



## EVOLUCIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO CON ENMIENDAS ORGÁNICAS Y FERTILIZACIÓN MINERAL

C. LÓPEZ-FANDO<sup>1</sup>, J. DORADO<sup>1</sup>, F.J. GONZÁLEZ-VILA<sup>2</sup>, M.C. ZANCADA<sup>1</sup>, G. ALMENDROS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Serrano 115 bis, 28006 Madrid, Proyecto CICyT AGL2002-04186

<sup>2</sup>Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, CSIC, Avenida de Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla

**Abstract.** After 16 years of continuous amendment either with farmyard manure or crop wastes and two levels of mineral N fertilisation in a Calcic Haploxeralf at Toledo (central Spain), significant changes in soil physical properties, soil fertility and in the amount and characteristics of soil organic matter have been found. Such changes depended on the type of organic matter applied, the N dose (0 and 100 kg ha<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) and their interaction. When compared with control plots, visible spectroscopy suggested that the organic matter accumulated in the amended plots was less transformed, with a more marked aliphatic character, its humification degree decreasing when increasing N inputs. Curie-point pyrolysis of the humic acids showed a selective biodegradation of the alkyl domain favoured by external N inputs, whereas the degradation of the lignin-inherited structures seems to be more efficient in those plots with high C/N ratio.

**Key Words:** Humus, humic acids, organic amendments, biodegradation.

**Resumen.** Tras 16 años de aplicar enmiendas orgánicas (residuos vegetales o estiércol) y N mineral (0 y 100 kg ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) a un Haploxeralf Cálculo en la provincia de Toledo, se han observado cambios significativos en las propiedades físicas, fertilidad, contenido total y naturaleza de la materia orgánica del suelo, que se relacionan con el material aportado, con la dosis de N y su interacción. La aplicación continua de ambas enmiendas orgánicas ha conducido a una acumulación de materia orgánica poco transformada, con ácidos húmicos de carácter más alifático que en el suelo testigo. El análisis de los ácidos húmicos mediante espectroscopía visible indica que con el aporte de N mineral disminuye el grado de humificación de la materia orgánica. La pirólisis de punto de Curie de los ácidos húmicos muestra una biodegradación preferente de estructuras alquílicas favorecida por la fertilización nitrogenada, en tanto que la degradación de las estructuras derivadas de las ligninas parece ser más efectiva en suelos con una relación C/N más elevada.

**Palabras Clave:** Humus, ácidos húmicos, enmiendas orgánicas, biodegradación.

## INTRODUCCIÓN

Las zonas agrícolas en ambientes semiáridos constituyen ecosistemas particularmente frágiles, expuestos a permanentes riesgos de degradación de sus propiedades físicas, debido principalmente a las bajas tasas de acumulación de materia orgánica y a su reducido período de transformación. Muchos de los estudios relacionados con la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo se han centrado en aspectos cuantitativos, analizando el contenido total de materia orgánica en el suelo. Sin embargo, un aumento en la cantidad de materia orgánica no está asociado necesariamente a una mejora de las propiedades agrobiológicas del suelo. En efecto, estudios recientes han establecido la importancia del análisis cualitativo de la materia orgánica para el reconocimiento de los cambios en las propiedades agrobiológicas del suelo (Bull *et al.*, 1998). La caracterización molecular del humus permite establecer descriptores de la calidad de la materia orgánica en términos que pueden ser relacionados con su resiliencia y sustentabilidad. Por ello, el objetivo del presente trabajo es analizar los efectos de distintos tipos de manejo del suelo basados en aplicaciones periódicas de materiales lignocelulósicos y N mineral, orientados a incrementar la calidad del humus, definida según su grado de transformación y estabilidad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo en la finca experimental "La Higuera" (Toledo) bajo clima semiárido continental, en un Haploxeralf Cálcico, tras 16 años de experimentación desarrollada dentro del "International Organic Nitrogen Long-Term Fertilization Experiment" (IOSDV). Se aplicó un diseño en parcelas subdivididas con tres repeticiones, la enmienda orgánica como tratamiento principal y la dosis de N en las subparcelas. El diseño experimental incluye:

i) control sin aporte orgánico; ii) aplicación anual de 3 Mg ha<sup>-1</sup> de paja de cebada junto con 2,5 Mg ha<sup>-1</sup> de colza como abono verde cada 3 años; iii) aplicación de 30 Mg ha<sup>-1</sup> de estiércol de bovino cada 3 años. Los niveles de fertilización mineral fueron: i) sin fertilización nitrogenada (N=0); ii) aplicación de 100 kg ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 33,5%. En las parcelas donde se utilizó paja de cebada, se aportó una dosis adicional de 30 kg ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 33,5% para prevenir el hambre de N.

