}\text{N}_{50} = \delta\text{AP} - \delta\text{ANP}$) y la diferencia de abundancia natural de ^{15}N de NT de AP y ANP ($\Delta^{15}\text{NT} = \delta\text{AP} - \delta\text{ANP}$) (b). Los suelos arenosos (AR) representados con triángulos rellenos y cuatro suelos arcillosos (AC) (Sitios 5, 7, 9 y 16) por círculos rellenos fueron excluidos de la regresión descrita (2b) por el resto de los AC simbolizados con círculos vacíos. En 2a, la línea punteada representa la relación 1:1. En 2b, la línea discontinua que corta en el valor 0 del eje de las ordenadas delimita los sitios que manifestaron aumento (valores positivos de y) o disminución (valores negativos de y) de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ en AP.

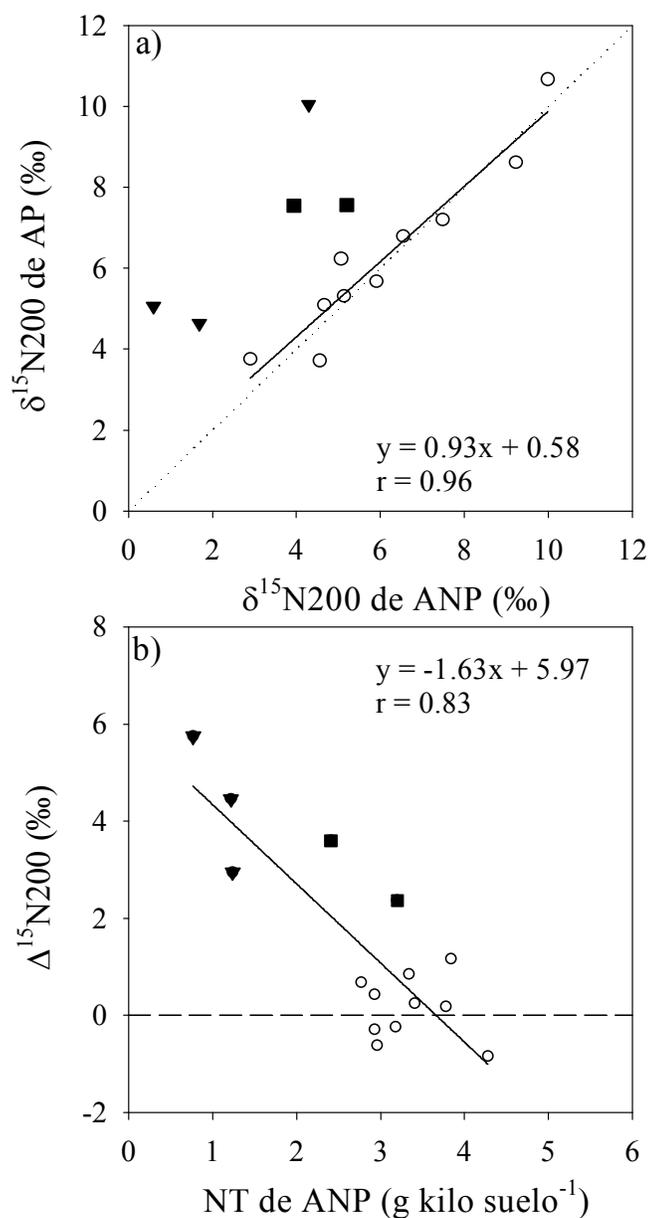


Figura 3. Relación entre $\delta^{15}\text{N}_{200}$ de áreas perturbadas (AP) y no perturbadas (ANP) (a). Relación entre la diferencia observada de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ entre AP y ANP ($\Delta^{15}\text{N}_{200}$) y NT de ANP (b). En a) y b) los triángulos rellenos representan los suelos arenosos (AR) y los círculos vacíos los suelos arcillosos (AC). Los dos suelos AC más alejados de la relación 1:1 (Sitios 3 y 5); se simbolizaron con cuadrados rellenos. En a) estos dos suelos AC y los tres AR fueron excluidos de la regresión; la línea punteada representa la relación 1:1. En b) la línea discontinua que corta en el valor 0 del eje de las ordenadas, delimita los sitios que manifestaron enriquecimiento ($y > 0$) o empobrecimiento ($y < 0$) de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ en AP.

