

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE DISPERSIÓN DEL SUELO EN LA CALIDAD DE MATERIA ORGÁNICA SEPARADA POR FRACCIONAMIENTO GRANULOMÉTRICO

CECILIA VIDELA¹ & PAULO C.O. TRIVELIN²

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP. CC 276 (7620) Balcarce, Argentina cvidela@balcarce.inta.gov.ar

² CENA - USP, C.P. 96, 13400-970. Piracicaba-SP, Brasil. pctrive@cena.usp.br

Recibido: 20/09/07

Aceptado: 29/05/08

RESUMEN

El fraccionamiento granulométrico de la materia orgánica (MO) se basa en que las fracciones asociadas con partículas de diferente tamaño difieren en estructura y funciones y cumplen diferentes roles en el reciclado de la misma. El objetivo del presente trabajo fue comprobar la calidad del fraccionamiento de la MO de un Molisol a través del uso de: a) agua y b) hexametáfosfato de sodio (HMP) como dispersantes y analizar la distribución del C y N y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en las distintas fracciones separadas. Se compararon la distribución de la fracción mineral del suelo con la MO destruida por calentamiento con agua oxigenada vs. dispersión en agua o dispersión con HMP. Las suspensiones de suelo fueron tamizadas por tamices de 200, 50 y 20 μm y la fracción $>200 \mu\text{m}$ fue separada en liviana y pesada por flotación en agua. Las recuperaciones acumuladas de la masa de suelo (98,4 - 99,7%), N (87,4 - 99,4%) y C (91,4 - 96,2%) fueron altas en general, si bien el agua produjo mayores recuperaciones y HMP presentó mayor variabilidad. El HMP dispersó los agregados de la fracción $>200 \mu\text{m}$, permitiendo comprobar la gran cantidad de N y C que se acumula en las fracciones más finas, mientras que el agua no dispersó adecuadamente estos agregados. Gran cantidad de N quedó en la fracción $<20 \mu\text{m}$, en cuanto que el C se acumuló en mayor cantidad en la fracción entre 200-50 μm . Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en las fracciones más finas fueron cercanos a los valores originales para estos suelos desarrollados bajo vegetación mezcla de especies C3 y C4 (-21,7‰) mientras que en las fracciones gruesas fueron semejantes a los de plantas C3 (-27,7‰). En base a los resultados obtenidos se considera que el método de dispersión con HMP es adecuado para el fraccionamiento granulométrico del suelo analizado.

Palabras clave. Molisol, materia orgánica, fracciones físicas.

INFLUENCE OF SOIL DISPERSION METHOD ON ORGANIC MATTER QUALITY SEPARATED BY PARTICLE-SIZE FRACTIONATION

ABSTRACT

Particle-size fractionation is supported by the concept that soil organic matter (SOM) fractions associated with different mineral particle sizes have different structure and functions, and play different functions in SOM turnover. The objective of this work was to verify the quality of the organic matter fractionation of a Molisol dispersed with water or Na-hexametaphosphate (HMP) and to analyze the C and N distribution and $\delta^{13}\text{C}$ values of the separated fractions. We compared the mineral fraction distribution of the soil by completely oxidizing SOM through heating with hydrogen peroxide (AGUAOX) versus water dispersion and HMP dispersion. The soil suspension was wet-sieved with 200, 50 and 20 μm -sieves. The $>200 \mu\text{m}$ fraction was suspended in water in order to separate the floating material (light, L) from the heavy one (H) which settles. The accumulated soil mass (98.4-99.7%), N (87.4-99.4%) and C (91.4-96.2%) recoveries were high, but water dispersion presented the higher values. HMP presented more variability than water dispersion; but it dispersed the $>200 \mu\text{m}$ aggregates, allowing the recovery of the high amount of N and C accumulated in the smaller fractions, whereas the use of water did not disperse those aggregates appropriately. High N quantity was recovered in $<20 \mu\text{m}$ fraction, while the C was mainly accumulated in the 200-50 μm fraction. The $\delta^{13}\text{C}$ values in the smallest fraction were near to the original ones for soils developed under C3 and C4 plants mixture (-21.7‰) whereas the coarse light fraction ones were similar to those of C3 plants (-27.7‰). Considering these results, we conclude that the HMP dispersion method is suitable for the particle-size fractionation of the analyzed soil.

Key words. Mollisol, organic matter, particle-size fractionation.

