



COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS EJERCIDOS POR LOS BIOFERTILIZANTES, LOS FERTILIZANTES NPK Y LOS MÉTODOS DE CULTIVO SOBRE LA RESPIRACIÓN DEL SUELO EN EL SUELO DE CHERNOZEM

COMPARISON OF EFFECTS EXERTED BY BIO-FERTILIZERS, NPK FERTILIZERS,
AND CULTIVATION METHODS ON SOIL RESPIRATION IN CHERNOZEM SOIL

Bence Mátyás¹ , Daniel A. Lowy^{1,2} , Ankit Singla³ , Jesus R. Melendez⁴  y
Zsolt Sándor⁵ 

¹ Dama Research Center limited, 87-105 Chatham road South, Tsim Sha Tsui Kowloon, Hong Kong.

² VALOR HUNGARIAE, Ltd., 4 Nagysándor József Street, H-1054, Budapest, Hungary.

³ Regional Centre of Organic Farming Department of Agriculture, Cooperation and Farmers Welfare, Ministry of Agriculture & Farmers Welfare, Government of India. Bhubaneswar, Odisha, India.

⁴ Facultad Educación Técnica para el Desarrollo, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador.

⁵ Institute of Agrochemistry and Soil Science, University of Debrecen, Egyetem tér 1, 4032 Hungría, Debrecen, Hungary.

*Corresponding author: bmatyas@edu.damaresearch.com

Manuscrito recibido el 15 de febrero de 2020. Aceptado, tras revisión, el 5 de abril de 2020. Publicado el 1 de septiembre de 2020.

Resumen

La respiración del suelo es un indicador importante de la actividad microbiana; los procesos de respiración y descomposición del suelo a nivel mundial liberan anualmente a la atmósfera un total de 220 mil millones de toneladas de dióxido de carbono. Por lo tanto, los estudios sobre los aspectos del ciclo del carbono del suelo para optimizar las emisiones de dióxido de carbono agrícola o mejorar el secuestro de carbono contribuyen una práctica agrícola sostenible. En este artículo se presentan los efectos de la aplicación de biofertilizantes (*Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans*, y *Pseudomonas putida*) en la respiración del suelo, en el suelo chernozem. Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental de Látókép, perteneciente a la Universidad de Debrecen, Hungría. Además, estos resultados se compararon con los hallazgos de estudios anteriores relacionados con aplicaciones comerciales de fertilizantes NPK (en cuatro dosis: $N_{60}P_{45}K_{45}$; $N_{120}P_{90}K_{90}$; $N_{180}P_{135}K_{135}$; y $N_{240}P_{180}K_{180}$), y dos métodos de cultivo (arado, aflojado, RTK en filas y RTK entre filas); estas investigaciones se llevaron a cabo en la misma estación experimental. Los resultados indican una menor tendencia a la respiración del suelo cuando se aplican biofertilizantes en comparación con los fertilizantes NPK comerciales, lo que permite disminuir la emisión de CO₂ en el medio ambiente. También se discutió un cambio unitario en los diferentes métodos basados en la absorción de álcalis (Oxitol y Witkamp) para facilitar la comparación de los datos adquiridos recientemente con los resultados anteriores de experimentos de fertilización a largo plazo.

Palabras clave: Respiración del suelo, CO_2 , biofertilizantes, fertilizantes, suelo chernozem, respiración del suelo, Hungría, Ecuador

Abstract

Soil respiration is a significant indicator of soil microbial activity; global soil respiration and decomposition processes release yearly to the atmosphere a total of 220 billion tons of carbon dioxide. Therefore, studies on the whole- or one particular aspect of soil carbon cycle aiming at optimizing agricultural carbon dioxide emissions or improving carbon sequestration contribute to a sustainable agriculture practice. In this paper we present the effects of biofertilizer application (*Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans*, and *Pseudomonas putida*) on soil respiration in chernozem soil. Experiments were performed at Látókép Experimental Station, belonging to the University of Debrecen, Hungary. Additionally, we compare our results with findings of prior studies related to commercial NPK fertilizer applications (in four doses: $N_{60}P_{45}K_{45}$; $N_{120}P_{90}K_{90}$; $N_{180}P_{135}K_{135}$; and $N_{240}P_{180}K_{180}$), and two different cultivation methods (ploughed, loosened, RTK in rows, and RTK between rows); these investigations were conducted at the same experimental station. Our results indicate lower tendency for soil respiration, when biofertilizers are applied as compared to commercial NPK fertilizers, which enables to decrease CO_2 emission in the environment. We also discuss a unit change in different alkali absorption-based methods (Oxitop and Witkamp) to facilitate comparability of recently acquired data with results of previous long-term fertilization experiments.

Keywords: Soil respiration, CO_2 , biofertilizer, fertilizer, chernozem soil, soil respiration, Hungary, Ecuador.

Forma sugerida de citar: Mátyás, B., Lowy, D., Singla, A., Melendez, J.R., y Sándor, Z. (2020). Comparación de los efectos ejercidos por los biofertilizantes, los fertilizantes NPK y los métodos de cultivo sobre la respiración del suelo en el suelo de Chernozem. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 32(2):8-18. <http://doi.org/10.17163/lgr.n32.2020.01>.

