



ORIGINAL

Emisión de óxido nitroso, nitrificación, desnitrificación y mineralización de nitrógeno durante el cultivo del arroz en 2 suelos de Uruguay



Gabriela Illarze^{a,*}, Amabelia del Pino^b, Sara Riccetto^c y Pilar Irisarri^a

^a Laboratorio de Microbiología, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

^b Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

^c INIA Treinta y Tres, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Treinta y Tres, Uruguay

Recibido el 15 de agosto de 2016; aceptado el 9 de mayo de 2017

Disponible en Internet el 23 de septiembre de 2017

PALABRAS CLAVE

Óxido nitroso;
Desnitrificación;
Oxidación de amonio;
Actividad microbiana
potencial;
Arrozal

Resumen Los procesos microbianos como la mineralización, la nitrificación y la desnitrificación regulan la dinámica del nitrógeno en el suelo. Estos 2 últimos son los principales responsables de la emisión de óxido nitroso (N_2O). En este trabajo se determinaron los flujos de N_2O en momentos clave del ciclo de cultivo del arroz en 2 sitios que diferían principalmente en el contenido de materia orgánica del suelo (MO), en las localidades de Salto (mayor MO) y de Treinta y Tres. Dichos momentos clave fueron a la siembra, en macollaje, en primordio floral y a la madurez. También se determinó el potencial de mineralización neta de N y las actividades y los números más probables (NMP) de oxidantes de NH_4^+ y de desnitrificantes. El potencial de mineralización de N, así como la actividad y el NMP de oxidantes de NH_4^+ , no variaron con el tipo de suelo. Sin embargo, la actividad y el NMP de desnitrificantes fueron mayores en el suelo con mayor contenido de MO, independiente de la etapa del cultivo. A su vez, en las etapas finales del ciclo del cultivo, el NMP de desnitrificantes aumentó coincidiendo con el mayor potencial de mineralización y el mayor contenido de N mineral del suelo. Solo se observó un incremento en el flujo de N_2O en el suelo de Salto a la madurez del arroz y cuando el suelo ya había sido drenado (44,2 g N- N_2O /ha d, frente a 20,8 g N- N_2O /ha d en Treinta y Tres). Esta investigación señala la importancia de estudiar las emisiones en distintos tipos de suelos y de continuar la medición luego del drenaje del cultivo de arroz para la elaboración de los inventarios de gases de efecto invernadero.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: gillarze@fagro.edu.uy (G. Illarze).

KEYWORDS

Nitrous oxide;
Denitrification;
Ammonia oxidation;
Potential microbial
activity;
Rice field

Nitrous oxide emission, nitrification, denitrification and nitrogen mineralization during rice growing season in 2 soils from Uruguay

Abstract Microbial processes such as mineralization, nitrification and denitrification regulate nitrogen dynamics in the soil. The last two processes may produce nitrous oxide (N_2O). In this work N_2O fluxes were quantified at four moments of the rice cycle, sowing, tillering, panicle initiation and maturity, in two sites that differed mainly in their soil organic matter (OM) content, Salto (higher OM) and Treinta y Tres. Potential net N mineralization, ammonium oxidation and denitrification as well as the most probable numbers (MPN) of ammonia oxidizers and denitrifiers were determined. Potential N mineralization did not vary with the soil type and increased at rice maturity. Neither ammonia oxidation potential nor MPN were different among the soils. However, the soil with higher OM exhibited higher activity and MPN of denitrifiers, irrespective of the rice stage. In turn, at the latest phases of the crop, the MPN of denitrifiers increased coinciding with the highest mineralization potential and mineral N content of the soil. Significant differences in N_2O flux were observed in Salto, where the highest emissions were detected at rice maturity, after the soil was drained (44.2 vs 20.8 g $\text{N-N}_2\text{O}/\text{ha d}$ in Treinta y Tres). This work shows the importance of considering the soil type and end-of-season drainage of the rice field to elaborate GHGs (greenhouse gases) inventories.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Los procesos microbianos como la mineralización, la nitrificación y la desnitrificación regulan la dinámica del nitrógeno (N) en el suelo. La nitrificación, a través de la oxidación de amonio (NH_4^+), produce nitrato (NO_3^-), una forma móvil de N, que es la principal vía de pérdida de N por lixiviación y desnitrificación³⁵.

La oxidación de NH_4^+ y la desnitrificación en el suelo generan emisiones de óxido nitroso (N_2O), un potente gas de efecto invernadero (GEI). La oxidación de NH_4^+ es un proceso aerobio, pero cuando la provisión de oxígeno (O_2) es limitada se genera N_2O como subproducto, mientras que la desnitrificación se activa una vez que el O_2 ha sido consumido y se han generado microambientes anóxicos dentro del perfil del suelo³³.

El cultivo de arroz irrigado, que ocupa aproximadamente 160.000 ha en Uruguay¹, es considerado una fuente importante de metano, fundamentalmente, y de N_2O ¹⁸. Los arrozales proveen un ambiente especialmente propicio para la producción de N_2O debido a las variaciones frecuentes que experimentan los suelos a lo largo del ciclo del cultivo en términos de pH, presencia de compuestos orgánicos lábiles, contenido de humedad, disponibilidad de nutrientes y actividad microbiana⁴⁷. Asimismo, la existencia de interfases óxicas-anóxicas en los suelos cultivados con arroz favorece el acoplamiento entre los procesos de nitrificación y desnitrificación.

