



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN AGRONOMÍA

**ESTUDIO INTEGRADO SOBRE LA REUTILIZACIÓN DE  
RESIDUOS AGROPECUARIOS: CARACTERIZACIÓN,  
MINERALIZACIÓN Y CAPACIDAD FERTILIZANTE EN SUELOS  
FRÁGILES**

GASTÓN ALEJANDRO IOCOLI

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2018



# Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Departamento de Agronomía, durante el período comprendido entre el 25 de junio de 2013 y el 1 de noviembre de 2017, bajo la dirección conjunta de la Dra. Marisa A. Gómez, Prof. Titular, Dpto. Agronomía, UNS, y el Dr. Juan Alberto Galantini, Investigador Independiente CIC, ambos miembros del CERZOS (UNS-CONICET).

Gastón A. Iocoli

gaiocoli@criba.edu.ar

Bahía Blanca, 22 de Marzo de 2018

Departamento de Agronomía

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el ..../..../..... , mereciendo  
la calificación de .....(.....)

**Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.**

Dra. Marisa Anahí Gómez

Dr. Juan Alberto Galantini

*A mis padres, esposa e hijos...*

*“Un poco de Ciencia nos aparta de Dios.*

*Mucha, nos aproxima”*

Louis Pasteur

# Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a mis padres, Mónica y Eduardo; a mis hijos, Gian Battista y Chiara Luz; a mi esposa, Maritxu, y su familia; a mis hermanas, Belén y Virginia, y sus familias, y a José Luis y Alicia y su familia.

Quiero agradecer especialmente a todas aquellas personas que a través de su colaboración hicieron posible esta tesis:

A mis directores, la Dra. Marisa A. Gómez y el Dr. Juan Alberto Galantini.

A mis compañeros del Laboratorio de microbiología: Carmen, Ani, María, Celina, Jessi, Emi, Marianela y Andrés, por su apoyo, colaboración y horas compartidas.

A Olga I. Pieroni, por sus clases de química orgánica, su apoyo y disponibilidad, y la colaboración en el análisis de los espectros IR y UV-Vis.

A Mariana Dennehy por permitirme el acceso al laboratorio y la utilización de la prensa para el armado de las pastillas para IR.

A Silvia Canelo por la colaboración en la extracción de ácidos húmicos y fúlvicos y en la realización de espectros UV-Visible de las enmiendas y las sustancias húmicas.

A Pablo Zalba por permitirme el acceso al laboratorio (centrífuga y balanza)

A Fernando López y a Maximiliano Garay por la colaboración en las determinaciones de P en suelo.

A Celina Zabaloy, Emilia Rinland y Jessica Basualdo por la colaboración en las técnicas de biología molecular.

A Mónica Álvarez por la revisión de la técnica de caracterización funcional de efluentes orgánicos y la colaboración en la traducción del trabajo al inglés.

A Luciano Orden por la participación en los ensayos de mineralización (capítulos 5 y 6), su colaboración en el ensayo de campo y el intercambio permanente de ideas en este camino común que compartimos en la revalorización de residuos y efluentes.

A la EEA Hilario Ascasubi, por permitirme la utilización de las instalaciones y herramientas.

Al Laboratorio de aguas y suelos de la EEA H. Ascasubi por las determinaciones y el acceso.

A Luciana G. Dunel Guerra y Romina Storniolo por la colaboración en el armado de los ensayos de mineralización.

A Sebastián Oriente por la colaboración en la búsqueda de efluentes y la colaboración en el ensayo a campo.

A Andrea Mairoser por el efluente de la codigestión de cebolla y estiércol utilizado en el capítulo 5.

Al Laboratorio de nutrición animal por la utilización de la mufla y el espectrofotómetro, y la colaboración de María Delia.

A los laboratorios LANAIS (Juan Carlos, Chechu y Ramiro) y LANAQUI (Miriam y Claudio) del CERZOS.

A Miriam Crespo por la colaboración en la comparación de métodos para determinar P.

Al laboratorio instrumental de uso compartido (LIUC) de la UNS.

A Patricia Satti por la colaboración y el asesoramiento para la puesta a punto de la técnica para la determinación de P total de las enmiendas.

A Ricardo Camina por la colaboración en el análisis estadístico del capítulo 3.

A Nélide Winzer por la colaboración en el análisis estadístico de los capítulos 5 y 6.

A la revista Ciencia del suelo por las revisiones realizadas y la publicación del artículo (capítulo 3).

A la revista International Journal of Environmental Analytical Chemistry por las sugerencias realizadas para mejorar la descripción de la metodología presentada en el capítulo 2 y su publicación.

A la revista Science of the Total Environment por las revisiones realizadas y la publicación del artículo que se presenta en el capítulo 4.

Al concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca doctoral.

A la Universidad Nacional del Sur por la financiación a través de proyectos PGI y PGI TIR otorgados a la Dra. Gómez.

Al Departamento de Agronomía (UNS), por el espacio, las instalaciones y los recursos.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por la financiación a través del proyecto Préstamo BID PICT 2014-1760 otorgado a la Dra. Gómez.

Al INTA por la financiación a través de los proyectos PNNAT-1128042 (Tecnologías y estrategias de gestión de residuos y efluentes en sistemas agropecuarios) y REDAE-1136021 (Red de Agroecología del INTA).

Y a todas aquellas personas que me acompañaron y que por mi escasa memoria omití nombrar en estas líneas...



# Resumen

Argentina cuenta con una gran extensión de ambientes áridos y semiáridos, muchos bajo riego y con marcados problemas de desertificación, siendo fundamental la incorporación de materia orgánica para restaurar o mejorar las propiedades químicas, físicas y biológicas de los suelos. En estas mismas regiones coexisten agroindustrias que producen una gran cantidad de residuos que no son correctamente manejados, constituyendo fuentes de contaminación y que podrían ser reciclados dentro del proceso productivo en forma directa o tratados, tanto aeróbica (compostaje) como anaeróticamente (biometanización). En esta tesis se complementaron determinaciones químicas básicas con espectroscopia UV-Visible e IR para mejorar la caracterización de los materiales e inferir su biodegradabilidad, se evaluó el efecto de la aplicación de materiales sin procesar y tratados, sobre el sistema suelo-planta utilizando la lechuga como cultivo indicador de fitotoxicidad y fertilidad. Se evaluó la activación de la microbiota y la dinámica de C a corto plazo, el efecto sobre las dinámicas de C, N y P y las comunidades procariotas en el mediano plazo bajo condiciones controladas y el efecto sobre las sustancias húmicas. Sin tratamientos fisicoquímicos previos complejos, y de forma rápida y económica, fue posible hacer una evaluación cualitativa de los componentes de los efluentes a través de sus grupos funcionales y de las interacciones entre solubilidad, peso molecular y complejidad estructural, por medio de ambos métodos espectroscópicos. Los residuos sin procesar presentaron una gran diversidad en el contenido y composición de la materia orgánica. Tanto la digestión anaeróbica como el compostaje generaron productos con mayor uniformidad que los materiales sin procesar y cada tratamiento le confirió características particulares a cada producto (digerido o compost). Los digeridos anaeróbicos presentaron una gran proporción de N inorgánico, y una alta relación N/P, mientras que los compost presentaron la situación inversa. Adicionalmente el incremento en los niveles de Ni producido por los digeridos se limita al aportado como  $N-NH_4^+$  y no a su posterior mineralización, en contraposición a los compost donde el mayor aporte es por mineralización. Digeridos y compost podrían utilizarse en forma combinada para mejorar la sincronización entre la disponibilidad de nutrientes y la demanda de los cultivos. Adicionalmente, los digeridos contienen una fracción de C muy lábil compuesta principalmente por ácidos orgánicos de cadena corta y una fracción de C recalcitrante conformada por el material lignificado no degradado y polifenoles condensados. Al ser aplicado al suelo genera una rápida activación de la microbiota seguida de una rápida estabilización, generando inmovilización de C, sin modificar la abundancia de las comunidades procariotas. El aporte de N inicial estimuló a las bacterias oxidadoras del amoníaco, quienes presentaron mayor respuesta a la aplicación de los tratamientos. El digerido de cerdo incrementó el rendimiento

vegetal de manera similar a los fertilizantes químicos. El biochar y el digerido de cerdo presentaron una gran complementariedad, el primero como fuente de C estable y el segundo como fuente de N y otros nutrientes disponibles. La aplicación combinada adelantó la estabilización del biochar, incrementó la disponibilidad promedio de N y la relación P lábil/ P no lábil.

# Abstract

Argentina has a wide range of arid and semi-arid environments, many of them under irrigation and with desertification problems. The incorporation of organic matter to restore or improve the chemical, physical and biological soil properties is crucial in those areas. Intensive agro-industrial systems (dairy farms, feed lot, pig breeding and food processing plants) coexist in these regions, providing large quantity of organic wastes that are not properly managed and constitute a source of pollution. Recycling within the productive systems, either directly or after treatment, is a more sustainable option. This thesis complemented basic chemical determinations with IR and UV-Vis spectroscopy to improve the characterization of materials and infer their biodegradability, assessed the effect of the application of raw materials and processed on the Soil-Plant system using lettuce as a crop indicator of fitotoxicity and fertility. The microbial activities and C dynamics in the short term, the effect on the dynamics of C, N, P and prokaryotes communities in the medium term under controlled conditions and the effect on humic substances were assessed. It is possible to easily make a qualitative evaluation of the effluent components through their functional groups and the interactions between solubility, molecular weight and structural complexity, by means of both spectroscopic methods, rapidly and without previous complex physicochemical treatments. The wastes without process present a complex and variable composition. Both, anaerobic digestion and aerobic processing (composting) generated products with greater uniformity than raw materials, and each treatment gave particular characteristics to the resulting product (digestate or compost). The anaerobic digestate showed a large proportion of inorganic N, and a high N/P ratio, while the compost presented the reverse situation. Additionally, the increase in the levels of inorganic N produced by the digestates is limited to the contribution as  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and not to its subsequent mineralization, as opposed to the compost, where the greatest contribution is by mineralization. Digestates and compost could be used in a combined way to improve the synchronization between nutrient availability and crop demand. Additionally, the digestates contain a fraction of very labile C, composed mainly of short-chain organic acids and a fraction of recalcitrant C, composed by the non degraded lignified material and condensed polyphenols. When applied to the soil they generate a rapid microbiota activation followed by a rapid stabilization, resulting in immobilization of C, although prokaryotes communities' abundance remains unchanged. The N initial contribution stimulates the ammonia oxidizing bacteria, which presented a greater response to the treatments application. Pig digestate increased plant yield in a similar way to chemical fertilizers. Biochar and pig digestate presented good complementarity, the first as a source of stable C and the second as a source

of N and other available nutrients. The combined application improves the stabilization of biochar, increased the N availability and the P labile/P recalcitrant ratio.

# Índice General

Prefacio .....	ii
Agradecimientos .....	v
Resumen .....	viii
Abstract .....	x
Índice General .....	xii
Índice de Figuras .....	xvi
Índice de Tablas .....	xxi
1 Introducción general .....	1
1.1. Sistema agroalimentario .....	1
1.2. Características generales de los efluentes de la industria agroalimentaria. Riesgos ambientales.....	1
1.3. Sistemas de tratamiento y reciclaje .....	2
1.4. Degradación aeróbica: compostaje.....	3
1.4.1. Compostaje: descripción del proceso .....	3
1.4.2. Compost: uso agronómico .....	5
1.5. Degradación anaeróbica: biometanización .....	5
1.5.1. Biometanización: descripción del proceso .....	6
1.5.2. Biometanización: productos.....	7
1.5.3. Digerido anaeróbico: uso como enmienda .....	8
1.6. Degradación térmica: pirólisis .....	8
1.6.1. Descomposición térmica de la celulosa, hemicelulosa y lignina.....	10
1.6.2. Biochar: características y uso como enmienda .....	10
1.7. Interacción compuesto orgánico-suelo.....	11
1.8. Fundamentos y objetivo general .....	12
1.9. Diagramación de la tesis.....	13
2 Caracterización rápida de efluentes orgánicos por espectroscopía UV-Visible e IR, a partir de fracciones obtenidas por centrifugación .....	15
2.1 Introducción .....	15

2.2	Materiales y métodos.....	16
2.2.1	Efluentes estudiados .....	16
2.2.2	Separación de fases por centrifugación .....	17
2.2.3	Análisis químicos .....	17
2.2.4	Espectroscopía Ultravioleta-Visible.....	17
2.2.5	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier .....	18
2.3	Resultados y discusión .....	18
2.3.1	Análisis químicos .....	18
2.3.2	Espectroscopía UV-Visible .....	21
2.3.3	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier.....	24
2.4	Conclusiones .....	32
3	Factibilidad de la reutilización agronómica del digerido anaeróbico de purín de cerdo..	34
3.1	Introducción.....	34
3.2	Materiales y métodos.....	35
3.2.1	Dosis creciente de digerido anaeróbico .....	36
3.2.2	Comparación entre distintas fuentes de nutrientes. ....	37
3.3	Resultados y discusión .....	39
3.3.1	Dosis creciente de Digerido de cerdo .....	39
3.3.2	Comparación del Digerido y purín de cerdo con fertilizantes químicos. ....	42
3.4	Conclusiones .....	46
4	Capacidad fertilizante de los residuos agropecuarios regionales y sus productos transformados obtenidos por digestión y codigestión anaeróbica .....	47
4.1	Introducción.....	47
4.2	Materiales y métodos.....	49
4.2.1	Suelo y efluentes utilizados .....	50
4.2.2	Activación de la microbiota y actividad biológica del suelo.....	51
4.2.3	Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga.....	52
4.2.4	Cambios en las sustancias húmicas .....	53
4.3	Resultados y discusión .....	54

4.3.1	Caracterización química y espectroscópica de las enmiendas .....	54
4.3.2	Activación de la microbiota y actividad biológica del suelo.....	62
4.3.3	Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga.....	65
4.3.4	Dinámica de las sustancias húmicas del suelo bajo cultivo de lechuga .....	70
4.4	Conclusiones .....	71
5	Integración de los efectos de los residuos agropecuarios regionales y sus productos de transformación aeróbica y anaeróbica sobre los componentes del suelo.....	73
5.1	Introducción.....	73
5.2	Materiales y métodos.....	76
5.2.1	Suelo y enmiendas utilizados .....	76
5.2.2	Caracterización química y espectroscópica (UV-Vis e IR) de las enmiendas..	77
5.2.3	Preparación de los microcosmos .....	78
5.2.4	Diseño experimental y análisis estadístico.....	81
5.3	Resultados y discusión .....	81
5.3.1	Caracterización química .....	81
5.3.2	Caracterización funcional de las enmiendas.....	83
5.3.3	Mineralización de C .....	85
5.3.4	Dinámica del N .....	89
5.3.5	Dinámica del pH durante la incubación.....	94
5.3.6	Dinámica de P .....	94
5.3.7	Sustancias húmicas.....	97
5.3.8	Estudio de las comunidades microbianas procariotas.....	100
5.4	Conclusión.....	107
6	Biochar y digerido: perspectivas para el reaprovechamiento de residuos bioenergéticos como fertilizantes.....	109
6.1	Introducción.....	109
6.2	Materiales y métodos.....	110
6.2.1	Suelo y enmiendas utilizadas .....	111
6.2.2	Caracterización química y espectroscópica (UV-Vis e IR) de las enmiendas.	111

6.2.3	Preparación de los microcosmos.....	111
6.2.4	Dinámica del P .....	112
6.2.5	Diseño experimental y análisis estadístico.....	112
6.3	Resultados y discusión .....	112
6.3.1	Caracterización química de las enmiendas.....	112
6.3.2	Caracterización funcional de las enmiendas.....	113
6.3.3	Dinámica del C .....	114
6.3.4	Dinámica del N .....	118
6.3.5	Dinámica del pH .....	124
6.3.6	Dinámica del P .....	124
6.4	Conclusión.....	131
7	Conclusiones, recomendaciones y perspectivas.....	132
7.1	Conclusiones generales.....	132
7.2	Recomendaciones y perspectivas .....	134
8	Bibliografía.....	136



# Índice de Figuras

<i>Figura 1.1. Fotografía de un horno pirolítico tradicional del tipo media naranja en la región chaqueña, Argentina.</i>	9
<i>Figura 2.1. Concentración de C y NTK (mg L<sup>-1</sup>) a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	20
<i>Figura 2.2. Cambios en el porcentaje de C, H y N a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	20
<i>Figura 2.3. Variación de la absorbancia en función de la velocidad de centrifugación para los sobrenadantes de ET (a) y DC (b).</i>	24
<i>Figura 2.4. Espectros IR del efluente de tambo (ET) y digerido de cerdo (DC) sin centrifugar.</i>	26
<i>Figura 2.5. Espectros IR de los sobrenadantes de ET obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	26
<i>Figura 2.6. Espectros IR de los sobrenadantes de digerido de cerdo (DC) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	27
<i>Figura 2.7. Espectros IR de los precipitados del efluente de tambo (ET) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	27
<i>Figura 2.8. Espectros IR de los precipitados de digerido de cerdo (DC) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.</i>	28
<i>Figura 2.9. Efluente de tambo (ET) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm.</i>	28
<i>Figura 2.10. Digerido de Cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm.</i>	29
<i>Figura 2.11. Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 4000-2800 cm<sup>-1</sup>.</i>	30
<i>Figura 2.12. Digerido de Cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 1800-900 cm<sup>-1</sup>.</i>	31
<i>Figura 2.13. Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 900-400 cm<sup>-1</sup>.</i>	32

<i>Figura 3.1. Desprendimiento de CO<sub>2</sub> del suelo cada 24 h luego de la aplicación de dosis crecientes de digerido de cerdo.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 3.2. Regresiones lineales entre la dosis de aplicación de digerido (regresora) y el desprendimiento de CO<sub>2</sub> acumulado (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> de suelo).....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 3.3. Desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) del suelo tratado con digerido, purín y fertilizantes químicos.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 4.1. Caracterización IR de los materiales sin procesar: estiércol de feed lot (FL), cama de pollo (CP) y purín de cerdo (PC).....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 4.2. Caracterización IR del estiércol de feed lot (FL), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 4.3. Caracterización IR de la cama de pollo (CP), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 4.4. Caracterización IR del purín de cerdo (PC), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 4.5. Tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> 6h<sup>-1</sup>).....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 4.6. Desprendimiento acumulado de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo).....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 4.7. Ajuste lineal entre las relaciones C/N y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el desprendimiento de CO<sub>2</sub> a las 6hs (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) para los digeridos anaeróbicos.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 4.8. Ajuste lineal entre las relaciones C/N y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el desprendimiento de CO<sub>2</sub> a las 6h (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) para los materiales sin procesar.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 4.9. Disposición de las unidades experimentales en el invernáculo del Departamento de Agronomía, UNS.....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 4.10. Imagen de una planta de lechuga y cálculo del área de cobertura con el software CobCal®.....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 4.11. Parámetros del desarrollo vegetal del cultivo de lechuga a partir del área foliar.....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 5.1. Absorbancia como función de la longitud de onda para los materiales líquidos sin centrifugar.....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 5.2. Espectros IR de los materiales sólidos (FST, CCP y CCB).....</i>	<i>84</i>

<i>Figura 5.3. Espectros IR de los materiales líquidos (ET, DT, DC y DCE).</i> .....	85
<i>Figura 5.4. Tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo 6h<sup>-1</sup>).</i> .....	87
<i>Figura 5.5. Desprendimiento acumulado de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo).</i> .....	88
<i>Figura 5.6. Mineralización aparente de C (Cmap) para cada tratamiento.</i> .....	89
<i>Figura 5.7. Dinámica del N durante la incubación. (a) N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; (b) N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y (c) Ni (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).</i> .....	92
<i>Figura 5.8. Dinámica del N mineralizado (%Nmin) (a) y del nitrógeno disponible neto (Ndn) (b).</i> .....	93
<i>Figura 5.9. Dinámica del pH del suelo durante la incubación.</i> .....	94
<i>Figura 5.10. Dinámica del Pe posaplicación.</i> .....	95
<i>Figura 5.11. Ajuste lineal de la dinámica del P extractable neto (Pen).</i> .....	96
<i>Figura 5.12. Dinámica de la relación Ni:Pe para cada tratamiento.</i> .....	97
<i>Figura 5.13. Espectros UV-Visible de los AH a los 119 días de incubación.</i> .....	98
<i>Figura 5.14. Espectros IR de los ácidos húmicos (AH) a los 119 días de incubación.</i> .....	99
<i>Figura 5.15. Espectros IR de los ácidos fúlvicos (AF) a los 119 días en el rango 1360-1400 cm<sup>-1</sup>.</i> .....	100
<i>Figura 5.16. Comparación entre el número de copias del gen 16S de las comunidades procariontas.</i> .....	101
<i>Figura 5.17. Dinámica de las arqueas totales (AT) (a) y de las bacterias totales (BT) (b) a partir de los valores medios entre tratamientos.</i> .....	102
<i>Figura 5.18. Comparación del número copias del gen amoA de arqueas y bacterias.</i> .....	103
<i>Figura 5.19. Dinámica de la abundancia de arqueas oxidadoras de amoníaco (AOA) (a) y de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) para los valores medios entre tratamientos.</i> .....	103
<i>Figura 5.20. Comparación de los valores medios del porcentaje de bacterias. (a) Comparación entre tratamientos a partir de las medias entre fechas y (b) comparación entre fechas a partir de las medias entre tratamientos.</i> .....	104

<i>Figura 5.21. Comparación de los valores medios del porcentaje de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) respecto de las oxidadoras de amoníaco totales (OA) (%BOA). (a) Comparación entre tratamientos a partir de las medias entre fechas y (b) comparación entre fechas a partir de las medias entre tratamientos.....</i>	<i>105</i>
<i>Figura 6.1. Espectro IR del biochar (Bio).....</i>	<i>114</i>
<i>Figura 6.2. (a) Tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg día<sup>-1</sup>); (b) Desprendimiento acumulado de CO<sub>2</sub>.....</i>	<i>116</i>
<i>Figura 6.3. Porcentaje de carbono mineralizado (Cmap) del digerido de cerdo (DC) real, modelo simple exponencial (Mod SE) y modelo lineal (Mod L).....</i>	<i>117</i>
<i>Figura 6.4. Porcentaje de carbono mineralizado (%Cmin) del Biochar (Bio) y de la combinación de biochar y digerido de cerdo (Bio+DC) reales y modelados (Mod).....</i>	<i>118</i>
<i>Figura 6.5. Dinámica de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (a) y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (b). .....</i>	<i>120</i>
<i>Figura 6.6. Dinámica del Ni a partir de los valores medios.....</i>	<i>121</i>
<i>Figura 6.7. Disponibilidad promedio de nitrógeno.....</i>	<i>122</i>
<i>Figura 6.8. Dinámica del nitrógeno disponible neto (Ndn).....</i>	<i>123</i>
<i>Figura 6.9. Dinámica del nitrógeno neto mineralizado (Nnm).....</i>	<i>123</i>
<i>Figura 6.10. Comparación del pH entre tratamientos para las fechas 0, 70 y 119.....</i>	<i>124</i>
<i>Figura 6.11. Dinámica del fósforo soluble en agua (Ps) durante los primeros 7 días.....</i>	<i>125</i>
<i>Figura 6.12. (a) Dinámica del contenido medio de fósforo soluble en agua (Ps) en el período entre las fechas 21 y 119. (b) Valores medios del Ps por tratamiento.....</i>	<i>125</i>
<i>Figura 6.13. (a) Dinámica del fósforo extractable (Pe) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios entre fechas para cada tratamiento.....</i>	<i>126</i>
<i>Figura 6.14. (a) Dinámica del fósforo lábil (Pl) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios de Pl entre fechas para cada tratamiento.....</i>	<i>127</i>
<i>Figura 6.15. Dinámica de la relación entre fósforo soluble en agua (Ps) y fósforo extractable (Pe) durante los primeros 7 días.....</i>	<i>128</i>

*Figura 6.16. (a) Dinámica de las relaciones medias entre el fósforo soluble en agua (Ps) y el fósforo extractable (Pe) (Ps/Pe) en el período entre las fechas 21 y 119. (b) Valores medios de Ps/Pe por tratamiento en el mismo período..... 129*

*Figura 6.17. (a) Dinámica del fósforo orgánico (Porg) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios de Porg entre fechas para cada tratamiento..... 129*

*Figura 6.18. (a) Dinámica del fósforo inorgánico recalcitrante (Pir) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios de Pir entre fechas para cada tratamiento..... 130*

*Figura 6.19. Medias entre fechas para la relación entre P lábil (Ps + Pe) y P no lábil (Porg + Pir)..... 131*

# Índice de Tablas

<i>Tabla 2.1. Caracterización química de los efluentes sin centrifugar y los sobrenadantes a distintas velocidades de centrifugación.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabla 2.2. Caracterización química de los precipitados.....</i>	<i>19</i>
<i>Tabla 2.3. Valores de absorbancia y relaciones de absorbancia para los efluentes sin centrifugar y los sobrenadantes a distintas velocidades de centrifugación.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 3.1. Valores medios de las variables vegetales analizadas.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 3.2. Valores medios de las variables vegetales analizadas.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 4.1. Caracterización química de las enmiendas utilizadas.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 4.2. Ubicación de las principales bandas IR, tipo de vibración y su asignación a grupos funcionales.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabla 4.3. Parámetros de ajuste del modelo sigmoideo [<math>f = y_0 + a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))</math>] y área de cobertura máxima modelada (ACmm), final real (AC fr), máxima real (AC mr) y días para alcanzar el AC máxima real (d AC mr).....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 4.4. Valores medios de rendimiento del cultivo de lechuga y comparación de medias.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 4.5. Regiones de absorción de los espectros IR de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF), intensidad de las bandas y asignaciones sugeridas.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 5.1. Caracterización del suelo utilizado en las incubaciones.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 5.2. Enmiendas utilizadas en las incubaciones con su abreviatura y procedencia.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 5.3. Cebadores utilizados para la determinación del número de bacterias y arqueas totales y oxidadoras del amoníaco.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabla 5.4. Caracterización química de las enmiendas utilizadas.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 5.5. Zonas de absorción IR, características de las bandas y variaciones para cada tratamiento respecto al control.....</i>	<i>99</i>

<i>Tabla 5.6. Porcentaje de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) respecto a las oxidadoras de amoníaco totales (OA) (%BOA).....</i>	<i>106</i>
<i>Tabla 5.7. Regresiones lineales entre bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco (BOA y AOA) y las concentraciones de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.....</i>	<i>107</i>
<i>Tabla 5.8. Pruebas "t" para la comparación de las pendientes (ANCOVA) de los ajustes lineales presentados en la Tabla 5.7.....</i>	<i>107</i>
<i>Tabla 6.1. Abonos utilizados en la incubación.....</i>	<i>111</i>
<i>Tabla 6.2. Caracterización química de las enmiendas utilizadas.....</i>	<i>113</i>
<i>Tabla 6.3. Parámetros de ajuste del modelo simple exponencial C<sub>m</sub>=C<sub>0</sub>*(1exp(-k*x)).....</i>	<i>117</i>

# Capítulo 1

## Introducción general

### 1.1. Sistema agroalimentario

En la actualidad el mercado mundial de alimentos ocupa un papel protagónico. La demanda de alimentos, impulsada por el incremento en la población mundial y el desarrollo de mercados emergentes, crece rápidamente. Estas tendencias garantizan un mercado en expansión y nuevas oportunidades de negocios para todos los productos argentinos.

El sistema agroalimentario incluye la producción agropecuaria, la producción y comercialización de insumos para el agro, el procesamiento industrial y la comercialización y distribución final de los alimentos. El sistema agroalimentario argentino (SAA) representa el 15% del PBI, genera cerca del 50% de las exportaciones totales, con un 11% de los puestos de trabajo nacionales (Lódola *et al.*, 2010). Se diferencian 14 complejos: cárnico, lácteo, avícola, oleaginoso, cerealero, cervecero, frutihortícola, vitivinícola, pesquero, azucarero, té yerbatero, arrocerero, tabacalero y otros menores. Dentro de estos las cadenas soja, cárnica bovina y láctea aportan el 50% del valor bruto (Lódola *et al.*, 2010).

### 1.2. Características generales de los efluentes de la industria agroalimentaria. Riesgos ambientales

En la producción de alimentos se detectan dos eslabones principales: la producción primaria y el procesamiento industrial. El primero, es el responsable de la producción de materias primas, y el segundo de transformarlas en alimentos procesados (Lódola *et al.*, 2010).

Considerando la generación de residuos, la producción primaria puede dividirse en: frutihortícola, agrícola, ganadera extensiva e intensiva. Los residuos producidos por la producción frutihortícola incluyen principalmente restos de poda, descarte de clasificación y agua de lavado; los de la agrícola y ganadera extensiva producen estiércol y restos de cosecha (que normalmente permanecen distribuidos en el campo generando cobertura para el suelo y reciclando la materia orgánica y los nutrientes) y mermas de clasificación y limpieza que se utilizan como alimento animal; los de la pecuaria intensiva generan estiércoles, orina, restos de alimentos, agua de limpieza de las instalaciones y animales muertos.



Adicionalmente, durante el procesamiento industrial se generan efluentes que contienen agua de lavado de frutas o granos, cáscaras, pulpas, descartes y agua del lavado de las instalaciones.

Las características de los efluentes generados durante el procesamiento de alimentos varían considerablemente según el tipo y tamaño de la planta, materiales empleados y el sistema de limpieza utilizado. Es importante destacar que, independientemente de la variabilidad que presentan, en la mayoría de los casos, el mayor componente es de naturaleza orgánica.

El mayor problema asociado a estos sistemas productivos es la concentración de grandes cantidades de efluentes como consecuencia del alto grado de intensificación de la producción (Kunz *et al.*, 2009). Esto genera importantes riesgos de contaminación a través de la generación de olores desagradables, la proliferación de insectos y roedores, la emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación de suelos, aguas superficiales y subterráneas, como consecuencia del lixiviado y la escorrentía (Gómez-Brandon *et al.*, 2013). Por estos motivos es inviable pensar en producir alimentos sin contemplar el manejo de los residuos generados. El manejo, tratamiento, reutilización y/o disposición final son parte del costo de producción, de la responsabilidad social y del camino común que se debe hacer para conservar el ambiente.

Esta tesis abarcó parte del primer eslabón agroindustrial (producción primaria), puntualmente en los residuos y efluentes de la producción porcina, avícola, bovina, láctea y del procesamiento de cebolla.

### **1.3. Sistemas de tratamiento y reciclaje**

Actualmente, la mayor parte de las plantas de tratamiento de efluentes ven los residuos como un problema que se debe eliminar. Se realizan procesos muy costosos para reducir la carga orgánica generando emisiones de CO<sub>2</sub> y otros gases de efecto invernadero, para volcarlos a cursos de agua. En muchas situaciones los efluentes se vuelcan sin tratar o tratados insuficientemente provocando graves eventos de contaminación.

Para el desarrollo de esta tesis, se evaluaron sistemas de tratamientos que consideran como recursos los nutrientes, la materia orgánica y/o el potencial energético de los residuos y efluentes. Dentro de los procesos con estas características, se trabajó con los productos de el compostaje (proceso biológico aeróbico), la biometanización (proceso biológico anaeróbico) y la pirólisis lenta de biomasa (proceso termoquímico).

## **1.4. Degradación aeróbica: compostaje**

La degradación de la materia orgánica bajo condiciones aeróbicas es un proceso exotérmico en el que el oxígeno actúa como receptor terminal de electrones y los materiales orgánicos son transformados en otros más estables con liberación de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. En el suelo, bajo condiciones naturales, estas reacciones ocurren lentamente sin incrementos en la temperatura ya que el calor generado se disipa rápidamente en el ambiente. Este proceso natural puede ser acelerado evitando pérdidas de temperatura y favoreciendo la aireación. La descomposición y estabilización biológica de sustratos orgánicos bajo condiciones controladas que permitan el desarrollo de temperaturas termófilas para producir un producto final estable, libre de patógenos y semillas, que pueda ser aplicado de forma beneficiosa para el suelo, se denomina compostaje (Huang 1993).

El compostaje puede utilizarse para procesar diferentes tipos de residuos orgánicos solos o en combinación con otros. Ciertas características de los residuos pueden limitar la eficiencia del proceso, como el exceso de humedad, baja porosidad, elevada relación N/C o elevado pH (Bernal *et al.*, 2009). Sin embargo, diferentes estrategias de aireación y la utilización de agentes estructurantes, entre otras, permiten optimizar el proceso, reducir el tiempo, el costo y mejorar la calidad final del compost (Bernal *et al.*, 2009).

### **1.4.1. Compostaje: descripción del proceso**

El proceso de compostaje es llevado a cabo por una sucesión de grupos microbianos con diferentes características físicas, químicas y biológicas. Pueden diferenciarse cuatro fases. El proceso comienza con una fase mesófila (25-40 °C) donde los compuestos fácilmente degradables, ricos en energía, como azúcares y proteínas, son degradados por bacterias y hongos. Ambos grupos microbianos compiten, pero los hongos son superados por las bacterias que los superan en número en un orden de magnitud y presentan una mayor tasa de crecimiento (Griffin *et al.*, 1985). En esta etapa, la fauna presente contribuye en el fraccionamiento mecánico del material y con el aporte del ambiente intestinal para microorganismos especializados. La actividad de los microorganismos mesófilos genera un incremento de la temperatura que junto al agotamiento de los compuestos lábiles produce el descenso de su actividad y finalmente su muerte. Durante la segunda fase (termófila) la temperatura continúa subiendo hasta alrededor de los 80 °C (60-80°C). Cuando la temperatura supera los 55°C, la actividad fúngica es inhibida y las bacterias y actinobacterias termófilas son los principales descomponedores. El desarrollo fúngico en esta etapa también se ve disminuido por las condiciones temporales de baja tensión de oxígeno. En el rango entre 50 y 65°C predominan bacterias del género *Bacillus*, mientras que por encima de 70°C

predominan bacterias del género *Thermus* (Beffa *et al.*, 1996a). Por encima de 70°C también se detecta la presencia de *Hydrogenobacter* spp. y *Bacillus schlegelii* (Beffa *et al.*, 1996b). Entre los termófilos se destacan archeas metanogénicas independientemente del material de origen, principalmente *Methanosarcina* sp. (Thummes *et al.*, 2007). La temperatura final puede exceder los 80°C logrando destruir los patógenos, las semillas de malezas y las larvas de insectos. Los volteos de la pila mejoran la aireación e incorporan material parcialmente degradado de las capas externas, generando nuevos recalentamientos. Por encima de 70°C mueren la mayoría de los microorganismos mesófilos generando una demora en la reactivación luego del pico de temperatura.

Cuando la actividad termófila se reduce debido al agotamiento de los sustratos, la temperatura desciende dando inicio a la tercera etapa denominada “segunda etapa mesófila” o “fase de enfriamiento”. Esta se caracteriza por la recolonización del sustrato por microorganismos mesófilos a partir de esporas sobrevivientes, de células protegidas en micronichos o de reinoculación. Durante esta etapa se incrementa el número de descomponedores de celulosa y almidón, como las bacterias de los géneros *Cellulomonas*, *Clostridium* y *Nocardia*, y hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Paecilomyces* (Ryckeboer *et al.*, 2003).

La disminución del contenido de humedad y la acumulación de compuestos recalcitrantes da ventajas competitivas a los hongos, aumentando significativamente la relación hongo/bacteria y dando comienzo a la “fase de maduración”. Durante esta etapa se degradan los compuestos más recalcitrantes y se forman complejos del tipo lignina-humus.

Durante el proceso de compostaje se reduce el tamaño de partícula, se incrementa el contenido de humus, disminuye la relación C:N, se neutraliza el pH y aumenta la capacidad de intercambio catiónico.

Algunos autores proponen una quinta fase denominada curado en la que, pese a presentar una gran estabilidad físico química, pueden generarse cambios en las comunidades microbianas (Danon *et al.*, 2008).

El proceso finaliza con un compost estable y maduro. La estabilidad se refiere al grado en el que el sustrato fue transformado en materiales orgánicos más estables, mientras que la madurez se refiere al grado de descomposición de los compuestos fitotóxicos y a la ausencia de patógenos y semillas de malezas (Mazzarino *et al.*, 2012; Azim *et al.*, 2017).

#### **1.4.2. Compost: uso agronómico**

La aplicación de compost al suelo genera numerosos beneficios, como el incremento del nivel de materia orgánica, la porosidad y la estabilidad de agregados, la disminución en la densidad, la incorporación de nutrientes y la modificación de la actividad microbiana (Knapp *et al.*, 2010). El uso de compost como enmienda incrementa la biomasa microbiana y su actividad y posiblemente pueda modificar su estructura (Ros *et al.*, 2006), ya que las bacterias tienen un tiempo de generación más corto que los hongos reaccionando más rápidamente frente a cambios ambientales. Sin embargo, estos cambios pueden ser transitorios. La diversidad de la comunidad microbiana está más influenciada por las características del suelo que por los compost aplicados, por lo tanto, el efecto de estos sobre las comunidades microbianas dependen de las propiedades del suelo, tipo de uso, tipo de compost, dosis de aplicación y frecuencia de aplicación, entre otros (Gómez-Brandon *et al.*, 2013).

#### **1.5. Degradación anaeróbica: biometanización**

La biometanización es un proceso controlado de degradación anaeróbica de materia orgánica con el objetivo de producir metano y/o tratar efluentes. La degradación anaeróbica es la transformación de la materia orgánica mediada por microorganismos en ausencia de oxígeno hasta CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> y trazas de otros gases (N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>O, CO, O<sub>2</sub>) (de Graaf *et al.*, 2010) como fase gaseosa denominada comúnmente “biogás”. La fase líquida-sólida constituye un subproducto del proceso denominado “digerido” y compuesto por la fracción lignocelulósica no degradada, intermediarios del proceso (principalmente ácidos orgánicos), la biomasa microbiana (Frioni, 2011) y una fracción de compuestos inorgánicos disponibles.

Esta degradación es llevada a cabo por una sucesión de grupos microbianos, algunos de ellos asociados en forma sintrófica. La sintrofia es un caso especial de cooperación simbiótica donde bacterias que se diferencian metabólicamente dependen una de otra para la degradación de cierto substrato, generalmente por razones energéticas (Schink, 1997), como la oxidación anaeróbica del ácido propiónico. Dada la cantidad de grupos involucrados y los complejos procesos bioquímicos que se llevan a cabo, la degradación anaeróbica, es comúnmente presentada como una “caja negra” (Dabert *et al.*, 2002).

La eficiencia media de la metanogénesis es de aproximadamente 0,24 m<sup>3</sup> de metano por 1 Kg de materia orgánica seca (Arbon, 2002).

### 1.5.1. Biometanización: descripción del proceso

A continuación se describirá una simplificación del sistema de biometanización que está conformado por cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

Hidrólisis: Durante la hidrólisis, gran parte de los compuestos insolubles, como carbohidratos, proteínas y lípidos son degradados a sus monómeros o dímeros: monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos. Este proceso es llevado adelante por enzimas del tipo hidrolasas (amilasas, proteasas y lipasas) producidas por las bacterias hidrolíticas. La hidrólisis de la celulosa es un proceso lento que constituye un punto crítico en el proceso, pudiendo determinar la tasa y la eficiencia de degradación. Algunos de los microorganismos presentes poseen, en la pared celular, celulosomas que agrupan diferentes enzimas y contienen proteínas que les permiten unirse a la celulosa incrementando la eficiencia de descomposición (Insam *et al.*, 2010; Schnürer & Jarvis, 2010). La degradación de la lignina involucra múltiples y complejas reacciones bioquímicas, y debido al bajo contenido de enzimas específicas y a la lentitud del proceso, su degradación es limitada durante la biometanización (Brüchert, 1996; Li, 2015). La asociación de la celulosa y la hemicelulosa con lignina genera que parte de estas no estén disponibles para la acción enzimática hidrolítica. En consecuencia una fracción variable de la materia orgánica permanece sin modificaciones durante el proceso. La velocidad y eficiencia de esta fase depende del tamaño de partícula, pH, producción de enzimas, difusión y adsorción de las enzimas sobre las partículas. Parte de los compuestos solubles formados son transformados en biomasa y parte quedan en solución. La fase hidrolítica es llevada a cabo por los géneros *Clostridium*, *Acetivibrio*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Selenomonas*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* y *Enterobacterium*.

Acidogénesis: Durante esta fase, los compuestos solubles son transformados en ácidos grasos de cadena corta (acético, fórmico, propiónico, butírico y pentanoico), alcoholes (metanol y etanol), aldehídos, dióxido de carbono, hidrógeno, amoníaco y sulfuro de hidrógeno. En esta fase pueden ocurrir reacciones contrapuestas: hidrogenación y deshidrogenación. El acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> pueden ser usados directamente por los microorganismos metanogénicos, sin embargo, debido al aumento de la presión parcial del H<sub>2</sub>, hay una acumulación de fórmico, propiónico, butírico, pentanoico, etanol y ácidos grasos de cadena larga, que no pueden ser usados por estos y deben ser degradados durante la acetogénesis. La acumulación de ácidos grasos disminuye el pH extracelular pudiendo inhibir la metanogénesis. Los principales grupos microbianos involucrados en esta fase pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* y *Flavobacterium* (Shah 2014). Muchos de los grupos microbianos que llevan a cabo la fermentación son los mismos

que realizaran la hidrólisis durante la primera etapa (*Clostridium*, *Bacteroides* y *Bifidobacterium*). Otros géneros también están activos, por ejemplo, *Enterobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Eubacterium* (Deublein & Steinhauser 2008; Insam *et al.* 2010; Schnürer & Jarvis, 2010).

Acetogénesis: Durante esta fase los compuestos formados durante la acidogénesis son transformados a acetato e H<sub>2</sub>. Los microorganismos acetogénicos deben asociarse sintróficamente con bacterias autotróficas metanogénicas ya que la acetogénesis, termodinámicamente desfavorable, solo puede realizarse a bajas tensiones parciales de hidrógeno. Esta asociación es obligatoria e interdependiente. Un ejemplo es la oxidación del ácido propiónico, que solo puede realizarse si la presión parcial de H<sub>2</sub> es menor a 10<sup>-4</sup>bar, dependiendo, en consecuencia, de su asociado sintrófico que consume el H<sub>2</sub> (de Bok *et al.*, 2004; Vavilin *et al.*, 2003). La acetogénesis es la fase que define la eficiencia de la producción de biogás, ya que el 70% del CH<sub>4</sub> es generado a partir de la reducción de acetato. En esta fase participan microorganismos de los géneros *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Syntrophomonas*, *Syntrophus*, *Clostridium* y *Syntrobacter*, los últimos cuatro, capaces de producir sintrofia (Gerardi, 2003; Insam *et al.*, 2010; Schnürer & Jarvis, 2010).

Metanogénesis: Durante esta fase se produce el metano específicamente. El 70% se produce por bacterias metanogénicas acetotróficas (heterotróficas) a partir de acetato. El 30% restante es producido por bacterias metanogénicas hidrogenotróficas (autótrofas) que utilizan el H<sub>2</sub> como dador de electrones y al CO<sub>2</sub> como aceptor. Las bacterias sulfato reductoras y nitrato reductoras autótrofas compiten con las metanogénicas por el H<sub>2</sub> y el acetato (Deublein & Steinhauser, 2008; Schnürer & Jarvis, 2010). Ambos grupos pueden actuar en forma heterótrofa o autótrofa. Las bacterias nitrato reductoras heterótrofas utilizan un sustrato orgánico (acetato, etanol, metanol, etc) como donador de electrones (energía) y de carbono, mientras que las autótrofas utilizan el H<sub>2</sub> o compuestos reducidos de azufre (H<sub>2</sub>S) como donador de electrones y CO<sub>2</sub> como fuente de C. Las nitrato reductoras utilizan nitrato como aceptor final de electrones dando como producto final N<sub>2</sub> (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO y N<sub>2</sub>O como productos intermediarios), y las sulfato reductoras utilizan como aceptor final de electrones al ion SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> principalmente, pero también pueden usar otros compuestos oxidados de azufre generando como producto final H<sub>2</sub>S. La actividad de estos grupos está limitada por la concentración de nitratos y sulfatos.

### 1.5.2. Biometanización: productos

Las etapas descriptas en el apartado anterior se llevan adelante en forma superpuesta dentro del mismo reactor generando que parte de los compuestos intermediarios puedan salir del

sistema en la fase gaseosa o líquida sin completar el proceso. El principal producto producido por la biometanización es el biogás. El biogás está compuesto por CH<sub>4</sub> (50-75%), CO<sub>2</sub> (25-45%), H<sub>2</sub>S (0-1%), H<sub>2</sub> (0-1%), CO (0-2%), N<sub>2</sub> (0-2%), NH<sub>3</sub> (0-1%), O<sub>2</sub> (0-2%) y H<sub>2</sub>O (2-7%) (de Graaf, *et al.*, 2010). Las proporciones varían de acuerdo al sustrato utilizado, a la temperatura de biometanización y al tiempo de retención.

Como subproducto se genera el digerido como fase líquida. Este se compone por material lignocelulósico no degradado, compuestos intermediarios del proceso como ácidos orgánicos y alcoholes, nutrientes disponibles y biomasa microbiana.

### **1.5.3. Digerido anaeróbico: uso como enmienda**

El contenido de materia orgánica, macro y micronutrientes de los digeridos depende del origen del sustrato y del proceso de digestión utilizado (Möller & Müller, 2012; Zirkler *et al.*, 2014). La composición de los estiércoles varía de acuerdo al tipo de animal (monogástrico vs rumiante), sexo, especie, edad y tipo de alimentación, como también la ubicación geográfica y las condiciones climáticas (Lukehurst *et al.*, 2010). Sin embargo, hay ciertas características comunes a todos los digeridos: mantienen el nivel de nutrientes totales pero aumentan la fracción disponible de estos, destacándose el incremento en el contenido de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> respecto al sustrato utilizado, concentran los compuestos recalcitrantes y contienen un remanente de compuestos lábiles (intermediarios del proceso) y biomasa microbiana.

Al aplicarse al suelo contribuye a preservar su fertilidad aportando materia orgánica, estimulando las comunidades bacterianas y regulando el ciclo de nutrientes en suelos agrícolas (Walsh *et al.*, 2012). La característica más importante de los digeridos anaeróbicos como fertilizantes es la alta proporción de nitrógeno como amonio y la menor proporción de P comparado con otras enmiendas orgánicas (Abubaker *et al.*, 2013).

## **1.6. Degradación térmica: pirólisis**

La pirólisis es la degradación termoquímica de la materia orgánica a alta temperatura (400 - 700°C) y con un aporte limitado de oxígeno. Existen numerosos métodos pirolíticos, cada uno con diferentes características dependiendo del sustrato utilizado, la temperatura de operación, el suministro de oxígeno y los productos generados (Bridgeman *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2011; Rowbotham *et al.*, 2012). Los productos pueden ser líquidos (hidrocarburos), gaseosos (mezcla de CO, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, etc.) y sólidos (residuo carbonoso denominado biochar). Para maximizar la producción de biochar se utiliza la pirólisis lenta (baja temperatura) en ausencia de oxígeno.

En nuestro país, la mayor parte del carbón vegetal se produce en la región chaqueña, donde más del 60% se hace a escala familiar con grupos de 1 a 3 hornos del tipo media naranja (De Bedia *et al.*, 2016) (Figura 1.1). El proceso se inicia quemando parte del material en presencia de oxígeno y todos los subproductos vaporosos y gases se liberan a la atmósfera en forma de humo. La tasa de aumento de la temperatura es muy baja y el tiempo de proceso es de entre 11 y 15 días dependiendo del tipo y tamaño del horno.

Los subproductos del proceso pueden ser recuperados, pasando los gases liberados a través de una serie de condensadores de agua, obteniéndose el llamado ácido piroleñoso, y el gas de la madera no condensable supera los condensadores y de ser quemado, proporcionando calor. El gas de la madera puede ser usado sólo como combustible, y se compone típicamente de 17% de CH<sub>4</sub>, 2% de H<sub>2</sub>, 23% de CO, 38% de CO<sub>2</sub>, 2% de O<sub>2</sub> y 18% de N<sub>2</sub>. El gas tiene un valor calorífico de alrededor de 10,8 MJoules por m<sup>3</sup>, o sea alrededor de un tercio del valor calorífico del gas natural (FAO, 1983).



**Figura 1.1.** Fotografía de un horno pirolítico tradicional del tipo media naranja en la región chaqueña, Argentina.

Durante los últimos años aumentó el interés sobre la aplicación de biochar al suelo debido al descubrimiento de partículas similares al carbón en suelos muy fértiles y de alto contenido en carbono del Amazonas en Brasil, denominados localmente como Terra preta do Indio



(Lehmann *et al.*, 2006; Lehmann, 2009); a la gran estabilidad de este material frente a otras enmiendas orgánicas y a su contribución al incremento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Cheng *et al.*, 2008; Sohi *et al.*, 2009).

### **1.6.1. Descomposición térmica de la celulosa, hemicelulosa y lignina**

La hemicelulosa es el primer compuesto en descomponerse, entre los 220-315°C, dejando un residuo sólido del 20% en peso a los 900°C. La descomposición térmica de la celulosa ocurre a temperaturas superiores, en un intervalo comprendido entre los 300-400°C, y prácticamente, se degrada en su totalidad, dejando un residuo sólido de aproximadamente un 7% en peso a los 400°C. La lignina tiene una descomposición progresiva, desde los 100°C hasta los 900°C, dejando un residuo sólido de aproximadamente un 47% en peso a los 900°C. Estas diferencias en la degradación termoquímica son consecuencia de las diferencias en su estructura y composición química (Urien Pinedo, 2013).

Si se quiere priorizar la producción de líquido, la pirólisis debe ser rápida, a baja temperatura pero con alta velocidad de calentamiento. Bajo estas condiciones, pero con altas temperaturas, se logra que parte de las macromoléculas presentes en el líquido y en el sólido se rompan produciendo compuestos volátiles. Si se busca maximizar la producción de carbón, vegetal la pirólisis se debe realizar a baja temperatura, con baja velocidad de calentamiento y mayor tiempo de residencia.

