



FACULTAD DE AGRONOMÍA - U.B.A.

Tesina de Grado

**EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN Y LA INOCULACIÓN
CON *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* EN UN CULTIVO DE
SOJA (*GLYCINE MAX L.*) SOBRE UN ARGIUDOL TÍPICO**

TESISTA:
CIAMPITTI, IGNACIO A.

DIRECTORA:
CONTI, MARTA E. (FAUBA)

CONSEJERO:
CIARLO, ESTEBAN A. (FAUBA)

Diciembre 2005

1- RESUMEN

El óxido nitroso, N₂O, es un constituyente importante de la atmósfera porque absorbe radiación infrarroja y, por lo tanto contribuye al efecto invernadero. Es producido en el suelo a través de los procesos de nitrificación y denitrificación. En un estudio a campo, llevado a cabo sobre un Argiudol típico en la Facultad de Agronomía (UBA), se evaluó el efecto de distintos niveles de fertilización y de la presencia de plantas inoculadas con *Bradyrhizobium japonicum* y no inoculadas, de un cultivo de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], sobre las emisiones de óxido nitroso, con el propósito de analizar la influencia de las distintas prácticas de manejo y de los distintos controles biológicos y no biológicos. Los gases se extrajeron de cilindros de PVC enterrados y la lectura se realizó con cromatografía gaseosa. Las emisiones presentaron valores crecientes desde la siembra hacia madurez fisiológica del cultivo, para todos los tratamientos; este comportamiento fue concomitante con la evolución presentada por los nitratos. La fertilización nitrogenada aumentó significativamente ($P < 0.05$) las emisiones y la variable inoculación solo presentó efectos ligeros con el mayor nivel de fertilización ($P = 0.09$). Los valores más elevados de óxido nitroso se observaron en los tratamientos fertilizados con mayor dosis e inoculados. La variable que mejor explicó las emisiones acumuladas es el nivel promedio de nitratos del suelo ($r^2 = 0.1899$; $P = 0.0231$). Las variables carbono soluble ($r^2 = 0.2593$; $P = 0.0067$) y humedad ($r^2 = 0.2392$; $P = 0.0394$) sólo presentaron asociación con las emisiones durante el período de descomposición de residuos. Las emisiones durante el período de descomposición de rastrojos se explicó por el modelo de regresión múltiple, $N_2O = 12,75 + 0,25 * HUMEDAD + 0,03 * C SOL$ ($P = 0.046$). El análisis multivariado realiza un ordenamiento entre las variables que presentan un alto grado de correlación y permite evaluar la complejidad de las variables reguladoras de las emisiones.

Palabras clave: Denitrificación, nitrificación, gas de efecto invernadero, nitrógeno.

2- INTRODUCCIÓN

2.1- Planteo del problema y revisión de antecedentes

El óxido nitroso, N₂O, es un constituyente importante de la atmósfera porque absorbe radiación infrarroja y, por lo tanto contribuye al efecto invernadero. La concentración original de N₂O en la atmósfera, cuando no existía la influencia antrópica, era de 275 ppb (Bøckman y Olf, 1998). La concentración atmosférica en la actualidad de óxido nitroso es de alrededor de 310 ppb y está aumentando a un ritmo de 0,6-0,9 ppb (0,25%) por año y su vida media es de 166 ± 16 años (Kaiser et al., 1998). El potencial de calentamiento global de cada molécula de óxido nitroso es de alrededor de 250 veces mayor que cada molécula de CO₂. El óxido nitroso actualmente es responsable del 5% del calentamiento global y podría llegar hasta valores a 10% en el futuro (Mosier, 1998). El óxido nitroso no se pierde en la tropósfera: el único mecanismo significativo de eliminación del óxido nitroso atmosférico es el transporte hacia la estratosfera donde es fotolíticamente oxidado a óxido nítrico el cual reacciona con el ozono estratosférico, destruyéndolo. El óxido nitroso es la principal fuente del óxido nítrico estratosférico. Ha sido estimado que duplicar la cantidad de óxido nitroso atmosférico resultaría en una disminución del 10% en la capa de ozono (Chang et al., 1998).

Debido a que el 70% del óxido nitroso emitido desde la biosfera deriva del suelo, se asume que cambios en el ciclo del nitrógeno en los suelos han influenciado en los aumentos en óxido nitroso atmosférico durante el siglo pasado (Mosier et al., 1996). El óxido nitroso es producido en el suelo, a través de los procesos de nitrificación y denitrificación del nitrógeno

adicionada al suelo, movilizado por intensas fertilizaciones nitrogenadas en cultivos agrícolas (Rochette, 2004). La agricultura es considerada responsable de aproximadamente, el 20-70% del óxido nitroso antropogénico, que es liberado a la atmósfera (Marinho et al., 2004). Se proyecta que el uso de fertilizantes y la fijación biológica continuarán aumentando durante los próximos 100 años (Mosier et al., 1996). Se ha estimado que alrededor de 1,5 Tg de nitrógeno son inyectados directamente a la atmósfera cada año como óxido nitroso como resultado de aplicaciones de fertilizantes a ecosistemas agrícolas, sin tener en cuenta los abonos animales ni la fijación biológica de nitrógeno (Watson, 1992). Esto representa acerca del 44% de los inputs antropogénicos y alrededor del 13% de los inputs totales hacia la atmósfera. En el año 1997 la mayor fuente de óxido nitroso en los Estados Unidos fue el uso de fertilizantes nitrogenados (EIA, 1998).

2.1.1- Disponibilidad de nitrógeno mineral y producción de óxido nitroso

Varios parámetros fueron identificados que afectan la tasa de producción de óxido nitroso a partir de los sistemas agrícolas, incluyendo la disponibilidad de nitrógeno (Bouwman, 1996; Brown et al., 2000; Maggiotto et al., 2000), temperatura (Goodroad y Keeney, 1984; Castaldi, 2000), pH (Daum y Schenk, 1998; Mogge et al., 1999) y contenido hídrico del suelo (Dobbie et al., 1999; Zheng et al., 2000). Mosier et al., (1996) declaran que las condiciones que favorecen la producción de óxido nitroso son un alto-medio nivel de humedad, que limite la difusión de oxígeno, alta disponibilidad de nitrógeno mineral y alta disponibilidad de carbono orgánico.

La acumulación de nitratos puede influir en las emisiones de óxido nitroso. Los nitratos son el principal sustrato de la denitrificación, proceso responsable de la mayor parte

de las emisiones de óxido nitroso. Es probable que bajas concentraciones de nitratos estimulen la reducción del óxido nitroso a dinitrógeno (Gaskell et al., 1981; Bandibas et al., 1994). A medida que aumenta el porcentaje de nitratos que se pierden por denitrificación, o sea a medida que el suelo se va quedando sin nitratos, el dinitrógeno pasa a ser el principal gas producido (Weier et al., 1993; Stevens y Laughlin, 1998). Schlegel (1992) explica este fenómeno concluyendo que los nitratos son preferidos con respecto al óxido nitroso como aceptor de electrones. Bremner (1997) concluye que bajas concentraciones de nitratos pueden retardar la reducción de óxido nitroso a dinitrógeno, mientras que altas concentraciones inhibirían casi completamente este proceso, y que el efecto inhibitorio de los nitratos en la reducción del óxido nitroso se acentúa marcadamente con disminuciones en el pH, coincidiendo con otros autores (Stevens y Laughlin, 1998).

Los suelos fertilizados son contribuyentes substanciales de las emisiones de óxido nitroso a la atmósfera y son la única fuente atmosférica biogénica de óxido nitroso que puede ser rápidamente manipulada (Skiba et al., 1993). El aumento en las emisiones de óxido nitroso desde suelos agrícolas durante las últimas décadas ha sido relacionado al incremento en la aplicación de fertilizante nitrogenado a estos suelos (Mosier et al., 1996). Se proyecta que el uso de fertilizantes nitrogenados va a continuar durante los próximos 100 años (Hammond, 1990). Una gran parte de este incremento es necesaria para continuar con la producción global de alimentos para satisfacer las necesidades de una población en rápida expansión, ya que la producción de los cultivos puede ser relacionada directamente con el uso de fertilizantes nitrogenados. En consecuencia aumentos permanentes en la eficiencia de uso del fertilizante son más que deseables, especialmente en sistemas agrícolas de alto rendimiento, que representan los sistemas agrícolas que producen la mayor parte de los alimentos a nivel

global, y que se caracterizan por el uso intensivo de agroquímicos (fertilizantes y pesticidas), de maquinaria, irrigación, variedades e híbridos de cultivos de cereales de alto rendimiento y otras herramientas (Simek y Cooper, 2001). Aproximadamente se aplica a los fertilizantes un factor de emisión de óxido nitroso de 1,25 (Stevens y Laughlin, 2001).

El peligro de contaminación por el uso desmedido e inadecuado de fertilizantes exige conocer las relaciones entre la disponibilidad de nutrientes y sus mecanismos de pérdida y transformación en el sistema suelo-planta en distintas situaciones ambientales. Estos aspectos son muy importantes en sistemas agrícolas con imagen tradicionalmente “limpia”, como el caso de Argentina (Giuffré et al., 1997b). En teoría, un mejoramiento en la eficiencia del uso de los fertilizantes usados debería disminuir los perjuicios ambientales generados por ellos; sin embargo este ítem está poco desarrollado y requiere estudios a campo, para poder medir los posibles beneficios (Bøckman y Olf, 1998).

2.1.2- Influencia de la descomposición de los residuos de un cultivo en las emisiones

La presencia de un cultivo puede afectar de distintas maneras los niveles de emisión de óxido de nitroso de un suelo. Las plantas por un lado remueven agua y nitratos, reduciendo las emisiones de óxido nitroso, pero aportando carbono soluble y reduciendo la concentración de oxígeno rizosférica. La mayoría de los estudios publicados no son continuos y se basan en la estación de crecimiento de los cultivos. Mientras que el período de crecimiento está caracterizado predominantemente por la fertilización nitrogenada y un intenso crecimiento vegetal, el período de barbecho está principalmente influenciado por la mineralización de los residuos incorporados. Kaiser et al. (1998) encontraron valores similares de emisión de óxido nitroso durante el período vegetativo y en el barbecho, aunque en este último período los

niveles de agua edáficos fueron significativamente mayores.

La relación C/N de los residuos se encuentra inversamente relacionada con la tasa inicial de descomposición del mismo, por lo tanto los cultivos de baja relación C/N, como la soja, presentan tasas de descomposición altas, que liberan una gran cantidad de nitratos, incrementando los niveles de óxido nitroso emitidos (Aulakh, 1991).

2.1.3- Factores de Manejo y las emisiones de óxido nitroso

Los distintos usos y prácticas de manejo agrícola afectan los niveles de producción de óxido de nitroso, a través del cambio en los parámetros que regulan este tipo de pérdidas de N. Los sistemas agrícolas de alto rendimiento se basan en altos inputs de agroquímicos. La producción con híbridos y variedades de alto rendimiento induce al uso de fertilizantes en forma continua y masiva, fundamentalmente de nitrógeno y fósforo, pudiendo producir cambios en la naturaleza de los suelos y riesgo de contaminación ambiental por lixiviación, emisiones gaseosas o elevación de concentración de sales de suelos y capas freáticas.