IDs Orcid:

Bence Mátyás: <http://orcid.org/0000-0003-2694-1848>

Daniel A. Lowy: <http://orcid.org/0000-0003-2210-6757>

Ankit Singla: <http://orcid.org/0000-0002-0400-2885>

Jesus R. Melendez: <http://orcid.org/0000-0001-8936-5513>

Zsolt Sándor: <http://orcid.org/0000-0002-6969-5192>

1 Introducción

El aumento de las emisiones de CO_2 contribuye al cambio climático mundial (Gratani y col., 2016; Ashok y col., 2019). Desafortunadamente, los niveles de dióxido de carbono exceden la tasa de respuesta de la Tierra para asimilar y procesar la emisión dentro del ciclo del carbono (Lajtha y col., 2017). Por lo tanto, se deben abordar un conjunto de desafíos de sostenibilidad tanto en las zonas urbanas (Elmqvist, Andersson y Frantzeskaki, 2019) como en las rurales (Lowy y Mátyás, 2020). Si se considera que más del 50% de la población mundial se concentra en las zonas urbanas, y se espera que para el año 2050 más de dos tercios vivan en ciudades, entonces es necesario reducir la concentración de CO_2 en la atmósfera (Gratani y col., 2016). Además, la agricultura debe ser cada vez más productiva para satisfacer las crecientes necesidades alimentarias de las personas que viven en las zonas urbanas. Vermeulen, Campbell e Ingram (2012) evaluaron las emisiones de carbono en todas las etapas del sistema alimentario global e informaron que el sistema alimentario (desde la aplicación y el cultivo de fertilizantes hasta el almacenamiento y envasado de alimentos) y es responsable de hasta un tercio de la emisión de gases antropogénicos de efecto invernadero (Thornton, 2012). Por lo tanto, se propusieron alternativas y estrategias viables basadas en materiales absorbentes de la biomasa (Moral y col., 2018) y soluciones agrícolas sostenibles.

La concentración atmosférica global de dióxido de carbono (CO_2), que oscila entre 278 y 391 ppm, el óxido nitroso (N_2O), de 2,5 a 1803 ppb, metano (CH_4), de 270 a 342 ppb (Team, Pachauri y Meyer, 2014) y los gases fluorados han mostrado un aumento continuo desde los tiempos preindustriales y contribuyen significativamente al calentamiento global, como lo menciona el Grupo Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC). Desafortunadamente, las concentraciones atmosféricas de gas de efecto invernadero (GEI) siguen aumentando, y de estos GEI la concentración de CO_2 está aumentando significativamente. Para mantener el calentamiento global por debajo de los $2^\circ C$ en relación con los niveles preindustriales, para 2050 se deberían reducir las emisiones mundiales antropogénicas de GEI en un 40%, en relación con 2010. Además, se prevé el aumento de las reservas de carbono biológicos existentes para el secuestro de carbono (Team,

Pachauri y Meyer, 2014).

Las tendencias globales permiten la implementación de alternativas para mitigar la producción de CO_2 y ayudar a convertir la biomasa de las algas en biocombustibles para la sustitución de los combustibles fósiles (Eloka-Eboka e Inambao, 2017). Se analizó el secuestro de CO_2 en el contexto de los fertilizantes presentes, la carga de $NaCl$ y $NaOH$, la intensidad de la luz y sus efectos sobre el crecimiento de la biomasa de las algas, la productividad lipídica y el secuestro de CO_2 . La agricultura contribuye a tres emisiones primarias de GEI: CO_2 , CH_4 y N_2O . Es importante mencionar que el suelo puede ser considerado como un sumidero para el CO_2 a través del secuestro de carbono y su conversión en productos de biomasa y materia orgánica del suelo (Johnson y col., 2007; Fekete y col., 2014). Por ejemplo, se ha propuesto un cambio del uso de prácticas de labranza convencionales a prácticas menos intensivas (por ejemplo, sin labranza) para reducir la emisión de CO_2 de los suelos. En las zonas mediterráneas, se observó un aumento de la reserva de carbono en el suelo al reducir o eliminar la labranza (Álvaro Fuentes y Cantero Martínez, 2010). Xiao y col. (2020) reportaron los resultados sobre la adición de N en la respiración del suelo (RS) en un 7,1% ($P < 0.05$) en todos los biomas. La respuesta positiva de SR en las tierras de cultivo (27,0%, $P < 0,05$) fue significativamente mayor que en los biomas de pastizales y bosques, lo que indica que el SR en los ecosistemas antropogénicos podría ser más sensible al enriquecimiento de nitrógeno. Sin embargo, todavía no queda claro si existe un patrón similar en la respuesta de SR y de sus componentes a la deposición de N en los pastizales con un estado de degradación variable (Zeng y col., 2018).

Los experimentos recientes realizados con compostos de carbonato en suelos calcáreos sintéticos tratados con cenizas de biomasa procedentes de una planta de energía de gasificación, mostraron que se fijaban 16,5 g de CO_2 por kg de ceniza de biomasa. Sin cultivo de plantas se fijaron 19,7 g de CO_2 por kg de biomasa (López, Díaz y González-Pérez, 2018). Esta fijación de carbono orgánico es positiva para el secuestro de carbono. Otro tema importante en el ciclo del carbono del suelo es el grado de respiración del suelo (Kotrocó y col., 2018; Fekete y col., 2011), que es un indicador fiable de la actividad microbiana en el suelo. El suelo, la respiración

y la descomposición del suelo, las plantas y los animales con el 28,56% de las emisiones naturales de CO_2 son la segunda fuente de CO_2 después del intercambio atmosférico oceánico. Ambos procesos (respiración y descomposición) liberan dióxido de carbono como subproducto, equivalente a 220 millones de toneladas de CO_2 liberados por los organismos del suelo durante un año. Los procesos de respiración del suelo suelen ocurrir en las raíces de los vegetales, en las bacterias, los hongos y los animales terrestres para producir la energía necesaria para su supervivencia. También se considera como respiración del suelo la que va debajo del suelo, es decir, la descomposición de la materia orgánica enterrada (como raíces, hojas y animales). El dióxido de carbono se libera en ambos procesos (Denman y col., 2007).

También se debe tomar en cuenta el aumento de la deposición atmosférica del nitrógeno (N), que afecta al carbono (C) y al ciclo de nutrientes en los ecosistemas forestales. Peng y col. (2020) indican que la alta tasa de N aumentó el contenido de C en la superficie del suelo al reducir la respiración del suelo. Esto ocurrió principalmente por una mejor estabilización de la materia orgánica del suelo, en lugar de una reducción de la biomasa microbiana del suelo.