El rendimiento en biochar de la pirólisis depende, además de la temperatura, de la velocidad de calentamiento y del tiempo de residencia, de la proporción de celulosa de la biomasa.

### **1.6.2. Biochar: características y uso como enmienda**

Dependiendo del tipo de pirólisis, el biochar puede ser un subproducto (producción de bioenergía) o el producto principal. Las características del biochar varían considerablemente dependiendo del sustrato utilizado y el proceso de producción, variando también el efecto sobre las propiedades físico químicas del suelo y su capacidad de secuestrar carbono (Sohi *et al.*, 2010; Kookana *et al.*, 2011; Meyer *et al.*, 2011). Adicionalmente, el efecto de su uso como enmienda también depende de las condiciones climáticas y el tipo de suelo (Liu *et al.*, 2013).

La pirólisis lenta es el método más utilizado para la obtención de biochar debido a que no requiere condiciones de operación complejas y tiene una alta eficiencia relativa de producción de carbón (Keiluweit *et al.*, 2010; Kookana *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2012; Filiberto & Gaunt, 2013).

Las principales características a considerar para evaluar el posible uso de un biochar son la composición elemental, el área superficial, el pH, la capacidad de retención de agua y la capacidad de intercambio catiónico.

El biochar presenta en general un gran contenido de carbono, que es máximo en la pirólisis de madera, como consecuencia del alto contenido de lignina (Huang *et al.*, 2012). Sin embargo, lo más importante es su gran estabilidad en suelo (baja susceptibilidad a la mineralización), convirtiéndolo en una sencilla y atractiva manera de biosecuestrar carbono (Mathews, 2008). La estabilidad del biochar en suelo está relacionada con el contenido de compuestos volátiles y la relación O:C (Zimmerman, 2010; Spokas, 2014). Un elevado contenido de compuestos volátiles puede estimular la actividad microbiana incrementando la tasa de mineralización (Spokas, 2014).

El amoníaco reacciona con los grupos oxigenados de la superficie del biochar formando aminas y amidas bajo condiciones ambientales (Seredych & Bandosz, 2007) o sales de amonio (Spokas *et al.*, 2012). El nitrógeno adsorbido permanece biodisponible (Taghizadeh-Toosi *et al.*, 2011). De esta manera, se pueden reducir las pérdidas de nitrógeno tanto por lixiviado como por volatilización sin afectar la disponibilidad para los microorganismos ni las plantas.

El biochar también tiene la capacidad de retener otros nutrientes como nitrato y fosfato, sin embargo, esta propiedad varía entre distintos materiales (Yao *et al.*, 2012). El incremento de la temperatura durante la pirólisis aumenta la capacidad del biochar de retener nitratos (Mizuta *et al.*, 2004), pero reduce la cantidad de nitrógeno contenida en el biochar (Feng *et al.*, 2012). Algunos autores (Khan *et al.*, 2008; Spokas *et al.*, 2012; Yeboah *et al.*, 2017) han demostrado los beneficios de aplicar el biochar junto con nitrógeno inorgánico.

Para esta tesis se utilizó un biochar producto de la pirólisis lenta de quebracho blanco.

## **1.7. Interacción compuesto orgánico-suelo**

Los compuestos orgánicos que son introducidos en el ambiente están sujetos a varios procesos químicos, físicos y biológicos. Estos procesos actúan interconectados a través del sistema ambiental determinando el destino del compuesto (Schwarzenbach *et al.*, 2003).

La composición elemental no nos brinda información de cómo los distintos átomos se conectan entre sí. Por lo tanto, podemos tener distintas moléculas con idéntica composición elemental pero distinta estructura. Y son la composición y la estructura en conjunto las que nos definirán su comportamiento ambiental, su labilidad o estabilidad, su interacción con otras

moléculas, las partículas de arcillas, la materia orgánica del suelo, los metales, el Ca y la biomasa microbiana.

Estos procesos generarán cambios en los compuestos aportados a nivel molecular e inducirán otras modificaciones en el resto del sistema, desde variaciones en los ciclos biogeoquímicos, la reserva de C, la estructura, la abundancia y la actividad microbiana y el desarrollo vegetal.

Los polisacáridos pueden ser degradados en una suspensión de suelo en un período de entre 4 y 8 semanas, sin embargo, al ser incorporados al suelo una parte de estos permanecen inaccesibles para la acción enzimática (protegidas dentro de fragmentos de plantas u otros residuos), mientras que otros se vuelven insolubles. De esta manera, su estabilidad es consecuencia de las asociaciones y reacciones con diferentes componentes del suelo. Estos pueden ser adsorbidos sobre arcillas, formar complejos insolubles con Fe, Cu y Zn, y/o pueden reaccionar con polifenoles generando enlaces: covalentes, iónicos o de puente hidrógeno, incrementando el peso molecular, la complejidad estructural y el contenido de compuestos fenólicos disminuyendo la solubilidad (Cheshire, 1977).

Es importante considerar que las enmiendas orgánicas constituyen una combinación de un sinnúmero de compuestos con diferente complejidad y grado de asociación.

## **1.8. Fundamentos y objetivo general**

La problemática de la concentración de residuos, el deterioro del medio ambiente, la necesidad de buscar energías alternativas y la pérdida de fertilidad de los suelos, pueden parecer conceptos a priori independientes, pero que sin embargo confluyen en la creciente aplicación agropecuaria de compuestos orgánicos. En este contexto es indispensable comprender la composición elemental y estructural de los mismos, las interacciones que se generan con la matriz suelo al ser aplicados y en consecuencia, el efecto sobre los ciclos biogeoquímicos, las comunidades edáficas y el tipo y cantidad de materia orgánica del suelo, que repercutirán en su estabilidad y capacidad de sostener la producción agropecuaria.

En función de esto, nos propusimos hacer un estudio integral sobre la utilización de enmiendas orgánicas con foco en los digeridos anaeróbicos que son los menos estudiados planteando el siguiente objetivo general:

- Analizar los componentes químicos y biológicos de los residuos agropecuarios y sus productos transformados para establecer su impacto sobre la mineralización de la materia orgánica y su relación con la actividad de la microbiota del suelo y valorar su potencial como enmiendas y/o fertilizantes.

Para alcanzar este objetivo se plantearon los siguientes objetivos específicos (objetivos generales de los capítulos):

- Desarrollar una metodología rápida y económica de caracterización de efluentes agroindustriales para mejorar su aprovechamiento y su correcta utilización agronómica.
- Comprobar si el digerido anaeróbico de purín de cerdo reúne las características básicas para ser utilizado como fertilizante.
- Valorar la capacidad de los residuos agropecuarios regionales y sus productos transformados para ser utilizados como fertilizantes, a través de la mineralización del carbono y el desarrollo vegetal.
- Relacionar los cambios de la materia orgánica, de las comunidades procariotas y la disponibilidad de los nutrientes para interpretar los efectos de los residuos y sus productos transformados, cuando se aplican al suelo.
- Evaluar la complementariedad de la utilización conjunta de biochar y digeridos a través de la mineralización del C, N y P para proponer una nueva tecnología de procesamiento y aplicación.

## 1.9. Diagramación de la tesis

A continuación se describe brevemente el contenido de cada capítulo.

**Capítulo 2:** Se desarrolló un método simple, rápido y económico para caracterizar cualitativamente las estructuras orgánicas presentes en efluentes a través de espectroscopía UV-Visible e infrarroja y su complementación con determinaciones químicas básicas. Este capítulo se publicó en International Journal of Environmental Analytical Chemistry (2017) DOI: 10.1080/03067319.2017.1354993 Disponible on line en: <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2017.1354993>

**Capítulo 3:** Se evaluó en primer lugar la aplicación de dosis crecientes de digerido de cerdo y a continuación se comparó la aplicación de digerido de cerdo con purín de cerdo sin procesar y fertilizantes químicos (urea y PDA). En ambos casos se evaluó en forma paralela la actividad biológica del suelo trabajando en microcosmos y el desarrollo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) como cultivo indicador, trabajando en invernáculo. Este capítulo se publicó en Ciencia del Suelo 33(1): 1-9, 2015.

**Capítulo 4:** Se caracterizaron algunos residuos regionales complementando las técnicas espectroscópicas UV-Vis e IR con las determinaciones químicas básicas, de acuerdo a lo

propuesto en el capítulo 2. Los residuos evaluados fueron estiércol de feed lot, cama de pollo y purín de cerdo sin procesar, digeridos anaeróticamente solos y en codigestión con residuos de cebolla. Se evaluó la capacidad de los mismos de producir la activación de la microbiota edáfica, la mineralización de C en el corto plazo, la dinámica de desarrollo del cultivo de lechuga y los cambios generados en las sustancias húmicas en el suelo bajo cultivo. Este capítulo se publicó en la revista *Science of the Total Environment* 647: 11-19, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.4440048-9697 Disponible on line a partir de agosto de 2018 en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.4440048-9697/>

**Capítulo 5:** Se evaluaron las diferencias en la composición de distintos residuos sin procesar (fracciones líquida y sólida de tambo) y productos transformados aeróticamente (compost de guano de pollo y estiércol bovino utilizando en ambos casos catáfila de cebolla como estructurante) y anaeróticamente (digeridos de tambo y cerdo y codigerido de estiércol bovino y cebolla). Se analizó la dinámica de mineralización de C, N, P y comunidades procariotas y los cambios en las sustancias húmicas. Finalmente se relacionaron los diferentes parámetros para evaluar su interrelación.

**Capítulo 6:** Se evaluó la composición del biochar y el digerido de cerdo, el efecto de su aplicación combinada, comparándola con los mismos en forma separada y un control sin enmendar, sobre la dinámica de C, N y P. Se relacionaron las características de los materiales con los cambios producidos en las respectivas dinámicas.

## Capítulo 2

# Caracterización rápida de efluentes orgánicos por espectroscopía UV-Visible e IR, a partir de fracciones obtenidas por centrifugación

*Publicado en: International Journal of Environmental Analytical Chemistry (2017) DOI: 10.1080/03067319.2017.1354993. Disponible on line en: <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2017.1354993>*

### 2.1 Introducción

El reciclado de nutrientes en los agroecosistemas depende de la biodegradabilidad de la materia orgánica que los conforma, siendo los carbohidratos y aminoácidos los que más rápidamente se degradan (en intervalos de tiempo que pueden variar de horas a días), mientras que las macromoléculas requieren largos períodos de descomposición (Stevenson, 1986).

Sin embargo, ninguna variable en forma aislada permite estimar la biodegradabilidad, y se hace necesario complementar varias determinaciones tales como contenido de carbono y de nitrógeno, celulosa, hemicelulosa y lignina, aminoácidos, proteínas, y ácidos fenólicos (Herman *et al.*, 1977; Materns, 2000 y Chen *et al.*, 2003).

Por lo tanto, para poder hacer uso extensivo de estos tipos de materiales como recurso agroecológico inmediato con el fin de mejorar los suelos, es indispensable desarrollar técnicas que combinen rapidez y bajo costo (Ahmad *et al.*, 2007). Entre los métodos de análisis de suelos con tales características, se incorporan las espectroscopias Ultravioleta-Visible (UV-Vis) e Infrarroja (IR), que permiten de modo sencillo obtener información sobre la elucidación estructural de muchas moléculas, facilitando la interpretación de sus propiedades (Provenzano *et al.*, 2011).

Al respecto, la espectroscopía IR ha servido como una herramienta cualitativa para caracterizar en forma no destructiva, las principales clases de grupos funcionales químicos

que comprenden la materia orgánica del suelo y de los efluentes (Smidt *et al.*, 2002; Calderón *et al.*, 2006; Smidt & Meissl, 2007; Carballo *et al.*, 2008; Provenzano *et al.*, 2014).

La presencia de compuestos aromáticos y sus derivados hidroxilados, aminados y/o nitrogenados, principalmente solubles en agua a muy baja concentración, hace de la espectroscopía UV-Vis una técnica analítica complementaria muy útil y necesaria en este tipo de investigación (Chen *et al.*, 2002; Thomas & Burgess, 2007; Sarraguça *et al.*, 2009). Si bien la espectroscopía UV presenta un limitado valor porque no puede ser utilizada para determinar los grupos funcionales presentes (MacCarthy *et al.*, 1985), provee importante información estructural. El espectro obtenido resulta del promedio de las absorciones de las moléculas que componen la muestra (Miller, 1994) y puede utilizarse para estimar el grado de aromaticidad de la materia orgánica presente.

#### **Objetivo general del capítulo:**

- Desarrollar una metodología rápida y económica de caracterización de efluentes agroindustriales para mejorar su aprovechamiento y su correcta utilización agronómica.

#### **Objetivos específicos:**

- Fraccionar las muestras por centrifugación para mejorar la caracterización y la detección de los diferentes grupos funcionales.
- Utilizar la complementación de métodos químicos y espectroscópicos para facilitar la caracterización económica de los residuos orgánicos.

## **2.2 Materiales y métodos**

En este capítulo se desarrolló un método simple, rápido y económico para caracterizar cualitativamente las estructuras orgánicas presentes en efluentes a través de espectroscopía UV-Visible e infrarroja y su complementación con determinaciones químicas básicas.

### **2.2.1 Efluentes estudiados**

Los efluentes utilizados fueron colectados en distintos sitios y son producto de distintos procesos. Uno es el efluente de tambo (ET) compuesto por agua de limpieza del corral de espera y de las instalaciones de ordeño, estiércol, orina y restos de leche. El mismo se recolectó finalizado el ordeño, sin ningún tratamiento adicional, en un tambo de Mayor Buratovich, ubicado en el Valle Inferior del Río Colorado, provincia de Buenos Aires. El otro efluente es un digerido de la biometanización de purín de cerdo (DC), compuesto por estiércol,

orina, restos de alimentos y agua de lavado, recolectado a la salida de un bioreactor de un criadero porcino de Coronel Pringles, provincia de Buenos Aires.

Los cerdos se alimentaron con alimento balanceado a base de maíz y sorgo, mientras que las vacas lecheras se alimentaron por pastoreo directo de pasturas de alfalfa. Es importante remarcar las diferencias en los sistemas digestivos (monogástricos vs. rumiantes), tipo de alimentación y la biometanización que generan diferencias marcadas en las características estructurales de los efluentes.

### **2.2.2 Separación de fases por centrifugación**

Los efluentes se centrifugaron a 3000, 4000, 5000, 7500, 10000 y 15000 rpm en una centrífuga Hanil Combi 514R. Los sobrenadantes se conservaron en heladera a 4°C durante la realización de las determinaciones. Los precipitados se secaron en estufa a 40°C para no modificar sus propiedades y luego se molieron en mortero de cerámica y se conservaron en estufa seca para evitar su rehidratación.

### **2.2.3 Análisis químicos**

Sobre las muestras de efluentes y sobrenadantes sin ningún procesamiento se tomó una alícuota de 5 ml a la que se le agregó ácido concentrado ( $H_2SO_4$ ) y catalizadores, se digirió, se alcalinizó con NaOH y se determinó nitrógeno total Kjeldahl (NTK, semi micro Kjeldahl). Sobre una alícuota de 10 ml se agregó OMg y se determinó nitrógeno amoniacal ( $N-NH_4^+$ ) y posteriormente se agregó aleación Devarda y se determinó nitrógeno de nitratos ( $N-NO_3^-$ ) por semi micro Kjeldahl. Luego una alícuota de 4 ml de cada muestra se aplicó sobre material inerte absorbente (Combustion Aid for Liquids, 501-427), se secó en estufa a 40°C durante 48 horas y se determinó carbono total (C) por combustión seca (1500°C LECO C Analyser). En los precipitados se determinó el contenido de carbono (C), hidrógeno (H) y nitrógeno (N), con un analizador elemental PerkinElmer CHNS/O 2400 Serie II.

### **2.2.4 Espectroscopía Ultravioleta-Visible**

Los efluentes sin centrifugar y los sobrenadantes se sometieron a un barrido espectroscópico UV-Visible a 18 longitudes de onda entre 190 y 665 nm con un espectrofotómetro UV-Visible T60 PG instruments. Las muestras se diluyeron en agua destilada desde 1:10 hasta 1:200 de acuerdo a la concentración del efluente o del sobrenadante, para obtener un barrido espectroscópico completo, sin saturación de la señal. Cada registro se realizó por triplicado.



## 2.2.5 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Los espectros se obtuvieron dentro del rango del infrarrojo medio (4000–400  $\text{cm}^{-1}$ ) con 64 escanes de barrido y 8  $\text{cm}^{-1}$  de resolución con un espectrómetro Nicolet iS50 FT-IR Thermo Scientific. Las muestras sólidas se prepararon como pastillas de bromuro de potasio Merck Uvasol al 1% (1,8 mg de muestra seca en 180 mg de KBr). Las muestras líquidas se registraron también como pastillas, las cuales se obtuvieron incorporando 0,30 mL en 180 mg de KBr, a fin de lograr una concentración en base seca de 0,5-1,0%.

## 2.3 Resultados y discusión

### 2.3.1 Análisis químicos

La caracterización química del efluente de tambo y del digerido de cerdo (ET y DC) sin centrifugación y los sobrenadantes (S) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación se presentan en la Tabla 2.1. La caracterización química de los precipitados (P) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación se presentan en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.1.** Caracterización química de los efluentes sin centrifugar y los sobrenadantes a distintas velocidades de centrifugación.

Detalle	Vel. de cent. $\text{r min}^{-1}$	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NTK	C	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /NTK	C/N
ET*	0	365,0	14,6	323,4	1070	1,13	3,31
SET	3000	30,0	57,3	194,0	430	0,15	2,22
SET	4000	33,1	18,6	247,9	320	0,13	1,29
SET	5000	46,0	2,2	269,5	340	0,17	1,26
SET	7500	44,2	2,3	226,4	360	0,20	1,59
SET	10000	44,4	1,2	258,7	410	0,17	1,58
SET	15000	110,1	5,4	291,1	380	0,38	1,31
DC	0	1980,4	40,8	2716,6	4450	0,73	1,64
SDC	3000	936,3	23,1	2188,3	2630	0,43	1,20
SDC	4000	959,4	24,6	2285,4	2240	0,42	0,98
SDC	5000	943,3	23,9	3072,3	2130	0,31	0,69
SDC	7500	870,9	20,0	2253,0	1980	0,39	0,88
SDC	10000	934,0	20,8	2285,4	1630	0,41	0,71
SDC	15000	814,7	23,1	2145,2	1590	0,38	0,74

\*ET: efluente de tambo; SET: sobrenadante de efluente de tambo; DC: digerido de cerdo; SDC: sobrenadante de digerido de cerdo.

**Tabla 2.2.** Caracterización química de los precipitados a distintas velocidades de centrifugación.

Detalle	Vel. de cent. r min <sup>-1</sup>	C			H		C/N
					%		
PET*	3000	38.9	6.3	3.8			10.2
PET	4000	37.2	5.9	3.7			10.1
PET	5000	39.6	6.1	3.9			10.2
PET	7500	41.7	6.4	4.2			9.9
PET	10000	39.7	6	3.8			10.4
PET	15000	39.9	6.1	3.9			10.2
PDC	3000	21.7	3.3	2.5			8.7
PDC	4000	23.4	3.4	2.7			8.7
PDC	5000	23.8	3.3	2.8			8.5
PDC	7500	26.1	3.6	3			8.7
PDC	10000	27.8	3.8	3.3			8.4
PDC	15000	29.1	4.1	3.6			8.1

\*PET: precipitado de efluente de tambo; PDC: precipitado de digerido de cerdo.

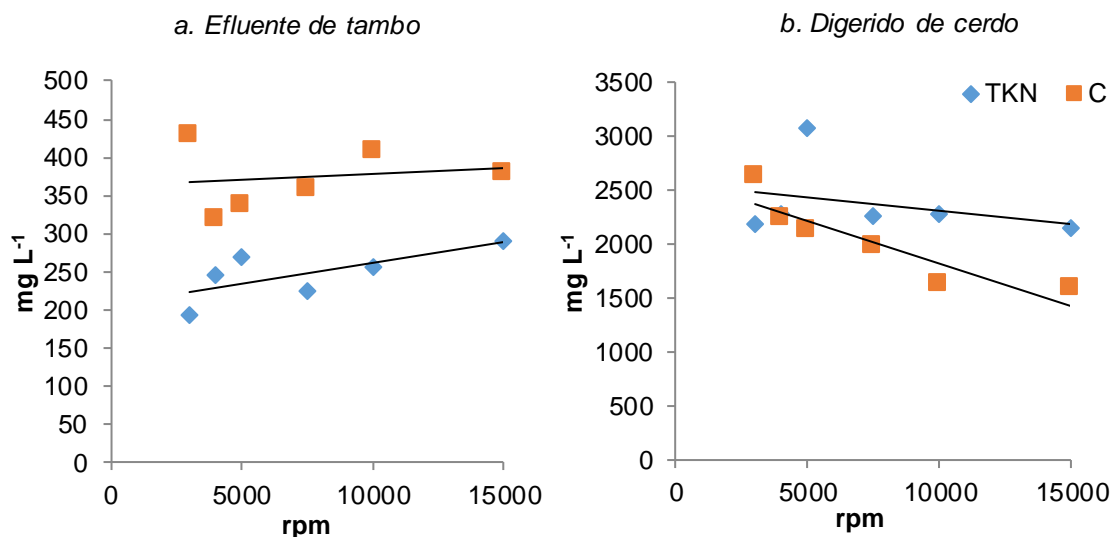
Con respecto al efluente sin centrifugar, el DC contuvo mucha mayor cantidad de nitrógeno (como N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NTK) y de carbono que el ET, lo cual es concordante con la naturaleza de los componentes del purín de cerdo, más rico en proteínas, hidratos de carbono y ácidos grasos.

La mayor influencia del aumento en la velocidad de centrifugación se observó en el sobrenadante del ET, para el cual el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> bajó considerablemente, mientras que el de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se incrementó. Esto permite suponer que a mayor velocidad de centrifugación, el sobrenadante se enriquece en compuestos nitrogenados de tipo amoniacal, capaces de solubilizar en agua, mientras los nitratos pasaron a la fase sólida. Por el contrario, el aumento en la velocidad de centrifugación, disminuyó el contenido de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, pero no modificó significativamente el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el sobrenadante de DC. Es posible deducir que para este efluente, los componentes nitrogenados son menos hidrofílicos y/o de composición más compleja, por lo que no logran permanecer solubilizados en la fase líquida acuosa.

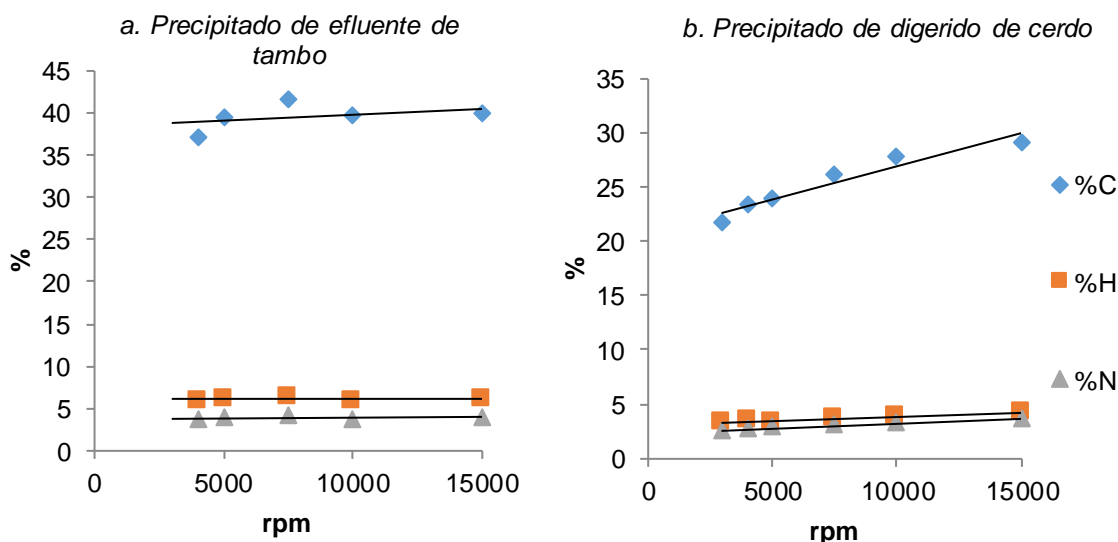
A su vez, el sobrenadante a 3000 rpm en el ET, y a 3000 y 4000 rpm en el digerido de cerdo, mostraron mayores valores en el contenido de carbono, lo cual coincide con la observación de turbidez, probablemente debido a sólidos en suspensión.

Los precipitados provenientes del ET mostraron fluctuación en el contenido de C y N, pero con tendencia a un leve incremento, y en los obtenidos del DC aumentaron en forma constante. Este resultado demuestra una gran estabilidad en la composición elemental de la

fase sólida, para ambos efluentes, manteniendo relaciones C/N casi constantes, por lo cual se infiere que los precipitados están constituidos por estructuras carbonadas/nitrogenadas, orgánicas e inorgánicas, más complejas que en el sobrenadante y resistentes a los procesos de centrifugación.



**Figura 2.1.** Concentración de C y NTK ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de los sobrenadantes a diferentes velocidades de centrifugación (rpm).



**Figura 2.2.** Concentración de carbono, hidrogeno y nitrógeno (%) de los precipitados a diferentes velocidades de centrifugación.

La Figura 2.1 ilustra, para cada efluente, las variaciones de C y NTK en los sobrenadantes, mientras que la Figura 2.2 muestra las variaciones de C, H y N en los precipitados, en función

de las distintas velocidades de centrifugación. Un aumento gradual muy leve en el contenido de C y NTK se observó en el sobrenadante de ET (Figura 2.1.a) mientras que en los precipitados no se registraron cambios significativos en los porcentajes de C, H y N (pendiente menor a 0,0006) (Figura 2.2.a). Por el contrario, para el DC, hubo una leve disminución de los contenidos de C y NTK (pendiente menor a 0,07) en los sobrenadantes (Figura 2.1.b) y en los precipitados sólo varió el porcentaje de C, mientras H y N permanecieron casi constantes (Figura 2.2.b).

### 2.3.2 Espectroscopía UV-Visible

Los espectros UV-Visible de los efluentes analizados, independientemente de su origen, se caracterizaron por no presentar máximos definidos, de modo que las absorciones decrecen en forma continua al aumentar la longitud de onda coincidiendo con lo reportado por Chen (2002) y Domeizel (2004). Este comportamiento puede ser interpretado si se tiene en cuenta que las absorciones más intensas tienen lugar entre 220 y 400 nm ya que las moléculas experimentan transiciones electrónicas entre distintos niveles energéticos. Para que ello ocurra, las mismas deben contener grupos o enlaces ricos en electrones  $\pi$  (cromóforos), de manera que cuanto mayor es la conjugación entre dobles enlaces (C=C y C=O), mayor es la probabilidad de las transiciones y mayor es la intensidad de la banda. Adicionalmente, la presencia de electrones  $n$  (no compartidos) de grupos tales como HO- y -NH-, contribuyen como auxocromos a la absorción de la radiación por parte de los cromóforos. Si luego de pasar por un máximo las absorciones decrecen, significa que tal capacidad de interacción disminuye.

La Tabla 2.3 muestra para ambos efluentes sin centrifugar y para los correspondientes sobrenadantes obtenidos a distintas velocidades de centrifugación, las absorciones a seis longitudes de onda diferentes y las tres relaciones de absorbancia comúnmente informadas en la bibliografía: E2/E3 (254/365) (Peuravuori *et al.*, 1997); E2/E4 (254/465) (Shirshova *et al.*, 2006) y E4/E6 (465/665) (Chen *et al.*, 1977; Albrecht *et al.*, 2011). Para ambos efluentes sin centrifugar, se apreció un decrecimiento continuo de la absorción máxima al aumentar la longitud de onda, lo cual refleja una alta concentración de grupos funcionales capaces de absorber en la región del UV medio.

**Tabla 2.3.** Valores de abosorbancia y relaciones de absorbancia para los efluentes sin centrifugar y los sobrenadantes a distintas velocidades de centrifugación.

Detalle	Vel. de cent. r min <sup>-1</sup>	250	254	280	365	465	665	E2/E3* <sup>2</sup>	E2/E4	E4/E6
		absorbancia								
ET* <sup>1</sup>	0	6,78	6,62	6,10	4,07	3,30	2,20	1,66	2,01	1,50
SET	3000	3,91	3,70	3,10	1,25	0,72	0,32	3,13	5,14	2,25
SET	4000	3,79	3,60	2,99	1,16	0,66	0,29	3,27	5,45	2,28
SET	5000	3,55	3,49	2,80	1,05	0,58	0,25	3,38	6,02	2,32
SET	7500	2,33	2,19	1,84	0,62	0,26	0,09	3,76	8,42	2,89
SET	10000	2,04	1,93	1,62	0,50	0,17	0,06	4,08	11,35	2,83
SET	15000	1,84	1,73	1,45	0,41	0,12	0,04	4,49	14,42	3,00
DC	0	66,45	63,50	55,80	30,45	19,95	11,25	2,18	3,18	1,77
SDC	3000	42,77	40,43	32,46	12,31	6,25	2,29	3,47	6,47	2,73
SDC	4000	33,75	31,80	25,05	8,85	4,40	1,50	3,81	7,23	2,93
SDC	5000	31,07	29,33	22,80	7,60	3,67	1,13	4,09	7,99	3,25
SDC	7500	27,07	25,52	19,85	6,05	2,65	0,83	4,47	9,63	3,19
SDC	10000	21,65	20,45	15,53	4,18	1,63	0,35	5,18	12,55	4,66
SDC	15000	18,50	17,53	13,18	3,33	1,23	0,28	5,56	14,25	4,39

\*<sup>1</sup>ET: efluente de tambo; SET: sobrenadante de efluente de tambo; DC: digerido de cerdo; SDC: sobrenadante de digerido de cerdo; E2/E3: relación entre los valores de absorbancia a 254 y 365 nm. \*<sup>2</sup>E2/E4: relación entre los valores de abosorbancia a 254 y 465 nm; E4/E6: relación entre los valores de absorbancia a 465 y 665 nm.

El DC difirió del ET en que sus valores de absorbancia son mucho mayores, lo cual estaría de acuerdo con una composición más compleja, resultando este dato coincidente con el obtenido mediante análisis químicos. Sin embargo las relaciones analizadas presentan valores semejantes para ambos materiales.

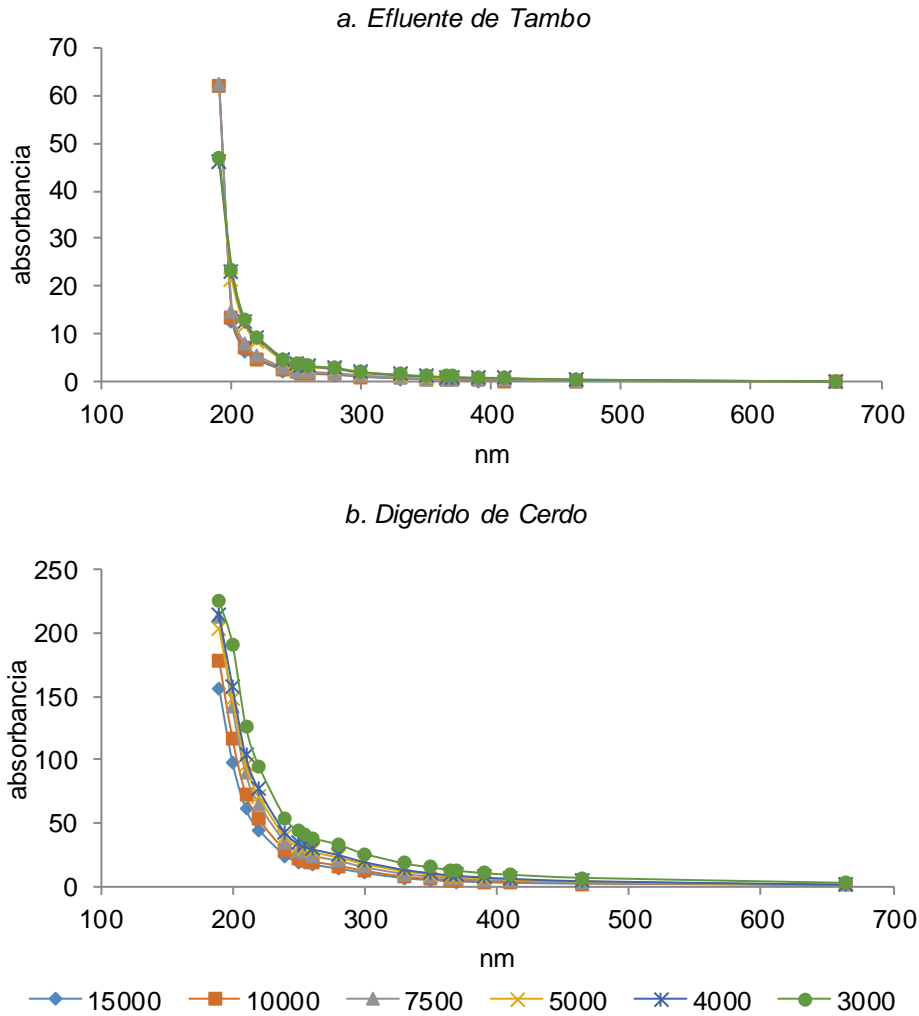
La relación E2/E3 se considera como la medida del grado de aromaticidad que caracteriza a la materia orgánica natural. Si sus valores caen dentro de un rango estrecho, entre 3.0 y 4.5 (como en este caso), significa que las muestras tienen niveles similares de conjugación, como así también semejantes pesos moleculares (Mc Donald *et al.*, 2004).

La relación E2/E4 da idea de la interacción entre la estructura hidrocarbonada de dobles enlaces conjugados y los grupos auxocromos. Si se halla dentro de un rango amplio, entre 2.1 y 14.5, significa que hay una alta densidad de carbono orgánico con alto grado de conjugación, y un menor contenido en oxígeno y nitrógeno (Chen *et al.*, 2002). Este resultado se observó en el caso de los efluentes estudiados, y puede relacionarse con sobrenadantes en los cuales hay un contenido de moléculas orgánicas menos complejas, de bajo peso molecular o de estructura pequeña, que las vuelve solubles en agua.

La relación E4/E6 es un índice de la presencia de estructuras altamente conjugadas, capaces de absorber aún en la región visible del espectro electromagnético. (He *et al.*, 2009). Como surge de la Tabla 2.3, los valores se incrementan levemente, lo que podría ser atribuido a una disminución en las absorciones dentro del rango de frecuencias entre 500 y 800 nanómetros.

Esta disminución se produjo por la presencia de moléculas en las que no hay una conjugación altamente extendida, o a que las estructuras más complejas capaces de impartir color han sido precipitadas por el proceso de centrifugación.

La Figura 2.3 muestra la absorbancia como función de la longitud de onda para los sobrenadantes de ET y DC a diferentes velocidades de centrifugación. Surge de ella que hubo una disminución constante de la intensidad dentro del intervalo de longitudes de onda comprendidas entre 180 y 665 nanómetros. La absorbancia decreció marcadamente en el rango entre 180 y 320 nm a medida que se incrementó la velocidad de centrifugación. Esto indica que al aumentar la velocidad de centrifugación disminuye el contenido de especies aromáticas; aromáticas condensadas; aromáticas conjugadas con cromóforos electroattractores (C=C, C=O); aromáticas sustituidas con auxocromos electroadores (HO-, -HN-) y especies olefínicas altamente conjugadas en los sobrenadantes. Este efecto puede atribuirse a que los compuestos de mayor peso molecular y/o de mayor tamaño, tienden a precipitar y a que los puentes de hidrógeno, causantes de asociación y de una mayor complejidad estructural por polimerización, tienden a romperse al centrifugar a mayores revoluciones por minuto. Quedarían así solubilizados en agua aquellos compuestos más hidrofílicos, de bajo peso molecular y aquellos con capacidad de ser hidrosolubles por polaridad aún con mayor peso molecular.



**Figura 2.3.** Variación de la absorbancia en función de la velocidad de centrifugación para los sobrenadantes de efluente de tambo (a) y digerido de cerdo (b).

### 2.3.3 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

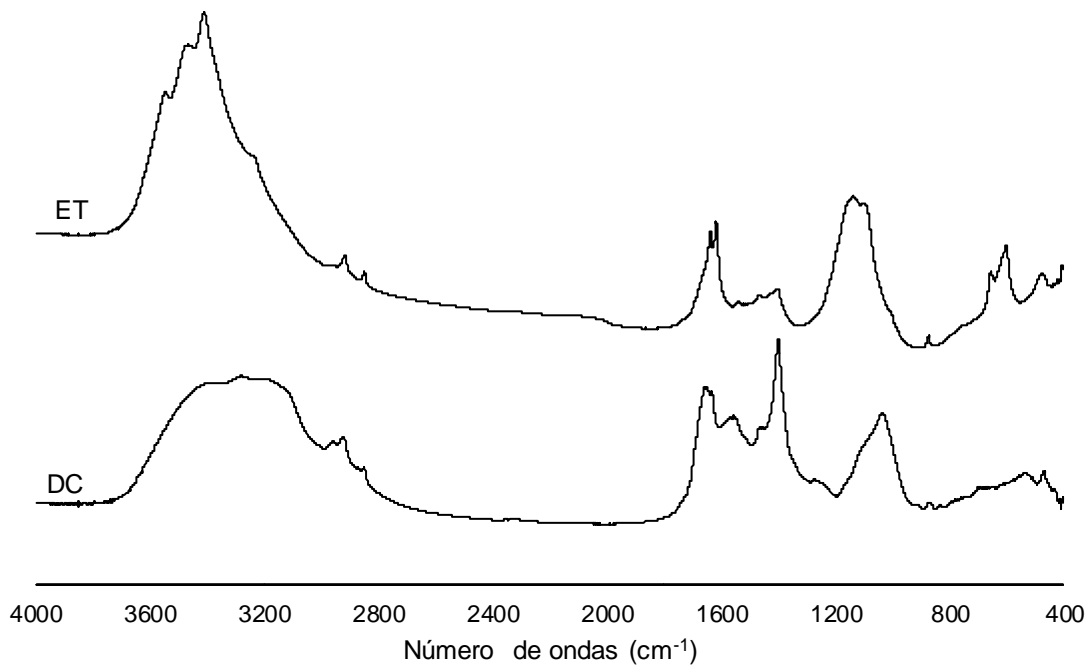
Los espectros IR de ambos efluentes se presentan en la Figura 2.4. Las principales zonas de absorción con sus correspondientes asignaciones son las siguientes: (I) una banda de intensidad fuerte entre 3600 y 3100  $\text{cm}^{-1}$  atribuidos a la vibración de tensión de enlaces O-H en fenoles, alcoholes y ácidos carboxílicos y de enlaces N-H en aminas y amidas primarias y secundarias (Cao & Harris, 2010); (II) tres bandas de baja intensidad entre 2950 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de tensión del enlace C-H en estructuras hidrocarbonadas alquílicas y grupos sustituyentes alifáticos; (III) una banda entre 1700 y 1600  $\text{cm}^{-1}$  que pueden corresponder a la vibración de tensión de enlaces C=O en amidas, ácidos y cetonas y a la deformación en el plano del enlace O-H en alcoholes y fenoles; (IV) una banda entre 1580 y

1540  $\text{cm}^{-1}$  debido a la deformación del enlace N-H en amidas y aminas y a la vibración de tensión del enlace C=C en compuestos aromáticos; (V) una banda en aproximadamente 1460  $\text{cm}^{-1}$  que podría corresponder a la vibración de tensión de los enlaces C-O y N-O en carbonatos y nitratos respectivamente, y a la deformación en el plano del enlace C-H en compuestos alifáticos; (VI) una banda ancha entre 1200 y 1050  $\text{cm}^{-1}$  característica de la vibración de tensión de los enlaces C-O y C-N en ésteres, alcoholes, fenoles, aminas y amidas y a la flexión del enlace OH de grupos carboxílicos, fenoles y alcoholes; y (VII) una banda entre 835 y 815  $\text{cm}^{-1}$  posiblemente debida a la deformación fuera del plano del enlace N-H (Cao & Harris, 2010; Silverstein *et al.*, 2015).

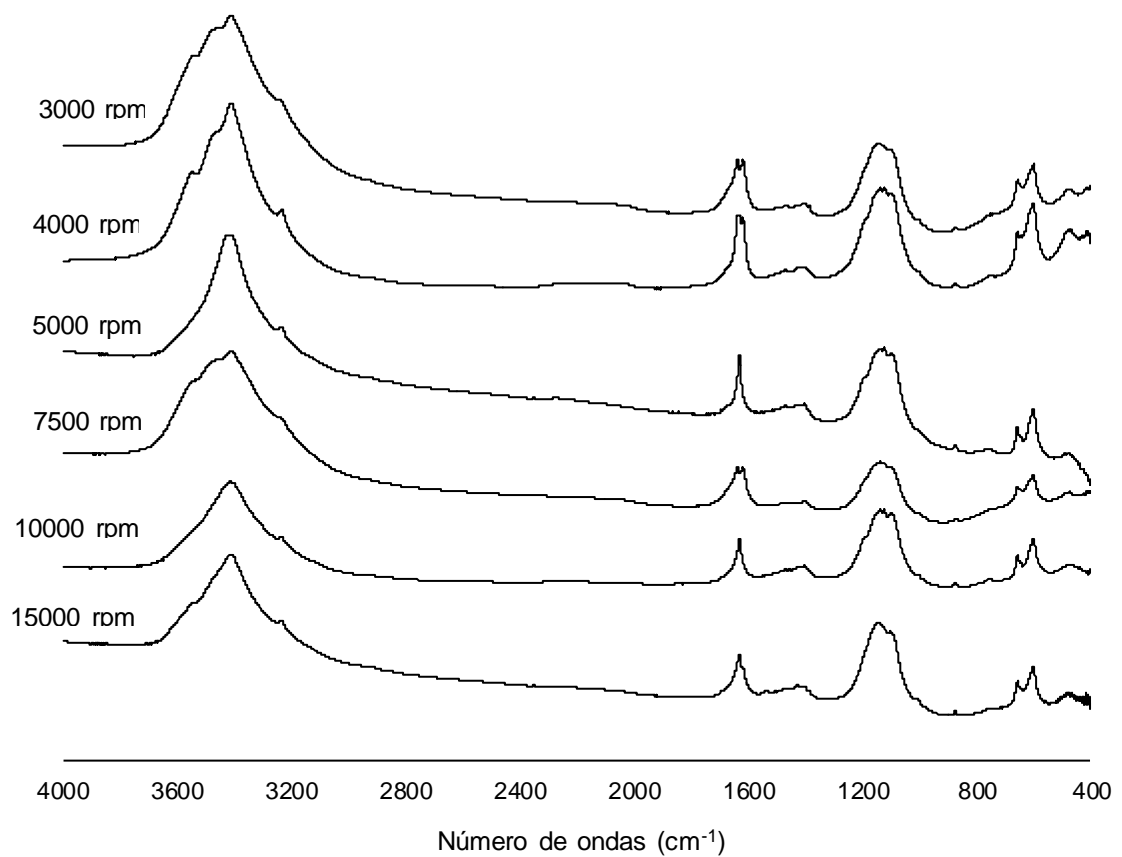
Las principales diferencias entre ambos efluentes se observaron en dos regiones del espectro: (1) una banda de gran intensidad en 1397  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración antisimétrica del enlace COO- en carboxilatos y la deformación en el plano del enlace C-H de grupos metilos y metilenos presente en DC y ausente en ET; y (2) dos bandas débiles entre 590 y 500  $\text{cm}^{-1}$  que podrían corresponder a la vibración de tensión de compuestos solubles de naturaleza inorgánica presentes solo en ET.

La centrifugación generó una buena separación de fases, sin embargo el incremento de la velocidad de centrifugación no tuvo una influencia directa en la constitución cualitativa de cada fracción obtenida. Esto se reflejó en los espectros registrados, los cuales permanecieron invariables, tanto para los sobrenadantes (figuras 2.5 y 2.6) como para los precipitados (figuras 2.7 y 2.8). Sin embargo, la presencia de turbidez por sólidos en suspensión a bajas velocidades de centrifugación (3000 rpm) y posibles rupturas de la matriz orgánica a altas velocidades (7500 rpm o mayores) permite señalar la velocidad de 5000 rpm como la más adecuada.

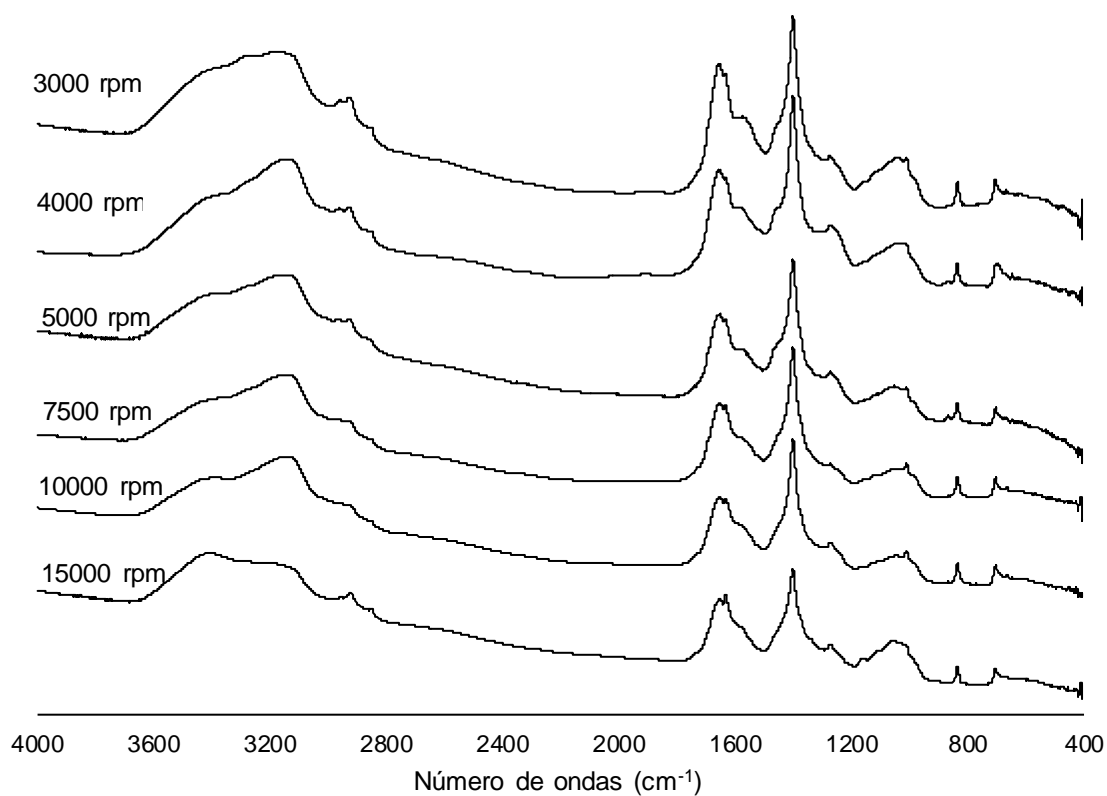




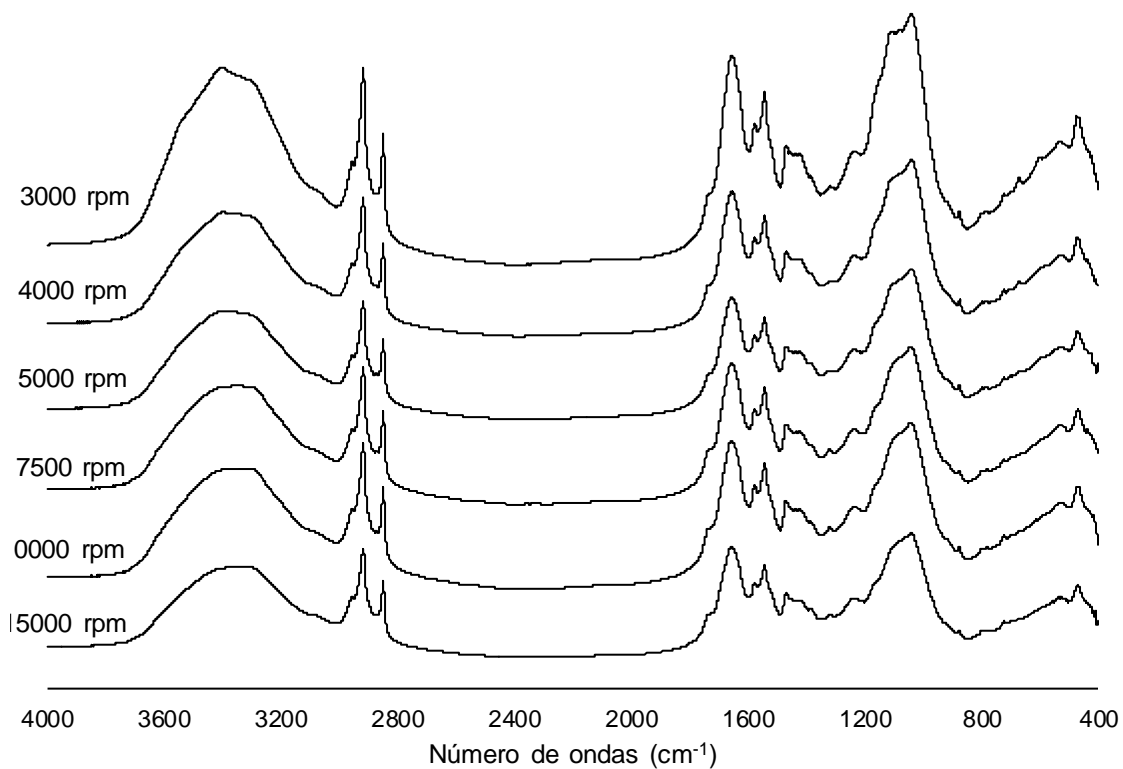
**Figura 2.4.** Espectros IR del efluente de tambo (ET) y del digerido de cerdo (DC) sin centrifugar.



