



## APORTE DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO A LA EMISIÓN DE N<sub>2</sub>O DESDE EL SUELO CON CULTIVO DE SOJA

VANINA ROSA NOEMÍ COSENTINO<sup>1-2\*</sup>; LUCRECIA NOEMÍ BRUTTI<sup>1-3</sup>; GABRIELA CIVEIRA<sup>1</sup>  
& MIGUEL ÁNGEL TABOADA<sup>1-4</sup>

Recibido: 16-09-14

Recibido con revisiones: 20-08-15

Aceptado: 20-08-15

### RESUMEN

El óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) es el principal gas de efecto invernadero emitido desde el sector agrícola y su producción biológica en los suelos se genera por dos vías, la nitrificación y la desnitrificación. Recientemente el Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC) ha excluido de sus directrices de inventario a la Fijación Biológica del Nitrógeno (FBN) como fuente de emisión de N<sub>2</sub>O por los cultivos leguminosos, debido a la falta de evidencia segura sobre la existencia de estas emisiones. Pese a ello, en la actualidad se sigue discutiendo sobre la emisión de N<sub>2</sub>O real emitida desde los cultivos leguminosos a campo, en especial en soja que es el principal producto producido por la Argentina y fuente de biodiesel. La influencia de FBN sobre la emisión de N<sub>2</sub>O puede probarse utilizando variedades de soja no nodulante. El objetivo de este trabajo fue comparar y analizar la emisión de N<sub>2</sub>O desde suelos con cultivos de soja de variedad nodulante y no nodulante, con el fin de evaluar la influencia real del cultivo sobre la emisión de N<sub>2</sub>O a campo. Las muestras de gas fueron colectadas con cámaras cerradas no ventiladas. La emisión de N<sub>2</sub>O varió entre -9 y 15 µg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>. Sólo se observó diferencia significativa en la emisión de N<sub>2</sub>O entre los tratamientos en la última fecha de muestreo (no nodulante > nodulante). La emisión de N<sub>2</sub>O se relacionó positivamente con la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> del suelo y con el espacio poroso lleno de agua (EPLLA). Esta ausencia de diferencia significativa en los valores de emisión de N<sub>2</sub>O entre los tratamientos, indica que la soja nodulante no emitió mayor cantidad de N<sub>2</sub>O que la no nodulante, revelando que la presencia de nódulos fijadores *per se* no afectó la cantidad de N<sub>2</sub>O emitida durante el crecimiento del cultivo de soja. Estos resultados avalan lo establecido por las últimas directrices de IPCC 2006 y ponen en cuestión otras metodologías de inventario que cargan más emisión de N<sub>2</sub>O a los cultivos de soja. Los resultados del presente estudio muestran que la FBN sólo causó un ligero impacto en la emisión de N<sub>2</sub>O, en concordancia con las últimas directrices del IPCC del 2006 para los inventarios de GEI.

**Palabras clave.** Flujo de N<sub>2</sub>O, soja no nodulante, Leguminosas.

### CONTRIBUTION OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION TO N<sub>2</sub>O EMISSION FROM SOIL UNDER SOYBEAN

#### ABSTRACT

Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) is the main greenhouse gas (GHG) emitted from agricultural soils as a by-pass product of nitrification and denitrification processes. The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) excluded from its GHG inventory guidelines in 2006 the Nitrogen Biological Fixation (NBF) as a source of N<sub>2</sub>O emissions by crop legumes, due to the lack of solid scientific evidence on the existence of these emissions. However, at present the actual amount of N<sub>2</sub>O emissions by crop legumes in the field is still under investigation, with special emphasis on soybeans which are the main commodity produced by Argentina and a main biodiesel source. The influence of NBF on N<sub>2</sub>O emissions can be tested using non-nodulating soybean varieties. This study aims to compare and analyse N<sub>2</sub>O emissions from nodulating and non-nodulating soybean varieties in order to clarify the actual influence of this commodity on field GHG emissions. Gas samples were collected from closed non-vented chambers. N<sub>2</sub>O emissions ranged from -9 to +15 µg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> and only in the last sampling date, values differed significantly between treatments (non-nodulating > nodulating soybean). N<sub>2</sub>O emissions were positively related with soil N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration and soil water-filled pore space (WFPS). Results show that in this field study, NBF caused only a slight impact on N<sub>2</sub>O emissions. These results agree with the latest IPCC guidelines in 2006 for GHG inventories.

**Key words.** N<sub>2</sub>O flux, non nodulating soybean, legumes.

1 Instituto de suelos, CNIA, INTA Las Cabañas y los reseros s/n

2 Cátedra de fertilidad y fertilizantes, Facultad de agronomía, UBA.

3 Cátedra de edafología, Facultad de agronomía, UBA.

4 CONICET

\* Autor de contacto: [cosentino.vanina@inta.gob.ar](mailto:cosentino.vanina@inta.gob.ar)

## INTRODUCCIÓN

El óxido nitroso ( $N_2O$ ) es el principal gas de efecto invernadero emitido desde el sector agrícola y posee un poder de calentamiento global 298 veces mayor al del  $CO_2$  para un marco de período de 100 años (IPCC, 2006).

La producción biológica del  $N_2O$  en el suelo se genera por dos vías, la nitrificación y la desnitrificación. Ambos procesos microbianos se encuentran afectados por la disponibilidad de nitrógeno (N), la temperatura, el contenido hídrico y la concentración de oxígeno ( $O_2$ ) en el suelo, entre otros factores (Stehfest & Bouwman, 2006; Steenwerth & Belina, 2008; Jensen *et al.*, 2012).