La estabilidad de los agregados (índice de inestabilidad estructural) se analizó por el método de Feodoroff (1960) modificado, utilizando aceite de parafina en vez de benceno. La retención de agua fue determinada con un extractor presión-membrana de Richards, a presiones de 0,1 kPa ( $pF=0$ ), 10 kPa ( $pF=2$ ), 50 kPa ( $pF=2,7$ ) y 1500 kPa ( $pF=4$ ). El N se midió tras digestión Kjeldahl, el contenido en K, Ca, Mg y Na disponibles tras extracción con NH<sub>4</sub>OAc 1M ( $pH=7$ ), y el P disponible por el método de Bray y Kurtz (1945). El C total oxidable fue determinado por vía húmeda (Nelson y Sommers, 1982).

El análisis cuantitativo de las diferentes fracciones orgánicas se realizó según protocolos descritos por Duchaufour y Jacquín (1975). Una vez aislados y purificados los ácidos húmicos (AH) se obtuvieron sus espectros en el rango visible utilizando soluciones en NaHCO<sub>3</sub> 0,02M de 200 mg C L<sup>-1</sup>, midiendo la densidad óptica a 465 nm ( $E_4$ ) y 665 nm ( $E_6$ ). Posteriormente, los AH fueron caracterizados mediante pirólisis analítica seguida de cromatografía de gases-espectrometría de masas (Martín *et al.*, 1979).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra el efecto del empleo de enmiendas orgánicas y fertilización nitrogenada sobre las propiedades físicas del suelo, N total y las fracciones orgánicas. Se observa un descenso significativo en la inestabilidad de los agregados del suelo,

TABLA 1. Propiedades físicas y químicas del suelo tras la enmienda orgánica y mineral.

|   | N mineral (kg ha <sup>-1</sup> ) |      | Control |      | Residuos de cosecha <sup>a</sup> |      | Estiércol <sup>b</sup> |      | MDS<br>(P= 0,05) |
|---|----------------------------------|------|---------|------|----------------------------------|------|------------------------|------|------------------|
|   | 0                                | 100  | 0       | 100  | 0                                | 100  | 0                      | 100  |                  |
|   | Inestabilidad estructural        | 4,8  | 4,5     | 2,3  | 4,1                              | 2,3  | 4,0                    | 2,3  |                  |
| Capacidad de retención agua (g kg <sup>-1</sup> ) | 221                              | 226  | 238     | 267  | 228                              | 283  | 228                    | 283  | 32               |
| Retención de agua (pF= 0)                         | 31,1                             | 32,4 | 29,0    | 39,0 | 32,9                             | 39,0 | 32,9                   | 39,0 | 1,7              |
| Retención de agua (pF= 2)                         | 20,8                             | 17,2 | 13,8    | 21,0 | 18,1                             | 23,1 | 18,1                   | 23,1 | 1,1              |
| Retención de agua (pF= 2,7)                       | 14,1                             | 11,7 | 9,5     | 17,4 | 12,8                             | 18,0 | 12,8                   | 18,0 | 1,3              |
| Retención de agua (pF= 4)                         | 6,0                              | 5,7  | 3,9     | 8,5  | 5,6                              | 8,9  | 5,6                    | 8,9  | 0,5              |
| C orgánico (g kg <sup>-1</sup> )                  | 4,6                              | 5,1  | 6,8     | 7,2  | 7,3                              | 9,6  | 7,3                    | 9,6  | 0,5              |
| N total (g kg <sup>-1</sup> )                     | 0,6                              | 0,5  | 0,5     | 0,7  | 1,1                              | 1,1  | 1,1                    | 1,1  | 0,2              |
| C/N   | 7,8                              | 10,2 | 13,6    | 10,5 | 6,8                              | 8,7  | 6,8                    | 8,7  | 1,3              |
| Materia orgánica libre (g C kg <sup>-1</sup> )    | 0,4                              | 0,8  | 1,3     | 0,6  | 0,8                              | 0,6  | 0,8                    | 0,6  | 0,3              |
| Ácidos húmicos (AH) (g C kg <sup>-1</sup> )       | 0,7                              | 0,9  | 1,3     | 1,2  | 1,9                              | 2,3  | 1,9                    | 2,3  | 0,1              |
| Ácidos fúlvicos (AF) (g C kg <sup>-1</sup> )      | 1,8                              | 1,9  | 2,5     | 2,9  | 2,2                              | 2,9  | 2,2                    | 2,9  | 0,7              |
| Ácidos fúlvicos libres (g C kg <sup>-1</sup> )    | 0,11                             | 0,09 | 0,13    | 0,10 | 0,13                             | 0,15 | 0,13                   | 0,15 | 0,06             |
| Humina (g C kg <sup>-1</sup> )                    | 1,6                              | 1,5  | 1,6     | 2,4  | 2,3                              | 3,6  | 2,3                    | 3,6  | 0,3              |
| AH/AF   | 0,36                             | 0,48 | 0,51    | 0,41 | 0,84                             | 0,82 | 0,84                   | 0,82 | 0,21             |
| E <sub>4</sub> <sup>c</sup>                       | 0,83                             | 0,84 | 0,82    | 0,79 | 0,72                             | 0,63 | 0,72                   | 0,63 | 0,19             |
| E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> <sup>c</sup>       | 5,17                             | 5,56 | 5,94    | 6,07 | 5,81                             | 6,12 | 5,81                   | 6,12 | 0,16             |