La introducción de leguminosas al sistema agrícola, puede incrementar la producción de alimentos y la fijación biológica de nitrógeno, pero contribuye a la emisión de óxido nitroso de numerosas maneras (Yang y Cai, 2005). La fijación biológica de nitrógeno por las leguminosas, puede contribuir a la producción de óxido nitroso en el suelo, de la misma manera que la fertilización nitrogenada, a través de los procesos de nitrificación y denitrificación.

El cultivo de soja [(*Glycine max* L.) Merrill] es uno de los componentes más importantes de los sistemas agrícolas de Argentina, totalizando 15 millones de hectáreas de superficie ocupada y con una producción de 36.5 millones de toneladas (INDEC, 2004). La

bacteria *Bradyrhizobium japonicum* se asocia al cultivo a través de nódulos radicales, incorporando nitrógeno atmosférico al suelo, y siendo los mismos capaces de denitrificar y producir óxido nitroso (Mosier, 1996). Duxbury et al. (1982) sugieren que las leguminosas pueden incrementar las emisiones de óxido nitroso, de dos a tres veces más, comparado con campos sin fertilizar.

El análisis multivariado es una técnica estadística que constituye una herramienta poderosa para la investigación y simplificación de estructuras de datos complejas (Legendre y Legendre, 1998). El análisis multivariado puede ser considerado muy importante para la evaluación de la complejidad de las variables reguladoras de las emisiones durante el ciclo de un cultivo. La investigación de los niveles de emisiones de gases nitrogenados derivados de los procesos biológicos del suelo, requiere no sólo de aspectos biológicos, sino que los parámetros químicos sean considerados ambos de manera simultánea. El análisis de conglomerados permite agrupar los diferentes tratamientos descriptos por un conjunto de valores de varias variables. Esta técnica permite reunir unidades de estudio cuya similitud es máxima bajo algún criterio y diferenciar entre variables que no presentan grado de similitud. El análisis de componentes principales permite analizar la interdependencia de variables y encontrar una representación gráfica óptima de la variabilidad de los datos, donde pueden visualizarse tanto tratamientos como variables, a fin de estudiar la asociación existente entre ellas. Este análisis, permite encontrar un nuevo conjunto de variables (componentes principales) no correlacionadas que expliquen la estructura de la variación de los datos, con la menor pérdida de información posible. Esta nueva combinación intenta maximizar las diferencias entre los tratamientos, de modo que su correcta interpretación a través de los valores asignados a cada variable en la componente principal, puede aportar valiosa

información acerca de la sensibilidad de las variables para actuar como potenciales reguladores de las emisiones de óxido nitroso.

Actualmente existe un escaso conocimiento de las emisiones de óxido de nitroso a partir de cultivos agrícolas, más precisamente del cultivo de la soja. Las emisiones de óxido de nitroso, pueden incrementarse debido a la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno y la utilización de los fertilizantes, prácticas normales en el cultivo de soja. El objetivo de este proyecto de tesina de grado, es cuantificar el efecto de la fertilización e inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* sobre las emisiones de óxido nitroso, bajo distintas condiciones de manejo y analizar los distintos controles biológicos y no biológicos sobre las emisiones absolutas de este gas en un suelo argiudol típico durante el ciclo de cultivo de soja.

2.2- Significado-Justificación

Un nuevo énfasis en aspectos ambientales con respecto al nitrógeno ha provocado cambios en las actividades de investigación en los últimos años. En primera instancia ha aumentado la importancia dada a la medición de pérdidas bajo determinadas circunstancias de modo que algunas cuantificaciones preliminares de impacto ambiental pudieran ser hechas. Se advierte la necesidad de generar “presupuestos” ambientales de emisiones de gases nitrogenados especialmente el óxido nitroso, nocivo para el medio ambiente.

El conocimiento de las transformaciones y pérdidas de los principales elementos como consecuencia de las elevadas fertilizaciones requeridas por los cultivos de alto potencial genético, permitirá maximizar la eficiencia de recuperación del fertilizante incorporado en los residuos y disminuir los riesgos de perjuicio ambiental.

La superficie cultivada en el país ha tenido un aumento progresivo durante los últimos

años, y específicamente el cultivo de soja es el que participa en mayor proporción del área cultivada. La información sobre este cultivo es somera, y sobre todo de cual es el efecto sobre el ciclo del nitrógeno y más precisamente las pérdidas a través de emisiones de óxido nitroso, perjudiciales para la atmósfera.

Desde diversos ámbitos, existe una demanda creciente de información relativa al impacto de las modernas prácticas agrícolas sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos.

Los conocimientos adquiridos serán de utilidad tanto en los sectores productivos, gubernamentales y privados, ya que aportará herramientas de apoyo a la toma de decisiones y fijación de políticas de fertilización.

2.3- Objetivos e hipótesis del trabajo

Objetivos

Objetivo general

- Analizar la influencia de distintos factores biológicos y no biológicos, y el cultivo, incluyendo sus estados fenológicos, sobre las emisiones de óxido nitroso, en suelos pertenecientes a sistemas agrícolas.

Objetivos específicos

- Determinar los efectos de la presencia de un cultivo de soja, sobre la emisión de óxido nitroso desde el suelo.
- Relacionar los diferentes momentos ontogénicos de dicho cultivo con las emisiones de óxido nitroso.
- Determinar la magnitud de los efectos de la inoculación del cultivo de soja,

sobre la producción de óxido nitroso.

- Determinar los efectos de la fertilización nitrogenada y su interacción con el proceso de fijación biológica de nitrógeno sobre las emisiones de óxido nitroso, en un suelo Argiudol típico de la Región Pampeana.
- Determinar los efectos de la descomposición de residuos ricos en compuestos nitrogenados sobre las pérdidas gaseosas de nitrógeno del suelo por emisiones de óxido nitroso.

Hipótesis

I. Presencia de plantas y emisiones de óxido nitroso

- La presencia de plantas disminuye los niveles medios de nitratos y el contenido de agua del suelo, lo que lleva a una reducción en las emisiones de óxido nitroso.

II. Estados Ontogénicos del cultivo de Soja y emisiones de óxido de nitroso

- Durante los distintos estados fenológicos del cultivo de soja, la disponibilidad de nitrógeno mineral es variable y por lo tanto se encuentran variaciones en las emisiones de óxido de nitroso.

III. Inoculación del Cultivo de Soja y emisiones de óxido de nitroso

- La inoculación del cultivo de soja aumenta los niveles de nitrógeno mineral significativamente sólo en el período de descomposición del rastrojo, por lo cual existirá efecto de interacción entre las variables inoculación y tiempo, sobre los niveles de producción de óxido nitroso.

IV. Fertilización nitrogenada y emisiones de óxido nitroso

- En condiciones de campo la aplicación a la siembra de un cultivo de soja, de

fertilizante nitrogenado aumenta los niveles medios de nitratos edáficos y por lo tanto aumentan los niveles de producción de óxido nitroso.

V. Descomposición de rastrojos y emisiones de óxido nitroso

- La incorporación de altas cantidades de rastrojos aumenta las pérdidas edáficas de nitrógeno gaseoso (óxido nitroso) a través de una mayor incorporación de nitrógeno y carbono respirable, con respecto a suelos a los que se les incorpora menores cantidades de residuos.

3- MATERIALES Y METODOS

Se intentará corroborar las hipótesis en un experimento. El experimento relacionado a las emisiones de gases nitrogenadas, se realizará teniendo en cuenta las siguientes variables: a) el efecto de los distintos momentos fenológico del cultivo b) la inoculación del cultivo de soja c) los efectos de la fertilización, y d) la descomposición de rastrojos.

3.1- Diseño experimental general

3.1.1- Ubicación del experimento

Se realizó un experimento en condiciones de campo, en un suelo Argiudol típico correspondiente al predio experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Al momento inicial del ensayo el suelo presentó valores de $N-NO_3^- = 4.08 \text{ mg kg}^{-1}$ (Carole & Scarigelli, 1971); % Cox= 2.15 (Walkley & Black, Nelson & Sommers, 1982); %Nt= 0.20 (Kjeldahl); %HE 23.15; pH en una relación suelo-agua 1:2,5=6.8 (Thomas,

1996) y $P_{ext} = 89 \text{ mg kg}^{-1}$ (Bray & Kurtz, 1945). El predio se dividió en parcelas de 2m x 2m, constituyendo las mismas las unidades experimentales y que se asignaron aleatoriamente a los tratamientos específicos, descritos en el siguiente punto.

3.1.2- Diseño experimental general

El esquema básico de los tratamientos es un diseño completamente aleatorizado (DCA), con arreglo factorial completo de tres por tres (3x3), con los factores inoculación (presencia o ausencia de plantas) y fertilización (Figura 1):

Niveles de la Inoculación

- Sin cultivo (Control). (**P0**)
- Cultivo de Soja, inoculado. (**Pi**)
- Cultivo de Soja, no inoculado. (**Pni**)

En los tratamientos con cultivo (**Pi** y **Pni**), se sembró una soja de segunda, transgénica con el gen RR (Resistencia a Glifosato), perteneciente a la marca comercial “Don Mario” cultivar 4800 (Grupo de Madurez IV, hábito de crecimiento Indeterminado), el 28 de diciembre de 2004, y se cosechó en forma manual el 3 de mayo de 2005, a los 126 días desde la siembra. Las malezas en todas las parcelas fueron controladas con aplicaciones semanales o mensuales del herbicida glifosato. Se realizó a Floración (R1) un conteo de nódulos en las raíces principales y secundarias, para determinar el éxito de la inoculación.

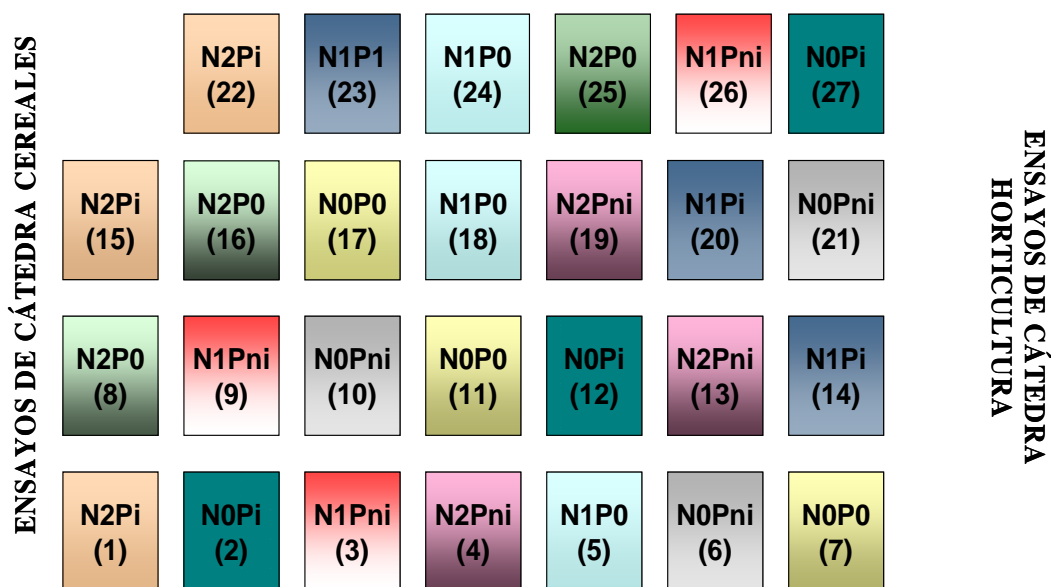
Niveles de fertilización

- Sin fertilización (**N₀**)
- Fertilización de nitrógeno como arrancador (15 kg N ha^{-1} .) en forma de urea líquida. Esta

cantidad se aplica por única vez al inicio del experimento (N_1).

