

IMPACTO DE PRÁCTICAS DE MANEJO AGRÍCOLA SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE NITRÓGENO ORGÁNICO EN UN ACRISOL

Impact of Soil Management Practices on the Distribution of Soil Organic Nitrogen in an Acrisol

Silvia Pajares Moreno¹ y Juan F. Gallardo Lancho^{1‡}

RESUMEN

Los suelos del Eje Neovolcánico Mexicano presentan un preocupante grado de degradación y pérdida de fertilidad edáfica debido a prácticas de manejo inapropiadas. Este trabajo proporciona información sobre las formas de N edáfico en epipedones de un suelo volcánico mexicano (*Acrisol*) localizado en la cuenca de Atécuaro (estado de Michoacán) y cultivado durante 4 años con diferentes manejos edáficos: tradicional (Tt), mejorado (Tm), orgánico (To) y año y vez (Tv). Los manejos To y Tm mostraron los valores más altos de N total (Nt), pero no tuvieron un impacto significativo sobre la distribución del N entre las diferentes fracciones orgánicas. Entre el 94 y 97% del Nt fue N orgánico, pero los contenidos de N hidrolizable fueron relativamente bajos, indicando que los compuestos de N en estos suelos presentan una alta estabilización físico-química. Aunque el Nt aumentó tras 4 años de cultivo, el porcentaje de N hidrolizado (con respecto al Nt) disminuyó con el Tm, indicando que este manejo incrementa la estabilidad del N y, por ende, favorece la acumulación nitrogenada. Las formas hidrolizadas de amonio y aminoácidos fueron predominantes (alrededor de un 23% del Nt) y sólo un pequeño porcentaje de Nt se recuperó como N hexosamínico (1.6%), lo que indica baja contribución a la formación de estructura edáfica. El predominio de formas orgánicas de N ocasiona que las formas amoniacales sean dominantes tras la hidrólisis ácida del suelo. Se concluye que los manejos To y Tm son los más apropiados para incrementar el contenido de N de estos suelos volcánicos cultivados.

Palabras claves: suelo volcánico, N total, N hidrolizable, manejo tradicional, manejo orgánico.

¹ C.S.I.C., Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología. Apartado Postal 257. 37071 Salamanca, España.

[‡] Autor responsable (jgallardo@usal.es)

SUMMARY

Highly intense degradation and loss of fertility in the soils of the Mexican Trans-volcanic Belt is a consequence of inappropriate management practices. This paper presents information about the soil N forms in epipedons of a Mexican volcanic soil (*Acrisol*) located in the Atecuaro catchment (State of Michoacán, Mexico). This soil was cultivated for 4 years under the following soil-management systems: traditional (Tt); improved (Tm); organic (To); and fallow (Tv). To and Tm management systems showed the highest values of total N (Nt) but did not have a significant impact on soil N distribution among the different fractions of organic N. From 94 to 97% of the Nt was organic N, whereas the hydrolysable-N content was relatively low, indicating that soil N is in stabilized form. Although Nt increased after four years of cultivation, the percentage of hydrolysable-N (with respect to Nt) decreased with the Tm management, indicating that this treatment increased recalcitrant N. Ammonia and amino acids were dominant (around 23% of the Nt) after soil hydrolysis. Only a small percentage of Nt was recovered as hexosamine-N (1.6%), indicating a low contribution of this fraction in the formation of the soil structure. Prevalence of organic N forms causes ammoniac forms to be dominant after acid hydrolysis of the soil. The To and Tm treatments were found to be the most appropriate of agronomic management systems for increasing N content in these cultivated volcanic soils.

Index words: volcanic soil, total N, hydrolysable N, traditional management, organic management.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos históricos los suelos del Eje Neovolcánico Mexicano han sido sometidos a una sobreexplotación por intensa intervención antrópica que, junto con la erosividad de las lluvias, han ocasionado severos problemas de erosión, limitando la fertilidad edáfica y reduciendo su productividad

(Gallardo *et al.*, 2005). La rehabilitación y mejora de estos suelos volcánicos se considera importante para lograr una mejor calidad de vida en la zona.

El N suele ser el elemento limitante de la productividad edáfica debido a que se encuentra formando parte de las sustancias orgánicas en formas no disponibles para los organismos (Stevenson, 1994; Schulten y Schnitzer, 1998). En este sentido, un conocimiento más profundo de cómo el manejo interviene en la cantidad, composición, formas y distribución del N edáfico en diferentes subcompartimentos del suelo sería de gran utilidad para estimar su disponibilidad y, con ello, mejorar la productividad mediante un manejo más adecuado de los suelos volcánicos de México, en especial los que suelen presentar alto grado de degradación.

Se han publicado numerosos estudios que inciden sobre la composición del N orgánico edáfico (N-org) de suelos con diferente edafogénesis (González-Prieto y Carballas, 1991; Schnitzer, 1991; Schulten y Schnitzer, 1998) y, en algunos casos, de suelos forestales (Prieto-Fernández y Carballas, 2000) o agrícolas (González-Prieto *et al.*, 1997). Sin embargo, se tiene escasa información de la composición del N orgánico (N-org) en suelos volcánicos cultivados de México.

El N edáfico se encuentra principalmente en formas orgánicas; este N-org está constituido por una fracción activa y otra pasiva (Jansson, 1958). La primera la componen gran parte del N de los residuos frescos de cosechas (en cultivos) u hojarascas (en bosques) o el N de la propia biomasa microbiana, responsable de su mineralización. La fracción pasiva es un material humificado y bioestable, que ya no participa activamente en el proceso catabólico.

Aunque el método del fraccionamiento hidrolítico del N se pueda considerar antiguo por algunos autores (Knicker, 2000; Dieckow *et al.*, 2005), tiene la ventaja de estar contrastado, dada su abundante aplicación (Higgins *et al.*, 2005; Castro *et al.*, 2006; Wander *et al.*, 2007) y por ello se considera idóneo para realizar una primera aproximación al conocimiento de las formas de N de estos suelos degradados mexicanos. La hidrólisis ácida tiene por objeto liberar los nutrientes nitrogenados de los coloides orgánicos e inorgánicos, transformándolos en formas solubles. Una de sus ventajas es que se suele extraer un elevado porcentaje del N edáfico, siendo liberado también amonio de origen inorgánico (Bremner, 1965). Dentro de la fracción hidrolizable se distinguen las siguientes formas (Kelley y Stevenson, 1996; Schulten y Schnitzer, 1998):