La investigación llevada a cabo por (Chen y col., 2020) estableció que las enzimas extracelulares implicadas en el ciclo C, N y P no respondieron a la adición de N. Las concentraciones de Ca^{2+} extraíble del suelo se redujeron al añadir N, mientras que los otros cationes extraíbles (Fe^{3+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^+ , y Na^+) no se vieron afectados. El carbono conferido por la biomasa microbiana y la abundancia total de microbios, bacterias y hongos (ácido graso fosfolípido y PLFA) se redujo por la adición de nitrógeno, pero las enzimas extracelulares involucradas en el ciclo C, N y P no respondieron a la adición de nitrógeno. En los bosques, la acumulación de residuos microbianos y su relación con la acumulación de carbono orgánico en el suelo se ha visto afectada por la adición de N y P, a lo largo de un plazo de siete años, lo que produjo cambios tanto en la estructura de la comunidad microbiana como en la actividad enzimática inducida por la sedimentación de N y P. Todo esto puede alterar la acumulación y composición de residuos microbianos en los bosques tropicales ricos en nitrógeno. La

proporción de hongos también sufrió cambios: la población de bacterias aumentó por la adición de P, o N y P, mientras que la proporción de residuos de hongos, incluyendo los residuos bacterianos, disminuyó al agregar fósforo. Esto último puede estar relacionado con un desequilibrio en el proceso de descomposición de los residuos microbianos.

Li y col. (2020) encontraron que las poblaciones de C y N estaban relacionadas con la profundidad del suelo, la duración de la conversión y la precipitación, mientras que la respuesta de P fue insensible a estos factores. También observaron que las pérdidas de C, N y P estuvieron correlacionadas con las propiedades fisicoquímicas del suelo (pH, arena, limo y arcilla). Los cambios en las relaciones de respuesta de C/N, C/P y N/P indicaron que los suelos C y N eran más sensibles a la conversión de pastizales comparado con el fósforo.

Existen diferentes investigaciones científicas que se centran en las emisiones de GEI, basadas en la evaluación de diferentes factores, como los tipos de suelo, el cultivo, el riego y la gestión de fertilizantes (Glatzel, Basiliko y Moore, 2004; Kong y col., 2013; Singla y col., 2014; Singla e Inubushi, 2014). Los diferentes usos de la tierra afectan significativamente a la producción y el consumo de GEI (Baldock y col., 2012), incluyendo la temperatura del suelo (Rustad y col., 2001), la humedad del suelo (Inubushi, Sakamoto y Sawamoto, 2005), y la relación carbono/nitrógeno total del suelo (C/N). Los cambios de temperatura pueden aumentar la tasa de descomposición del carbono orgánico del suelo, COS (Powlson, 2005; Iqbal y col., 2010). El carbono orgánico del suelo regresa a la atmósfera como CO_2 a través de la respiración, mientras que los organismos del suelo utilizan los materiales orgánicos como fuente de energía y nutrientes (Baldock y col., 2012). La SMB que abarca el carbono de biomasa microbiana (CBM) y nitrógeno (NBM) puede servir como un indicador de los cambios en las propiedades del suelo (Glatzel, Basiliko y Moore, 2004). Debido a que la respiración del suelo es un parámetro importante de la actividad microbiana del suelo, este puede servir como un componente esencial de la agricultura sostenible.

Los objetivos de la agricultura sostenible son asegurar las necesidades alimentarias y textiles actuales de la humanidad, sin comprometer los re-

cursos de las generaciones futuras. Las personas que participan en la agricultura sostenible son los agricultores, los que procesan la comida, los distribuidores, los minoristas y consumidores, y los gestores de residuos. Adicionalmente, los investigadores que trabajan en la agricultura sostenible se guían por un enfoque interdisciplinario, combinando disciplinas que abarcan la biología, la química, la ingeniería, la economía y el desarrollo comunitario, y se basan en la gestión de proyectos y la responsabilidad social corporativa (Melendez y col., 2018b; Melendez y col., 2018a; Melendez y Gracia, 2019). Todos estos grupos buscan integrar tres objetivos principales en su trabajo: (i) un entorno saludable, (ii) rentabilidad económica, (iii) justicia social y un comercio justo (Francis y Porter, 2011).

Actualmente, existen muchos biofertilizantes microbianos disponibles con uso agrícola que mejoran el crecimiento y la productividad de las plantas; mejoran directamente la fertilidad del suelo al añadir al suelo inoculantes microbianos beneficiosos, e indirectamente, a través de microorganismos estimulantes del suelo (El-Yazeid y col., 2007). Phylazonit es una marca de biofertilizantes de Phylazonit Ltd., que contiene una relación óptima de cepas bacterianas para la inyección del suelo (*Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans*, y *Pseudomonas putida*). *Bacillus megaterium* es una bacteria que vive en un hábitat prolongado, desde el suelo hasta el agua de mar, en sedimentos, arrozales, miel, peces y alimentos secos; puede crecer fácilmente en medios simples y complejos, siendo principalmente grama positivo, es decir, bacterias que forman esporas. *B. megaterium* se encuentra entre las bacterias de mayor tamaño, con una longitud celular de hasta 4 m y un diámetro de 1,5 m. *B. megaterium* tiene al menos 100 veces más volumen que *Escherichia coli* (De Vos y col., 2009; Vary y col., 2007; Bunk y col., 2010). Recientemente, se ha vuelto cada vez más popular en el campo de la biotecnología por su capacidad de producción de proteínas recombinantes. Estas se construyeron y comercializaron para la síntesis de proteínas intra y extracelulares (MoBiTec GmbH, Alemania). *B. megaterium* también se utiliza en la industria que produce sustancias biotecnológicas. Estas bacterias crecen en sustratos baratos, y no son patógenos (no producen endotoxinas asociadas con una membrana externa), a diferencia de *E. coli*. Por lo tanto, *B. megaterium* abre una vía hacia enfoques biotecnológicos desafiantes (Vary y col., 2007; Bunk

y col., 2010).