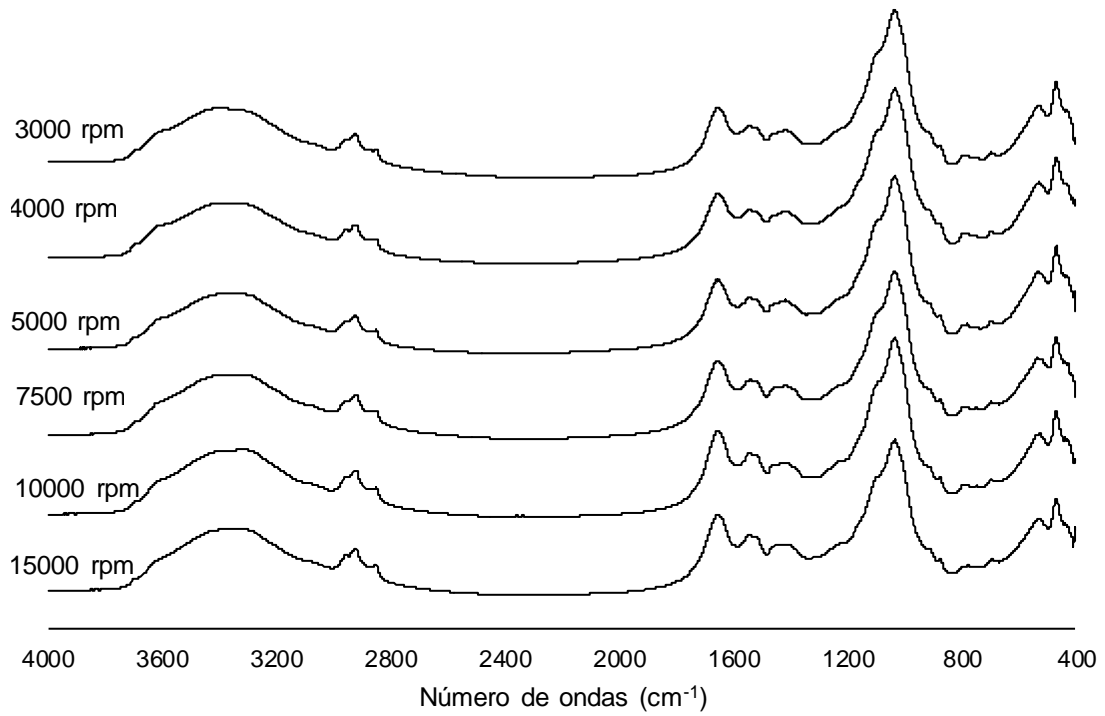
**Figura 2.5.** Espectros IR de los sobrenadantes de efluente de tambo (ET) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.



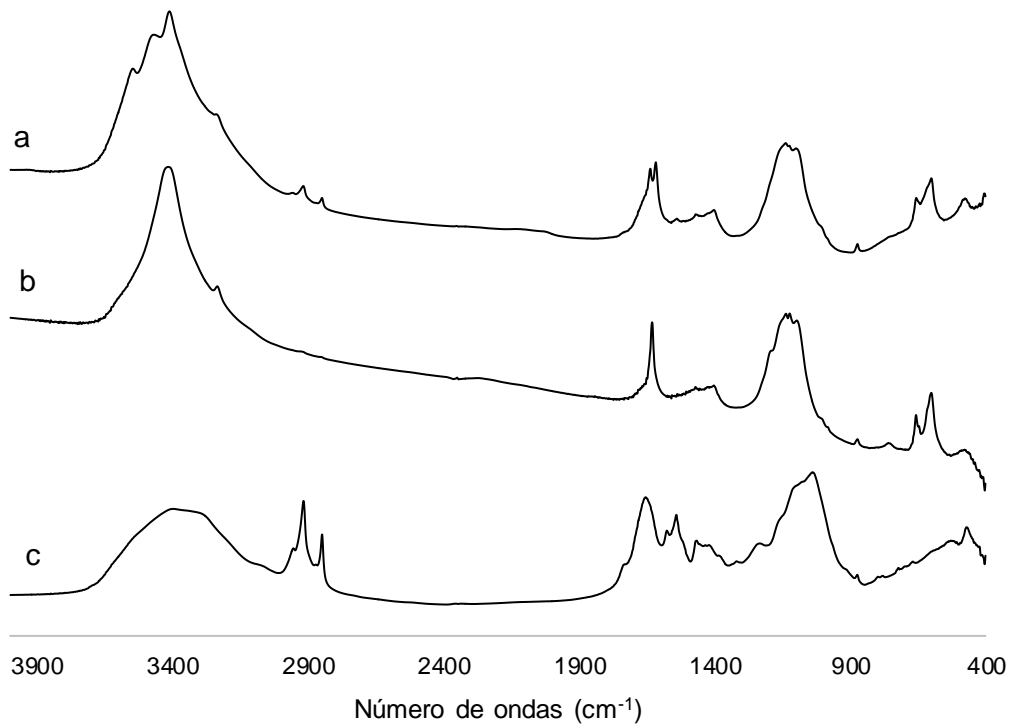
**Figura 2.6.** Espectros IR de los sobrenadantes de digerido de cerdo (DC) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación



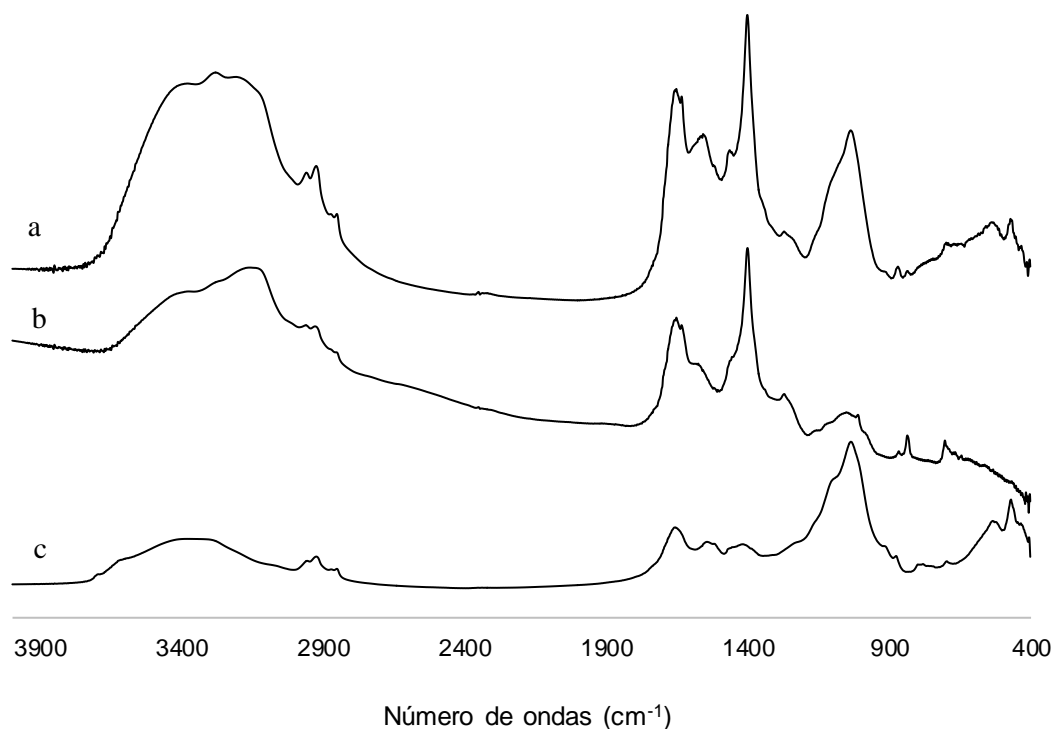
**Figura 2.7.** Espectros IR de los precipitados de efluente de tambo (ET) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación.



**Figura 2.8.** Espectros IR de los precipitados de digerido de cerdo (DC) obtenidos a diferentes velocidades de centrifugación



**Figura 2.9.** Efluente de tambo (ET) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm.



**Figura 2.10.** Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm.

Los espectros de los sobrenadantes de ET no presentaron diferencias marcadas con ET sin centrifugar (Figura 2.9 a y b). Se observaron las mismas zonas de absorción, con un leve estrechamiento de la banda comprendida entre  $3600$  y  $3100\text{ cm}^{-1}$  (región I); desaparecieron las bandas de baja intensidad entre  $2950$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  (región II); se agudizaron las bandas entre  $1700$  y  $1600\text{ cm}^{-1}$  (región III); y permanecieron prácticamente sin cambios, las bandas entre  $1200$  y  $1050\text{ cm}^{-1}$  (región IV) y entre  $650$  y  $590\text{ cm}^{-1}$  (región V), con un ligero incremento de intensidad en todas ellas.

En contraste, en los espectros IR de los precipitados de ET se observaron marcadas diferencias respecto del efluente sin centrifugar (Figura 2.9 a y c): un ensanchamiento de la banda en región I; un incremento marcado en la intensidad de la banda en región II; un incremento en la intensidad y una mejor resolución en la banda en región III; un incremento en la intensidad de la banda en región IV; la desaparición de la banda en región V y una mejor resolución de la banda situada por debajo de  $500\text{ cm}^{-1}$ .

Estos resultados permiten suponer que los componentes orgánicos del efluente de tambo capaces de un mayor grado de asociación y/o que contienen en su estructura un esqueleto hidrocarbonado, son de alto peso molecular e insolubles, provocando la precipitación de ácidos, compuestos aromáticos, amidas, aminas y compuestos alifáticos de cadena larga. En la fase acuosa quedarían los componentes oxigenados y/o nitrogenados de estructura menos

compleja, monofuncionales o provenientes de una degradación de macromoléculas, por efecto de la centrifugación.

Los espectros de los sobrenadantes de DC fueron similares al del DC sin centrifugar, diferenciándose principalmente por una marcada disminución de la intensidad de la banda entre 1150 y 900  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de ambas fases se diferenciaron claramente (Figura 2.10). De la comparación de los espectros de los sobrenadantes y los precipitados se observó lo siguiente:

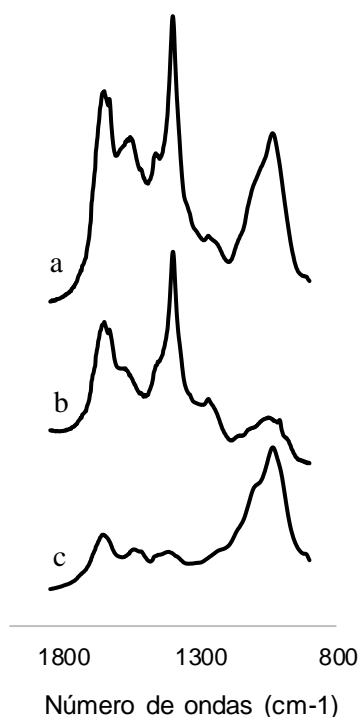
1. En el sobrenadante, la banda entre 3400 y 3100  $\text{cm}^{-1}$  se desplazó hacia menores valores de número de ondas con disminución de su intensidad, permitiendo suponer la presencia de compuestos hidrosolubles con posibilidades de asociación por formación de puente hidrógeno intermolecular. En el precipitado, por el contrario, se observó una disminución en la intensidad de esta banda (Figura 2.11).



**Figura 2.11.** Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 4000-2800 $\text{cm}^{-1}$ .

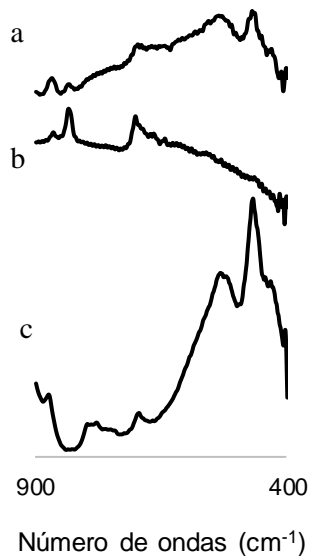
2. Las bandas entre 2950 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  mostraron una disminución de la intensidad en el sobrenadante y un incremento en el precipitado como consecuencia de la precipitación de estructuras con soporte hidrocarbonado alifático de cadena larga (Figura 2.11).
3. En el precipitado ocurrió un ensanchamiento y una disminución de la intensidad de las bandas entre 1650 y 1500  $\text{cm}^{-1}$ , pudiendo asumir que las amidas, aminas y

compuestos insaturados de bajo peso molecular permanecieron en el sobrenadante (Figura 2.12).



**Figura 2.12.** Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 1800-900  $\text{cm}^{-1}$ .

4. En el precipitado se ensanchó y definió un pico en 1511 posiblemente debido a la precipitación de compuestos aromáticos y olefínicos de mayor peso y/o hidrofóbicos (Figura 2.12).
5. El pico en 1397  $\text{cm}^{-1}$  permaneció en el sobrenadante y desapareció en el precipitado, pudiendo corresponder a ácidos carboxílicos (intermediarios en el proceso de descomposición anaeróbicas) (Figura 2.12).
6. Hubo una marcada disminución en el sobrenadante y un marcado aumento en el precipitado de la banda entre 1150 y 900  $\text{cm}^{-1}$  debido a la precipitación de ésteres, alcoholes, fenoles y compuestos polihidroxilados de mayor peso molecular (Figura 2.12).
7. Hubo un claro incremento del pico en 833  $\text{cm}^{-1}$  en el sobrenadante, mientras que en el precipitado desapareció, lo que permite suponer que las amidas y/o aminas primarias se mantuvieron en el sobrenadante. Además, la permanencia en el precipitado de absorciones entre 600 y 400  $\text{cm}^{-1}$  confirma la presencia de compuestos inorgánicos insolubles en agua (Figura 2.13).



**Figure 2.13.** *Digerido de cerdo (DC) sin centrifugar (a), sobrenadante (b) y precipitado (c) a 5000 rpm en el rango 900 -400 cm<sup>-1</sup>.*

## 2.4 Conclusiones

La relación C/N disminuye en los sobrenadantes y aumenta en los precipitados, para los dos tipos de efluente, lo que permite deducir que las fases líquidas resultan más ricas en nitrógeno, mientras que las fases sólidas lo son en carbono.

Por medio de la espectroscopía UV-Vis, se infiere que hay un cambio evidente entre los espectros de las muestras centrifugadas y los efluentes sin centrifugar y que en los sobrenadantes quedan los componentes más hidrofílicos, de menor peso molecular y con menor grado de conjugación.

De los espectros IR surge que en ambos efluentes la materia orgánica se compone principalmente de sustancias hidrofílicas con grupos O-H y N-H, y grupos funcionales C=O y C-H de compuestos alifáticos y aromáticos. Sin embargo, el incremento de la velocidad de centrifugación no produce diferencias en la absorción correspondiente a los grupos funcionales presentes.

Los tres métodos permiten sugerir la velocidad 5000 rpm como la más adecuada. Esta garantiza una buena separación de fases sin desnaturalización de la matriz orgánica.

Sin recurrir a tratamientos fisicoquímicos previos complejos y de forma rápida y económica, es posible hacer fácilmente una evaluación cualitativa de los componentes de los efluentes a

través de sus grupos funcionales y de las interacciones entre solubilidad, peso molecular y complejidad estructural, por medio de ambos métodos espectroscópicos. Adicionalmente, los análisis químicos básicos dan información cuantitativa sobre algunos de los nutrientes más importantes. Usando la metodología propuesta, diferentes efluentes orgánicos pueden ser caracterizados fácil y rápidamente para definir su correcto uso.



## Capítulo 3

# Factibilidad de la reutilización agronómica del digerido anaeróbico de purín de cerdo.

*Publicado en Ciencia del Suelo 33(1): 1-9, 2015*

### 3.1 Introducción

Las comunidades microbianas del suelo se componen de una gran diversidad de especies que adaptan su abundancia y actividad a los factores ambientales (Pell *et al.*, 2005). La actividad biológica de estas comunidades juega un rol esencial en las transformaciones biogeoquímicas de la materia orgánica y en consecuencia, sobre la fertilidad del suelo (Jenkinson & Ladd, 1981). Su determinación nos permite conocer la capacidad potencial de un suelo y evaluar los cambios producidos frente a cambios de uso, incorporación de fertilizantes, enmiendas u otros compuestos.

La respiración es la técnica más empleada para determinar la actividad biológica del suelo. La respiración aeróbica implica tanto el consumo de oxígeno como la liberación de CO<sub>2</sub>, por lo que puede determinarse a través de estos dos indicadores. La determinación de CO<sub>2</sub> es más sensible dado que se encuentra en menor concentración en la atmósfera. Sin embargo, como otros procesos como la fermentación pueden liberar CO<sub>2</sub>, cuando se utiliza este indicador (desprendimiento de CO<sub>2</sub>) es más adecuado hablar de mineralización de C y reservar el término respiración aeróbica cuando se utiliza como indicador el consumo de O<sub>2</sub> (Pell *et al.*, 2005). Pese a que se desarrollaron otros sistemas de detección más modernos, como son la cromatografía y la espectroscopía infrarroja, el método tradicional por captura del CO<sub>2</sub> en álcali y titulación química, continúa siendo muy utilizado debido a su precisión y bajo costo, pudiendo citar como ejemplos las recientes publicaciones de Al Marzooqí & Yousef (2017) y de Maji *et al.* (2017).

El crecimiento microbiano en un período corto de tiempo (6hs) es insignificante y su respuesta respiratoria corresponde a la microbiota presente (Höper, 2005). En consecuencia, la medición del desprendimiento de CO<sub>2</sub> en 6hs puede utilizarse como una medida de la activación de la microbiota presente, mientras que las determinaciones posteriores pueden incluir cambios en la biomasa y estructura de las comunidades microbianas. Esta

determinación también indica la presencia de compuestos orgánicos simples que pueden ser utilizados por una gran diversidad de microorganismos en forma inmediata.

La reutilización agronómica de cualquier residuo debe estar asociada a alguna mejora en el sistema suelo-planta. Esta puede estar asociada a mejoras físicas, químicas y biológicas. Sin embargo aún no se ha logrado comprender con precisión de que manera los rendimientos de los cultivos son determinados por los diferentes componentes del sistema. En consecuencia evaluar el desarrollo vegetal a través de cultivos indicadores nos permite analizar los componentes en su conjunto. Entre los diversos cultivos indicadores las hortalizas son los más sensibles, y dentro de estas se destaca el cultivo de lechuga por su rápido desarrollo y alta bioacumulación de sustancias tóxicas (Felipó, 2001; Lopez Mosquera *et al.*, 2003; Aruani *et al.*, 2008; Rotondo *et al.*, 2009; Montemurro *et al.*, 2010). Adicionalmente la lechuga posee un ciclo corto y demanda una gran cantidad de nitrógeno, convirtiéndola también en un cultivo indicador de fertilidad.

Debido a la escasa información disponible sobre el uso de digeridos en suelos y su efecto sobre las comunidades microbianas y el desarrollo vegetal se plantearon los siguientes objetivos:

#### **Objetivo general del capítulo:**

- Comprobar si el digerido anaeróbico de purín de cerdo reúnen las características básicas para ser utilizado como fertilizante.

#### **Objetivos específicos**

- Evaluar la aplicación de dosis crecientes del digerido de purín de cerdo sobre la respuesta de la microbiota del suelo y del cultivo de lechuga.
- Comparar el efecto de la aplicación del digerido y del purín de cerdo sin tratar, urea y urea más fosfato diamónico sobre la actividad biológica del suelo y el desarrollo vegetal de lechuga.
- Examinar la capacidad del digerido de purín de cerdo en comparación con los otros materiales para generar una respuesta respiratoria inmediata en las comunidades microbianas activas.

### **3.2 Materiales y métodos**

Para el presente capítulo se evaluó en primer lugar la aplicación de dosis crecientes de digerido de cerdo y a continuación se comparó la aplicación de digerido de cerdo con purín de cerdo crudo y fertilizantes químicos (urea y PDA). En ambos casos se evaluó en forma

paralela la actividad biológica del suelo trabajando en microcosmos y el desarrollo de plantas de lechuga trabajando en invernáculo.

### **3.2.1 Dosis creciente de digerido anaeróbico**

Este ensayo consta de dos experiencias para las cuales se usó el mismo suelo y digerido, y se aplicaron los mismos tratamientos que se describen a continuación.

Suelo: arenoso franco de la zona rural aledaña a Bahía Blanca con 1,8% de materia orgánica, 7,2 de pH, 1,2 dm m<sup>-1</sup> de CE, 13,63 ppm de N-NH<sub>4</sub>, 15,03 ppm de N-NO<sub>3</sub> y 1340 ppm de NTK (semimicro Kjeldahl).

Digerido: Efluente de digestión anaeróbica de purín de cerdo de un criadero de la zona de Cnel. Pringles, a 170 km. de la ciudad de Bahía Blanca, con 7,9 de pH, 22,9 dm m<sup>-1</sup> de CE, 2195 ppm de N-NH<sub>4</sub>, 120 ppm de N-NO<sub>3</sub>, y 2500 ppm de NTK (semimicro Kjeldahl).

#### **Tratamientos:**

T1- Control sin agregados; T2- Digerido 2 ml/100g de suelo; T3- Digerido 4 ml/100g de suelo; T4- Digerido 6 ml/100g de suelo; T5- Digerido 8 ml/100g de suelo.

#### **3.2.1.1 Evaluación de la actividad biológica del suelo**

La actividad biológica se evaluó a través de la respiración del suelo por el método de absorción estática (Anderson, 1982 y Zibilske, 1994). El CO<sub>2</sub> producido por la actividad biológica del suelo es capturado en una solución de hidróxido de sodio formando Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Al finalizar la incubación se precipitan los carbonatos incorporando BaCl<sub>2</sub> (precipitan como BaCO<sub>3</sub>) y los OH<sup>-</sup> no consumidos son titulados con HCl utilizando solución de fenoftaleina como indicador. Se utilizaron frascos de 750 ml y viales de plástico de 50 ml. Las muestras de 100 g de suelo se distribuyeron en los frascos, se humedecieron hasta el 50% del porcentaje de saturación (PS) y se pre incubaron una semana en estufa a 28 °C. Luego se les aplicaron los tratamientos y se humedecieron con agua destilada hasta alcanzar una humedad del 60% del PS; se colocó un vial plástico por frasco con 30 ml de NaOH (0,25 N) y se incubaron en estufa durante 8 días a 28 °C. Además de los frascos con suelo se agregaron tres blancos sin suelo. Se determinó el CO<sub>2</sub> desprendido por titulación a las 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 192 h.

#### **3.2.1.2 Evaluación del desarrollo del cultivo de Lechuga**

Se desarrolló en un invernáculo del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Se utilizaron macetas de plástico rectangulares con una boca de 14,5 x 41 cm con 8 kg de suelo cada una. Se llenaron las macetas con el suelo, se les aplicaron los tratamientos

asignados al azar y se llevaron a capacidad de campo. Tres días después se realizó el trasplante de los plantines de lechuga colocando dos por maceta. Se utilizaron plantines de lechuga variedad mantecosa amarilla. Todas las determinaciones se realizaron al finalizar el ensayo. Se determinó el índice de verdor promedio de la 6<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> y 8<sup>o</sup> hoja expuesta por planta (IV) con un equipo Chlorophyll Meter SPAD-502 Konica Minolta, el número de hojas, el peso fresco y seco de la parte aérea (PFA y PSA respectivamente) y el peso seco de las raíces (PSR). Para la determinación de los pesos secos las muestras se secaron en estufa a 70°C durante 48 h. En suelo se determinó el contenido residual de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NTK (semimicro Kjeldahl, Bremmer, 1996).

### **3.2.1.3 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente aleatorizado simple, con tres repeticiones para el ensayo con microcosmos y con cuatro para el ensayo en invernáculo. Primero se compararon los tratamientos con el control mediante una prueba Dunnett a una cola (Tratamiento > Control) para todas las variables excepto para las edáficas en que el test fue a 2 colas, utilizando como CM error el del ANOVA simple correspondiente y evaluando cada muestreo separadamente. Se probó un ajuste lineal para el desprendimiento de CO<sub>2</sub> parcial para las 24 h y para el PFA. Los valores acumulados de desprendimiento de CO<sub>2</sub> se compararon por contrastes polinomiales y se realizó el ajuste lineal.

### **3.2.2 Comparación entre distintas fuentes de nutrientes.**

Se desarrollaron tres experiencias (actividad biológica del suelo, activación de la microbiota y desarrollo del cultivo de lechuga), para las cuales se usó el mismo suelo y se aplicaron los mismos tratamientos, salvo el tratamiento 5 (Urea + PDA) que no se incluyó en la segunda experiencia. A continuación se describen los elementos utilizados y los tratamientos.

**Suelo:** arenoso franco de la zona rural aledaña a Bahía Blanca, con 1,9 % de MO, 7,3 de pH, 1,1 dm m<sup>-1</sup> de CE, 8,2 ppm de N-NH<sub>4</sub>, 9,0 ppm de N-NO<sub>3</sub> y 1350 ppm de N Total.

**PC:** Purín de cerdo (estiércol + orina + agua de lavado) del mismo criadero mencionado anteriormente, con 341,6 ppm de N-NH<sub>4</sub>, 36,4 ppm de N-NO<sub>3</sub> y 1176 ppm de NTK.

**DC:** Efluente de digestión anaeróbica de purín de cerdo, con 1741,6 ppm N-NH<sub>4</sub>, 120,4 ppm N-NO<sub>3</sub> y 3038,0 ppm NTK.

**Urea:** Solución de Urea equiparando la concentración de nitrógeno del Purín.

**U+ PDA:** Solución de Urea + fosfato diamónico (PDA) equiparando la concentración de nitrógeno del purín.

Tratamientos:

- T1- **Control:** 8,5 ml de Agua destilada 100g<sup>-1</sup> de suelo;
- T2- **DC:** 3,3 ml + 5,2 ml de Agua destilada 100 g<sup>-1</sup> de suelo;
- T3- **PC:** 8,5 ml 100 g<sup>-1</sup> de suelo;
- T4- **Urea** (solución): 8,5 ml 100 g<sup>-1</sup> de suelo;
- T5- **U+PDA** (solución): 8,5 ml 100 g<sup>-1</sup> de suelo.

Las dosis aplicadas corresponden a la misma cantidad de nitrógeno en todos los tratamientos (10 mg de NTK 100 g<sup>-1</sup> de suelo) de acuerdo a la menor dosis que se diferenció del control en el ensayo de lechuga de dosis creciente.

### **Análisis Estadístico**

Para el análisis estadístico de estas tres experiencias se utilizó un diseño completamente aleatorizado simple, con cinco tratamientos y tres repeticiones en la primer y tercer experiencia y cuatro tratamientos y 3 repeticiones en la segunda. La comparación de medias se realizó mediante el test Tuckey.

#### **3.2.2.1 Evaluación de la actividad biológica del suelo cada 24 h**

El procedimiento utilizado fue como el descrito en el punto 3.2.1.1. Se determinó el CO<sub>2</sub> desprendido por titulación a las 24, 48, 72, 96, 120 y 168 h.

#### **3.2.2.2 Evaluación de la activación de la microbiota del suelo**

El procedimiento utilizado fue como el descrito en el punto 3.2.1.1, pero se realizó una incubación de 2 días y las determinaciones de CO<sub>2</sub> se realizaron a las 6, 12, 24 y 48 h.

#### **3.2.2.3 Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga frente a distintas fuentes de nutrientes**

El presente ensayo se desarrolló en invernáculo, de manera similar a la descrita anteriormente, pero en este caso se utilizaron macetas de plástico de boca redonda con 2 kg de suelo de capacidad, colocando un plantín de lechuga por maceta. Se realizaron las mismas determinaciones.

## 3.3 Resultados y discusión

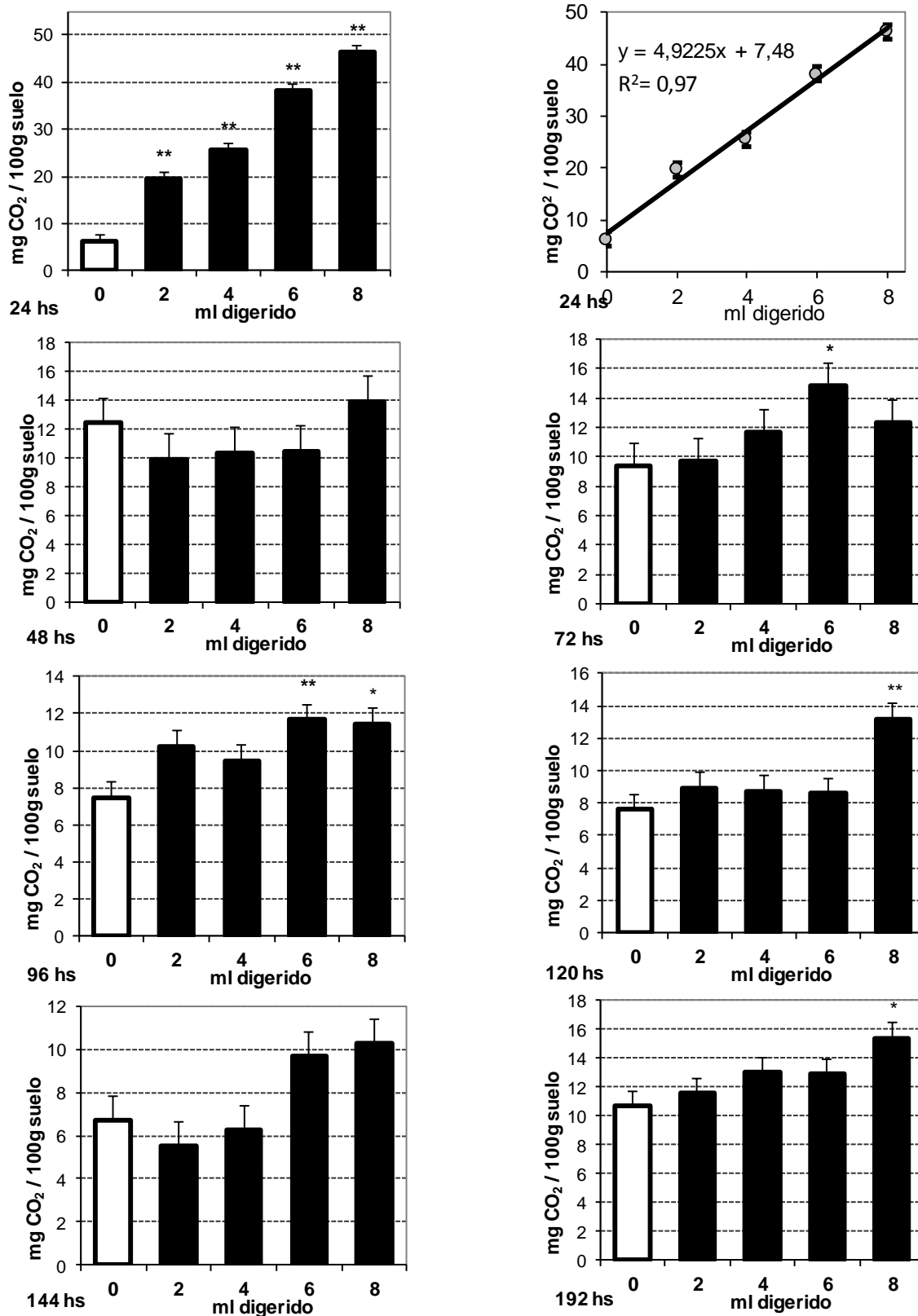
### 3.3.1 Dosis creciente de Digerido de cerdo

#### 3.3.1.1 Evaluación de la actividad biológica del suelo

En el Figura 3.1 puede observarse una rápida respuesta de la actividad biológica, en las primeras 24 h, coincidiendo con lo observado por Marcato *et al.* (2009). En este período inicial la actividad estuvo directamente relacionada con las dosis aplicadas como puede verse en la regresión lineal entre dosis y desprendimiento de CO<sub>2</sub> con una importante pendiente (4,922) y un excelente ajuste ( $R^2=0,970$ ). Luego de las 48 h la respiración desciende abruptamente acercándose a la respiración basal, representada en el control. A partir de allí solo se encontraron diferencias puntuales entre los tratamientos y el control sugiriendo que la fracción fácilmente degradable del digerido fue completamente mineralizada. Marcato *et al.* (2009) sostiene que en un primer momento la mineralización del carbono del digerido es comparable con el comienzo del proceso de compostaje y rápidamente se comporta como el compost maduro, sin fase intermedia, coincidiendo con lo observado en este ensayo.

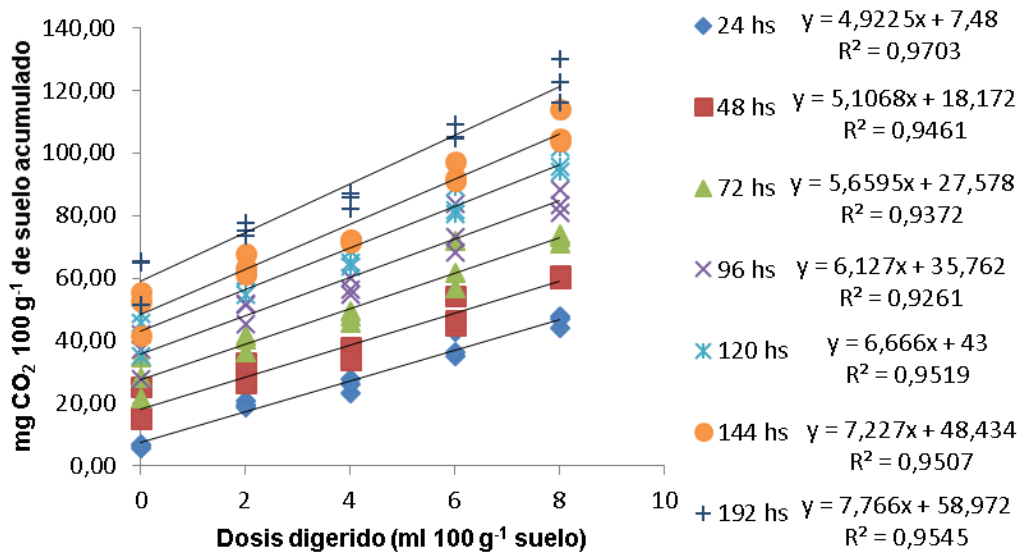
Posiblemente, la respuesta bien marcada en las primeras 24 h se debe por un lado a que en este período se degradan las sustancias más lábiles, principalmente ácidos orgánicos y aminoácidos remanentes del proceso de biometanización (como se observó en el capítulo 2), y por otro, al alto porcentaje de nutrientes disponibles, sobre todo el nitrógeno que presentó un 80% como N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Estos resultados coinciden con las determinaciones de Kirchman *et al.* (1992) y Makádi *et al.* (2012) quienes establecen que el amonio constituye entre el 50 y el 80% del N en los digeridos anaeróbicos. Luego de las 24 h, queda en el digerido un remanente de materia orgánica más recalcitrante, compuesta principalmente por lignina, cutina, ácidos húmicos, esteroides y proteínas complejas (Tambone *et al.*, 2009). En resumen, el digerido contiene un remanente de compuestos muy lábiles, no consumidos en la producción de biogás, que producen la rápida activación de la microbiota del suelo y una fracción muy recalcitrante de lenta mineralización.

El análisis de la producción acumulada de CO<sub>2</sub>, como puede observarse en la Figura 3.2, muestra durante todo el ensayo una clara respuesta a los tratamientos con digerido a dosis creciente con una diferencia final de 60 mg de CO<sub>2</sub>. Al realizar la comparación de medias través de contrastes polinomiales, los datos presentan un ajuste lineal altamente significativo para todos los muestreos ( $p < 0,0001$ ) y las regresiones lineales mostraron un excelente ajuste, con un  $R^2$  mayor a 0,926 para todos los casos.



\*mayor que el testigo (p < 0.05) - \*\* mayor que el testigo (p < 0.01)

**Figura 3.1.** Desprendimiento de CO<sub>2</sub> del suelo cada 24 hs luego de la aplicación de dosis crecientes de digerido de cerdo.



**Figura 3.2.** Regresiones lineales entre la dosis de aplicación de digerido (regresora) y el desprendimiento de CO<sub>2</sub> acumulado (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> de suelo).

### 3.3.1.2 Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga

#### Variables vegetales

Durante el desarrollo del cultivo no se evidenciaron síntomas de fitotoxicidad en ninguna planta. Como puede verse en la Tabla 3.1 la dosis de 2 ml no se diferenció del control para ninguna variable analizada y la de 6 ml para el verdor. El resto de las dosis se diferenciaron del control para todas las variables evaluadas. El PFA presentó un buen ajuste lineal ( $Y = 27,08X + 46,01$ ;  $R^2 = 0,72$ ) siendo la variable más sensible a la aplicación de digerido. En otros estudios (Rotondo *et al.*, 2009), trabajando también con lechuga, encontraron diferencias en el rendimiento y en el peso de cada planta ante diferentes dosis de lombricompost y cama de pollo, coincidiendo con los resultados de Lopez Mosquera *et al.*, (2003) que trabajaron con distintas dosis de estiércol de pollo.



**Tabla 3.1.** Valores medios de las variables vegetales analizadas.

Detalle	PFA <sup>1</sup> (g)	PSA (g)	% H	IV	Nº de hojas	PSR (g)
1-Control	62,36	2,82	90,2	17,78	31,5	2,44
2- 2 ml D.	55,05 ns	2,29 ns	91,69 ns	16,64 ns	31,5 ns	4,18 ns
3- 4 ml D.	188,72**	6,75**	92,59*	20,27*	40,5**	6,64**
4- 6 ml D.	209,79**	6,59**	93,35**	19,71 ns	38,75**	4,96*
5- 8 ml D.	255,84**	7,03**	94,26**	20,20*	42,0**	5,16*

ns : no mayor que el testigo ( $p > 0,05$ ); \* mayor que el testigo ( $p < 0,05$ ); \*\* mayor que el testigo ( $p < 0,01$ )

<sup>1</sup>PFA: peso fresco parte aérea; PSA: peso seco parte aérea; %H: contenido porcentual de humedad en base húmeda; PSR: peso seco raíces.

### Variables edáficas

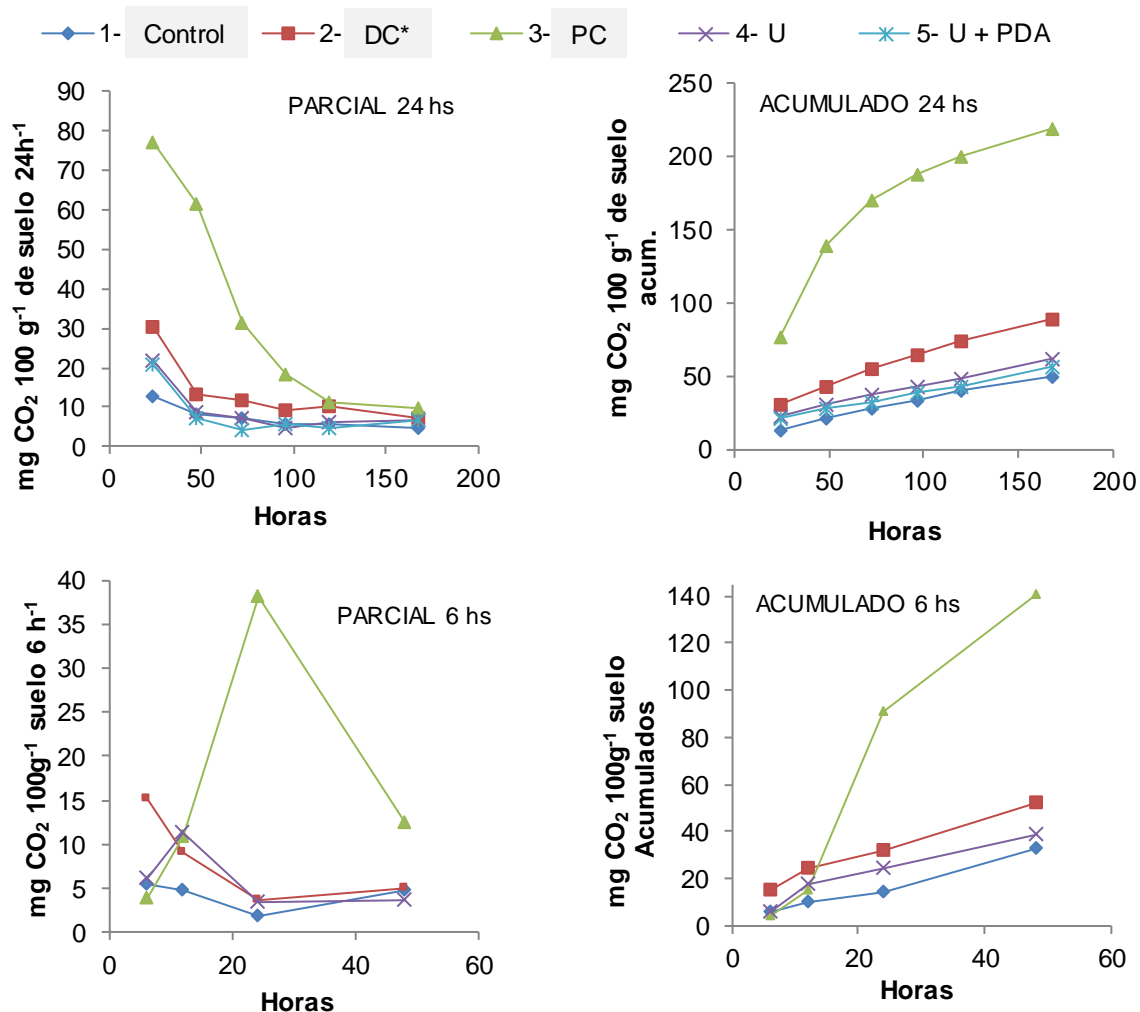
No se hallaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los niveles residuales de  $N-NH_4^+$ ,  $N-NO_3^-$  y NTK, sugiriendo que gran parte del nitrógeno contenido en el digerido fue utilizado por el cultivo, lo cual confirmaría su rápida disponibilidad.

### 3.3.2 Comparación del Digerido y purín de cerdo con fertilizantes químicos.

#### 3.3.2.1 Evaluación de la actividad biológica del suelo cada 24 h

El valor más alto de actividad biológica se observó a las 24 h en todos los tratamientos (Figura 3.3). El tratamiento con purín (PC) mostró valores altos de desprendimiento de  $CO_2$  hasta las 96 h, mientras que los otros tratamientos se estabilizaron luego de las 24 h. El tratamiento PC se separó marcadamente del resto mostrando los valores más altos de desprendimiento de  $CO_2$ , dada su menor estabilidad ya que no fue sometido a ningún proceso de degradación previo a la aplicación al suelo. Entre los tratamientos 4-U y el 5-U+PDA no se encontraron diferencias para ningún muestreo, y solo difirieron del control a las 24 h al analizar los desprendimientos parciales de  $CO_2$ . El digerido, si bien siempre presentó valores superiores al control, solo se diferenció estadísticamente a las 24, 72 y 120 h. El purín siempre se diferenció del control, de los tratamientos 4-U y el 5-U+PDA en todos los momentos salvo a las 168 h, y del digerido en todos los momentos menos a las 120 y 168 h, posiblemente debido a que la mayor parte de los compuestos lábiles del purín fueron mineralizados antes de las 120 h. A medida que los microorganismos degradan los compuestos lábiles, la actividad biológica disminuye acercándose nuevamente a la respiración basal del suelo representada en el control y que responde a variables más estables del suelo, como son el contenido de materia orgánica y sus características físico químicas. Plaza *et al.* (2007) trabajando también

en microcosmos con purín de cerdo verificaron que la mineralización se extiende durante 30 días posaplicación del efluente.



\*DC: digerido de cerdo; PC: purín de cerdo; U: Urea; U+PDA: urea más fosfato diamónico.

**Figura 3.3.** Desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) del suelo tratado con digerido, purín y fertilizantes químicos.

Al analizar los valores de CO<sub>2</sub> acumulados todos los tratamientos difirieron del control en cada muestreo, salvo el tratamiento 5- U+PDA que no se diferenció entre las 72 y 168 h. El digerido y el purín siempre difirieron entre sí y con los demás tratamientos, coincidiendo con el trabajo de Aruani *et al.* (2008) que al aplicar estiércol de pollo detectaron mayor actividad biológica que al aplicar fertilizante químico. De la misma manera, Mohammadi (2011) evaluando la actividad biológica a través de la actividad enzimática (proteasa, fosfatasa ácida y alcalina, ureasa y deshidrogenasa) en cultivos de trigo encontró la actividad máxima al aplicar estiércol de corral combinado con compost, y todas las enmiendas orgánicas (estiércol de corral, compost, estiércol de corral + compost, estiércol de corral + compost + fertilizantes químicos)

mostraron mayor actividad que la fertilización química. Álvarez Solís *et al.* (2010) demostraron que la disminución de la fertilización inorgánica y su complementación con estiércol ovino, generó un aumento del 20% en la biomasa microbiana y una mayor eficiencia en la asimilación del carbono orgánico y en la construcción de la materia orgánica.

En función de los datos obtenidos y realizando una extrapolación potencial, en 168 h la emisión de CO<sub>2</sub> a la atmósfera debida a la actividad microbiana del suelo, resultaría en 1784 kg de CO<sub>2</sub> ha<sup>-1</sup> con la fertilización con digerido (DC) y 4391 kg de CO<sub>2</sub> ha<sup>-1</sup> con la fertilización por purín (PC), es decir que fertilizar con digerido produciría 2608 Kg de CO<sub>2</sub> ha<sup>-1</sup> menos de emisiones que la fertilización con purín. Sin embargo, Möller *et al.* (2009), señalan que el mayor impacto en la disminución de gases efecto invernadero está dado por la sustitución de energías por el uso del biogás. Si bien el digerido generó un mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> que los fertilizantes químicos, para su comparación habría que considerar el CO<sub>2</sub> emitido durante la elaboración de los fertilizantes y su transporte.

### **3.3.2.2 Evaluación de la actividad biológica del suelo durante las primeras 48 h**

Al igual que en el ensayo anterior, se verificó la máxima actividad durante las primeras 24 h, pero al incorporar más información muestreando en períodos más cortos pudieron detectarse diferencias marcadas en la intensidad y velocidad de degradación (Figura 3.3). El DC presentó el valor máximo en las primeras 6 h, U a las 12 h y el PC a las 24 h. Esto evidenció una rápida activación de la microbiota presente por parte del digerido, posiblemente generada por el remanente de ácidos orgánicos y el contenido de nutrientes, principalmente nitrógeno en formas inorgánicas disponibles (el 60% del N en forma de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Es importante destacar que, independientemente de presentar mayores valores de actividad biológica, la dinámica del desprendimiento de CO<sub>2</sub> en el suelo tratado con el digerido tiene un comportamiento similar a los fertilizantes químicos. Por su parte PC, mostró mayor actividad biológica y un retraso en alcanzar la máxima actividad, lo que asociado a su mayor complejidad permite sugerir que requirió un incremento de la biomasa y la interacción cooperativa de distintos grupos microbianos para su degradación (Madigan *et al.*, 2004).

A diferencia del ensayo anterior, en los valores acumulados, no se llegó a diferenciar estadísticamente el digerido de la urea, pese a que siempre presentó mayores valores.

### **3.3.2.3 Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga frente a distintas fuentes de nutrientes.**

En la Tabla 3.2 se presentan las comparaciones de medias para las variables analizadas. El purín presentó el mayor valor para PFA, PSA, N° de Hojas y PSR, seguido por el digerido, la

Urea, U+PDA y por último, el control. Para PFA y PSA el purín se diferenció de todos los demás tratamientos; el digerido se diferenció del control pero no de urea y U+PDA, y Urea no se diferenció del control. Para el número de hojas, el purín también se diferenció de todos los otros tratamientos; el digerido no pudo diferenciarse de U+PDA y Urea del control. Para el PSR el digerido, pese a presentar una media notablemente mayor, no pudo diferenciarse estadísticamente del control ni de los tratamientos químicos, mientras que el purín se diferenció de todos los demás tratamientos. En un trabajo realizado también sobre cultivo de lechuga, pero bajo condiciones de campo, se obtuvo un mayor rendimiento con la aplicación de estiércol no procesado (de pollo) que con fertilizantes químicos (Aruani *et al.*, 2008).

No se detectaron efectos fitotóxicos para ningún tratamiento a diferencia de McLachlan *et al.* (2004) que detectaron efectos fitotóxicos al aplicar digerido de residuos sólidos urbanos y Andruschkewitsch *et al.* (2013), al aplicar digerido de biomasa residual.

**Tabla 3.2.** Valores medios de las variables vegetales analizadas.

Detalle	PFA <sup>1</sup> (g)	PSA (g)	Nº de hojas	IV	%H	PSR (g)
<b>1- Control</b>	11,89 <b>a*</b>	0,79 <b>a</b>	16,8 <b>a</b>	18,4 <b>ns</b>	93,89 <b>b</b>	1,00 <b>a</b>
<b>2- DC</b>	29,87 <b>b</b>	2,88 <b>b</b>	23,2 <b>b</b>	17,4 <b>ns</b>	91,35 <b>a</b>	3,87 <b>a</b>
<b>3- PC</b>	49,75 <b>c</b>	5,22 <b>c</b>	29,3 <b>c</b>	17,3 <b>ns</b>	90,56 <b>a</b>	8,08 <b>b</b>
<b>4- Urea</b>	22,74 <b>ab</b>	2,02 <b>ab</b>	18,7 <b>a</b>	19,7 <b>ns</b>	91,88 <b>a</b>	2,20 <b>a</b>
<b>5- U+PDA</b>	25,36 <b>b</b>	2,41 <b>b</b>	22,0 <b>b</b>	18,1 <b>ns</b>	91,52 <b>a</b>	2,86 <b>a</b>

\*Letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>PFA: peso fresco parte aérea; PSA: peso seco parte aérea; %H: contenido porcentual de humedad en base húmeda; PSR: peso seco raíces.