- Fertilización de nitrógeno como arrancador (30 kg N ha^{-1}) en forma de urea líquida. Esta cantidad se aplica por única vez al inicio del experimento (N_2).

Figura 1. Diseño Experimental



- N0**- No Fertilizado
- N1**- Fertilización con 15 kg. N
- N2**- Fertilización con 30 kg. N
- P0**- Sin Plantas
- Pni**- Con plantas, no inoculadas
- Pi**- Con plantas, inoculadas

3.2- Medición de emisiones de Oxido Nitroso (N_2O)

Para la realización de las mediciones de óxido nitroso, se utilizó el método de “Cámara Cerrada Estática”, mediante cilindros de PVC de 15 cm de largo y 11 cm de diámetro interno (Khera et al, 1999). La parte superior del cilindro se cerró herméticamente con una tapa a

rosca, donde se ubicó un septum de goma a través del cual se extrajeron las muestras gaseosas de la atmósfera interna con una jeringa (Figura 2). Los cilindros se enterraron 8 centímetros en el suelo y se sellaron cuidadosamente para impedir la pérdida gaseosa al exterior. Cada medición involucró un día de acumulación de gases en los cilindros. Tres muestras gaseosas adicionales de la atmósfera fueron agregadas para ser usados como blancos para el análisis de gas. Una vez tomadas las muestras, éstas fueron transportadas inmediatamente al laboratorio para ser leídas con cromatografía gaseosa. Las determinaciones se realizaron en Cromatógrafo Gaseoso Agilent 6890 y detector ECD, con columna capilar Carboxplot, usando como carrier gas helio; las temperaturas de trabajo fueron de 100°C para el horno e inyector y de 250°C para el detector.

El experimento abarcó todo el ciclo del cultivo de soja, desde el día 28 de diciembre de 2004 hasta el día 3 de mayo de 2005 y su posterior descomposición de rastrojos durante un período de tiempo de 80 días. Las muestras de gases fueron tomadas con intervalos de dos semanas entre muestreos durante el ciclo del cultivo. Los momentos de muestreo se correspondieron con los siguientes estadios fenológicos del cultivo: Siembra (S), un nudo (V1), tres nudos desarrollados (V3), floración (R1), Comienzo de Formación de vainas-Fructificación (R3), Llenado de Granos (R5.5), Máximo tamaño del grano (R6.5), Madurez fisiológica (R8), 17 días después de Cosecha-Madurez Comercial (MC), 59 días después de cosecha-Presencia de Rastrojos (R) y 80 días posteriores a la cosecha- Descomposición de Residuos (DR). En caso de producirse precipitaciones, la frecuencia de muestreo fue alterada debido a que el cronograma de muestreo debe incluir estos eventos para obtener medidas confiables (Sexstone et al., 1985).

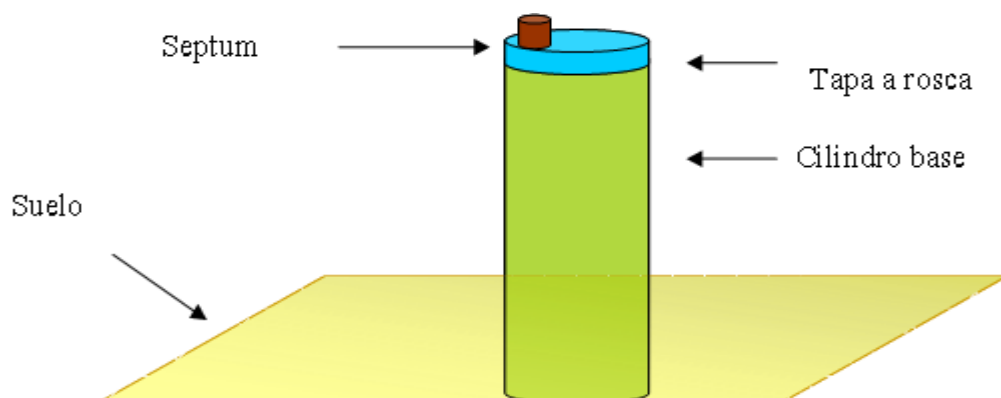


Figura 2. Esquema del cilindro para la extracción de muestras gaseosas.

3.3- Pretratamientos y determinaciones químicas

Paralelamente, se extrajeron muestras de las parcelas en los mismos días en que se realizaron las determinaciones de emisiones de óxido nitroso para los distintos tratamientos. Dichas muestras fueron sometidas a los pretratamientos de secado a 40 °C, tamizado por tamiz de 0,2 milímetros. Excepto para la técnica de humedad gravimétrica, y para la determinación de nitratos, este método no requiere secado ni tamización. Las muestras fueron sometidas a las siguientes determinaciones básicas:

- pH suelo:agua 1:2,5 (Thomas, 1996)
- Carbono orgánico total (Nelson & Sommers, 1982)
- Carbono orgánico soluble (Mazzarino et al, 1993)
- Humedad gravimétrica.
- Nitratos (Carole & Scarigelli, 1971)

3.4- Análisis estadísticos

Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento. Se estudió el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianza, y normalidad de las emisiones, Log-transformándolas cuando no cumplieron con este último supuesto. Los análisis de los datos de las emisiones gaseosas acumuladas totales, se realizaron mediante análisis de varianza estándar de dos vías, con procedimientos lineales generales (PROC GLM) del Paquete Estadístico SAS (SAS Institute, 1999), con posterior separación de tratamientos por test de comparaciones múltiples según DUNCAN. Se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) con el test Wilks Lambda del programa *Infostat* (2002), para determinar el efecto de los factores involucrados en el experimento sobre las emisiones de N₂O generales. Se efectuaron análisis de regresión entre las emisiones acumuladas totales y los valores de las variables edáficas medidas, a través del procedimiento PROC REG del SAS. También se realizó un análisis de regresión lineal múltiple (*Infostat*, 2002) para las variables que explican en mayor medida la variabilidad de las emisiones de óxido nitroso durante la descomposición de los residuos. Se realizaron pruebas de análisis de conglomerados y de componentes principales (PCA) con el programa *Infostat* (2002). Para lograr mayor comprensión de la separación por conglomerados de las observaciones, es aconsejable realizar un análisis de componentes principales. Este análisis permite visualizar en un mismo gráfico observaciones y variables, para identificar asociaciones entre observaciones, entre variables, y entre observaciones y variables en un mismo espacio.

4- RESULTADOS

4.1- Evolución de las emisiones de N₂O

En los tratamientos con presencia de cultivo de soja, los rendimientos no presentaron diferencias significativas con una media de 3052 kg ha⁻¹, comprobándose visualmente el éxito de la inoculación. En los tratamientos con plantas no inoculadas se observó nodulación de cepas naturalizadas del suelo en las raíces secundarias del cultivo, no observándose presencia de nódulos en la raíz principal. El número de nódulos en los tratamientos con cultivo fue mayor en las parcelas en las cuales se incluyó como práctica la inoculación, con respecto a los tratamientos no inoculados (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimiento y números de nódulos para los tratamientos con la presencia de plantas inoculadas (Pi) y no inoculadas (Pni).

Tratamientos	Rendimiento (kg ha ⁻¹)	Nro. de Nódulos
NO_PPi	2859 a	16 a
NO_PPni	2831 a	6 b
N₁Pi	2774 a	13 a
N₁Pni	2627 a	6 b
N₂Pi	3986 a	14 a
N₂Pni	3232 a	5 b

Las emisiones de N₂O presentaron una tendencia creciente, desde la siembra hacia la finalización del ciclo del cultivo; la mayor acumulación se produjo durante las etapas fenológicas de Llenado de granos hasta Madurez comercial, constituyendo las mismas aproximadamente un 68% de las emisiones totales de óxido nitroso. Luego de la cosecha del cultivo, las emisiones adoptaron una tendencia declinante. Estas tendencias se observaron en

todos los tratamientos involucrados en el experimento (Figura 2), y son similares a la evolución de los nitratos y de la humedad del suelo durante un período de 20 días antes y 20 días después de la cosecha (Figura 3c).

Los mayores valores de emisiones de óxido nitroso se observaron en los tratamientos fertilizados con mayores dosis e inoculados con bacterias fijadoras de nitrógeno (**N₂Pi**), durante los últimos intervalos de medición, registrando valores de hasta 5516.10 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, en el momento de madurez comercial del cultivo, MC-día 142 desde la siembra del cultivo (Figura 2c).

4.2- Período de Descomposición de Residuos

Las emisiones de N_2O presentaron una tendencia decreciente, desde la madurez comercial hasta los posteriores 80 días a la cosecha. Los valores de carbono orgánico de los residuos, nitrógeno orgánico y la relación C/N se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de Carbono, nitrógeno orgánico y relación C/N de los residuos de cada tratamiento.

Tratamientos	C (g kg⁻¹)	N (g kg⁻¹)	C:N
N0Pni	502.9	11.17	45
N0Pi	433.0	9.84	44
N1Pni	516.8	11.61	44.5
N1Pi	488.6	11.23	43.5
N2Pni	615.9	13.90	44.3
N2Pi	558.8	13.30	42

Durante el período de descomposición de los residuos; las emisiones acumuladas constituyeron aproximadamente un 28% de las emisiones totales de óxido nitroso.