El cambio de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ post-perturbación ($\Delta^{15}\text{N}_{200} = \delta\text{AP} - \delta\text{ANP}$) se asoció con NT de ANP (Figura 3b), observándose que los suelos con menor NT, integrantes del primer grupo, tendieron a enriquecerse, lo cual fue especialmente notorio en los suelos AR, mientras que los del segundo grupo no cambiaron. Esta relación es parcialmente coincidente con las tendencias observadas en NT e indirectamente en N50, ya que en estos pools de N los sitios de menor NT también fueron los que tendieron a enriquecerse. En el segundo grupo, en cambio, $\delta^{15}\text{N}_{200}$ no se modificó por la perturbación, debido posiblemente a que la principal vía de descomposición no fue la actividad microbiológica sino la desintegración física (macrofauna), lo cual reflejaría que N200 de AP estuvo integrado mayormente por el remanente no descompuesto de ANP. La descomposición física no involucraría ni discriminación isotópica, ni mezclado por inmovilización bruta de N empobrecido (Tiessen et al., 1984; Liao et al., 2006). El mecanismo de enriquecimiento de N200 del primer grupo no resultó claro, pero quizás, además de relacionarse con NT de ANP (Figura 3b) podría ser el resultado de un menor aporte y ciclaje de ^{14}N y/o a un mayor aporte de N proveniente de otras fracciones del suelo más enriquecidas en ^{15}N .

En ANP los valores de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ fueron en promedio 2‰ ($P = 0,002$) más empobrecidos que los de $\delta^{15}\text{N}_{\text{NT}}$ pero similares a los de $\delta^{15}\text{N}_{50}$, aunque $\delta^{15}\text{N}_{200}$ mostró un mayor rango de variación que $\delta^{15}\text{N}_{50}$ (Figura 2a y Figura 3a) y éste a su vez mayor que $\delta^{15}\text{N}_{\text{NT}}$ (Mori, 2008a). El mayor rango de variación de $\delta^{15}\text{N}$ en N200, cuya fracción es compuesta de restos de plantas no descompuestas, se derivaría de la variabilidad de $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas existentes en cada sitio. Según bibliografía, el rango de ésta variación de $\delta^{15}\text{N}$ puede oscilar entre 1,6 y 24,4‰ dentro de un mismo sitio (Högberg, 1997). Además, la variación de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ se asoció positivamente en ANP con la de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ ($r = 0,65$; $P = 0,009$) y con la de $\delta^{15}\text{N}_{\text{NT}}$ ($r = 0,52$; $P = 0,05$), aunque con un coeficiente de correlación menor que el observado entre $\delta^{15}\text{N}_{\text{NT}}$ y $\delta^{15}\text{N}_{50}$. Si bien tanto N50 como N200 integran NT, éstas significan menos del 10% en el total, por lo que el valor isotópico de NT sería influido mayormente por otras fracciones más humificadas que no constituyen la MOP. La existencia de estas relaciones bajo condiciones prístinas, evidenciaría un equilibrio de largo plazo entre los distintos pool de N del suelo, el cual se daría a través del aporte de N por las plantas y/o por la propia actividad

microbiana. Si bien no existió en AP relación entre $\delta^{15}\text{NT}$ y $\delta^{15}\text{N50}$, si la hubo entre $\delta^{15}\text{N50}$ y $\delta^{15}\text{N200}$ ($r = 0,60$; $P = 0,005$), posiblemente debido a que estos índices no sólo fueron más sensibles a los efectos de la perturbación agrícola, sino también más ligados entre sí por lo cual alcanzarían un nuevo equilibrio más rápidamente que otras fracciones (Amelung et al., 2002).

CONCLUSIONES

El N de las fracciones de la MOP disminuyó en forma importante por la perturbación agrícola, pero esta caída representó un 17% del descenso total de N del suelo, por lo que las fuentes más importantes de pérdida de N no integraron la MOP.