INTRODUCCIÓN

La enorme complejidad de la materia orgánica (MO) y su importancia en la fertilidad del suelo han promovido gran cantidad de estudios orientados a conocer su na-

turalidad y relaciones con los procesos productivos en sistemas agrícolas. Los fraccionamientos de la MO del suelo basados en fracciones definidas físicamente se están utilizando intensamente para interpretar la dinámi-

ca de la MO del suelo ya que se ha comprobado que los fraccionamientos químicos tienen poco poder explicativo en estudios agronómicos. La baja utilidad de los fraccionamientos químicos se debe a que tanto los ácidos húmicos como los fúlvicos tienen tasas de reciclaje muy bajas (Anderson & Paul, 1984), por lo que no están involucrados en los procesos a corto plazo que determinan la productividad de un suelo. También se desconoce la importancia de esas fracciones en los grandes procesos del suelo, tales como la agregación y la mineralización de la MO (Feller & Beare, 1997). Es posible también que las extracciones ácidas y alcalinas usadas para separar ácidos húmicos y fúlvicos sean muy desnaturalizantes, resultando en extracciones de compuestos similares a partir de fracciones muy diferentes de MO.

Las asociaciones de la MO con los constituyentes minerales del suelo, principalmente arcillas, son muy importantes, ya que regulan la mineralización y el almacenamiento de MO (Greenland, 1965a, 1965b). Es reconocida la relación entre la dinámica de la MO con la textura y la estructura del suelo, por lo cual, conseguir una cuantificación de la MO ligada a las fracciones granulométricas, permite mejorar la comprensión sobre la estructura, reactividad química y fertilidad del suelo.

El principal objetivo metodológico de un fraccionamiento físico es alcanzar la máxima dispersión del suelo (separación de arena, limo y arcilla) con una mínima alteración de la MO asociada. Esta dispersión puede alcanzarse a través de agitación con agua o con dispersantes químicos (como hexametáfosfato de sodio, HMP, o resina sódica), a través de ultrasonido, o de una combinación de ambos métodos. Si bien la dispersión de los suelos por agitación con agua ha sido usada para aislar primariamente fracciones orgánico-minerales, éste método no aseguraría la completa desintegración de microagregados, principalmente en suelos con predominio de cationes bivalentes (Ca y Mg) y arcillas de tipo 2:1 como agentes cementantes. Tampoco se recomienda aplicar ultrasonido al suelo completo, ya que se ha demostrado que puede ocurrir liberación de componentes microbiales de la MO, los que se redistribuyen en tamaños menores y en la fracción soluble (Christensen, 1992). Además, se ha demostrado que pueden producirse rupturas de restos vegetales y transferencias desde la fracción gruesa a fracciones más finas (Balesdent *et al.*, 1991). Debido a estas particularidades, se recomienda someter a ultrasonido sólo los constituyentes minerales del suelo o los complejos orgánico-minerales ya separados, es decir, luego de dispersión y agitación.

La variable $\delta^{13}\text{C}$ es una expresión de la abundancia natural del isótopo ^{13}C en relación a un material de referencia del laboratorio calibrado contra un patrón inter-

nacional; se expresa en unidades por mil (‰) y se calcula de la siguiente forma:

$$\delta^{13}\text{C} = 1.000 \left(\frac{R_{\text{muestra}} - R_{\text{estándar}}}{R_{\text{estándar}}} \right)$$

en donde: R_{muestra} es la relación del isótopo pesado (^{13}C) al liviano (^{12}C) en la muestra y $R_{\text{estándar}}$ es la relación equivalente para el estándar (carbonato fósil *Bellemitella american* de la formación Peedee de Carolina del sur, USA, abreviado a PDB) (Boutton, 1996).

Durante el proceso de fotosíntesis existe una discriminación isotópica de las plantas al CO_2 , debida a las propiedades bioquímicas de las enzimas que fijan C y al proceso de difusión que controla el ingreso de CO_2 a las hojas. Esta discriminación es variable entre las plantas terrestres, que se agrupan en tres tipos de ciclos fotosintéticos (C3, C4 o CAM), y conduce a diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$, que son mucho mayores que los pequeños cambios que ocurren durante la descomposición de la MO en el suelo. Es por esta circunstancia que el C orgánico retiene la marcación de la vegetación que le dio origen, permitiendo conocer y datar cambios en la vegetación (Balesdent & Mariotti, 1996). Con la información de la composición isotópica inicial del suelo bajo vegetación nativa y después de un cambio de vegetación es posible calcular, a través de un modelo simple, la cantidad de C del suelo derivado de las dos fuentes vegetales, utilizando la siguiente ecuación (Balesdent *et al.*, 1988):

