

INFLUENCIA DEL MÉTODO DE DISPERSIÓN EN EL FRACCIONAMIENTO FÍSICO DE UN SUELO DE ARGENTINA CENTRAL

SOFÍA PESTONI^{1-2*}; NORMA GALLARDO¹⁻²; NATALIA PÉREZ HARGUINDEGUY¹⁻²; ESTEBAN KOWALJOW¹⁻²

Recibido: 31/05/2019

Recibido con revisiones: 21/01/2020

Aceptado: 10/02/2020

RESUMEN

Se compararon cuatro métodos de dispersión de suelos, ampliamente utilizados en protocolos de fraccionamiento físico, sobre un Mollisol de pastizales montañosos del centro de Argentina. La proporción de las fracciones fina y gruesa del suelo varió significativamente entre métodos. Debido a que las fracciones minerales post dispersión con bolitas de vidrio no difirieron del resultado del análisis granulométrico, este método mostró los mejores resultados, por sobre la sonicación y el agitado con dispersante químico, para los suelos evaluados.

Palabras clave: complejos órgano-minerales, sonicación, agitación, desagregación del suelo

INFLUENCE OF THE SOIL DISPERSION METHOD ON THE PHYSICAL FRACTIONATION OF A SOIL OF CENTRAL ARGENTINA

ABSTRACT

Four dispersion methods, typically applied to soil physical fractionation protocols, were compared in a Mollisol from mountain grasslands from central Argentina. The proportion of coarse and fine soil fractions obtained after dispersion was significantly different. Considering that mineral fractions after dispersion using glass beads did not differ from granulometric analysis, this method achieved better results than sonication or shaking with chemical dispersant for evaluated soils.

Key words: organo-mineral complexes, sonication, shaking, soil disaggregation

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica del suelo (MOS) se puede asociar con las partículas minerales primarias del suelo (arcilla, limo y arena) formando complejos órgano-minerales primarios y estos, a su vez, se pueden agregar formando complejos órgano-minerales secundarios (Chenu & Plante, 2006). Esta complejidad estructural genera fracciones de la MOS más o menos homogéneas en su estabilidad, su nivel de agregación y el tamaño de la partícula mineral primaria que las asocia (Cambardella & Elliott, 1992). El estudio de las propiedades de estas fracciones permite entender la dinámica de la MOS y su relación con propiedades

ecosistémicas como la fertilidad del suelo y su capacidad de almacenamiento de carbono.

Se han desarrollado métodos de fraccionamiento físico que separan las partículas del suelo por tamaño y/o densidad para individualizar las fracciones de la MOS con distinta estabilidad. Los métodos de fraccionamiento físico del suelo requieren la dispersión completa de los agregados secundarios previo a la separación de las fracciones (Chenu *et al.*, 2014). La efectividad de la dispersión es entonces esencial para obtener resultados confiables (Poeplau *et al.*, 2018). Existe una gran variedad de métodos de dispersión que se pueden clasificar en dos grupos: agitación y so-

1 Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Córdoba, Argentina

2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Córdoba, Argentina

* Autor de contacto: sofipestoni@gmail.com

nicación (Chenu *et al.*, 2014). La agitación simple con agua no asegura una completa dispersión de los agregados del suelo (Christensen, 1992) por lo que se incorporan agentes que estimulan la dispersión de manera mecánica (bolitas de vidrio, Duval *et al.*, 2018) o de manera química (hexametáfosfato de sodio (HMF)); Fernández *et al.*, 2011). Por otro lado, la sonicación se ha extendido globalmente acompañada por el desarrollo de equipos de creciente complejidad y efectividad. En este contexto, el objetivo del presente trabajo es comparar la eficiencia de dispersión de cuatro métodos diferentes, comúnmente utilizados en los protocolos de fraccionamiento físico del suelo, en un Molisol característico de pastizales de altura de las Sierras Grandes de Córdoba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó un suelo de los pastizales de altura de las Sierras Grandes de Córdoba (31°37' S, 64° 48' O), tomado de potreros colindantes con la ruta provincial 34, entre el Parador El Cóndor y el paraje La Posta. El suelo pertenece al orden Molisoles y deriva de la meteorización de sustrato granítico y de depósitos eólicos de textura fina. Este suelo presenta un elevado contenido de MO (8-18 % en el horizonte A, que puede alcanzar hasta los 40 cm de profundidad) (Cabido *et al.*, 1987). Se muestrearon 6 potreros distintos tomando muestras compuestas a una profundidad de 0-5 cm, conformando un total de 6 réplicas. Las muestras fueron tamizadas a través de malla de 2 mm y secadas en estufa a 60° C. Posteriormente se determinó textura (análisis granulométrico) por el método modificado de la pipeta (Indorante *et al.*, 1990), carbono total con analizador elemental (Perkin Elmer 2400 serie II) y pH