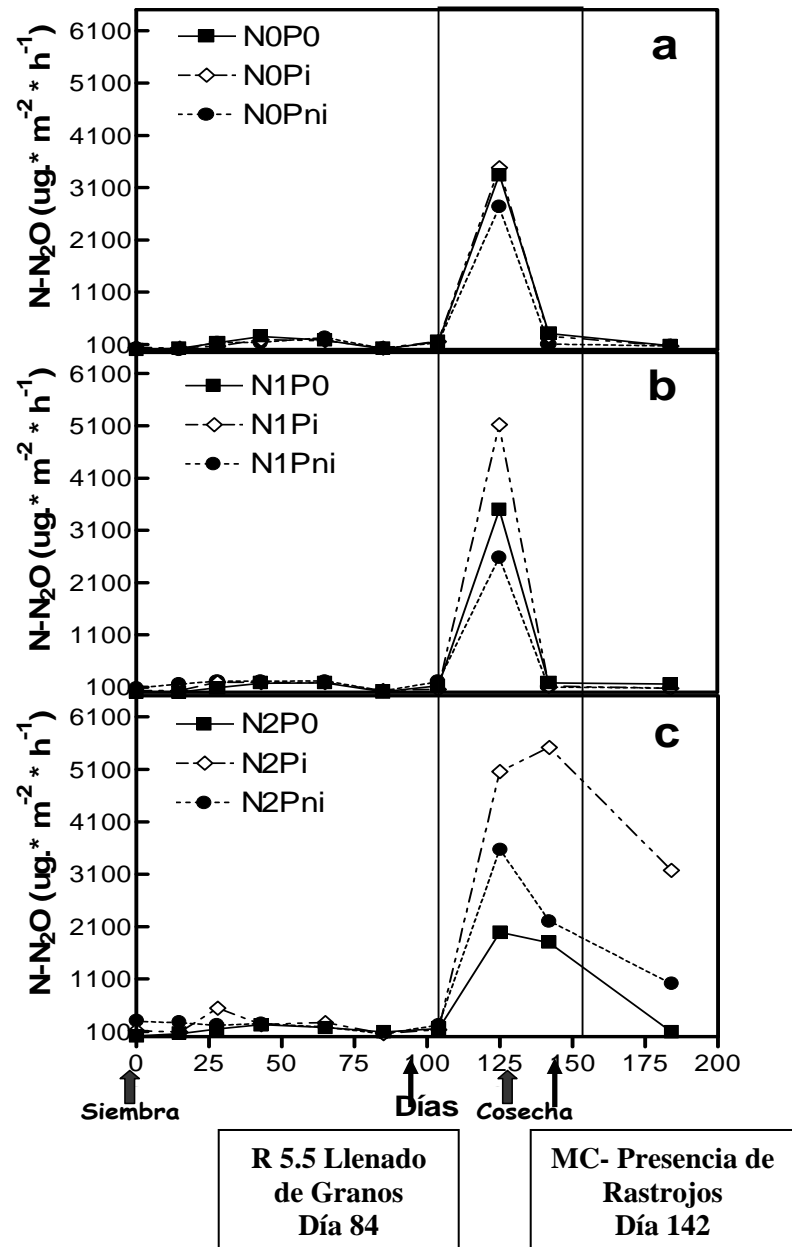


Figura 2. Emisiones de N₂O en función del tiempo para los distintos tratamientos del factor inoculación en las situaciones: no fertilizadas (a), fertilizadas con 15 kg N ha⁻¹ (b) y fertilizadas con 30 kg N ha⁻¹ (c).

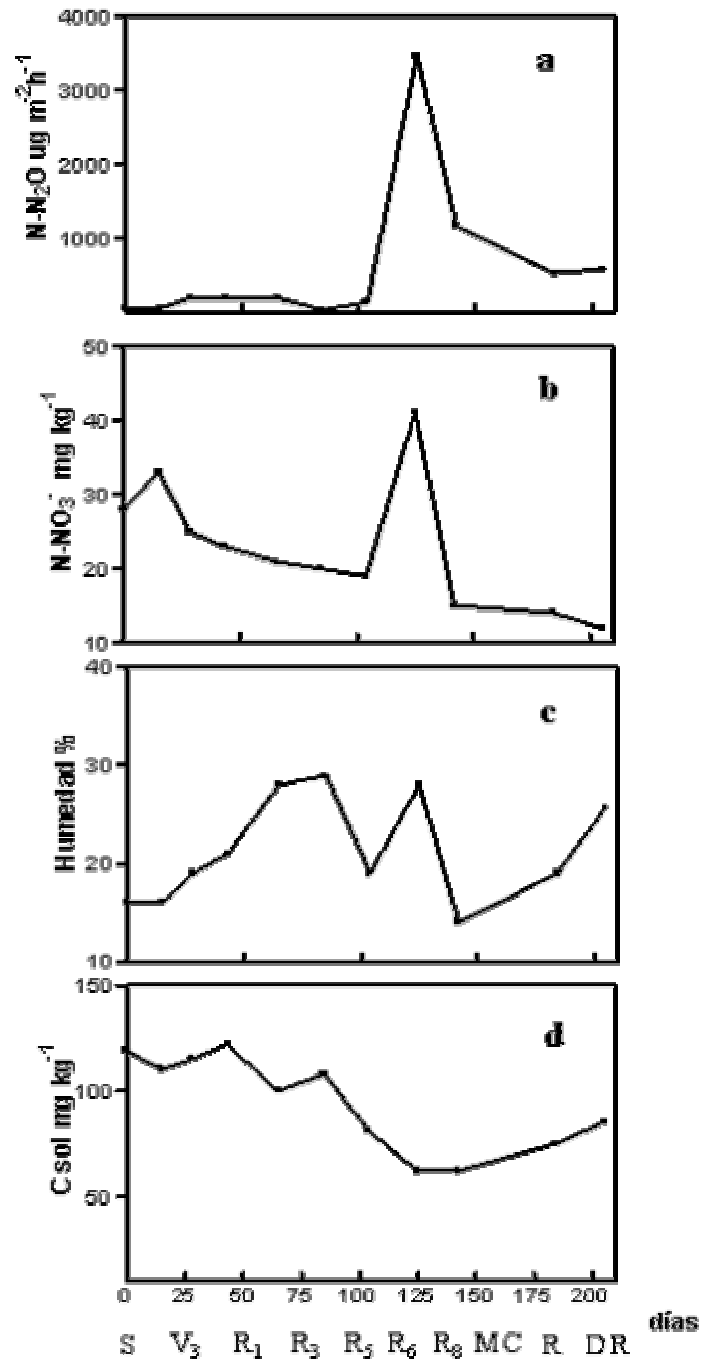


Figura 3. Evolución de las emisiones de óxido nitroso (a) y de las variables reguladoras de las mismas, b- Nitratos, c- Humedad y d- Carbono soluble, durante los momentos ontogénicos del ciclo del cultivo de soja.

4.3- Efecto de la Inoculación y la Fertilización Nitrogenada sobre las emisiones de óxido nitroso acumuladas durante el experimento.

En el análisis de las emisiones acumuladas durante el ciclo del cultivo, se detectaron efectos significativos de las variables fertilización y de la interacción fertilización-inoculación, pero no de la variable inoculación (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de Varianza de los efectos sobre las emisiones acumuladas.

Efecto de la Variable	Valor F	Valor P
Fertilización	19.34	<0.0001
Inoculación	2.62	0.0999
Fertilización * Inoculación	3.38	0.0314

Cuando las parcelas fueron fertilizadas con urea líquida las emisiones acumuladas de óxido nitroso tendieron a aumentar ante la presencia de plantas de soja, en especial en aquellas inoculadas con microorganismos ($P_i > P_{ni} > P_0$), mientras que cuando no fueron fertilizadas la presencia del cultivo tendió a disminuciones en las emisiones de dicho gas ($P_0 > P_{ni} > P_i$) (Figura 4). Sólo en los tratamientos con mayores niveles de fertilización (N_2) hubo un ligero efecto significativo del factor inoculación ($P=0.09$), no manifestándose en los otros tratamientos. Tampoco se observaron efectos del factor inoculación sobre las emisiones gaseosas cuando se realizó el análisis en cada día de medición.

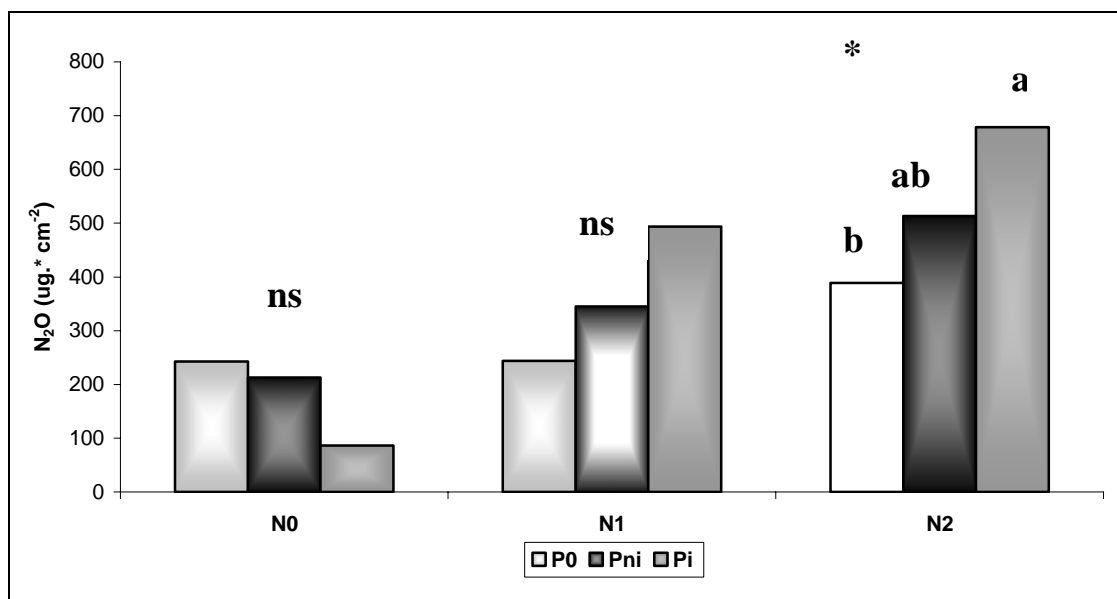


Figura 4. Efecto de la Inoculación bajo distintos niveles de fertilización nitrogenada sobre las emisiones acumuladas de óxido nitroso.

* Significativo al 10%.

La fertilización nitrogenada aumentó significativamente ($P < 0.05$) las emisiones acumuladas de óxido nitroso (figura 5). Las diferencias en emisiones entre tratamientos de fertilización son mayores en los tratamientos con plantas de soja, especialmente en aquellas inoculadas, aumentando 1,6; 2,4 y 7,8 veces las emisiones ante el agregado de 30 kilogramos de nitrógeno por hectárea en las situaciones sin plantas, con plantas de soja no inoculadas y con plantas inoculadas, respectivamente.

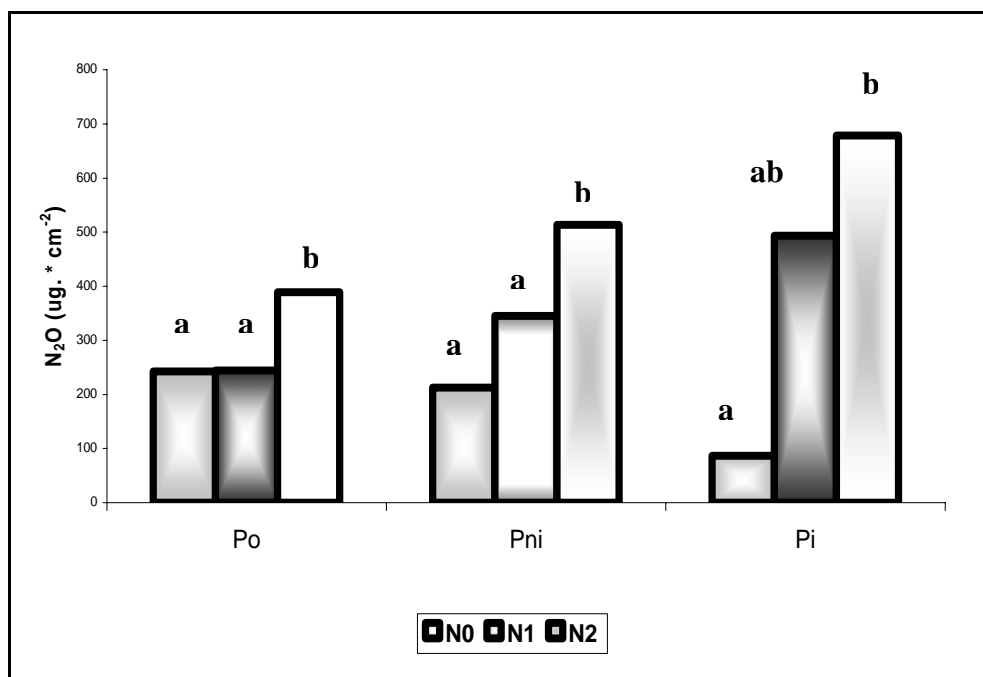


Figura 5. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre las emisiones acumuladas de óxido nítrico, para parcelas sin plantas, con plantas de soja no inoculadas e inoculadas con *Bradyrhizobium japonicum*.