$$\% \text{COS}_o = \left[\frac{(\delta^{13}\text{C}_B - \delta^{13}\text{C}_A)}{(\delta^{13}\text{C}_o - \delta^{13}\text{C}_A)} \right] \times 100$$

donde, % COS_o es la proporción de C orgánico del suelo derivado de la vegetación nativa, que posee una marcación natural $\delta^{13}\text{C}_o$; $\delta^{13}\text{C}_A$ corresponde a la marcación natural de la vegetación actual; $\delta^{13}\text{C}_B$ representa la marcación natural del C del suelo bajo la nueva vegetación.

El objetivo del presente trabajo fue comprobar la calidad del fraccionamiento de la materia orgánica de un Molisol alcanzado a través del uso de AGUA y HMP como dispersantes y analizar la distribución del C y N y de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en las distintas fracciones separadas a fin de explorar su posible uso para conocer el origen de C del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras de un suelo ubicado sobre un complejo de suelos Paleudol Petrocálcico-Argiudol Típico que estuvo sometido a rotaciones agrícolas bajo labranza convencional (arado de rejas, rastra de discos) durante 17 años (desde 1976 a 1993) y en el cual en 1994 se instaló una pastura permanente compuesta por *Festuca arundinacea* Schreb. y *Trifolium repens* L. En diciembre de 2000 se tomaron tres muestras compuestas de suelo a una profundidad de 0-10 cm, se secaron al aire, se tamizaron por 2 mm y se almacenaron hasta su procesamiento. Algunas propiedades del suelo son: pH (relación suelo:H₂O 1:2,5) 6,3, CIC 33,1 cmol_c kg⁻¹, arcilla 265 g kg⁻¹, limo 337 g kg⁻¹, P extractable (Bray y Kurtz I) 22 mg kg⁻¹, C orgánico 27,1 g kg⁻¹, N orgánico 2,87 g kg⁻¹.

Para comprobar la calidad del fraccionamiento debida al agente dispersante, se compararon la distribución de la fracción mineral del suelo con la MO destruida por calentamiento con agua oxigenada (AGUAOX), que habitualmente se utiliza para análisis textural, vs. a) Dispersión en agua (AGUA) (30 g de suelo en 100 mL de agua desionizada) y b) Dispersión con HMP (30 g de suelo en 100 mL de HMP 0,5%). Pevio a la agitación, la suspensión de suelo se dejó en refrigerador por 16 h para favorecer la posterior ruptura de agregados durante la agitación como consecuencia de la contracción ocasionada por la baja temperatura. Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado, agitando la suspensión a 150 rpm 2 h con 3 perlas de vidrio de 10 mm de diámetro. Después de la agitación, la suspensión se tamizó por 200 y 50 µm y se lavó con pulverizador de gota fina con agua desionizada hasta que dejaron de pasar partículas y el líquido del lavado fue transparente. La fracción >200 µm fue separada en liviana (>200L) y pesada (>200P) por flotación en agua. El suelo que pasó por el tamiz de 50 µm fue sometido a ultrasonido durante 4 a 8 minutos. La duración del tratamiento fue regulada para alcanzar una dispersión adecuada (verificada por observación al microscopio óptico). Posteriormente, la suspensión fue tamizada por 20 µm,

lavada de igual forma que las otras fracciones y secada hasta peso constante a 60 °C en estufa con circulación de aire, pesada y molida. En cada fracción separada fue determinado C total (como las muestras no contenían CaCO₃, el C total se consideró equivalente al C orgánico), N total y δ¹³C en un espectrómetro de masas (Europa Scientific Ltd., Kewee, United Kingdom) acoplado a un analizador de C y N (Barrie & Prosser 1996).