Dos de las principales áreas del cultivo de arroz en Uruguay se distribuyen en la zona este y norte¹. Los suelos de estas zonas poseen distintas propiedades fisicoquímicas y capacidad de anegamiento¹³, que podrían influir en la dinámica de las poblaciones y la actividad potencial de nitrificantes y desnitrificantes, así como en las formas minerales del N presentes en el suelo. Trabajos sobre las emisiones

de GEI en un arrozal del este uruguayo comprobaron que la máxima emisión de N_2O se produce luego de la aplicación de urea e inundación del cultivo al inicio del macollaje, y no se observaron emisiones de N_2O luego de 2 semanas de inundado el cultivo^{17,36}. Hasta el momento, no se cuenta con trabajos que hayan evaluado las emisiones de N_2O en la zona arrocería norte, ni con estudios sistemáticos de las actividades de mineralización, nitrificación y desnitrificación en estos suelos.

El objetivo de este trabajo fue comparar la emisión de N_2O y la actividad nitrificante y desnitrificante, así como el número de microorganismos responsables de dichos procesos y la mineralización neta de N, en momentos clave del ciclo del cultivo del arroz sembrado en 2 suelos con diferente contenido de materia orgánica (MO). La hipótesis planteada fue que el tipo de suelo y las prácticas de fertilización, inundación y drenado del cultivo incidirían en la emisión de N_2O , al afectar la actividad y el número de nitrificantes y desnitrificantes, y la disponibilidad de N mineral.

Materiales y métodos

Sitios de experimentación y manejo del cultivo

Los experimentos se realizaron en 2 arrozales durante la zafra de arroz 2013-2014, en los departamentos de Treinta y Tres (zona este de Uruguay) y de Salto (zona norte), en la Unidad Experimental Paso de la Laguna del INIA Treinta y Tres (33°15' S, 54°10' O), perteneciente a la unidad de suelo La Charqueada³, y en un predio comercial perteneciente a la unidad de suelo Itapebí-Tres Árboles (31°22' S, 57°27' O), respectivamente. Las propiedades fisicoquímicas de los suelos se resumen en la [tabla 1](#).

El cultivo de arroz (cv. El Paso L144), precedido por 3 años de pradera, se instaló con siembra directa a una den-

Tabla 1 Propiedades fisicoquímicas de los suelos de Salto y Treinta y Tres a la siembra

	Salto (norte)	Treinta y Tres (este)
<i>Tipo de suelo</i>	Vertisol háplico	Brunosol subeútrico típico
<i>Textura</i>	Arcillo-limoso	Arcillo-limoso
<i>pH (H₂O)</i>	5,6	5,7
<i>Materia orgánica (%)</i>	5,8	3,4
P-Bray 1 (ppm)	10	13
K (cmol/kg)	0,62	0,42
Mg (cmol/kg)	9,4	3,3
Ca (cmol/kg)	25,5	5,4
Na (cmol/kg)	0,64	0,83

sidad de 150 kg/ha. Se inundó en la etapa de macollaje y se realizó una fertilización nitrogenada fraccionada: a la siembra se agregó fosfato de amonio (18-46) 25 kg N/ha; las otras 2 fertilizaciones fueron con urea (23 kg N/ha).

La temperatura promedio durante el ciclo del cultivo fue 21,3 y 23,4 °C para Treinta y Tres y Salto, respectivamente. La precipitación acumulada durante el ciclo del cultivo para Treinta y Tres fue de 762 mm, 222 mm cayeron antes de la inundación. En Salto la precipitación fue de 882 mm y antes de la inundación se registraron 376 mm.

Muestreo de suelos

Se seleccionaron 4 parcelas completamente al azar y se tomaron 6 submuestras de suelo a 15 cm de profundidad para realizar una muestra compuesta. Los muestreos se realizaron en 4 oportunidades: a la siembra, en macollaje, en primordio floral y a la madurez del cultivo. Los 3 primeros se efectuaron al día siguiente de las fertilizaciones nitrogenadas programadas (solo en el estadio de primordio floral la fertilización se realizó en agua); el último muestreo fue anterior a la cosecha y posterior al drenado del suelo. Las muestras se mantuvieron a 5 °C para su posterior análisis. Con esas muestras se cuantificaron la actividad potencial y el NMP de microorganismos desnitrificantes y oxidantes de NH₄⁺, el potencial de mineralización de N (PMN) y el contenido de NH₄⁺ y NO₃⁻.

Emisión de N₂O

Los flujos de N₂O emitidos en las fechas de los muestreos se monitorizaron con la técnica de cámaras cerradas estáticas para arroz, descritas por Lindau et al.²⁵. Las cámaras consistieron en bases de acero inoxidable de 40 cm de diámetro y 20 cm de altura parcialmente insertas en el suelo (a 5 cm), que permanecieron instaladas durante todo el ciclo de cultivo. En correspondencia con cada fecha de muestreo del suelo se colocaron cilindros de acrílico de 60 cm de altura sobre las bases, con un sello de agua para evitar el escape de gases¹⁷. Las muestras de gases del interior de las cámaras se tomaron con jeringas plásticas de 25 ml a tiempo 0 y a los 20 y a los 40 min, y se almacenaron en tubos con vacío

(10 ml) hasta su análisis. Se registraron la temperatura de las cámaras, la profundidad del agua de inundación y la altura del espacio de aire en cada cámara para calcular los flujos de gases.