Los sitios con valores altos de $\delta^{15}\text{N}_{50}$ en ANP (en promedio mayores a 6.10‰) disminuyeron este valor en AP, mientras que aquellos con valores bajos (en promedio menores a 4.54‰) lo aumentaron. Estas tendencias fueron similares a las observadas en NT, pero sólo cuando ambas fracciones empobrecieron, ya que en algunos sitios donde $\delta^{15}\text{N}_{50}$ incrementó, $\delta^{15}\text{N}_{\text{NT}}$ no cambió. Por lo tanto las variaciones de $\delta^{15}\text{N}$ debidas al cambio del uso del suelo fueron mayores en N50 que en NT.

A pesar de que casi toda la masa de N200 fue consumida de ANP a AP, el valor remanente de $\delta^{15}\text{N}_{200}$ fue muy similar al original, debido posiblemente a que la desintegración física fue la principal vía de descomposición; este proceso no involucraría ni discriminación isotópica ni mezclado de N. En cambio, en cinco sitios que tenían valores bajos de NT en ANP se observó enriquecimiento de N200. Este resultado no es claro, pero podría deberse a un menor aporte y ciclaje de ^{14}N y/o a un mayor aporte de N procedente de otras fracciones más enriquecidas en ^{15}N . La escasa variación de N200 en AP limitaría su uso como indicador de calidad de suelos agrícolas, pero podría ser útil en ambientes sometidos a clases de perturbación más leves.

REFERENCIAS

- Altamirano, A., H. da Silva, A. Durán, A. Echevarría, D. Panario, R. Puentes. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay. Tomo I. Clasificación de suelos. Montevideo, Uruguay.
- Amelung, W., I. Lobe, C.C. Du Preez. 2002. Fate of microbial residues in sandy soils of the South African Highveld as influenced by prolonged arable cropping. *European J. Soil Sci.* 53: 29-35.
- Amundson, R., A.T. Austin, E.A.G. Schuur, K. Yoo, V. Matzek, C. Kendall, A. Uebersax, D. Brenner and W. T. Baisden. 2003. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen, *Global Biogeochem. Cycles* 17 (1), 1031, doi:10.1029/2002 GB001903.
- Biederbeck, V.O., H.H. Janzen, C.A. Campbell, and R.P. Zentner. 1994. Labile soil organic matter as influenced by cropping practices in an arid environment. *Soil Biol. Biochem.* 26:1647-1656.
- Cambardella, C.A. and E.T. Elliott. 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:777 - 783.
- Chan, K.Y. 1997. Consequences of changes in particulate organic carbon in Vertisols under pasture and cropping. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:1376 – 1382.
- Christensen, B.T. 1992. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Adv. Soil Sci.* 20:2-38.
- Durán, A., A. Califra, J.H. Molino and W. Lynn. 2005. Keys to soil taxonomy for Uruguay. Unites states department of agriculture, natural resources conservation service.
- Fabrizzi, K.P., A. Morón y F. García. 2003. Soil Carbon and Nitrogen organic fractions in degraded vs. non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67: 1831-1841.
- Franzluebbers, A.J. and J.A. Stuedemann. 2008. Early response of soil organic fractions to tillage and integrated crop-livestock production. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72: 613-625
- Gee, G.W. and J.W. Bauder. 1979. Particle size analysis by hydrometer a simplified method for routine textural analysis and sensitivity test of measured parameters. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43: 1004-1007.