Se realizaron análisis de regresión entre la fracción mineral del suelo con la MO destruida con AGUAOX y las correspondientes para el suelo dispersado con HMP y AGUA. Para las variables contenido de N, C, δ¹³C y %CO₂ de las fracciones dispersadas con HMP se realizaron análisis de variancia y pruebas de Tukey al nivel de probabilidad de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La destrucción de MO con AGUAOX para obtener las fracciones minerales en cada tamaño granulométrico no fue completamente efectiva, ya que se observa que en la fracción <20 µm quedaron pequeñas cantidades de C y N (Fig. 1). Es conocido que la materia orgánica que está formando microagregados con coloides inorgánicos está muy protegida y por esto fue menos oxidada. Aunque aún no se conoce el significado biológico de esta susceptibilidad a la oxidación con agua oxigenada (Van Veen & Kuikman, 1990), se considera que esta materia orgánica es altamente resistente al ataque de los microorganismos y, por lo tanto, su aporte de nutrientes por mineralización será pequeño. Asimismo, no es esperable que estas fracciones hayan sido alteradas por el manejo del suelo, por lo que igualmente se decidió utilizar los datos

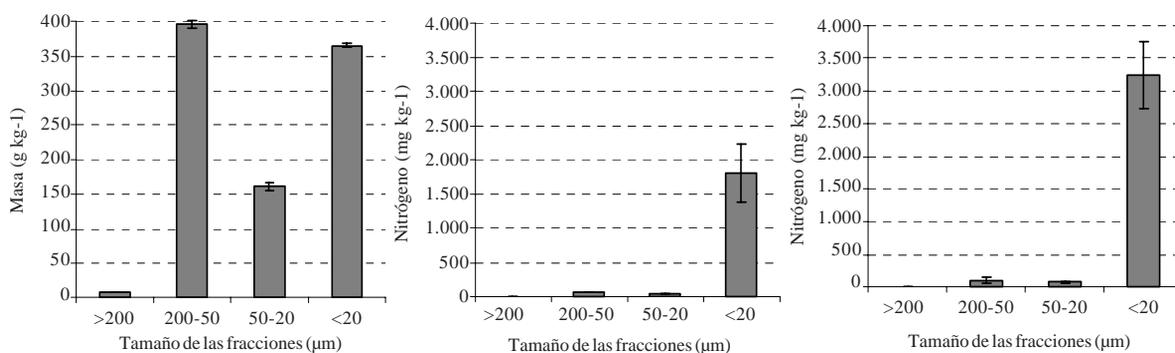


Figura 1. Distribución de la masa, nitrógeno y carbono total en las fracciones después de la oxidación de la materia orgánica con agua oxigenada (AGUAOX).

Figure 1. Soil mass, total carbon and nitrogen distributions in soil fractions after organic matter oxidation with hydrogen peroxide (AGUAOX).

de esta distribución granulométrica para verificar la eficiencia de recuperación de los métodos de fraccionamiento examinados.

Las recuperaciones acumuladas de masa de suelo, N y C estuvieron en el rango de lo generalmente aceptado, es decir, 97-102% para masa de la fracción y 90-110% para C y N (Gavinelli *et al.*, 1995), no obstante, el tratamiento dispersado en AGUA produjo las mayores recuperaciones (Tabla 1). El tratamiento con HMP tuvo mayor variabilidad que el tratamiento con AGUA, principalmente en los valores de C y N total. Esto podría relacionarse a

las bajas concentraciones de C y N en algunas fracciones separadas o aún a la posibilidad de pérdidas de N por volatilización de NH_3 originadas en el aumento de pH ocasionado por el HMP.

Al comparar la distribución de la masa de suelo disperso con AGUAOX vs. los dispersantes utilizados, se comprobó que con AGUA no se alcanzaron niveles adecuados de dispersión ya que en todas las fracciones, excepto en la de 50-20 mm, se observaron diferencias significativas en la distribución de la fracción mineral con respecto al suelo con la materia orgánica destruida (Fig. 2).

Tabla 1. Recuperación de masa de suelo, carbono y nitrógeno total en el suelo dispersado con agua (AGUA) y con hexametáfosfato de sodio (HMP). (Desvíos estándar para n=3).

Table 1. Soil mass, total carbon and nitrogen recoveries of soil dispersed with water (AGUA) and Na-hexametaphosphate (HMP). (Standard error for n=3).