con pHmetro de laboratorio en una proporción suelo:agua de 1:2,5. Las características físico-químicas de las muestras utilizadas se presentan en la **Tabla 1**.

Se compararon cuatro de los métodos de dispersión más comúnmente usados en la bibliografía para realizar fraccionamiento de suelos: (1) agitación con bolitas, (2) agitación con bolitas + sonicación, (3) agitación con HMF y (4) sonicación. Para todos los métodos se utilizaron 10 g de suelo. Los métodos 1 y 2, basados en el protocolo de Hang *et al.* (2007), consisten en el agregado de 20 ml de agua destilada y 10 bolitas de vidrio de 5 mm de diámetro y la posterior agitación durante 24 h (agitador orbital, Sontec OS 22 UP, a 200 rpm). Luego, sólo en el método 2 se sonica. En el método 3 (Cambardella & Elliot, 1992), se agrega al suelo 30 ml de solución de hexametáfosfato de sodio (8,17 mM) y se agita por 15 h (agitador orbital, Sontec OS 22 UP, a 200 rpm). Para el método 4 se agregan 20 ml de agua destilada y se sonica de manera tal de aplicar 270 kJ de energía a la suspensión (Christensen, 1992), en el caso de este estudio se sonicó durante 28 minutos a 160 w de potencia (Sonicador Testlab TBO4TA).

Luego de los procedimientos antes mencionados, se realizó el fraccionamiento físico de los suelos dispersados (Cambardella & Elliott, 1992) y se obtuvieron dos fracciones: una fracción fina (FF, 0 - 53 µm) que se asume contiene materia orgánica asociada a minerales (MOAM) y una fracción gruesa (FG, 53 - 200 µm) que se asume contiene materia orgánica particulada (MOP). Cada fracción fue secada en estufa a 80°C hasta alcanzar peso constante y luego pesada en balanza de precisión para determinar la proporción

Tabla 1. Características físico-químicas de los suelos utilizados para el análisis.

Table 1. Physico-chemical properties of selected soils.

Réplica	%CO	pH	% arena	% arcilla	% limo	Clase textural
1	7,17	4,97	34,4	16,8	48,8	franco
2	9,14	4,89	30,8	15,6	53,6	franco limoso
3	10,29	4,29	34,3	6,3	59,5	franco limoso
4	5,63	4,35	45,3	16,3	38,4	franco
5	10,68	4,68	21,2	9,1	69,7	franco limoso
6	12,29	4,20	26,8	15,4	57,7	franco limoso

de la FF y la FG del peso total. En este trabajo, el interés se puso en el carbono orgánico (CO) de las fracciones fina y gruesa. La estimación del CO (%) de cada fracción se realizó a través del método de combustión húmeda (Walkley & Black, 1934) y se calculó según:

$$CO = \frac{(V_b - V_m * N * F * 0,39)}{P}$$

donde V_b es el volumen de Sal de Mohr gastado en la valoración del blanco (mL), V_m es el volumen de Sal de Mohr gastado en la valoración de la muestra (mL), N es la normalidad de la sal de Mohr, F es $20/V_b$, un factor de corrección de la normalidad de la sal de Mohr y P es el peso de la muestra de suelo (g). Se incorpora además el factor de corrección 0,39 ya que por esta técnica sólo se oxida el 77% del CO existente. El valor de la concentración de CO que arroja la fórmula es porcentual y corresponde a la masa en gramos de CO que se encuentran en 100 g de fracción, por lo que este valor fue multiplicado por 10 para expresar la concentración en g de CO por kg de fracción. Para conocer el porcentaje del carbono orgánico total (COT) presente en cada fracción se multiplicó la concentración de CO medida en la fracción por la proporción de la fracción en la muestra.