La mayor respuesta del cultivo de lechuga tratado con PC puede deberse al contenido de nutrientes no evaluados y al aporte de nutrientes, principalmente nitrógeno, por mineralización a lo largo del ciclo del cultivo. Este último factor pudo ser de importancia dado el reducido volumen de suelo y las importantes láminas de agua aplicadas con el riego que pueden haber generado el lixiviado principalmente del N en los tratamientos químicos (U y U+PDA) y el digerido (DC).

Para el verdor no se encontraron diferencias significativas entre ningún tratamiento y para el porcentaje de humedad todos los tratamientos se diferenciaron del control pero no entre sí.

Es importante destacar que si bien no llegó a diferenciarse estadísticamente, el digerido siempre presentó valores superiores a los fertilizantes químicos para las variables PFA, PSA, Nº de Hojas y PSR.

### **3.4 Conclusiones**

El incremento de las dosis del digerido de cerdo aumentó la respuesta en la actividad biológica del suelo y la producción vegetal en forma lineal sin mostrar inhibición microbiana ni vegetal. No presentaron diferencias en los niveles residuales de las distintas formas de nitrógeno sugiriendo que este fue transformado en tejido vegetal.

El digerido de cerdo incrementó el rendimiento vegetal de manera similar a los fertilizantes químicos, mostrando una dinámica similar en la actividad biológica.

Además, el digerido produjo la activación microbiota edáfica a las pocas horas de su incorporación al suelo.

El digerido presentó el potencial de reemplazar a los fertilizantes químicos, y si bien en este caso produjo menor rendimiento que el purín sin procesar, tiene la ventaja de disminuir las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera y el consumo de combustibles fósiles.

## Capítulo 4

# Capacidad fertilizante de los residuos agropecuarios regionales y sus productos transformados obtenidos por digestión y codigestión anaeróbica

*Publicado en Science of the Total Environment 647: 11-19, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.4440048-9697 Disponible on line en: /https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.4440048-9697/*

### 4.1 Introducción

El área de siembra de cebolla en Argentina alcanza aproximadamente las 19.000 hectáreas (Funbapa 2012), con una producción aproximada de 676.000 toneladas (producción promedio entre 1999 y 2016; Ministerio de Agroindustria, 2016). A partir de la resolución 42/1998 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, las producciones de cebolla deben ser empacadas y certificadas en origen. De esta forma las distintas regiones productoras cuentan con plantas de empaque para procesar el volumen local.

La cebolla es el principal cultivo del Valle Inferior del Río Colorado y en consecuencia, los galpones de empaque generan una gran cantidad de residuos difíciles de degradar que actualmente se acumulan o queman constituyendo un importante pasivo ambiental. El alto contenido de carbohidratos de bajo peso molecular, el bajo contenido de fibra, la presencia de compuestos antimicrobianos y el bajo pH, hacen que el residuo de cebolla sea muy difícil de procesar por métodos biológicos.

La composición de la cebolla varía de acuerdo al cultivar, las condiciones de crecimiento y la duración y tipo de almacenamiento. En general, la cebolla presenta entre 80-95 % de agua y tiene un contenido moderadamente alto de azúcares y fibra. Los carbohidratos no estructurales (glucosa, sacarosa y fructosa) componen entre el 65 y 80 % del peso seco. El contenido de fibra decrece desde la parte exterior del bulbo a la interior (Jaime *et al.*, 2001; Jaime *et al.*, 2002; Benítez *et al.*, 2011). Posee pH ácido, el cual varía entre 4 y 5 de acuerdo

a las condiciones del bulbo. La cebolla, al igual que todos los cultivos del género *Allium*, contiene gran cantidad de compuestos azufrados, responsables de sus aromas fuertes y penetrantes. Estos compuestos son los principales responsables de la capacidad antifúngica, antibacteriana, antiparasitaria y antiviral de la cebolla (Zohri *et al.*, 1995; Rose *et al.*, 2005; Corzo-Martínez *et al.*, 2007).

Lubberding *et al.* (1988) demostraron que las catáfilas exteriores producen poco biogás por ser tejidos muy lignificados, que el alto contenido de azúcares fermentables de la pulpa incrementan la proporción de butirato y valerato y que la digestión de las catáfilas exteriores y la pulpa en forma combinada generan una alta proporción de propionato en detrimento del acetato con la consecuente disminución del pH. Los residuos de cebolla producidos en el valle inferior del Río Colorado, caracterizados por una alta proporción de bulbos, para ser degradados anaeróbicamente deben ser combinados con otras fuentes de nutrientes y fibra como son los estiércoles animales (Rinland, 2015).

En esta misma región se generan residuos de producciones intensivas de porcinos, aves y bovinos que podrían utilizarse en combinación con los residuos de cebolla para la biometanización. Estos residuos presentan diferentes características en función del sistema de producción, tipo de alimentación, tipo de sistema digestivo, etc., y en consecuencia las características químicas de los digeridos producidos pueden presentar grandes diferencias e incluso contener sustancias fitotóxicas (Engwall & Schnürer, 2002; Levén & Schnürer, 2005; Kupper *et al.*, 2014).

Los estiércoles son una fuente importantes de nutrientes para las plantas (Engwall & Schnürer, 2002), sin embargo la baja mineralización en el corto plazo limita su potencial fertilizante (Abbasi *et al.*, 2007). Adicionalmente, la presencia de compuestos fitotóxicos, semillas de malezas y patógenos, como también la generación de olores y gases de efecto invernadero constituyen un riesgo importante cuando los estiércoles se utilizan sin procesar. En este sentido se debe procurar el tratamiento de los estiércoles previo a su aplicación al suelo.

La codigestión anaeróbica consiste en la digestión simultánea de una mezcla de dos o más substratos con características complementarias permitiendo incrementar la producción de biogás y estabilizar el proceso (Mata-Alvarez *et al.*, 2011). Lograr una combinación exitosa de dos o más residuos requiere de una gestión cuidadosa, ya que pruebas al azar o decisiones heurísticas sobre la relación de los residuos incorporados en plantas de gran escala frecuentemente producen alteraciones en los procesos y reducciones significativas en la producción de metano (Zaher *et al.*, 2009) pudiendo incluso detener completamente el proceso.

En el capítulo anterior se evaluaron solo parámetros a cosecha sobre el cultivo de lechuga, sin embargo, el análisis del crecimiento vegetal a través del área foliar y peso de los diferentes órganos permite estimar procesos fundamentales que hacen a la productividad, como la tasa de fijación de carbono y la repartición de fotoasimilados entre los diferentes órganos del vegetal (Di Benedetto & Tongetti, 2016) y comparar diferentes manejos.

El crecimiento es definido como un incremento irreversible en las dimensiones de la planta. La biomasa seca acumulada de una planta (u órgano) se incrementa inicialmente a una tasa exponencial, luego lo hace linealmente y finalmente crece a una tasa decreciente hasta un nivel máximo, lo que se asemeja a una curva sigmoidea (Poorter, 2002). El incremento de biomasa de un vegetal se realiza a partir del área foliar expandida como fuente de producción de fotoasimilados (Cookson *et al.*, 2005) y por lo tanto, es una variable directamente relacionada a la productividad y al graficar el incremento del área foliar en función del tiempo se obtiene una curva similar a la de biomasa (Di Benedetto & Tongetti, 2016).

#### **Objetivo general del capítulo:**

- Valorar la capacidad de los residuos agropecuarios regionales y sus productos transformados para ser utilizados como fertilizantes, a través de la mineralización del carbono y el desarrollo vegetal.

#### **Objetivos específicos:**

- Evaluar si la aplicación de los residuos y sus productos transformados son eficientes para incrementar la producción del cultivo de lechuga.
- Detectar los cambios en la dinámica del desarrollo del cultivo de lechuga para estimar la disponibilidad temporal de nutrientes.
- Examinar la capacidad de los residuos y sus productos transformados para activar la microbiota del suelo y producir la mineralización del carbono.
- Analizar la composición de las sustancias húmicas del suelo para evaluar si los residuos incorporados modifican la materia orgánica del suelo bajo cultivo de lechuga.

## **4.2 Materiales y métodos**

Se caracterizaron algunos residuos regionales complementando las técnicas espectroscópicas UV-Vis e IR con las determinaciones químicas básicas, de acuerdo a lo propuesto en el capítulo 2. Los residuos evaluados fueron estiércol bovino de engorde a corral (feed lot), cama de pollo y purín de cerdo sin procesar, digeridos anaeróticamente solos y en codigestión con residuos de cebolla. Se evaluó la capacidad de los mismos de producir la



activación de la microbiota edáfica, la mineralización de C en el corto plazo, la dinámica de desarrollo del cultivo de lechuga y los cambios generados en las sustancias húmicas en el suelo bajo cultivo.

#### **4.2.1 Suelo y efluentes utilizados**

Se extrajo suelo de los primeros 15 cm de una zona rural poco disturbada cercana a la Ciudad de Bahía Blanca. Sus características fueron: pH 7,9 (potenciométrico en agua), CE 0,442 dm m<sup>-1</sup> (en extracto de saturación), Co 1,26%, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 4 ppm y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 5,6 ppm (semi micro Kjeldahl).

Se utilizó estiércol de feed lot (FL), cama de pollo (CP) y purín de cerdo (PC) sin procesar, digeridos anaeróbicamente (D) y en codigestión con residuos de cebolla (+C). El FL se compone de estiércol bovino y restos de alimentos, principalmente restos de rollo; la CP incluye el aserrín de la cama, el guano de pollo y restos de alimento; y el PC incluye el agua de limpieza, estiércol, orina y restos de alimento. Los bovinos fueron alimentados con alimento balanceado en base a maíz con acceso libre a rollos como fuente de fibra, los pollos se alimentaron con alimento balanceado a base de maíz y los porcinos con alimento balanceado a base de sorgo. Estos materiales difieren marcadamente unos de otros en función de la alimentación, tipo de animales y forma de recolección. Las digestiones anaeróbicas se realizaron en condiciones de laboratorio en digestores tipo batch de 2L dentro del rango mesófilo (22°C) con agitación manual. Durante el proceso de digestión anaeróbica solo se verificó la producción de gas combustible como indicador del correcto funcionamiento del proceso. Para la codigestión de cebolla se utilizó la proporción propuesta por Rinland (2015).

#### **Tratamientos:**

- **Control;**
- **Urea;**
- **FL:** estiércol de feed lot;
- **DFL:** digerido anaeróbico de estiércol de feed lot;
- **DFL+C:** digerido anaeróbico de FL en codigestión con residuos de cebolla;
- **CP:** cama de pollo;
- **DCP:** digerido anaeróbico de cama de pollo;
- **DCP+C:** digerido anaeróbico de cama de pollo en codigestión con residuos de cebolla;
- **PC:** purín de cerdo;
- **DPC:** digerido anaeróbico de purín de cerdo;
- **DPC+C:** digerido anaeróbico de purín de cerdo en codigestión con cebolla.

#### **4.2.1.1 Caracterización química y espectroscópica de las enmiendas**

Sobre las muestras frescas se determinó  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  y NTK por semimicro Kjeldahl. Para la determinación de P total (PT) se realizó una digestión por el método de persulfato (APHA, 1992) y el contenido se determinó por el método del ácido ascórbico (APHA, 1992) utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Lambda 35, Perkin Elmer. Para la determinación de C las muestras sólidas se secaron en estufa a  $40^\circ\text{C}$  y se molieron en mortero de ágata para homogeneizar y para las muestras líquidas se colocó una alícuota de 4 mL sobre material absorbente inerte LECO (combustion aid for liquids, 501–427) y se secó en estufa a  $40^\circ\text{C}$ . El C se determinó por combustión seca ( $1500^\circ\text{C}$ , LECO C Analyser). Para la determinación de S se realizó una digestión por microondas (MARS-5, CEM Corporation, USA) y la determinación se realizó con un Espectrómetro de Emisión Atómica por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES, Shimadzu 9000 Simultáneo de Alta Resolución). Los sólidos totales y volátiles (ST y SV) se determinaron de acuerdo al método estándar (APHA, 1992). La CE se determinó por conductimetría y el pH por potenciometría, y en ambos casos se realizó sobre la muestra sin diluir para los materiales líquidos y sobre una dilución 1:10 para los materiales sólidos.

Los resultados de las muestras sólidas (FL, CP) se expresaron en base seca y los de las muestras líquidas (DFL, DFL+C, DCP, DCP+C, PC, DPC y DPC+C) en base húmeda.

Sobre las muestras de los materiales líquidos se realizó el fraccionamiento físico por centrifugación descrito en el punto 2.2.2 del capítulo 2 (a 5000 rpm) y se realizó un barrido espectroscópico de esas muestras y sus sobrenadantes de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.4 del capítulo 2.

De acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.5 del capítulo 2 se obtuvieron los espectros de todos los materiales y de los sobrenadantes y precipitados de los materiales líquidos.

#### **4.2.2 Activación de la microbiota y actividad biológica del suelo**

La actividad biológica se evaluó por el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  de acuerdo al procedimiento descrito en el capítulo 3 (3.2.1.1). Los microcosmos se prepararon en frascos de vidrio de 750 cc con 100 g en base seca de suelo homogeneizado y tamizado en húmedo por 2 mm. Se humedeció el suelo hasta el 50% del porcentaje de saturación (PS) (Pell *et al.*, 2005) y se preincubaron una semana en estufa a  $28^\circ\text{C}$ . Luego, los efluentes se mezclaron con el suelo en proporción  $10 \text{ mg N } 100 \text{ g}^{-1}$  de suelo seco (dosis definida en el capítulo 3), se incorporó un control sin agregados (Control) y otro químico (Urea) con igual dosis de nitrógeno aplicado

como urea. Se humedecieron con agua destilada hasta alcanzar una humedad del 60% del PS; se les colocó un vial plástico de 50 mL por frasco con 30 mL de NaOH (0,25 N) y se incubaron en estufa durante 27 días a 28 °C. Se determinó el CO<sub>2</sub> desprendido reemplazando el vial de NaOH y titulándolo con HCl (0,25N) a las 6, 18, 42, 66, 90, 114, 138, 162, 210, 264, 355, 475 y 644 horas. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento y tres blancos sin suelo.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, se analizó a través de ANOVA simple evaluando cada muestreo en forma independiente. La comparación de medias se realizó a través del test DMS ( $p < 0,05$ ).

#### **4.2.3 Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga**

Se desarrolló en un invernáculo del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Se utilizaron macetas de plástico de boca redonda con 3 L de capacidad. Se llenaron las macetas con el suelo previamente homogeneizado, se aplicaron al azar los tratamientos indicados en la sección 4.2.1 y se llevaron a capacidad de campo. Tres días después, se realizó el trasplante de los plantines de lechuga colocando uno por maceta. Se utilizaron plantines de lechuga (*Lactuca sativa* L var. mantecosa amarilla). Se realizaron cuatro repeticiones. Se regó diariamente en forma manual verificando que el suelo se mantuviera a capacidad de campo. La cosecha se realizó 60 días postransplante. Semanalmente se rotaron las macetas al azar y se tomó una imagen aérea de cada planta colocándolas sobre un aro de 0,25 m<sup>2</sup>, utilizando una cámara digital Samsung ES28/VLUU ES28 (grabado en formato JPG con resolución 1024 x 768 píxeles) para posteriormente calcular el área de cobertura. A cosecha se determinó el peso fresco y seco de la parte aérea (PFA y PSA respectivamente), el porcentaje de humedad (%H), el peso seco de las raíces (PSR) y el número de hojas (N° H). Para la determinación de los pesos secos, las muestras se secaron en estufa a 70°C durante 48 hs.

En función de que la determinación de biomasa vegetal y área foliar (sumatoria del área de cada hoja de la planta) durante el desarrollo del cultivo requiere la toma de muestras destructivas y que ambas guardan proporcionalidad con el área de cobertura (superficie del suelo cubierta por la planta), para el presente ensayo se utilizó esta última como indicador del crecimiento vegetal durante el ciclo del cultivo. La misma se calculó utilizando el programa CobCal v2.1 desarrollado por el INTA (Ferrari *et al.*, 2006) a partir de las imágenes aéreas tomadas de cada planta en forma semanal. Al finalizar el ensayo se evaluó la relación entre el área de cobertura final y las determinaciones de área de cobertura.

Para realizar el análisis del crecimiento vegetal se adaptaron las ecuaciones propuestas por la bibliografía a partir de la acumulación de biomasa (Di Benedetto & Tongetti, 2016) para ser

utilizadas a partir del área de cobertura. A partir del área de cobertura se realizó el cálculo de la tasa de crecimiento absoluto (TCA), que es la primera derivada de la curva, y representa el incremento de la cobertura del vegetal (AC) por unidad de tiempo (t):

$$\text{TCA} = dAC/dt;$$

y la tasa de crecimiento relativo (TCR), que es la pendiente de la ecuación que relaciona el logaritmo natural del AC total con el tiempo transcurrido y se define como el incremento del área de cobertura por área de cobertura existente y por unidad de tiempo:

$$\text{TCR} = 1/AC \times dAC/dt$$

Se verificó el ajuste de cada curva a un modelo sigmoideo de cuatro parámetros:

$$f = y_0 + a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b))$$

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. Se analizó a través de un ANOVA simple y la comparación de medias de las variables determinadas a cosecha (PFA, PSA, PSR, %H y N<sup>o</sup>H) se realizó a través de un test DMS ( $p < 0,05$ )

#### 4.2.4 Cambios en las sustancias húmicas

Para la evaluación de las sustancias húmicas se tomó una muestra compuesta del suelo utilizado en el ensayo previo al armado de las macetas y luego se muestreó cada maceta a los 28 y 56 días. A partir de las muestras de cada maceta, se armaron muestras compuestas por tratamiento para cada fecha.

Los AH y AF se obtuvieron mediante una extracción alcalina (NaOH 0,5 M y Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,1 M) y posterior precipitación ácida (HCl concentrado hasta pH 1,5) para su separación (Schnitzer, 1982) usando una relación suelo extractante de 1:10.

A partir de los extractos obtenidos se realizó un barrido espectroscopio en UV-Visible de 20 longitudes de onda entre 665 y 240 nm (Espectrofotometro UV-Vis PG instruments T60). Cada lectura se realizó por triplicado. Se calcularon las relaciones de absorbancia E4/E6 (465/665) (Chen *et al.*, 1997; Albrecht *et al.*, 2011) y E3:E5 (350:550) (Helal *et al.*, 2010).

Se realizaron los espectros infrarrojos por transformada de Fourier (rango entre 4000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ ) con 64 escanes de barrido y 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución con un espectrómetro Nicolet iS50 FT-IR Thermo Scientific. Las muestras se prepararon como pastillas de bromuro de potasio Merck Uvasol (0,2 mL en 180 mg KBr). Se calcularon las relaciones de absorbancia 1650/2920 y 1650/2850 que estiman el grado de aromaticidad, y 1034/2920, 1034/2850 y 1034/1540 que estiman el grado de policondensación (Amir *et al.*, 2003).

## 4.3 Resultados y discusión

### 4.3.1 Caracterización química y espectroscópica de las enmiendas

La digestión anaeróbica disminuyó la relación C/N como consecuencia de la pérdida de C como CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> en la producción del biogás. Adicionalmente la degradación de la materia orgánica de los estiércoles y la cebolla generó un incremento de la relación Ni/NT (Tabla 4.1). Estas observaciones coinciden con numerosos trabajos citados en la revisión de Möller y Müller (2012). Estos cambios son muy variables ya que dependen del tipo de materia orgánica presente en los materiales utilizados. DFL y DCP presentaron una baja relación Ni/NT debido al mayor contenido de compuestos lignificados (paja de cereal en DFL y aserrín en DCP) que son solo parcialmente degradables bajo condiciones anaeróbicas. Estos resultados coinciden con lo observado por Tambone *et al.* (2009). En contraposición DPC presentó una alta relación Ni/NT debido al contenido de compuestos muy biodegradables coincidiendo con lo observado por Möller *et al.* (2010). La codigestión con cebolla incrementó la relación Ni/NT en todos los casos, dado que la cebolla, al igual que otros residuos frutihortícolas, constituye un aporte importante de compuestos fermentables. Zethner *et al.* (2002), Pötsch *et al.* (2004) y Emmerling *et al.* (2007) encontraron resultados similares al codigerir estiércoles con topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). Adicionalmente, la baja relación Ni/NT de DFL, DFL+C y DCP coincidió con un mayor contenido de SV, indicando una mayor proporción de MO remanente. La codigestión con cebolla disminuyó el contenido de SV para FL (DFL+C) y CP (SCP+C). Este último efecto no se observó para PC (DPC+C) debido a que también es una característica del purín de cerdo la alta proporción de compuestos fácilmente degradables y el menor contenido de fibra respecto a FL y CP, pudiendo generarse, al incorporar la cebolla, un exceso de carbohidratos solubles y remarcar las propiedades antimicrobianas de los residuos de cebolla. La incorporación de cebolla no generó variaciones en el contenido de S. En función del elevado contenido de compuestos azufrados de la cebolla, es posible que parte del S se perdiera en el biogás como H<sub>2</sub>S debido a que las condiciones de digestión favorecen la volatilización (Straka *et al.*, 2007).

La digestión anaeróbica tendió a neutralizar el pH, incrementándolo para el caso del PC y de la cebolla y reduciéndolo en el caso de FL y CP.

**Tabla 4.1.** Caracterización química de las enmiendas utilizadas.

		DFL*	DFL+C	DCP	DCP+C	DPC	DPC+C	PC		FL	CP
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	mg L <sup>-1</sup>	181	690	508	1487	1011	2199	2240	mg Kg <sup>-1</sup>	515	1841
<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	mg L <sup>-1</sup>	28,5	10,8	8,5	55,4	14,6	20,0	47,7	mg Kg <sup>-1</sup>	25,8	42,8
<b>NTK</b>	mg L <sup>-1</sup>	970	2134	1337	2361	1358	2695	3083	mg Kg <sup>-1</sup>	10060	13140
<b>NT</b>	mg L <sup>-1</sup>	999	2145	1345	2416	1373	2715	3131	mg Kg <sup>-1</sup>	10086	13183
<b>C</b>	mg L <sup>-1</sup>	8870	5090	8680	5710	2160	3740	28820	g Kg <sup>-1</sup>	304	343,3
<b>P</b>	mg L <sup>-1</sup>	40,8	14,4	52	50	25,2	56,4	460	g Kg <sup>-1</sup>	5,3	19,4
<b>S</b>	mg L <sup>-1</sup>	212,4	204,8	234,4	206,8	159,6	201,6	323,6	mg Kg <sup>-1</sup>	3200	18100
<b>Ni/NT</b>		0,21	0,33	0,38	0,64	0,75	0,82	0,73		0,05	0,14
<b>C/N</b>		8,88	2,37	6,45	2,36	1,57	1,38	9,21		30,14	26,04
<b>N/P</b>		24,48	149,0	25,87	48,32	54,48	48,14	6,81		1,90	0,68
<b>pH</b>		8,06	7,55	7,65	7,73	7,63	7,64	5,10		9,40	9,30
<b>CE</b>	ds m <sup>-1</sup>	21,40	20,76	19,12	20,57	12,35	19,62	23,15	ds m <sup>-1</sup>	5,70	5,00
<b>ST</b>	g L <sup>-1</sup>	25,69	21,29	33,44	18,38	6,65	10,66	72,54	%	81,51	59,12
<b>SV</b>	g L <sup>-1</sup>	10,26	8,97	14,64	7,47	3,05	5,10	55,15	-	-	-

\*DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

Todos los materiales líquidos presentaron una elevada conductividad eléctrica, sin embargo gran parte de esta CE es consecuencia de la concentración de nutrientes y su valor no debe evaluarse como la calidad de agua para riego (Möller, 2015). Parera i Pous *et al.* (2010), trabajando con purín de cerdo de diferentes grupos de animales, verificaron la correlación entre la CE y el contenido de materia seca, NTK, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, P y K y concluyeron que la determinación de la CE sirve para estimar in situ el contenido de N y K del purín de cerdo y poder calcular la dosis de aplicación como fertilizante.

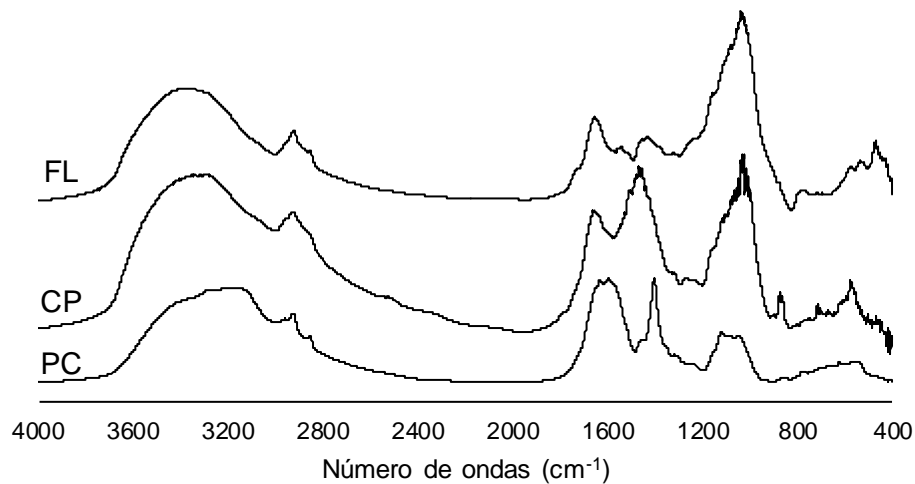
Los espectros IR de las enmiendas utilizadas muestran similares áreas de absorción. En la tabla 4.2 pueden observarse las principales asignaciones de las distintas regiones.

Las mayores diferencias se observaron entre los espectros de los materiales sin tratar (FL, CP y PC) (Figura 4.1). Se observó una variación en la intensidad de la banda con pico en 1650 cm<sup>-1</sup> (CP≈PC>FL) y un ensanchamiento solapándose con otra banda con pico en 1590 cm<sup>-1</sup> para PC; la presencia de una banda ancha y pronunciada con pico en 1457 cm<sup>-1</sup> y hombros en 1505 (asociada al contenido de lignina, Pandey, 1999; Sun *et al.*, 2001 y Ucar *et al.*, 2005) y 1426 cm<sup>-1</sup>, ausentes en PC y de baja intensidad en FL; la presencia de una banda intensa y aguda en 1397 cm<sup>-1</sup> presente en PC y ausente en FL y CP; una variación en la intensidad de la banda centrada en 1030 cm<sup>-1</sup> (FL>CP>PC) y un ensanchamiento en PC presentando dos picos en 1115 y 1074 cm<sup>-1</sup>; y dos picos en 870 y 850 cm<sup>-1</sup> presentes en CP

y ausentes en FL y PC. Adicionalmente en CP se observó un hombro en 2500  $\text{cm}^{-1}$  que junto con el pico de 1450 confirma la presencia de grupos  $\text{R-NH}_3^+$ .

**Tabla 4.2.** Ubicación de las principales bandas IR, tipo de vibración y su asignación a grupos funcionales.

Número de ondas ( $\text{cm}^{-1}$ )	Vibración	Grupo funcional
3100-3600	O-H tensión	Fenoles, alcoholes y ácidos carboxílicos
	N-H tensión	Aminas y amidas primarias y secundarias
2920, 2850	C-H tensión	Estructuras hidrocarbonadas alquílicas y grupos sustituyentes alifáticos.
1740-1720	C=O	Aldehidos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres
1640	C=O	Amidas I, carboxilatos
	C=C	Compuestos aromáticos
1630	COO-	Ácidos carboxílicos
1600	N-H en el plano	Aminas
1600-1590	C=C	Compuestos aromáticos
1570-1540	N-H en el plano	Amidas II
1515-1505	C=O	Alquenos y compuestos aromáticos.
1384-1460	COO-	Ácidos carboxílicos
	NH <sub>4</sub>	Amonio libre
	C-H en el plano	Metilos y metilenos
1270-1220	C-O tensión	Ácidos carboxílicos, ésteres, fenoles y alcoholes.
	C-N tensión	Amidas III
1250-900	C-O-C, C-O	Polisacaridos, ésteres y compuestos hidroxilados.
	C-O-P	Fosfodiésteres
	C-H en el plano	Alquenos y compuestos aromáticos.
875	C-O fuera del plano	Carbonatos.
850-750	NH <sub>2</sub> fuera del plano	Amidas I
	N-O tensión	Nitratos y nitritos
	C-H fuera del plano	Compuestos aromáticos condensados y sustituidos
750-700	N-H torsión	Aminas II



**Figura 4.1.** Caracterización IR de los materiales sin procesar: estiércol de feed lot (FL), cama de pollo (CP) y purín de cerdo (PC).

La digestión anaeróbica produjo cambios marcados en los grupos funcionales presentes en los estiércoles (figuras 4.2.a, 4.3.a y 4.4.a). Los digeridos producidos, independientemente del material de origen presentaron mayor uniformidad entre sí.

Luego de la digestión anaeróbica en FL (DFL), se observó la reducción del hombro en 1723  $\text{cm}^{-1}$  y de la banda en 1647  $\text{cm}^{-1}$ ; la aparición de un pico agudo y bien definido en 1628  $\text{cm}^{-1}$  y una banda ancha centrada en 1584  $\text{cm}^{-1}$ ; una banda pronunciada en 1397  $\text{cm}^{-1}$ ; la reducción de la banda centrada en 1030  $\text{cm}^{-1}$ ; y una banda en 834  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 4.2).

Al comparar DCP con CP se observó la reducción de la banda en 1648  $\text{cm}^{-1}$ ; la aparición de un pico agudo y bien definido en 1625  $\text{cm}^{-1}$  y una banda ancha centrada en 1596  $\text{cm}^{-1}$ ; una banda pronunciada en 1400  $\text{cm}^{-1}$ ; la reducción de la banda centrada en 1030  $\text{cm}^{-1}$ ; la reducción de la banda en 871  $\text{cm}^{-1}$ , la desaparición del pico 856  $\text{cm}^{-1}$  y una banda en 831  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 4.3).

La digestión anaeróbica generó menores cambios sobre el PC (DPC) que los observados en FL y CP. Se observó la reducción de las bandas 1648 y 1597  $\text{cm}^{-1}$  y el incremento de la banda aguda en 1628  $\text{cm}^{-1}$ ; no se observaron cambios importantes en la banda en 1397  $\text{cm}^{-1}$ ; se incrementaron los picos en 1346 y 1308  $\text{cm}^{-1}$ ; se redujeron las bandas centradas en 1115 y 1074  $\text{cm}^{-1}$ , no se observaron diferencias en la banda en 1030  $\text{cm}^{-1}$ , desapareció la banda en 849  $\text{cm}^{-1}$  y se marcaron dos bandas en 865 y 827  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 4.4).

El análisis de los espectros IR, detallado en los párrafos anteriores, permite inferir que la degradación anaeróbica generó una reducción del contenido de compuestos con soporte hidrocarbonado de cadena larga (2920, 2850 y 1030  $\text{cm}^{-1}$ , del tipo celulosa y hemicelulosa) de compuestos aromáticos (reducción de la banda 1650  $\text{cm}^{-1}$ ) y compuestos olefínicos de alto



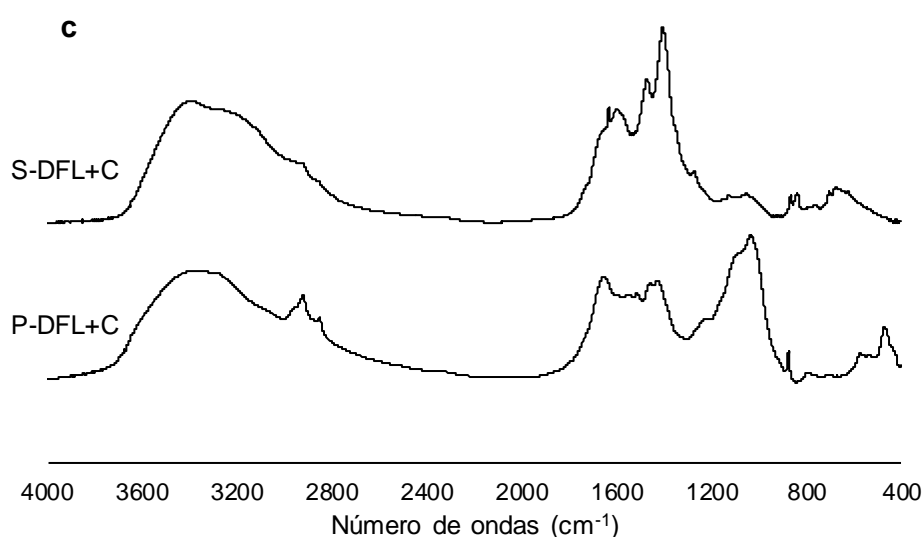
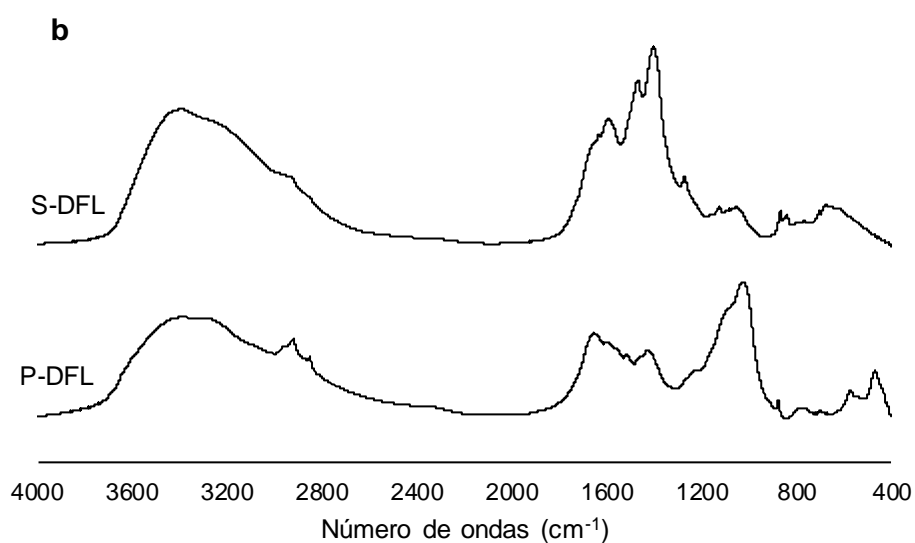
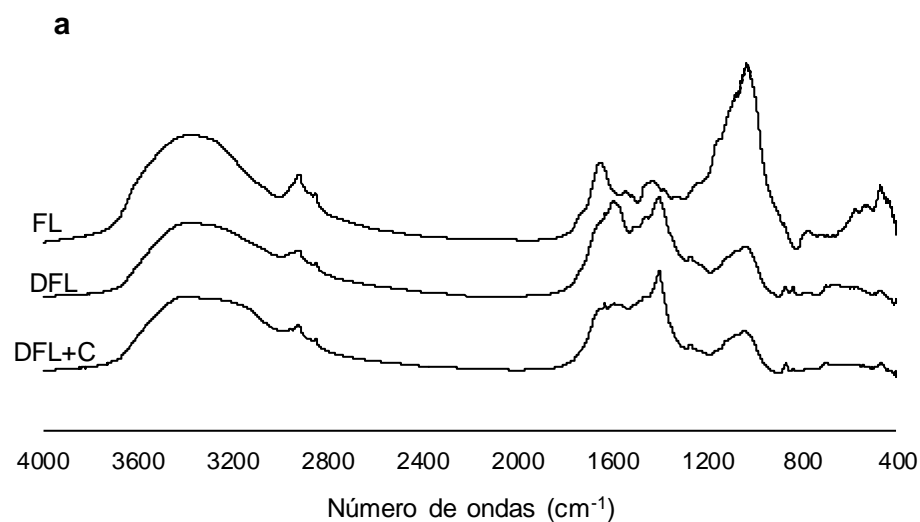
peso molecular (1515-1505  $\text{cm}^{-1}$ , del tipo lignina), el incremento de amonio libre (1625 y 1400  $\text{cm}^{-1}$ ), el incremento de ácidos orgánicos de cadena corta (1625 y 1397  $\text{cm}^{-1}$ ) y aminas y amidas de bajo peso molecular (o con menos de 7 carbonos, porque permanecen en el sobrenadante y por lo tanto son solubles) (1570-1600  $\text{cm}^{-1}$  y 863  $\text{cm}^{-1}$ ).

Para los tres materiales se observó que la mayor proporción del C alifático corresponde a compuestos de elevado peso molecular y/o insolubles, debido a que se concentraron en el precipitado (Figuras 4.2, 4.3 y 4.4).

La codigestión (+C) generó ligeros cambios similares para los tres materiales, destacándose la reducción de las bandas 1650 y 1584  $\text{cm}^{-1}$ , el incremento del pico en 1630  $\text{cm}^{-1}$ , mayor definición del pico en 1397  $\text{cm}^{-1}$  y el incremento del pico en 865  $\text{cm}^{-1}$ .

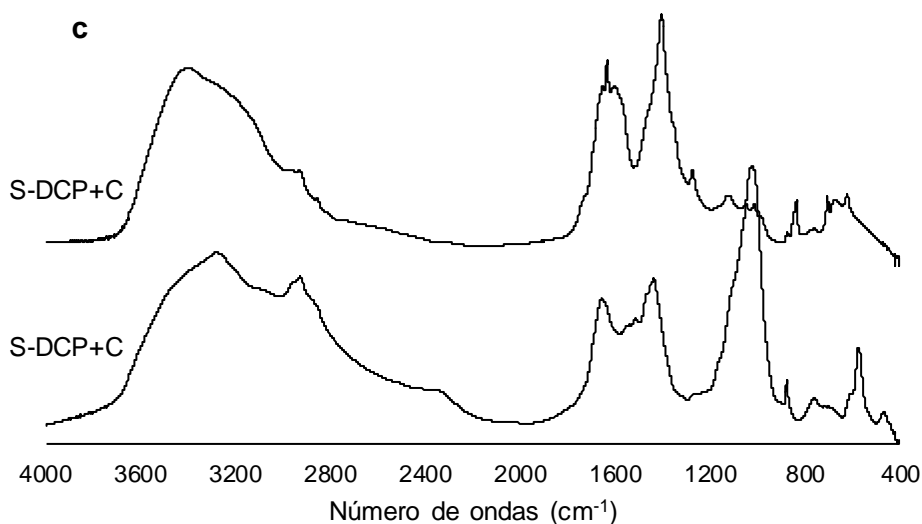
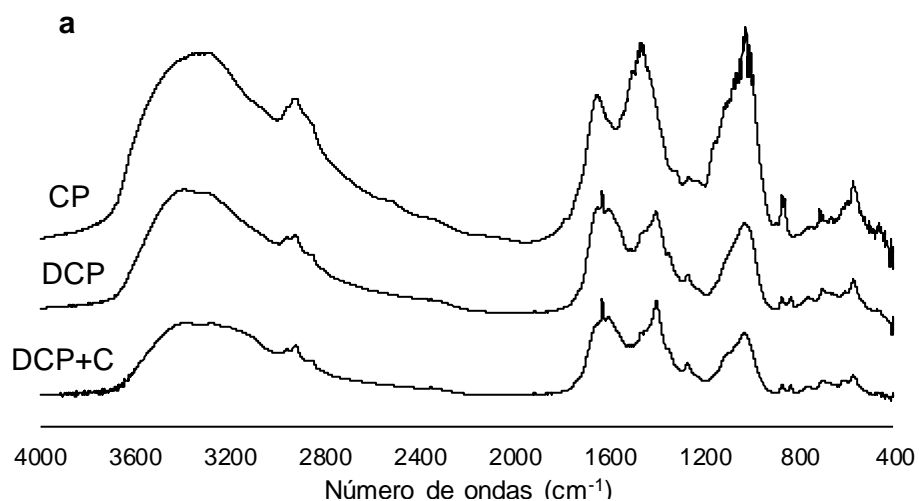
El solapamiento de bandas principalmente en la región 1500–1700  $\text{cm}^{-1}$  (vibraciones C=C y C=O, deformaciones N-H y O-H) y el desplazamiento de bandas producido por la complejidad de la matriz orgánica impiden la utilización de las relaciones de absorbancia 1650/2920 y 1650/2850 para estimar grado de aromaticidad, y las relaciones 1034/2920, 1034/2850 y 1034/1540 para estimar el grado de policondensación sugeridas por diversos autores para el estudio de los ácidos húmicos (Amir *et al.*, 2003).

Buscando relacionar el contenido hidrocarbonado saturado con el contenido de N libre y de compuestos orgánicos de bajo peso molecular, se evaluaron las relaciones 2920/1630, 2920/1600, 2920/1400, 2850/1630, 2850/1600 y 2850/1400. Estas presentaron una alta relación lineal con la relación C/N ( $R^2$ : 0,80; 0,85; 0,74; 0,81 y 0,83 respectivamente) reforzando las asignaciones realizadas sobre las bandas en 1600, 1630 y 1400  $\text{cm}^{-1}$ .



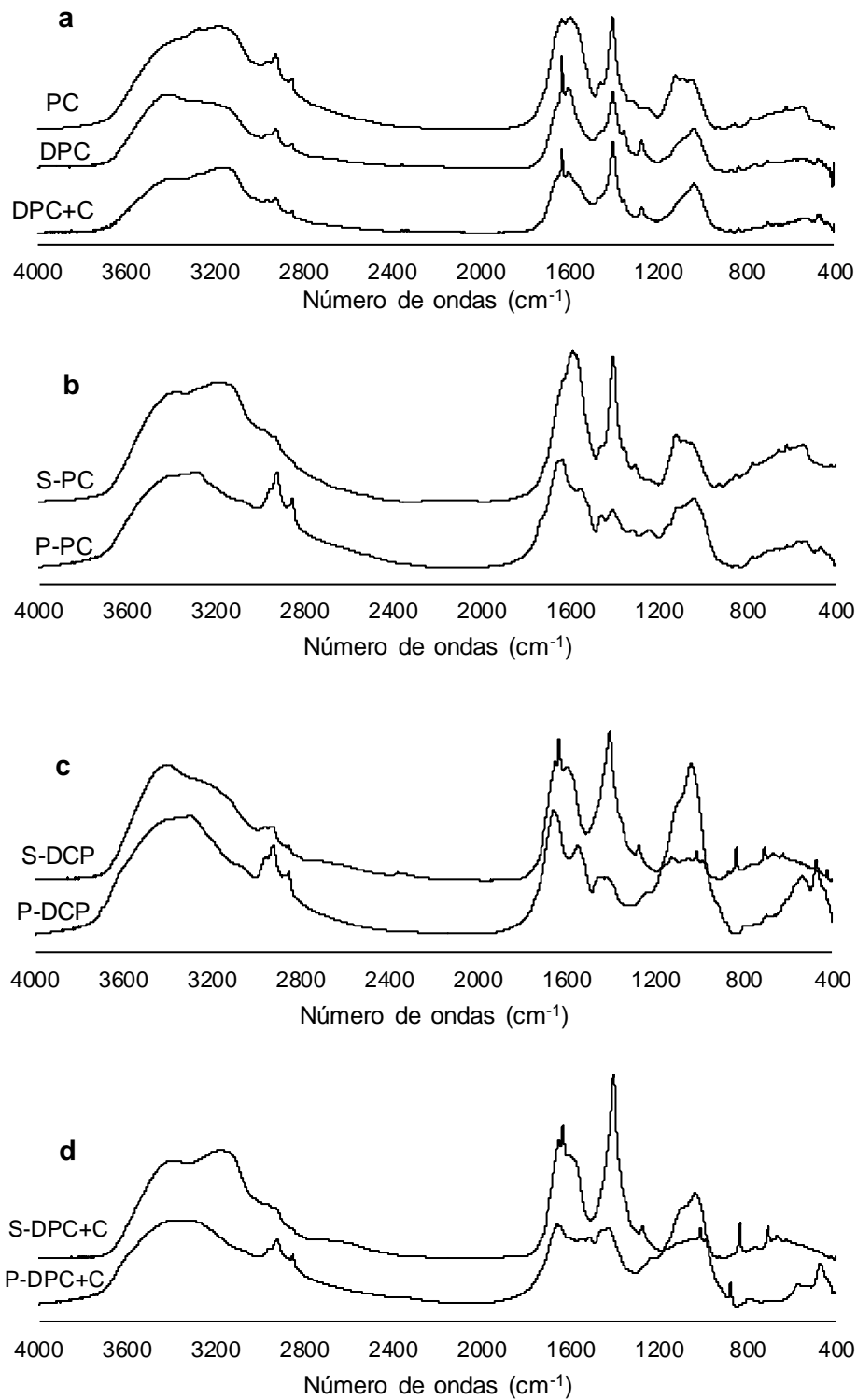
**(a)** Estiércol de feedlot (FL), digerido de feedlot (DFL) y codigerido de cebolla y estiércol de feedlot (DFL+C); **(b)** sobrenadante y precipitado de DFL y **(c)** sobrenadante y precipitado de DFL+C.

**Figura 4.2.** Caracterización IR del estiércol de feed lot (FL), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.



(a) Cama de pollo (CP), digerido de cama de pollo (DCP) y codigerido de cebolla y cama de pollo (DCP+C); (b) Sobrenadante y precipitado de DCP;

**Figura 4.3.** Caracterización IR de la cama de pollo (CP), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.

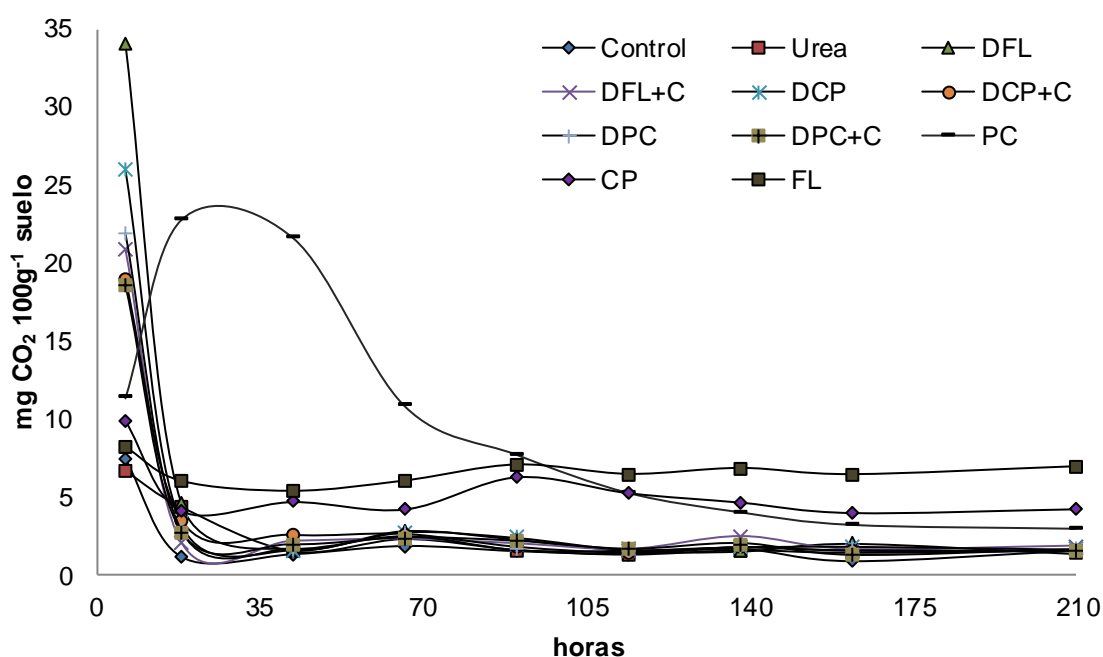


(a) Purín de cerdo(PC), digerido de purín de cerdo (DPC) y codigerido de cebolla y purín de cerdo (DPC+C); (b) sobrenadante y precipitado de PC; (c) sobrenadante y precipitado de DPC; (d) sobrenadante y precipitado de DPC+C.

**Figura 4.4.** Caracterización IR del purín de cerdo (PC), los productos derivados y las fracciones obtenidas por centrifugación.

### 4.3.2 Activación de la microbiota y actividad biológica del suelo

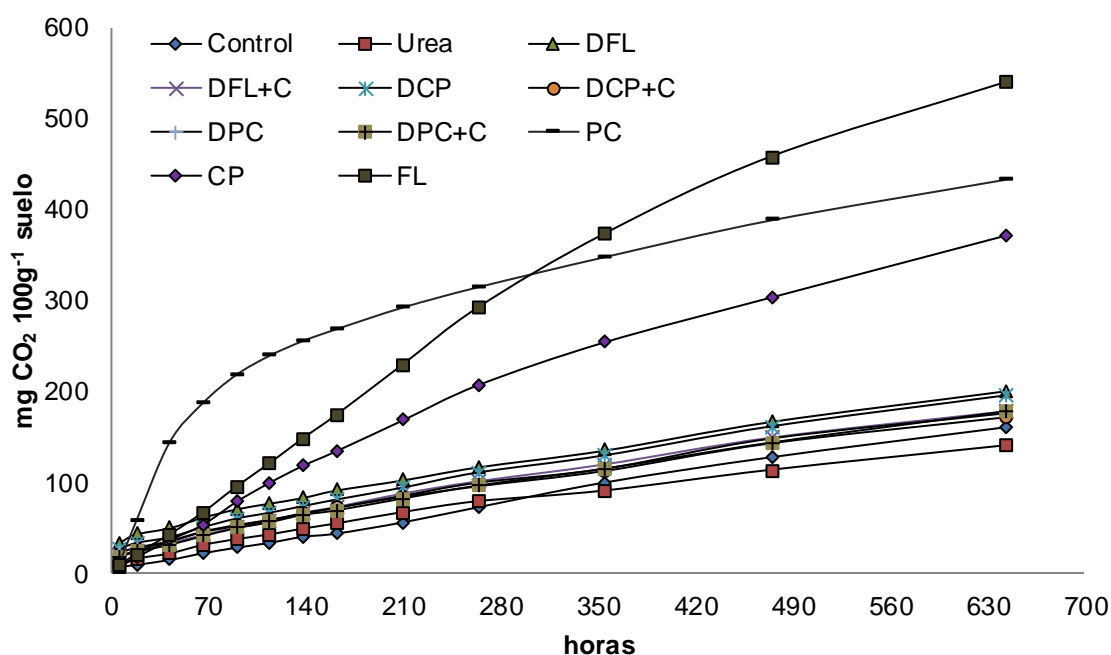
Los digeridos anaeróbicos mostraron una marcada activación de la microbiota del suelo (6 hs) (Figura 4.5) coincidiendo con lo observado en el capítulo 3 al analizar el digerido de cerdo. La codigestión con cebolla generó una disminución significativa de la actividad biológica a las 6 hs respecto a la digestión de CP y FL sin alcanzarse diferencias significativas para PC. Esta disminución es coincidente con la disminución observada en la relación C/N y SV, y el incremento de la relación N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N. Si consideramos las primeras 24 hs los resultados coinciden con lo presentado en el capítulo 3 y con lo observado por Marcato *et al.* (2009), Grigatti *et al.* (2011) y Albuquerque *et al.* (2012). Luego de esta activación la respiración desciende rápidamente manteniéndose luego de las 42 hs en valores próximos al control. El PC presentó la máxima actividad entre las 18 y 42 h, CP a las 24 hs y FL a las 90 h, pero CP y FL mantuvieron valores elevados hasta finalizar el ensayo (Figura 4.5). La rápida mineralización observada en el tratamiento con PC versus FL y CP podría deberse a la menor relación C/N (compuestos orgánicos más lábiles) y al mayor contenido de nitrógeno inorgánico (mayor relación N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N). A diferencia del purín de cerdo, estos últimos contienen una fracción lignocelulósica de lenta degradación constituida por paja de cereal en el estiércol de FL y de aserrín en el caso de la CP.