4.4- Efecto de la Inoculación y la Fertilización Nitrogenada sobre las emisiones de óxido nítrico generales durante el experimento.

Resultado de la evaluación de las emisiones generales mediante un análisis de varianza multivariado (MANOVA); el factor nitrógeno tuvo efecto significativo sobre las emisiones generales (Tabla 4), en cambio el factor inoculación y la interacción resultaron no significativos. Las emisiones presentaron diferencias entre sí en las fechas 2, 9, 10 ($P < 0.05$) y 11 ($P < 0.1$). En la fecha número dos las emisiones difirieron en los tratamientos con un nivel y dos de fertilización con respecto a la situación no fertilizada. En la fecha número nueve se produjo diferencias entre todos los niveles de fertilización, sin embargo en la fecha siguiente

(fecha 10) las diferencias se produjeron sólo con dos niveles de fertilización (Tabla 5).

Tabla 4. Análisis de Varianza de los efectos sobre las emisiones N₂O generales.

Factores	Wilks' Lambda	Rao's R	df 1	df 2	p-level
N	.023096	4.058209	22	16	.002960
I	.197884	0.907630	22	16	.591322
N*I	.029125	1.124906	44	32	.367947

Tabla 5. Emisiones N₂O generales ordenamiento por fechas que presentaron diferencias significativas en el factor nitrógeno.

	N₂O-F2	N₂O-F9	N₂O-F10
N0	1.297 a	1.901 a	0.959 a
N1	2.136 b	1.758 b	2.195 a
N2	3.773 b	7.568 c	5.891 b

Los factores inoculación y la interacción N x I sólo fueron significativos ($P < 0.1$) para el caso de la fecha once. El único nivel que difirió al resto de los tratamientos, fue la fertilización a su dosis superior (N2).

4.5- Relación de las Emisiones de N₂O con las variables edáficas medidas

Las emisiones de óxido nitroso acumuladas no se relacionaron estadísticamente con el carbono orgánico total, humedad y el pH. La única variable que presentó correlación con las emisiones fue el contenido promedio de nitratos del suelo ($r^2 = 0.1899$; $P = 0.0231$) durante la realización del experimento (Figura 6).

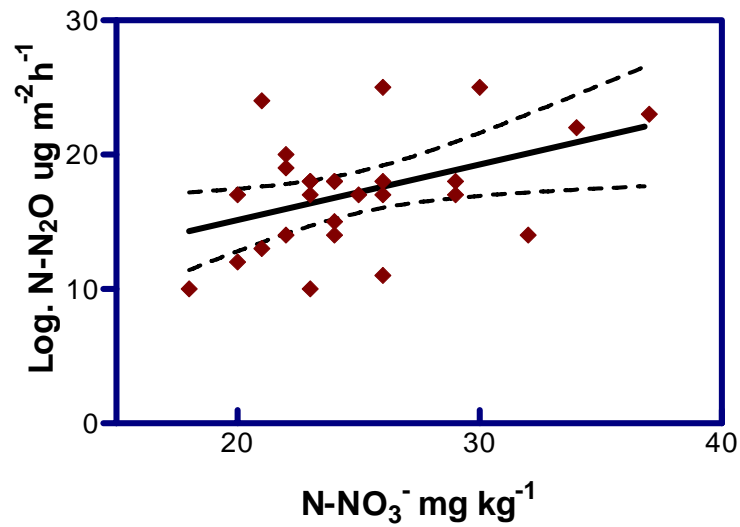


Figura 6. Relación entre las emisiones de óxido nitroso y el contenido de nitratos del suelo.

En los tratamientos inoculados, la relación de las emisiones y el contenido de nitratos en el suelo (0-20 cm) resultó significativa y más importante ($r^2 = 0.6614$; $P=0.0077$) que la presentada a nivel general del experimento (Figura 7).

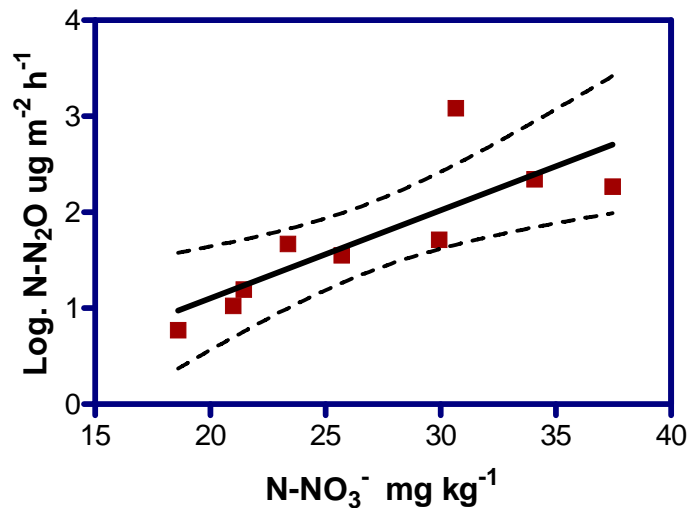


Figura 7. Relación entre las emisiones de óxido nitroso para el caso de los tratamientos inoculados y el contenido de nitratos del suelo.

4.5.1- Relación de las Emisiones con las variables edáficas durante el período de determinación del rendimiento del cultivo de soja.

Las emisiones de óxido nitroso presentaron relación con la humedad edáfica durante el período crítico, desde llenado de granos hasta la madurez comercial del cultivo de soja, ($r^2 = 0.5361$; $P < 0.0001$), con una duración de 58 días con antelación a la cosecha (Figura 8).

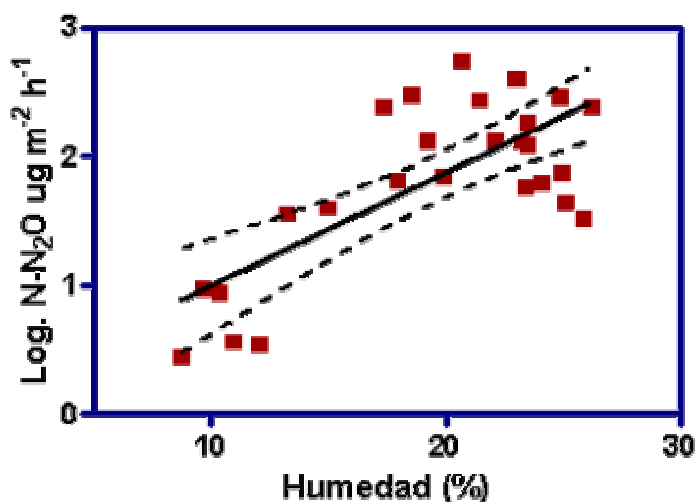


Figura 8. Relación entre las emisiones de óxido nitroso y la humedad edáfica durante el período crítico del cultivo de soja.

La relación entre la variable contenido de nitratos en el suelo y las emisiones de óxido nitroso ($r^2 = 0.1733$; $P = 0.0308$) se estableció en forma ligeramente estrecha durante el período de determinación del rendimiento del cultivo (Figura 9).

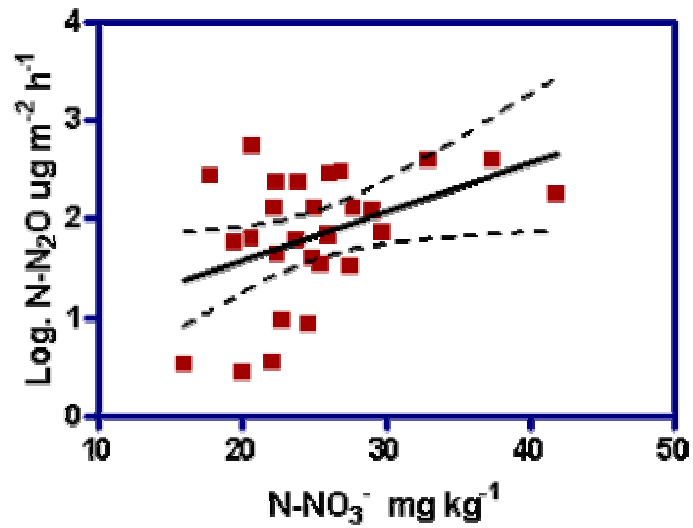


Figura 9. Relación entre las emisiones de óxido nitroso y la humedad edáfica durante el período crítico del cultivo de soja.

4.5.2- Relación de las Emisiones con las variables edáficas durante el período de descomposición de rastrojos del cultivo de soja.

Las emisiones de óxido nitroso presentaron relación con el carbono soluble del suelo durante la descomposición de los rastrojos del cultivo ($r^2 = 0.2593$; $P=0.0067$), con una duración de 80 días posteriores a la cosecha (Figura 8).

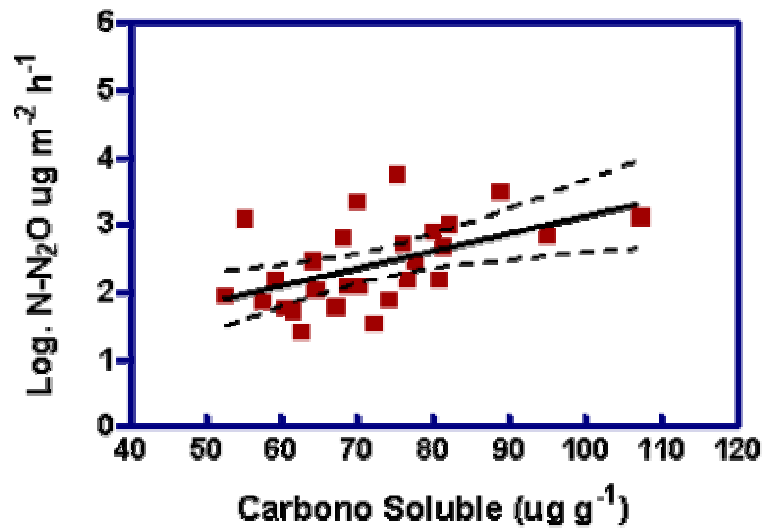


Figura 8. Relación entre las emisiones de óxido nitroso y el carbono soluble del suelo durante la descomposición de los residuos del cultivo de soja.

La relación entre la variable humedad y las emisiones de óxido nitroso ($r^2 = 0.2392$; $P=0.0394$) se estableció en forma estrecha durante el período de descomposición de rastrojos (Figura 9).