La soja (*Glycine max* L. Merrill.) es el principal cultivo de la Argentina, con una superficie sembrada que supera las 18 millones de hectáreas y una producción de 48,8 millones de toneladas anuales para la campaña 2010-2011 (INDEC, 2014). Actualmente la emisión de un GEI como el  $N_2O$ , presenta elevada relevancia político-económica para nuestro país. La Argentina es un productor y exportador de *commodities* y biodiesel de soja. Las medidas impuestas sobre este cultivo por la Unión Europea y sus estados miembros afectan la importación y comercialización del cultivo de soja desde países como el nuestro. Esto ocurre, mediante las Directivas 2009/30/CE y 98/70/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, a partir de las cuales se introduce un mecanismo para controlar y reducir las emisiones de GEI, que incluyen la cuantificación de la emisión de  $N_2O$  a partir del cultivo de soja (European Commission, 2013). El conocimiento generado en este trabajo, podría servir como información a tener en cuenta en las negociaciones diplomáticas ante la Unión Europea y la Organización Mundial del Comercio (OMC).

Por otra parte, a diferencia de los cultivos no leguminosos, en los cuales el aporte de fertilizantes nitrogenados es una fuente importante de emisión de  $N_2O$ , en los leguminosos como la soja se considera que la emisión proviene principalmente de la descomposición de sus residuos, del proceso de rizodeposición y del proceso de FBN (Jensen, 1996). Este último proceso era considerado hasta hace poco un factor de emisión de  $N_2O$  (IPCC, 1996), pero el mismo IPCC lo ha excluido de sus directrices de inventario a partir de las normas IPCC (2006). Ello se debió a que se consideró que no había evidencia científica suficiente para incluir a la FBN como fuente de  $N_2O$  (Ambus, 2005; Rochette & Janzen, 2005; Yang & Cai, 2005). Sin embargo, Cosentino *et al.* (2013) observaron en un ensayo realizado a campo altas tasas de emisión de  $N_2O$  desde el cultivo de soja en

el estadio cercano a floración que no pudieron ser explicadas por las principales variables reguladoras de la emisión de  $N_2O$  (concentración de  $NO_3^-$ , EPLLA y temperatura). Este resultado generó la necesidad de buscar el responsable de este incremento en la emisión de  $N_2O$  durante este estadio del cultivo.

El proceso de FBN puede participar en la emisión de  $N_2O$  desde la zona cercana a la raíz, dado a que aumenta el contenido de N en el suelo que queda disponible y puede ser liberado a la atmósfera como  $N_2O$  (Rochette *et al.*, 2004; Snyder *et al.*, 2009). El proceso de FBN comienza aproximadamente 30 días después de la siembra, aumenta hasta alcanzar su máximo durante el período reproductivo y cae durante el llenado de grano (Zapata *et al.*, 1987). Sey *et al.* (2010) observaron que el 78% de las emisiones de  $N_2O$  emitidas durante el ciclo de vida del cultivo de soja ocurren durante la etapa de crecimiento vegetativo.

En la actualidad se continúa discutiendo fuertemente si el proceso de FBN aumenta o no la emisión de  $N_2O$  desde la rizósfera de los cultivos leguminosos (Rochette & Janzen, 2005; Jantalia *et al.*, 2008; Jensen *et al.*, 2012). Más aun, existe controversia acerca del grado de verosimilitud de la emisión de  $N_2O$  desde cultivos leguminosos, calculadas usando los factores de emisión por defecto del IPCC (IPCC, 1996; 2001). Es por ello que es altamente relevante saber en qué medida esta metodología sobrestima o subestima los valores de emisión de  $N_2O$ . El objetivo del presente trabajo fue analizar comparativamente la emisión de  $N_2O$  desde cultivos de soja con y sin FBN, para dar respuesta al interrogante planteado por resultados previos observados por Cosentino *et al.* (2013) que mostraban alta emisión de  $N_2O$  desde el suelo con cultivo de soja, en el estadio cercano a la floración.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio experimental y muestreo

Se trabajó en el campo experimental del INTA Castelar, provincia de Buenos Aires (34°36'49" S, 58°39'31" O) en cultivos de soja sembrados en un suelo Argiudol Vértico de la Serie Hurlingham. El suelo de estudio se encuentra a una altura de 20 m snm, en posición de loma. Está compuesto por un horizonte A de 19 cm de profundidad, el cual presenta estructura en bloques subangulares, gruesos, débiles que se deshacen bajo leve presión en agregados granulares finos, porosos. La textura superficial del suelo es franco arcillo limosa (30% arcilla, 49% de limo y 21% de arena). Con un porcentaje de carbono or-

gánico de 2,29% en el horizonte A. Seguido de un horizonte BA que va desde los 19 a los 30 cm. Un horizonte Bt1 entre los 30 y 60, seguido de un Bt2 entre los 60 y los 90 cm, un horizonte BC que se extiende desde los 90 hasta los 125 cm y finalmente un horizonte Ck entre los 125 y los 145 cm (Castiglioni *et al.*, 2005).