N-NH₄ hidrolizable (Nh-NH₄⁺), N aminoácido (Nh-aam), N hexosamínico (Nh-hex), además del denominado N hidrolizable no identificado o residual (Nh-res). Los valores del N hidrolizado (N-hid) suelen variar ampliamente, dependiendo del tipo de suelo, manejo edáfico y de los métodos usados en el fraccionamiento del N (Bremner, 1965; Yonebayashi y Hattori, 1980; González-Prieto y Carballas, 1991). El Nh-NH₄⁺ proviene de amidas y de la hidrólisis de aminoácidos, aminoazúcares y otros compuestos aminados (Yonebayashi y Hattori, 1980; Schnitzer y Hindle, 1981). También proviene de formas inorgánicas, especialmente de NH₄⁺ fijado a las arcillas (Moyano y Gallardo, 1988; Schulten y Schnitzer, 1998). Los aminoazúcares no parecen existir en forma libre (Schulten y Schnitzer, 1998). Gran parte del Nh-res está constituido por formas no aminadas presentes en la arginina, triptófano, lisina, histidina y prolina, entre otros (Stevenson, 1994); también es posible que esta forma nitrogenada provenga de anillos heterocíclicos (Leinweber y Schulten, 1998). Según Bremner (1965), el Nh-res es un producto artificial conformado durante la hidrólisis.

El objetivo del presente trabajo fue conocer cómo influyen 4 prácticas de manejo agronómico sobre la distribución de distintas formas de N-org en epipedones de un suelo mexicano derivado de materiales volcánicos muy antiguos e intensamente meteorizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona Experimental

La zona de estudio se localiza en el Eje Neovolcánico Mexicano, en la cuenca de Atécuaro (estado de Michoacán, México: 19° 35' N y 101° 12' O, a 2270 m de altura). El clima es templado subhúmedo. La precipitación media anual es próxima a 800 mm año⁻¹, concentrada principalmente de junio a septiembre; la temperatura media anual es de 14 °C.

El suelo es un *Acrisol*, profundo, ácido (pH 4.9) y rico en sesquióxidos y arcillas (65-70%), derivados de materiales volcánicos antiguos e intensamente meteorizados; su alto contenido en arcillas favorece la formación de complejos órgano-alumínicos. El horizonte *Ap* es relativamente pobre en C orgánico edáfico (COS <18 mg C g⁻¹) y N total (Nt <1.6 mg N g⁻¹).

Durante el periodo 2002-2005 se cultivaron 4 parcelas (terrazas de control de erosión)

experimentales de 1000 m². Cada una de ellas se dividió en 2 subparcelas de 500 m². Debido a las condiciones particulares de la zona (impuestas por las características geográficas y la forma del agricultor de cultivar la tierra) no fue posible instalar un diseño experimental completamente al azar, por lo que se instalaron 2 réplicas para cada tratamiento en cada parcela.

Consecuentemente, cada parcela (constituida por dos subparcelas) se cultivó con un sistema de manejo agrícola diferente (Cuadro 1): a) tradicional (Tt), subparcelas labradas cada año, con rotación de cultivos, bajos aportes de fertilizantes inorgánicos y donde los residuos de cosecha al final del ciclo agrícola fueron mayoritariamente exportados; b) orgánico (To), subparcelas cultivadas, con aplicación anual de subproductos orgánicos como fuente de nutrientes (abono bovino, gallinaza y composta) e idéntica rotación de cultivos a la descrita para el tratamiento previo; c) tradicional mejorado (Tm), subparcelas en las que los residuos de la cosecha previa fueron dejados como cobertura para la protección del suelo (en 2004 y 2005), con aportes moderados de fertilizantes inorgánicos según la demanda del cultivo y la rotación de cultivos indicada; y d) año y vez (Tv), subparcelas con una rotación de pastizal natural para pastoreo de ganado bovino durante un año y cultivo con baja fertilización al año siguiente. Anterior a dicho experimento el propietario de la tierra

había seguido el tratamiento Tv, que es el sistema dominante de la región de estudio.

El manejo de las parcelas se hizo siguiendo la tecnología tradicional de los agricultores locales (roturación con arado y tiro de mulas y a veces, tractor). En los tratamientos Tt, Tm y Tv se aplicó urea como fertilizante nitrogenado (cada año) y superfosfato triple (en 2002 y 2003) o fosfato diamónico (en 2004 y 2005) como fertilizante fosfatado. Dada la acidez del suelo, en 2003 se aplicaron 5 Mg ha⁻¹ de CaCO₃ en todas las parcelas para aumentar el pH edáfico en una unidad; para estimar esa cantidad se utilizó el método de la diferencias de pH propuesto por Shoemaker *et al.* (1961).

Análisis Químicos

Al inicio del experimento (mayo 2002; previo al establecimiento de los tratamientos) y al final de la fase experimental (agosto 2005) se tomaron dos muestras compuestas (cada una de ellas formadas por 10 muestras simples) con una barrena y a las profundidades de 0-10, 10-20 y 20-40 cm en cada subparcela o repetición. Las muestras edáficas se mezclaron, se homogeneizaron, se secaron al aire y se tamizaron (malla 2 mm) antes de los análisis. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

Cuadro 1. Características de los tratamientos agrícolas aplicados.

Manejos	Años	Tratamientos			
		Tradicional (Tt)	Orgánico (To)	Mejorado (Tm)	Año y vez (Tv)
Parcelas		1 y 2	3 y 4	5 y 6	7 y 8
Cultivos	2002	haba [†] -veza [‡]	haba [†] -veza [‡]	haba-veza [‡]	barbecho
	2003	avena [§] -veza [‡]	avena [§] -veza [‡]	avena [§] -veza [‡]	avena [§] -veza [‡]
	2004	maíz [#] -frijol [¶]	maíz [#] -frijol [¶]	maíz [#] -frijol [¶]	barbecho
	2005	maíz [#] -frijol [¶]	maíz [#] -frijol [¶]	maíz [#] -frijol [¶]	maíz [#] -frijol [¶]
Fertilización total N-P-K (kg ha ⁻¹)	2002	40-30-14	No	60-96-40	No
	2003	60-40-00	No	80-40-00	60-40-00
	2004	140-100-00	No	140-100-00	No
Adiciones orgánicas (Mg ha ⁻¹)	2005	140-100-00	No	140-100-00	140-100-00
	2002	No	15 Mg MH ha ⁻¹ EB	No	No
	2003	No	15 Mg MS ha ⁻¹ composta	No	No
	2004	No	10 Mg MS ha ⁻¹ composta + 2 Mg MS ha ⁻¹ gallinaza	4 Mg MS ha ⁻¹ cobertura residuos de trigo	No
	2005	No	6 Mg MS ha ⁻¹ gallinaza	4 Mg MS ha ⁻¹ cobertura residuos de trigo	No

[†] *Vicia faba*; [‡] *Vicia villosa*; [§] *Avena strigosa*; [#] *Zea mays*; [¶] *Phaseolus vulgaris*, hábito indeterminado o de guía asociado con maíz; EB = estiércol de bovino; MS = materia seca; MH = materia húmeda.