	Masa de suelo %	Carbono total %	Nitrógeno total %
Suelo + AGUA	98,375 (0,096)	96,180 (3,338)	99,433 (2,898)
Suelo + HMP	99,705 (0,633)	91,424 (15,962)	87,356 (6,821)
Valores iniciales	30 g	788,850 mg (62,250)	71,125 mg (2,483)

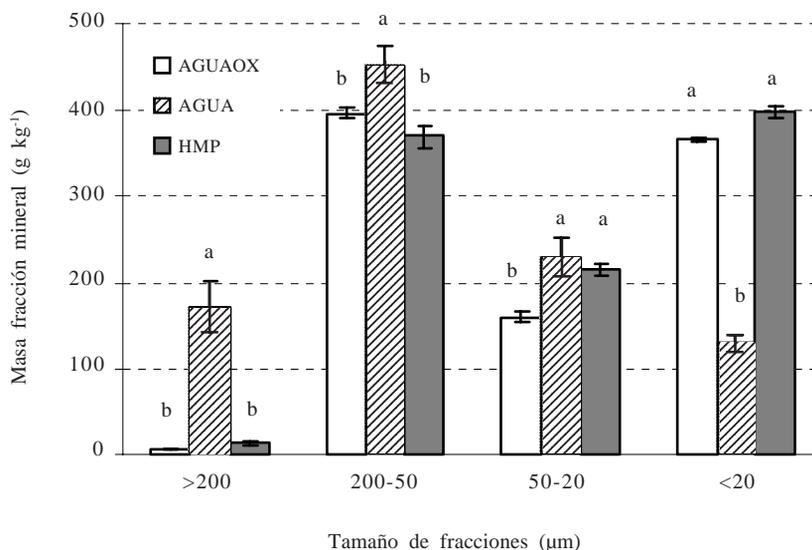


Figura 2. Distribución de la masa de la fracción mineral del suelo con la materia orgánica destruida (AGUAOX), y los dispersos con AGUA y hexametáfosfato de sodio (HMP). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), para cada tamaño de fracción.

Figure 2. Mass distribution of the mineral fraction of soil with oxidized organic matter (AGUAOX) and soils dispersed with water (AGUA) and with sodium hexametaphosphate (HMP). Small letters indicate statistical differences between treatments ($p < 0,05$), within each size fraction.

Con AGUA como dispersante, se observó que una gran masa de suelo de las fracciones >200, 200-50 y 50-20 μm no fue dispersada, por lo que se encontraron mayores masas en comparación con el suelo con la MO destruida con AGUAOX, mientras que la fracción <20 μm fue subestimada, ya que parte de ella quedó formando agregados de mayor tamaño. El HMP consiguió dispersar adecuadamente los agregados, lo que se comprueba a través de la relación de masas de la fracción mineral con este método y la de aquél con la MO destruida con AGUAOX ($r^2=0,9559$) (Fig. 3), y se traduce en ausencia de diferencias entre las fracciones minerales de estos dos tratamientos (Fig. 2).

Al analizar la distribución de C y N en las fracciones del suelo dispersado con HMP, se observó una gran cantidad de C y N en las fracciones de menor tamaño. El 72% del N se encontró en la fracción <20 μm , en cuanto que el C se acumuló también en la fracción entre 200-50 μm (Fig. 4). En la fracción <20 μm se encuentra tanto MO

asociada a los limos (2 a 20 μm), como MO asociada a las arcillas (<2 μm), las cuales presentan diferentes tasas de mineralización y también de estabilización de los productos de descomposición. En general, se considera que para suelos templados, la fracción asociada a las arcillas posee tasas de mineralización mayores que la asociada a los limos (Christensen, 1992) y, que la velocidad de incorporación de C y N a la MO asociada a arcillas, es mayor que la de aquella asociada a limos. El hecho que en estos suelos se hayan cuantificado bajas tasas de mineralización bruta (Videla *et al.*, 2005), asociado a la gran cantidad de N en la fracción <20 μm puede conducir a suponer que una parte importante de esta MO está ligada a fracciones de tamaño limo, hipótesis que debiera validarse en el futuro separando la fracción correspondiente al tamaño arcillas (<2 μm).