Se realizó un diseño completamente aleatorizado con dos variedades de soja genéticamente modificadas (tratamientos): variedad nodulante (LAE 0176403) y variedad no nodulantes (LAE 0176402) y tres repeticiones por tratamiento. La preparación del terreno para la siembra se realizó con un equipo desterronador "Rotovator". La siembra se realizó el 27 de octubre de 2011, con una densidad aproximada de 40 plantas/m<sup>2</sup>, y se regó al momento de la siembra para homogeneizar la emergencia de las plántulas. En los casos en que fue necesario, el cultivo fue regado y se realizaron las prácticas de manejo necesarias para evitar la pérdida total o parcial del cultivo por ataque de hongos, insectos, etc. Con el fin de evitar el aporte de la emisión de N<sub>2</sub>O por la descomposición, tanto de la parte aérea como de las raíces, el ensayo se finalizó antes del estadio de madurez fisiológica (R<sub>7</sub>) ya que esta etapa suele estar acompañada de la caída de las hojas.

Se trabajó con cámaras cerradas, no ventiladas rectangulares de 0,13 m<sup>2</sup> de área y 0,13 m de altura. De acuerdo con los criterios de Rochette & Eriksen-Hamel (2008), las cámaras están formadas por dos partes: A) una base de hierro, la cual fue anclada al suelo 24 h antes de realizar la colecta del gas y con una inserción al suelo mayor a 5 cm; y B) una parte plástica (la cámara propiamente dicha) que se coloca al momento de la toma de las muestras y es removida una vez terminada la colecta del N<sub>2</sub>O.

Las cámaras fueron ubicadas separadas entre sí por una distancia aproximada de cinco metros y colocadas de manera tal de tomar las muestras de N<sub>2</sub>O procedentes tanto del surco como del entresurco del cultivo. Del interior de cada una de las cámaras se tomaron tres muestras de N<sub>2</sub>O para calcular la emisión y verificar la linealidad en la misma. Las muestras de N<sub>2</sub>O fueron extraídas utilizando una bomba de vacío a los 0, 20 y 40 minutos luego de la colocación de la parte superior de la cámara (cámara plástica). Las muestras de N<sub>2</sub>O fueron luego inyectadas en viales (frascos sellados) de 25 mL. Las mediciones de flujo fueron realizadas por triplicado dentro de cada tratamiento. Las muestras de N<sub>2</sub>O fueron colectadas en el horario de la mañana (9 - 12 a.m.), horario del día que mejor representa la emisión de N<sub>2</sub>O media diaria para la zona de estudio (Cosentino *et al.*, 2012).

### Determinaciones

La concentración de N<sub>2</sub>O dentro de cada vial fue determinada mediante el uso de un cromatógrafo de gases GC 6890 Agilent Technologies Network, equipado con un detector de

captura de electrones de Ni 63 (Agilent Network GC System, ÁECD) y una columna HP- PlotMolesieve 30m x 530 μm x 25 μm. Las temperaturas del horno, del inyector y del detector fueron 150 °C, 100 °C y 300 °C, respectivamente. El gas carrier utilizado fue N<sub>2</sub> y el volumen de inyección de 0,5 cm<sup>3</sup>. El flujo de N<sub>2</sub>O desde el suelo hacia la atmósfera se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$f = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{m}{V_m} \quad (1)$$

donde ΔC/Δt es el cambio en la concentración de N<sub>2</sub>O dentro de la cámara durante el tiempo de incubación (Δt), V es el volumen de la cámara (16,7 dm<sup>3</sup>), A es el área de suelo cubierta por la cámara (0,13 m<sup>2</sup>), m es el peso molecular de N<sub>2</sub>O y V<sub>m</sub> es el volumen molar N<sub>2</sub>O. El flujo de gas se calculó como el incremento en la concentración de N<sub>2</sub>O durante el periodo de incubación.

Para corroborar la linealidad en las emisiones de N<sub>2</sub>O desde el suelo, se recurrió al análisis de regresión lineal, tomando como variable independiente el tiempo de emisión del gas desde el suelo hacia la atmósfera y como variable dependiente la concentración de gas acumulado dentro de la cámara. Cuando el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de la función lineal fue mayor que 0,7 la pendiente de la función representó la tasa de emisión de N<sub>2</sub>O; mientras que cuando R<sup>2</sup> fue menor que 0,7 y la función lineal no pudo ser ajustada, el flujo de N<sub>2</sub>O en el intervalo fue considerado nulo. Los valores mínimos detectables (distinguidos de cero) se encontraron por encima de 0,3 μg de N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> o por debajo de 0,3 μg de N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>.

Conjuntamente con la toma del gas, se midió la temperatura del aire a la sombra sobre la superficie del suelo y la temperatura del suelo cercano a las cámaras a los 0,10 m de profundidad. Después del muestreo del N<sub>2</sub>O, se colectaron muestras de suelo al costado de las cámaras para determinar la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por colorimetría (Keeney & Nelson, 1982), luego de la reducción de los nitratos a nitritos a partir de la extracción con una solución de CuSO<sub>4</sub> (Jackson, 1958) sobre las muestras de suelo húmedo. Se determinó la densidad aparente (Dap) por el método del cilindro (100 cm<sup>3</sup>; 0,05 m de diámetro) y el contenido hídrico gravimétrico (CHg) por secado en estufa a 105 °C. A partir de los valores de Dap y densidad de partícula (Dp) se calculó la porosidad total (PT), suponiendo una Dp de 2,65 Mg m<sup>-3</sup> y el contenido de hídrico volumétrico (CHv) usando las ecuaciones (2) y (3).

$$PT (\%) = 1 - (Dap / Dp) * 100 \quad (2)$$

$$CHv (\%) = CHg * Dap * 100 \quad (3)$$

El porcentaje del espacio poroso lleno de agua (EPLLA%) se calculó a partir de los valores de PT y CHv utilizando la ecuación (4).

$$\text{EPLLA (\%)} = \text{CHv (\%)} / \text{PT (\%)} * 100 \quad (4)$$

Se realizó un análisis de regresión para verificar la linealidad de la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  desde el suelo durante el tiempo de muestreo del gas. Todos los valores de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  (positivos, negativos o nulos) fueron incluidos en el análisis. Se realizaron regresiones lineales de la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  en función del contenido de nitratos del suelo y del EPLLA, y se analizaron las diferencias entre medias por medio de sus varianzas (ANOVA). Todos los análisis se realizaron mediante la utilización del programa estadístico InfoStat (InfoStat, 2010).