El análisis de N₂O se realizó con un cromatógrafo de gases Shimadzu 14B modificado con detector ECD (de captura electrónica) descrito por Perdomo et al.²⁹. La tasa de emisión del gas se calculó según Watanabe et al.⁴¹ y las medidas de 4 repeticiones de cada tratamiento fueron promediadas para determinar el valor final de emisión por tratamiento y fecha.

Actividades microbianas potenciales

El PMN se evaluó en anaerobiosis según Kandeler²¹. Tubos herméticos con 15 g de suelo fresco y 15 ml de agua destilada se incubaron una semana a 40 °C. Se agregó 15 ml de KCl 2 M y se filtró con papel Whatman n.º 41. El contenido de NH₄⁺ se determinó colorimétricamente según el método de Berthelot y se expresó como mg NH₄⁺-N/d kg de suelo seco (ss)³⁰.

La actividad potencial oxidante de NH₄⁺ se determinó según Kandeler²⁰, con algunas modificaciones: se utilizaron 10 ml de (NH₄)₂ SO₄ 1,33 mM, 0,05 ml de clorato de sodio 1,5 M y 2,5 ml de agua destilada estéril⁶. La suspensión se incubó a 28 °C en agitación a 200 rpm en un agitador orbital (Wishshake SHO-2D, Witeg, Alemania) durante 24 h y como controles se mantuvieron suspensiones de suelo a -20 °C. Luego de la incubación, se agregó KCl 2 M (15 ml), se centrifugó a 9.000 g y 0,5 ml del sobrenadante fueron resuspendidos en 0,5 ml de NH₄Cl 0,19 M. Se estimó el contenido de nitritos (NO₂⁻) mediante la reacción colorimétrica con los reactivos de Griess-Ilosvay, por espectrofotometría a 540 nm. La actividad se expresó como µg NO₂-N/d g ss.

La actividad potencial desnitrificante se determinó creando condiciones anaerobias y permitiendo la acumulación de N₂O por inhibición de la N₂O reductasa con acetileno¹². Se incubaron 4 g de suelo húmedo con 2 ml de glucosa 1 mM y 2 ml de KNO₃ 1 mM en viales herméticos. En cada vial se reemplazó la atmósfera por una mezcla de N₂ y C₂H₂. Se tomaron 3 muestras de gas durante el tiempo de incubación (2 h a 25 °C) para medir la producción de N₂O por cromatografía gaseosa. La actividad desnitrificante se expresó como µg N₂O/h g ss.

Recuento de microorganismos

Se realizaron recuentos de bacterias cultivables oxidantes de NH₄⁺ y desnitrificantes por la técnica de NMP para cada muestreo de suelo. Se suspendieron 10 g de suelo fresco en 90 ml de buffer fosfato y se realizaron diluciones seriadas de 1 en 10.

Para el recuento de microorganismos oxidantes de NH₄⁺ se utilizaron tubos con 4 ml de medio mineral con 5 g/l de (NH₄)₂ SO₄³¹. Los tubos se incubaron durante un mes en agitación a 28 °C. La presencia de NO₂⁻ revelada con los reactivos de Griess-Ilosvay permitió identificar los tubos de reacción positiva.

El recuento de microorganismos desnitrificantes se realizó utilizando tubos anaeróbicos con 5 ml de medio con extracto de carne 1,5 g/l, peptona 2,5 g/l y KNO₃ 0,25 g/l

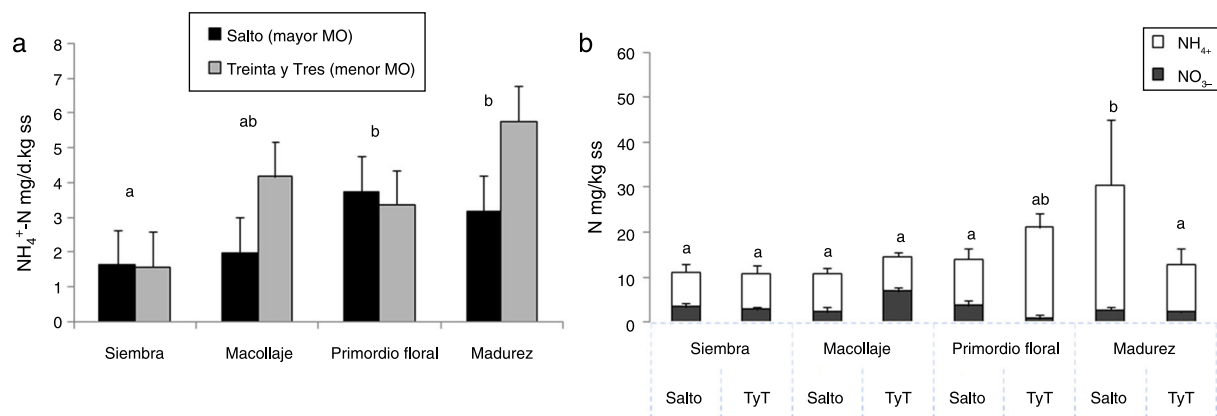


Figura 1 a) Actividad potencial de mineralización (mg NH₄⁺-N/d kg de suelo seco) en suelos de Salto y Treinta y Tres (TyT). b) Nitrógeno mineral (N-NH₄⁺ + N-NO₃⁻ mg/kg de suelo seco) en 4 momentos del cultivo de arroz. Las barras representan la media + el error estándar (n=4). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). El análisis en a se realizó por momento del cultivo de arroz, ya que no hubo efecto del tipo de suelo. En b hubo interacción entre el tipo de suelo y el momento del cultivo.

con buffer HEPES 1,25 g/l. La atmósfera se reemplazó con 90% de N₂ y 10% con C₂H₂, y los tubos se incubaron durante 2 semanas en oscuridad a 28 °C. Mediante cromatografía gaseosa se identificaron los tubos positivos, con presencia de N₂O³⁷. Tanto para el recuento de desnitrificantes como de oxidantes de NH₄⁺, los resultados se refirieron a tablas de probabilidad⁴³.