La textura edáfica se determinó por el método de la pipeta de Robinson (Gee y Bauder, 1986); el pH edáfico se midió en agua (relación 1:2) y las bases intercambiables con el método del acetato amónico 1 N, pH 7 (Chapman y Pratt, 1991). El carbono orgánico del suelo (COS) se analizó por combustión seca (TOCA, Shimadzu) y el Nt por el método de micro-Kjeldahl (Bremner, 1996). El N inorgánico (N-ino) se extrajo del suelo con una solución de KCl 2N (Keeney y Nelson, 1982). El Nt y el N-ino se determinaron con un autoanalizador Bran Luebbe AA3 y el N-org se calculó por diferencia entre el Nt y el N-ino. La colorimetría empleada por el autoanalizador para el análisis de N es la recomendada y normalizada por su fabricante y se basa en la adición de Cl_2 y salicilato en medio tamponado.

El fraccionamiento del N-org se realizó mediante hidrólisis con HCl 6 M durante 12 h, manteniendo el sistema a reflujo (Kelley y Stevenson, 1996; Stevenson, 1996; Fura 1). En una alícuota de hidrolizado (una vez neutralizado con NaOH) se determinó el N-hid mediante un autoanalizador Bran Luebbe AA3 (tras conversión a amonio). El Nh-NH_4^+ se determinó en una alícuota del hidrolizado con el mismo autoanalizador. Otra alícuota del hidrolizado se destiló con fosfato-borato a pH 11.2, obteniéndose Nh-NH_4^+ y Nh-hex . Este último se calculó por diferencia entre este valor y el Nh-NH_4^+ (obtenido anteriormente) y multiplicando el resultado por 1.26 (factor utilizado para corregir las pérdidas por descomposición durante la hidrólisis; Stevenson, 1996). El Nh-aam se transformó en amonio mediante reacción con ninhidrina en ácido cítrico, previa eliminación del Nh-hex y Nh-NH_4^+ mediante NaOH a 100 °C; su determinación posterior se hizo con el autoanalizador. El Nh-res se calculó por diferencia

entre el N-hid y el existente en las fracciones anteriormente consideradas (Nh-NH_4^+ , Nh-hex y Nh-aam). El N que permanece en el residuo del suelo, llamado N no hidrolizable (N-noh), se calculó por diferencia entre el Nt y el N-hid (Stevenson, 1996).

Análisis Estadísticos

Para cada variable estudiada se determinó su media y el error estándar de la media (ESM), aplicando un análisis de correlación de Pearson ($P < 0.05^*$ y $P < 0.01^{**}$) entre las diferentes formas de N determinadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La textura edáfica arcillosa ocasiona problemas de hidromorfía en la época de lluvia por falta de permeabilidad (Cuadro 2). El pH edáfico inicial fue ácido (4.8) pero, a consecuencia del encalado realizado en 2003, éste aumentó en los siguientes años, oscilando finalmente dicho incremento de pH entre 0.4 y 0.6 en todos los manejos (año 2005). Este posterior descenso del pH edáfico respecto al programado de una unidad se atribuye a los abonos amoniacales y a las adiciones de materia orgánica (de carácter ácido) realizados en los 4 años del experimento, según los distintos tratamientos. Debido al encalado el Ca^{2+} intercambiable aumentó en esos 4 años (entre 2 y 3.5 $\text{cmol}_c \text{Ca}^{2+} \text{kg}^{-1}$). El K^+ intercambiable incrementó con los manejos Tm y To debido al K adicionado con los residuos de cosecha (en el manejo Tm) y abonos orgánicos incorporados (en el manejo To). Consecuentemente, la saturación de bases incrementó tras el encalado (alrededor de un 30% en relación al año inicial).

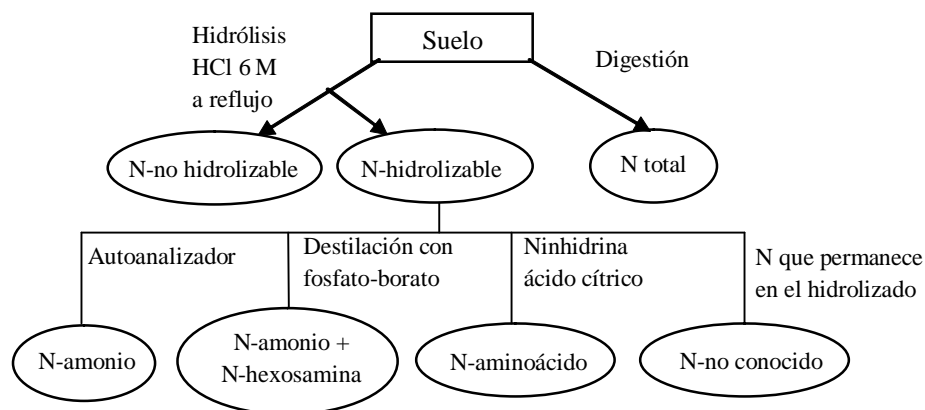


Figura 1. Esquema del fraccionamiento del nitrógeno orgánico.

Cuadro 2. Valores medios de las características edáficas de las parcelas experimentales (0-20 cm) al inicio y al final del experimento.