## RESULTADOS

Previo a la realización del primer muestreo se corroboró la presencia de nódulos en las plantas correspondientes al tratamiento nodulante, y su ausencia en las no nodulantes. Los tratamientos no presentaron diferencias visibles en el tamaño de las plantas y estadio fenológico hasta los 54 días después de la siembra (DDS); estas diferencias recién comenzaron a percibirse a partir de los 75 DDS, momento en que las plantas correspondientes al tratamiento nodulante presentaron mayor tamaño y una coloración verde más intensa.

El suelo del ensayo presentó un valor de Dap de  $1,43 \text{ Mg m}^{-3}$ , el cual fue significativamente ( $p < 0,05$ ) superior al

observado en suelos cercanos no cultivados ( $1,2 \text{ Mg m}^{-3}$ ). El EPLLA siempre superó el 40% y no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). La temperatura del suelo siempre superó los  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  (Fig. 1). La altura promedio final para el cultivo de soja nodulante fue 0,8 metros, llegando a cubrir por completo el entresurco; mientras que la del cultivo de soja no nodulante fue de 0,7 metros y no cubrió completamente el entresurco.

La concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  del suelo disminuyó en forma similar en ambos tratamientos hasta los 75 DDS ( $p = 0,87$ ). A partir de ese momento la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo con cultivo nodulante se mantuvo constante hasta 96 DDS, mientras la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  del suelo con cultivo no nodulante continuó disminuyendo (Fig. 2).

La emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  varió entre  $-9$  a  $15 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ . Sólo a los 96 DDS se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  entre los tratamientos, con valores de emisión mayores en el tratamiento con planta no nodulantes (Fig. 3).

La emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  presentó una relación positiva y significativa ( $p < 0,05$ ) con la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  del suelo para el tratamiento con cultivo nodulante ( $R^2=0,46$ ), no así con el cultivo no nodulante (Fig. 4). En el caso de EPLLA, hubo una relación positiva con la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  para el tratamiento nodulante ( $R^2=0,318$ ); y una relación positiva y significativa ( $p < 0,05$ ) con el tratamiento no nodulante ( $R^2=0,71$ ; Fig. 5).

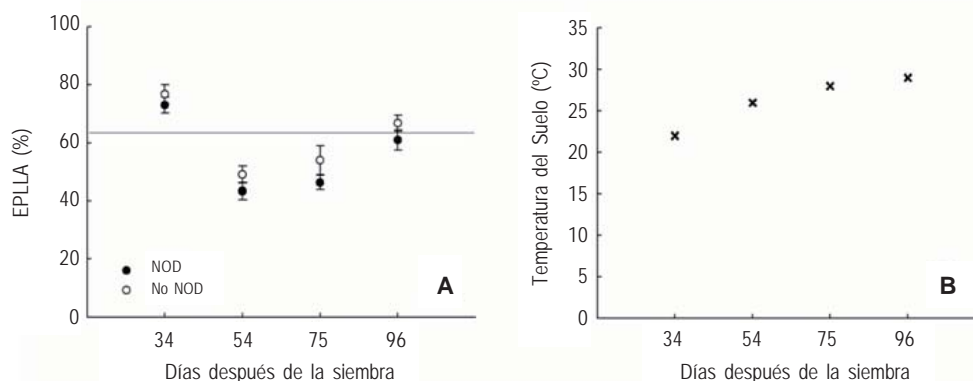


Figura 1. A) Espacio poroso lleno de agua (EPLLA) expresado en porcentaje en plantas nodulantes (círculos llenos) y en no nodulantes (círculos vacíos) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. La línea continua representa el 65 por ciento del EPLLA. B) Temperatura del suelo para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. Las barras verticales indican el error estándar.

Figure 1. A) Water-filled pore space % (EPLLA) in nodulating (solid circle) and non-nodulating plants (open circle) at four dates defined as days after sowing. Sixty five % of EPLLA is represented with a solid line. B) Soil temperature at four dates defined as days after sowing. Vertical lines represent the standard errors.

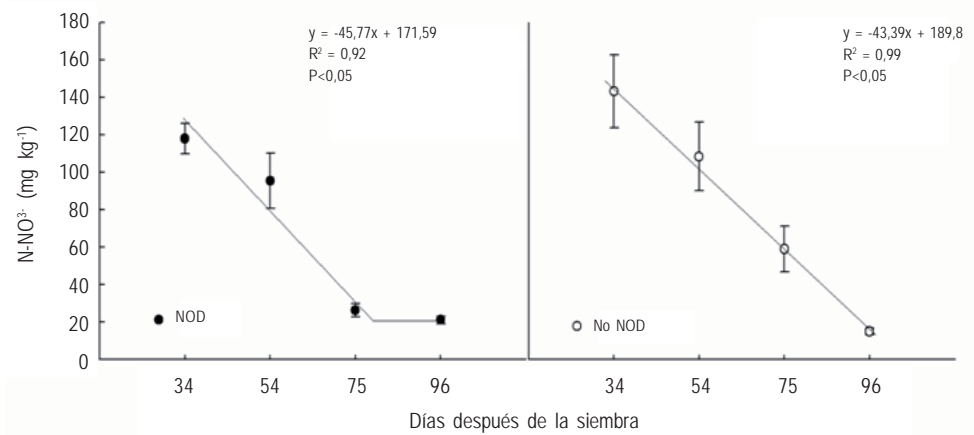


Figura 2. Concentración de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo en plantas nodulantes (círculos llenos) y en no nodulantes (círculos vacíos) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. Las barras verticales indican el error estándar.