\*DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

**Figura 4.5.** Tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> 6 h<sup>-1</sup>).

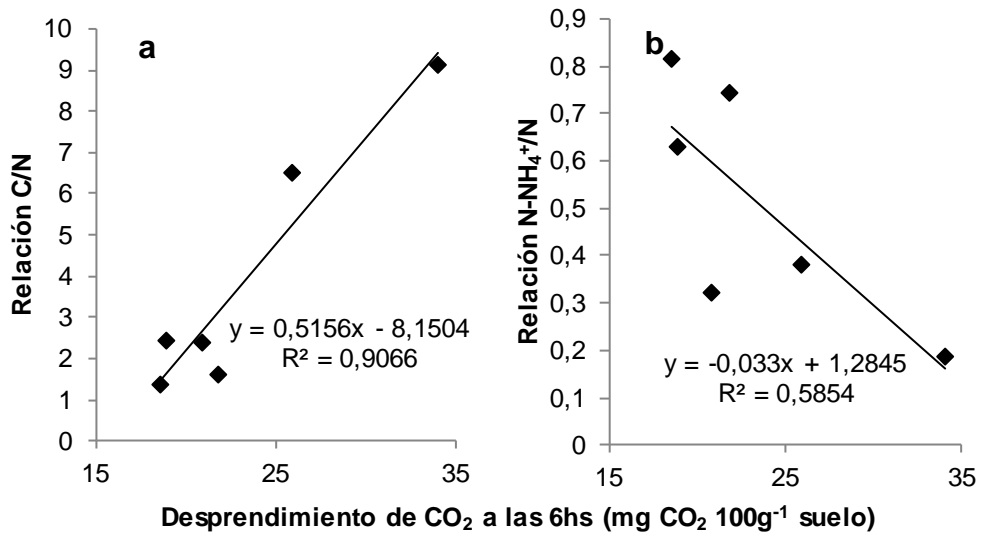
A las 644 h los digeridos anaeróbicos no se diferenciaron estadísticamente del control, a excepción del DFL y el DCP que presentaron mayores valores (Figura 4.6), como consecuencia del mayor contenido de materia orgánica remanente. Los efluentes sin procesar presentaron el mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> acumulado diferenciándose entre sí y de todos los demás tratamientos (FL: 540 mg; PC: 432 mg y CP: 372 mg). La menor emisión de CO<sub>2</sub> acumulada en CP podría ser consecuencia de las estructuras muy lignificadas del aserrín que solo pueden ser parcialmente degradadas en el período evaluado.



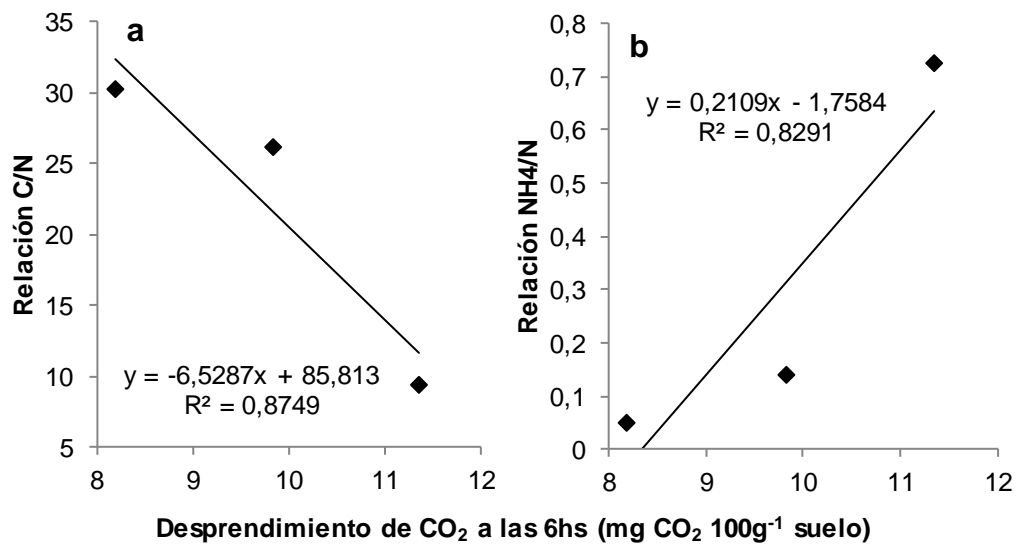
\*DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

**Figura 4.6.** Desprendimiento acumulado de CO<sub>2</sub> (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo).

La correlación entre el desprendimiento de CO<sub>2</sub> a las 6hs y las relaciones C/N y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N permitió separar claramente los digeridos anaeróbicos de los efluentes crudos (Figuras 4.7 y 4.8). Los digeridos anaeróbicos presentaron las menores relaciones C/N, las mayores relaciones N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N y los mayores valores de desprendimiento de CO<sub>2</sub>, observándose un incremento del desprendimiento de CO<sub>2</sub> a medida que aumentó la relación C/N y disminuyó N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N (Figura 4.7). En los efluentes sin procesar se observó el efecto contrario (Figura 4.8).



**Figura 4.7.** Ajuste lineal entre las relaciones C/N y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el desprendimiento de CO<sub>2</sub> a las 6hs (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) para los digeridos anaeróbicos.

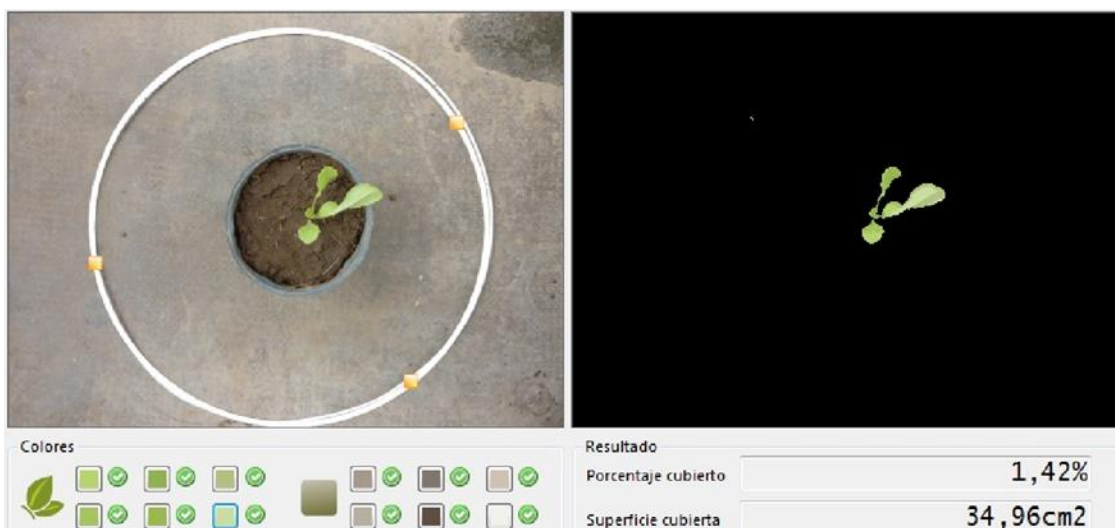


**Figura 4.8.** Ajuste lineal entre las relaciones C/N y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el desprendimiento de CO<sub>2</sub> a las 6hs (mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> suelo) para los materiales sin procesar.

### 4.3.3 Evaluación del desarrollo del cultivo de lechuga



**Figura 4.9.** Disposición de las unidades experimentales en el invernáculo del Departamento de Agronomía, UNS.



**Figura 4.10.** Imagen de una planta de lechuga y cálculo del área de cobertura con el software CobCaI®.



En la Figura 4.9 se puede observar la disposición de las unidades experimentales (macetas) en el invernáculo (Departamento de Agronomía, UNS) y en la Figura 4.10 la vista del proceso de definición de colores (tonos de verde como lectura positiva y de fondo para lectura negativa) para el cálculo del área de cobertura a través del software CobCal®.

Las diferencias en la disponibilidad de nutrientes generó distintas dinámicas de desarrollo del cultivo de lechuga (Figura 4.11. a), cantidad de días necesarios para alcanzar el máximo área de cobertura, TCA (Figura 4.11. b) y TCR (Figura 4.11. c). En la tabla 4.3 se presentan los parámetros de ajuste del modelo sigmoideo de cuatro parámetros y los valores de AC máxima modelada, máxima real, final real y el número de días en el que alcanzaron el AC máxima real. Los tratamientos Control, DCP y DPC+C alcanzaron la máxima AC a los 42 días, DFL, DFL+C, DCP+C, y CP a los 49 días y la Urea, DPC y PC lo alcanzaron a los 60 días. Adicionalmente los tratamientos Control, DFL, DCP, DCP+C, FL y CP presentaron una reducción del área foliar entre el momento de máxima AC y el final del ensayo (60d) como consecuencia de la senescencia de las hojas basales. La disminución del crecimiento y la reducción del área de cobertura como consecuencia de la senescencia de las hojas basales evidenciaron el déficit de nutrientes. Los tratamientos Urea, DFL+C, DPC, DPC+C y PC presentaron las mayores áreas de cobertura, las mayores tasas de crecimiento absoluto y alcanzaron la TCA máxima a los 42 días. DPC+C alcanzó la máxima área de cobertura a los 42 días marcando un déficit de nutrientes relativo al desarrollo de las plantas sobre el final del ensayo y en menor medida DFL+C, que lo alcanzó a los 49 días. En todos los casos, la codigestión con cebolla mejoró la disponibilidad de nutrientes. Bouzo & Favaro (2002) trabajando con cinco variedades de lechuga a campo con fertilización química fraccionada encontraron la mayor tasa de crecimiento a los 50 días. Otros trabajos (Tei *et al.*, 1996 y Martínez *et al.*, 2010) encontraron el máximo crecimiento sobre la fecha de cosecha a los 60 días. Tei *et al.*, (1996) sostienen que el crecimiento de la lechuga es interrumpido por propósitos comerciales durante la fase de crecimiento lineal. Estos antecedentes permiten suponer la existencia de un déficit de N sobre el final del ensayo, el cual se magnifica y adelanta por problemas de disponibilidad y/o inmovilización en los tratamientos Control, DFL, DCP, DCP+C, FL y CP.

DFL alcanzó la TCR máxima a los 14 días, PC y CP a los 28 días y el resto de los tratamientos a los 21 días (Figura 4.11.c).

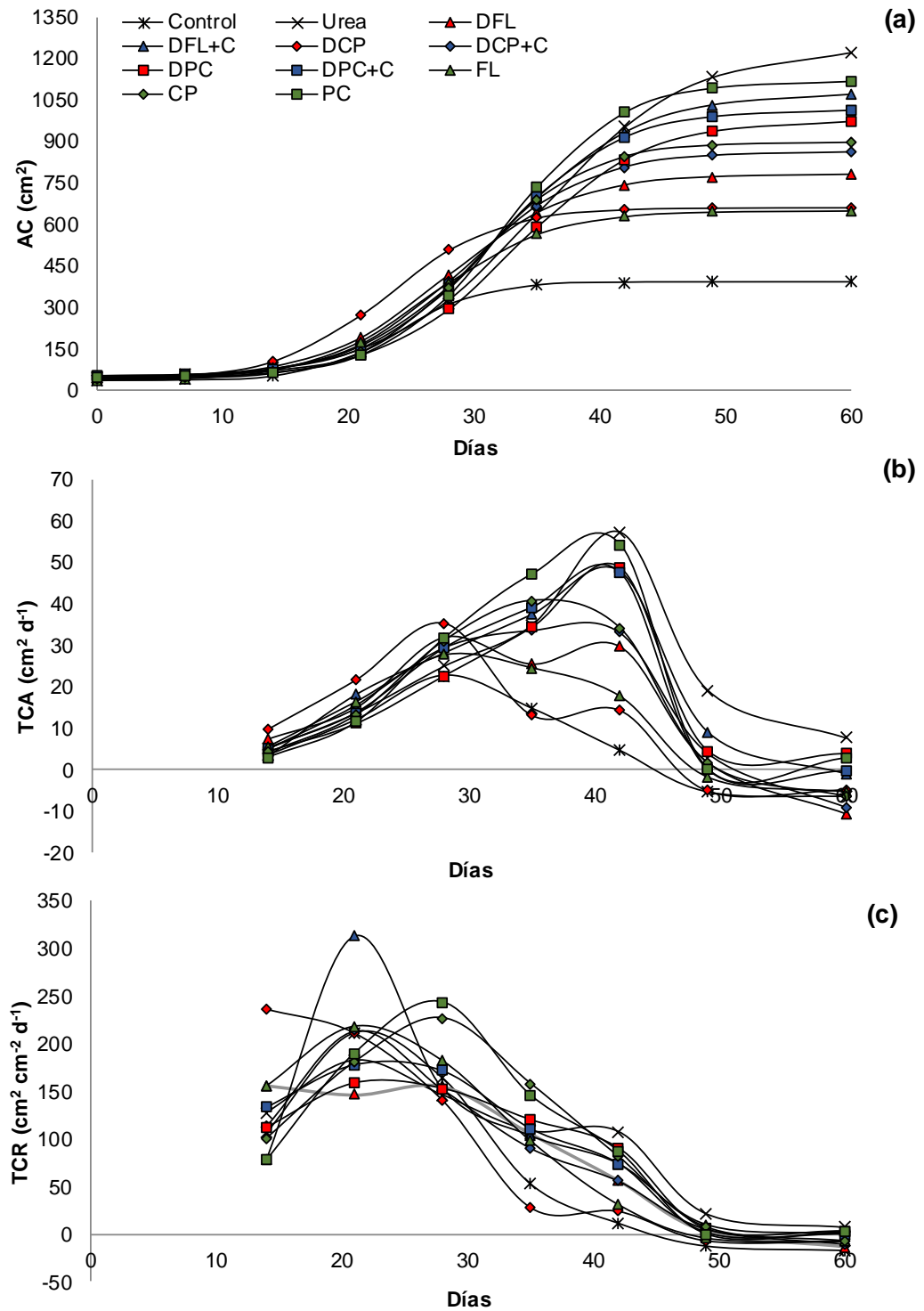
Durante el desarrollo del cultivo no se observaron síntomas visuales de fitotoxicidad para ningún tratamiento.

El área de cobertura presentó una excelente correlación con el peso fresco a cosecha ( $R^2$ : 0,95), mostrando a este parámetro como muy buen indicador de desarrollo.

Para el PFA y PSA todos los tratamientos difirieron del control (Tabla 4.4). El PFA fue la variable que mostró más claramente las diferencias. Los tratamientos PC y Urea presentaron los mayores rindes, similar a lo observado en el capítulo 3. En todos los casos la aplicación de los efluentes de la codigestión (+C) generó mayores rindes que los digeridos (DFL+C>DFL; DCP+C>DCP y DPC+C>DCP) y los DFL y DCP presentaron mayores rindes que FL y CP (DFL>FL; DCP>CP). Los incrementos de rendimiento posiblemente se deban a la mayor proporción de nitrógeno inorgánico ( $N-NH_4^+/N$ ).

En el número de hojas todos los tratamientos se diferenciaron del control pero no entre sí, mientras que no se observaron diferencias significativas en el contenido de humedad. Las diferencias entre los tratamientos para el PSR fueron de menor magnitud que para la parte aérea permitiendo suponer que los tratamientos tienen un menor efecto sobre el desarrollo radicular y promueven principalmente el desarrollo foliar.

Las variables AC, PFA y PSA presentaron una buena correlación con la cantidad de Ni aportado y la relación Ni/N ( $R^2>0,60$ ) de cada material, confirmando que gran parte del rendimiento es función del contenido inicial de N disponible.



**(a)** Ajuste del modelo sigmoideo al área de cobertura (AC, cm<sup>2</sup>); **(b)** Tasa de crecimiento absoluto (TCA, g d<sup>-1</sup>) y **(c)** Tasa de crecimiento relativo (mg g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).

\*DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

**Figura 4.11.** Parámetros del desarrollo vegetal del cultivo de lechuga a partir del área foliar.

**Tabla 4.3.** Parámetros de ajuste del modelo sigmoideo [ $f = y_0 + a/(1 + \exp(-(x-x_0)/b))$ ] y área de cobertura máxima modelada (ACmm), final real (AC fr), máxima real (AC mr) y días para alcanzar el AC máxima real (d AC mr).

	Control	Urea	DFL	DFL+C	DCP	DCP+C	DPC	DPC+C	FL	CP	PC
<b>R</b>	0,96	0,98	0,93	0,98	0,97	0,95	0,96	0,98	0,92	0,91	0,98
<b>R<sup>2</sup></b>	0,92	0,96	0,86	0,96	0,94	0,91	0,92	0,97	0,85	0,84	0,95
<b>a</b>	354,8	1194,9	735,4	1036,8	-625,6	814,2	-925,3	962,8	620,7	853,4	1074,5
<b>b</b>	3,26	6,04	4,91	5,47	-4,31	4,82	-5,10	4,88	4,66	4,39	4,54
<b>X<sub>0</sub></b>	24,01	35,06	27,88	31,99	23,21	29,43	33,33	31,49	26,54	30,03	32,36
<b>Y<sub>0</sub></b>	36,83	46,35	46,14	39,77	663,13	47,96	978,01	52,24	31,22	43,07	47,58
<b>Acmm</b>	391,6	1222,3	780,5	1070,5	663,0	860,8	973,1	1012,3	651,4	895,6	1119,6
<b>AC fr</b>	325,8	1213,2	701,4	1037,0	619,0	791,4	963,4	981,4	603,5	840,2	1104,7
<b>AC mr</b>	434,9	1213,2	818,8	1047,1	706,1	890,6	963,4	984,1	676,7	910,1	1104,7
<b>d AC mr</b>	42	60	49	49	42	49	60	42	42	49	60

\*DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

**Tabla 4.4.** Valores medios de rendimiento del cultivo de lechuga y comparación de medias.

	PFA <sup>1</sup>	PSA	%H	PSR	Nº Hojas
<b>Control<sup>2</sup></b>	24,56 a*	2,14 a	91,32 ns	4,76 a	25 a
<b>Urea</b>	102,97 g	9,54 fg	90,71 ns	11,30 d	33 b
<b>DFL</b>	61,83 bcd	6,09 bcd	90,17 ns	6,20 ab	32 b
<b>DFL+C</b>	89,01 f	8,17 e fg	90,82 ns	7,49 ab c d	34 b
<b>DCP</b>	57,05 bc	5,48 bc	90,34 ns	6,76 ab c	33 b
<b>DCP+C</b>	75,30 def	6,76 cde	91,15 ns	6,80 ab c	32 b
<b>DPC</b>	81,31 ef	7,51 de	90,82 ns	8,65 b c d	31 b
<b>DPC+C</b>	84,59 f	7,57 de f	91,05 ns	5,95 ab	32 b
<b>FL</b>	50,45 b	4,71 b	90,71 ns	6,08 ab	32 b
<b>CP</b>	68,48 cde	6,87 cde	90,03 ns	9,05 b c d	31 b
<b>PC</b>	110,34 g	9,88 g	91,05 ns	10,48 c d	32 b

\*Letras diferentes indican diferencias significativas (DMS  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>PFA: peso fresco parte aérea; PSA: peso seco parte aérea; %H: contenido porcentual de humedad en base húmeda; PSR: peso seco raíces.

<sup>2</sup>DFL: digerido de estiércol de feed lot; DFL+C: digerido de estiércol de feed lot en codigestión con cebolla; DCP: digerido de cama de pollo; DCP+C: digerido de cama de pollo en codigestión con cebolla; DPC: digerido de purín de cerdo; DPC+C: digerido de purín de cerdo en codigestión con cebolla; PC: purín de cerdo; FL: estiércol bovino; CP: cama de pollo.

#### 4.3.4 Dinámica de las sustancias húmicas del suelo bajo cultivo de lechuga

Considerando la comparación de las fracciones de las sustancias húmicas, los AF presentaron mayores relaciones E4:E6 y E3:E5 que los AH como consecuencia de la menor condensación molecular coincidiendo con Helal *et al.* (2011).

Al trabajar con un barrido espectroscópico UV-Vis amplio se obtuvieron valores de absorbancia en 665 muy bajos y en consecuencia una alta variabilidad porcentual. Por este motivo se utilizó E3:E5 que presentó mayor estabilidad que E4:E6 para comparar los distintos tratamientos. A los 28 días todos los tratamientos generaron un incremento respecto al control en dicha relación para los AF, indicando una disminución en el grado de condensación molecular. A 60 días no se observaron cambios importantes.

Es importante remarcar que como el ensayo se realizó en macetas, las muestras de suelo incluyen una importante proporción de suelo rizoférico pudiendo presentar cambios asociados a los exudados radicales entre otros.

No se observó correlación entre las relaciones de absorbancia de UV-Vis E4:E6 y E3:E5 con las relaciones de IR 1650/2920, 1650/2850, 1034/2920 y 1034/2850. La falta de correlación puede estar asociada al desplazamiento de bandas producto del distinto grado de asociación intermolecular y al solapamiento de distintos grupos funcionales en las mismas regiones coincidiendo con lo concluido por Meissl *et al.* (2007).

Los grupos funcionales dominantes en los AF y AH se presentan en la tabla 4.5. No se observaron cambios de importancia en la estructura de la matriz orgánica de las sustancias húmicas (AF y AH), sin embargo, se observaron ligeras variaciones en los espectros principalmente en las bandas 1636, 1618 y 1403  $\text{cm}^{-1}$ . Estas variaciones permiten suponer la posibilidad de cambios frente a aplicaciones sucesivas en estudios más prolongados.

Los AF difieren de los grupos presentados por Stevenson & Goh (1971) principalmente por presentar la banda de 1710-1720  $\text{cm}^{-1}$  desplazada hacia 1760  $\text{cm}^{-1}$  y de muy baja intensidad, la ausencia de bandas en 2920-2850  $\text{cm}^{-1}$  y la presencia de una banda ancha de baja intensidad ente 2000 y 2100  $\text{cm}^{-1}$ . El resto de las bandas presentaron similitud con los suelos de tipo III según la clasificación propuesta por Stevenson & Goh (1971). Mostraron una gran similitud con los AF obtenidos por Li *et al.* (2013) a partir de lodos residuales y presentan las mismas regiones de absorción que los AF presentados por Dick *et al.* (2003) extraídos de suelos Molisoles de Brasil. Los ácidos húmicos presentaron similitud a los de tipo III (Stevenson & Goh 1971), pero con menor intensidad en las bandas 2920 y 2850  $\text{cm}^{-1}$ , ausencia de la banda en 1520  $\text{cm}^{-1}$  y mayor intensidad de las bandas entre 1380 y 1410  $\text{cm}^{-1}$ .

**Tabla 4.5.** Regiones de absorción de los espectros IR de ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF), intensidad de las bandas y asignaciones sugeridas.

Número de ondas (cm <sup>-1</sup> )	AH	AF	Asignación
<b>3000-3600</b>	ancha/ intensa	ancha/ intensa	vibración de tensión de enlaces O-H en fenoles, alcoholes y ácidos carboxílicos y de enlaces N-H en aminas y amidas primarias y secundarias
<b>2920</b>	media	-	correspondientes a la vibración de tensión del enlace C-H en estructuras hidrocarbonadas alquílicas y grupos
<b>2850</b>	media	-	sustituyentes alifáticos
<b>2033</b>	-	hombro	posibles sobretonos de vibraciones fuera del plano =C-H de aromáticos sustituidos
<b>1730</b>	hombro	-	estiramiento del enlace C=O de grupos COO <sup>-</sup> de aldehidos y cetonas
<b>1620-1630</b>	intensa	intensa	estiramiento del enlace C=C de compuestos aromáticos
<b>1542</b>	hombro	-	deformación del enlace N-H en amidas y aminas y vibración de tensión del enlace C=C en compuestos aromáticos
<b>1470</b>	hombro	-	flexión de C-H de cadenas hidrocarbonadas saturadas
<b>1390-1400</b>	media	baja	deformación en el plano de C-H en compuestos alifáticos, vibración de tensión de los enlaces C-O y C-N en carbonatos y nitratos
<b>1277</b>	hombro	-	deformaciones en el plano =CH en grupos aromáticos
<b>1160</b>	media	hombro	vibraciones de tensión C-C en compuestos alifáticos y tensiones C-O
<b>1030-1100</b>	ancha/ intensa	hombro	estiramiento C-O y C-O-C en fenoles, polisacáridos y grupos alifáticos. Si-O en arcillas coprecipitadas durante la extracción.

## 4.4 Conclusiones

Las características fisicoquímicas y estructurales evaluadas permitieron confirmar la diversidad en el contenido y composición de compuestos orgánicos y la complejidad que presentaron los estiércoles evaluados (FL, CP y PC).

FL y CP presentaron una menor biodegradabilidad que PC debido a su mayor proporción de compuestos lignificados.

Los digeridos anaeróbicos (obtenidos por digestión y codigestión) presentaron características estructurales semejantes entre sí, independientemente del material de origen,

caracterizándose por una baja relación C/N, elevada relación Ni/N, mayor proporción de ácidos orgánicos de cadena corta y mayor estabilidad.

Los compuestos lábiles de los DA, principalmente ácidos orgánicos, generaron una activación de la microbiota edáfica rápida y de corta duración. La estabilización posterior sugiere que el resto del C corresponde al contenido de compuestos de C recalcitrante, indicando la ausencia de compuestos de labilidad intermedia.

Las diferencias en las estructuras orgánicas presentes en las enmiendas determinaron una gran diferencia en la disponibilidad de nutrientes, reflejándose en las distintas dinámicas en el desarrollo del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*).

CP y FL sin tratar mostraron deficiencias nutricionales alcanzando los menores rendimientos, mientras que la digestión y codigestión anaeróbica incrementaron la producción de lechuga indicando una mayor disponibilidad de nutrientes como consecuencia de la degradación anaeróbica de los compuestos lignocelulosicos contenidos en los estiércoles sin procesar.

Debido a su mayor biodegradabilidad, el PC se comportó de manera inversa a los otros estiércoles, permitiendo que los nutrientes estuvieran disponibles dentro del ciclo del cultivo de lechuga, alcanzando mayor rendimiento que con digerido o codigerido y sin diferenciarse de la urea.

Para el período evaluado y las condiciones ensayadas no se observaron cambios estructurales en los AF y AH. Para poder evaluar cambios en las sustancias húmicas son necesarios ensayos más prolongados y sin la interferencia del suelo rizosférico.

## Capítulo 5

# Integración de los efectos de los residuos agropecuarios regionales y sus productos de transformación aeróbica y anaeróbica sobre los componentes del suelo

### 5.1 Introducción

La mineralización es la descomposición de la materia orgánica en compuestos inorgánicos. Estos procesos son conducidos principalmente por comunidades muy dinámicas de descomponedores, principalmente microorganismos (Manzoni & Porporato, 2009). Swift *et al.*, (1979) definieron la mineralización como un proceso complejo con numerosas reacciones mediadas biológicamente donde sustratos orgánicos son convertidos en biomasa viva y residuos minerales. A nivel celular, estos procesos son afectados por las propiedades físicoquímicas y biológicas de los suelos y por su interacción con las comunidades microbianas y los compuestos orgánicos incorporados, liberando CO<sub>2</sub> nuevamente a la atmósfera y proveyendo los nutrientes inorgánicos necesarios para el desarrollo de las plantas en el ecosistema (Brady & Weil, 2002). En contraposición, cuando los compuestos inorgánicos son transformados en compuestos orgánicos mediante la asimilación microbiana, el proceso se denomina inmovilización. La gran complejidad de los ecosistemas, donde a la diversidad y heterogeneidad de sus suelos, condiciones climáticas, vegetación, etc, se le suman las múltiples interacciones entre estos, hace muy difícil el modelaje y la predicción generalizada de los procesos degradativos. En función de esto, el hombre ha avanzado en la elucidación de estos procesos por partes, intentando reconstruir a partir de pequeñas piezas un gran rompecabezas, pero con la complejidad de que no se ensambla una foto sino una película. Para optimizar el reciclaje de los nutrientes de las enmiendas se deben considerar no solo criterios agrícolas sino también ambientales. En este sentido, es indispensable conocer la dinámica de la degradación de las enmiendas posaplicación al suelo.

La disponibilidad de N para las plantas está controlada por el balance entre el N inmovilizado y el mineralizado luego de la aplicación de enmiendas orgánicas (Cambardella *et al.*, 2003) y que a su vez será determinado por la relación C/N de estas, y por las estructuras orgánicas de las que estos elementos forman parte. Sin embargo, dada la gran variabilidad de las



enmiendas y de las características edafoclimáticas de los lugares de aplicación, junto con la escasa información disponible, es muy difícil poder estimar la disponibilidad del N para las plantas. Las características químicas de las enmiendas varían principalmente por el material inicial, el tipo y tiempo de proceso (Campitelli *et al.*, 2008) y estas variaciones generan diferencias en el efecto de su aplicación sobre la mineralización de N en el suelo (Zhang *et al.*, 2013).

La mineralización de P orgánico es conducida por los microorganismos frente a la necesidad de energía (proceso biológico) o por la acción de exoenzimas fosfatasas (proceso bioquímico) que puede ocurrir en ausencia de actividad biológica (Oehl *et al.*, 2001). La mineralización del P microbiano es dirigida principalmente por el proceso bioquímico y comúnmente es rápida y fácil como la mineralización del C y N microbianos (Oberson & Joner, 2005). En consecuencia también puede ocurrir en ausencia de mineralización de C y N. De esta manera, la fracción de P orgánico disponible puede ser mayor que la de C y N (Achat *et al.*, 2010).

Los microorganismos usan los compuestos orgánicos fosforados principalmente como fuente de C y solo incorporan una pequeña proporción de este (Spohn *et al.*, 2013) generando un incremento del nivel de P disponible durante su degradación.

A estos complejos procesos biológicos y bioquímicos hay que sumarles los factores físico-químicos (abióticos) como la adsorción/desorción y la precipitación/disolución (Büneman, 2015) que dependen de las características de los materiales aportados y del suelo, como son la textura, el pH, el nivel inicial de P extractable y el contenido de MO asociada a la fracción mineral (Suñer & Galantini, 2013).

La aplicación a campo de enmiendas orgánicas comúnmente se basa en el requerimiento de N de los cultivos. Sin embargo, la alta relación P/N de los compost, biosólidos y estiércoles, en relación a la absorbida por las plantas puede generar un exceso de P en el suelo (Maguire *et al.*, 2001). Las excretas de origen animal y los biosólidos tienen una relación N/P de 3 aproximadamente, mientras que los requerimientos de las plantas varían entre 8 y 10 (Satti, 2007). Los compost presentan mayor contenido de P orgánico que de P disponible, mientras que los digeridos anaeróbicos presentan mayor proporción de P disponible (Hinedi *et al.*, 1989). Sin embargo los digeridos anaeróbicos presentan una mayor relación N/P. Las fuentes de estiércol como recurso de P fácilmente disponible representan una amenaza para el ambiente si no se gestionan de manera adecuada (Leconte *et al.*, 2011). Para evitar problemas de contaminación, en sitios vulnerables a las pérdidas por escorrentía se ha recomendado basar la dosificación de enmiendas en los requerimientos de P de los cultivos (Mazzarino, 1998), pese a que los mecanismos de las pérdidas de P no están bien determinados (Preusch, 2002).

El déficit de P limita la producción de los cultivos y su exceso genera pérdidas causando eutrofización (Ceulemans *et al.*, 2011), por lo que es fundamental alcanzar un profundo conocimiento de la dinámica del P en el sistema suelo-planta para poder realizar un manejo eficiente del P en los agroecosistemas (Büneman, 2015).

La materia orgánica del suelo constituye un sistema complejo de sustancias regulada por el aporte de residuos orgánicos y su transformación continua a través de factores biológicos, químicos y físicos. Arbitrariamente y de acuerdo a sus características y propiedades la MO puede separarse en residuos orgánicos (materiales en las primeras etapas de transformación), biomasa microbiana y sustancias húmicas (SH) (Galantini, 2001).

En los párrafos anteriores se presentaron las principales transformaciones que ocurren en el suelo, pero considerando solo superficialmente que estas están mediadas por microorganismos. Sin embargo, de acuerdo a las características edafoclimáticas del ambiente en estudio, la comunidad microbiana tendrá una determinada estructura y funcionalidad que responderá en forma diferente a los cambios que se realicen en el sistema pudiendo cambiar la participación relativa y sus funciones en forma temporal o permanente.

El ciclo del N incluye procesos de oxidación y reducción en los que los microorganismos tienen el rol principal. Algunos procariontes pueden obtener energía metabólica a través de procesos redox de compuestos nitrogenados, como son la nitrificación y la desnitrificación. La nitrificación cumple un rol central en el ciclo global del N en la mayoría de los ambientes terrestres (Prosser & Embley, 2002). Este proceso es llevado a cabo en dos pasos sucesivos: i) oxidación del amonio a nitrito vía hidroxilamina, llevado a cabo por bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco; y ii) la posterior oxidación de nitrito a nitrato, llevado a cabo por bacterias quimiolitotrofas (Cabello *et al.*, 2004; Di *et al.*, 2009). El primer paso, la oxidación del amoníaco a nitrito, es el que limita la velocidad del proceso (Prosser & Embley, 2002).

#### **Objetivo general del capítulo:**

- Relacionar los cambios de la materia orgánica, de las comunidades procariontes y la disponibilidad de los nutrientes para interpretar los efectos de los residuos y sus productos transformados, cuando se aplican al suelo.

#### **Objetivos específicos:**

- Comparar por métodos químicos y espectroscópicos los residuos y sus productos para describir las diferencias en su composición debidas al origen y los tratamientos de transformación aplicados y estimar el efecto que producen en suelos.

- Analizar la dinámica de mineralización del C, N y P posaplicación de los residuos y sus productos para poder relacionarlos con la composición química de los mismos y facilitar estrategias de manejo de estas enmiendas.
- Analizar la composición de las sustancias húmicas del suelo para evaluar si los diferentes residuos y productos incorporados modifican la materia orgánica del suelo.
- Determinar el número de bacterias y arqueas totales para mejorar la comprensión de la relación entre la biomasa procariota y la disponibilidad del C, N y P.
- Determinar el número de bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco para mejorar la comprensión de la dinámica del nitrógeno inorgánico del suelo.

## **5.2 Materiales y métodos**

Se evaluaron las diferencias en la composición de distintos residuos sin procesar (fracciones líquida y sólida de tambo), productos transformados aeróbicamente (compost de guano de pollo y estiércol bovino utilizando en ambos casos catáfila de cebolla como estructurante) y anaeróbicamente (digeridos de tambo y cerdo y codigerido de estiércol bovino y cebolla). Se analizó la dinámica de mineralización de C, N, P y comunidades procariotas y los cambios en las sustancias húmicas. Finalmente se relacionaron los diferentes parámetros para evaluar su interrelación.

### **5.2.1 Suelo y enmiendas utilizados**

Se extrajo suelo de la capa superficial (0-20 cm) de un Hapludol Éntico, franco arenoso, perteneciente a la serie "La Merced" (Codagnone, 1991) colectado de un lote representativo de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Hilario Ascasubi.

El suelo se secó al aire y se tamizó por 2 mm. Sobre una submuestra se determinó pH (potenciométrico en agua 1:2,5), CE (conductimetría, 1:2,5), MO (Walkley & Black - IRAM 29570-1),  $N-NH_4^+$ ,  $N-NO_3^-$  y NTK (semimicro Kjeldahl), P extractable (Pe) (Bray & Kurtz, 1945). Para la determinación de fósforo la digestión se realizó con ácido perclórico concentrado en caliente (Sommers & Nelson, 1972) y para Ca y Mg una digestión con ácido nítrico en caliente. Las determinaciones de estos tres elementos se realizaron con un Espectrómetro de Emisión Atómica por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-AES, Shimadzu 9000 Simultáneo de Alta Resolución). La caracterización química del suelo se presenta en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1.** Caracterización del suelo utilizado en las incubaciones.

pH	CE	C	NTK	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Pe	PT	K	Ca	Mg
	dm m <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>					mg kg <sup>-1</sup>			
7,2	0,1	14,1	1,4	10,0	29,6	10,9	420,0	86,0	130,0	177,0

Las enmiendas utilizadas se describen en la tabla 5.2 y se denominan con las abreviaturas que se utilizarán en el desarrollo del capítulo.

**Tabla 5.2.** Enmiendas utilizadas en las incubaciones con su abreviatura.

Enmienda	Abreviatura	Procedencia
Efluente tambo*	ET	Laguna aeróbica de tambo, Hilario Ascasubi
Digerido de tambo*	DT	Digestor tipo batch, EEA INTA Hilario Ascasubi.
Digerido de purín de cerdo	DC	Digestor tipo batch criadero de cerdos, Coronel Pringles.
Digerido de la codigestión de cebolla y estiércol	DCE	Digestor tipo batch, EEA INTA Hilario Ascasubi.
Fracción sólida de tambo*	FST	Fosa estercolera de tambo, Hilario Ascasubi.
Compost de cebolla guano de pollo	CCP	Pilas con volteo a campo, 2013, EEA INTA Hilario Ascasubi.
Compost de cebolla y estiércol bovino	CCB	Pilas con volteo a campo, 2014, EEA INTA Hilario Ascasubi.

\* ET y FST corresponden a las fracciones líquida y sólida (respectivamente) del mismo efluente de tambo y DT es el digerido anaeróbico de la fracción líquida.

## 5.2.2 Caracterización química y espectroscópica (UV-Vis e IR) de las enmiendas

La caracterización química de las enmiendas (excepto la de P) se realizó de acuerdo a la descripción presentada en el punto 4.2.1. (Capítulo 4). La determinación de P se realizó según el procedimiento descrito en el punto 5.2.1.

Sobre las muestras de los materiales líquidos (ET, DT, DC y DCE) se realizó el fraccionamiento físico por centrifugación descrito en el punto 2.2.2 del capítulo 2 (a 5000 rpm) y se realizó un barrido espectroscópico de esas muestras y sus sobrenadantes de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.4 del capítulo 2.

De acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.5 del capítulo 2, se obtuvieron los espectros de todos los materiales y de los sobrenadantes y precipitados de los materiales líquidos.

### 5.2.3 Preparación de los microcosmos

Los microcosmos se prepararon en frascos de 750 cm<sup>3</sup> con 100 g de suelo seco al aire y tamizado por 2 mm. Los mismos se humedecieron hasta el 50% del punto de saturación (PS) y se preincubaron a 25°C en oscuridad durante una semana. Se realizaron un total de 240 unidades experimentales, 24 se usaron para el test no destructivo de mineralización de C y el resto se utilizaron en el test destructivo de (dinámica de N y P, comunidades procariontas y sustancias húmicas). Luego de la preincubación el suelo fue mezclado con las enmiendas ajustando la dosis a 7,74 g NTK 100g<sup>-1</sup> y se corrigió la humedad hasta el 60% del PS.

#### 5.2.3.1 Test no destructivo: Mineralización de C

Para el test de C la actividad biológica se evaluó por el desprendimiento de CO<sub>2</sub> de acuerdo al procedimiento descrito en el capítulo 3 (3.2.1.1). Se incorporó en cada microcosmos un vial con 25 mL de NaOH 0,5 N. El suelo sin enmendar fue usado como control y frascos sin suelo como blancos. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Periódicamente (3, 7, 21, 35, 49, 70, 91 y 119 días), el vial de NaOH fue reemplazado y la humedad fue restituida (al 60% del PS). Una alícuota de 5 mL fue titulada con HCl 0,25N en exceso de BaCl<sub>2</sub> para precipitar los carbonatos.

A partir del desprendimiento de CO<sub>2</sub> se calculó el carbono mineralizado aparente (C<sub>ma</sub>) a partir de la fórmula:

$$C_{ma} = (C - CO_2 \text{ trat (tn)} - C - CO_2 \text{ control (tn)}) / C_{\text{agregado}} * 100$$

donde C-CO<sub>2</sub> trat (tn) y C-CO<sub>2</sub> control (tn) son el C-CO<sub>2</sub> emitido por el tratamiento (suelo enmendado) y el control (suelo sin enmendar) respectivamente para cada tiempo t (n>1). C agregado es el carbono agregado al suelo para cada tratamiento (Grigatti *et al.*, 2014). Utilizando el software Sigmaplot 10.0 se ajustó a un modelo simple exponencial de dos parámetros con la siguiente ecuación:

$$C_{ma} = C_0 * (1 - \exp(-k * x))$$

donde C<sub>ma</sub> es la fracción de carbono mineralizado al tiempo t, C<sub>0</sub> es el carbono potencialmente mineralizable y k es la constante de mineralización (día<sup>-1</sup>), y se calculó el tiempo de vida media:

$$tvm = \ln(2)/k$$

### 5.2.3.2 Test destructivo: Dinámica de N y P. Comunidades procariotas. Sustancias húmicas

Simultáneamente, la dinámica de N y P, los cambios en las sustancias húmicas y los cambios en las comunidades microbianas del suelo fueron evaluadas en un set separado de microcosmos bajo condiciones aeróbicas. En las mismas fechas, fueron retiradas tres réplicas de cada tratamiento. Se homogeneizó el suelo y se separó de acuerdo a la siguiente descripción: 10 g se utilizaron para determinar el contenido de humedad (gravimétrico, 105°C), 10 g se utilizaron para la determinación N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, una submuestra fresca de 3 g se conservó a -20°C para la posterior extracción de ADN y el resto del suelo (80 g aproximadamente) se secó al aire para la posterior determinación de Pe, pH, CE y sustancias húmicas (SH). Cada 2 o 3 días se verificó el contenido de humedad corrigiéndolo con agua destilada (al 60% del PS). Se preparó un set adicional de microcosmos que fue muestreado durante el mismo día de aplicación de los tratamientos y se consideró como día 0. Como las enmiendas se mezclaron con el suelo en el momento de aplicación y no hubo flujo de aire sobre este, las pérdidas de N por volatilización se consideraron despreciables (de la Fuente et al., 2010).

#### 5.2.3.2.1 Dinámica del N

A partir los valores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> se calculó el Ni (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). El nitrógeno disponible neto (Ndn) se calculó con la siguiente formula:

$$Ndn = (Nit)_{tratamiento} - (Nit)_{control}$$

El nitrógeno neto mineralizado (Nnm):

$$Nnm = (Ni_{119d} - Ni_{0d})_{tratamiento} - (Ni_{119d} - Ni_{0d})_{control}$$

y el nitrógeno mineralizado como fracción del N aportado (%Nm):

$$\%Nm = Nnm / N_{T\text{aportado}} \quad (\text{Alburquerque et al., 2012}).$$

#### 5.2.3.2.2 Dinámica del P

A partir del Pe se calculó el Pe neto (Pen) de acuerdo a la siguiente formula:

$$Pen = Pe(t)_{tratamiento} - Pe(t)_{control}$$

donde  $t$  es el tiempo (fecha de muestreo) ( $t > 0$ ).

Se realizaron ajustes lineales y se compararon mediante una planilla de cálculo ANCOVA, provista por el Dpto. de Matemáticas de la UNS (profesores Nélida Winzer y Ricardo Camina).

#### **5.2.3.2.3 Caracterización de las sustancias húmicas**

La caracterización de las sustancias húmicas se realizó al finalizar la incubación (día 119) de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 4.2.4 del capítulo 4.

#### **5.2.3.2.4 Análisis molecular de las comunidades microbianas del suelo.**

Para el análisis molecular de las comunidades microbianas del suelo se seleccionaron las fechas 0, 3, 7 y 21 días, donde se observaron mayores cambios en los niveles de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$  y la fecha 119 correspondiente a la finalización del ensayo. Solo se evaluaron los tratamientos control, DT, DC, DCE y CCB.

El ADN del suelo se extrajo utilizando un kit Power Soil DNA (MoBio Inc., Carlsbad, CA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La calidad del ADN obtenido se chequeó por electroforesis en gel de agarosa (0,9%) y se cuantificó en un fluorómetro Quantus con un kit QuantiFluor dsDNA (Promega, Madison, Wi).

#### **PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR)**

Se amplificaron los genes *16S ARNr* y *amoA* de bacterias y arqueas utilizando un equipo ABI 7500 Real Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los cebadores utilizados se presentan en la Tabla 5.3. Para el *16S ARNr* de Eubacteria, el *amoA* de BOA y AOA se utilizaron los programas descritos por Zabaloy *et al.* (2016 y 2017).

Para la amplificación del gen *16S ARNr* de arqueas se utilizó la siguiente mezcla de reacción: 7,5  $\mu\text{l}$  de PCR iTaq Universal SYBR Green Master Mix (Bio-Rad Laboratories), 0,6  $\mu\text{l}$  de cada primer (10  $\mu\text{M}$  stocks, Invitrogen), 1  $\mu\text{l}$  de ADN templado (0,1 a 10  $\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$ ) y 5,3  $\mu\text{l}$  de agua ultra pura. Se utilizó el siguiente programa: preincubación (95°C, 5 min, x1 ciclo), amplificación (94°C por 30 s, 61°C por 30 s, 72°C durante 45 s, x40 ciclos), seguido por un análisis de la curva de disociación (65-95°C).

Los datos de abundancia se expresan como número de copias  $\mu\text{g}^{-1}$  ADN (Zabaloy *et al.* 2016).

**Tabla 5.3.** Cebadores utilizados para la determinación del número de bacterias y arqueas totales y oxidadoras del amoníaco.

Grupo taxonómico	Cebadores	Secuencia (5'→3')	Tamaño (pb)	Referencia
<i>Eubacteria</i>	338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	200	Fierer et al., (2005)
	518R	ATTACCGCGGCTGCTGG		
<i>Archaea</i>	A364F	CGGGGYGCASCAGGCGCGAA	570	Hoshino et al., (2011)
	A934R	GTGCTCCCCCGCCAATTCCT		
<i>BOA</i>	amoA-1F	GGGGTTTCTACTGGTGGT	491	Rotthauwe et al., (1997)
	amoA-2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC		
<i>AOA</i>	amoA-19F	ATGGTCTGGCTWAGACG	624	Leininger et al., (2006) Schauss et al., (2009)
	CrenamoA616r48x	GCCATCCABCKRTANGTCCA		

#### 5.2.4 Diseño experimental y análisis estadístico

Para el ensayo no destructivo se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, las fechas se analizaron en forma independiente y la comparación de medias se realizó mediante el test DMS de Fischer.

Para el análisis de las variables del ensayo destructivo se utilizó un diseño completamente aleatorizado bifactorial (fecha de muestreo y tratamientos) con tres repeticiones. Los datos se analizaron mediante un anova doble y las comparaciones de medias se realizaron mediante DMS de Fischer. En ambos casos se utilizó el software estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

### 5.3 Resultados y discusión

#### 5.3.1 Caracterización química

De acuerdo a las características químicas (Tabla 5.4) los materiales pudieron agruparse de acuerdo al tratamiento recibido. Los digeridos anaeróbicos (DT, DC y DCE) presentaron una baja relación C/N (2-4,7), la mayor parte del nitrógeno en forma disponible (70- 79%) coincidiendo con lo observado en los capítulos 3 y 4, y lo reportado por Kirchman *et al.* (1992), Makádi *et al.* (2012) y Risberg *et al.* (2017) y una alta relación N/P (20- 28). Los compost (CCP y CCB) presentaron una relación C/N entre 10,6 y 11,9, la mayor parte del nitrógeno en forma orgánica (90- 84%) y una muy baja relación N/P (1,5- 2). Los materiales sin tratar ET y FST presentaron características diferentes a los grupos mencionados. ET presentó una relación C/N de 8,25, el 35% del N en forma disponible y una relación N/P de 6, mientras que FST una relación C/N de 22,59, el 97% del N en forma orgánica y una relación N/P de 9,9.