<sup>a</sup> Paja de cebada (3 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) y colza como abono verde (2,5 Mg ha<sup>-1</sup>, cada 3 años); <sup>b</sup> estiércol (30 Mg ha<sup>-1</sup>, cada 3 años); <sup>c</sup> densidad óptica a 465 (E<sub>4</sub>) y 665 (E<sub>6</sub>) nm en el espectro de los AH (200 mg L<sup>-1</sup>).

TABLA 2. Efectos principales e interacciones entre factores (enmiendas orgánicas (MO) y fertilización nitrogenada (N)) que afectan a las propiedades del suelo y a las características de los ácidos húmicos.

|   | Estiércol <sup>a</sup> |       |                    |       | Residuos de cosecha <sup>b</sup> |      |                    |       |
|---|------------------------|-------|--------------------|-------|----------------------------------|------|--------------------|-------|
|   | MO                     | N     | Interacción MO × N | Media | MO                               | N    | Interacción MO × N | Media |
| Inestabilidad estructural                   | -1,5**                 | 0,7*  | 1,0**              | 3,9   | -1,5*                            | ns   | 1,0*               | 3,9   |
| Retención de agua ( $pF=0$ )                | 4,2**                  | 3,7** | 2,4**              | 33,8  | 2,3*                             | 4,3* | 5,6**              | 32,9  |
| Retención de agua ( $pF=2$ )                | 1,6**                  | 0,7*  | 4,3**              | 19,8  | ns                               | 1,8* | 5,4*               | 18,2  |
| Retención de agua ( $pF=2,7$ )              | 2,5**                  | 1,5** | 3,8**              | 14,1  | ns                               | 2,8* | 5,1**              | 13,2  |
| Retención de agua ( $pF=4$ )                | 1,4**                  | 1,5** | 1,8**              | 6,5   | 0,4*                             | 2,2* | 2,5**              | 6,0   |
| C   | 3,6**                  | 1,4** | 0,9*               | 6,6   | 2,2*                             | ns   | ns                 | 5,9   |
| N   | 0,6**                  | ns    | ns                 | 0,8   | ns                               | ns   | ns                 | 0,6   |
| C/N   | -1,3*                  | 2,1** | ns                 | 8,4   | ns                               | ns   | ns                 | 10,5  |
| AH  | 1,3**                  | 0,4** | 0,1*               | 1,4   | 0,5*                             | ns   | -0,2*              | 1,0   |
| Humina                                      | 1,4**                  | 0,6*  | 0,7*               | 2,2   | ns                               | ns   | ns                 | 1,8   |
| AH/AF                                       | 0,4*                   | ns    | ns                 | 0,6   | ns                               | ns   | -0,1*              | 0,4   |
| E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> <sup>c</sup> | 0,6**                  | 0,4*  | ns                 | 5,7   | 0,6*                             | 0,3* | -0,1*              | 5,7   |

<sup>a</sup> Estiércol (30 Mg ha<sup>-1</sup>, cada 3 años); <sup>b</sup> paja de cebada (3 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>) y colza como abono verde (2,5 Mg ha<sup>-1</sup>, cada 3 años); <sup>c</sup> relación de las densidades ópticas a 465 y 665 nm en el espectro de los AH (200 mg L<sup>-1</sup>). ns = no significativo ( $P>0,05$ ); \* significativo  $P<0,05$ ; \*\* significativo  $P<0,01$ .

debido al aporte orgánico y no al N mineral. Considerando exclusivamente los tratamientos con enmiendas orgánicas, el N mineral provocó cambios cualitativos en el humus (menor peso molecular, indicado por la relación AH/AF más baja y la relación  $E_4/E_6$  de los AH más alta), que podrían ser responsables de una reducción en la capacidad cementante de la matriz orgánica.