Amonio y nitrato

Al suelo húmedo (5 g) se le agregó 15 ml de KCl 2 M para su extracción, se agitó durante 30 min y posteriormente se filtró la suspensión con papel Whatman n.º 41. El contenido de NO₃⁻ se cuantificó tras la reducción a NO₂⁻ por una columna de cadmio y posterior determinación colorimétrica (reacción de Griess-Ilosvay)²⁸. El contenido de NH₄⁺ se cuantificó según Rhine et al.³⁰. El N mineral se calculó como la suma de NH₄⁺-N y NO₃⁻-N.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la relación entre estadio del cultivo y el tipo de suelo con las actividades potenciales, el NMP de microorganismos oxidantes de NH₄⁺ y desnitrificantes y el contenido de NH₄⁺ y NO₃⁻. Los datos de NMP fueron transformados a logaritmo en base 10 para su análisis. También se analizó la interacción entre los factores suelo × estadio del cultivo. Para detectar la presencia de diferencias significativas se realizaron un ANOVA con el test de Tukey ($p < 0,05$) y un análisis de correlación de Pearson; se utilizó el software estadístico Infostat¹⁵. Para todas las variables se presentan las medias de 4 repeticiones ± los errores estándar.

Resultados y discusión

Mineralización neta

La mineralización del N del suelo es un proceso clave para la provisión de este nutriente a la planta de arroz, ya que la

mayor parte de aquel es absorbido a partir de este proceso, aun en suelos fertilizados¹⁶. El PMN no presentó diferencias entre los suelos con distinto porcentaje de MO (fig. 1a), pero sí entre estadios diferentes del ciclo del cultivo de arroz. La mayor actividad potencial de mineralización se presentó en la etapa de primordio floral y de madurez del arroz (en promedio, 4,5 g NH₄⁺-N/d kg ss), y se diferenció significativamente del PMN a la siembra (en promedio, 1,6 g NH₄⁺-N/d kg ss).

La mineralización del N depende de múltiples factores y la cantidad de MO del suelo no parece ser el factor principal que afecta dicho proceso, según lo demuestran este ensayo y otros⁴⁵. A lo largo del ciclo del cultivo el contenido de raíces va en aumento y varían los exudados radicales y los restos celulares fácilmente degradables, hechos que podrían explicar el aumento de la mineralización hacia el final del ciclo de cultivo⁹.

La medición del PMN considera la mineralización neta, o sea, el aumento en el nitrógeno inorgánico en el suelo producto de la diferencia entre la mineralización bruta y la inmovilización. En el caso del suelo inundado, si bien se espera una menor mineralización bruta (transformación de N orgánico a inorgánico), también la inmovilización de N por microorganismos sería menor. También en otros estudios se encontró mayor mineralización en suelos inundados que en condiciones aeróbicas y se atribuyó a un menor requerimiento de N por la microflora debido a una mayor proporción de bacterias respecto de hongos y actinobacterias en los suelos inundados³⁸. El establecimiento de la inundación, por otro lado, pudo haber favorecido la muerte de algunos microorganismos, que constituirían un *pool* de N fácilmente mineralizable, y la reducción de Fe³⁺ que, a su vez, promueve la liberación de parte de la MO del suelo protegida por minerales y del NH₄⁺ fijado¹⁹.

En el suelo de mayor tenor de MO, el contenido de N mineral también fue significativamente mayor a la madurez del cultivo (30 mg/kg ss) y difirió entre suelos solamente en esa etapa (fig. 1b). Como era de esperar, la mayor parte del N mineral se encontró bajo la forma de NH₄⁺ en estos suelos, inundados después del macollaje (fig. 1b). La mineralización determina el N potencialmente disponible para la planta y,

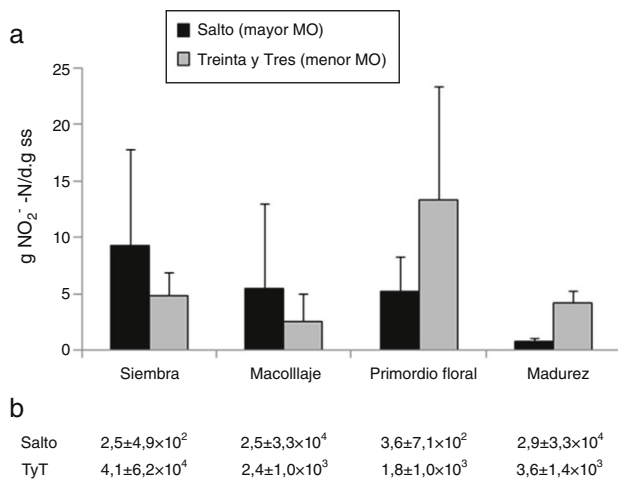


Figura 2 a) Actividad potencial de oxidación de NH_4^+ ($\mu\text{g NO}_2^- \text{ N/d g}$ de suelo seco). b) Número más probable de oxidantes de NH_4^+ /g de suelo seco en: suelo de Salto y suelo de Treinta y Tres (TyT), en 4 momentos del cultivo de arroz. Las barras representan la medias $\pm$ el error estándar ($n=4$). Las diferencias entre suelos y momentos del cultivo de arroz no fueron significativas.

en caso de no ser usado por esta, ese N puede perderse del suelo por volatilización o por desnitrificación, luego de la nitrificación.