Bacillus circulans es gram positiva y se moviliza por los flagelos. El tamaño de la célula está en el rango de 2,0-4,2 μm x 0,5-0,8 μm . *B. circulans* es un organismo anaeróbico facultativo, por lo que puede lograr ATP (trifosfato de adenosina) por respiración aeróbica cuando el oxígeno está presente, pero también puede cambiar a la respiración anaeróbica cuando el oxígeno está ausente. Puede crecer en un pH de 6-9, pero el pH 7 es óptimo para su evolución en un rango de temperatura óptimo de 30 – 37°C. Esta bacteria produce endosporas, que permiten a las bacterias permanecer latentes durante largos períodos de tiempo en condiciones de vida adversas, pero en condiciones favorables pueden reactivarse en la etapa vegetativa. Se conoce que las bacterias *B. circulans* promueven las rizobacterias (Gordon, Haynes y Pang, 1973). *Pseudomonas putida* es una bacteria gram negativa en forma de varilla flagelada que se encuentra en la mayoría de los hábitats de suelo y agua donde el oxígeno está presente, y crece de forma óptima a 25 – 30°C. Debido a que la *Pseudomonas putida* promueve el desarrollo de plantas, ésta se utiliza en la investigación de bioingeniería para desarrollar biopesticidas y para mejorar la salud vegetal. La rizosfera permite que las bacterias prosperen gracias a los nutrientes de la raíz; *P. putida* induce el crecimiento de las plantas y protege a las plantas de los patógenos (Espinosa-Urgel, Salido y Ramos, 2000).

Recientemente se investigaron los cambios en varios productos físico-químicos (Bautista y col., 2017; Jakab, 2020) y las propiedades del suelo microbiano en la región (Mátyás y col., 2015; Sándor y col., 2020b). Mátyás y col. (2016) evaluaron el efecto de diferentes dosis de NPK en la actividad microbiana del suelo y la biomasa microbiana. Sándor y col. (2020b) exploraron cómo los diferentes métodos de cultivo afectaron la respiración del suelo y la actividad enzimática. El objetivo de esta investigación es observar los efectos del biofertilizante Phylazonit en la respiración del suelo y comparar el alcance de la emisión de CO₂ causada por los fertilizantes NPK químicos comerciales, biofertilizantes y los diferentes métodos de cultivo.

2 Materiales y Métodos

La presente investigación se llevó a cabo en un suelo calcáreo chernozem, en un experimento multifactorial en la Estación Experimental Látókép, Centro de Ciencias Agrícolas, Universidad de Debrecen. Esta estación se encuentra en el este de Hungría, a 15 km de la ciudad de Debrecen. La zona se conoce por los depósitos eólicos de Hajdúság, siendo sus coordenadas $47^{\circ}33'55,36''N$; $21^{\circ}28'12,27''E$. Las fluctuaciones anuales del rendimiento se determinan principalmente por el contenido de humedad del suelo en el mes de julio, y el suministro de agua en mayo (Bregbia y Bjornlund, 2014). Los experimentos se realizaron de marzo a abril de 2016. El suelo de la zona puede clasificarse como franco y casi neutro. El suministro de fósforo del suelo es medio, mientras que su contenido de potasio es medio o bueno (Bregbia y Bjornlund, 2014).

Las gráficas experimentales se configuraron aleatoriamente en 4 replicaciones por cada medición y en dos grupos. El primer grupo corresponde a las mediciones realizadas el 5 de abril de 2016, y el segundo el 19 de abril de 2016. Se inyectaron 15L/ha de Phylazonit, de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La concentración de bacterias fue de $109/cm^3$. Phylazonit contiene una proporción optimizada de cepas bacterianas, *Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans* y *Pseudomonas putida*. Se midió gravimétricamente el contenido de humedad del suelo, secando las muestras de suelo a $105^{\circ}C$ durante 24 h, según el protocolo descrito por Klimes Szmik (1970). El pH se determinó potenciométricamente en el agua destilada, con una relación suelo/agua de 1:2.5 (p/p), según Buzás (1988), mediante el uso de un electrodo de vidrio unido a un medidor de pH portátil de un solo canal avanzado Modelo Seven2Go (Mettler, Toledo), adecuado para mediciones de pH y conductividad. La fracción de limo y arcilla se determinó según Buzás (1988).

El diseño experimental para la respiración del suelo fue completamente aleatorio, y los tratamientos se establecieron en incubadoras a $25^{\circ}C$ durante 180 h, en la oscuridad. Se colocaron botellas de laboratorio (250 mL) equipadas con una tapa de tornillo apretada, 0,1 M NaOH (10 ml), luego se llenó una gasa estéril con la muestra de suelo (10 g), y se colocó dentro de la botella. Una vez transcurridos 2, 3 y 10 días, respectivamente, se determinó la can-

tidad de CO_2 absorbida por la solución alcalina residual mediante la valoración potenciométrica con solución acuosa de 0,1 M HCl, utilizando fenolftaleína como indicador. Se calcularon las salidas de CO_2 por medio de la Ecuación 1, como se describe en Witkamp (1966).

$$mg(CO_2) = V * M * 22 \quad (1)$$

Donde $mg(CO_2)$ es la masa capturada de CO_2 capturado (mg), V es el volumen de HCl utilizado en la valoración para la solución KOH saturada (mL), M es la molaridad de HCl ($mol L^{-1}$). Los resultados se interpretan para la respiración de 100 g de muestras de suelo durante un período de 10 días, por lo que la unidad en el método Witkamp es: $mg CO_2 \cdot (100g)^{-1} \cdot (10 \text{ días})^{-1}$.