Para el suelo disperso con HMP se encontraron $\delta^{13}\text{C}$ próximos a -20‰ en la fracción <20 μm y de -27‰ en la fracción más gruesa. El $\delta^{13}\text{C}$ de la fracción <20 μm es

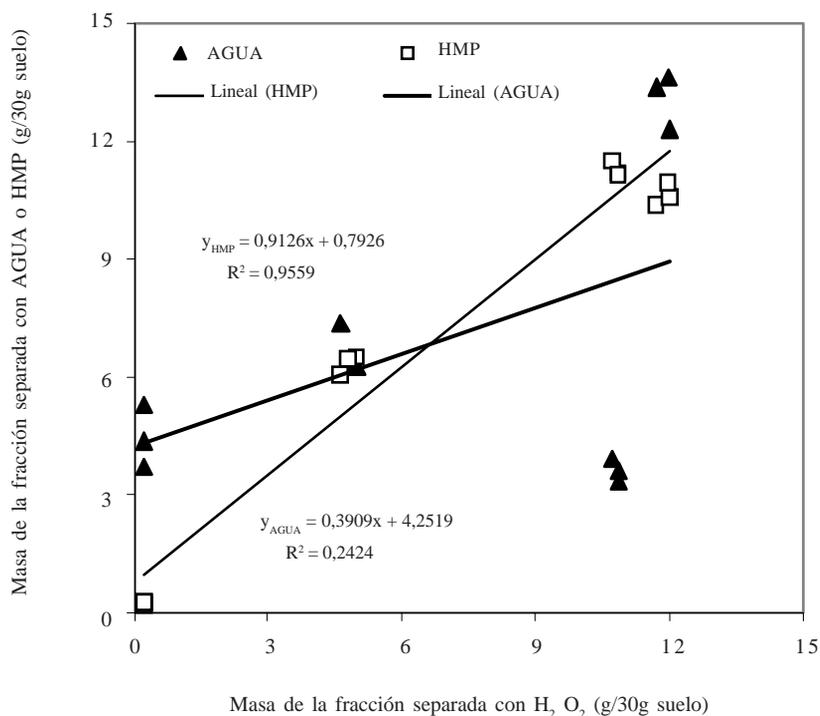
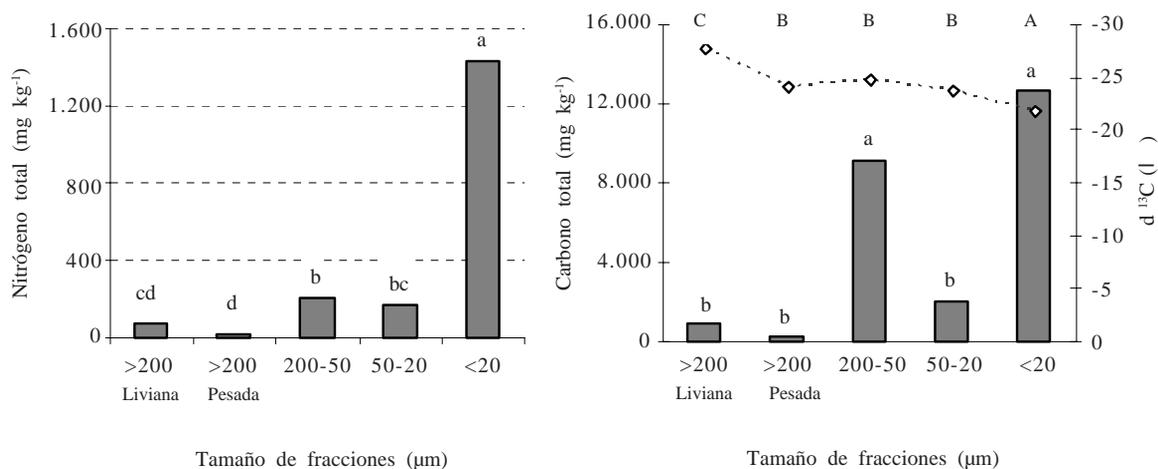


Figura 3. Ecuaciones de ajuste y coeficientes de regresión entre la distribución de la fracción mineral del suelo con la materia orgánica destruida con agua oxigenada (AGUAOX) y los agentes dispersantes AGUA y hexametáfosfato de sodio (HMP).

Figure 3. Adjustment equations and regression coefficients between mineral fraction distribution of soil with organic matter oxidized by hydrogen peroxide (AGUAOX) and dispersant agents water (AGUA) and Na-hexametaphosphate (HMP).



Las letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre fracciones para C y N y las letras mayúsculas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre fracciones para $\delta^{13}\text{C}$.

Small letters indicate statistical differences between fractions ($p < 0,05$), for C and N and capital letters indicate statistical differences between fractions ($p < 0,05$), for $\delta^{13}\text{C}$.