- Handley, L.L. and J.A. Raven. 1992. The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology. *Plant, Cell Environ.* 15: 965-985.
- Hassink, J., A.P. Whitmore, and J. Kubat. 1997. Size and density fractionation of soil organic matter and the physical capacity of soils to protect organic matter. *European J. Agron.* 7: 189-199.
- Hassink, J. 1994. Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem* 26: 1221-1231.
- Högberg, D. 1997. Tansley Review N° 95. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytol.* 137: 179-203.
- Janzen, H.H., C.A. Campbell, S.A. Brandt, G.P. Lafond, and L. Townley-Smith. 1992. Light-fraction organic matter in soils from long-term crop rotations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1799-1806.
- Kerley, S.J. and S.C. Jarvis. 1997. Variation in ^{15}N natural abundance of soil, humic fractions and plant materials in a disturbed and an undisturbed grassland. *Biol. Fert. Soils* 24: 147-152.
- Liao, J.D., T.W. Boutton and J.D. Jastrow. 2006. Organic matter turnover in soil physical fractions following woody plant invasion of grassland: Evidence from natural ^{13}C and ^{15}N . *Soil Biol. Biochem.* 38: 3197– 3210.
- Mori, C. 2008. Cambios de $\delta^{15}\text{N}$ y otras propiedades químicas del suelo con el uso agrícola. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Morón A.; and J.Sawchik. 2003. Soil quality indicators in a long-term crop-pasture rotation experiment in Uruguay. p.67-76. *In* Simposio: 40 años de rotaciones agrícolas-ganaderas. INIA La Estanzuela. Morón, A. y R. Díaz (Eds.). Serie Técnica 134.
- Natelhoffer, K.J. and B. Fry. 1988. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52: 1633-1640.
- Pataki, D. E., J. R. Ehleringer, L. B. Flanagan, D. Yakir, D. R. Bowling, C. J. Still, N. Buchmann, J. O. Kaplan, and J. A. Berry. 2003. The application and interpretation of Keeling plots in terrestrial carbon cycle research. *Global Biogeochem. cycles* Vol. 17(1),1022, doi:10.1029/2001GB001850.

- SAS Institute. 1990. SAS/STAT user`s guide. Versión 6. 4th ed. Vol.1. SAS Inst., Cary, N.C.
- Six, J., E.T. Elliot, and K.E.T. Paustian. 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biochem.* 32: 2099-2103
- Tiessen, H., R.E. Karamanos, J.W.B. Stewart, and F. Selles. 1984. Natural nitrogen-15 abundance as an indicator of soil organic matter transformations in native and cultivated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 312-315.
- Wraith, J.M. and D. Or. 1998. Nonlinear parameter estimation using spreadsheet software. *J. Nat. Resour. Life Sci. Educ.* 27:13-19.

V-DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES GLOBALES

El cambio de uso del suelo, de campo natural a agricultura, produjo un notorio y esperado detrimento de distintos índices asociados a la fertilidad del suelo y a la capacidad de suministro de Nitrógeno (N). Un resultado no esperado fue en cambio la caída postperturbación de la abundancia natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$). Esto determinó una asociación positiva dentro de un mismo suelo entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y de Nitrógeno total (NT) pre y post perturbación. Este efecto opuesto a lo esperado fue observado sin embargo sólo en los suelos arcillosos (AC), ya que en los arenosos (AR) esta tendencia fue negativa y similar a la reportada en trabajos previos. Las diferencias de patrón de cambio de $\delta^{15}\text{N}$ en suelos AC y AR podrían ser explicadas por mecanismos físico-químico-biológicos que afectan el balance de N de los suelos y la magnitud de la discriminación isotópica. Estos cambios diferenciales de $\delta^{15}\text{N}$ derivarían de la mayor capacidad de inmovilización de N empobrecido en ^{15}N proveniente de la fijación biológica y de fertilizantes en los suelos AC bajo uso agrícola.

Dentro de los suelos imperturbados se observó además que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ tendió a ser superior en los suelos AC. Este resultado puede explicarse asumiendo que en el largo plazo (situación de equilibrio) se incrementan los mecanismos de estabilidad y el tiempo de residencia de la materia orgánica (MO) en estos suelos, lo que conduciría a un mayor enriquecimiento en ^{15}N en los mismos, ya que el ^{15}N es discriminado en los procesos de pérdida. Lo discutido previamente nos indica que el valor de $\delta^{15}\text{N}$ del suelo podría ayudar a caracterizar la calidad de la MO de los suelos e identificar aquellos más afines con la situación original o imperturbada. También expresaría cuan sostenible puede ser un sistema de manejo respecto a otro.