Los factores de multiplicación de humedad de las muestras de control son 1,40 y 1,26 para las muestras tratadas, respectivamente. El factor de la solución KOH fue 1,09; mientras que la solución HCl tuvo un factor de 0.93. También se utilizó un método inducido, en el que se añadieron 0,10 g de glucosa a las muestras del suelo. Cada tratamiento se replicó en cuadruplicado. Además, se compararon los resultados experimentales con los resultados de estudios previos realizados en la misma estación experimental. En experimentos anteriores, se evaluaron los efectos a largo plazo de las dosis comerciales de fertilizantes de $N_{60}P_{45}K_{45}$; $N_{120}P_{90}K_{90}$; $N_{180}P_{135}K_{135}$ y $N_{240}P_{180}K_{180}$ (Mátyás y col., 2015) y de diferentes métodos de cultivo (arado, aflojado, RTK en filas y RTK entre filas) (Sándor y col., 2020a) sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas, en experimentos de fertilización que abarcaron más de 30 años. También se compararon dos métodos para determinar la respiración del suelo, las incubaciones Witkamp y Oxitop (Bautista y col., 2017). La prueba t de Student se utilizó para el análisis estadístico, utilizando SPSS (versión 26) para revelar posibles diferencias en las muestras de control y tratamiento (biofertilizante).

3 Resultados y discusión

Los métodos inducidos se aplican en estudios relacionados con la actividad microbiana para revelar diferencias entre diversos tratamientos. En este caso, sin método inducido (glucosa agregada) existen diferencias entre el control y las muestras tratadas.

Se pueden observar diferencias entre las muestras de control y las tratadas a partir del 2do día de incubación (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados medios de la respiración del suelo en la incubación durante 2, 3 y 10 días (mg de CO_2 a $100g^{-1} \cdot 10$ días $^{-1}$). Control = control absoluto que no representa ni el tratamiento biofertilizante ni el método inducido. Control + glucosa = no se añadió ningún biofertilizante pero se aplicó el método inducido. Tratado = se aplicó el biofertilizante. Tratado + glucosa = se añadió el biofertilizante y se aplicó el método inducido.

	Contenido de humedad del suelo (%)	pH (H_2O)	Fracciones de lima y arcilla (%)	Respiración del suelo (mg de CO_2 a $100g^{-1} \cdot 10$ días $^{-1}$)		
				2do día	3er día	10mo día
Control				85,2	77,4	143
Control + glucosa	20,11-21,02	6,9	37,5	148,5	173,5	259,9
Tratada				130,1	84,9	141,1
Tratada+ glucosa				137,3	194,8	265,7

Los datos sin procesar (resultados en repeticiones y factores) se proporcionan en la sección de material de soporte. Sin embargo, en las muestras tratadas hay una disminución en la producción de CO_2 del suelo, comenzando los días 2 y 3 de incubación. Este agotamiento en la producción de CO_2 se evaluó en todos los experimentos, realizándolo por cuadruplicado. Se asume que el fenómeno se origina por la presencia en el suelo de microbios consumidores de CO_2 o metanotrofos, que utilizan el CO_2 producido periódicamente. Esta suposición es verificada por un estudio previo (Bautista y col., 2017). Sin embargo, este hallazgo es inusual porque tales bacterias están típicamente presentes en el agua de mar y en los suelos de arroz, en lugar de los suelos chernozem bien ventilados con un contenido óptimo de humedad (entre 20,11 y 21,02 wt %) (Tabla 1). Los valores aumentaron significativamente del tercer al séptimo día de incubación. Para el día 10, no existen diferencias notables entre las muestras de control y las tratadas (Tabla 1); además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de control y las tratadas (Phylazonit) (en el nivel de significancia 0.05).

En la Figura 1 se compararon los resultados sobre la dinámica de emisiones de CO_2 obtenidas en esta investigación con los hallazgos reportados anteriormente en la literatura científica. En los estudios anteriores (Bautista y col., 2017; Sándor y col., 2020b), los autores recogieron muestras tanto de

parcelas irrigadas como no irrigadas. Teniendo en cuenta que el contenido de humedad del suelo afecta fuertemente a la producción de CO_2 , se asume que los resultados provenientes de estudios previos tuvieron un contenido de humedad del suelo similar al de la presente investigación. El rango de aceptación fue: 19 – 21 wt % (dentro del rango óptimo en este tipo de suelo). En un estudio previo (Bautista y col., 2017) examinó el efecto del mismo biofertilizante en la respiración del suelo en la misma estación experimental. Sin embargo, los autores aplicaron un método diferente de absorción alcalina; utilizando botellas de Oxitop, y sus resultados se expresaron en otra unidad, a saber: CO_2 mL/L. Para comparar los resultados del estudio obtenidos con diferentes metodologías, se consideró lo siguiente:

- (i) la cantidad de CO_2 en las botellas de Oxitop se calcula a partir del oxígeno consumido por el proceso de descomposición, en donde el oxígeno, el carbono y el dióxido de carbono participan en el proceso de respiración (manual de Oxitop).
- (ii) la formación de una molécula de CO_2 requiere un átomo de C y una molécula de O_2 .

Para comparar los resultados del estudio previo con los de esta investigación, todos los resultados se expresan en mg de $CO_2 \cdot (100 g)^{-1} \cdot (10$ días) $^{-1}$ como

se muestra en la Ecuación 2.

$$\text{ResultsOxitop}(ml/L) = 11,136363 * \text{WitkampCO}_2(mgCO_2) \quad (2)$$

En los estudios realizados por (Mátyás y col., 2015) y (Sándor y col., 2020b) los valores de CO_2 se expresan en $mg \cdot CO_2 \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot (10 \text{ días})^{-1}$, por lo que no hubo necesidad de cambio de uni-

dad. Normalmente la valoración se lleva a cabo sólo después del 10mo día de incubación (comparado a los estudios anteriores antes mencionados). Además, en el presente estudio se midió la producción de CO_2 del suelo durante todo el proceso de incubación; esta es la razón por la que los resultados también se muestran para el segundo y tercer día de incubación.