	Año	Tt	Desviación estándar	Tm	Desviación estándar	To	Desviación estándar	Tv	Desviación estándar	Media	± Error estándar de la media
Arena (%)		8.5	1.0	8.1	2.1	7.1	0.5	8.2	0.9		
Limo (%)		21.9	0.7	21.5	4.2	22.0	1.9	20.8	1.2		
Arcilla (%)		66.6	2.1	67.7	5.2	67.9	1.9	68.0	1.6		
pH (H ₂ O) (1:2)	2002	4.8	0.2	4.9	0.2	4.9	0.2	4.8	0.1	4.9	± 0.03
	2005	5.3	0.2	5.3	0.1	5.4	0.2	5.4	0.1	5.4	± 0.03
Media ± error estándar de la media		5.1 ± 0.2		5.1 ± 0.1		5.2 ± 0.1		5.1 ± 0.1			
Ca ²⁺ intercambiable (½ cmol _c /kg ⁻¹)	2002	4.4	1.4	4.4	1.2	5.0	1.8	5.9	1.0	5.1	± 0.35
	2005	7.2	0.9	7.9	1.0	7.0	1.7	8.2	1.4	7.7	± 0.28
Media ± error estándar de la media		5.8 ± 1.0		6.2 ± 1.2		6.0 ± 0.7		7.1 ± 0.8			
Mg ²⁺ intercambiable (½ cmol _c /kg ⁻¹)	2002	1.5	0.4	1.5	0.1	1.8	0.4	1.6	0.3	1.6	± 0.07
	2005	1.3	0.1	1.5	0.2	1.6	0.2	1.7	0.2	1.6	± 0.09
Media ± error estándar de la media		1.4 ± 0.07		1.5 ± 0		1.7 ± 0.0		1.6 ± 0.04			
K ⁺ intercambiable (cmol _c /kg ⁻¹)	2002	0.1	0.05	0.1	0	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1	± 0
	2005	0.3	0.1	0.3	0.1	0.6	0.2	0.4	0.2	0.5	± 0.08
Media ± error estándar de la media		0.2 ± 0.07		0.1 ± 0.07		0.4 ± 0.2		0.3 ± 0.1			
Na ⁺ intercambiable (cmol _c /kg ⁻¹)	2002	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.05	0.1	± 0.03
	2005	0.5	0.1	0.5	0.1	0.6	0.1	0.5	0.1	0.5	± 0.02
Media ± error estándar de la media		0.4 ± 0.1		0.3 ± 0.1		0.4 ± 0.1		0.3 ± 0.1			
Porcentaje de saturación de bases	2002	36	10	37	7	40	13	43	6	40	± 1.6
	2005	51	8	56	5	53	6	55	7	54.7	± 1.1
Media ± error estándar de la media		43.5 ± 5.3		46.5 ± 6.7		46.5 ± 4.6		49 ± 4.2			
COS (mg Cg ⁻¹)	2002	16.0	0.4	15.7	1.0	16.5	0.5	17.2	0.6	16.5	± 0.33
	2005	17.5	0.3	17.9	0.4	20.1	0.6	17.6	0.7	18.5	± 0.6
Media ± error estándar de la media		16.8 ± 0.5		16.8 ± 0.8		18.3 ± 1.3		17.4 ± 0.1			

Tt = tradicional; Tm = mejorado; To = orgánico; Tv = año y vez; PSB = porcentaje de saturación de bases; COS = carbono orgánico del suelo.

Los contenidos de COS variaron entre 16 y 20 mg C g⁻¹, alcanzándose los mayores valores con los manejos Tm y To tras 4 años de cultivo. Generalmente, las prácticas de cultivo tradicional disminuyen el contenido de COS debido a la alteración del equilibrio entre humificación-mineralización (Nierop *et al.*, 2001; Saviozzi *et al.*, 2001). En cambio, la aplicación continua de enmiendas orgánicas (manejo To) tiende a contrarrestar dicho balance, incrementando los niveles de materia orgánica del suelo (MOS) y ayudando al mantenimiento de la productividad agrícola (Wu *et al.*, 2004).

Los contenidos de Nt variaron entre 0.8 y 1.9 mg N g⁻¹, con valores medios de 1.6, 1.4 y 0.9 mg N g⁻¹ a 0-10, 10-20 y 20-40 cm de profundidad, respectivamente (Cuadro 3). Estos valores son comparables a los reportados en un Acrisol brasileño manejado con diferentes usos, aunque con material de origen no volcánico (Dieckow *et al.*, 2005; valores entre 1.2 y 2.6 mg N g⁻¹). El Nt disminuyó con la profundidad, dado que en su mayor parte forma parte integrante de las sustancias húmicas (más abundantes en la capa más superficial). En 2002 el Nt mostró diferencias en las 3 profundidades consideradas en todas las parcelas, pero en 2005 las diferencias entre las capas 0-10 y 10-20 cm prácticamente desaparecieron debido al efecto de volteo de la tierra por el arado. En dicha

profundidad se observó en 2005 un incremento de Nt con los manejos Tt, Tm y To, siendo este incremento mucho mayor con los dos últimos tratamientos debido a los fertilizantes añadidos y a los abonos orgánicos y restos de cosecha incorporados. Las variaciones de Nt encontradas se explican por los diferentes flujos de entradas y salidas de N con cada manejo agronómico (Gregorich *et al.*, 1994).

El porcentaje de N-org respecto al Nt presentó valores muy altos, entre el 95 y 98%. Kelley y Stevenson (1995) afirmaron que más del 90% del Nt de la capa superficial del suelo se encuentra como N-org asociado a coloides húmicos y minerales arcillosos o como constituyente de la biomasa microbiana. El N-org se encuentra estabilizado formando parte de la MOS, que está fuertemente unida a las arcillas en estos suelos volcánicos (Covaleda *et al.*, 2006). A pesar de ello, después de 4 años de cultivo el porcentaje de N-org aumentó en la capa más superficial (0-10 cm) con todos los tratamientos, mientras que en la capa de 20-40 cm sólo aumentó con el Tm. Según Kelley y Stevenson (1995) entre el 20 y 40% del N añadido como fertilizante en los cultivos se integra en las estructuras húmicas.

El Nh-NH₄⁺ es la forma más abundante de la fracción de N-hid, constituyendo entre el 27 y el 42% del Nt; no obstante, esta forma suele incrementar al aumentar el tiempo de hidrólisis (Cuadro 4). Stevenson

Cuadro 3. Formas de nitrógeno en las parcelas experimentales.