El patrón de cambio de $\delta^{15}\text{N}$ observado en la fracción gruesa (tamaño $> 200 \mu\text{m}$) de la materia orgánica particulada (MOP) no fue muy claro, pero en la fina (tamaño $>50 \mu\text{m} < 200 \mu\text{m}$) los cambios mostraron tendencias similares que en NT. Cuando el N de esta fracción fina (N50) proveniente de suelos imperturbados estaba enriquecido en ^{15}N la fracción se empobreció, mientras que ocurrió lo contrario cuando N50 estaba originalmente empobrecido. A diferencia de NT estos cambios no se relacionaron claramente con la textura del suelo. La

variación de $\delta^{15}\text{N}$ debida a la perturbación agrícola, sin embargo, fue mayor en N50 que en NT. A partir de estos resultados se revelaría entonces que los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ de NT y de N50 del suelo debidos a la perturbación agrícola dependieron principalmente del nivel de NT y $\delta^{15}\text{N}$ original, así como de la textura.

Los resultados de ésta investigación evidenciaron claramente que la perturbación agrícola disminuyó los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en suelos AC. En el caso de los suelos AR, por el contrario, se observó una tendencia al enriquecimiento en ^{15}N , aunque sólo se dispuso de tres suelos con esta textura, resultando necesario extender la evaluación en este tipo de suelos. También sería necesario conocer mejor los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ debidos a diferentes sistemas de manejo (siembra directa vs. convencional). Además, con el propósito de comprender mejor los cambios de $\delta^{15}\text{N}$ asociados con la calidad de la MO, sería ventajoso analizar conjuntamente la abundancia natural de ^{13}C para conocer el tiempo medio de residencia del carbono (C), lo cual aportaría información respecto a posibles mecanismos que controlan la capacidad de ciclaje de C y consecuentemente formular posibles estrategias a seguir para mejorar el secuestro de C de los suelos.

Otra herramienta complementaria a ésta investigación sería la geoestadística, con el propósito de conocer el rango de variabilidad espacial de esta variable y disminuir posibles sesgos de muestreo e interpretación, dada la significativa variabilidad en los valores de abundancia natural de ^{15}N dentro de un mismo tipo de suelo,

En este trabajo de investigación también surgieron algunas hipótesis que no pudieron ser esclarecidas, como por ejemplo los cambios observados de $\delta^{15}\text{N}$ en N200. Las hipótesis planteadas fueron:

- 1-reciclaje de N desde otras fracciones más enriquecidas en ^{15}N
- 2-descomposición de N200 vía desintegración física

Estas hipótesis se podrían dilucidar incluyendo mediciones de $\delta^{15}\text{N}$ de la comunidad de plantas presentes en cada sitio. Además, la contribución de las fracciones de la MOP respecto al impacto de la agricultura sobre la calidad del suelo, podría ser más clara si se evaluaran estos pool a profundidades más superficiales del perfil de suelo. Esta propuesta será aún más

oportuna en sistemas de producción bajo siembra directa, dónde los primeros centímetros de suelos se tornan más estratificados en sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

Otra proyección de la información disponible sobre cambios de NT y de $\delta^{15}\text{N}$ de los suelos por el uso agrícola sería la obtención de un modelo capaz de describir razonablemente bien los resultados observados. En este modelo se deberían incluir tanto los procesos que causan aumento de $\delta^{15}\text{N}$ así como los que causan disminución, considerando además la caída típica de NT de los suelos bajo uso agrícola. Debido a que tales cambios pueden ser difíciles de detectar en ensayos de campo y aún más cuando la historia agrícola se desconoce, se podrían ajustar estas pruebas en el laboratorio, a través de incubaciones y lixiviados sucesivos de un suelo identificado como no perturbado, y con distintos tratamientos simulando manejos agrícolas contrastantes. Durante el período de incubación se cuantificarían las variaciones en la concentración de NT y de ^{15}N del suelo. A través de estas pruebas también se podrían determinar los factores de fraccionamiento (ϵ), el cual puede ser calculado aplicando el modelo Rayleigh a los datos de NT y $\delta^{15}\text{N}$.

Finalmente, los resultados de ésta investigación serían válidos solamente para las condiciones evaluadas de suelo y clima, por lo que sería interesante extender este tipo de estudios a otras zonas y a otros sistemas de producción del país (Ej. forestal).