Figure 2. Soil nitrate concentration (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) in nodulating (solid circle) and non-nodulating plants (open circle) at four dates defined as days after sowing.

Figura 3. Emisión de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) en plantas nodulantes (círculo lleno) y no nodulantes (círculo vacío) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. La línea horizontal representa la emisión nula. Las barras verticales representan el error estándar.

Figure 3. Nitrous oxide emission (N<sub>2</sub>O) in nodulating (solid circle) and non-nodulating plants (open circle) at four dates defined as days after sowing. Zero N<sub>2</sub>O emission is represented with a solid line. Vertical bars indicate the standard errors.

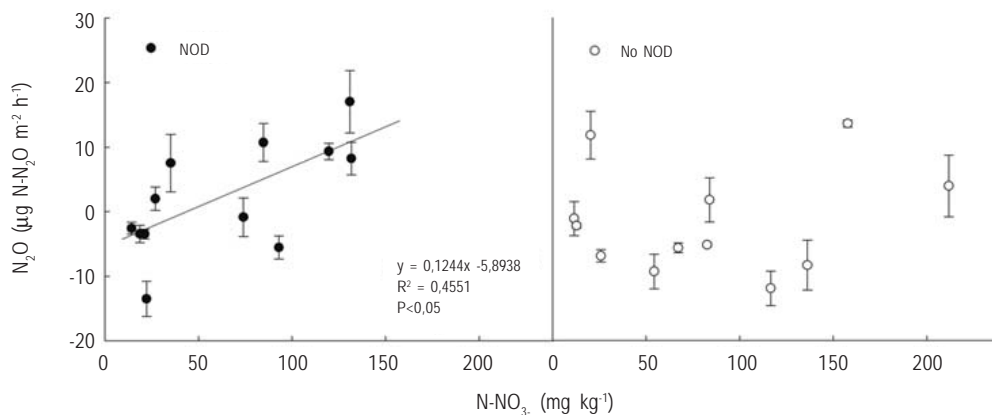
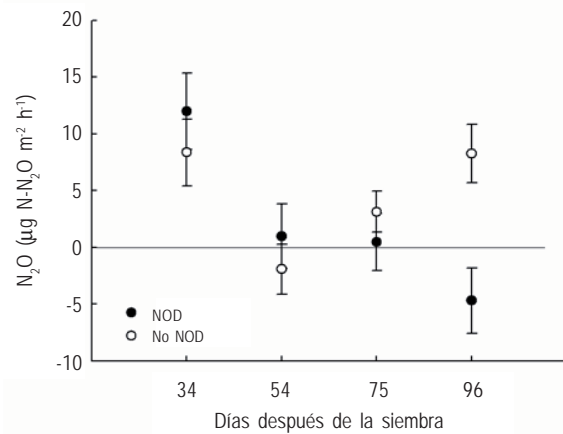


Figura 4. Emisión de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) en función de la concentración de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo en plantas nodulantes (círculo lleno) y no nodulantes (círculo vacío). Las barras verticales representan el error estándar.

Figure 4. Nitrous oxide emissions (N<sub>2</sub>O) related to soil nitrate concentration (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) in nodulating (solid circle) and non-nodulating plants (open circle). Vertical lines standard errors.

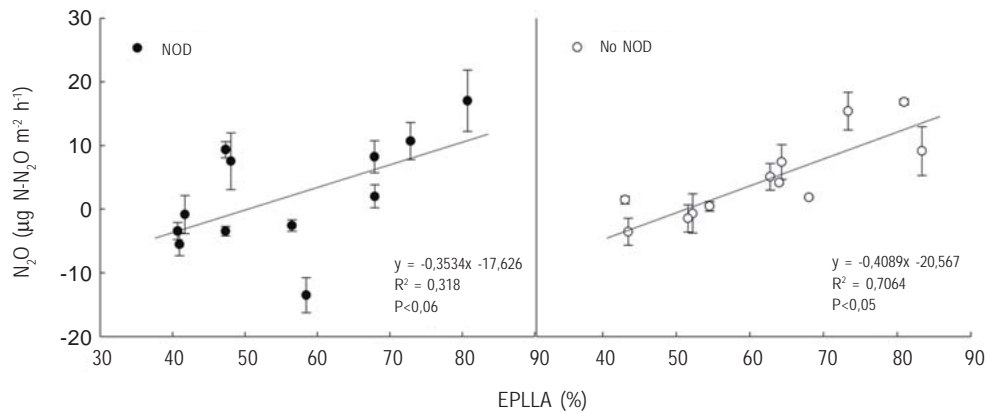


Figura 5. Emisión de óxido nítrico ( $N_2O$ ) en función del porcentaje de espacio poroso lleno de agua (EPLLA) en plantas nodulantes (círculo lleno) y no nodulantes (círculo vacío). Las líneas verticales representan el error estándar.

Figure 5. Nitrous oxide emission ( $N_2O$ ) related to water-filled pore space % (EPLLA) in nodulating (solid circle) and non-nodulating plants (open circle). Vertical lines represent standard errors.