Oxidación de amonio

La oxidación de NH_4^+ a NO_2^- es el primer paso de la nitrificación. No hubo efecto del suelo ($p=0,6$) ni del momento del ciclo del cultivo ($p=0,10$) sobre la actividad potencial y el NMP de oxidantes de NH_4^+ en condiciones de campo (fig. 2).

El NMP de oxidantes de NH_4^+ estuvo en el orden de entre 10^2 a 10^4 /g ss (fig. 2b). Números similares fueron encontrados en arrozales tropicales y con diferentes manejos⁸. Los oxidantes de NH_4^+ son microorganismos de crecimiento lento²² y solo una pequeña proporción de estos son cultivables³⁴, de modo que emplear la técnica del NMP para estimar estas poblaciones representa una limitación metodológica. En un estudio con los mismos suelos analizados en este trabajo, pero con técnicas independientes del cultivo, como la amplificación por qPCR del gen de la amonio monooxigenasa, se estimó una población del orden de 10^5 a 10^7 bacterias oxidantes de NH_4^+ ⁴.

Hay comunicaciones que indican que la actividad potencial se relacionaría con la abundancia de bacterias oxidantes de NH_4^+ ⁴⁰, pero otras documentan la ausencia de tal relación⁷. Muchos trabajos muestran que la actividad o el número de oxidantes de NH_4^+ es relativamente estable y resiliente frente a cambios en las condiciones ambientales^{32,42}.

Yang et al.⁴⁴ sostienen que tanto la mineralización como la nitrificación en suelos inundables serían insensibles a cambios en la concentración de O_2 disponible. Glaser et al.¹⁰ indican que, debido a su crecimiento lento, un aumento en el número de oxidantes de NH_4^+ solo se percibiría unos 21 días después del aumento en la concentración de NH_4^+ . Y dado que en este estudio la concentración de NH_4^+ aumentó recién en la cosecha (fig. 1b), es probable que de haberse

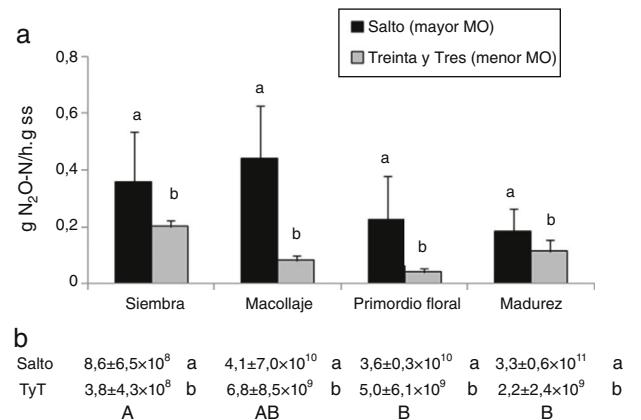


Figura 3 a) Actividad de la enzima desnitrificante ($\mu\text{g N}_2\text{O-N/h g}$ de suelo seco). b) Número más probable de desnitrificantes /g de suelo seco en: suelo de Salto y suelo de Treinta y Tres (TyT), en 4 momentos del cultivo de arroz. Las barras representan la medias $\pm$ el error estándar ($n=4$). Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre suelos ($p < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas por momento del cultivo para ambos suelos ($p < 0,05$).

producido un aumento en la cantidad de oxidantes, este no hubiese sido detectado en los muestreos anteriores a dicho estadio.

Desnitrificación

La abundancia y la actividad de los microorganismos desnitrificantes ha sido ampliamente estudiada en arrozales, donde las condiciones del cultivo favorecen este proceso²⁴. En este estudio, el suelo de Salto (con mayor contenido de MO) presentó mayor actividad potencial y NMP de desnitrificantes, independientemente del estadio del ciclo del cultivo del arroz (fig. 3). Las poblaciones responsables de este proceso en el suelo de Salto se ubicaron en el orden de 10^{11} y en el de Treinta y Tres en el orden de 10^9 , considerando el promedio de todas las etapas del cultivo. Estos microorganismos fueron significativamente más abundantes en ambos suelos en el estadio de primordio floral y madurez del cultivo con el suelo inundado, respecto del momento de la siembra en seco (fig. 3b). Kravchenko y Yu encontraron valores de NMP del orden de 10^6 para suelos arroceros de Arkansas²³, donde la forma de cultivo es parecida a la de Uruguay, mientras que los NMP fueron más bajos en arrozales tropicales de India⁸.

La desnitrificación heterótrofa es afectada por la disponibilidad de fuentes de C, la concentración de NO_3^- , la disponibilidad de O_2 , el pH y la temperatura¹¹. En este estudio se usó glucosa como fuente de C para la estimación de la actividad potencial. Algunos autores cuestionan el empleo de glucosa y sostienen que la relación $\text{N}_2/\text{N}_2\text{O}$ es menor cuando se usan ácidos dicarboxílicos, compuestos que secretan las raíces²⁷.

Los desnitrificantes son microorganismos que reducen NO_3^- a compuestos gaseosos (NO , N_2O y N_2) y la técnica del NMP utilizada en este trabajo no puede distinguir entre los que realizan la reducción completa a N_2 o solo hasta N_2O .