Profundidad	Manejos	Nitrógeno total		Media ± ESM	Nitrógeno orgánico		Media ± ESM
		2002	2005		2002	2005	
cm		----- mg N g ⁻¹ -----			----- % Nt -----		
	Tt	1.51	1.6	1.6 ± 0.03	96.3	97.4	96.9 ± 0.4
	Tm	1.41	1.7	1.6 ± 0.1	96.3	97.2	96.8 ± 0.3
0-10	To	1.55	1.87	1.7 ± 0.1	96.3	97.3	96.8 ± 0.4
	Tv	1.59	1.53	1.6 ± 0.02	96.2	97.1	96.7 ± 0.3
	Media ± ESM	1.5 ± 0.04	1.7 ± 0.07		96.3 ± 0.02	97.3 ± 0.06	
	Tt	1.17	1.46	1.3 ± 0.1	95.2	97.5	96.4 ± 0.8
	Tm	1.11	1.51	1.3 ± 0.1	96.0	98	97.0 ± 0.7
10-20	To	1.25	1.78	1.5 ± 0.2	95.4	96.9	96.2 ± 0.5
	Tv	1.31	1.43	1.4 ± 0.04	96.6	96.8	96.7 ± 0.07
	Media ± ESM	1.2 ± 0.04	1.5 ± 0.08		95.8 ± 0.32	97.3 ± 0.28	
	Tt	0.81	0.90	0.9 ± 0.03	95.7	96.5	96.1 ± 0.3
	Tm	0.79	0.94	0.9 ± 0.05	95.8	97.6	96.7 ± 0.6
20-40	To	0.94	0.96	1.0 ± 0.01	96.1	96.2	96.2 ± 0.04
	Tv	0.86	0.80	0.8 ± 0.02	96.3	96.7	96.5 ± 0.1
	Media ± ESM	0.9 ± 0.03	0.9 ± 0.04		96.0 ± 0.14	96.8 ± 0.3	
	Media** ± ESM	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.2		96.0 ± 0.2	97.1 ± 0.3	

Tt = tradicional; Tm = mejorado; To = orgánico; Tv = año y vez; ESM = error estándar de la media; ** = media de las 3 profundidades.

Cuadro 4. Distribución de las formas de nitrógeno orgánico (N-org) en porcentaje de nitrógeno total (Nt) en las parcelas experimentales.

	Año	Profundidad (cm)																			
		0 - 10				10 - 20				20 - 40											
		Tt	Tm	To	Tv	Media	± ESM	Tt	Tm	To	Tv	Media	± ESM	Tt	Tm	To	Tv	Media	± ESM	Media*	± ESM
----- % N -----																					
N-hid	2002	53.9	57.2	53.4	50.4	53.7	± 1.39	57.6	59.9	56.7	53.6	57.0	± 1.3	64.5	70.3	63.4	63.3	65.4	± 1.7	58.7	± 2.9
	2005	51.0	51.3	53.6	52.5	52.1	± 0.60	48.6	48.0	53.9	47.7	49.6	± 1.46	58.4	49.2	63.6	68.0	59.8	± 4.0	53.8	± 3.2
Media		52.5	54.3	53.5	51.5			53.1	54.0	55.3	50.7			61.5	59.8	63.5	65.7				
±ESM		±1.0	±2.1	±0.07	±0.7			±3.2	±4.2	±1.0	±2.1			±2.2	±7.5	±0.07	±1.7				
Nh-NH ₄ ⁺	2002	31.8	29.9	27.4	27.5	29.2	± 1.06	33.6	29.6	29.7	31.4	31.1	± 0.94	31.2	34.5	32.8	33.5	33.0	± 0.69	31.1	± 1.2
	2005	27.7	29.2	32.2	27.5	29.2	± 1.09	28.7	27.8	30.8	27.3	28.7	± 0.77	31.4	29.4	41.9	35.2	34.5	± 2.75	30.8	± 2.1
Media		29.8	29.6	29.8	27.5			31.2	28.7	30.3	29.4			31.3	32.0	37.4	34.4				
±ESM		±1.4	±0.2	±1.7	±0.0			±1.7	±0.6	±0.4	±1.4			±0.07	±1.8	±3.2	±0.6				
Nh-aam	2002	18.9	20.6	18.3	17.7	18.9	± 0.63	18.8	23.4	19.6	18.3	20.0	± 1.16	19.6	22.1	21.2	21.1	21.0	± 0.52	20.0	± 0.9
	2005	19.7	18.1	17.5	19.9	18.8	± 0.59	15.2	15.1	14.9	14.9	15.0	± 0.08	18.2	13.8	14.1	23.3	17.4	± 2.2	17.1	± 1.5
Media		19.3	19.4	17.9	18.8			17.0	19.3	17.3	16.6			18.9	18.0	17.7	22.2				
±ESM		±0.3	±0.9	±0.3	±0.8			±1.3	±2.9	±1.7	±1.2			±0.5	±2.9	±2.5	±0.8				
Nh-hex	2002	2.4	2.0	2.4	1.8	2.2	± 0.15	1.8	1.5	1.4	1.4	1.5	± 0.09	1.0	1.5	1.2	1.2	1.2	± 0.1	1.6	± 0.2
	2005	2.6	3.3	2.8	2.4	2.8	± 0.19	1.6	1.6	1.7	1.7	1.7	± 0.03	1.6	1.2	1.4	1.1	1.3	± 0.11	1.9	± 0.3
Media		2.5	2.7	2.6	2.1			1.7	1.6	1.6	1.6			1.3	1.4	1.3	1.2				
±ESM		±0.07	±0.5	±0.1	±0.2			±0.07	±0.04	±0.1	±0.1			±0.2	±0.1	±0.07	±0.04				
Nh-res	2002	0.8	4.7	5.3	3.4	3.6	± 1.00	3.4	5.4	6.0	2.5	4.3	± 0.82	12.7	12.1	8.2	7.5	10.1	± 1.3	6.0	± 1.8
	2005	1.0	0.7	1.1	2.7	1.4	± 0.45	2.6	3.4	6.6	3.8	4.1	± 0.87	7.2	4.8	6.2	8.4	6.7	± 0.76	4.0	± 1.3
Media		0.9	2.7	3.2	3.1			3.0	4.4	6.3	3.2			10.0	8.5	7.2	8.0				
±ESM		±0.07	±1.4	±1.5	±0.2			±0.3	±0.7	±0.2	±0.5			±1.9	±2.6	±0.7	±0.03				
N-noh	2002	46.1	42.8	46.6	49.6	46.3	± 1.39	42.4	40.1	43.3	46.4	43.1	± 1.30	35.5	29.7	36.6	36.7	34.6	± 1.7	41.3	± 2.9
	2005	49.0	48.7	46.4	47.4	47.9	± 0.60	51.4	52.0	46.1	52.3	50.5	± 1.46	41.6	50.8	36.4	32.0	40.2	± 4.0	46.2	± 3.2
Media		47.6	45.8	46.5	48.5			46.9	46.1	44.7	49.4			38.6	40.3	36.5	34.4				
±ESM		±1.0	±2.1	±0.1	±0.8			±3.2	±4.2	±1.0	±2.1			±2.2	±7.5	±0.1	±1.7				

N-hid = nitrógeno hidrolizable; Nh-NH₄⁺ = amónico; Nh-aam = nitrógeno aminoácido; Nh-hex = nitrógeno hexosamínico; Nh-res = nitrógeno hidrolizable residual; N-noh = nitrógeno no hidrolizable; ESM = error estándar de la media. Tt = tradicional; Tm = mejorado; To = orgánico; Tv = año y vez; * = media de las 3 profundidades.