## DISCUSIÓN

A excepción de la última fecha de muestreo, donde el tratamiento con cultivo no nodulante emitió más  $N_2O$  que el tratamiento con cultivo nodulante, los valores de emisión de  $N_2O$  del presente ensayo no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Esto indica que la presencia de nódulos fijadores *per se* no afectó la cantidad de  $N_2O$  emitida durante el crecimiento del cultivo de soja. Estos resultados difieren de los hallados por Ghosh *et al.* (2002), quienes observaron mayor emisión de  $N_2O$  desde cultivos leguminosos en relación a cultivos no leguminosos. Esta mayor emisión de  $N_2O$  fue atribuida a la presencia de exudados ricos en N que estimulan la actividad microbiana y promueven el consumo de oxígeno, generando así micrositios de anaerobiosis temporal en el suelo que favorecen el proceso de desnitrificación (Siddique *et al.*, 2012). Ello no sucedió en el presente ensayo, en el cual la utilización de plantas de soja no nodulante permite asemejar su comportamiento respecto al N a las especies no leguminosas.

Los resultados del presente ensayo se asemejan a lo hallado por Alves *et al.* (Alves comunicación personal en Jensen *et al.*, 2012) en otro ensayo comparativo de soja nodulante *versus* no nodulante. En ambos ensayos la emisión de  $N_2O$  fue baja y estadísticamente similar entre los tratamientos. En el mismo sentido Jantalia *et al.* (2008) monitorearon dos sistemas diferentes de doble cultivo invierno-estival a lo largo de dos años consecutivos. Estos autores

observaron que la emisión de  $N_2O$  emitida a partir de la secuencia con doble cultivo leguminoso (soja-arveja) fue baja y similar a la proveniente de la secuencia maíz-trigo. Los autores Yang & Cai (2005) quienes también evaluaron la emisión de  $N_2O$  durante el ciclo del cultivo de soja, mostraron que más del 90% de la emisión de  $N_2O$  es producida durante la estación de crecimiento, principalmente durante el período cercano a la madurez fisiológica del cultivo. Estos autores propusieron que la emisión de  $N_2O$  posiblemente proviene del N liberado por los nódulos y las raíces en descomposición, y no por la FBN.

Bajo las condiciones en que se desarrolló el ensayo, con concentraciones de  $N-NO_3^-$  superiores a  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , temperatura del suelo mayor a  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  y porcentaje de EPLLA mayor al 40%, no debieran haberse producido limitaciones en los procesos de formación de  $N_2O$  (Keeney *et al.*, 1979; Dobbie *et al.*, 1999; Cosentino *et al.*, 2013). Más aún, la Dap más elevada del suelo del ensayo ( $1,40 \text{ Mg m}^{-3}$ ) en relación con el suelo circundante ( $1,20 \text{ Mg m}^{-3}$ ) permite inferir un menor espacio de macroporos llenos de aire en el suelo del ensayo. Ello causa decrecimiento en la difusión de  $O_2$ , llevando a condiciones de anoxia y consecuentemente, a un incremento del proceso de desnitrificación, el cual suele ser acompañado por el aumento en la emisión  $N_2O$  (Schnurr-Pütz *et al.*, 2006; Berisso *et al.*, 2012).

Los valores de emisión de  $N_2O$  observados en el presente ensayo fueron menores a los observados por Cosentino *et al.* (2013) en un suelo de textura franca y con

mejor calidad estructural. Una posible respuesta a la baja emisión de N<sub>2</sub>O desde el suelo de estudio puede hallarse en la elevada compactación del suelo. En efecto, puede afirmarse que un valor de Dap = 1,40 Mg m<sup>-3</sup> equipara los valores de densidad máxima Proctor determinados en suelos de textura y calidad similar al estudiado (Micucci & Taboada, 2006), mostrando la existencia de compactación del suelo estudiado. Esta compactación del suelo lleva a cambios en la proporción de los diferentes tamaños de poros (*i.e.* aumento de la mesoporosidad a expensas de la macroporosidad; Hill *et al.*, 1985). Esta pérdida de macroporos o poros estructurales afecta la capacidad de difusión del gas dentro del suelo, la cual está relacionada con el factor de impedancia, dependiente del tamaño, la forma y la orientación de los poros en el suelo (Taylor & Brar, 1991; Fen *et al.*, 2009). El flujo de un gas entre el suelo y la atmósfera es el resultado de tres procesos básicos: la producción, el consumo y el transporte (Conrad, 1996). Por esto, podría pensarse que la falta de poros estructurales redujo la velocidad a la cual el N<sub>2</sub>O se movió desde el suelo hacia la atmósfera, dejándolo disponible dentro del suelo para ser reducido a N<sub>2</sub> por la enzima nitroso-reductasa. De este modo, se observaron valores de emisión de N<sub>2</sub>O menores que los esperados. Dado que la Dap no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, no existe evidencia para pensar que la compactación afectó diferencialmente los resultados.

En el tratamiento con soja nodulante, la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> del suelo explicó parcialmente la emisión de N<sub>2</sub>O (R<sup>2</sup> = 0,46; p < 0,05; Fig. 4). Esta relación positiva entre la emisión de N<sub>2</sub>O y la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> también fue descrita por McSwiney & Robertson (2005), quienes observaron una respuesta similar bajo condiciones de campo en un ensayo fertilizado. También se observó una relación positiva entre la emisión de N<sub>2</sub>O y el EPLLA (Fig. 5), con valores de R<sup>2</sup> = 0,70 y p < 0,05 para el cultivo de soja nodulante y de R<sup>2</sup> = 0,32 y p < 0,056 para no nodulante. Estos resultados concuerdan con lo observado por otros autores en condiciones de invernáculo (Shelton *et al.*, 2000; Schindlbacher & Zechmeister-Boltenstern, 2004) y de campo (Almaraz *et al.*, 2009). Pero se oponen a lo observado por Jantalia *et al.* (2008) en un ensayo realizado a campo, quienes encontraron una relación negativa entre la emisión de N<sub>2</sub>O y el EPLLA.