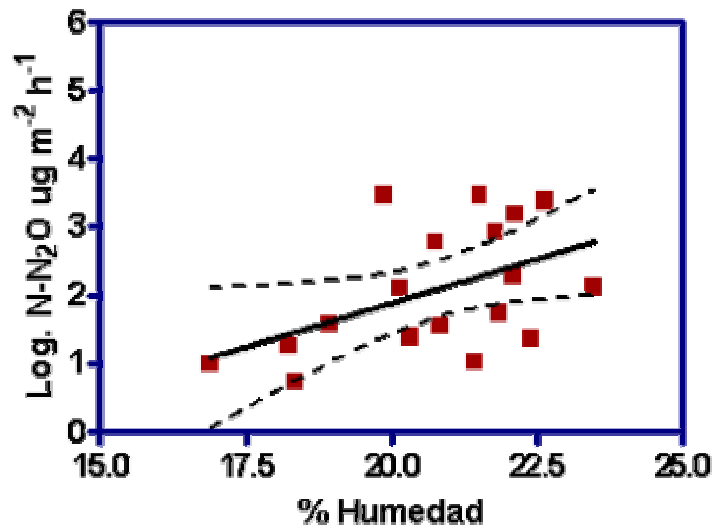


Figura 9. Relación entre las emisiones de óxido nitroso y la humedad edáfica durante la descomposición de los residuos del cultivo de soja.

El modelo propuesto por el análisis de regresión múltiple es significativo ($P=0.0465$). Las variables regresoras seleccionadas que se utilizaron fueron el porcentaje de humedad edáfica (% v/v), el contenido orgánico de carbono soluble, pH y el contenido de nitratos (0-20 cm), cuya importancia puede observarse en la Tabla 6.

Las variables humedad y contenido de carbono orgánico soluble del suelo se correlacionaron positivamente y de forma significativa con las emisiones de nitrógeno ($p<0,05$), mientras que el contenido de nitratos pareció no influir en la magnitud de estas pérdidas durante el proceso de descomposición de residuos. El modelo completo sería el siguiente:

$$\text{Emisiones de N}_2\text{O} = 12,75 + 0,25 * \text{HUMEDAD (\%)} + 0,03 * \text{C SOL (ppm)}$$

($\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} * \text{h}^{-1}$)

El coeficiente de determinación entre las variables fue significativo con un valor de 0.5 ($r^2= 0.5$).

Tabla 6. Análisis de regresión y significancia de las variables explicatorias.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,23	4	1,81	3,26	0,0465
Humedad	2,94	1	2,94	5,31	0,0383
C sol	2,25	1	2,25	4,06	0,0451
Nitratos	0,38	1	0,38	0,68	0,4251
pH	0,73	1	0,73	1,32	0,2721
Error	7,20	13	0,55		
Total	14,43	17			

En el análisis de clusters o conglomerados se utilizó la distancia euclídea promedio, distancia de **0.68**, para la separación de los efectos de los tratamientos bajo análisis.

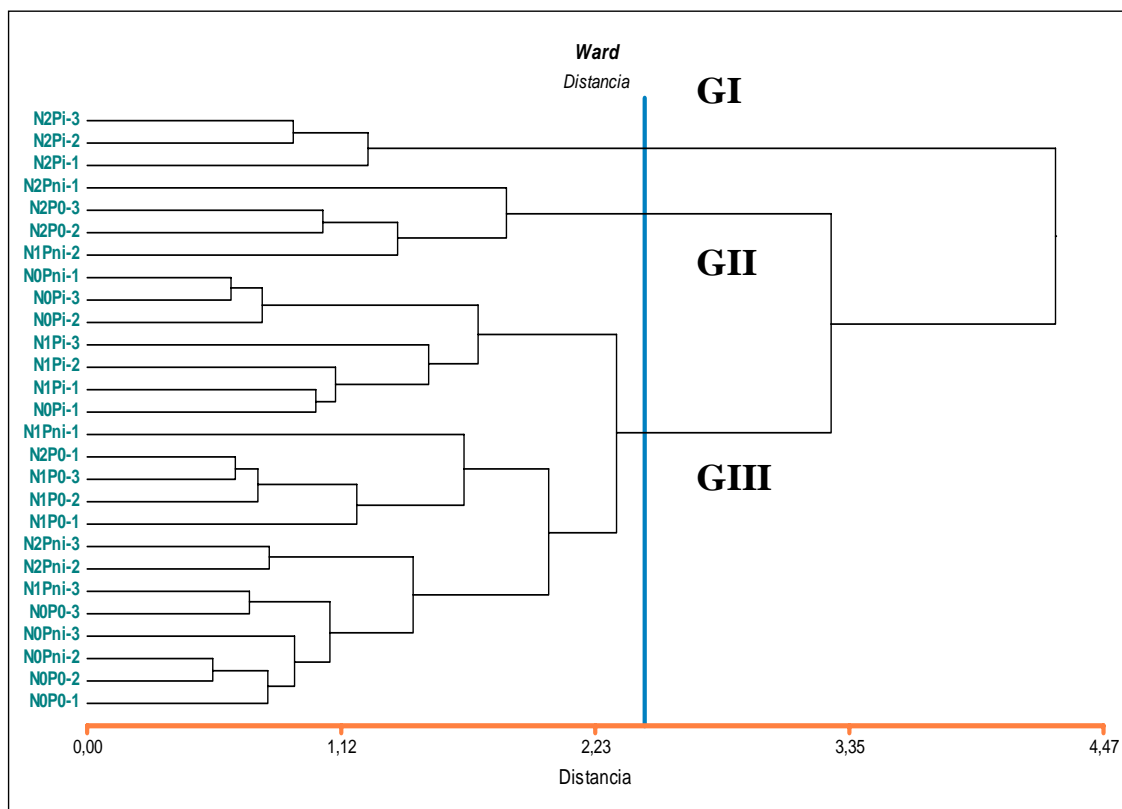


Figura 10. Análisis de Conglomerados o Clusters entre los tratamientos involucrados.

En el primer nivel de separación (GI), en el extremo superior del gráfico (Figura 10), se observa una diferencia en el agrupamiento, esto corresponde a las repeticiones del tratamiento que presenta la dosis de 30 kg N * ha⁻¹ e inoculación del cultivo, esto también se observa en los gráficos de componentes principales (Figura 11). En el segundo nivel (GII) se ordenaron los tratamientos con ausencia o presencia de plantas no inoculadas con la mayor dosis de fertilización (**N2**), exceptuando una repetición del tratamiento con una dosis menor de fertilización y no inoculado. En el último nivel de agrupamiento (GIII), extremo inferior, no se observa una tendencia clara, por lo cual podemos concluir que los tratamientos con

dosis inferiores de fertilización, independientemente de la práctica de inoculación o la presencia de plantas, presentan un bajo grado de asociación con las variables en estudio.

En la figura número once, teniendo en consideración los dos primeros ejes, podemos observar que los tratamientos con mayor dosis de fertilización e inoculación presentan un mayor grado de asociación con las emisiones de óxido nitroso durante las fechas nueve, diez y once (9, 10 y 11), relacionadas con los momentos de finalización del ciclo del cultivo (MC-madurez comercial) y descomposición de los residuos. El contenido de nitratos en el suelo durante la fecha 8 (MF-Madurez Fisiológica) y en menor medida la humedad en la fecha 9 (MC), presentan grado de asociación con los tratamientos mencionados con antelación.

Las medidas que caracterizan a las variables en análisis (Tabla 5) y los valores de los autovectores correspondientes a cada eje, los autovalores con su correspondiente variación, se presentan en la tabla del análisis de componentes principales (Tabla 6), la proporción acumulada de variación explicada por los ejes es del 53,06% (por ciento).

Tabla 5. Medias, máximos (Máx.), mínimos (Mín.) y Coeficiente de variación (CV %) de los parámetros de las emisiones de óxido nitroso.

Variable	Media	CV	Mín	Máx
F2-ug N-N ₂ O./m ² *h	52,5	110,8	0,9	176,9
F2-Humedad	16,4	11,3	14,2	19,8
F2-Nitratos (ppm)	33,1	13,6	25,6	39,8
F7-Humedad	21,9	7,5	18,8	24,9
F7-Nitratos (ppm)	19,3	18,8	15,0	25,3
F8-Humedad	19,9	15,1	13,7	23,4
F8-Nitratos (ppm)	41,4	26,6	29,8	67,5
F9-Humedad	16,5	15,2	12,3	19,9
F9-ug N-N ₂ O./m ² *h	1042,8	176,4	33,4	5516,1
F9-Nitratos (ppm)	15,2	34,3	7,7	23,4
F10-Humedad	19,0	16,1	14,2	22,4
F10-ug N-N ₂ O./m ² *h	495,6	212,3	22,4	3169,5
F10-Nitratos (ppm)	14,8	24,9	10,8	23,3
F10-Ph	6,6	2,1	6,3	6,8
F11-ug N-N ₂ O./m ² *h	513,21	75,3	49,6	1328,7

Parámetros	Valores individuales	
	PCA ₁	PCA ₂
F2- ug N-N ₂ O m ⁻² . h ⁻¹	0,19	-0,37
F2- Humedad (%)	-0,18	0,06
F2- Nitratos (ppm)	0,2	0,26
F7- Humedad (%)	0,05	-0,26
F7- Nitratos (ppm)	0,26	0,38
F8- Humedad (%)	0,01	0,40
F8- Nitratos (ppm)	0,43	0,13
F9- Humedad (%)	0,21	0,02
F9- ug N-N ₂ O m ⁻² . h ⁻¹	0,46	-0,07
F9- Nitratos (ppm)	0,07	-0,29
F10- Humedad	0,05	-0,02
F10- ug N-N ₂ O m ⁻² . h ⁻¹	0,5	-0,02
F10- Nitratos (ppm)	2,90E ⁻⁰⁵	0,42
F10- Ph (1:2.5 en Agua)	-0,12	-0,24
F11- ug N-N ₂ O m ⁻² . h ⁻¹	0,33	-0,28
%Varianza Total	34,01	19,05

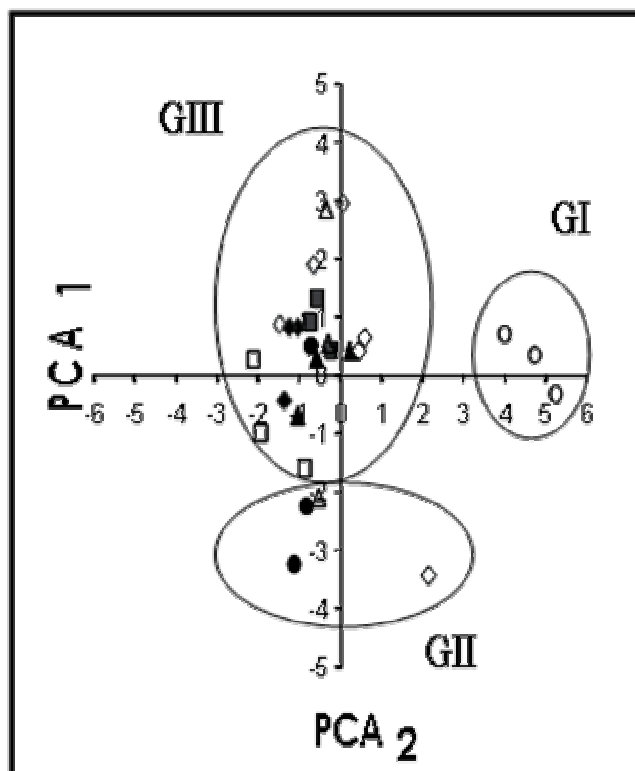


Tabla 6. Valores de los componentes principales (PCA₁ y PCA₂) de variables explicatorias de las emisiones de óxido nitroso durante el ciclo del cultivo de soja (señalados en la Tabla 1).