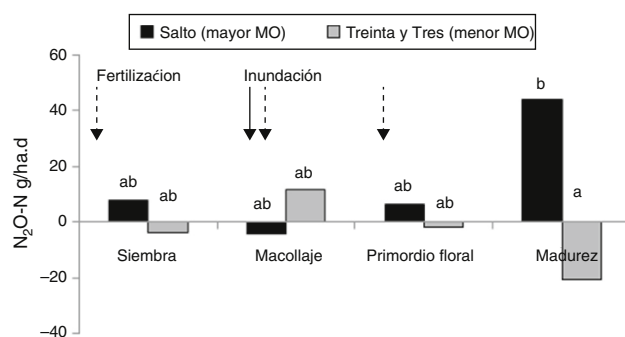


Figura 4 Flujo de N₂O del cultivo de arroz en suelo de Salto y Treinta y Tres. Las barras representan la media del flujo calculado a partir de 4 cámaras estáticas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre suelos y por momento del cultivo de arroz ($p < 0,05$).

El suelo de Salto presentó mayor potencial desnitrificante que el de Treinta y Tres ($0,3$ contra $0,1 \mu\text{g/g ss}$, $p = 0,0004$) (fig. 3a); su mayor contenido de MO podría sustentar una alta actividad desnitrificante heterótrofa. La desnitrificación no solo se ve favorecida con altos contenidos de MO, sino también por la fertilización nitrogenada y las condiciones limitantes de O₂⁵.

En este trabajo no hubo correlación entre el NMP de desnitrificantes, el potencial de desnitrificación y el contenido de NO₃⁻ en ninguno de los suelos analizados (datos no mostrados), aunque dada la versatilidad metabólica de los desnitrificantes y las limitaciones de la técnica de NMP, no siempre se detecta coincidencia entre abundancia y actividad de estos microorganismos⁴⁶.

Emisión de N₂O

La emisión de N₂O se observa en la figura 4. No se constataron diferencias significativas en los flujos de N₂O al comparar los 2 sitios experimentales, salvo en el último muestreo, cuando el arrozal de Salto emitió más N₂O que el de Treinta y Tres: $44,2 \text{ N-N}_2\text{O/ha d}$ y $-20,8 \text{ g N-N}_2\text{O/ha d}$, respectivamente (fig. 4). En la madurez del cultivo, ambos suelos se encontraban drenados, pero el de Salto presentaba mayor pendiente ($1,4\%$, comparado con el $0,8\%$ del suelo de Treinta y Tres) y, probablemente, un drenado más rápido explicaría el pico de emisión de N₂O. Este aumento en la emisión de N₂O luego de drenado el cultivo también ha sido reportado por otros autores^{2,17}. Irisarri et al. atribuyen este evento a la liberación del N₂O atrapado en el suelo y a las condiciones redox óptimas para la producción de N₂O¹⁷. Por otro lado, el aumento en la emisión de N₂O a la madurez del cultivo podría deberse al aumento en la mineralización del N³⁹, que coincide con el mayor contenido de N mineral (fig. 1) en el suelo de Salto. La mayor disponibilidad de N mineral en el suelo podría estimular los procesos de nitrificación y desnitrificación implicados en la producción de N₂O.

Si bien se observaron flujos promedios negativos en algunos de los muestreos, la alta variabilidad de las emisiones no permitió detectar diferencias entre las distintas fechas. Majumdar revisó la capacidad de los suelos de arrozales de actuar como sumideros de N₂O y encontró mayor capacidad de consumo de N₂O en suelos inundados²⁶. En contraste

con los resultados obtenidos en este trabajo, ensayos previos realizados en la localidad de Treinta y Tres evidenciaron picos de N₂O en la etapa vegetativa del arroz^{17,36}. Si bien en este estudio se consideraron los posibles momentos con máxima emisión, no pudieron observarse esos picos en los momentos de muestreo. Tampoco se encontró correlación entre la emisión de N₂O y las actividades potenciales ni la abundancia de oxidantes de NH₄⁺ o desnitrificantes en ninguno de los suelos (datos no mostrados). Hou et al. no encontraron correlación entre la emisión de N₂O y el NMP de desnitrificantes¹⁴, mientras que Das y Adhya encontraron una correlación positiva entre el N₂O emitido y la actividad y el número de nitrificantes y desnitrificantes⁸.

Como conclusión, el suelo de Salto, con mayor contenido de MO, presentó un mayor potencial de desnitrificación, un mayor NMP de desnitrificantes y emitió más N₂O a la madurez del cultivo que el suelo de Treinta y Tres. En ese momento del ciclo del cultivo, el suelo con mayor proporción de MO también presentó un mayor contenido de N mineral.

Los estudios de emisiones de GEI se han concentrado en Uruguay en la zona de Treinta y Tres, tradicional para el cultivo de arroz. En este trabajo se comprobó que el suelo de Salto presentó un comportamiento diferente, lo que estimula a estudiar otros tipos de suelos y a continuar las mediciones luego del drenaje del cultivo del arroz. Investigaciones de ese tipo contribuirían a la elaboración del inventario nacional de GEI y al cálculo de la huella de C del arroz uruguayo.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este trabajo fue financiado por CSIC U. de la R. (proyecto I+D, responsable P.I.) y por una beca de Maestría (ANII) a G.I.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Agradecemos a J. Terra (INIA Treinta y Tres) y a B. Bocking por los ensayos de campo y a G. Pérez, G. Gordillo y P. Gutiérrez por su colaboración con los ensayos de laboratorio. También agradecemos a S. Tarlera y L. Frioni por sus comentarios sobre el trabajo.