Además de analizar el CO de la FF y la FG obtenidas, también se estimaron las fracciones minerales descontando los porcentajes de MOAM y MOP a cada fracción respectivamente (Bayer *et al.*, 2006). Estos porcentajes de materia orgánica se obtuvieron multiplicando el porcentaje de CO de la fracción por el coeficiente 1,72 (Nelson & Sommers, 1996). De esta manera se estimaron los porcentajes de arcilla+limo de la FF y de arena de la FG y se compararon con los porcentajes de arcilla, limo y arena obtenidos por el análisis granulométrico del mismo suelo (Ame lung & Zech, 1999), con el fin de analizar la posible ruptura de las partículas minerales primarias en el caso de una dispersión excesiva.

Se utilizó el software R (version 3.4.4) para el análisis estadístico de los datos. Realizamos análisis de la varianza para comparar los distintos métodos de dispersión. Las variables analizadas entre los métodos fueron la proporción de masa

de la FF y la FG, el porcentaje del COT y su concentración en las fracciones FF y FG, y el porcentaje de las fracciones minerales de la FF y la FG en comparación con las fracciones granulométricas obtenidas por el método modificado de la pipeta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de diferentes métodos de dispersión del suelo produjo diferencias significativas ($p < 0,05$) en la proporción y en las características de la FF y la FG del suelo obtenidas por el fraccionamiento físico. Los métodos 1 y 2 produjeron una proporción más alta de FF (0,73); el método 3 produjo aproximadamente la misma proporción de FF y FG, (0,45 y 0,55, respectivamente), mientras que el método 4 produjo una proporción marcadamente mayor de FG (0,84) (**Figura 1a**). Al no haber diferencias significativas en las proporciones de FF y FG obtenidas con disrupción mecánica (bolitas de vidrio) y disrupción mecánica sumada a la sonicación (1 y 2) se puede asumir que la sonicación posterior a la agitación con disrupción mecánica no produce cambios significativos en la dispersión del suelo.

La variación en la distribución de la masa de suelo entre la FF y la FG también se vio reflejada en la distribución del COT entre las fracciones (**Figura 1b**). Tras la aplicación de los métodos 1 y 2 casi el 85% del COT se encontró en la FF, mientras que con el método 3 se encontró ~50% en la FF, y con el método 4, sólo el 12%. El porcentaje del COT recuperado en la FG tras la dispersión con agitación con bolitas (1 y 2) está dentro del rango observado para pastizales y zonas arables de regiones templadas, en donde el CO asociado a la fracción arena oscila entre el 10 y el 25% del total (Poeplau *et al.*, 2018). Por su parte, la proporción del COT recuperado en la FG por los métodos 3 y 4 fue mucho mayor. Estos resultados, podría indicar que gran parte de los agregados secundarios no fueron completamente dispersados con los métodos 3 y 4, quedando CO correspondiente a la MOAM retenido en la MOP.

Las concentraciones de CO de la FF y de la FG no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los métodos (**Figura 1c**). Es decir que las diferencias en el poder dispersivo de los métodos afectaron la partición del COT entre las