Figura 4. Distribución del nitrógeno, carbono y $\delta^{13}\text{C}$ en las fracciones del suelo dispersado con hexametáfosfato de sodio (HMP).
Figure 4. Nitrogen, carbon and $\delta^{13}\text{C}$ distributions in soil fractions dispersed with Na-hexametaphosphate (HMP).

similar a los valores característicos de estos suelos en la condición original, ya que fueron desarrollados bajo una vegetación de pradera mezcla de especies C_3 y C_4 (Andriulo *et al.*, 1999). La disminución de $\delta^{13}\text{C}$ con el aumento del tamaño de las fracciones, es un reflejo de la historia agrícola del suelo, con la inclusión de una mayor proporción de cultivos de especies de metabolismo C_3 como papa (*Solanum tuberosa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) y avena-vicia (*Avena sativa* L., *Vicia sativa* L.) y pasturas de trébol blanco y raigrás, las que discriminan en contra del $^{13}\text{CO}_2$ (Boutton, 1996). Esta historia agrícola se manifiesta también en el $\% \text{COS}_o$, que fue calculado en 3,9, 20,2, 41,2 y 67% para las fracciones >200L, 200-50, 50-20 y >20 μm, respectivamente.

En base a los resultados anteriores se puede concluir que el método de dispersión con HMP es adecuado para el fraccionamiento granulométrico del suelo analizado, ya que los niveles de recuperación de masa, C y N se encontraron dentro del rango aceptable y la distribución de fracción mineral mostró buena correlación con la distribución del suelo con MO destruida con AGUAOX.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Christian Feller (CENA-USP y CIRAD-CA-GEC) por las sugerencias sobre la técnica de fraccionamiento y a la Sra. Sandra Nicoletti (Lab. de Biogeoquímica CENA-USP) por su colaboración en el fraccionamiento granulométrico. Este trabajo fue financiado con fondos de los proyectos UNMdP (15/A107) y Fundación Antorchas-Vitãe (13816-5). La primera autora fue becaria del convenio CAPES (Brasil) – SPU (Argentina), período 2002-2004.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, DW & EA Paul. 1984. Organo-mineral complexes and their study by radiocarbon dating. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 298-301.
- Andriulo, A; B Mary & J Guerif. 1999. Modelling soil carbon dynamics with various cropping sequences on the rolling pampas. *Agronomie* 19: 365-377.

- Balesdent, J & A Mariotti. 1996. Measurement of soil organic matter turnover using ^{13}C natural abundance (pp. 83-111). In: TW Boutton & S-I Yamasaki (eds). Mass spectrometry of soils. New York: Marcel Dekker, cap. 3, pp. 83-111.
- Balesdent, J; GH Wagner & A Mariotti. 1988. Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 52: 118-124.
- Balesdent, J ; JP Perraud & C Feller. 1991. Effets des ultrasons sur le distribution granulométrique des matières organiques des sols. *Sci. do Sol* 29: 95-106.
- Barrie, A & SJ Prosser. 1996. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: Boutton TW Yamasaki S (eds). Mass spectrometry of soils. New York: Marcel Dekker, cap. 1, pp. 1-46.
- Boutton, TW. 1996. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: TW Boutton & S-I Yamasaki (eds). Mass spectrometry of soils. New York: Marcel Dekker, cap. 2, pp 47-82.
- Christensen, BT. 1992. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Adv. in Soil Sci.* 20: 1-90.
- Edwards, AP & JM Bremner. 1967. Microaggregates in soils. *J. Soil Sci.* 18: 64-73.
- Feller, C & MH Beare. 1997. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma* 79: 69-116.
- Gavinelli, E; C Feller; MC Larreé-Larrouy; B Bacye; N Djegui & JD Nzila. 1995. A routine method to study soil organic matter by particle-size fractionation: examples for tropical soils. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 26: 1749-1760.
- Greenland, DJ. 1965a. Interaction between clays and organic compounds in soils. Part I. Mechanisms of interaction between clays and defined organic compounds. *Soil. Fert.* 28: 415-425.
- Greenland, DJ. 1965b. Interaction between clays and organic compounds in soils. Part II. Adsorption of soil organic compounds and this effect on soil properties. *Soils Fert.* 28: 521-532.
- Van Veen, JA & PJ Kuikman. 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeochemistry* 11: 213-233.
- Videla, C; A Pazos; PCO Trivelin; HE Echeverría & GA Studdert. 2005. Mineralización bruta de nitrógeno bajo labranza convencional, siembra directa y pastura. *Ciencia del Suelo* 23(2): 133-144.