La emisión de N<sub>2</sub>O fue baja en todo el ensayo, sin diferencias significativas entre tratamientos excepto para la última fecha de muestreo (96 DDS) (Fig. 3). Cuando el

EPLLA del suelo supera el 60%, comienza a cobrar importancia el proceso de desnitrificación en detrimento de la nitrificación, como fuente de emisión de N<sub>2</sub>O (Linn & Doran, 1984). La desnitrificación alcanza un máximo cuando el EPLLA supera el valor crítico de 65% (Clayton *et al.*, 1997), nivel a partir del cual pequeñas diferencias en el contenido hídrico del suelo pueden derivar en importantes diferencias en la emisión de N<sub>2</sub>O (Bateman & Baggs, 2005). Ello pudo haber sucedido en la última fecha de muestreo (96 DDS), cuando el valor de EPLLA fue cercano a ese valor crítico y además ligeramente mayor en el suelo con el tratamiento con cultivo no nodulante. Es posible que el mayor EPLLA en el tratamiento con soja no nodulante haya causado emisiones de N<sub>2</sub>O significativamente más altas en este tratamiento, aun cuando los valores en bruto de emisión de N<sub>2</sub>O fueron bajos. Resultados similares fueron observados por Bateman y Baggs (2005), con valores de emisión de N<sub>2</sub>O hasta 10 veces más elevadas cuando el EPLLA del suelo aumentó de 60 a 70%, hecho atribuido al proceso de desnitrificación.

Estos resultados coinciden con lo recomendado por las últimas directrices de IPCC (2006) y cuestionan la decisión de cargar con más emisión de N<sub>2</sub>O al cultivo de soja.

## CONCLUSIÓN

En el presente trabajo, en que se analizó comparativamente la emisión de N<sub>2</sub>O desde cultivos de soja con y sin FBN, la soja nodulante no emitió mayor cantidad de N<sub>2</sub>O que la no nodulante. En consecuencia, la presencia de nódulos fijadores *per se* no afectó la cantidad de N<sub>2</sub>O emitida durante el crecimiento del cultivo de soja.

Los resultados aquí obtenidos no han generado evidencia suficiente para sostener que el cultivo de soja nodulante presenta mayor emisión de N<sub>2</sub>O por FBN que el cultivo de soja no nodulante. Por ende, puede afirmarse que en el ensayo realizado la emisión de N<sub>2</sub>O por el cultivo de soja no provino del proceso de FBN.