**Tabla 5.4. Caracterización química de las enmiendas utilizadas.**

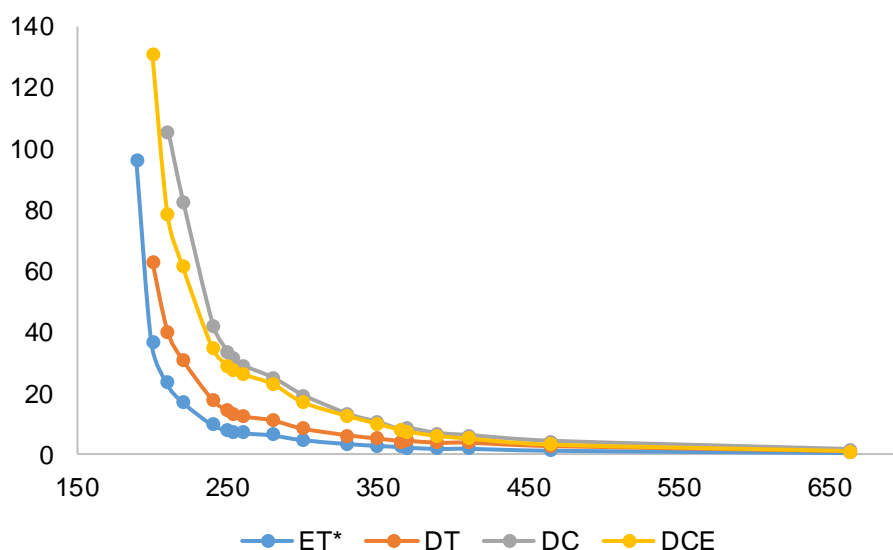
	g L <sup>-1</sup>				mg L <sup>-1</sup>			C/N	C/No	Ni/Nt	P mg L <sup>-1</sup>	N/P	pH	ce		
	C	NTK	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NT	Norg	Ni							dS m <sup>-1</sup>	%	
<b>ET*</b>	4,21	508,4	3,1	175,1	511,5	333,3	178,2	8,24	12,64	0,35	84,2	6,07	7,4	10,3	1,93	41,05
<b>DT</b>	1,76	683,0	7,3	487,5	690,3	195,5	494,8	2,54	8,98	0,72	35,1	19,66	7,2	12,1	1,03	29,69
<b>DC</b>	6,49	3095,0	46,2	2148	3141,2	946,7	2195	2,07	6,86	0,70	110,6	28,41	7,5	14,3	3,25	39,94
<b>DCE</b>	11,08	2343,0	37,8	1853	2380,8	490,1	1891	4,66	22,62	0,79	116,4	20,46	7,6	12,8	3,52	61,52
	mg kg <sup>-1</sup>															
<b>FST</b>	241,86	10691,8	14,0	275,9	10705,8	10415,9	289,9	22,59	23,22	0,03	1081,8	9,90	7,9	3,4	26,3	41,66
<b>CCP</b>	114,30	9675,8	1094,7	19,4	10770,5	9656,4	1114,2	10,61	11,84	0,10	7258,0	1,48	7,4	1,4	78,7	19,59
<b>CCB</b>	213,67	15130,8	2877,0	83,4	18007,8	15047,5	2960,3	11,87	14,20	0,16	9053,0	1,99	8,6	3,0	50,8	33,56

\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino. Valores de ET, DT, DC y DCE expresados en fresco y FST, CCP y CCB expresados en seco.

### 5.3.2 Caracterización funcional de las enmiendas

Los ET y DT presentaron menor absorción en el rango 180-320 nm (UV-Vis) que DC y DCE, permitiendo inferir un menor contenido de especies aromáticas, aromáticas condensadas, aromáticas conjugadas con cromóforos electroattractores (C=C, C=O), aromáticas sustituidas con auxocromos electrodadores (HO-, -HN-) y especies olefínicas altamente conjugadas (Figura 5.1).

Los espectros IR de las enmiendas utilizadas muestran similares áreas de absorción. Las principales asignaciones de las distintas regiones de los espectros coinciden con las presentadas en el capítulo 4 (Tabla 4.2).



\*ET: efluente de tambo; DT: digerido de tambo; DC: digerido de cerdo; DCE: codigerido de estiércol y cebolla.

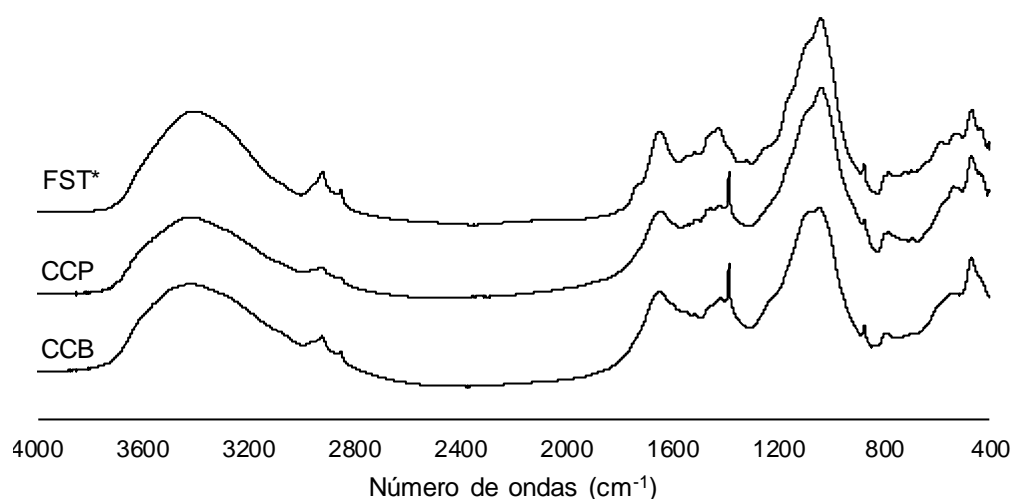
**Figura 5.1.** Absorbancia como función de la longitud de onda para los materiales líquidos sin centrifugar.

Al analizar los IR se identifican claramente los que corresponden a los efluentes sólidos (FST, CCP y CCB) presentados en la figura 5.2 de los que corresponden a los líquidos (ET, DT, DC y DCE) presentados en la figura 5.3.

Los compost presentaron espectros muy similares entre sí. El CCB presentó mayor intensidad en las bandas centradas en  $2850$  y  $2920\text{ cm}^{-1}$ ,  $1650$  y  $1385\text{ cm}^{-1}$ , y una menor intensidad en la banda  $1034\text{ cm}^{-1}$  (Figura 5.2). Estas variaciones, junto con la caracterización química y la base de que los compost se diferencian en el grado de madurez, permiten inferir que el CCP presenta menores contenidos de: estructuras con soporte hidrocarbonado alifático de cadena larga; de amidas, aminas y compuestos insaturados de menor peso molecular y nitratos

posiblemente como consecuencia del lixiviado durante el tiempo de maduración, pero mayor contenido de ésteres, alcoholes, fenoles y compuestos polihidroxilados de elevado peso molecular, además de núcleos aromáticos condensados complejos. Tales resultados coinciden con lo observado por Chen (2003) sobre los cambios ocurridos durante el proceso de compostaje, y permiten suponer que la degradación comienza por las fracciones más lábiles (lípidos, proteínas, carbohidratos), con un relativo incremento de las fracciones estables más complejas.

FST presentó un espectro similar a los compost, pero mostró mayor intensidad en las bandas comprendidas entre 2850 y 2960  $\text{cm}^{-1}$  y en las centradas en 1420 y 1660  $\text{cm}^{-1}$  lo cual podría indicar que tenía una mayor proporción de compuestos alifáticos, amidas, aminas y compuestos insaturados de bajo peso molecular.



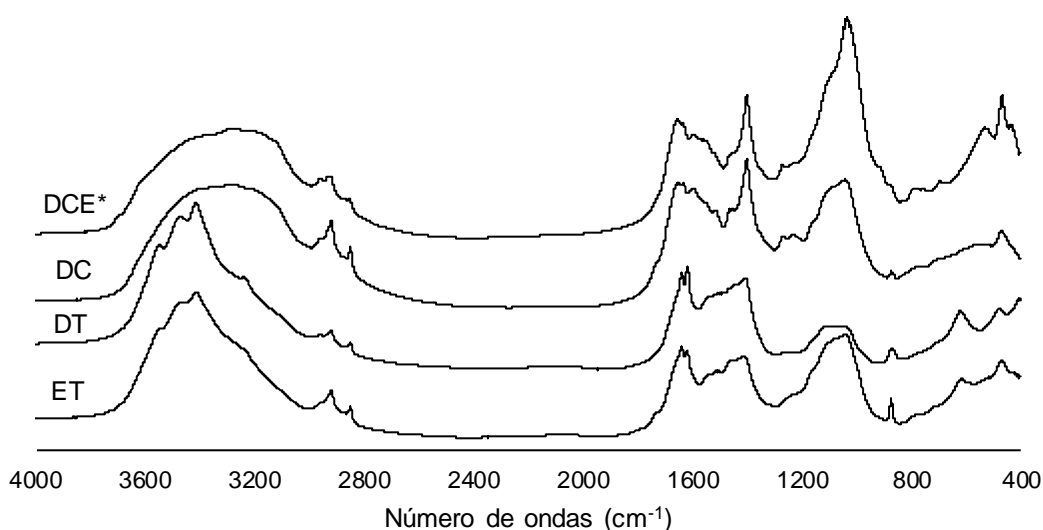
\*FST: fracción sólida de tambo; CCP: compost de cebolla y guano de pollo; CCB: compost de cebolla y estiércol bovino,

**Figura 5.2.** Espectros IR de los materiales sólidos (FST, CCP y CCB).

El ET y el DT presentaron espectros muy similares (Figura 5.3). Sin embargo, el ET presentó mayor intensidad en las bandas centradas en 2920 y 2850  $\text{cm}^{-1}$ , en la región entre 1000 y 1200  $\text{cm}^{-1}$ , en 870 y 470  $\text{cm}^{-1}$ , y un hombro en 1730  $\text{cm}^{-1}$  ausente en DT. Mientras que DT presentó mayor intensidad en el pico en 1615  $\text{cm}^{-1}$ , un leve incremento en 1550 y 1515  $\text{cm}^{-1}$  y mayor intensidad y definición en 1403  $\text{cm}^{-1}$ . Estas diferencias pueden atribuirse a una mayor proporción de compuestos alifáticos de alto peso molecular, polisacáridos, ésteres, compuestos hidroxilados, aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos de alto peso molecular. El DT presentó un mayor contenido de compuestos aromáticos, coincidiendo con lo observado en UV-Vis y un mayor contenido de ácidos orgánicos de cadena corta, amonio libre y compuestos alifáticos de bajo peso molecular.

En términos generales, DC y DCE presentaron mayor grado de asociación intermolecular y un mayor contenido de compuestos aromáticos condensados (coincidiendo con lo observado en el espectro UV-Vis), compuestos nitrogenados de bajo peso molecular, ácidos orgánicos de cadena corta y  $\text{NH}_4^+$  libre que ET y DT.

DC y DCE presentaron espectros muy similares entre sí con ligeras variaciones en  $2920\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ ,  $1650$ ,  $1400$  y  $1040\text{ cm}^{-1}$ , siendo esta última la región donde más se diferenciaron. En función de esto, se puede inferir que DC presenta menor proporción de compuestos alifáticos de alto peso molecular, mayor proporción de compuestos aromáticos y amidas de bajo peso molecular y una mayor proporción de compuestos oxigenados de elevado peso molecular, y ambos presentan proporciones de ácidos orgánicos y  $\text{N-NH}_4^+$  similares entre sí, coincidiendo con lo observado en los análisis químicos.



\*DCE: codigerido de cebolla y estiércol; DC: digerido de cerdo; DT: digerido de tambo; ET: efluente de tambo.

**Figura 5.3.** Espectros IR de los materiales líquidos (ET, DT, DC y DCE).

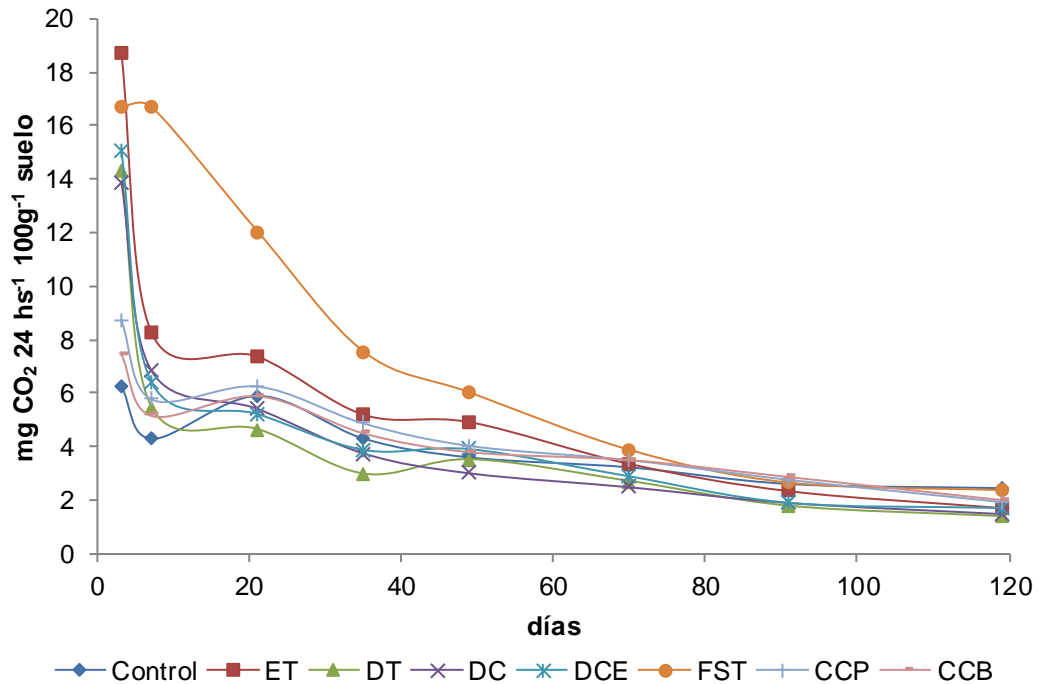
### 5.3.3 Mineralización de C

Los digeridos anaeróbicos (DA) presentaron la misma dinámica ( $p_{\text{inter}} > 0,18$ ) entre sí y se diferenciaron del resto de las enmiendas. Provocaron una rápida activación de la microbiota edáfica mostrando una intensa emisión de  $\text{CO}_2$  durante los primeros 3 días (Figura 5.4), coincidiendo con lo observado en el capítulo 3, y lo reportado por Marcato *et al.* (2009), Grigatti *et al.* (2011) y Albuquerque *et al.* (2012), alcanzando valores entre  $14$  y  $15\text{ mg CO}_2\ 100\text{ g}^{-1}\text{ d}^{-1}$ . Este comportamiento confirma la presencia de compuestos orgánicos fácilmente degradables como se observó en la relación C/N y en la caracterización IR. Posteriormente la actividad

biológica se redujo hasta valores entre 4,5 y 5,5 mg CO<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (o mg CO<sub>2</sub> 100 g suelo<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) a los 21 días, hasta valores cercanos al control (6,23 mg CO<sub>2</sub> 100 g suelo<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).

La máxima mineralización aparente la alcanzaron a los 7 días (del C agregado) (Figura 5.6). Al analizar la cinética del Cmap de este período (7 primeros días) a través de un modelo simple exponencial se obtuvieron valores de  $k$  de 0,32; 0,42 y 0,58 días<sup>-1</sup>, equivalentes a una vida media de 2,14, 1,63 y 2,14 días para DT, DC y DCE respectivamente. A partir del día 7 la cinética de los DA pudo explicarse a través de un ajuste lineal ( $R^2 > 0,91$ ) con pendiente negativa. DCE presentó la menor pendiente (DCE: -0,33; DT: -1,07; DC: -1,21), probablemente debido a la mayor relación C/N. La menor emisión de CO<sub>2</sub> (Figura 5.5) respecto al control generó valores de mineralización aparente (map) negativos a partir del día 35 para el DT, 70 días para el DC y 91 para el DCE. Fangueiro *et al.* (2014) trabajando con aplicaciones de purín de cerdo completo y fraccionado por distintos métodos, obtuvieron valores de emisión de CO<sub>2</sub> menores al control a partir de los 9 días al aplicar las fracciones líquidas.

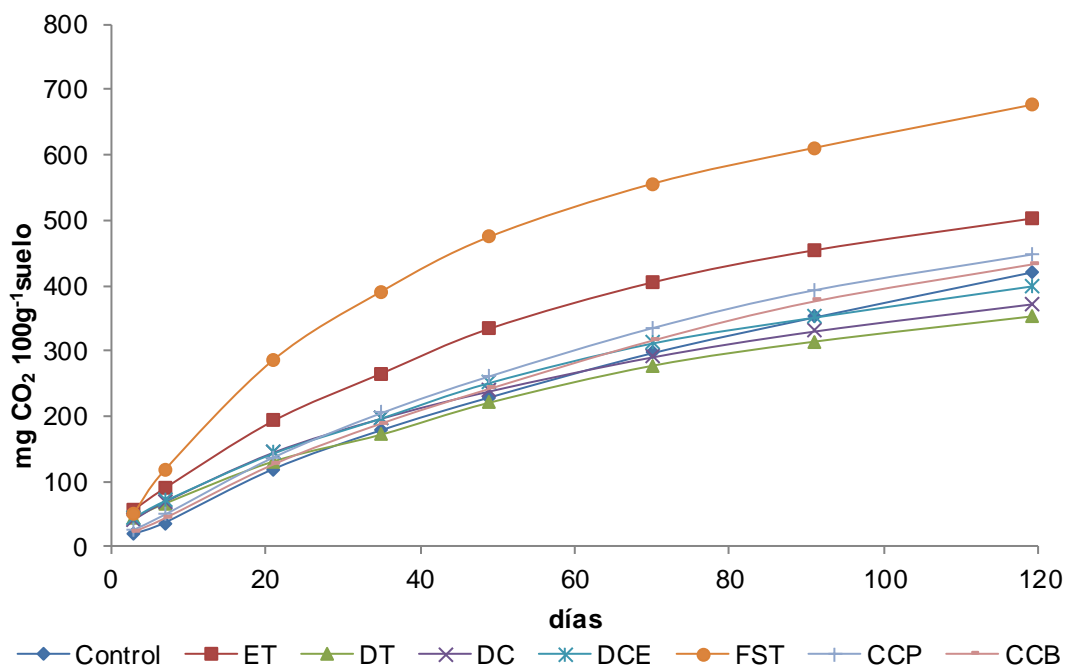
La fracción más lábil de los digeridos anaeróbicos es rápidamente metabolizada pudiendo estimular a la microbiota edáfica a degradar los compuestos de menor complejidad presentes en el suelo, justificando la marcada actividad que se observó durante los primeros 3 días. Este proceso generaría un cambio en el stock de materia orgánica del suelo, reemplazando parte de su MO joven por la MO recalcitrante presente en el digerido. De esta forma se lograría una mayor estabilidad de la MO del suelo, lo cual se evidenció en la disminución de su actividad biológica provocando una aparente mineralización negativa y un incremento en la capacidad del suelo de fijar C.



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.4.** Tasa de desprendimiento de  $CO_2$  ( $mg CO_2 100g^{-1} suelo 6h^{-1}$ ).

En la bibliografía no se encontraron registros de este comportamiento. Los digeridos anaeróbicos utilizados en este ensayo tuvieron un prolongado período de residencia (tiempo de retención elevado en el biodigestor) maximizando su degradación. En la mayoría de los casos los digeridos utilizados en los ensayos provienen de procesos industriales, donde la búsqueda de la mayor eficiencia energética reduce el tiempo de residencia produciendo una degradación incompleta de la MO (Salminen *et al.*, 2001 y Abdullahi *et al.*, 2008), obteniendo un digerido inestable. Esto puede generar problemas de almacenamiento, olores desagradables (Smet *et al.*, 1998) y causar un impacto desfavorable sobre el sistema suelo-planta como consecuencia de incorporar materiales inestables al suelo (Salminen *et al.*, 2001; Abdullahi *et al.*, 2008 y Albuquerque *et al.*, 2012).



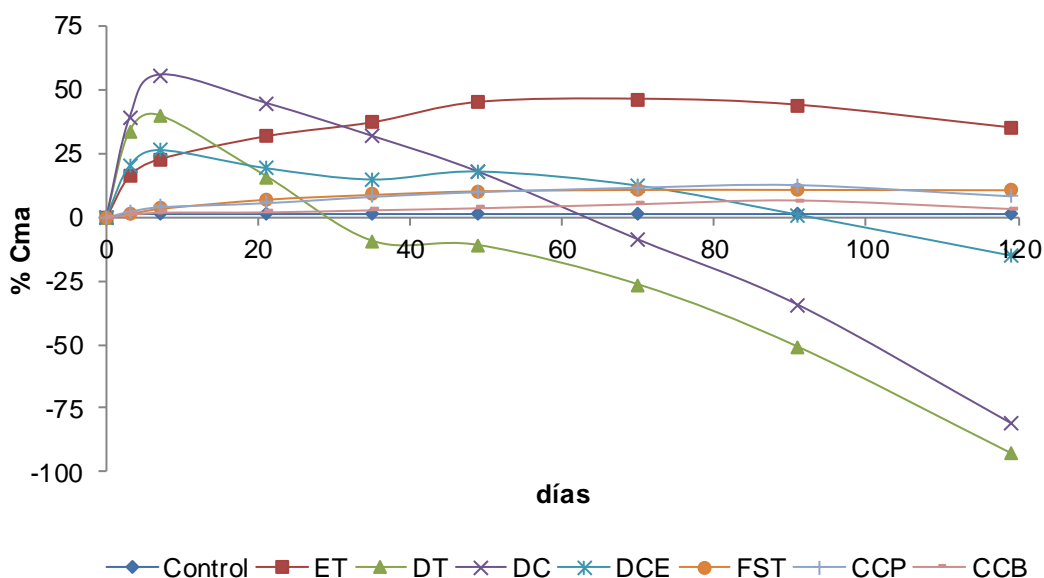
\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.5.** Desprendimiento acumulado de  $CO_2$  ( $mg CO_2 100g^{-1}$  suelo).

El efluente de tambo generó un efecto similar al descrito para los digeridos a los 3 días, seguido de una rápida disminución a los 7 días como consecuencia de la degradación de compuestos lábiles, pero manteniendo valores superiores al control hasta los 91 días posiblemente debido al mayor contenido de compuestos de mayor peso molecular (compuestos alifáticos de alto peso molecular, polisacáridos, ésteres, compuestos hidroxilados, aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos sugeridos en el análisis IR) que se degradan más lentamente (Kirchmann & Witter, 1992). La FST presentó una degradación más prolongada manteniendo valores elevados de desprendimiento de  $CO_2$  hasta los 49 días y superiores a todos los tratamientos hasta finalizar el ensayo. La cinética del Cma del ET mostró una degradación del 41% del C aportado y una vida media de 6,38 días ( $k_0= 0,108 d^{-1}$ ), mientras que el FST mostró una degradación del 11% del C aportado y una vida media de 13,97 días ( $k_0= 0,050 d^{-1}$ ). Estos resultados confirman que la fracción sólida de tambo (FST) retuvo los compuestos de mayor complejidad, mientras que en la fracción líquida (ET) permaneció la fracción más lábil, como se observó en la caracterización química y espectroscópica.

Los compost mostraron la misma dinámica entre sí ( $p$  interacción  $>0,05$ ) y también presentaron mayor actividad durante los primeros 7 días, sin embargo mantuvieron una

dinámica similar al control pero con valores mayores ( $p < 0,05$ ). La cinética del C mineralizado del CCP alcanzó una degradación del 11% del C agregado y una vida media de 14,97 días ( $k_0 = 0,046 \text{ d}^{-1}$ ), mientras que el CCB presentó una degradación del 5% y una vida media de 21,46 días ( $k_0 = 0,032 \text{ d}^{-1}$ ).



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.6.** Mineralización aparente de C ( $C_{ma}$ ) para cada tratamiento.

### 5.3.4 Dinámica del N

Los suelos tratados con digeridos anaeróbicos (DT, DC and DCE) mostraron los mayores contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$  al comienzo de la incubación (83,7; 78,13 y 71,67  $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ Kg}^{-1}$  para DCE, DC y DT respectivamente) (Figura 5.7), coincidiendo con otros estudios (Gioacchini *et al.*, 2007 y Albuquerque *et al.*, 2012). Presentaron la misma dinámica de  $\text{N-NH}_4^+$  y Ni durante los primeros 70 días ( $p$  interacción  $> 0,05$ ) y de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $p$  interacción  $> 0,05$ ) durante los primeros 49 días, coincidiendo con lo reportado por de la Fuente *et al.* (2013).

Los digeridos anaeróbicos mantuvieron mayores contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$  que el resto de los materiales evaluados durante los primeros 7 días y de  $\text{N-NO}_3^-$  y Ni durante todo el ensayo ( $p < 0,05$ ) (Figura 5.7).

El incremento en el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-NO}_3^-$  (Figura 5.7. a y b) en relación al aportado (Tabla 5.4) en los suelos tratados con digeridos anaeróbicos permite suponer una rápida amonificación ( $\text{No} \rightarrow \text{NH}_4^+$ ) y nitrificación ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) inmediatamente luego de la aplicación.



Esto es posible dado que parte de los compuestos lábiles presentes en los digeridos (ácidos orgánicos de cadena corta y compuestos nitrogenados de bajo peso molecular como se observó en la caracterización IR) pueden ser rápidamente degradados. Kirchman & Lundvall (1993) confirmaron la rápida degradación (durante el primer día) de los ácidos grasos de 2 a 6 carbonos aportados por efluente y digerido de purín de cerdo, y digerido de estiércol bovino, coincidiendo con lo reportado anteriormente por Paul & Beauchamp (1989). A partir de allí, durante los primeros 3 días se observó una marcada inmovilización tanto de  $\text{N-NH}_4^+$  como de  $\text{N-NO}_3^-$  (Figura 5.7.a y b) debido al probable incremento de biomasa microbiana, coincidiendo con lo observado por Kirchman & Lundvall (1993), quienes encontraron una correlación negativa entre el contenido de ácidos grasos de las enmiendas y el nitrógeno inmovilizado posaplicación. Como la forma preferencial de absorción de N es el amonio (Drury *et al.*, 1991 y Merrick & Edwards, 1995), la importante reducción del contenido de  $\text{N-NO}_3^-$  confirma una gran demanda microbiana de N. Esta inmovilización se extendió hasta los 7 días coincidiendo con lo observado por Grigatti *et al.* (2011), Albuquerque *et al.*, (2012) y de la Fuente *et al.* (2013). No se consideró la fijación de  $\text{N-NH}_4^+$  por las arcillas dado que el suelo contiene bajas cantidades, ni la volatilización como  $\text{N-NO}_3^-$  debido a las condiciones de incubación (de la Fuente *et al.*, 2013). Posteriormente, el Ni aumentó hasta el día 21 donde comenzó una nueva etapa de inmovilización hasta el día 35 pero sin reflejarse en un incremento de la actividad biológica. Luego se incrementó la mineralización hasta alcanzar una estabilización entre los días 91 y 119 (Figura 5.7.c).

Al finalizar la incubación, DCE presentó mayores niveles de Ni seguido de DC y DT (212,52; 198,51 y 161,69  $\text{mg Kg}^{-1}$  respectivamente). El contenido de Ni se correlacionó con el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  ( $R^2=0,88$ ) a los 119 días, demostrando que la mayor liberación de N estuvo asociada con la mineralización de C en concordancia con el aporte de NT, pero sin correlacionarse con el aporte de N orgánico (No). La falta de relación con el aporte de No podría corresponder a que la fracción lábil del No y el Ni aportado por los digeridos es rápidamente inmovilizado como biomasa microbiana (forma orgánica), como se observó en el período 0-3 días. El resto del No estaría asociado a la fracción recalcitrante sin influir en la dinámica del N dentro del período evaluado.

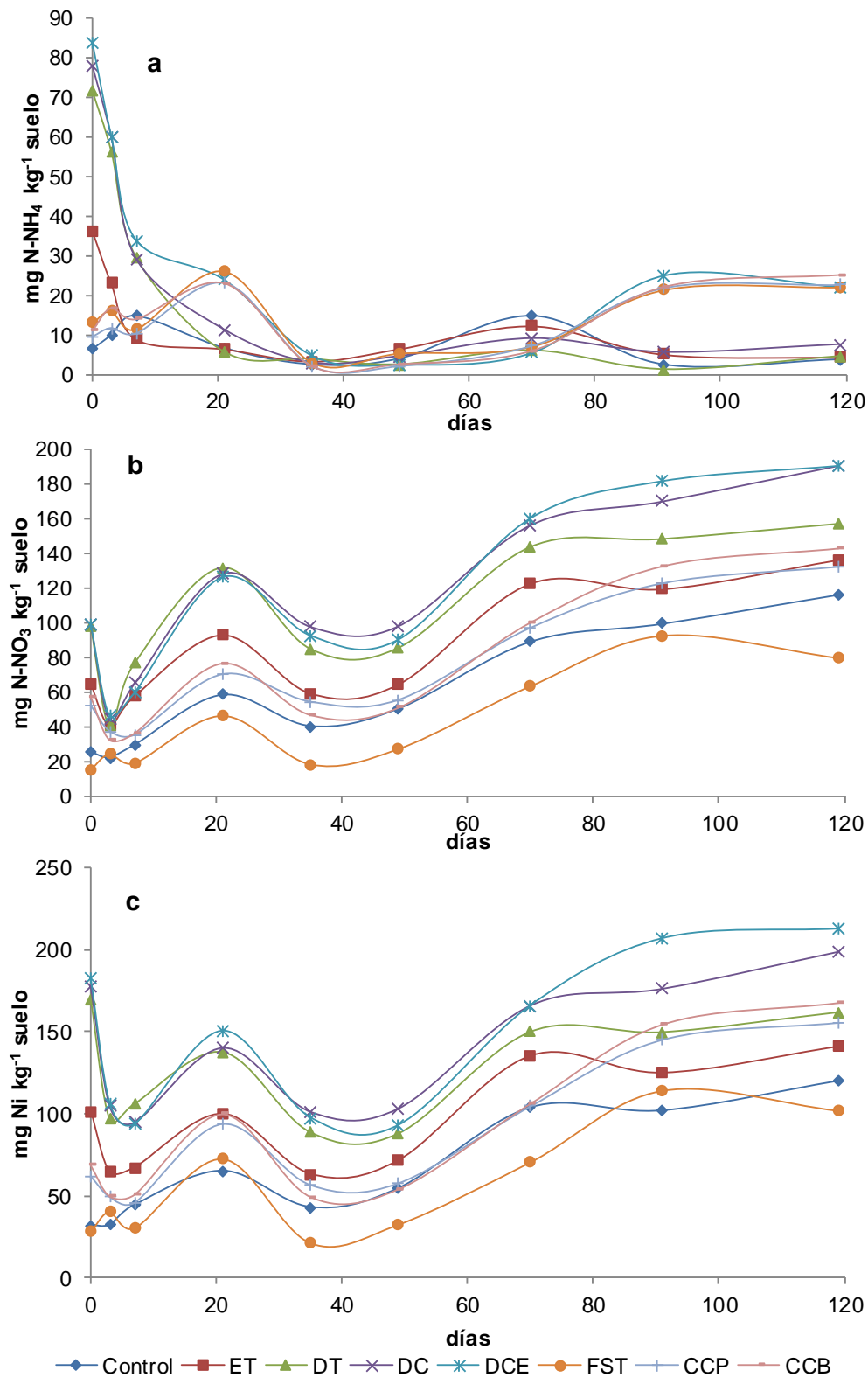
Los compost mantuvieron una dinámica similar entre sí durante todo el ensayo ( $\text{N-NH}_4^+$ , p interacción=0,83;  $\text{N-NO}_3^-$ , p interacción=0,62 y Ni, p interacción=0,86) coincidiendo con lo observado en la dinámica del C, y una dinámica de  $\text{N-NO}_3^-$  similar al control (p interacción=0,06). En el momento inicial aumentó el contenido de Ni en el suelo (94 y 115% por encima del control para CCP y CCB respectivamente), principalmente por el aumento de  $\text{N-NO}_3^-$  (107 y 127% respectivamente) seguido de una inmovilización hasta el día 7 cuando alcanzaron los mismos niveles que el control, en concordancia con lo reportado por Mazzarino

*et al.* (2004) y por Amlinger *et al.* (2003). Esta inmovilización coincide con el momento de mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> (Figura 5.4) confirmando que la inmovilización fue microbiana (Bernal & Roig, 1993; Hernández *et al.*, 2002; Cayuela, 2009; Leconte, 2011). Esta inmovilización es consecuencia del bajo contenido de compuestos nitrogenados lábiles en los compost (Eghball *et al.*, 2002), indicando estabilidad y madurez (Hadas & Portnoy, 1994) y su capacidad de liberar el nitrógeno en forma gradual (Sánchez & Delgado, 2008). A partir del día 49 comenzó otra etapa de mineralización hasta finalizar el ensayo superando al control ( $p < 0,05$ ) en los días 91 y 119 (Control: 120,45; CCP: 155,48 y CCB: 167,53 mg Ni 100g<sup>-1</sup>).

El ET y la FST presentaron dinámicas diferentes a los demás tratamientos ( $p$  interacción  $< 0,05$ ). El ET se ubicó entre los digeridos y los compost, presentando siempre valores superiores al control ( $p < 0,05$ ), manteniendo valores cercanos a los compost sin diferenciarse estadísticamente de estos a los 119 días. En contraposición permaneció por debajo del control durante todo el ensayo ( $p < 0,05$ ), lo cual indicaría que los microorganismos utilizaron N edáfico para poder degradarlo.

Las oscilaciones en la disponibilidad de N (inmovilización, mineralización) coinciden en todos los tratamientos, permitiendo suponer que estas responden principalmente a las características del sistema suelo-microbiota y en menor medida a las enmiendas aplicadas.

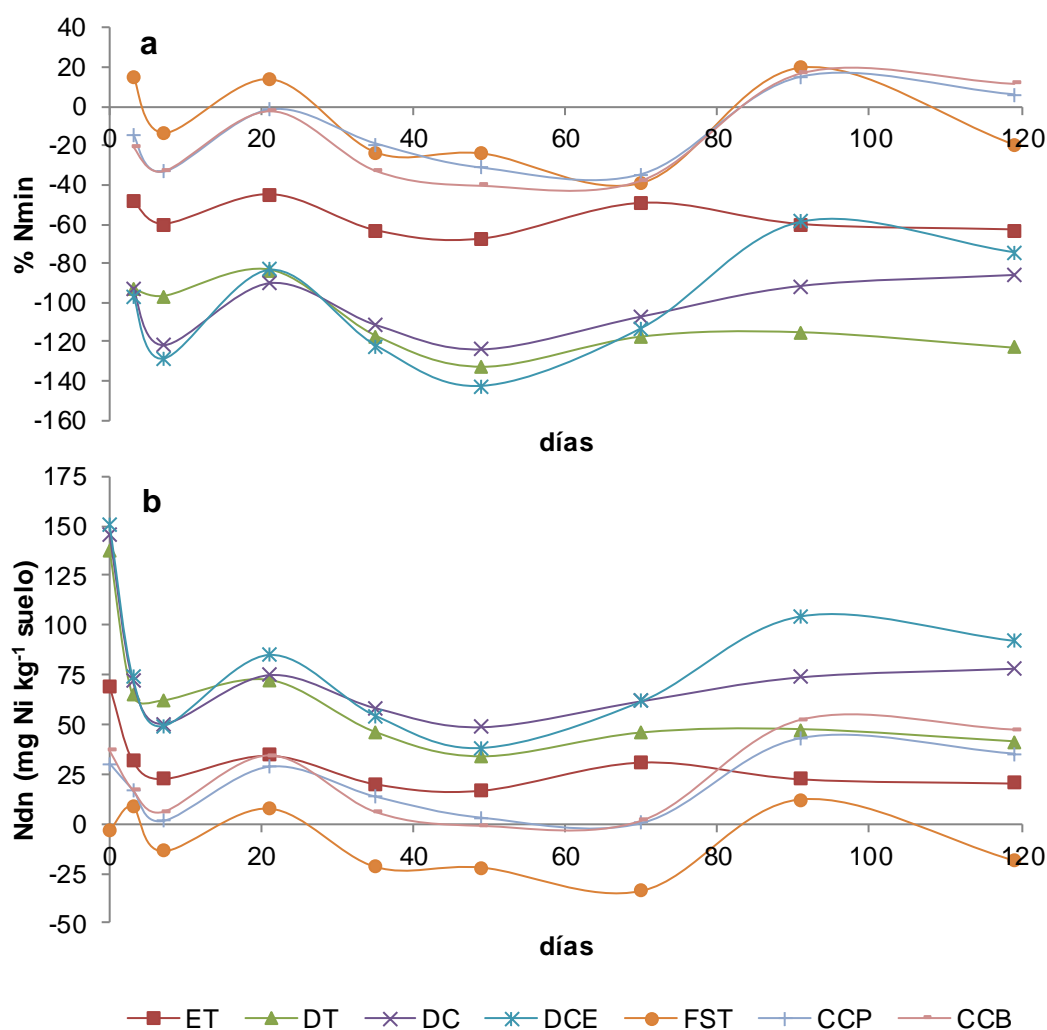
Al evaluar el %Nmin se observó que los DA, el DE y el SFD presentaron una inmovilización neta respecto al nitrógeno aportado (Figura 5.8.a) coincidiendo con lo observado por Grigatti *et al.* (2014). Sin embargo, los digeridos y en menor medida el ET mantuvieron valores de N disponibles superiores al control durante todo el ensayo como consecuencia del elevado aporte inicial (Figura 5.8.b). El ET alcanzó menores valores de Ni que los compost a partir del día 70 (Figura 5.7.c). Los compost mostraron valores positivos por un breve lapso previo al día 35 y se diferenciaron marcadamente de este a partir del día 70. La FST mantuvo valores negativos durante todo el ensayo como consecuencia de la inmovilización microbiana del N edáfico.



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.7.** Dinámica del N durante la incubación. (a) N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; (b) N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y (c) Ni (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

El mayor aporte de los digeridos anaeróbicos correspondió al Ni presente en el material y no a su posterior mineralización, mientras que en los compost se observó el efecto contrario, donde el mayor aporte fue debido a su mineralización. Esta característica justificaría lo observado en el capítulo 3 y lo reportado por Grigatti *et al.* (2011) donde la utilización de digeridos como fertilizantes generó una respuesta en los cultivos similar a la observada con fertilizantes químicos. Una característica que los diferencia de los fertilizantes químicos, es que en los DA el aporte de N va acompañado de compuestos orgánicos lábiles que inducen una rápida inmovilización que podría reducir las pérdidas de N tanto por lixiviado como por volatilización, pero manteniendo niveles de N disponible significativamente mayores al control.

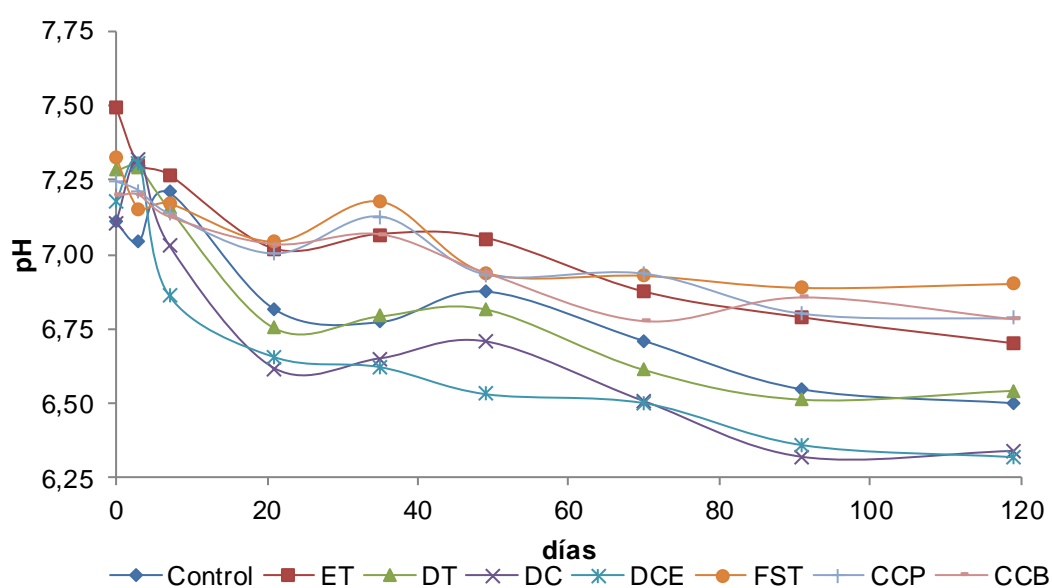


\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.8.** Dinámica del N mineralizado (%Nmin) (a) y del nitrógeno disponible neto (Ndn) (b).

### 5.3.5 Dinámica del pH durante la incubación

La figura 5.9 muestra la dinámica del pH para cada tratamiento durante la incubación. Los tratamientos presentaron distintas dinámicas de pH ( $p < 0,001$ ). Sin embargo todos mostraron una reducción durante la incubación ( $0 > 119$ ,  $p < 0,05$ ). CCP, CCP, ET y FST presentaron una tendencia a mantener mayores valores de pH diferenciándose estadísticamente del control en las fechas 0, 3, 21, 35, 91 y 119 ( $p < 0,05$ ) mientras que los digeridos anaeróbicos presentaron una tendencia a disminuir respecto al control. DC y DCE mantuvieron menores valores que el control a partir del día 7 y DT solo en la fecha 7.



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

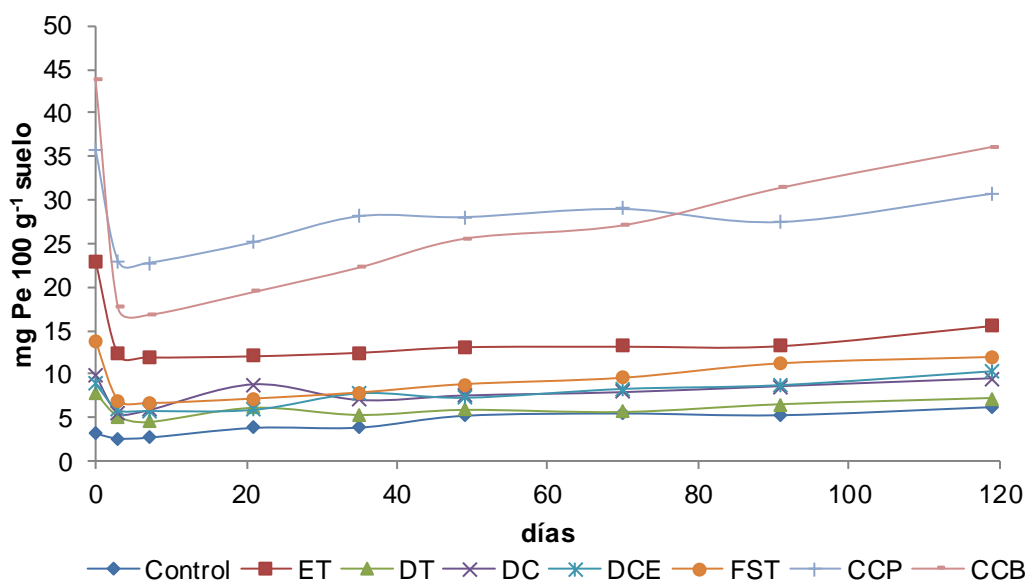
**Figura 5.9.** Dinámica del pH del suelo durante la incubación.

### 5.3.6 Dinámica de P

Todos los tratamientos presentaron el mayor nivel de  $P_e$  en el día cero (Figura 5.10) coincidiendo con lo presentado por Preusch *et al.* (2002) al evaluar la disponibilidad de P en suelos franco arenosos enmendados con guano de ave compostado y sin compostar. Los compost presentaron los mayores valores permitiendo suponer un alto contenido de P disponible. El  $P_e$  decreció durante los primeros tres días en todos los tratamientos. El incremento de  $P_e$  en el momento de la aplicación de las enmiendas puede haber generado la inhibición en la producción de enzimas (McGill & Cole, 1981). La reducción observada en el

día 3 puede ser consecuencia de tres procesos diferentes: la asimilación microbiana, coincidiendo con el mayor desprendimiento de CO<sub>2</sub> e inmovilización de N, retención por adsorción superficial (Goldberg & Sposito, 1985) y precipitación asociado al Ca (Suñer & Galantini, 2013) o, en menor medida, ligado al Fe y al Al (Sanyal & De Datta, 1991).

A partir de los tres días el contenido de Pe aumentó gradualmente para todos los tratamientos durante todo el período evaluado presentando un buen ajuste lineal ( $R^2 > 0,63$ ). Al evaluar los datos respecto al control, se observó que luego del aporte inicial ET, DT, DC y DCE no presentaron variaciones en el Pe ( $p > 0,05$ ), mientras que FST y los compost presentaron un incremento relativo durante todo el ensayo (Figura 5.11). Este incremento puede atribuirse a la mineralización de la MO aportada por los compost ya que la redisolución de los precipitados inorgánicos requiere de períodos de tiempo más prolongados (Galantini *et al.*, 2005; Suñer & Galantini, 2013). CCB presentó una mayor tasa de incremento que CCP posiblemente debido a la presencia de una mayor proporción de compuestos lábiles fosforados como consecuencia del menor tiempo de maduración. El tratamiento FST presentó menores valores de Pe inicial que el ET, pero una mayor tasa de mineralización.



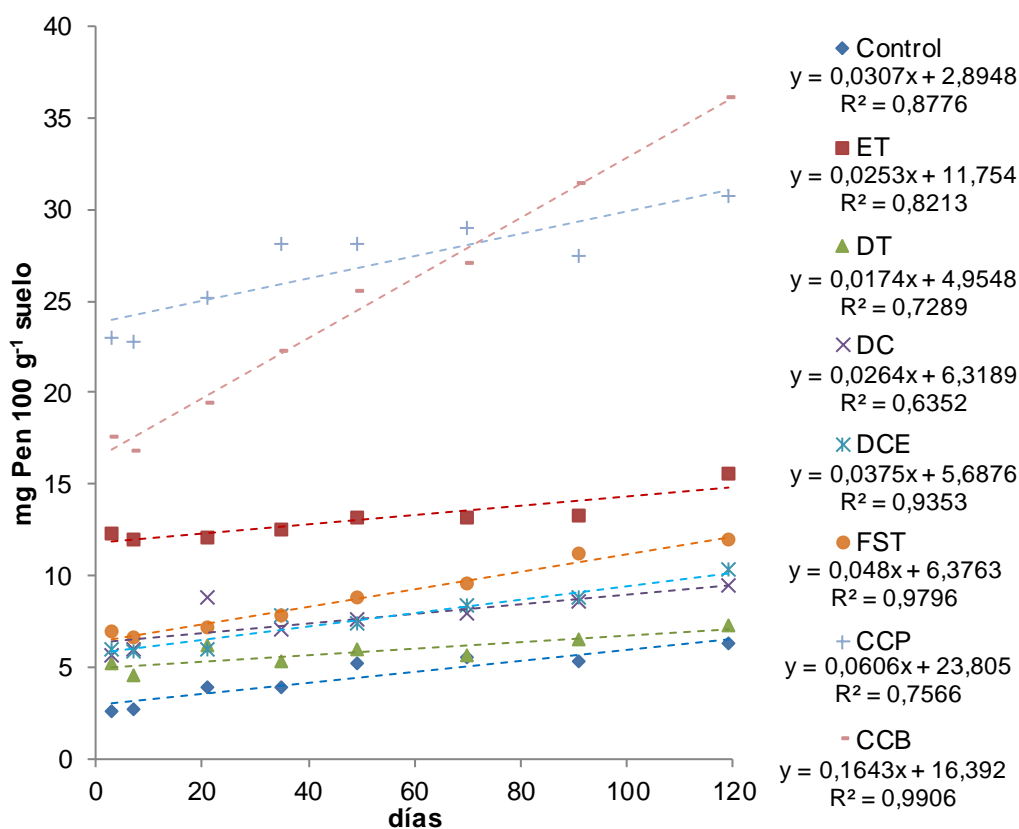
\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.10.** Dinámica del Pe posaplicación.

El aporte de Pe de los DA correspondió al aportado en forma inorgánica y no a su posterior mineralización, coincidiendo con lo observado al analizar la dinámica de N.

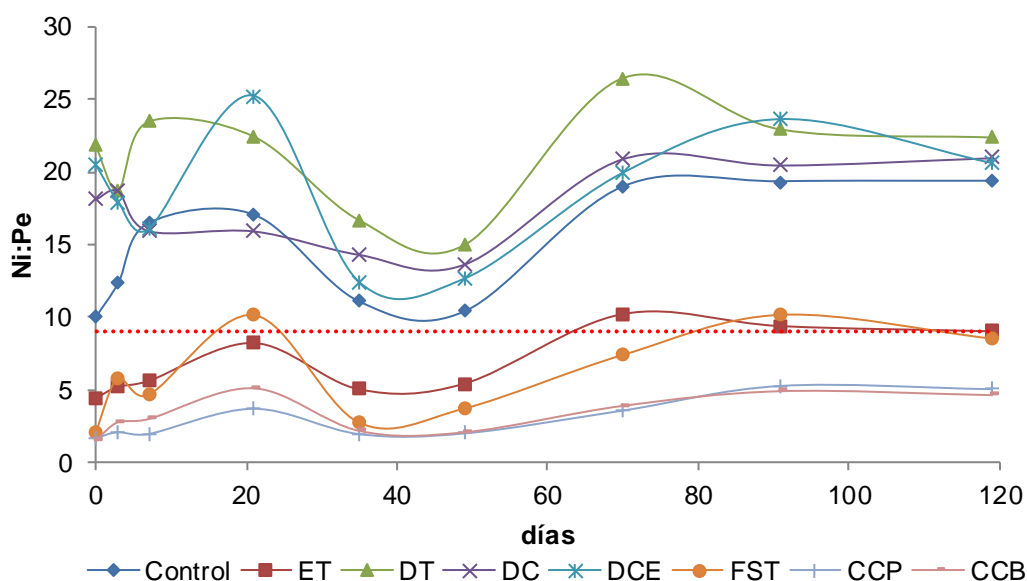
Los resultados observados en este trabajo nos permiten suponer que la dinámica de Pe fue regida en mayor medida por la mineralización de C (proceso biológico de consumo de energía) y no por el proceso bioquímico (enzimático) según el concepto de Oehl *et al.* (2001).

Al evaluar la dinámica de la relación Ni:Pe de los suelos sometidos a los distintos tratamientos (Figura 5.12), se observó que el suelo estudiado presentó un déficit relativo de Pe, que los DA incrementaron ese déficit manteniendo una mayor relación Ni:Pe que el control y que los compost mantuvieron relaciones inferiores a las requeridas por los cultivos (indicado con una línea roja en la Figura 5.12).