Bibliografía

1. aca.com.uy [Internet]. Uruguay: Informe Arroceros de Uruguay XXI. [actualizado dic 2013] [consultado 10 Ene 2017]. Disponible en: <http://www.aca.com.uy/datos-estadisticos>
2. Adviento-Borbe MA, Padilla GN, Pittelkow CM, Simmonds M, van Kessel C, Linquist B. Methane and nitrous oxide emissions from flooded rice systems following the end-of-season drain. *J Environ Qual*. 2015;44:1071–9.
3. Altamirano A, da Silva H, Duran A, Echevarría A, Panario D, Puentes R. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay. Tomo I. Clasificación de suelos. Montevideo: Ministerio de Agricultura y Pesca; 1976. p. 45.
4. Azziz G, Trasante T, Monza J, Irisarri P. The effect of soil type, rice cultivar and water management on ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations. *Appl Soil Ecol*. 2016;100:8–17.
5. Bakken LR, Bergaust L, Liu B, Frostegard A. Regulation of denitrification at the cellular level: A clue to the understanding of N_2O emissions from soils. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2012;367:1226–34.
6. Belser LW, Mays EL. Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments. *Appl Environ Microbiol*. 1980;39:505–10.
7. Boyle-Yarwood S, Bottomley PJ, Myrold DD. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils under stands of red alder and Douglas fir in Oregon. *Environ Microbiol*. 2008;11:2956–65.
8. Das S, Adhya TK. Effect of combine application of organic manure and inorganic fertilizer on methane and nitrous oxide emissions from a tropical flooded soil planted to rice. *Geoderma*. 2014;213:185–92.
9. Ghosh P, Kashyap AK. Effect of rice cultivars on rate of N-mineralization, nitrification and nitrifier population size in an irrigated rice ecosystem. *Appl Soil Ecol*. 2003;1: 27–41.
10. Glaser K, Hackl E, Inselsbacher E, Strauss J, Wanek W, Zechmeister-Boltenstern S, Sessitsch A. Dynamics of ammonia-oxidizing communities in barley-planted bulk soil and rhizosphere following nitrate and ammonium fertilizer amendment. *FEMS Microbiol Ecol*. 2010;3:575–91.
11. Groffman PM, Butterbach-Bahl K, Fulweiler RW, Gold AJ, Morse JL, Stander EK, Tague CL, Tonitto C, Vidon P. Challenges to incorporating spatially and temporally explicit phenomena (hotspots and hot moments) in denitrification models. *Biogeochemistry*. 2009;93:49–77.
12. Guynot ME, Toribio A, Quevedo M, Muxí L. Microflora of dissimilative nitrate reduction in a denitrifying reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1998;50:396–400.
13. Hernández J, Berger A. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. En: Programa Nacional de Arroz. Investigaciones agronómicas: reporte técnico anual 2003: área cultivos. Treinta y Tres (Uruguay): INIA; 2003. p. 34–40, cap. 3, (INIA Reporte Técnico Anual; 01).
14. Hou AX, Chen GX, Wang ZP, Van Cleemput O, Patrick WH Jr. Methane and nitrous oxide emissions from rice field in relation to soil redox and microbiological processes. *Soil Sci Soc Am J*. 2000;64:2180–6.
15. Infostat.com.ar [internet] Córdoba: Grupo InfoStat software estadístico 2013 [actualizado 17 nov 2016] [consultado 08 Ago 2016]. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
16. Irisarri P, Gonnet S, Deambrosi E, Monza J. Cyanobacterial inoculation and nitrogen fertilization in rice. *World J Microbiol Biotechnol*. 2007;23:237–42.
17. Irisarri P, Pereyra V, Fernández A, Terra J, Tarlera S. CH_4 and N_2O emissions in a rice field: First measurements in the Uruguayan productive system. *Agrociencia*. 2012;16:1–10.
18. Irisarri P, Perdomo C. Emisiones de gases de efecto invernadero por suelos agrícolas. En: Irisarri P, editor. Emisiones de metano y óxido nítrico: principales gases de efecto invernadero producidos por el sector agropecuario en Uruguay. Montevideo: Universidad de la República; 2009. p. 1–29.
19. Kader MA, Sleutel S, Begum SA, Moslehuddin AZM. Nitrogen mineralization in sub-tropical paddy soils in relation to soil mineralogy, management, pH, carbon, nitrogen and iron contents. *Eur J Soil Sci*. 2013;1:47–57.
20. Kandeler E. Potential Nitrification. En: Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, Margesin R, editores. *Methods in soil biology*. Berlin: Springer-Verlag; 1996. p. 146–9.
21. Kandeler E. N-mineralization under waterlogged conditions. En: Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, Margesin R, editores. *Methods in soil biology*. Berlin: Springer-Verlag; 1996. p. 141–3.
22. Kowalchuk GA, Stephen JR. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annu Rev Microbiol*. 2001;1:485–529.
23. Kravchenko IK, Yu K. Relationship between major soil properties and culturable microorganisms affecting CH_4 and N_2O dynamics in rice soils. *Arch Agron Soil Sci*. 2006;6:607–15.
24. Lan T, Han Y, Cai Z. Denitrification and its product composition in typical Chinese paddy soils. *Biol Fertil Soils*. 2015;1: 89–98.
25. Lindau CW, Bollich PK, Delaune RD, Patrick WH, Law VJ. Effect of urea fertilizer and environmental factors on CH_4 emissions from a Louisiana, USA rice field. *Plant Soil*. 1991;136: 195–203.
26. Majumdar D. Biogeochemistry of N_2O uptake and consumption in submerged soils and rice fields and implications in climate change. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 2013;43:2653–84.
27. Morley NJ, Richardson DJ, Baggs EM. Substrate induced denitrification over or underestimates shifts in soil N_2/N_2O ratios. *PLoS ONE*. 2014;9:e108144.
28. Mulvaney RL. Nitrogen—inorganic forms. En: Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RH, Soltanpour PN, Tabatabai MA, Johnston CT, Sumner ME, Bartels JM, editores. *Methods of soil analysis. Part 3: Chemical methods*. Madison: Wisconsin, SSSA; 1996. p. 1123–84.
29. Perdomo C, Irisarri P, Ernst O. Nitrous oxide emissions from an Uruguayan argiudoll under different tillage and rotation treatments. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 2009;84:119–28.
30. Rhine ED, Mulvaney RL, Pratt EJ, Sims GK. Improving the Berthelot reaction for determining ammonium in soil extracts and water. *Soil Sci Soc Am J*. 1998;2:473–80.
31. Schmidt EL, Belser LW. Autotrophic nitrifying bacteria. En: Weaver RW, Angle S, Bottomley P, Bezdek D, Smith S, Tabatabai A, Wollum A, Mickelson SH, editores. *Methods of soil analysis. Part 2: Microbial and biochemical properties*. Madison: Wisconsin, SSSA; 1994. p. 159–76.
32. Sher Y, Zaady E, Nejidat A. Spatial and temporal diversity and abundance of ammonia oxidizers in semi-arid and arid soils: Indications for a differential seasonal effect on archaeal and bacterial ammonia oxidizers. *FEMS Microbiol Ecol*. 2013;3:544–56.
33. Smith K, Ball T, Conen F, Dobbie K, Massheder J, Rey A. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: Interactions of soil physical factors and biological processes. *Eur J Soil Sci*. 2003;54:779–91.
34. Smith Z, McCaig AE, Stephen JR, Embley TM, Prosser JL. Species diversity of uncultured and cultured populations of soil and marine ammonia oxidizing bacteria. *Microb Ecol*. 2001;3:228–37.
35. Subbarao G, Ito O, Sahrawat K, Berry W, Nakahara K, Ishikawa T, Watanabe T, Suenaga K, Rao I. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems—Challenges and opportunities. *CRC Crit Rev Plant Sci*. 2006;25: 303–35.