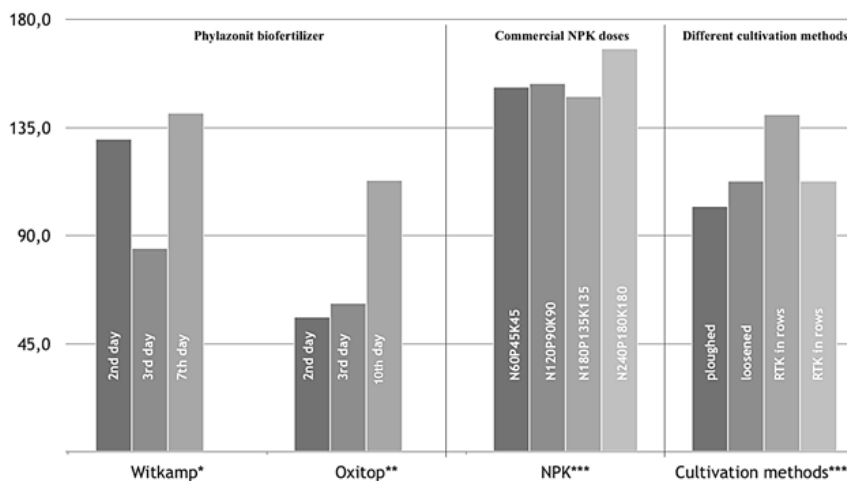


Figura 1. Resultados de la respiración del suelo después de 2, 3 y 10 días de incubación ($mg \text{ CO}_2 \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot (10 \text{ día})^{-1}$), tomados de mediciones propias y hallazgos previos del estudio. *resultados propios relacionados con el efecto de Phylazonit en la respiración del suelo por el método Witkamp; **efecto de Phylazonit en la respiración del suelo por las botellas de Oxitop (Bautista y col., 2017); ***fertilizantes comerciales NPK en dosis de $N_{60}P_{45}K_{45}$; $N_{120}P_{90}K_{90}$; $N_{180}P_{135}K_{135}$; y $N_{240}P_{180}K_{180}$ (Mátyás y col., 2015); ****diferentes métodos de cultivo: arado, aflojado, RTK en filas, y RTK entre filas (Sándor y col., 2020b; Sándor y col., 2020a) en la respiración del suelo.

Se puede afirmar que la dosis más alta de NPK ($N_{240}P_{180}K_{180}$) causa una mayor respiración del suelo comparada con la aplicación de biofertilizantes o los diferentes métodos de cultivo. Se observan diferencias entre los diferentes métodos de cultivo; los valores más altos de CO_2 pertenecen a las muestras de RTK en filas. Los valores de respiración del suelo medidos por los dos métodos (Witkamp y Oxitop) tienen el mismo orden de magnitud, aunque los valores basados en Witkamp incrementan en cada día de incubación. Aparte de los valores extremadamente altos de CO_2 medidos por el método de Witkamp en el segundo día de incubación, el aumento de CO_2 desde el día 3 hasta el día 7 es significativo en el marco de ambos métodos: Witkamp y Oxitop. Durante el período de incubación, el aumento de la respiración del suelo fue del 60,17% en

el método de Witkamp, y 54,87%, cuando se utilizaron botellas de Oxitop. Este patrón es notable si se considera que los experimentos se realizaron por cuadruplicado, por lo tanto, son estadísticamente relevantes. Estos resultados validan un método moderno (Oxitop) con un método bien establecido y probado (Witkamp).

4 Conclusiones

Este estudio indica una menor tendencia a la respiración del suelo cuando se utilizan biofertilizantes en comparación con los fertilizantes NPK comerciales. Por lo tanto, por medio de biofertilizantes se pueden disminuir las emisiones de CO_2 en el ambiente. Sin embargo, se necesitan llevar a cabo ex-

perimentos a largo plazo y ensayos de campo para una mejor comprensión y poder revelar diferencias estadísticas entre los biofertilizantes y el suelo tratado con fertilizantes químicos.

Con el cambio unitario en los resultados de CO₂ obtenidos en este estudio por dos métodos diferentes basados en la absorción alcalina (Oxítopy y Witkamp), se contribuye a mejorar la comparabilidad de los estudios académicos, que aplican diferentes metodologías para determinar la respiración del suelo, lo cual es útil para examinar los cambios en las propiedades microbiológicas del suelo en experimentos de fertilización a largo plazo, donde incluso se están comparando los resultados de 30 años atrás con nuevos hallazgos. El cambio unitario aplicado y discutido en esta investigación permite comparar los estudios basados en diferentes métodos, permitiendo el uso de nuevos métodos ofrecidos por la tecnología en evolución. Los datos adquiridos por los nuevos métodos pueden ser incorporados y corroborados con estudios realizados por métodos tradicionales en las últimas décadas.

Conflicto de interés

Los autores indican que no existe ningún conflicto de interés

Subsidios

Los autores mencionan que el proyecto estuvo subsidiado por el Dama Research Center limited.

Referencias

Álvaro Fuentes, J. y C. Cantero Martínez (2010). «Potential to mitigate anthropogenic CO₂ emissions by tillage reduction in dryland soils of Spain». En: *Spanish J. Agricultural Research* 8.4, 1271-1276. Online: <https://bit.ly/2Sjmq14>.

Ashok, J. y col. (2019). «An Economy Based on Carbon Dioxide and Water». En: ed. por M. Aresta, I. Karimi y S. Kawi. Springer Nature Switzerland AG. Online: <https://bit.ly/35c7Uh2>. Springer, Cham. Cap. Catalytic CO₂ Conversion to Added-Value Energy Rich C1 Products.