Todos los tratamientos mostraron un incremento significativo en la concentración de C orgánico, relacionado de forma directa con la fertilización nitrogenada (Tabla 1). La distribución del C orgánico en sus diferentes fracciones tras la aplicación de las enmiendas orgánicas, apunta hacia una acumulación en forma de AH y humina más que de partículas en fases precoces de transformación (materia orgánica libre), principalmente con la fertilización de N mineral. En este sentido, el aumento de la relación AH/AF en las parcelas con estiércol confirma la acumulación de los

coloides orgánicos de tamaño molecular más elevado (AH).

A igualdad de concentración de C, la densidad óptica de los AH indica el grado de aromaticidad (Traina *et al.*, 1990). La aplicación de N mineral junto con la enmienda orgánica (principalmente en el tratamiento con estiércol) ha conducido a una disminución de la  $E_4$  de los AH que apunta al enriquecimiento en constituyentes alifáticos, posiblemente de origen microbiano. Esta hipótesis está apoyada por los cambios observados en la relación  $E_4/E_6$ , cuyo valor está inversamente relacionado con el tamaño molecular de las sustancias húmicas (Chen *et al.*, 1977). El efecto positivo de la fertilización mineral sobre la relación  $E_4/E_6$  (Tabla 2) puede interpretarse como una fragmentación de los coloides orgánicos por la mayor actividad microbiana en medios enriquecidos en N.

Las enmiendas orgánicas aplicadas tuvieron un efecto positivo sobre la retención de

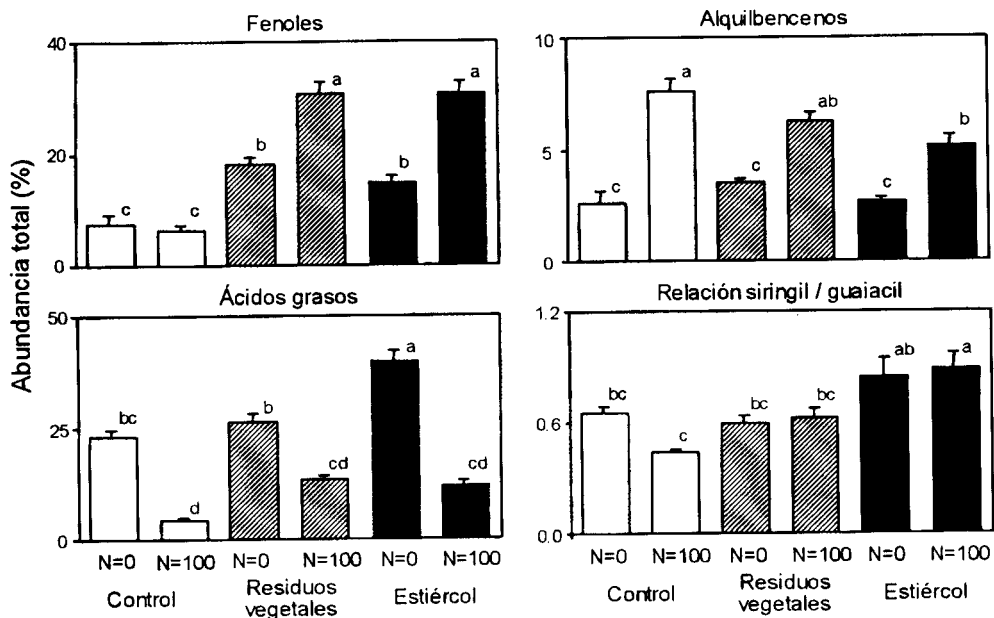


FIGURA 1. Porcentaje de fenoles, alquilbencenos y ácidos grasos respecto al total de productos de pirólisis y relación sirringil / guaiacil en ácidos húmicos de parcelas testigo y parcelas con enmiendas orgánicas, en ausencia (N= 0) o presencia (N= 100) de fertilización nitrogenada.

agua a todos los valores de  $pF$ , encontrándose los mayores niveles de significación en parcelas con fertilización nitrogenada (Tablas 1 y 2). Posiblemente, este aumento en la retención de agua tras la aplicación de N mineral esté relacionado con la disminución del tamaño molecular de los coloides orgánicos, observado en el aumento de fracciones solubles y reactivas de tipo AF, que también favorecen la formación de microagregados estables en suelos donde no existen carencias de  $Ca^{2+}$ .