## Agradecimientos

Este trabajo contó con el financiamiento de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 1684) y del consejo nacional de investigaciones científicas y tecnológicas (PIP 0148). Agradecemos a la ingeniera Mariana Kandus, a Javier Lubo y a Roberto Richmond por su colaboración durante la ejecución del experimento de campo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Almaraz, JJ; X Zhou; F Mabood; C Madramootoo; P Rochette; B-L Ma & DL Smith. 2009. Greenhouse gas fluxes associated with soybean production under two tillage systems in southwestern Quebec. *Soil & Tillage Research*. 104(1): 134-139.
- Ambus, P. 2005. Relationship Between Gross Nitrogen Cycling and Nitrous Oxide Emission in Grass-clover Pasture. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 72(2): 189-199.
- Bateman, EJ & EM Baggs. 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N<sub>2</sub>O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biology and Fertility of Soils*. 41: 379-388.
- Berisso, FE; P Schjønning; T Keller; M Lamandé; A Etana; LW de Jonge; BV Iversen; J Arvidsson & J Forkman. 2012. Persistent effects of subsoil compaction on pore size distribution and gas transport in a loamy soil. *Soil and Tillage Research*. 122(0): 42-51.
- Castiglioni, MG; HJM Morrás & OJ Santanotoglia. 2005. Influencia de la organización y composición del espacio poroso y la matriz en la dinámica hídrica de distintos argüdules de la Pampa Ondulada. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados de la Facultad de agronomía de la UBA. 17-19.
- Clayton, H; IP McTaggart; J Parker; L Swan & KA Smith. 1997. Nitrous oxide emissions from fertilised grassland: A 2-year study of the effects of N fertiliser form and environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 25(3): 252-260.
- Conrad, R. 1996. Soil Microorganisms as Controllers of Atmospheric Trace Gases (H<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, OCS, N<sub>2</sub>O and NO). *Microbiological Reviews*. 60609-640.
- Cosentino, VRN; PL Fernandez; SA Figueiro Aureggi & MA Taboada. 2012. N<sub>2</sub>O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 36: 1814-1819.
- Cosentino, VRN; SA Figueiro Aureggi & MA Taboada. 2013. Hierarchy of factors driving N<sub>2</sub>O emissions in non-tilled soils under different crops. *European Journal of Soil Science* 64(5): 550-557.
- Dobbie, KE; IP McTaggart & KA Smith. 1999. Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems: Variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *Journal of Geophysical Research* 104: 26891-26899.
- European & Commission. 2013. Assessing GHG default emissions from biofuels in EU legislation. JRC Scientific and Policy Reports. Review of the input database to calculate 'Default GHG emissions', following expert consultation, 22-23 November 2011, Ispra (Italy).
- Fen, CS; Y Huang & JL Chen. 2009. Experimental study of gas transport parameters in unsaturated silica flour. *Vadose Zone Journal* 8(2): 373-382.
- Ghosh, S; D Majumdar & MC Jain. 2002. Nitrous oxide emissions from *kharif* and *rabi* legumes grown on an alluvial soil. *Biology and Fertility of Soils*. 35(6): 473-478.
- Hill, RL; R Horton & RM Cruse. 1985. Tillage Effects on Soil Water Retention and Pore Size Distribution of Two Mollisols. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49(5): 1264-1270.
- INDEC. 2014. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.indec.gov.ar>. Acceso: 1/4/2014.
- InfoStat. 2010. InfoStat Versión 2010 Software (Córdoba, Argentina): Universidad Nacional de Córdoba, Fac. de Cs. Agropecuarias. Grupo InfoStat.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 1996. Guidelines for national Greenhouse Gas Inventories. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs2.html>.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2001. Climate Change: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Published for the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories. Volume 4. Agriculture, forestry and other land use (<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>).
- Jackson, ML (1958) Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Jantalia, CP; HP dos Santos; S Urquiaga; RM Boddey & BJR Alves. 2008. Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 82: 161-173.
- Jensen, ES. 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology & Biochemistry* 28(1): 65-71.
- Jensen, ES; MB Peoples; RM Boddey; PM Gresshoff; H Hauggaard-Nielsen; BJR Alves & MJ Morrison. 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32(2): 329-364.
- Keeney, DR; IR Fillery & GP Marx. 1979. Effect of Temperature on the Gaseous Nitrogen Products of Denitrification in a Silt Loam Soil. *Soil Science Society of America Journal* 43(6): 1124-1128.
- Keeney, DR & DW Nelson, 1982, Nitrogen-Inorganic Forms, *In*: Page, AL; RH Miller & DR Keeney (eds), Methods of Soil Analysis, Part 2. American Society of Agronomy - Soil Science Society of America Madison, Wisconsin, pp. 643-698.
- Linn, DM & JW Doran. 1984. Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils. *Soil Science Society of America Journal* 48(6): 1267-1272.
- McSwiney, CP & GP Robertson. 2005. Nonlinear response of N<sub>2</sub>O flux to incremental fertilizer addition in a continuous maize *Zea mays* L. cropping system. *Global Change Biology* 11: 1712-1719.
- Micucci, FG & MA Taboada. 2006. Soil physical properties and soybean (*Glycine max*, Merrill) root abundance in conventionally- and zero-tilled soils in the humid Pampas of Argentina. *Soil and Tillage Research* 86: 152-162.
- Rochette, P; DA Angers; G Belanger; MH Chantigny; D Prevost & G Levesque. 2004. Emissions of N<sub>2</sub>O from Alfalfa and Soybean Crops in Eastern Canada. *Soil Science Society of America Journal* 68(2): 493-506.
- Rochette, P & NS Eriksen-Hamel. 2008. Chamber measurements of soil nitrous oxide flux: are absolute values reliable? *Soil Science Society of America Journal* 72: 331-342.
- Rochette, P & H Janzen. 2005. Towards a revised coefficient for estimating N<sub>2</sub>O emissions from legumes. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 73(2): 171-179.
- Schindlbacher, A & S Zechmeister-Boltenstern. 2004. Effects of soil moisture and temperature on NO, NO<sub>2</sub>, and N<sub>2</sub>O emissions from European forest soils. *Journal of Geophysical Research* 109(D17): D17302.



- Schnurr-Pütz, S; E Bååth; G Guggenberger; HL Drake & K Küsel. 2006. Compaction of forest soil by logging machinery favours occurrence of prokaryotes. *FEMS microbiology ecology* 58(3): 503-516.
- Sey, B; A Manceur; J Whalen; E Gregorich & P Rochette. 2010. Root-derived respiration and nitrous oxide production as affected by crop phenology and nitrogen fertilization. *Plant Soil* 326(1-2): 369-379.
- Shelton, DR; AM Sadeghi & GW McCarty. 2000. Effect of Soil Water Content on Denitrification During Cover Crop Decomposition. *Soil Science* 165(4): 365-371.
- Siddique, KM; C Johansen; N Turner; M-H Jeuffroy; A Hashem; D Sakar; Y Gan & S Alghamdi. 2012. Innovations in agronomy for food legumes. A review. *Agronomy for sustainable development* 32(1): 45-64.
- Snyder, CS; TW Bruulsema; TL Jensen & PE Fixen. 2009. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 133(3-4): 247-266.
- Steenwerth, K & KM Belina. 2008. Cover crops and cultivation: Impacts on soil N dynamics and microbiological function in a Mediterranean vineyard agroecosystem. *Applied Soil Ecology* 40: 370-380.
- Stehfest, E & L Bouwman. 2006. N<sub>2</sub>O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nutr Cycl Agroecosyst.* 74: 207-228.
- Taylor, HM & GS Brar. 1991. Effect of soil compaction on root development. *Soil and Tillage Research* 19(2-3): 111-119.
- Yang, L & Z Cai. 2005. The effect of growing soybean (*Glycine max* L.) on N<sub>2</sub>O emission from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37(6): 1205-1209.
- Zapata, F; SKA Danso; G Hardarson & M Fried. 1987. Time Course of Nitrogen Fixation in Field-Grown Soybean Using Nitrogen-15 Methodology. *Agron. J.* 79(1): 172-176.