(1996) y Wander *et al.* (2007) citaron que el porcentaje de Nh-NH₄⁺ liberado por la hidrólisis ácida varía entre el 20 y 35% del Nt. Cuando los valores de Nh-NH₄⁺ son altos (como en este caso), éste puede provenir principalmente del N-NH₄⁺ retenido por las arcillas (abundantes en el suelo estudiado). En general, el porcentaje de Nh-NH₄⁺ aumentó con el tratamiento To y disminuyó con el Tt. Teniendo en cuenta el origen diverso de este amonio (Schulten y Schnitzer, 1998) las diferencias observadas de Nh-NH₄⁺ con los diferentes manejos se pueden atribuir a la transformación de fracciones orgánicas de N fácilmente hidrolizables a NH₄⁺.

El Nh-aam es la siguiente forma en importancia cuantitativa; variando entre el 14 y 23% del Nt. Estos datos son similares a los reportados por Castro *et al.*

(2006) en un suelo forestal de Galicia (España), aunque inferiores al rango de 30-45% dado por Mulvaney y Khan (2001) en diferentes tipos de suelos y con diferentes usos de Illinois (Estados Unidos) y Wander *et al.* (2007) en suelos agrícolas de Wisconsin (Estados Unidos). Hay que tener en cuenta que durante la hidrólisis los aminoácidos pueden hidrolizarse y valorarse como amonio. Según Kelley y Stevenson (1995), el triptófano se pierde completamente tras la hidrólisis y otros aminoácidos (como serina y treonina) se degradan parcialmente; esta observación permite inferir que el contenido real de Nh-aam en estos suelos usualmente supera los valores detectados, pues una parte del Nh-aam se valora como amonio. Aunque el Nh-aam pueda representar un porcentaje relativamente elevado del Nt, Schulten y Schnitzer (1998) consideraron

que es una forma no directamente disponible para las plantas (dado que se encuentra en su mayor parte unida a coloides orgánicos y constituyentes inorgánicos, como minerales de arcilla o hidróxidos de Fe y Al). Sin embargo, Miller y Cramer (2005) afirmaron que las plantas son capaces de tomar directamente pequeñas cantidades de aminoácidos libres en el suelo y que esta fuente nitrogenada podría ser importante cuando el N-ino es potencialmente limitante. Aunque la concentración de Nh-aam se mantuvo constante entre 10-20 cm con los años de cultivo (datos no mostrados), el porcentaje de Nh-aam (con respecto al Nt) disminuyó con todos los manejos aplicados en esta profundidad, lo cual significa una progresiva estabilización del N edáfico.

Un pequeño porcentaje de Nt se recuperó como Nh-hex (entre el 1 y 3% del Nt) y, en general, la proporción de Nh-hex disminuyó con la profundidad. Moyano y Gallardo (1988) obtuvieron valores de Nh-hex entre el 2 y 14% del Nt en suelos cultivados españoles. El N aminoazúcar edáfico es, principalmente, de origen microbiológico y juega un papel importante en la estructura del suelo, especialmente mejorando el grado de agregación (Chantigny *et al.*, 1997). Por tanto, los factores que favorecen la actividad microbiana suelen incrementar dicha fracción en el suelo y mejorar la estructura edáfica. Debido al origen biológico de los aminoazúcares es razonable pensar que esta fracción disminuye en el mismo sentido en el que lo hace la población microbiana, ya que ésta sintetiza aminoazúcares durante la descomposición de los residuos orgánicos. Por otro lado, la proporción de Nh-hex cambia muy poco por efecto del cultivo y el manejo edáfico (Stevenson, 1994); en todo caso el porcentaje de Nh-hex no mostró diferencias en los 4 años de cultivo por los manejos, salvo con el Tm, que incrementó el porcentaje de Nh-hex de 0-10 cm de profundidad, lo que podría estar relacionado con un aumento de la actividad microbiana edáfica con este manejo (González-Prieto *et al.*, 1997).

El porcentaje de Nh-res respecto al Nt tuvo valores variables comprendidos entre 0.7 y 13% sin observarse pauta alguna en su distribución con respecto a los tratamientos aplicados, la profundidad y los años de cultivo; ello puede deberse a la naturaleza heterogénea que caracteriza dicha fracción.

En suma, el porcentaje de N-hid respecto al Nt varió entre el 48 y 70%, siendo el valor medio de 56% (valor que puede considerarse relativamente bajo); ello supone que los compuestos nitrogenados presentan una alta resistencia a la hidrólisis. En estos suelos ricos en arcillas

y sesquióxidos, se favorece la formación de complejos orgánico-alumínicos, altamente resistentes al ataque biológico y a la hidrólisis. Stevenson (1996) consideró que el rango usual de N-hid varía entre 65 y 80% del Nt, mientras que González-Prieto y Carballas (1991) obtuvieron valores comprendidos entre el 36 y 77% del Nt para suelos de Galicia (España), que son también relativamente húmedos y ácidos (aunque en Atécuaru existe una acentuada sequedad invernal). Los mayores porcentajes de N-hid se presentaron en los 20-40 cm de profundidad; dada la interacción del alto número de factores influyentes es difícil detectar en este corto periodo de manejo agrícola una tendencia definida. A pesar de que el contenido de N-hid aumentó tras 4 años de cultivo (datos no mostrados), en general, el porcentaje de N-hid con respecto al Nt disminuyó con los años de cultivo. Es decir, aunque las formas hidrolizables de N aumentaron, lo hicieron a menor ritmo que las más recalitrantes. Esta disminución relativa del porcentaje de N-hid fue más acentuada con el Tm, lo que parece indicar que este manejo incrementó tanto el contenido de Nt como la estabilidad del mismo, disminuyéndose el riesgo de mineralización. El porcentaje de N-hid se mantuvo constante con el To, indicando que el N potencialmente disponible no disminuyó con este manejo.

El porcentaje de N-noh respecto al Nt mostró también una gran variabilidad (entre 30 y 52%). Dicho rango concuerda con los reportados por Stevenson (1994) y Dieckow *et al.* (2005). El mayor constituyente de esta fracción es el N heterocíclico aromático, lo que explica su mayor resistencia a la hidrólisis ácida (Leinweber y Schulten (1998). Por otro lado, el N-org recalitrante en el residuo no hidrolizado podría ser debido a la encapsulación de compuestos relativamente lábiles de N (tales como péptidos) en dominios hidrofóbicos de la MOS (Zang *et al.*, 2000). Además, las interacciones órgano-minerales con superficies reactivas de silicatos y óxidos son también factores determinantes de la no disponibilidad de gran parte del N-org (Leinweber y Schulten, 2000). En general, con los años de cultivo el N-noh aumentó con el manejo Tm, seguido del Tt.