Los principales cambios en función del manejo del suelo observados mediante pirólisis de los AH, se encontraron en los compuestos fenólicos (Figura 1), la mayoría de ellos con sustituyentes metoxilo característicos de las unidades constitutivas de las ligninas. Dicho aumento en el contenido de metoxifenoles en las parcelas, donde se aportó paja o estiércol, es propio de una materia orgánica menos transformada, originada por procesos de alteración de las ligninas. La mayor proporción de metoxifenoles se encontró en las parcelas donde se aplicaron conjuntamente enmiendas orgánicas y dosis elevada de N, lo que correspondería al hecho de que los procesos de biodegradación de la lignina dependen del nivel de N en el suelo, de forma que su eficacia suele incrementarse en medios pobres en N (Dorado *et al.*, 2001). Por otra parte, las ligninas de tipo guaiacil (G) (mayor número de puentes intramoleculares) son más resistentes a la degradación microbiana que las de tipo siringil (S) (mayor contenido en metoxilos), por lo que el aumento significativo de la relación S/G en las parcelas donde se aplicó estiércol indicaría un grado de alteración menor respecto a los AH del suelo testigo.

Otros cambios observados en los AH mediante pirólisis fueron el descenso significativo del rendimiento total de ácidos grasos ( $C_{12}$ - $C_{18}$ ) y el aumento significativo del rendimiento total de alquilbencenos (fragmentos típicos de los AH, Schulten y Schnitzer,

1997) en las parcelas donde se fertilizó con N mineral (Figura 1).

## CONCLUSIONES

La aplicación periódica de enmiendas orgánicas y N mineral ha producido mejoras en las propiedades físicas y niveles de fertilidad del suelo, asociadas a cambios cualitativos en la composición de la materia orgánica. Dichos cambios están significativamente relacionados con el tipo de material aportado, la dosis de N aplicada y la interacción entre enmienda orgánica y enmienda mineral. En las condiciones de este estudio, la aplicación continuada de paja o estiércol ha conducido a una acumulación de materia orgánica con bajo grado de madurez, constituida por AH con alta proporción de ligninas alteradas. La biodegradación preferente de los constituyentes alifáticos (menor rendimiento en ácidos grasos tras pirólisis) parece estar favorecida por el aporte de N mineral, en tanto que la degradación del dominio aromático parece ser más efectiva en suelos con una relación C/N más elevada.

## REFERENCIAS

- Bray, R.H. y Kurtz, L.T. (1945): Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59, 39-45.
- Bull, I.D., Van Bergen, P.F., Poulton, P.R., Evershed, R.P. (1998): Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. II. Soils from the Hoosfield spring barley experiment treated with different quantities of manure. *Org. Geochem.* 28, 11-26.
- Chen, Y., Senesi, N., Schintzer, M. (1977): Information provided on humic substances by  $E_4/E_6$  ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 352-358.
- Duchaufour, Ph. y Jacquín, F. (1975): Comparaison des procesus d'humifica-

- tion dans les principaux types d'humus forestiers. *Bull. AFES* 1, 29-36.
- Dorado, J., Field, J.A., Almendros, G., Sierra-Álvarez, R. (2001): Nitrogen removal with protease improves the selective delignification of hemp stemwood by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 205-211.
- Feodoroff, A. (1960): Evaluation de la stabilité structurale d'un sol (indice S). Nouvelles normes d'emploi pour l'appareil à tamiser. *Ann. Agron.* 6, 651-659.
- Martín, F., Sáiz-Jiménez, C., González-Vila, F.J. (1979): Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of lignins. *Holzforschung* 33, 210-212.
- Nelson, D.V. y Sommers, L.E. (1982): Total carbon, organic carbon and organic matter in «Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties» A.L. Page, ed. American Society of Agronomy, Madison, 539-579.
- Schulten, H.-R. y Schnitzer, M. (1997): Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Sci.* 162, 115-130.
- Traina, S.J., Novak, J., Smeck, N.E. (1990): An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. *J. Environ. Qual.* 19, 151-153.