Baldock, Jeffrey y col. (ene. de 2012). «Soils and climate change: Potential impacts on carbon stocks and greenhouse gas emissions, and future research for Australian agriculture». En: *Crop and Pasture Science* 63, 269. Online: <https://bit.ly/3cP30Js>.

Bautista, Gabriela y col. (dic. de 2017). «Unexpected results in Chernozem soil respiration while measuring the effect of a bio-fertilizer on soil microbial activity [version 2; referees: 2 approved]». En: *F1000 Research* 6, Online: <https://bit.ly/3bNavAh>.

Brebbia, C. A. y H. Bjornlund, eds. (2014). *Sustainable Irrigation and Drainage V: Management, Technologies and Policies*. Vol. 185. Online: <https://bit.ly/3f09jMa>. Wit Press.

Bunk, B. y col. (2010). «A short story about a big magic bug». En: *Bioengineered Bugs* 1, 85–91. Online: <https://bit.ly/2xZe8Vt>.

Buzás, I. (1988). *Manual of Soil and Agrochemical Analysis*. 1.^a ed. INDA 4231 Kiadó. Budapest.

Chen, J. y col. (2020). «Nitrogen addition has contrasting effects on particulate and mineral-associated soil organic carbon in a subtropical forest». En: *Soil Biology and Biochemistry*. 142, 107708. Online: <https://bit.ly/2VJxQxs>.

De Vos, P. y col., eds. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. The Firmicutes. New York. Online: <https://bit.ly/2YcaDFL>: Springer-Verlag.

Denman, K.L. y col. (2007). «Climate Change: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change». En: ed. por D. Solomon S. and Qin y col. Cambridge, United Kingdom y New York, NY, USA. Online: <https://bit.ly/2KHwhTF>: Cambridge University Press. Cap. Couplings Between Changes in the Climate System and Biogeochemistry.

El-Yazeid, A. y col. (2007). «Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate dissolving microorganisms (bio phosphor) combined with boron foliar spray». En: *Research J. Agricultural Biological Science* 3.4, págs. 274-286.

Elmqvist, T., E. Andersson y N. Frantzeskaki (2019). «Sustainability and resilience for transformation in the urban century». En: *Nature Sustainability* 2, 267–273. Online: <https://bit.ly/2SfrH9S>.

- Eloka-Eboka, A. C. y F. L. Inambao (2017). «Effects of CO_2 sequestration on lipid and biomass productivity in microalgal biomass production». En: *Applied Energy* 195, 1100-1111. Online:https://bit.ly/2VL34UF.
- Espinosa-Urgel, M., A. Salido y J. Ramos (2000). «Genetic Analysis of Functions Involved in Adhesion of *Pseudomonas putida* to Seeds». En: *J. Bacteriology* 189.9, págs. 2363-9.
- Fekete, I. y col. (2011). «The effects of Detritus Input on Soil Organic Matter Content and Carbon Dioxide Emission in a Central European Deciduous Forest». En: *Acta Silv. Lign. Hung* 7, págs. 87-96.
- Fekete, I. y col. (2014). «Alterations in forest detritus inputs influence soil carbon concentration and soil respiration in Central-European deciduous forest». En: *Soil Biology and Biochemistry* 74, págs. 106-114.
- Francis, C. A. y P. Porter (2011). «Ecology in Sustainable Agriculture Practices and Systems». En: *Critical Reviews in Plant Sciences* 30.1-2, 64-73. Online:https://bit.ly/3f01aXT.
- Glatzel, S., N. Basiliiko y T. Moore (2004). «Carbon dioxide and methane production potentials of peats from natural, harvested and restored sites, eastern Québec, Canada.» En: *Wetlands* 24, 261-267. Online:https://bit.ly/35iVGmW.
- Gordon, R., W. Haynes y C. Pang (1973). «The genus *Bacillus*. U.S. Department of Agriculture Agricultural Handbook». En: ed. por U.S. Department of Agriculture. 427. Washington, D.C.: Cornell University. Cap. Bacterial Endospores. Bacterial Endospores.
- Gratani, Loretta y col. (nov. de 2016). «Carbon Dioxide (CO_2) Sequestration and Air Temperature Amelioration Provided by Urban Parks in Rome». En: *Energy Procedia* 101, 408-415. Online:https://bit.ly/3bRIWHm.
- Inubushi, Kazuyuki, Kazunori Sakamoto y Takuji Sawamoto (ene. de 2005). «Properties of Microbial Biomass in Acid Soils and Their Turnover». En: *Soil Science & Plant Nutrition* 51, 605 -608. Online:https://bit.ly/3aLYn1l.
- Iqbal, J. y col. (2010). «Microbial biomass, and dissolved organic carbon and nitrogen strongly affect soil respiration in different land uses: A case study at Three Gorges Reservoir Area, South China». En: *Agriculture, Ecosystems & Environment* 137.3, 294 -307. Online:https://bit.ly/2SgW6Vg.
- Jakab, A. (2020). «The ammonium lactate soluble potassium and phosphorus content of the soils of north-east Hungary region: a quantifying study». En: *DRC Sustainable Future* 1.1, 7-13. Online:https://bit.ly/3faLbGO.
- Johnson, J. y col. (2007). «Agricultural opportunities to mitigate greenhouse gas emissions.» En: *Environmental pollution* 150.1, 107-24. Online:https://bit.ly/2zAokE1.
- Klimes Szmik, A. (1970). «A talajok fizikai tulajdonságainak vizsgálata». En: *Talaj és trágyavizsgáló módszerek* 48, 83-161.
- Kong, Y. y col. (2013). « CO_2 , N_2O and CH_4 production/consumption potentials of soils under different land-use types in central Japan and eastern Hungary». En: *Soil Science and Plant Nutrition* 59.3, 455-462. Online:https://bit.ly/35g0ae3.
- Kotroczó, Zs. y col. (2018). «Effect of leaf- and root-litter manipulation for carbon-dioxide efflux in forest soil.» En: *VII Alps-Adra Scientific Workshop*. Stara Lesna, Slovakia.
- Lajtha, K. y col. (2017). «The Detrital Input and Removal Treatment (DIRT) Network: Insight into soil carbon stabilization». En: *Science of The Total Environment* 640-641, 1112-1120. Online:https://bit.ly/2Yhi0vA.
- Li, S. y col. (2020). «A meta-analysis of carbon, nitrogen and phosphorus change in response to conversion of grassland to agricultural land». En: *Geoderma* 363, 114149. Online:https://bit.ly/2VN09uO.
- Lowy, D.A. y B. Mátyás (2020). «Sea Water Activated Magnesium-Air Reserve Batteries: Calculation of Specific Energy and Energy Density for Various Geometries». En: *DRC Sustainable Future* 1.1, 1-6. Online:https://bit.ly/3bOifSG.
- López, Rafael, M. Jesús Díaz y José A. González-Pérez (2018). «Extra CO_2 sequestration following reutilization of biomass ash». En: *The Science of the total environment* 625, 1013-1020. Online:https://bit.ly/3f2Tu7d.
- Melendez, J. R. y col. (2018a). «Theory of Constraints: A systematic review from the management context». En: *Revista Espacios*, 39.48, 1-14. Online:https://bit.ly/2VKomSs.
- Melendez, J.R. y G.E. Gracia (2019). «Theoretical perspective of corporate social responsibility in the managerial scenario: Shared implications between the company-stakeholders». En: *Revis-*