El tipo de cultivo, el manejo y otras prácticas agrícolas pueden alterar la proporción del N-hid y del N-noh (Schulten y Schnitzer, 1998). Algunos estudios han mostrado que el porcentaje de N-noh es mayor en suelos manejados intensamente o sin fertilización, mientras que la aplicación de abonos o fertilizantes favorece el aumento de la fracción hidrolizable del N-org (Leinweber y Schulten, 1998);

por el contrario, Sharpley y Smith (1995) encontraron mayores porcentajes de N-noh en suelos abonados; por tanto, la importancia de esta fracción en la agricultura no está completamente clara, dada la falta de un conocimiento profundo de su identidad química.

El Cuadro 5 muestra las correlaciones existentes entre las diferentes formas de N edáfico. Se encontró una elevada correlación negativa entre el porcentaje de N-hid y el Nt (-0.688**), indicando que se favorece un mayor contenido de Nt cuando el porcentaje de N-hid es más bajo. Por tanto, la disminución del porcentaje de N-hid es uno de los factores del aumento de Nt con los años de cultivo (Cuadros 3 y 4); es decir, que existe un incremento del N más estabilizado que favorece un mayor contenido de Nt en el suelo estudiado (Covaleta *et al.*, 2006). El Nh-NH₄⁺ estuvo altamente correlacionado con el N-hid (0.774**), siendo esta fracción el principal producto de la descomposición de otras fracciones durante la hidrólisis (Schnitzer y Hindle, 1981). El Nh-res se correlacionó positivamente con el N-hid (0.674**), lo que indica que a mayor cantidad de N-hid es mayor el N hidrolizable de origen desconocido. Lógicamente, el N-noh estuvo correlacionado negativamente con el porcentaje de N-hid (-0.993**).

CONCLUSIONES

- Después de 4 años de cultivo los tratamientos orgánico y mejorado fueron los que acumularon mayor cantidad de N edáfico, teniendo dichos manejos impactos positivos y significativos sobre el contenido de N total, pero poca influencia sobre la distribución de sus distintas formas orgánicas, salvo del N no hidrolizable, que aumentó su porcentaje. En este sentido, el manejo denominado mejorado favoreció la mayor estabilidad del N edáfico.
- El porcentaje de nitrógeno orgánico (N-org) respecto al nitrógeno total (Nt), fue muy alto (entre el 94 y 98%),

como es habitual en los suelos; ello explica que el nitrógeno hidrolizable (Nh-NH₄⁺) sea la forma de N-org dominante, seguida del nitrógeno hidrolizable aminoácido (Nh-aam). Por otro lado, la elevada estabilidad físico-química de la materia orgánica del suelo (MOS) en estos suelos explica el relativo bajo porcentaje de N hidrolizable obtenido.

- De acuerdo con los resultados, se recomienda la rotación de cultivos con leguminosas y una adecuada aportación de abonos orgánicos o fertilizantes nitrogenados (incluyendo el retorno de residuos de cosecha) en estos suelos. Un manejo que contemple tales acciones aumentará los contenidos de carbono orgánico del suelo y N edáfico.
- En consecuencia, los manejos orgánico y mejorado resultaron ser los más apropiados para mejorar la fertilidad edáfica en estos suelos volcánicos degradados. Sin embargo, se necesitan posteriores investigaciones acerca de si la progresiva acumulación de N edáfico pudiera ir en detrimento del necesario flujo de N lábil para satisfacer las necesidades de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Unión Europea la financiación del Proyecto REVOLSO (Programa INCO), al Ministerio de Educación y Ciencia español la ayuda complementaria, a la Dra. M. B. Turrión (Universidad de Valladolid, España) por la revisión del manuscrito y a D. M. González Villegas (IRNA/CSIC de Salamanca, España) por la ayuda técnica prestada en los análisis químicos.

LITERATURA CITADA

- Bray, R. H. and L. T. Kurt. 1945. Determination of total, organic, and available phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45.

Cuadro 5. Coeficiente de correlación entre formas de nitrógeno.

Formas de nitrógeno	Nitrógeno total	N-hid	N-Nh ₄ ⁺	Nh-aam	Nh-hex	Nh-res
N-hid	-0.688**					
Nh-Nh ₄ ⁺	-0.465**	0.774**				
Nh-aam	-0.531**	0.596**	NS			
Nh-hex	0.432*	0.468**	0.423*	0.440*		
Nh-res	-0.404*	0.674**	NS	NS	NS	
N-noh	0.613**	-0.993**	-0.778**	-0.576**	NS	-0.579**

NS = no significativo; * = correlación significativa a $P < 0.05$; ** = correlación significativa a $P < 0.01$ (bilateral). N-hid = nitrógeno hidrolizable; Nh-NH₄⁺ = amónico; Nh-aam = nitrógeno aminoácido; Nh-hex = nitrógeno hexosamínico; Nh-res = nitrógeno hidrolizable residual; N-noh = nitrógeno no hidrolizable.