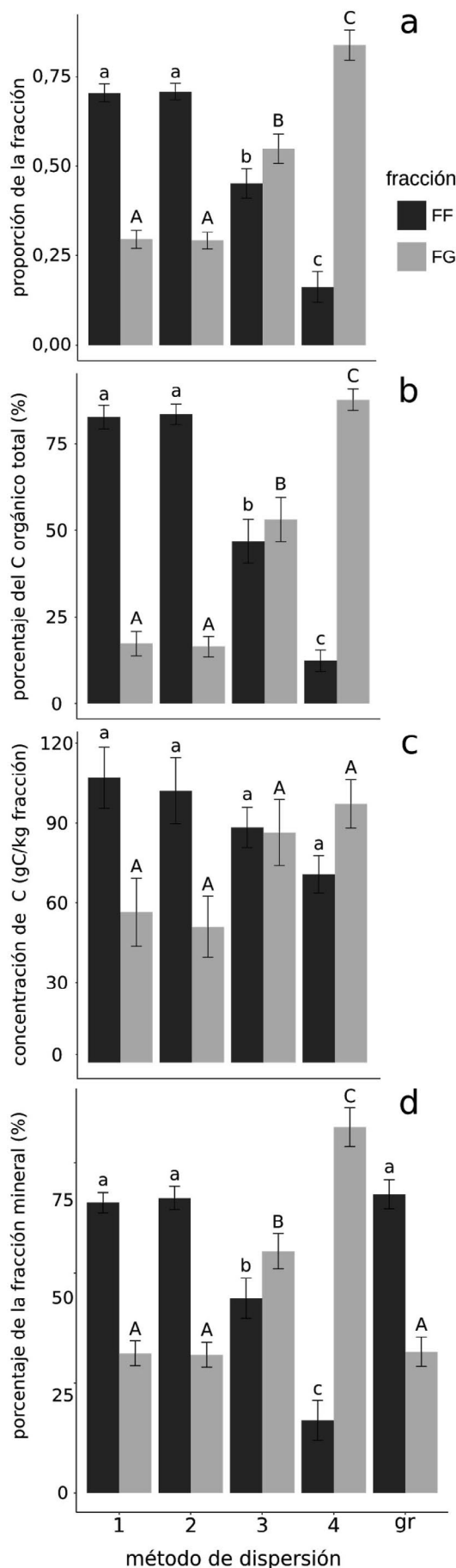


Figura 1. Características de las fracciones de suelo obtenidas por los distintos métodos de dispersión. a. Proporción de las fracciones fina y gruesa. b. Porcentaje del carbono orgánico total de la fracción (%). c. Concentración del carbono orgánico de la fracción (gC.kg fracción⁻¹). d. Porcentaje de las fracciones minerales (%), en este caso se compara con las fracciones de arcilla y limo (FF) y la fracción de arena (FG) obtenidas por el análisis granulométrico (**Tabla 1**). Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0,05$), minúsculas para FF y mayúsculas para FG. Las líneas en las barras representan el error estándar. Abreviaturas: C, carbono; FF, fracción fina; FG, fracción gruesa; método 1, agitación con bolitas; método 2, agitación con bolitas + sonicación; método 3, agitación con hexametáfosfato de sodio; método 4, sonicación; gr, análisis granulométrico.

Figure 1. Soil fraction characteristics obtained by different soil dispersion methods. a. Fine and coarse fraction proportion. b. Total organic carbon percentage in each fraction (%). c. Organic carbon concentration of the organic fraction (gC.kg fracción⁻¹). d. Mineral fraction percentage obtained by the dispersion method in comparison with silt+clay fraction (FF) and sand fraction (CF) obtained through granulometric analysis (**Table 1**). Different letters represent significant differences ($p < 0,05$), lowercase letters for FF and capital letters for CF fraction. Standard error was presented. Abbreviations: C, carbon; FF (FF), fine fraction; FG (CF), coarse fraction; method 1, shaking with glass beads; method 2, shaking with glass beads + sonication; method 3, shaking with sodium hexametaphosphate; method 4, sonicaton; gr, granulometric analysis.

fracciones del suelo, pero no a las características intrínsecas de las fracciones.

Los porcentajes de las fracciones minerales de las FF y FG obtenidas con los métodos 1 y 2 no difirieron significativamente ($p > 0,05$) de las fracciones de arcilla+limo y de arena obtenidas por el análisis granulométrico (gr), respectivamente (**Figura 1d** y **Tabla 1**). Con los métodos 3 y 4, en cambio, el porcentaje de fracción mineral de la FG fue mayor que el porcentaje de arena del análisis granulométrico, debido a la retención de material mineral fino no dispersado que quedó retenido en la FG.

Estos resultados implicarían que ninguno de los tratamientos de dispersión produjo ruptura de las partículas minerales primarias porque las fracciones minerales de la FG (i.e., la fracción susceptible a ruptura en el caso de una disrupción excesiva; Christensen, 1992) fueron iguales (métodos 1 y 2) o mayores (métodos 3 y 4) al porcentaje de arena obtenido en el análisis granulométrico (**Tabla 1**). En base a estos resultados, se puede decir que sólo los métodos de agitación con bolitas alcanzaron la dispersión adecuada de los agregados secundarios.