- ta Espacios 40.10, 1-14. Online: <https://bit.ly/35fjCau>.
- Melendez, J.R. y col. (2018b). «Strategic factors in the context of project management: Management perspectives». En: *Revista Espacios* 39.39, 10-16. Online: <https://bit.ly/2W5zKaF>.
- Moral, A. y col. (2018). «Syngas production by means of biogas catalytic partial oxidation and dry reforming using Rh-based catalysts». En: *Catalysis Today* 299, 280-288. Online: <https://bit.ly/2W7IGNL>.
- Mátyás, B. y col. (2015). «The impact of fertilisation on a few microbiological parameters of the carbon cycle». En: *Acta Agraria Debreceniensis* 64, 45-50. Online: <https://bit.ly/3f2Cka4>.
- Mátyás, B. y col. (2016). «Comparative analysis of certain soil microbiological characteristics of the carbon cycle». En: *Acta Agraria Debreceniensis* 69, págs. 137-141.
- Peng, y. y col. (2020). «Influences of nitrogen addition and aboveground litter-input manipulations on soil respiration and biochemical properties in a subtropical forest». En: *Soil Biology and Biochemistry* 142, 107694. Online: <https://bit.ly/2yTYWZw>.
- Powelson, D. (2005). «Climatology: Will soil amplify climate change?» En: *Nature* 433, 204-205. Online: <https://bit.ly/2y8HeBG>.
- Rustad, L.E. y col. (2001). «A metaanalysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming». En: *Oecologia* 126, 543-562. Online: <https://bit.ly/2W7Ynn1>.
- Singla, Ankit y Kazuyuki Inubushi (ene. de 2014). «Effect of biochar on CH₄ and N₂O emission from soils vegetated with paddy». En: *Paddy and Water Environment* 12, 239-243. Online: <https://bit.ly/2zGxv63>.
- Singla, Ankit y col. (ene. de 2014). «Methane production/oxidation potential and methanogenic archaeal diversity in two paddy soils of Japan». En: *Int. J. Ecol. Environ. Sci.* 40, 49-55. Online: <https://bit.ly/3aO6A5d>.
- Sándor, Zsolt y col. (ene. de 2020a). «Correction for Effect of various soil cultivation methods on some microbial soil properties». En: *DRC Sustainable Future: Journal of Environment, Agriculture, and Energy* 1.1, 21-22. online: <https://bit.ly/2VNJZBr>.
- (ene. de 2020b). «Effect of various soil cultivation methods on some microbial soil properties». En: *DRC Sustainable Future: Journal of Environment, Agriculture, and Energy* 1.1, 14-20. online: <https://bit.ly/2VNJZBr>.
- Team, IPCC, R.K. Pachauri y L.A. Meyer (2014). *Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Inf. téc. Geneva, Switzerland. Online: <https://bit.ly/2zIGcwR>: IPCC:Climate Change.
- Thornton, P. (2012). *Recalibrating Food Production in the Developing World: Global Warming Will Change More Than Just the Climate*. Inf. téc. CCAFS Policy Brief No. 6. CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture y Food Security.
- Vary, Patricia y col. (nov. de 2007). «Bacillus megaterium – from Simple Soil Bacterium to Industrial Protein Production Host». En: *Applied microbiology and biotechnology* 76, 957-67. Online: <https://bit.ly/35cpguc>.
- Vermeulen, Sonja J., Bruce M. Campbell y John S.I. Ingram (2012). «Climate Change and Food Systems». En: *Annual Review of Environment and Resources* 37.1, 195-222. Online: <https://bit.ly/2YeNgvh>.
- Witkamp, M. (1966). «Decomposition of Leaf Litter in Relation to Environment, Microflora, and Microbial Respiration». En: *Ecology* 47, 194-201. Online: <https://bit.ly/35lix11>.
- Xiao, Haibing y col. (jun. de 2020). «Responses of soil respiration and its temperature sensitivity to nitrogen addition: A meta-analysis in China». En: *Applied Soil Ecology* 150, 103484. Online: <https://bit.ly/35f0I3x>.
- Zeng, Wenjing y col. (2018). «Soil respiration and its autotrophic and heterotrophic components in response to nitrogen addition among different degraded temperate grasslands». En: *Soil Biology and Biochemistry* 124, 255-265. Online: <https://bit.ly/35dR41e>.