- Bremner, J. M. 1965. Organic forms of soil nitrogen. pp. 1238-1255. *In*: Black, C. A., D. D. Evans, L. E. Ensminger, J. L. White, F. E. Clark, R. C. Dinauer (eds.). Methods of soil analysis. Part II. Agronomy, 9. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Bremner, J. M. 1996. Total Nitrogen. pp. 1085-1086. *In*: Sparks D. L. (ed.). Methods of soil analysis. Part II. Chemical Methods. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Castro, A., S. J. González, and T. Carballas. 2006. Burning effects on the distribution of organic N compounds in a ¹⁵N labelled forest soil. *Geoderma* 130: 97-107.
- Covaleda, S., S. Pajares, J. F. Gallardo, and J. D. Etchevers. 2006. Short-term changes in C and N distribution in soil particle size fractions induced by agricultural practices in a cultivated volcanic soil from Mexico. *Org. Geochem.* 37: 1943-1948.
- Chantigny, M. H., D. Angers, D. Prevost, L. P. Vezina, and F. P. Chalifour. 1997. Soil aggregation and fungal and bacterial biomass under annual and perennial cropping systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 262-267.
- Chapman, H. D., P. F. Pratt. 1991. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trillas. México, D.F.
- Dieckow, J., J. Mielniczuk, H. Knicker, C. Bayer, D. P. Dick, and I. Kögel-Knabner. 2005. Organic N forms of a subtropical Acrisol under no-till cropping systems as assessed by acid hydrolysis and solid-state NMR spectroscopy. *Biol. Fertil. Soils* 42: 153-158.
- Gallardo, J. F., M. Bravo, C. Prat, L. Medina, L. Fregoso, B. Serrato, M. Mendoza, J. D. Etchevers y S. Pajares. 2005. Recuperación de agrosistemas degradados en la cuenca del lago de Cuitzeo (Michoacán, México): II. Control de cárcavas. pp. 269-263. *In*: Jiménez R., A. M. Álvarez (eds.). Control de la degradación de suelos. UAM. Madrid, España.
- Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. pp. 383-411. *In*: Klute, A. (ed.). 1986. Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. Monograph 9. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- González-Prieto, S. J. and T. Carballas. 1991. Composition of organic N in temperate humid region soils (NW Spain). *Soil Biol. Biochem.* 23: 887-895.
- González-Prieto, S. J., L. Jocteur, J. M. Hétiér, and T. Carballas. 1997. Changes in the soil organic N fractions of a tropical Alfisol fertilized with ¹⁵N-urea and cropped to maize or pasture. *Plant Soil* 195: 151-160.
- Gregorich, E. G., M. R. Carter, D. A. Angers, C. M. Monreal, and B. H. Ellert. 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74: 367-385.
- Higgins, S. F., M. S. Coyne, S. A. Shearer, and J. D. Crutchfield. 2005. Determining nitrogen fractions in swine slurry. *Bioresour. Technol.* 96: 1081-1088.
- Jansson, S. L. 1958. Tracer studies on nitrogen transformations in soil with special attention to mineralization-immobilization relationships. *Ann. Royal Agric. Coll. Sweden* 24: 101-361.
- Keeney, D. R. and D. W. Nelson. 1982. Nitrogen inorganic forms. pp. 643-687. *In*: Page, A. L. (ed.). Methods of Soil Analysis: Part 2. Chemical and Microbial Properties. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Kelley, K. R. and F. J. Stevenson. 1995. Forms and nature of organic N in soil. *Fert. Res.* 42: 1-11.
- Kelley, K. R. and F. J. Stevenson 1996. Organic forms of N in soil. pp. 429-466. *In*: A. Piccolo (ed.). Humic substances in terrestrial ecosystems. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- Knicker, H. 2000. Biogenic nitrogen in soils as revealed by solid-state carbon-13 and nitrogen-15 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Environ. Qual.* 29: 715-723.
- Leinweber, P. and H. R. Schulten. 1998. Nonhydrolyzable organic nitrogen in soil size separates from long-term agricultural experiments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 383-393.
- Leinweber, P. and H. R. Schulten. 2000. Nonhydrolyzable forms of soil organic nitrogen: extractability and composition. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163: 433-439.
- Miller, A. J. and M. D. Cramer. 2005. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant Soil* 274: 1-36.
- Moyano, A. y J. F. Gallardo. 1988. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre diversas fracciones de nitrógeno en suelos cultivados de la región Centro-Oeste de España. *Agrochimica* 32: 182-198.
- Mulvaney, R. L. and S. A. Khan. 2001. Diffusion methods to determine different forms of nitrogen in soil hydrolysates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65: 1284-1292.
- Nierop, K. G. J., M. M. Pulleman, and J. C. Y. Marinissen. 2001. Management induced organic matter differentiation in grassland and arable soils: a study using pyrolysis techniques. *Soil Biol. Biochem.* 33: 755-764.
- Nishiyama, M., Y. Sumikawa, G. Guan, and T. Marumoto. 2001. Relationship between microbial biomass and extractable organic carbon content in volcanic and non-volcanic ash soil. *Appl. Soil Ecol.* 17: 183-187.
- Prieto-Fernández, A. and T. Carballas. 2000. Soil organic nitrogen composition in *Pinus* forest acid soils: variability and biovariability. *Biol. Fertil. Soils* 32: 177-185.
- Saviozzi, A., R. Levi-Minzi, R. Cardelli, and R. Riffaldi. 2001. A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. *Plant Soil* 233: 251-259.
- Schnitzer, M. 1991. Soil organic matter the next 75 years. *Soil Sci.* 151: 41-58.
- Schnitzer, M. and D. A. Hindle. 1981. Effects of different methods of acid hydrolysis on the nitrogen distribution in two soils. *Plant Soil* 60: 237-243.
- Schulten, H. R. and M. Schnitzer. 1998. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biol. Fertil. Soils* 26: 1-15.
- Sharpley, A. N. and S. J. Smith. 1995. Nitrogen and phosphorus in soils receiving manure. *Soil Sci.* 159: 253-258.
- Shoemaker, H. E., E. O. Mclean, and P. F. Pratt. 1961. Buffer methods for determination of lime requirements of soils with appreciable amount of exchangeable aluminium. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 25: 274-277.
- Stevenson, F. J. 1994. Organic forms of soil nitrogen. pp. 59-95. *In*: Stevenson, J. F. (ed.). Humus chemistry, genesis, composition, reactions. John Wiley and Sons. New York, NY, USA.
- Stevenson, J. F. 1996. Nitrogen organic forms. pp. 1185-1200. *In*: Sparks, D. L. (ed.). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Wander, M. M., W. Yun, W. A. Goldstein, S. Aref, and S. A. Khan. 2007. Organic N and particulate organic matter fractions in organic and conventional farming systems with a history of manure application. *Plant Soil* 291: 311-321.

- Wu, T, J. J. Schoenau, F. Li, P. Qian, S. S. Malhi, Y. Shi, and F. Xu . 2004. Influence of cultivation and fertilization on total organic carbon fractions in soils from the Loess Plateau of China. *Soil Till. Res.* 77: 59-68.
- Yonebayashi, K. and T. Hattori. 1980. Improvements in the method for fractional determination of soil organic nitrogen. *Soil Sci. Plant Nutr.* 26: 469-481.
- Zagal, E. y C. Córdova. 2005. Indicadores de calidad de la materia orgánica del suelo en un andisol cultivado. *Agric. Téc.* 65: 186-197.
- Zang, X., J. D. H. van Heemst, K. J. Dria, and P. G. Hatcher. 2000. Encapsulation of protein in humic acid from a histosol as an explanation for the occurrence of organic nitrogen in soil and sediment. *Org. Geochem.* 31: 679-695.