Figura 11. Análisis de componentes principales sobre los parámetros de las emisiones de óxido nitroso (tres repeticiones). Circunferencias indican la segregación de grupos. Símbolos según Fig. 10.

5- DISCUSIÓN

La evolución de los gases en función del tiempo es similar en los tratamientos con plantas de soja con respecto a aquellos sin la presencia de planta, coincidiendo con hallado por Marinho et al (2004), en un cultivo de soja de la región de Mississippi. Las emisiones de óxido nitroso presentan una evolución similar y se encuentran relacionadas a los niveles de

nitratos y humedad edáficos, durante el período de mayores pérdidas gaseosas. Este período que comienza a partir del llenado de granos y finaliza hacia la madurez comercial del cultivo fue determinante en las emisiones de óxido nitroso durante el cultivo de soja. Estos resultados son coincidentes con los hallados por Yang & Cai (2005), quienes encontraron que alrededor del 94% de las emisiones totales se concentraron en dicho período. Por lo tanto se puede considerar a este intervalo de tiempo, como el “período crítico de las emisiones”, durante el ciclo del cultivo de soja.

Algunos autores sugieren que la fijación biológica de nitrógeno, producto de la colonización de raíces de leguminosas por bacterias simbiotas, nativas o inoculadas, es una importante fuente de óxido nitroso (Mosier et al., 1996; Mosier, 1998). Por el contrario, en el presente trabajo sólo se encontró un ligero efecto significativo ($P=0.09$) de la presencia del cultivo de soja sobre las emisiones de óxido nitroso sólo en las situaciones con mayor dosis de fertilización, coincidiendo con lo predicho por Breitenbeck y Bremner (1989); quienes postularon que a pesar de que las bacterias fijadoras simbióticas son capaces de denitrificar nitratos en condiciones anaeróbicas, la población de este microorganismo sea muy pequeña para tener una influencia de importancia relativa en la tasa de denitrificación de los suelos. Sin embargo cuando se analizaron las emisiones de los tratamientos inoculados con respecto a los nitratos, se observó una asociación fuerte, infiriéndose que cuando las condiciones de nutrición del cultivo y del suelo son adecuadas, la humedad edáfica moderada a elevada y el aporte de carbono vegetal consecuente de una producción elevada, el principal factor regulador de las emisiones es el contenido de nitratos en el perfil del suelo. Coincidente con lo mencionado el factor cultivo sólo tuvo efecto para el caso de los tratamientos inoculados, vinculado con la producción diferencial de materia seca.

El efecto de la fertilización nitrogenada sobre las emisiones observado en el presente trabajo es coincidente con lo hallado por numerosos autores (Kaiser et al, 1998; MacKenzie et al., 1998; Ghosh et al., 2002). Los mayores valores de emisiones de los tratamientos con plantas de soja inoculadas y fertilizadas, donde los nitratos son adecuados para el proceso denitrificatorio, se deberían a que el cultivo aporta material carbonado fácilmente disponible, producto de la descomposición de raíces durante el final del ciclo de cultivo. En el presente trabajo encontramos evidencia de esta información en la evolución del carbono soluble, constituido por azúcares y aminoácidos de la solución del suelo, el cual disminuye en el período donde las emisiones de óxido nitroso se incrementan. Esto implicaría que el carbono más fácilmente disponible para los microorganismos es consumido y utilizado como sustrato elemental para el crecimiento de la flora y fauna microbiana, favoreciendo de esta manera a la totalidad de microorganismos y específicamente a los nitrificadores y denitrificadores del suelo. Se considera que, en condiciones de campo, la denitrificación estaría limitada por la cantidad de carbono susceptible de ser mineralizada (Khalil et al., 2001; Sainz Rozas et al., 2001). La biomasa de bacterias heterotróficas, entre ellas las denitrificadoras, está probablemente controlada en forma primaria por la disponibilidad de carbono bajo condiciones aeróbicas, aumentando las pérdidas por denitrificación (Palma et al., 1997). El carbono soluble del suelo tuvo importancia en la regulación de las emisiones durante el período de descomposición de los residuos. Las emisiones se incrementaron hacia la finalización del ensayo en forma de que se produjo mayor descomposición de los rastrojos y por lo tanto incrementos en el carbono soluble del suelo. El aporte diferencial de materia seca puede observarse en la tabla 1, los mayores rendimientos de los cultivos inoculados aportan mayores residuos, de baja relación C/N, debido a la alta estabilidad presentada por el índice

de cosecha para las condiciones en que fue desarrollado el experimento. Por otro lado, en situaciones sin fertilización nitrogenada, la presencia de plantas probablemente disminuyó seriamente la cantidad de nitrógeno mineral edáfico, limitando el proceso de denitrificación, el principal responsable de las emisiones de óxido nitroso.

La humedad es considerada uno de los principales reguladores de las emisiones gaseosas de nitrógeno a campo (McTaggart et. al, 1997; Clayton et. al, 1997; Dobbie et. al., 1999). Sin embargo en el presente trabajo, no se encontró una relación significativa entre las emisiones y la humedad ($P=0.35$) cuando el análisis se realizó teniendo en cuenta la duración completa del ensayo. La humedad presenta un mayor control en las emisiones de N_2O entre el estadio fenológico R5.5 y la Madurez Comercial del cultivo ($P<0.0001$), coincidente con un balance positivo del N disponible en el suelo, por una disminución de la demanda por el cultivo y un incremento en los aportes debido a la descomposición del sistema radicular y nodular (Yang & Cai, 2005). Esta interacción también puede explicar las menores emisiones de óxido nitroso ocurridas al comienzo de la Fructificación-Formación de vainas del cultivo (a los 70 días de establecimiento del cultivo desde la siembra), donde la humedad edáfica presenta valores elevados (30% de humedad m/m), pero la absorción del cultivo disminuye los nitratos del suelo. Sin embargo, la humedad durante el período de descomposición de rastrojos constituyó un factor clave. Presentando una asociación estrecha con las emisiones de óxido nitroso, incrementándose las emisiones a medida que se producían incrementos en los contenidos de humedad edáfica.

La mineralización de los residuos y su relación con las emisiones de óxido nitroso es dependiente de la relación carbono: nitrógeno (C/N) de los rastrojos (Eichner, 1990; Németh et al., 1996). Se demostró que la tasa de denitrificación es dependiente de la cantidad de

carbono orgánico rápidamente utilizable (Yao Huang, 2004). La influencia del tipo de residuo y su relación con la calidad (C, N, contenido de lignina y relación C/N), influyen en las pérdidas de nitrógeno del suelo (Millar y Baggs, 2004); bajas relaciones C/N de los residuos en general resultan en incrementos en el carbono soluble del suelo y en las emisiones de óxido nitroso (Yao Huang, 2004). Residuos de cultivos de leguminosas (baja relación C/N) incrementan las emisiones en mayor proporción comparado con rastrojos de cereales (Aulakh et al., 1991). La incorporación de residuos incrementa el carbono soluble del suelo y provee una fuente de C y N rápidamente disponible, generando condiciones predisponentes para las emisiones de óxido nitroso. Residuos de baja relación C/N presentan una mayor descomposición, esta situación provee la oportunidad de una mayor producción de carbono soluble, sustrato para los microorganismos, responsable del incremento en las emisiones (Hadas et al., 2003). Rastrojos de cultivos con relación C/N de 25-75 intermedia, sufren una serie de procesos de transformación y consecuente mineralización de manera rápida; sin embargo la mineralización del nitrógeno es a menudo contrarestanda por un incremento en la inmovilización microbiana como así también por la complejación de las proteínas celulares de los residuos por polifenoles, cuando se produce la lisis celular de los tejidos (Yao Huang, 2004). Durante el período de descomposición de residuos las variables que mejor se relacionaron con las emisiones fueron el carbono orgánico soluble y la humedad edáfica, que explicaron en forma conjunta un 50 % de la variabilidad de las emisiones, obteniéndose el modelo respuesta para esta situación particular de los niveles de emisiones de óxido nitroso. El contenido de nitratos no se relacionó con las emisiones durante este intervalo de tiempo, presentando los mismos valores superiores a 15 ppm en promedio durante todo este período, esto permite sospechar que estos valores no fueron limitantes para los procesos generadores

de óxido nitroso.

La presencia de correlación entre las variables analizadas y las emisiones de óxido nitroso es dependiente del estado fenológico del cultivo y del momento de descomposición de sus residuos; probablemente esto se deba a la combinación compleja de temperatura, estructura del suelo, concentración de nitratos, aireación y contenido de humedad, cada factor variando espacial y temporalmente y teniendo efectos independientes en las emisiones de óxido nitroso (Liang & Mackenzie, 1997).

En consecuencia con los análisis multivariados de conglomerados y de principales componentes, que permiten ordenar los tratamientos en función de las variables que mejor explican sus órdenes de magnitud; se puede concluir que las emisiones de óxido nitroso durante el cultivo de soja presentaron un elevado grado de asociación en los tratamientos con mayor dosis de fertilización, siendo esta práctica de fundamental importancia en los niveles de emisiones. Un menor grado de relación se presentó entre los tratamientos con ausencia de plantas o presencia de cultivo de soja no inoculado, con la mayor dosis de fertilización. Una inexistencia de asociación se observó entre los tratamientos con niveles menores de fertilización, indiferentemente del factor inoculación. Esto nos permite inferir de la importancia que reviste el factor inoculación con dosis de fertilizante nitrogenado superiores ($15 \text{ kg N} * \text{ha}^{-1}$) sobre las emisiones de óxido nitroso. El análisis multivariado puede ser considerado como un enfoque valioso para el entendimiento de la generación de óxido nitroso en sistemas agrícolas con el objeto de mitigar esta importante fuente de contaminación atmosférica.

6- CONCLUSIONES

Las emisiones de óxido nitroso presentaron una tendencia creciente durante el ciclo del

cultivo, presentando una mayor acumulación durante las etapas fenológicas de Llenado de granos-Madurez comercial, representando aproximadamente un 68 % en promedio de las emisiones totales de óxido nitroso. Estos altos niveles de emisiones al finalizar el ciclo de cultivo parecen deberse a mayores niveles de carbono producto de la senescencia nodular y radicular y elevadas disponibilidades de nitrógeno mineral debido a la senescencia del cultivo. La inoculación con bacterias de la especie *Bradyrhizobium japonicum* no tuvo efectos de importancia sobre las emisiones de óxido nitroso, sólo presentó un ligero efecto en el tratamiento tratado con la mayor dosis de fertilización. Una asociación fuerte se observó entre las emisiones de óxido nitroso y el contenido de nitratos en los tratamientos inoculados con bacterias fijadoras, infiriéndose que la principal variable reguladora de las emisiones en estos casos es el nitrógeno mineral, cuando las condiciones de humedad y carbono vegetal no son limitantes. La fertilización nitrogenada tuvo un efecto decisivo en estas pérdidas de nitrógeno del suelo, en especial en aquellas situaciones donde se cultivó soja inoculada con bacterias simbiotes, presentando esta combinación los mayores valores de emisiones. Las emisiones acumuladas durante el intervalo de realización del ensayo se correlacionaron solamente con los niveles promedio de nitratos, mientras que las variables carbono soluble y humedad se asociaron a las emisiones durante la descomposición de los rastrojos, intervalo de tiempo durante el cual el contenido de nitratos no sería limitante. La presencia de correlación entre las variables analizadas y las emisiones de óxido nitroso es dependiente del estado fenológico del cultivo y del momento de descomposición de sus residuos y probablemente esto responde a que las emisiones se encuentran reguladas por una combinación compleja de factores, con una fuerte variación espacial y temporal. El análisis multivariado puede ser considerado como un enfoque valioso para el entendimiento de la generación de óxido nitroso en sistemas

agrícolas con el objeto de mitigar esta importante fuente de polución atmosférica.

7- BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA y CITADA

Aulakh M., Doran J., Walters D., Mosier A. y Francis D., 1991. Crop residue type and placement effects on denitrification and mineralization. *Soil Science Society of America Journal* 55: 1020-1025.

Bandibas J., Vermoesen A., De Groot C.J. y Van Cleemput O., 1994. The effect of different moisture regimes and soil characteristics on nitrous oxide emission and consumption by different soils. *Soil Science* 158 (2): 106-114.

Bøckman O.C. y Olf H. W., 1998. Fertilizers, agronomy and N₂O. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 52: 165-170.

Bouwman A.F., 1996. Direct emissions of nitrous oxide from agricultural soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 46: 53-70.

Bray, R. H. y Kurtz, L. T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorous in soil. *Soil Science*, 134: 376-380.

Breitenbeck, G.A., y Bremner J.M., 1989. Ability of free living Bradyrhizobium japonicum to denitrify nitrate in soils. *Biol. Fertil. Soils* 7:219-224.

Bremner J.M. 1997. Sources of nitrous oxide in soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 49: 7-16.

Brown H.A., Waggner-Riddle C. y Thurtell G.W., 2000. Nitrous oxide flux from solid dairy manure in storage as affected by water content and redox potential. *Journal of Environmental Quality* 29: 630-638.

Carole R.S., Scarigelli F.P. 1971. Colorimetric determination of nitrate after hydrazine reduction to nitrite. *Microchemical Journal* 16: 657-672.

Castaldi S., 2000. Responses of nitrous oxide, dinitrogen and carbon dioxide production and oxygen consumption to temperature in forest and agricultural light-textured soils determined by model experiment. *Biology and Fertility of Soils* 32: 67-72.

Chang C., Janzen H.H., Cho C.M. y Nakonechny E.M., 1998. Nitrous oxide emission through plants. *Soil Science Society of America Journal* 62: 35-38.

Clayton H., McTaggart I.P., Parker J., Swan L. and Smith K.A. 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: 252-260.

Daum, D. y Schenk, M.K., 1998. Influence of nutrient solution pH on N₂O and N₂ emissions from a soilless culture system. *Plant and Soil* 203: 279-287.

Dobbie, K.E., McTaggart, I.P. y Smith, K.A., 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.

Duxbury J.M., Bouldin D.R., Terry R.E. y Tate R.L. III., 1982. Emissions of nitrous oxide from soils. *Nature* 298: 462-464.

EIA – Energy information Administration, 1998. Emissions of greenhouse gases in the United States 1997. DOE/EIA-0573(97), Washington DC.

Eichner, M.J., 1990. Nitrous oxide emissions from fertilized soils: summary of available data. *Journal of Environmental Quality* 19: 270-280.

Gaskell J.F., Blackmer A.M. y Bremner J.M., 1981. Comparison of effects of nitrate, and nitric oxide on reduction of nitrous oxide to dinitrogen by soil microorganisms. *Soil Science Society of America Journal* 45: 1124-1127.

Ghosh S., Majumdar D. y Jain M. C. 2002. Nitrous oxide emissions from kharif and rabi

legumes grow on an alluvial soil. *Biol. Fertil. Soils* 35:473-478.

Giuffré L., Ratto de Míguez S. y Marbán L., 1997b. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. *The Science of the Total Environment* 204 (1997): 245-250.

Goodroad, L.L. y Keeney, D.R., 1984. Nitrous production in aerobic soils under varying pH, temperate and water content. *Soil Biology & Biochemistry* 16: 39-43.

Hadas A., Kautsky L., Goek M. y Kara E.E., 2003. Rates of decomposition of plant and available nitrogen in soil, related to residue composition through simulation of carbon and nitrogen turnover. *Soil Biology & Biochemistry* (On line article, doi:10.1016/j.soil-bio.2003.09.012).

Hammond, A.L., 1990. *World Resources 1990-91. A report by the World Resources Institute.* Oxford University Press, Oxford, UK. 383p.

INDEC, 2004. www.indec.gov.ar

InfoStat, 2002. Grupo InfoStat. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. En formato de CD.

Kaiser E.A., Kohrs K., Kucke M., Schnug E., Heinemeyer O. y Munch J.C., 1998. Nitrous oxide release from arable soil: importance of N-fertilization, crops and temporal variation. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (12): 1553-1563.

Khalil M.I., Boeckx P., Rosenani A.B. y Van Cleemput O. 2001. Nitrogen transformations and emission of greenhouse gases from three acid soils of humid tropics amended with N sources and moisture regime. II. Nitrous oxide and methane fluxes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32 (17-18): 2909-2924.

Khera T.S., Aulakh M.S. y Doran J.W., 1999. Significance of soil depth on nitrogen transformations in flooded and nonflooded systems under laboratory conditions. *Nutrient*

Cycling in Agroecosystems 54: 209-213.

Legendre P. y Legendre L., 1998. Numerical Ecology. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. 853 p.

Liang B.C. y Mackenzie A.F., 1997. Seasonal denitrification rates under corn (*Zea mays* L.) in two Quebec soils. Canadian Journal of Soil Science 77: 21-25.

MacKenzie A.F., Fan M.X. y Cadrin F., 1998. Nitrous oxide emission in three years as affected by tillage, corn-soybean-alfalfa rotations, and nitrogen fertilization. J. Environ. Qual. 27: 698-703.

Maggiotto S.R., Webb J.A., Wagner-Riddle C. y Thurtell G.W., 2000. Nitrous and nitrogen oxide emissions from turfgrass receiving different forms of nitrogen fertilizer. Journal of Environmental Quality 29: 621-630.

Marinho E.V., DeLaune R.D. y Lindau C.W., 2004. Nitrous Oxide flux from soybeans grown on Mississippi Alluvial Soil. Communications in soil science and plant analysis 35: 1-8.

Mazzarino M.J., Szott L. y Jimenez M., 1993. Dynamics of soil total C and N, microbial biomass, and water-soluble C in tropical agroecosystems. Soil Biology and Biochemistry 25(2): 205-214.

McTaggart I.P., Clayton H., Parker J., Swan L. and Smith K.A. 1997. Nitrous oxide emissions from grassland and spring barley, following N fertiliser application with and without nitrification inhibitors. Biology and Fertility of Soils 25: 261-268.

Millar N. y Baggs E.M., 2004. Chemical composition, or quality, of agroforestry residues influences N₂O emissions after their addition to soil. Soil Biology and Biochemistry 36: 935-943.

Mogge B., Kaiser E.A. y Munch J.C., 1999. Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from agricultural soils in the Bornhoved lake region: influence of organic fertilizers and

land-use. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 1245-1252.

Mosier A.R., Duxbury J.M., Freney J.R., Heinemeyer O. y Minami K., 1996. Nitrous oxide emissions from agricultural fields: Assesment, measurement and mitigation. *Plant and Soil* 181: 95-108.

Mosier A.R., 1998. Soil processes and global change. *Biology and Fertility of Soils* 27: 221-229.

Nelson D.W. y Sommers L.E., 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Page A.L. *Methods of Soil Analysis. Part 2.* American Society of Agronomy, USA, Agronomy 9, pp. 539-579.

Németh T., Abd El-Galil A., Radimszky L. y Baczó G.Y., 1996. Effect of plant residues on ammonium and nitrate content of soils during incubation. In: Van Cleemput, O., Hofman, G., Vermoesen, A. (Eds.), *Progress in Nitrogen Cycling Studies*, Kluwer, London, pp. 109-114.

Palma R.M., Rímolo M., Saubidet M.I. y Conti M.E. 1997. Influence of tillage system on denitrification in maize-cropped soils. *Biology and Fertility of Soils* 25: 142-146.

Rochette P., Angers D., Belanger G., Chantigny M., Prevost D. y Levesque G., 2004. Emissions of nitrous oxide from alfalfa and soybean crops in eastern Canada. *Soil Science Society of America Journal* 68: 493-506.

Sainz Rozas H.R., Echeverría H.E. y Picone L.I. 2001. Denitrification in Maize under no-tillage: Effect of nitrogen rate and application time. *Soil Science Society of America Journal* 65: 1314-1323.

SAS Institute Inc., 1999 *SAS/STAT Guide for personal computers, Version 8.* Edition Cary NC: SAS Institute Inc.

- Schlegel H.G., 1992. Allgemeine Mikrobiologie. 7th ed. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Sexstone A.J., Parkin T.B. y Tiedje J.M., 1985. Temporal response of denitrification rates to rainfall and irrigation. Soil Science Society of America Journal 49: 99-103.
- Simek M. y Cooper J.E., 2001. Nitrogen use efficiency in temperate zone arable lands. In: Structure and function in agroecosystem design and management. ISBN 0-8493-0904-2. CRC Press LLC. Boca Raton, Florida.
- Skiba U., Smith K.A. y Fowler D., 1993. Nitrification and denitrification as sources of nitric oxide and nitrous oxide in a sandy loam soil. Soil Biology and Biochemistry 25 (11): 1527-1536.
- Stevens R.J. y Laughlin R.J., 1998. Measurement of nitrous oxide and di-nitrogen emissions from agricultural soils. Nutrient Cycling in Agroecosystems 52: 131-139.
- Stevens R.J. y Laughlin R.J., 2001. Cattle slurry affects nitrous oxide and dinitrogen emissions from fertilizer nitrate. Soil Science Society of America Journal 65: 1307-1314.
- Thomas G.W. 1996. Soil pH and Soil Acidity. En: Sparks D.L. (Ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3. Pp:475-490. Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Watson R.T., 1992. Climate Change 1992, The supplementary reports to the IPCC scientific assesment. In: Greenhouse Gases: Sources and Sinks. Eds. J.T. Houghton, B.A. Callander and S.K. Varney. Pp 25-46. Cambridge Univ. Press, New York, NY, USA. 308 p.
- Weier K.L., Doran J.W., Power J.F. y Walters D.T., 1993. Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. Soil Science Society of America Journal 57: 66-72.
- Yang L. y Cai Z., 2005. The effect of growing soybean (*Glycine max* L.) on N₂O emission from soil. Soil Biology & Biochemistry 37: 1205-1209.

Yao H., Jianwen Z., Xunhua Z., Yuesi W. y Xingkai X., 2004. Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios. *Soil Biology & Biochemistry* (On line article, doi:10.1016/j.soil-bio.2004.02.009).

Zheng X., Wang M., Wang Y., Shen R., Gou J., Li J., Jin J. y Li L., 2000. Impacts of soil moisture on nitrous oxide emissions from croplands: a case study on the rice-based agro-ecosystem in Southeast China. *Chemosphere-Global Change Science* 2: 207-224.