En el caso del presente trabajo, la falta de eficacia de la dispersión por agitación con HMF (método 3) que es ampliamente utilizada en muchos laboratorios del país (Galantini & Suñer, 2008; Videla & Trivelin, 2008), pudo tener que ver con el alto contenido de MO de los suelos de este estudio. Este alto contenido de MOS podría haber contribuido a generar una alta protección de los agregados secundarios, haciéndolos menos susceptibles a la dispersión química. Por su parte, el bajo poder dispersivo de la sonicación, podría responder no sólo a esa misma causa, sino también a que el sonicador utilizado fue de tipo tanque, en donde la energía no se aplica directamente a la muestra si no al recipiente que las contiene, disminuyendo la efectividad del procedimiento (Christensen, 1992). Los resultados del presente trabajo indicarían que para un Molisol de los pastizales de altura de las Sierras Grandes de Córdoba la agitación con bolitas de vidrio (método 1) produjo una dispersión adecuada de los complejos órgano-minerales secundarios del suelo y sería recomendable preferentemente al método de agitación con bolitas + sonicación (2) por su menor carga de trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (proyecto Primar n° 32520170100030CB), por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (proyecto PIP n° 1122015-0100387CO) y por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (proyecto PICT 2017-1084).

Agradecemos la colaboración de G. Raggio, C de Pereyra, de las autoridades del PNQC y de la DRC (APN).

BIBLIOGRAFÍA

- Amelung, W & W Zech. 1999. Minimisation of organic matter disruption during particle-size fractionation of grassland epipedons. *Geoderma* 92: 73-85.
- Bayer, C; J Mielniczuk; E Giasson; L Martin-Neto & A. Pavinato. 2006. Tillage Effects on Particulate and Mineral-Associated Organic Matter in Two Tropical Brazilian Soils. *Comm. Soil. Sci. Plant Anal.* 37: 389-400
- Cabido, M; R Breimer & G Vega. 1987. Plant communities and associated soil types in a high plateau of the Cordoba mountains, central Argentina. *Mt. Res. Dev.* 7(1): 25-42.
- Cambardella, CA & ET Elliott. 1992. Particulate Soil Organic-Matter Changes across a Grassland Cultivation Sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56: 777-783.
- Chenu, C & AF Plante. 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the 'primary organo-mineral complex'. *Eur. J. Soil Sci.* 57: 596-607.
- Chenu, C; C Rumpel & J Lehmann. 2014. Methods for Studying Soil Organic Matter: Nature, Dynamics, Spatial Accessibility, and Interactions with Minerals. En: EA Paul (ed.). *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. 4ta edn Pp. 383-420. Academic Press.
- Christensen, BT. 1992. Physical Fractionation of Soil and Organic Matter in Primary article Size and Density Separates. In: BA Stewart (ed.). *Advances in Soil Science*. Vol. 20. Pp. 1-90. Springer-Verlag.
- Duval, ME; JA Galantini; JM Martínez & F Limbozzi. 2018. Labile soil organic carbon for assessing soil quality: influence of management practices and edaphic conditions. *Catena*. 171: 316-326.
- Fernández, PL; CR Alvarez & MA Taboada. 2011. Assessment of topsoil properties in integrated crop-livestock and continuous cropping systems under zero tillage. *Soil Res.* 49: 143-151.
- Galantini, JA & L Suñer. 2008. Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina. *Agriscientia* 25(1): 41-55.
- Hang, S; S Houot & E Barriuso. 2007. Mineralization of 14C-atrazine in an entic haplustoll as affected by selected winter weed control strategies. *Soil Tillage Res.* 96(1-2): 234-242.
- Indorante, SJ; RD Hammer; PG, Koenig & LR Follmer. 1990. Particle-size analysis by a modified pipette procedure. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54(2): 560-563.
- Nelson, D.W. & L.E. Sommers. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. En: *Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd ed.*, A.L. Page *et al.*, Ed. Agronomy. 9:961-1010. Am. Soc. of Agron., Inc. Madison, WI.
- Poeplau, C; A Don; J Six; M Kaiser; D Benbi; C Chenu & E Gregorich. 2018. Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils—A comprehensive method comparison. *Soil Biol. Biochem.* 125: 10-26.
- Videla, C & PCO Trivelin. 2008. Influencia del método de dispersión del suelo en la calidad de materia orgánica separada por fraccionamiento granulométrico. *Ci.Suelo (Argentina)* 26(1): 97-103.
- Walkley, A & IA Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37(1): 29-38.