36. Tarlera S, Capurro MC, Irisarri P, Fernández A, Roel A. Yield-scaled global warming potential of two irrigation managements in a highly productive rice system. *Sci Agric*. 2016;73: 43–50.
37. Tiedje. Denitrifiers. En: Weaver RW, Angle S, Bottomley P, Bezdicsek D, Smith S, Tabatabai A, Wollum A, Mickelson SH, editores. *Methods of soil analysis. Part 2: Microbial and biochemical properties*. Madison: Wisconsin, SSSA; 1994. p. 245–67.
38. Vityakon P, Dangthaisong N. Environmental influences on nitrogen transformation of different quality tree litter under submerged and aerobic conditions. *Agrofor Syst*. 2005;63: 225–36.
39. Von Arnold K, Nilsson M, Hånell B, Weslien P, Klemetsson L. Fluxes of CO₂, CH₄ and N₂O from drained organic soils in deciduous forests. *Soil Biol Biochem*. 2005;37:1059–71.
40. Wang S, Wang Y, Feng X, Zhai L, Zhu G. Quantitative analyses of ammonia-oxidizing Archaea and bacteria in the sediments of four nitrogen-rich wetlands in China. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;2:779–87.
41. Watanabe T, Chairaj P, Tsuruta H, Masarngsan W, Wongwiwatchai C, Wonprasaid S, Cholitkul W, Minami K. Nitrous oxide emissions from fertilized upland fields in Thailand. *Nutr Cycl Agroecosys*. 2000;58:55–65.
42. Wertz S, Leigh AK, Grayston SJ. Effects of long-term fertilization of forest soils on potential nitrification and on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;1:142–54.
43. Woomer PL. Most probable number counts. En: Weaver RW, Angle S, Bottomley P, Bezdicsek D, Smith S, Tabatabai A, Wollum A, Mickelson SH, editores. *Methods of soil analysis. Part 2: Microbial and biochemical properties*. Madison: Wisconsin, SSSA; 1994. p. 60–78.
44. Yang Y, Zhang J, Cai Z. Nitrification activities and N mineralization in paddy soils are insensitive to oxygen concentration. *Acta Agric Sc and B Soil Plant Sci*. 2016;3:272–81.
45. Yeasmin S, Islam AM, Islam AA. Nitrogen fractionation and its mineralization in paddy soils: A review. *J Agr Sci Tech*. 2012;3:775–93.
46. Yin C, Fan F, Song A, Li Z, Yu W, Liang Y. Different denitrification potential of aquatic brown soil in Northeast China under inorganic and organic fertilization accompanied by distinct changes of *nirS* - and *nirK* -denitrifying bacterial community. *Eur J Soil Biol*. 2014;65:47–56.
47. Yu KW, Patrick WH. Redox window with minimum global warming potential contribution from rice soil. *Soil Sci Soc Am J*. 2004;68:2086–91.