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.11.** Ajuste lineal de la dinámica del P extractable neto (Pen).



\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino. La línea punteada roja indica la relación media de absorción de los cultivos (9).

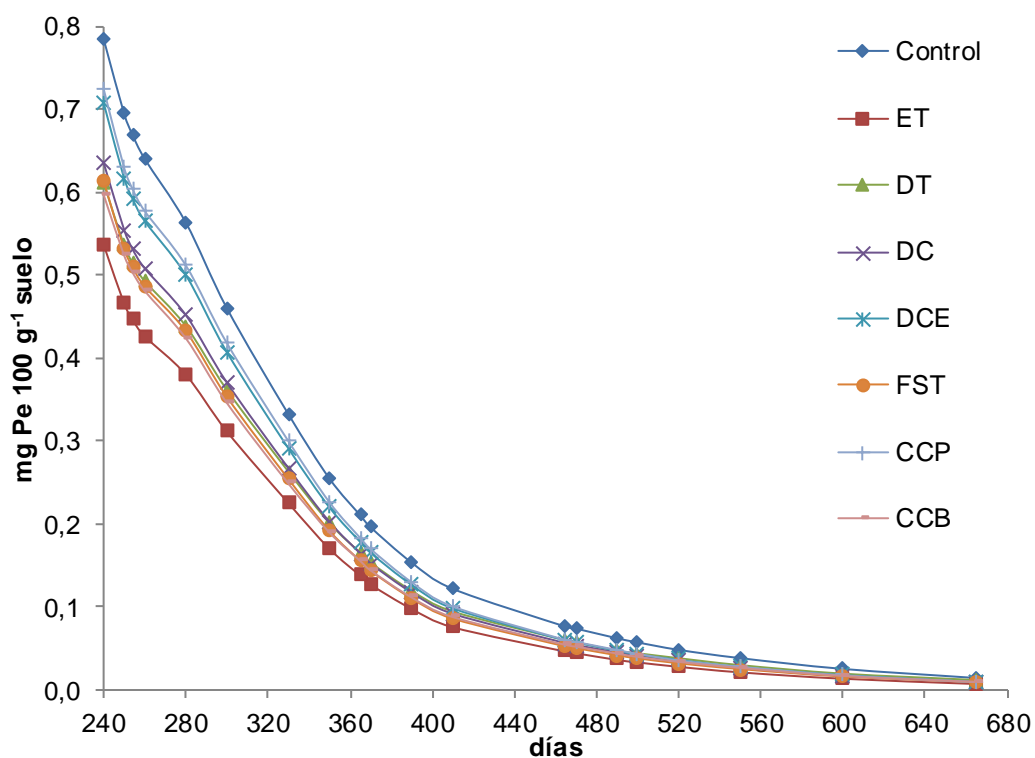
**Figura 5.12.** Dinámica de la relación Ni:Pe para cada tratamiento.

### 5.3.7 Sustancias húmicas

Ningún tratamiento presentó diferencias significativas para la relación E4:E6 de AH, mientras que los tratamientos DC, ET, FST, DCE y CCP presentaron un incremento significativo respecto al control para la relación E3:E5. Esto puede deberse a un aumento del C alifático en detrimento de estructuras aromáticas condensadas de mayor peso molecular. Sin embargo FST, DCE y CCP presentaron también un incremento significativo en la relación E2:E4, lo cual indicaría un mayor grado de aromaticidad. Es importante remarcar que además de correlacionarse las relaciones E4:E6 con E3:E5 ( $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,9$ ), también presentaron correlación positiva E4:E6 con E2:E4 ( $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,74$ ). El análisis del espectro (Figura 5.13) nos permite inferir que todos los tratamientos generaron una disminución en el contenido de especies aromáticas; aromáticas condensadas; aromáticas conjugadas con cromóforos electroattractores (C=C, C=O); aromáticas sustituidas con auxocromos electrodonadores (HO-, -HN-) y especies olefínicas altamente conjugadas.

Para los AF ningún tratamiento generó cambios en las relaciones E4:E6; E3:E5 y E2:E4 respecto al control.





\*ET: Efluente de tambo, DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol, FST: fracción sólida de tambo, CCP: compost de cebolla y estiércol de pollo y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.13.** Espectros UV-Visible de los AH a los 119 días de incubación.

Las zonas de absorción IR de los AH y AF coincidieron con las presentadas en el capítulo 4 (Tabla 4.5).

Los AH presentaron espectros muy similares entre sí (Figura 5.14). Sin embargo los diferentes tratamientos generaron variaciones respecto al control en algunos de los picos principales que se muestran en la tabla 5.5.

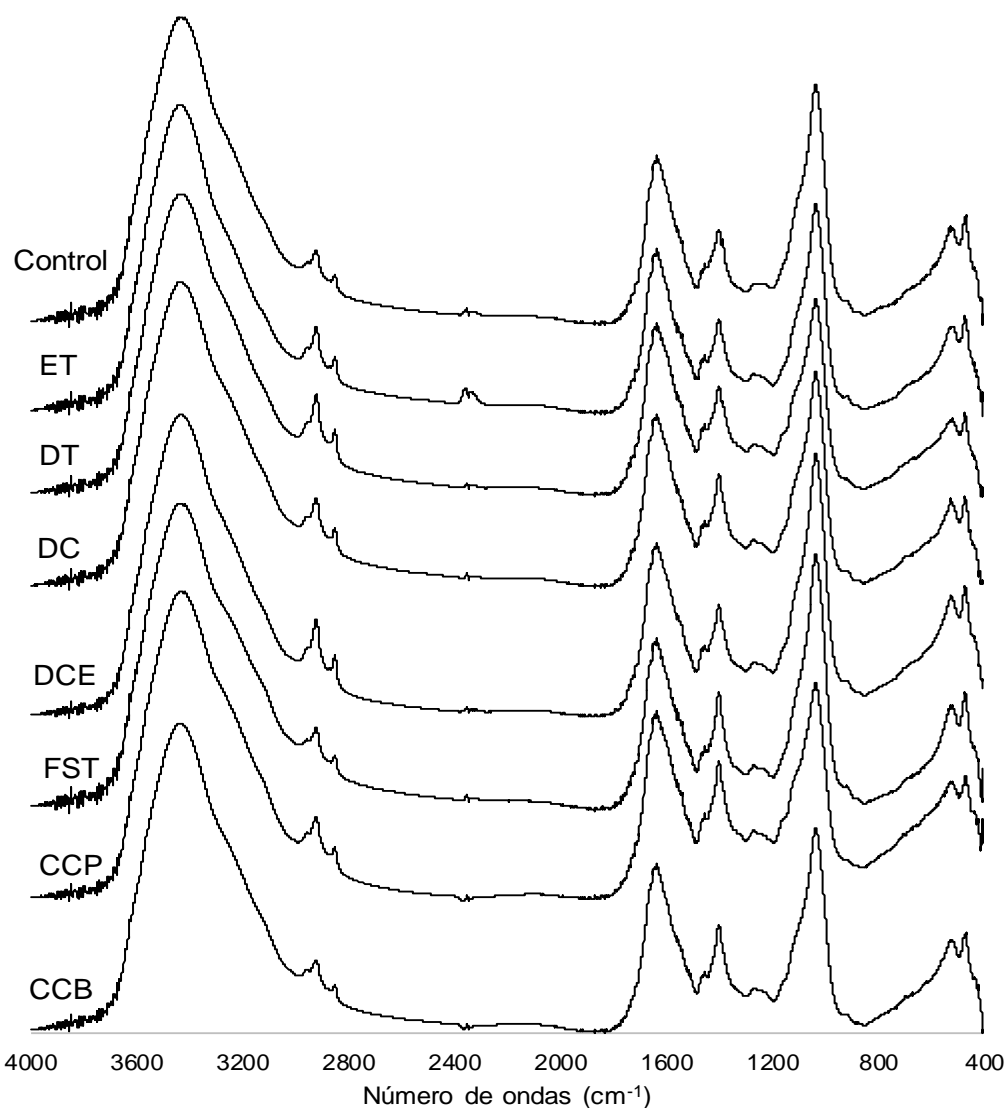
Los AF presentaron menos cambios que los AH variando solo en la banda  $1384\text{ cm}^{-1}$  (Figura 5.15). Todos los tratamientos generaron un incremento en esta banda posiblemente debido al aumento relativo de compuestos alifáticos.

Todos los cambios observados son de baja intensidad por lo que estos resultados no son concluyentes, pero marcan cierta tendencia que frente a aplicaciones sucesivas en estudios más prolongados podrían modificar sustancialmente la estructura de los AH y AF.

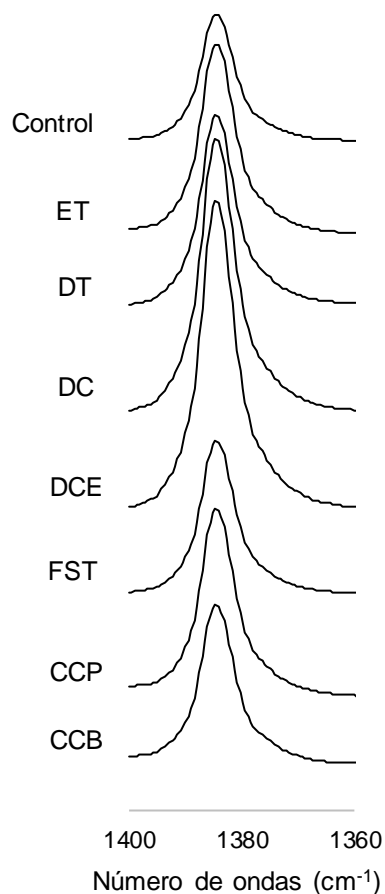
**Tabla 5.5.** Zonas de absorción IR, características de las bandas y variaciones para cada tratamiento respecto al control.

	AH	ET	DT	DC	DCE	FST	CCP	CCB
3430	ancha/intensa	-*	-	-	-	-	-	-
2920-2850	media	↑	↑	↑	↑↑	↑	-	-
1630	intensa	-	↑	-	↑	-	↑	-
1450	media	-	↑	↑	↑	-	↑↑	-
1400	media	-	↑	↑	↑	↑	↑↑	↑
1386	media	-	-	-	↑	-	↑↑	-
1260-1220	baja	-	↑	↑	↑	-	↑↑	-
1034	ancha/intensa	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↓
520	media	-	↓	↓	↑	-	↑	-
467	media	-	↓	↓	↑	-	↑	-

\*- sin cambios; ↓ disminución; ↑ incremento



**Figura 5.14.** Espectros IR de los ácidos húmicos (AH) a los 119 días de incubación.



**Figura 5.15.** Espectros IR de los ácidos fúlvicos (AF) a los 119 días en el rango  $1360\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ .

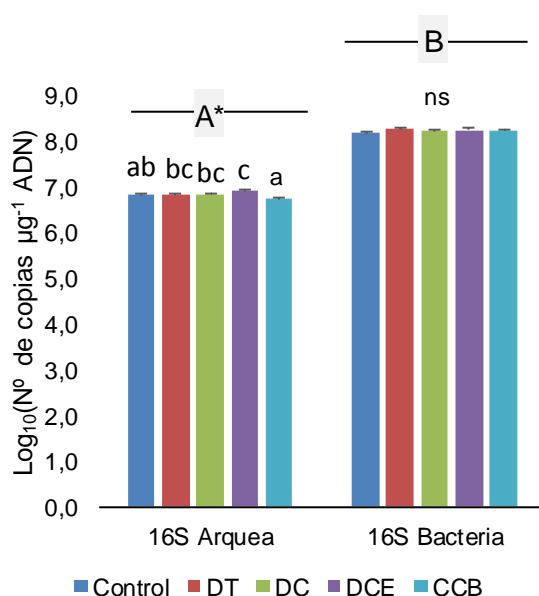
### 5.3.8 Estudio de las comunidades microbianas procariotas

#### 5.3.8.1 Abundancia de bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco y totales

El suelo presentó mayor abundancia de bacterias que arqueas (Figura 5.16), coincidiendo con lo observado por Bates *et al.* (2011) al estudiar por pirosecuenciación 146 suelos representativos de los distintos tipos de suelos y ecosistemas del mundo.

Los tratamientos no generaron cambios significativos en el número de copias 16S en bacterias, pero sí en arqueas como se puede observar en la Figura 5.16. Sólo DCE se diferenció estadísticamente del control, sin embargo DT y DC también mostraron una tendencia a aumentar la abundancia de arqueas. Estos cambios pueden ser consecuencia de la disminución en el pH que generaron estos tratamientos favoreciendo el desarrollo de arqueas (Schleper 2010; Tripathi, *et al.*, 2013). Tripathi *et al.* (2013) trabajando con suelos tropicales, demostraron que el pH fue el mejor indicador de los cambios en la diversidad y

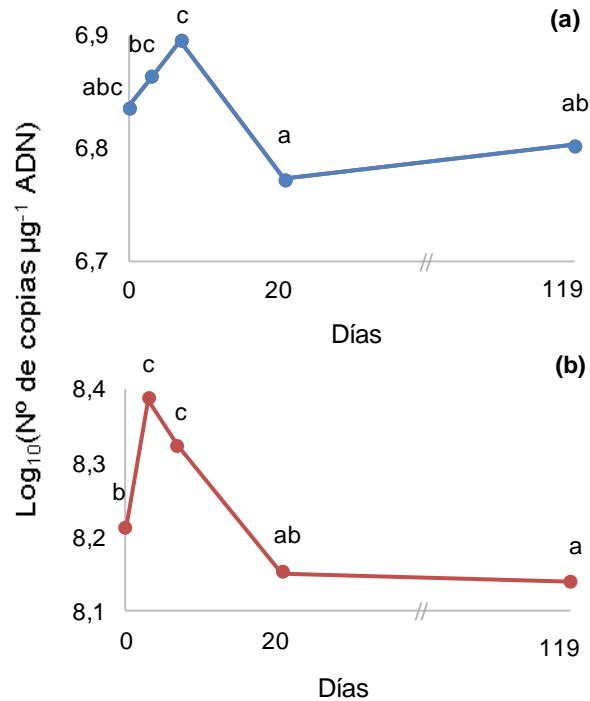
composición de la comunidad de arqueas evaluando cambios de uso del suelo. Para ambos grupos se observaron cambios significativos en la abundancia entre fechas (figura 5.17.a y b). Las bacterias presentaron una respuesta más rápida alcanzando la mayor abundancia a los 3 días, mientras las arqueas mostraron esta tendencia con un pico a los 7 días, sin diferencias estadísticas entre 0 y 7 días. Estos cambios coinciden con lo observado en la dinámica de N donde se observó una inmovilización marcada hasta el día 3 (probablemente debida al incremento en la abundancia de BT) que con menor intensidad se extendió hasta el día 7 (probablemente debida al incremento en la abundancia de AT). Al evaluar todo el período hubo una disminución en el número de BT, mientras que las AT no se diferenciaron entre el día 119 y 0.



\*Letras mayúsculas comparan grupos microbianos y letras minúsculas entre tratamientos.

DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

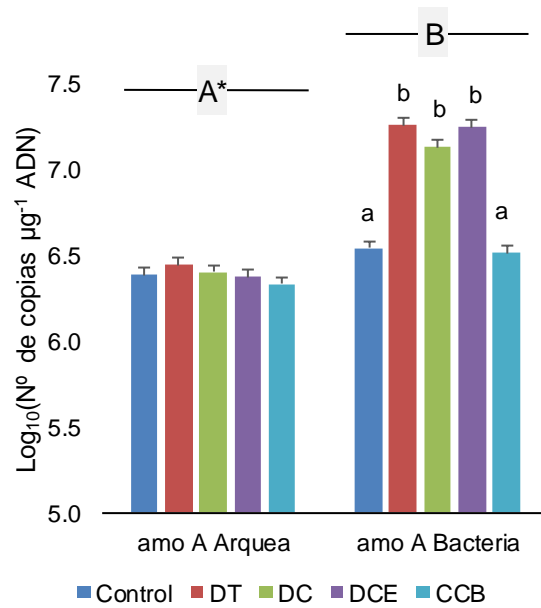
**Figura 5.16.** Comparación entre el número de copias del gen 16S de las comunidades procariotas.



\*Letras distintas indican diferencias entre fechas de muestreo ( $p < 0,05$ ).

**Figura 5.17.** Dinámica de las arqueas totales (AT) **(a)** y de las bacterias totales (BT) **(b)** a partir de los valores medios entre tratamientos.

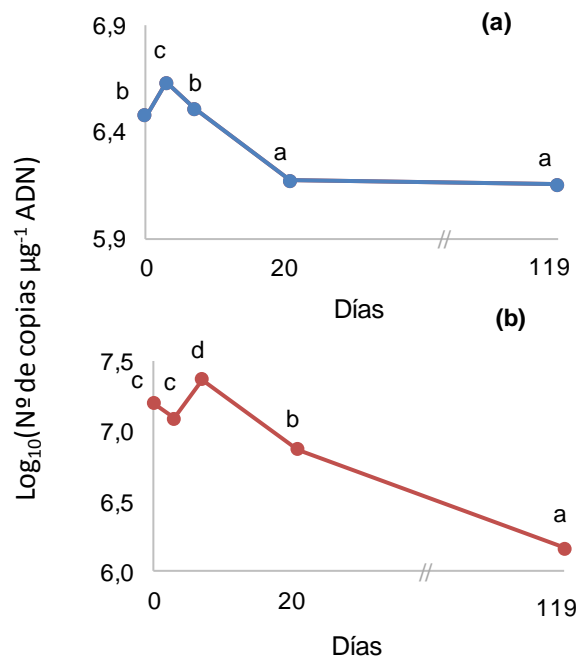
En concordancia con lo observado para el gen *16S ARNr*, también se observó mayor número de copias del gen *amoA* de bacterias que de arqueas, sin embargo, las diferencias fueron mucho menores encontrándose ambos grupos dentro del mismo orden de magnitud. Adicionalmente, los tratamientos solo generaron cambios en el número de copias del gen *amoA* de bacterias (Figura 5.18), pudiendo indicar que las BOA fueron funcionalmente más importantes que las AOA bajo las condiciones estudiadas. Estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores (Di *et al.*, 2009; Jia & Conrad, 2009; Zabaloy *et al.*, 2017), independientemente de que en algunos casos las AOA presentaran mayor abundancia (Zabaloy *et al.*, 2017). Martens-Habbena *et al.* (2009) evaluando el ciclo del N en el océano y Offre *et al.*, (2009) trabajando en microcosmos con suelo, reportaron mayor importancia de las AOA en la oxidación del amonio. Al comparar la abundancia de BOA respecto a los tratamientos se pudieron separar dos grupos bien definidos, por un lado el control y el CCB que no se diferenciaron entre sí, y por el otro los DA que mostraron un incremento significativo para este grupo. Para ambos genes se observaron diferencias significativas entre fechas (Figura 5.19. a y b). La mayor respuesta por parte de las BOA puede estar impulsada por dos factores principales, el pH del suelo (significativamente menor que CCB; Figura 5.9) (Schleper 2010; Tripathi *et al.*, 2013) y el elevado aporte de  $N-NH_4^+$  de los DA (Gurby-Rangin *et al.*, 2010).



\*Letras mayúsculas comparan grupos microbianos y letras minúsculas entre tratamientos. Letras distintas indican diferencias entre fechas de muestreo.

DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

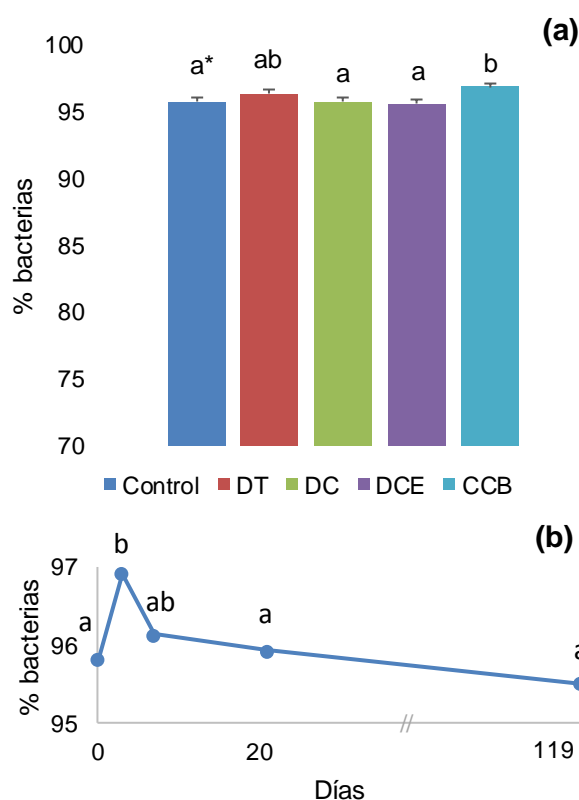
**Figura 5.18.** Comparación del número copias del gen *amoA* de arqueas y bacterias.



\*Letras distintas indican diferencias entre fechas de muestreo (p<0,05).

**Figura 5.19.** Dinámica de la abundancia de arqueas oxidadoras de amoníaco (AOA) (a) y de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) para los valores medios entre tratamientos.

Al analizar los cambios en la relación entre bacterias y procariontes totales (BT/ (BT+AT)), el anova doble no presentó interacción (tratamientos\*fecha) observándose diferencias significativas entre tratamientos y entre fechas. El tratamiento CCB presentó un incremento en la proporción de bacterias respecto al control, mientras que el resto de los tratamientos no se diferenciaron (Figura 5.20.a). La proporción de bacterias fue máxima a los 3 días y a partir de los 7 se restituyó la proporción inicial (Figura 5.20 b). Las bacterias representaron entre el 92,5 y 98,6% de las procariontes totales en el suelo estudiado, encontrándose dentro del rango propuesto por Bates *et al.* (2011).

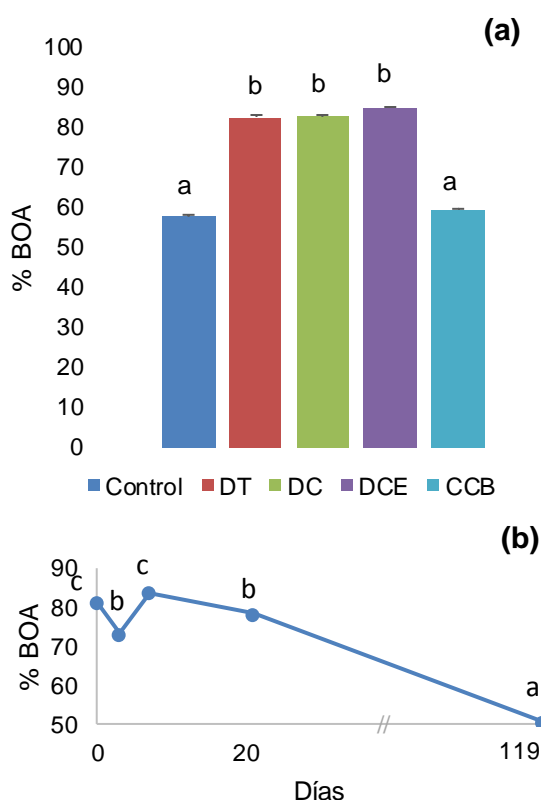


\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Figura 5.20.** Comparación de los valores medios del porcentaje de bacterias. **(a)** Comparación entre tratamientos a partir de las medias entre fechas y **(b)** comparación entre fechas a partir de las medias entre tratamientos.

El análisis del %BOA respecto al total de OA (BOA+AOA) tampoco presentó interacción fecha\*tratamiento. Los tratamientos con DA provocaron un marcado incremento en la proporción de BOA (Figura 5.21.a) y se observó una disminución del %BOA al finalizar la incubación (Figura 5.21.b), coincidiendo con lo observado en la abundancia de BOA, lo que sugiere un mayor protagonismo de este grupo en el proceso de nitrificación.

Al evaluar el %BOA respecto a las bacterias totales se observó interacción entre tratamiento y fecha. El CCB no presentó cambios respecto al control, mientras que los DA generaron un incremento en la proporción de nitrificadoras diferenciándose significativamente del control en las fechas 0, 7 y 21. DC y DCE también se diferenciaron en la fecha 119 (Tabla 5.6). En cambio el %AOA respecto a las arqueas totales no presentó interacción entre fecha y tratamiento, la máxima relación se alcanzó a los 3 días y luego disminuyó hasta el día 119, encontrándose diferencias significativas entre las fechas 0 y 119 en promedio para todos los tratamientos. El único tratamiento que se diferenció del control fue DCE, presentando una disminución en dicha proporción en promedio para todas las fechas.



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

DT: digerido de tambo, DC: digerido de cerdo, DCE: digerido de cebolla y estiércol y CCB: compost de cebolla y estiércol bovino.

**Figura 5.21.** Comparación de los valores medios del porcentaje de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) respecto de las oxidadoras de amoníaco totales (OA) (%BOA). (a) Comparación entre tratamientos a partir de las medias entre fechas y (b) comparación entre fechas a partir de las medias entre tratamientos.

Estos resultados sugieren que el menor desprendimiento de  $\text{CO}_2$  de los DA respecto al control no se explica por una disminución en la abundancia de bacterias y arqueas. Esto puede deberse a un aumento en la eficiencia de utilización del C o a cambios en la abundancia de hongos (no evaluados en esta tesis).



### 5.3.8.2 Relación entre los grupos OA y los niveles de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

Al evaluar las regresiones entre la abundancia de OA y los contenidos de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> se observó que estas mejoraban al separar los DA del control y el CCB, coincidiendo con lo observado al analizar la abundancia de BOA. En la tabla 5.7 se presentan los parámetros de ajuste de las regresiones seleccionadas en función de presentar un ajuste lineal significativo y elevado R<sup>2</sup>. A partir de estas se puede observar que las OA se relacionan positivamente con el contenido de amonio y negativamente con el contenido de nitrato. De la comparación de las pendientes (Tabla 5.8) se desprende que BOA presentó mayor respuesta (pendiente) que AOA respecto al contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Estos resultados permiten inferir que el incremento de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> es lo que estimula el incremento de las OA, mientras la presencia de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> lo reduce. Gubry-Rangin *et al.* (2010) encontraron también una correlación negativa entre el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y la abundancia de BOA, pero, en contraposición, encontraron una relación positiva entre el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y la abundancia de AOA. Estos autores no evaluaron la relación entre el contenido de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y los grupos mencionados.

**Tabla 5.6.** Porcentaje de bacterias oxidadoras de amoníaco (BOA) respecto a las oxidadoras de amoníaco totales (OA) (%BOA).

	Fechas de muestreo				
	0	3	7	21	119
<b>Control</b>	5,10 a*	4,03 ab	6,80 a	1,79 a	0,45 a
<b>DT</b>	31,85 c	8,81 b	37,17 d	11,06 b	1,51 ab
<b>DC</b>	17,19 b	7,31 ab	13,77 b	10,50 b	2,83 b
<b>DCE</b>	20,92 b	8,37 ab	26,34 c	11,04 b	1,88 b
<b>CCB</b>	4,00 a	3,29 ab	3,42 a	1,85 a	0,43 a

\*letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

Adicionalmente, y considerando que la presencia de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> estimula el incremento de OA y que en consecuencia se incrementa el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, se evaluó la correlación entre la abundancia de BOA en las fechas 3 y 7 respecto al contenido de nitratos de las fechas 7 y 21 (período con los mayores cambios). Se encontró una alta relación entre la abundancia de BOA respecto a los niveles de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de la fecha siguiente (R<sup>2</sup>=0,72; p=0,0021). Sin embargo, para profundizar en la comprensión de estos procesos se debería diseñar ensayos específicos.

**Tabla 5.7.** Regresiones lineales entre bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco (BOA y AOA) y las concentraciones de  $N-NH_4^+$  y  $N-NO_3^-$ .

Grupo	Variable vs Regresora	R <sup>2</sup>	p	pendiente
DA*	BOA vs $N-NH_4^+$	0,28	0,042	0,009
DA	BOA vs $N-NO_3^-$	0,56	<0,0001	-0,007
DA	AOA vs $N-NH_4^+$	0,54	0,0019	0,006
DA	AOA vs $N-NO_3^-$	0,75	<0,0001	-0,004
Control+CCB	BOA vs $N-NO_3^-$	0,86	<0,0001	-0,010
Control+CCB	AOA vs $N-NO_3^-$	0,69	0,003	-0,004

\*DA: digeridos anaeróbicos; CCB: compost de cebolla y estiércol bovino; BOA: bacterias oxidadoras de amoníaco; AOA: Arqueas oxidadoras de amoníaco.

**Tabla 5.8.** Pruebas "t" para la comparación de las pendientes (ANCOVA) de los ajustes lineales presentados en la Tabla 5.7.

DA BOA vs $N-NH_4^+$						
DA BOA vs $N-NO_3^-$	0,000					
DA AOA vs $N-NH_4^+$	0,374	0,000				
DA AOA vs $N-NO_3^-$	0,000	0,094	0,001			
C+CCB BOA vs $N-NO_3^-$	0,000	0,196	0,000	0,011		
C+CCB AOA vs $N-NO_3^-$	0,000	0,262	0,003	0,850	0,043	
	DA BOA vs $N-NH_4^+$	DA BOA vs $N-NO_3^-$	DA AOA vs $N-NH_4^+$	DA AOA vs $N-NO_3^-$	C+CCB BOA vs $N-NO_3^-$	C+CCB AOA vs $N-NO_3^-$

\*DA: digeridos anaeróbicos; CCB: compost de cebolla y estiércol bovino; BOA: bacterias oxidadoras de amoníaco; AOA: Arqueas oxidadoras de amoníaco.

## 5.4 Conclusión

Tanto la digestión anaeróbica como el compostaje generaron productos con mayor uniformidad que los materiales sin procesar y cada tratamiento le confirió características particulares a cada producto (digerido o compost).

Los digeridos anaeróbicos presentaron una gran proporción de N inorgánico y una alta relación N/P, mientras que los compost presentaron la situación inversa.

El suelo estudiado presentó mayor proporción de bacterias que de arqueas y mayor abundancia de BOA que de AOA, pero dentro del mismo orden de magnitud. El grupo de BOA presentó mayor protagonismo en el proceso de nitrificación independientemente de los distintos tratamientos aplicados.

Ningún tratamiento generó cambios en las sustancias húmicas en el período evaluado.

Desde el punto de vista agronómico sugerimos aplicar los compost con una antelación a la siembra o trasplante del cultivo de por lo menos 70 días y de 3 días presiembra de cultivos sensibles para el caso de los DA. Ambos materiales presentan gran complementariedad siendo una gran alternativa la aplicación en conjunto. El compost como fertilización de base y los DA como aporte de nutrientes disponibles, principalmente N, y la posibilidad adicional de fraccionarlo durante el transcurso del cultivo, siendo una alternativa para solucionar los problemas de sincronización entre la disponibilidad de nutrientes del suelo y la demanda del cultivo en agricultura orgánica o agroecológica.

## Capítulo 6

# Biochar y digerido: perspectivas para el reaprovechamiento de residuos bioenergéticos como fertilizantes

### 6.1 Introducción

El efecto producido por la incorporación de enmiendas al suelo no solo depende de su composición sino de las interacciones entre estos y la matriz suelo. Su textura, el tipo de arcillas, el pH, la CE y el contenido de MO, entre otros, determinaran el efecto sobre el sistema suelo-planta.

Los suelos de ambientes áridos y semiáridos se caracterizan por ser suelos poco evolucionados, con bajos contenidos de materia orgánica y generalmente de textura gruesa. La elevada aireación y la reducida capacidad de proteger la materia orgánica (en arcillas) junto a la alternancia de humedecimiento y secado, produce altas tasas de mineralización (Verbene *et al.*, 1990; Hassink, 1992) manteniendo niveles bajos de materia orgánica aún frente a eventuales incorporaciones de enmiendas. Las enmiendas incorporadas son rápidamente mineralizadas incorporándose un reducido porcentaje de estas a la materia orgánica estabilizada del suelo. A su vez, la alta susceptibilidad a la erosión hídrica y eólica produce que parte de esta materia orgánica se pierda. La falta de protección de la materia orgánica en suelos arenosos provocan que su fracción orgánica presente mayor relación C/N que en suelos arcillosos (Hassink, 1992). En contraposición los suelos de textura más fina generan protección física a la materia orgánica (Verbene *et al.*, 1990) tanto por las partículas de arcilla (Tisdall & Oades, 1982) como dentro de los microporos de agregados manteniéndola inaccesible al ataque microbiano (Elliot & Colleman, 1988). De la misma forma también el contenido de C y N de la biomasa microbiana tiene una correlación con la textura del suelo (Hassink, 1994).

Los “terra preta” como otros suelos enmendados con biochar presentan baja respiración (emisión de CO<sub>2</sub>) comparándolos con suelos adyacentes sin biochar (Liang *et al.*, 2008). Liang *et al.* (2010) observaron un 25% menos de respiración frente a la incorporación de una fuente

de carbono lábil (hojas de caña de azúcar) en suelos ricos en biochar al compararlos con suelos con bajos contenidos.

Los resultados sobre la mineralización de C en suelos enmendados con biochar son contradictorios. Algunos autores reportan “priming effect” negativos mientras que otros positivos, dependiendo del momento de aplicación, materia prima utilizada, tipo de pirolisis, tipo de suelo y condiciones climáticas entre otras (Mukome *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2016). Sin embargo, Zimmerman *et al.* (2011) trabajando bajo condiciones controladas con distintos tipos de biochar y de suelos, demostraron que la materia orgánica del suelo progresivamente se adsorbe en la superficie del biochar y en sus poros siendo protegida de la degradación y de esta forma el “priming effect” negativo se va acentuando con el tiempo.

La incorporación de biochar al suelo generalmente incrementa la retención de agua, la capacidad de intercambio catiónico independientemente del tipo de material y del tipo de pirolisis utilizado (Lehmann *et al.*, 2008), mejora la agregación y retención de nutrientes (Downie *et al.*, 2009; Atkinson *et al.*, 2010) y como el C aportado presenta gran estabilidad estos beneficios pueden durar cientos de años (Lal, 2008; Sohi *et al.*, 2010).

Es posible obtener beneficios del biochar sólo cuando el manejo de los residuos orgánicos, la producción de energía y el uso agronómico se consideran simultáneamente (Hussain *et al.*, 2016).

De la información generada en esta tesis sobre los digeridos anaeróbicos y de la información existente sobre las características de los biochar se presume que la utilización combinada, además del efecto aditivo de los beneficios de cada uno, mejoraría la dinámica de nutrientes, principalmente por la retención de  $N-NH_4^+$  (Ding *et al.*, 2010; Hale *et al.*, 2013).

En función de que no hay registros bibliográficos de la utilización combinada de biochar y digeridos anaeróbicos y que estos presentan características que podrían complementarse mejorando su performance individual sobre la dinámica de nutrientes se planteó el objetivo de evaluar la complementariedad de la utilización conjunta de biochar y digeridos a través de la mineralización del C, N y P para proponer una nueva tecnología de procesamiento y aplicación.

## **6.2 Materiales y métodos**

Se evaluó la composición del biochar y el digerido de cerdo, el efecto de su aplicación combinada, comparándola con los mismos en forma separada y un control sin enmendar, sobre la dinámica de C, N y P. Se relacionaron las características de los materiales con los cambios producidos en las respectivas dinámicas.

### 6.2.1 Suelo y enmiendas utilizadas

Para este capítulo se utilizó el suelo descrito en el capítulo 5 (Tabla 5.1). Las enmiendas utilizadas se describen en la Tabla 6.1.

**Tabla 6.1.** *Abonos utilizados en la incubación.*

Enmienda	Abreviatura	Procedencia
Biochar de quebracho blanco ( <i>Aspidosperma quebracho blanco</i> )	<b>Bio</b>	Pirólisis lenta en hornos tradicionales a baja temperatura (<500°C), Santiago del Estero.
Digerido anaeróbico de purín de cerdo	<b>DC</b>	Digestor tipo batch criadero de cerdos, Coronel Pringles.

Se aplicaron 4 tratamientos: 1) Suelo sin agregados (**Control**), 2) suelo + biochar (**Bio**), 3) suelo + digerido de cerdo (**DC**) y 4) suelo + 50% del NTK como biochar + 50% NTK como digerido de cerdo (**Bio+DC**). Los volúmenes de aplicación se nivelaron de acuerdo al contenido NTK de los materiales ajustando a una dosis de 6,5 mg NTK 100g<sup>-1</sup>.

### 6.2.2 Caracterización química y espectroscópica (UV-Vis e IR) de las enmiendas.

La caracterización química de las enmiendas se realizó de acuerdo a la descripción presentada en el punto 4.2.1 del capítulo 4. Adicionalmente se determinó el contenido de H (CHN 440 Analyzer) para realizar la relación atómica H/C (grado de saturación).

Sobre la muestra de DC se realizó el fraccionamiento físico por centrifugación descrito en el punto 2.2.2 del capítulo 2 (a 5000 rpm) y se realizó un barrido espectroscópico de esas muestras y sus sobrenadantes de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.4. De acuerdo al procedimiento descrito en el punto 2.2.5 del capítulo 2 se obtuvieron los espectros de todos los materiales y de los sobrenadantes y precipitados de DC.

### 6.2.3 Preparación de los microcosmos.

Los microcosmos se prepararon de acuerdo al procedimiento descrito en el punto 5.2.3. Se realizó una incubación no destructiva y otra destructiva, de acuerdo a las descripciones presentadas en los puntos 5.2.3 y 5.2.4 respectivamente. La dinámica del C (5.2.3) y del N (5.2.3.2.1) se evaluó según se describió en el capítulo anterior.

#### **6.2.4 Dinámica del P**

Para describir la dinámica del P se determinó en forma secuencial el contenido de P soluble en agua (Ps) (Olsen & Sommers, 1982) y de P extractable por el método Bray & Kurtz (Pe) (Kuo, 1996). Adicionalmente se determinó el contenido de P inorgánico (Pi) y orgánico (Porg) por diferencia de muestra calcinada y sin calcinar (Kuo, 1996; Suñer, 2007; Garay Schiebelbein, 2015). Se calculó el P inorgánico lábil (PI) como la suma del Ps y el Pe, el P inorgánico recalcitrante (Pir) como la diferencia entre el Pi y PI, y el P no lábil (Pnol) como la suma del Pir y el Porg. Se calcularon las relaciones Ps/Pe, Porg/Pir y PI/Pnol. No se consideró el P ocluido (P total – Porg – Pi) dada su baja disponibilidad y los períodos prolongados que requeriría su solubilización.

#### **6.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico**

Para la incubación no destructiva se utilizó un diseño completamente aleatorizado de parcelas divididas en el tiempo (factor fecha). La comparación de medias se realizó mediante el test DMS de Fischer.

Para la incubación destructiva se utilizó un diseño completamente aleatorizado de dos factores (Fecha y Tratamiento) con tres repeticiones. Los datos se analizaron mediante un anova doble y las comparaciones de medias se realizaron mediante DMS de Fischer.

En ambos casos se utilizó el software estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

### **6.3 Resultados y discusión**

#### **6.3.1 Caracterización química de las enmiendas**

Las características generales del DC (Tabla 6.2) coinciden con las descritas en el capítulo 5. El biochar presentó una menor relación H/C que el DC, indicando un menor grado de saturación (mayor aromaticidad; Tabla 6.2), con un valor similar al reportado por Jindo *et al.* (2014) para biochar de madera de roble (*Quercus serrate*) a baja temperatura (400°C) y los reportados por Milesi Delaye & Branco de Freitas Maia (2015) para madera de quebracho blanco a 350°C sin flujo de N<sub>2</sub> y a 550°C con flujo de N<sub>2</sub> (0,69 y 0,54 respectivamente). Fidel *et al.* (2017) encontraron una menor relación para biochar obtenido por pirolisis lenta de mezclas de maderas duras (0,44) y similar para biochar obtenido de rastrojo a 500 °C (0,52). Bruun *et al.* (2012) reportaron un valor inferior (0,36) para biochar obtenido de paja de trigo también por pirolisis lenta pero a mayor temperatura (525°C), y un valor superior para biochar obtenido por pirolisis rápida (0,89). En función del análisis bibliográfico, la relación que

presentó el biochar utilizado en este trabajo es alta, pudiendo indicar la presencia de una fracción lábil como consecuencia de la baja temperatura utilizada durante la pirolisis.

**Tabla 6.2.** Caracterización química de las enmiendas utilizadas.

		Bio		DC	
C		602,42		6,20	
H		25,67		0,86	
NTK	g kg <sup>-1</sup>	11,17	g L <sup>-1</sup>	3,10	
No		11,12		0,95	
NT		11,19		3,14	
<hr/>					
N-NH4		47,60		2148,30	
N-NO3		23,80		46,20	
Ni		71,40		2194,50	
P	mg Kg <sup>-1</sup>	643,00	mg L <sup>-1</sup>	110,60	
K		0,006		57,00	
Ca		0,032		9,00	
Mg		0,003		53,00	
<hr/>					
C/N		53,82		1,97	
C/No		54,16		6,55	
H/C*		0,51		1,66	
Ni/Nt		0,006		0,699	
N/P		17,41		28,40	
<hr/>					
ST	%	94,81	%	3,10	
SV	%	59,26	%	61,52	
pH		8,45		7,60	
CE	ds/m	2,04	ds/m	12,80	

\* relación atomica

### 6.3.2 Caracterización funcional de las enmiendas

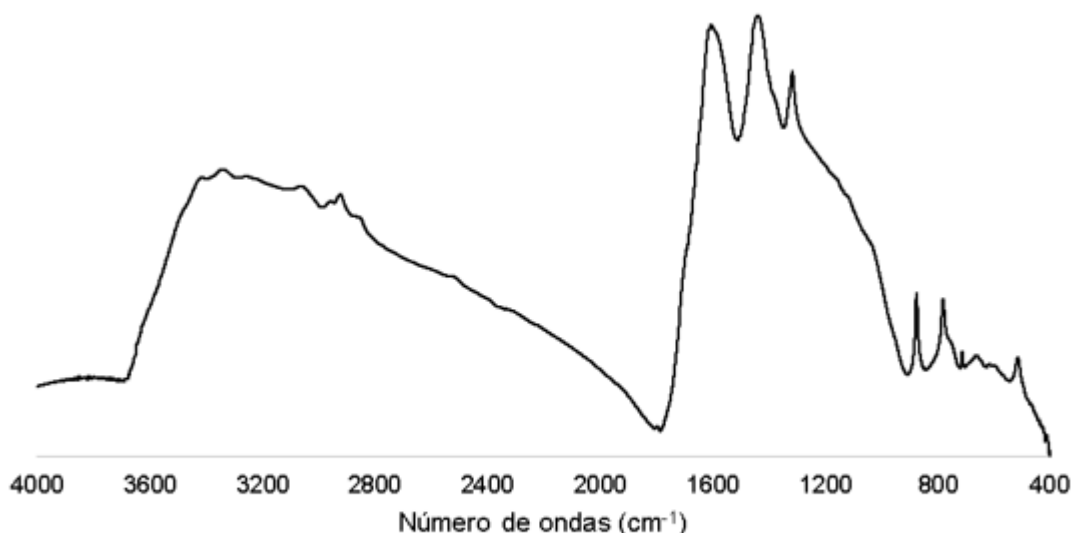
El espectro de DC coincide con el presentado en el capítulo 5 (zonas de absorción presentadas en la tabla 4.2, capítulo 4).

El espectro del biochar se diferencia claramente de los espectros analizados en el resto de esta tesis (Figura 6.1). Pese a que comparte algunas zonas de absorción ya descritas el espectro se describe en forma independiente ya que las bandas pueden asignarse con mayor especificidad. El estiramiento del enlace C-H de compuestos alifáticos se observa en las bandas 2920 y 2850 cm<sup>-1</sup>, el estiramiento del enlace C-H de compuestos aromáticos se observa en las bandas 3060 y 790-875 cm<sup>-1</sup> y los estiramientos de los enlaces C=C en las bandas 1600 y 1440 cm<sup>-1</sup>, el estiramiento del enlace C=O en las bandas en 1680 y 1428 cm<sup>-1</sup>



y el estiramiento del enlace O-H en la región 3200-3400  $\text{cm}^{-1}$ . Presentó gran similitud con el espectro de biochar de roble obtenido a 400°C descrito por Jindo et al. (2014).

Las bandas centradas en 1650 y 1428  $\text{cm}^{-1}$  pueden corresponder también al grupo COO- de ácidos carboxílicos y las bandas correspondientes a los compuestos nitrogenados minoritarios encontrarse solapadas en la región 1000-1300  $\text{cm}^{-1}$  (C-N; 1270-1220  $\text{cm}^{-1}$ ) y en 1600 y 850-700  $\text{cm}^{-1}$  (N-H).



**Figura 6.1.** Espectro IR del biochar (Bio).

### 6.3.3 Dinámica del C

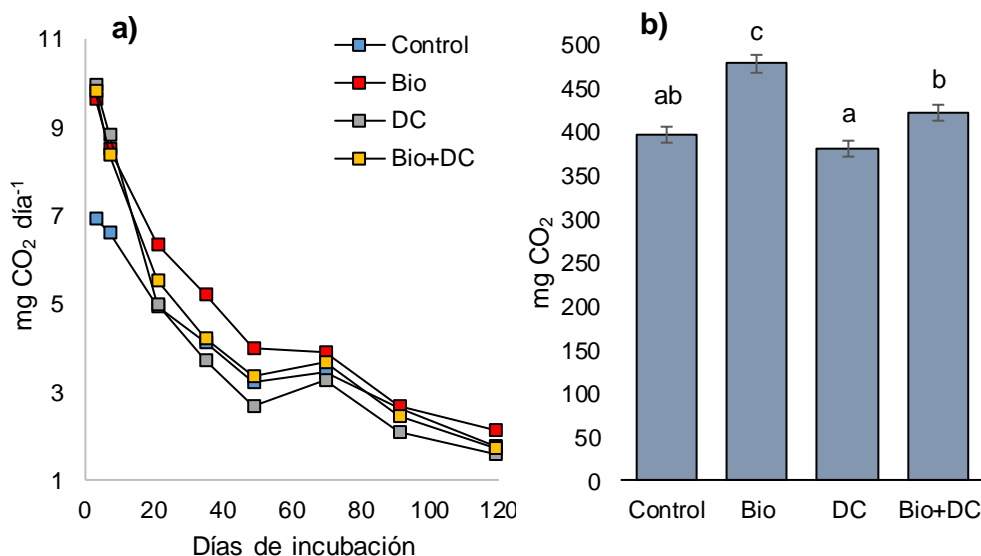
El análisis de la varianza de la tasa de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  presentó interacción fecha\*tratamiento ( $p < 0,001$ ). Para la comparación entre tratamientos se separó por fecha y para comparar entre fechas se particionó por tratamiento. Sin embargo todos los tratamientos presentaron el mayor valor a los 3 días y luego un decrecimiento hasta finalizar la incubación (119 días) (Figura 6.2.a), encontrándose diferencias significativas entre las fechas 3 y 119 ( $p < 0,05$ ) para todos los tratamientos.

En las fechas 3 y 7 Bio, DC y Bio+DC presentaron mayores tasas de desprendimiento de  $\text{CO}_2$  que el control ( $p < 0,05$ ) sin diferenciarse entre ellos ( $p > 0,05$ ). El DC presentó una tendencia a disminuir respecto al control diferenciándose estadísticamente en las fechas 35, 49 y 91 coincidiendo con lo observado en el capítulo 5; Bio+DC no se diferenció del control a partir de la fecha 21 y el Bio mantuvo mayores valores que el control durante todo el ensayo ( $p < 0,05$ ), sin llegar a diferencias estadísticamente en la fecha 91 ( $p > 0,05$ ).

La tasa de liberación de CO<sub>2</sub> en función del C aportado fue similar a la reportada por Bruun *et al.* (2012) al evaluar biochar de pirolisis rápida, posiblemente porque tanto la pirolisis lenta a baja temperatura como la pirolisis rápida dejan un mayor porcentaje de C lábil. En el mismo estudio, utilizando biochar de pirolisis lenta de paja de trigo, reportaron un menor valor, posiblemente debido a la utilización de una mayor temperatura de pirolisis (525°C) y a la distinta materia prima utilizada.

El efecto cebador observado en el Bio durante los primeros días de incubación, permite sugerir que las bandas 1650 y 1428 cm<sup>-1</sup> observadas en el espectro infrarrojo corresponderían a ácidos carboxílicos de bajo peso molecular, siendo responsables de esta respuesta respiratoria. Cayuela *et al.* (2013) y Liu *et al.* (2014) reportaron que el biochar contiene una pequeña fracción lábil que sirve de sustrato para la microbiota del suelo y genera un incremento en la emisión de CO<sub>2</sub> en el corto plazo. Sin embargo dada la gran estabilidad de la fracción de C recalcitrante este efecto disminuye al evaluarlo a largo plazo (Smith *et al.*, 2010; Castaldi *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2012).

Al analizar el desprendimiento de CO<sub>2</sub> acumulado durante los 119 días, el DC presentó una tendencia a disminuir sin diferenciarse estadísticamente del control pero si del Bio y Bio+DC. Bio+DC presentó una tendencia a aumentar sin llegar a diferenciarse del control y Bio presentó mayores valores que el resto de los tratamientos (Figura 6.2.b). Sin embargo, al excluir del análisis las fechas 3 y 7 influenciadas principalmente por los compuestos lábiles aportados, se observó el siguiente comportamiento DC<Control=Bio+DC<Bio (315,89; 350,21; 359,92 y 415,84 mg CO<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup> respectivamente), confirmando que dentro del período evaluado DC generó una disminución de la actividad basal del suelo y Bio produjo un incremento de la misma. Liu *et al.* (2016) y Song *et al.* (2016) reportaron a través de meta análisis que la aplicación de biochar incrementó las emisiones de CO<sub>2</sub> respecto a suelos sin enmendar. Wang *et al.* (2016) también a través de un meta análisis reportó un priming effect negativo (-3,8%) y pudo relacionar este comportamiento con el contenido de arcilla del suelo, el tipo de material usado, sistema de pirolisis y temperatura, pero también observaron que en el caso de suelos arenosos, como el de nuestro estudio, la aplicación de biochar produce un incremento de la mineralización pudiendo alcanzar hasta el 20%.



Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

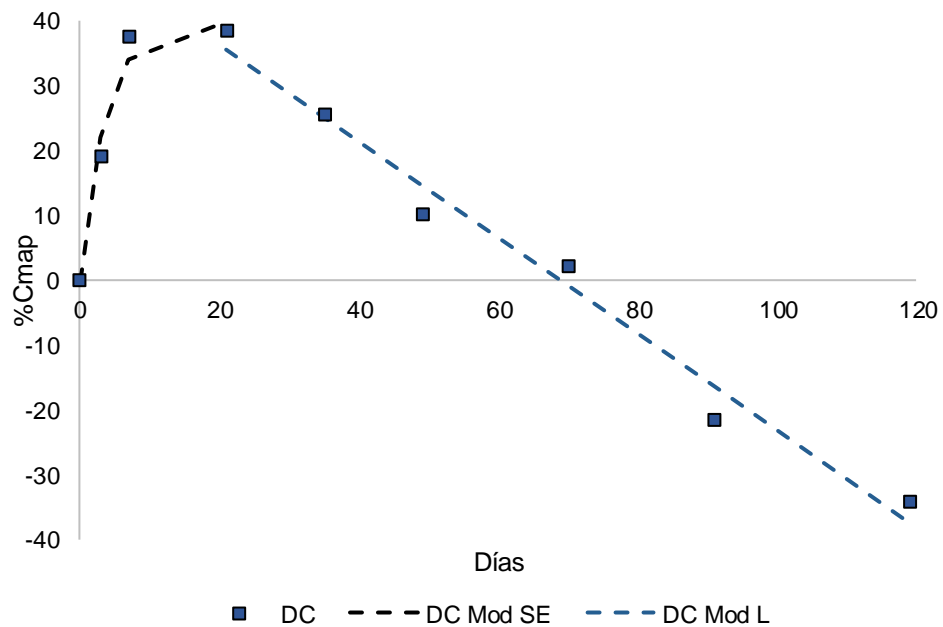
**Figura 6.2. (a) Tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub> (mg día<sup>-1</sup>); (b) Desprendimiento acumulado de CO<sub>2</sub>.**

Al analizar el Cma el DC presentó un comportamiento similar al observado en el capítulo 5, pero alcanzando la máxima mineralización a los 21 días (Figura 6.3) con un 38,5%. Al analizar la cinética de la mineralización aparente durante los primeros 21 días a través de un modelo simple exponencial se obtuvo un % de C potencialmente mineralizable (C<sub>0</sub>) de 40,22, un *k* de 0,2662 días<sup>-1</sup> correspondiente a una vida media de 2,6 días (Tabla 6.3). A partir de los 21 días la cinética pudo explicarse a través de un ajuste lineal (R<sup>2</sup>=0,98) con pendiente negativa. El Bio presentó 6,37 % de C<sub>0</sub> y un *k* 0,1221 días<sup>-1</sup> correspondiente a una vida media de 24,48 días (Figura 6.4). Este porcentaje es mayor que el reportado por Bruun et al. (2012) (2,9%) para pirolisis lenta y similar al reportado para pirolisis rápida, coincidiendo con lo observado en el análisis de la tasa de desprendimiento de CO<sub>2</sub>. La combinación de Bio con DC (Bio+DC) produjo una leve reducción del %C potencialmente mineralizable (C<sub>0</sub>=4,01) y una pronunciada reducción de la vida media (*k*=0,1221 días<sup>-1</sup>; tv<sub>m</sub>=5,68 días) permitiendo sugerir que el aporte de compuestos lábiles y N disponible por parte del DC incrementó la tasa de mineralización inicial logrando estabilizar el sistema en forma anticipada.

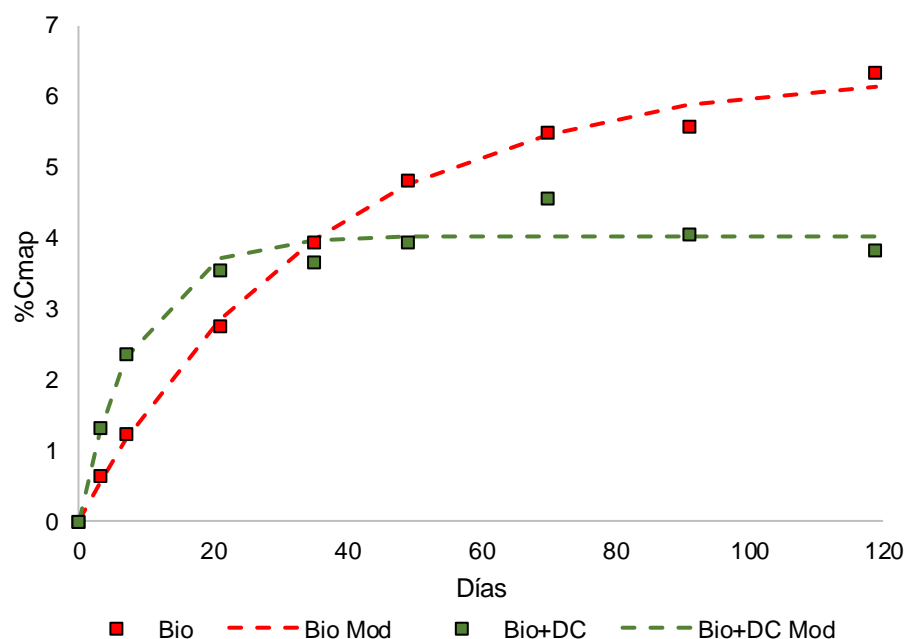
Wang *et al.* (2016) reportaron que en promedio para los biochar la fracción de C lábil representa el 3% y la fracción recalcitrante un 97% y a partir de un meta análisis de 13 estudios trabajando con <sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C estimaron que el tiempo de residencia en suelo (tiempo en ser degradado) de la fracción lábil es de 108 días y la fracción recalcitrante de 556 años.

**Tabla 6.3.** Parámetros de ajuste del modelo simple exponencial  $C_{ma} = C_0 * (1 - \exp(-k*x))$ .

	$C_0$	$k$	$t_{vm}$	$R^2$	p mod
Bio	$6,37 \pm 0,16$	$0,0279 \pm 0,0019$	24,84	0,996	<0,0001
Bio+DC	$4,01 \pm 0,12$	$0,1221 \pm 0,018$	5,68	0,970	<0,0001
DC	$40,22 \pm 3,56$	$0,2662 \pm 0,0723$	2,60	0,962	0,01



**Figura 6.3.** Porcentaje de carbono mineralizado ( $C_{map}$ ) del digerido de cerdo (DC) real, modelo simple exponencial (Mod SE) y modelo lineal (Mod L).



**Figura 6.4.** Porcentaje de carbono mineralizado ( $C_{map}$ ) del Biochar (Bio) y de la combinación de biochar y digerido de cerdo (Bio+DC) reales y modelados (Mod).

### 6.3.4 Dinámica del N

Los tratamientos presentaron diferentes dinámicas de  $N-NH_4^+$  y  $N-NO_3^-$  entre sí ( $p$  interacción  $< 0,0001$  y  $0,02$  para  $N-NH_4^+$  y  $N-NO_3^-$  respectivamente) (Figura 6.5).

El DC y Bio+DC presentaron la misma dinámica de  $N-NH_4^+$  ( $p$  interacción =  $0,4$ ), el valor máximo se observó en la fecha 0 con un marcado descenso en la fecha 3 ( $p < 0,05$ ) y manteniendo valores entre  $4$  y  $20 \text{ mg Kg}^{-1}$  hasta finalizar el ensayo. DC presentó un mayor nivel medio de  $N-NH_4^+$  ( $p < 0,05$ ; DC =  $18,44$  y Bio+DC =  $13,45 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). Bio y el control presentaron una dinámica similar ( $p$  interacción =  $0,49$ ) alcanzando el mayor valor en la fecha 35 ( $0 < 35 = 119$ ) sin diferenciarse estadísticamente entre ellos.

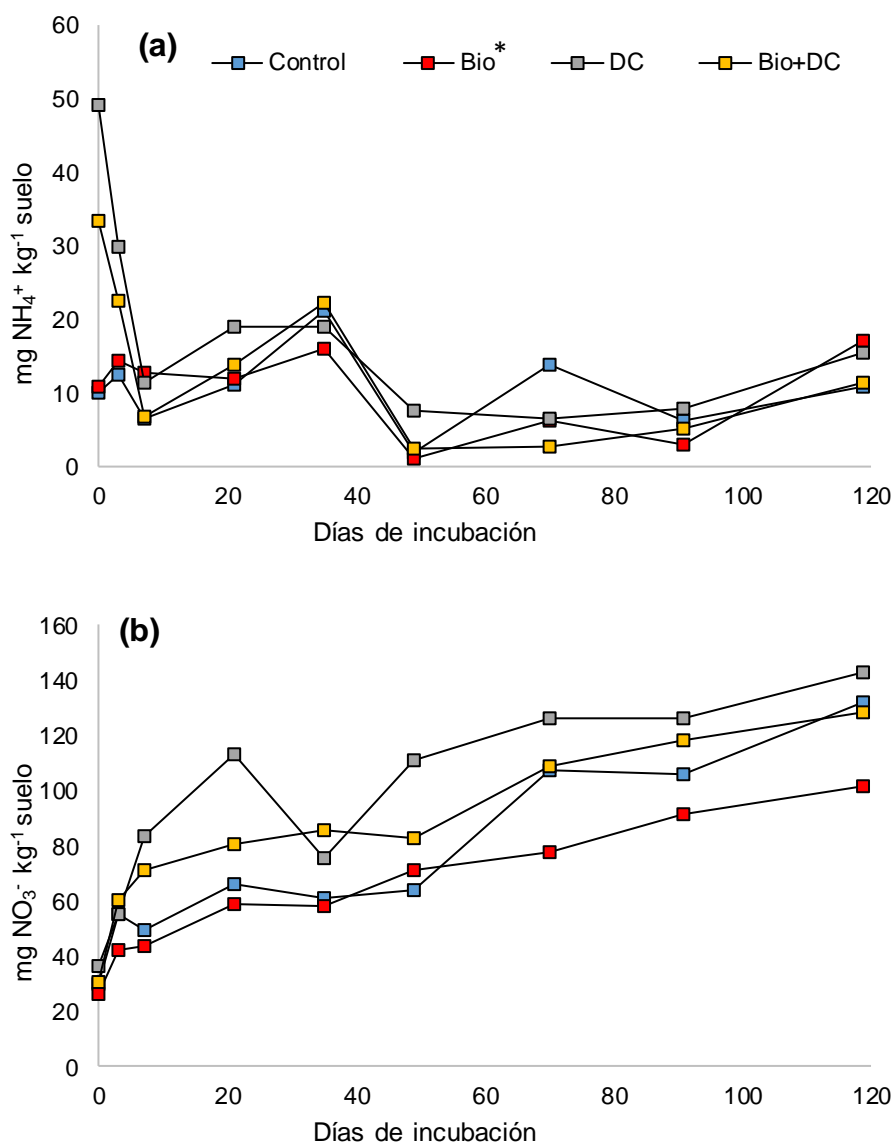
Al realizar la comparación de medias en cada fecha se observó que las diferencias entre los tratamientos se concentraron en las dos primeras fechas (0 y 3) como consecuencia del importante aporte de  $N-NH_4^+$  de DC y Bio+DC, y que a partir de la fecha 7 no se diferenciaron del control ( $p < 0,05$ ). Esto confirma la rápida nitrificación ( $NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$ ) en suelos manteniendo bajos niveles de  $N-NH_4^+$ , coincidiendo con lo reportado por Azeez & Van Averbeke (2010) al evaluar la aplicación al suelo de estiércoles crudos, indicando adicionalmente, que en este caso el biochar no incrementó los niveles de amonio según lo sugieren otros autores (Clough *et al.*, 2013)

El análisis de la relación entre el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  en cada fecha respecto a la fecha 0 para los tratamientos DC y Bio+DC no presentó interacción (fecha\*tratamiento) ni diferencias entre los valores medios de ambos tratamientos ( $p>0,05$ ; DC=0,30 y Bio+DC=0,33). Esto indicaría que la combinación del DC con biochar no aumentó la retención del  $\text{N-NH}_4^+$  aportado. Esto podría deberse a que la retención de  $\text{N-NH}_4^+$  por parte del biochar es consecuencia principalmente de la adsorción electrostática de los grupos funcionales cargados negativamente sobre la superficie (Cheng *et al.*, 2006; Hale *et al.*, 2013) y que los biochar frescos tienen bajo nivel de oxidación y en consecuencia posee una muy baja habilidad para absorber amonio (Yao *et al.*, 2012). Con el tiempo, la superficie del biochar es oxidada incrementando la capacidad de intercambio catiónico (Cheng *et al.*, 2008), hasta niveles similares a la materia orgánica del suelo (Liang *et al.*, 2006). Otra posibilidad es que la retención del  $\text{N-NH}_4^+$  por parte del biochar impida su lixiviado pero se mantiene biodisponible, es decir accesible para los microorganismos pudiendo ser nitrificado (Taghizadeh-Toosi *et al.*, 2011), o que la retención sea lo suficientemente fuerte como para no ser extraído durante la determinación de  $\text{N-NH}_4^+$  por Kjeldal. Seredych & Bandosz (2007) sugieren que la reacción de los grupos funcionales oxigenados del biochar con el  $\text{N-NH}_4^+$  en solución genera la formación de aminas y amidas. Los resultados respecto de los cambios en el contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  posaplicación de biochar y los procesos de adsorción y desorción son muy contradictorios e indican la falta de comprensión de los procesos involucrados (Wang *et al.*, 2015).

El DC y Bio+DC presentaron la misma dinámica de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $p$  interacción=0,23), el valor mínimo se observó en la fecha 0 ( $p<0,05$ ) y a partir de allí presentaron un incremento gradual hasta la fecha 119 donde alcanzaron el valor máximo ( $p<0,05$ ) (Figura 6.5.b). DC presentó mayores valores que Bio+DC ( $p<0,05$ ). Para ambos tratamientos, el pronunciado incremento entre las fechas 0 y 7 coincide con la disminución de  $\text{N-NH}_4^+$  de ese período permitiendo sugerir que es principalmente consecuencia del proceso de nitrificación.

Pese a que no comparten la misma dinámica el Control y Bio también presentaron un incremento gradual entre las fechas 0 y 119, presentando el menor valor en la fecha 0 y el mayor en la fecha 119 ( $p<0,05$ ). Bio mantuvo una tendencia a disminuir el nivel de  $\text{N-NO}_3^-$  respecto al control en todas las fechas alcanzando diferencias significativas en las fechas 3, 70, 91 y 119. Estos resultados coinciden con lo reportado por Fidel *et al.* (2017) quienes al evaluar el efecto de 6 tipos de biochar a partir de diferentes materiales lignocelulosicos a diferentes temperaturas en dos suelos contrastantes bajo condiciones controladas detectaron una disminución en la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$ , y Tammeorg *et al.* (2014) quienes observaron una disminución en el nivel de  $\text{N-NO}_3^-$  en suelos enmendados con biochar durante el primer año, sin embargo la producción de granos y los niveles de N en planta no se diferenciaron

respecto al control, trabajando bajo condiciones de campo. Hu *et al.* (2014) al evaluar suelos enmendados con paja de trigo y biochar de paja de trigo por pirolisis lenta en comparación a un suelo control 15 semanas posaplicación, observaron que el biochar no produjo cambios en los niveles de N y  $N-NH_4^+$ , pero si generó un incremento en los niveles de  $N-NO_3^-$ .

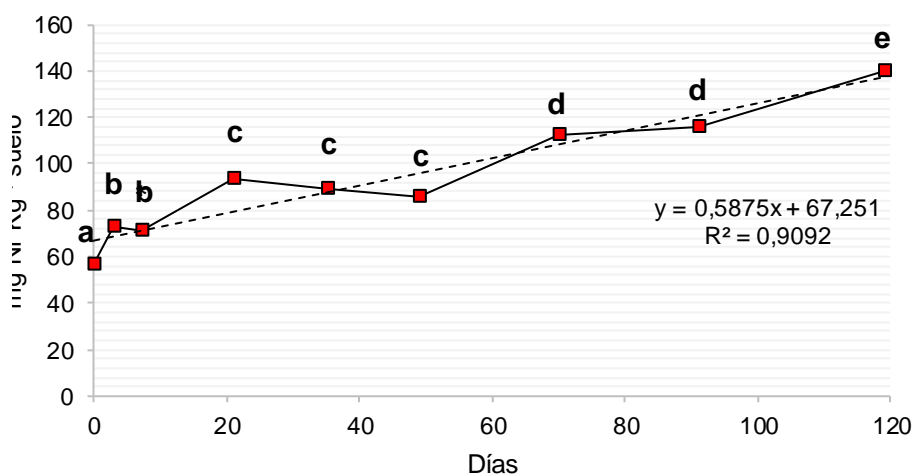


\*Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.5.** Dinámica de  $N-NH_4^+$  (a) y  $N-NO_3^-$  (b).

Para el caso de Ni el anova no presentó interacción fecha\*tratamiento ( $p$  interacción > 0,2) indicando que todos los tratamientos presentaron una dinámica similar. La comparación entre fecha se realizó a partir de los valores medios observando un claro incremento entre las fechas 0 y 119 presentando un excelente ajuste lineal ( $R^2=0,91$ ;  $p<0,0001$ ) (Figura 6.6). Al comparar las medias de los tratamientos se observó  $Bio < Control < Bio+DC < DC$  (Figura 6.7). Dada la

importancia agronómica de la variación temporal de disponibilidad de N también se compararon los tratamientos particionando el análisis por fecha, detectándose el caso particular del tratamiento Bio+DC que presentó mayores valores que el control en las primeras fechas (3, 7, 49) ( $p < 0,05$ ) y luego no se diferenció entre las fechas 70 y 119 ( $p > 0,05$ ), indicando que la disponibilidad inicial sería por el aporte de Ni por parte del DC y que luego parte de este N es inmovilizado.



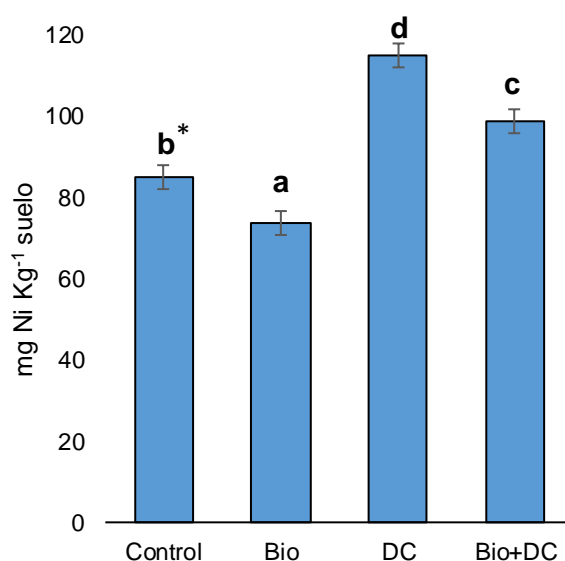
\*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Figura 6.6.** Dinámica del Ni a partir de los valores medios.

El Bio generó una disminución en el Ni respecto al control permitiendo sugerir que los compuestos lábiles degradados durante los primeros días son compuestos carbonados no nitrogenados coincidiendo con lo sugerido a través del análisis espectroscópico (presencia de ácidos carboxílicos) y de la mineralización de C; que el N aportado no sería biodisponible o no llegaría a compensar el inmovilizado en la degradación de los compuestos carbonados lábiles, y que el biochar podría generar protección sobre la materia orgánica del suelo disminuyendo su mineralización. Knicker (2010) sostiene que durante la pirolisis parte del nitrógeno se pierde asociado al carbono y parte queda retenido en la fracción recalcitrante como parte integral de su estructura, compartiendo su baja disponibilidad, coincidiendo con las observaciones de este trabajo. A través de NMR y materiales enriquecidos con  $^{15}\text{N}$  confirmaron la presencia de N de amidas (coincidiendo con la interpretación de los IR), sin embargo su contribución es muy baja y decrece con el aumento de la temperatura. Los resultados presentados por Bruun *et al.* (2012) para biochar de pirolisis lenta se contraponen a nuestros resultados (observaron un incremento en los niveles de nitrógeno disponible), y coinciden con el biochar de pirolisis rápida (menores valores de N disponible que el control), coincidiendo con lo observado en la dinámica del C.



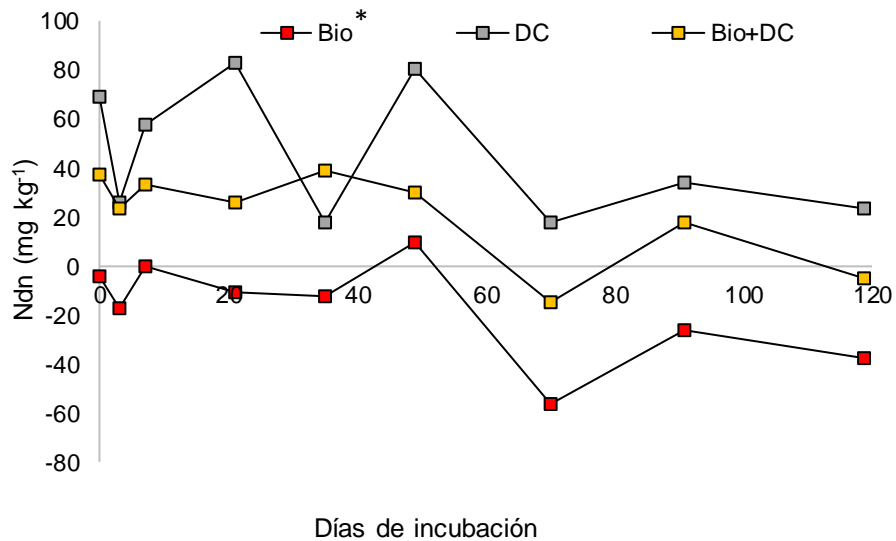
El DC aumentó la disponibilidad de Ni coincidiendo con lo observado en el capítulo 5.



\*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

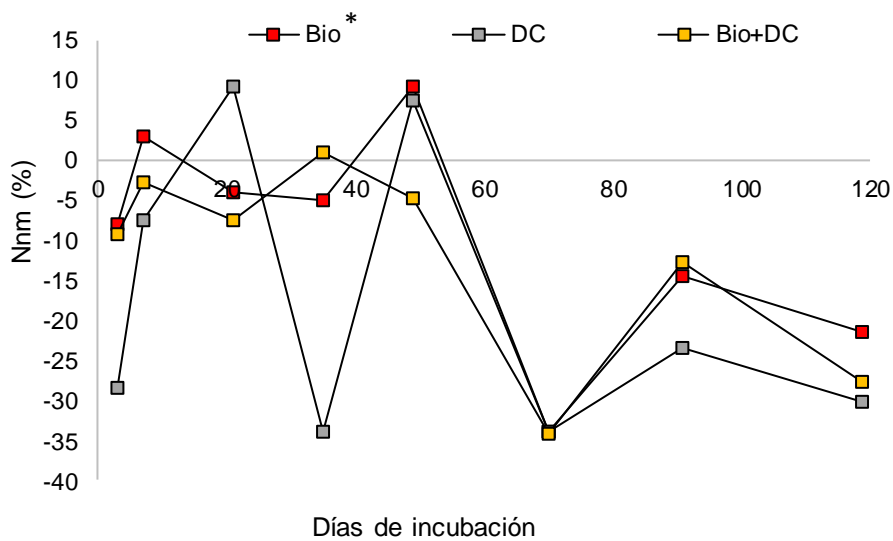
**Figura 6.7.** Disponibilidad promedio de nitrógeno.

El análisis de la dinámica de Ndn (Figura 6.8) muestra que el DC presentó valores positivos durante todo el ensayo, Bio+DC presentó una mayor disponibilidad inicial acercándose a 0 sobre el final del ensayo y el Bio presentó una inmovilización neta durante casi todo el período evaluado (Figura 6.8) coincidiendo con lo observado en la dinámica del Ni. El %Ndn medio fue de -17,2 (9,7; -56,4) para el Bio, 20,9 (-14 a 39,1) para el Bio+DC y 45,6 (17,8 a 69,3) para DC, este valor representa el porcentaje del N total aportado que está disponible. Al analizar el Nnm (Figura 6.9) se observó que los tres tratamientos presentaron inmovilización a partir del día 3 indicando una menor tasa de mineralización respecto al control. Como el aporte de NT es similar para los tres tratamientos (65,2; 65,6 y 66 para Bio, Bio+DC y DC respectivamente) la dinámica del %Nmin es similar a la presentada para Nnm. A los 119 días el Nnm es de -21,51; -27,66 y -30,19 para Bio, Bio+DC y DC respectivamente.



\*Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.8.** Dinámica del nitrógeno disponible neto (Ndn).



\*Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

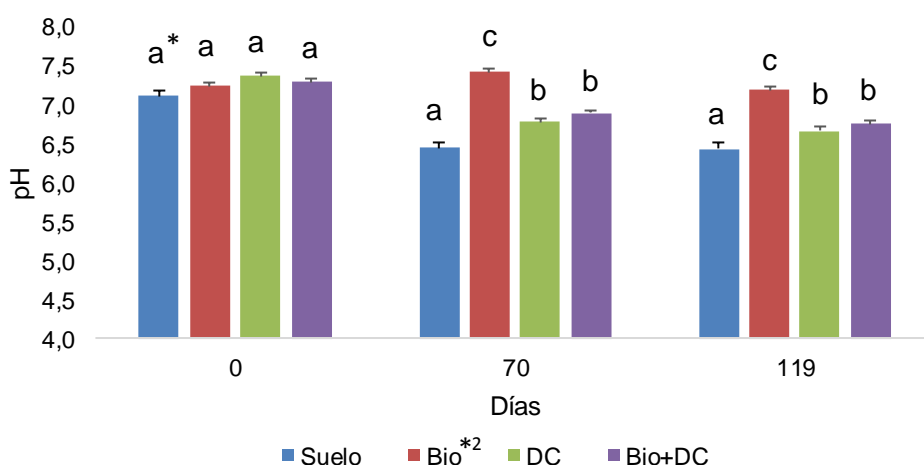
**Figura 6.9.** Dinámica del nitrógeno neto mineralizado (Nnm).

La inmovilización de N observada en Bio, posiblemente como consecuencia de la degradación de la fracción lábil, podría revertirse con el tiempo al incrementar la capacidad de intercambio catiónico, según lo demuestran otros estudios, como el ya citado de Tammeorg (2014), quienes observaron una disminución del  $N-NO_3^-$  respecto al control durante el primer año, pero luego en el segundo año observaron el efecto contrario, y el de Hu *et al.* (2014) que luego de 15 semanas observaron un incremento en los niveles de  $N-NO_3^-$ .

Liu *et al.* (2016) al analizar distintos estudios concluyen que la menor actividad microbiana es consecuencia de la deficiencia de nitrógeno que genera la elevada relación C/N de algunos biochar, sin embargo los resultados de este trabajo demostrarían que no se debe a esto, ya que la complementación con una fuente de nitrógeno como el DC no incrementó la actividad microbiana y mantuvo niveles medios de Ni superiores al control.

### 6.3.5 Dinámica del pH

En la fecha 0 ningún tratamiento se diferenció del control, sin embargo en las fechas 70 y 119 todos los tratamientos incrementaron el pH respecto al control pudiendo ordenarlos de la siguiente manera: Bio>Bio+DC=DC>Control (Figura 6.10).



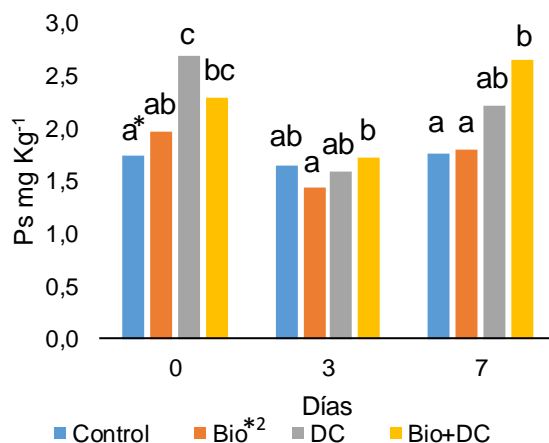
\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

\*2Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.10.** Comparación del pH entre tratamientos para las fechas 0, 70 y 119.

### 6.3.6 Dinámica del P

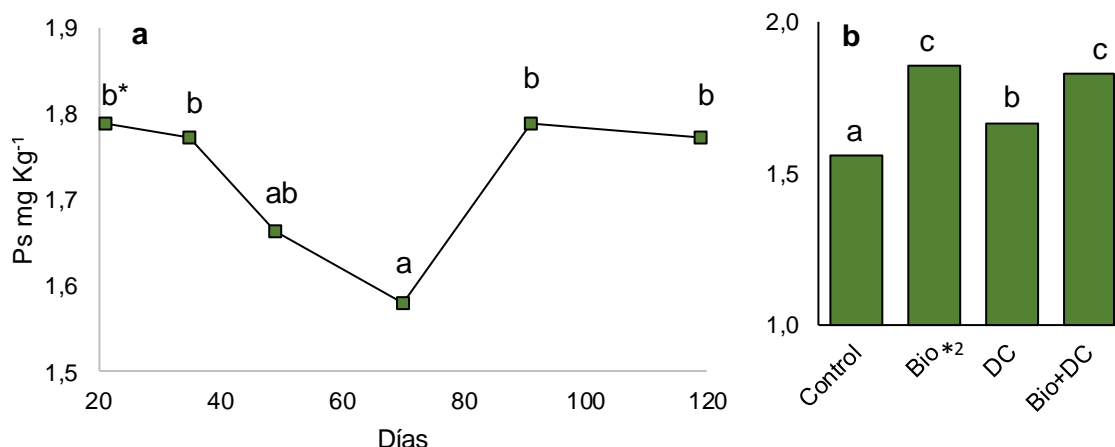
Los tratamientos presentaron distinta dinámica de Ps ( $p$  interacción  $< 0,001$ ), sin embargo se observó que la interacción se debe a los cambios producidos en las tres primeras fechas (0, 3 y 7) y a partir de la fecha 21 no presentan interacción ( $p$  interacción = 0,6), por lo que se particionó el análisis por fecha para las fechas 0, 3 y 7 (Figura 6.11) y luego las fechas entre el día 21 y 119 de analizaron en función de los valores medios (Figura 6.12).



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

\*2Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.11.** Dinámica del fósforo soluble en agua (Ps) durante los primeros 7 días.



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

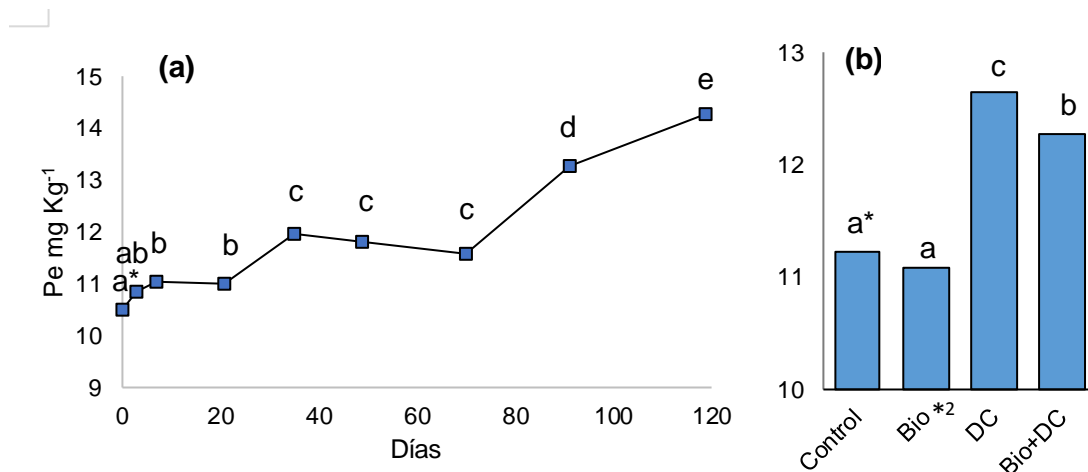
\*2Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.12. (a)** Dinámica del contenido medio de fósforo soluble en agua (Ps) en el período entre las fechas 21 y 119. **(b)** Valores medios del Ps por tratamiento en el mismo período.

Bio no se diferenció del control entre las fechas 0 y 7, DC generó un incremento en la fecha 0 y Bio+DC generó una tendencia a mayores valores en las tres fechas diferenciándose del control en las fechas 0 y 7. La combinación Bio+DC presentó mayores valores que Bio en las fechas 3 y 7 (Figura 6.11). A partir del día 21 todos los tratamientos presentaron una reducción hasta la fecha 70 ( $p < 0,05$ ) y luego un nuevo incremento sin diferenciarse estadísticamente

entre las fechas 21, 35, 49, 91 y 119 (Figura 6.12.a). Todos los tratamientos se diferenciaron del control para los valores medios entre fechas (Figura 6.12.b), ordenándose de la siguiente forma: Control<DC<Bio=Bio+DC. Estos resultados permiten sugerir que el biochar (solo y en combinación con DC) incrementó el contenido de Ps.

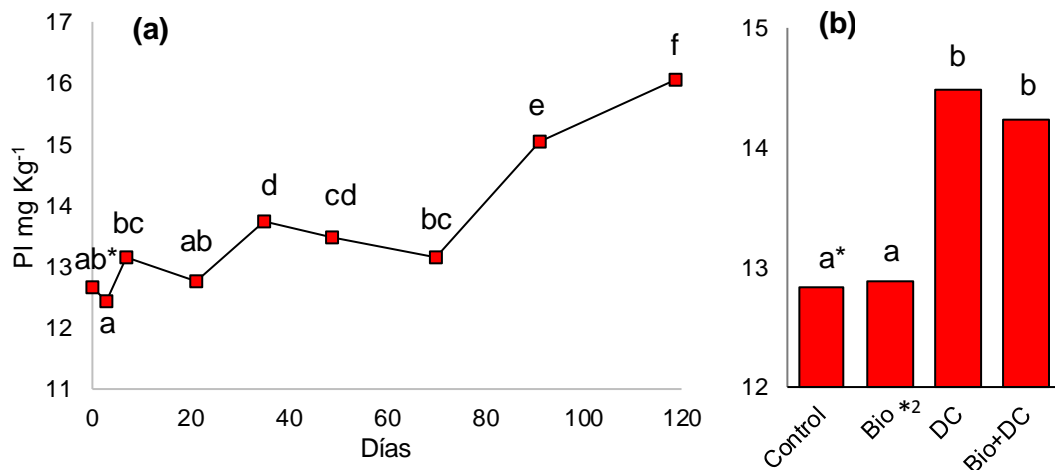
Para el Pe y el PI (Ps+PI) todos los tratamientos presentaron la misma dinámica, por lo que se compararon las medias entre tratamientos y entre fechas. Como se observa en las figuras 6.13.a y 6.14.a, Pe y PI presentaron un incremento en sus niveles entre la fecha 0 y 119 ( $p<0,05$ ). Estas dos variables presentaron una dinámica muy similar debido a que Pe es la fracción predominante del PI. Bio no se diferenció del control para ninguna de las dos variables, DC y Bio+DC presentaron mayores valores que el control y Bio y adicionalmente para Pe DC presentó mayores valores que Bio+DC (Figuras 6.13.b y 6.14.b). Trabajando en condiciones de campo Ongutunde *et al.* (2004) reportaron un importante incremento en el contenido de P disponible al incorporar Biochar en suelos de Ghana.



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ).

\*<sup>2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.13. (a) Dinámica del fósforo extractable (Pe) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios entre fechas para cada tratamiento.**

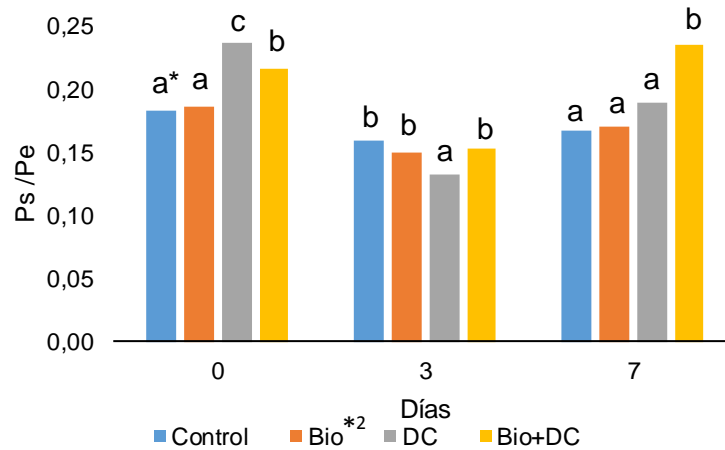


\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

<sup>\*2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.14. (a)** Dinámica del fósforo lábil (PI) a partir de las medias entre tratamientos. **(b)** Valores medios de PI entre fechas para cada tratamiento.

Al analizar la relación Ps/Pe se observó un comportamiento similar al de Ps, por lo que se analizaron particionando por fechas en el período 0-7 (Figura 6.15) y a partir de los valores medios entre tratamientos y entre fechas en el período 21-119 (Figura 6.16). El DC presentó el mayor valor en la fecha 0 como consecuencia del Ps aportado por el DC, y luego no se diferenció del control durante el resto de la incubación, permitiendo sugerir que este es rápidamente inmovilizado biológica y físicamente. Bio no se diferenció del control en las tres primeras fechas, sin embargo, en el período entre las fechas 21 y 119 mostró un claro incremento alcanzando el mayor valor medio (Figura 6.16.b), posiblemente como consecuencia de poder retener parte del P mineralizado en forma soluble. Al combinarlos (Bio+DC) se observó un incremento inicial respecto al control diferenciándose estadísticamente en las fechas 0 y 7 como consecuencia del Ps aportado por el DC, y mantuvo un mayor valor medio que el control en el período entre las fechas 21 y 119. Sin embargo, posiblemente debido al menor contenido de biochar (50% respecto al tratamiento Bio) presentó una menor proporción Ps/Pe que el Bio.

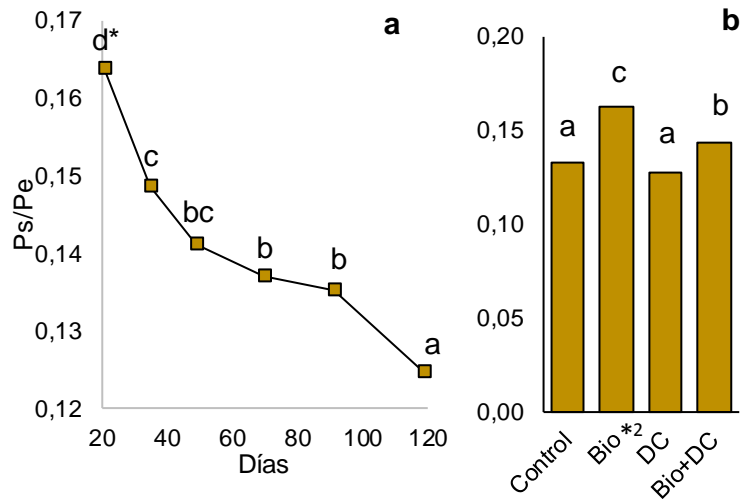


\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

\*<sup>2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.15.** Dinámica de la relación entre fósforo soluble en agua (Ps) y fósforo extractable (Pe) durante los primeros 7 días.

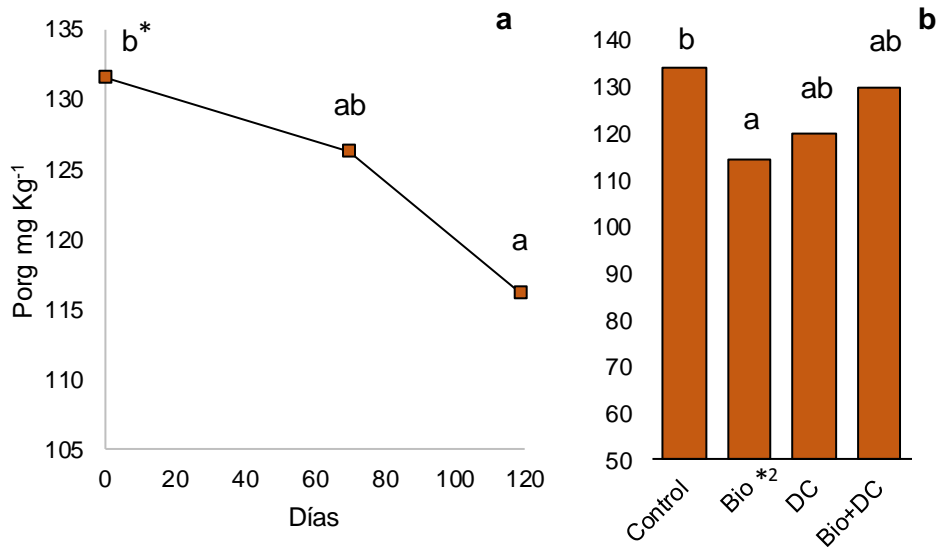
Al analizar la dinámica del P<sub>sol</sub> el anova no presentó interacción ( $p$  interacción=0,31) y no hubo diferencias entre fechas ni entre tratamientos. Para P<sub>org</sub> y P<sub>ir</sub> todos los tratamientos presentaron la misma dinámica ( $p$  interacción=0,24 y 0,55 respectivamente), por lo que las comparaciones se realizaron a partir de los valores medios. El P<sub>org</sub> presentó una disminución entre la fecha 0 y 119 ( $p < 0,05$ ) (Figura 6.17.a) y Bio presentó un menor valor medio que el control ( $p < 0,05$ ) (Figura 6.17.b). En contraposición, el P<sub>ir</sub> presentó un incremento entre la fecha 0 y 119 ( $p < 0,05$ ) (Figura 6.18.a) y Bio presentó un mayor valor que el control ( $p < 0,05$ ) (Figura 6.18.b). Estos resultados indicarían que al avanzar la incubación parte del P<sub>org</sub> es mineralizado y parte de este es inmovilizado en compuestos inorgánicos posiblemente de Ca (Suñer & Galantini, 2013).



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

<sup>2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.16. (a)** Dinámica de las relaciones medias entre el fósforo soluble en agua (Ps) y el fósforo extractable (Pe) (Ps/Pe) en el período entre las fechas 21 y 119. **(b)** Valores medios de Ps/Pe por tratamiento en el mismo período.

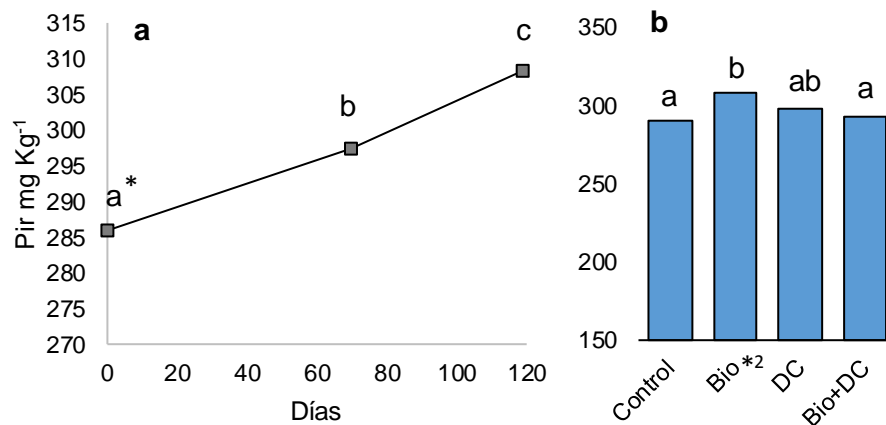


\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

<sup>2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.17. (a)** Dinámica del fósforo orgánico (Porg) a partir de las medias entre tratamientos. **(b)** Valores medios de Porg entre fechas para cada tratamiento.





\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

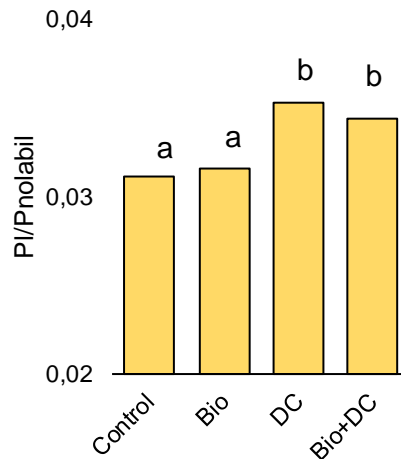
\*<sup>2</sup>Bio: biochar; DC: digerido de purín de cerdo; Bio+DC: combinación de biochar y digerido de purín de cerdo.

**Figura 6.18. (a) Dinámica del fósforo inorgánico recalitrante (Pir) a partir de las medias entre tratamientos. (b) Valores medios de Pir entre fechas para cada tratamiento.**

Al analizar la relación Porg/Pir se confirmó lo observado en los análisis de Porg y Ps, observándose una disminución en dicha relación entre las fechas 0 y 119 ( $p < 0,05$ ) y que Bio presentó menor relación que el control ( $p < 0,05$ ). A partir de estos resultados habría que investigar el mecanismo de inmovilización y si este está directamente vinculado al biochar (ej: Bio-Ca-P). Bio+DC y DC no se diferenciaron del control, pero Bio+DC presentó un mayor valor que Bio permitiendo proponer que la combinación de biochar con DC mejora el comportamiento respecto al Bio manteniendo una mayor proporción de Porg.

Finalmente la relación Pl/Pnol presentó un incremento entre la fecha 0 y 119 y los tratamientos se ordenaron de la siguiente forma: Control=Bio<Bio+DC=DC, demostrando que los tratamientos Bio+DC y DC incrementaron la fracción lábil (Ps + Pe) respecto a la no lábil (Porg + Pir) (Figura 6.19).

Angst y Sohi (2013) reportaron que durante la pirolisis el P no se pierde, sino que es mineralizado térmicamente permaneciendo en forma inorgánica asociado a las partículas de biochar y solo una parte es solubilizada rápidamente. Esto explicaría el incremento observado en Ps para Bio. El no incremento en el Pe, junto con el incremento en el Pir permite sugerir que parte del P estaría fuertemente asociado a la estructura del biochar pero no formando parte estructural de la matriz orgánica en concordancia con lo reportado por Angst & Sohi (2013).



\*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Figura 6.19.** Medias entre fechas para la relación entre P lábil ( $P_s + P_e$ ) y P no lábil ( $P_{org} + P_{ir}$ ).

## 6.4 Conclusión

El biochar y el digerido de cerdo presentaron una gran complementariedad, siendo el primero una importante fuente de C estable pero con un bajo contenido de N no biodisponible y el segundo una fuente de N principalmente inorgánico con un aporte vestigial de C.

La aplicación combinada generó mejoras en el desempeño respecto a los materiales solos y al control. La combinación incrementó la tasa de mineralización inicial del biochar reduciendo el tiempo de vida media y adelantando la estabilización, redujo el porcentaje de mineralización de C, incrementó la disponibilidad promedio de N, sin incrementar la retención de amonio. Por otro lado incrementó el P lábil, mantuvo los valores de  $P_{ir}$  y  $P_{org}$  y mejoró la relación  $PI/P_{nol}$ .

La información generada permite sugerir que para la aplicación combinada o el desarrollo de un fertilizante que los incluya, debe considerarse el nivel de N del digerido y el C del biochar. Adicionalmente hay que mejorar la comprensión de los procesos vinculados con la adsorción y desorción de nutrientes y compuestos orgánicos en función de las características de los biochar.

## Capítulo 7

# Conclusiones, recomendaciones y perspectivas.

### 7.1 Conclusiones generales

Los estudios realizados en esta tesis permitieron evaluar en forma integral el efecto de diferentes residuos orgánicos y sus productos transformados sobre los ciclos del C, N y P, las sustancias húmicas, la actividad biológica, las comunidades procariotas del suelo y el desarrollo vegetal posaplicación en suelos semiáridos del sudoeste bonaerense.

La metodología desarrollada para caracterizar en forma cualitativa la composición funcional de las distintas enmiendas resultó acorde para la correcta descripción de los materiales pudiendo relacionarse con la caracterización química, los cambios observados en el suelo posaplicación y el desarrollo vegetal. Esta metodología se obtuvo sin recurrir a tratamientos fisicoquímicos previos complejos, relacionando sus grupos funcionales presentes y las interacciones entre solubilidad, peso molecular y complejidad estructural, por medio de la separación por centrifugación y las espectroscopias IR (infrarrojo medio) y UV-Visible. A partir del análisis de los espectros infrarrojos se propusieron nuevas relaciones de absorbancia que presentaron excelentes ajustes lineales con la relación C/N complementando las asignaciones de los diferentes picos de absorbancia.

Otro aporte en relación a las técnicas empleadas fue el análisis del desarrollo vegetal a través del área de cobertura, resultando una alternativa rápida, no destructiva y menos laboriosa que las metodologías tradicionales.

La integración de los estudios realizados permitió establecer que tanto la digestión anaeróbica como el compostaje generaron productos con mayor uniformidad que los materiales sin procesar y que cada tratamiento le confirió características particulares a cada producto (digerido o compost) confirmado por la complementariedad de las técnicas espectroscópicas y las determinaciones químicas básicas realizadas comúnmente.

Adicionalmente, los efectos producidos al ser aplicados al suelo permitieron agrupar a los materiales de acuerdo al tratamiento utilizado para su obtención. Las características principales de las dinámicas de los nutrientes evaluados indican que el comportamiento general es consecuencia del proceso que recibieron los materiales y las diferencias en

magnitud corresponden a los niveles de nutrientes de los mismos y sus relaciones. En consecuencia, para los suelos estudiados, el comportamiento luego de la aplicación de digeridos o compost al suelo, podría ser estimado conociendo los contenidos de C, N (NTK, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y P de estos materiales. Para el caso particular de los digeridos el rendimiento vegetal se relacionó directamente con el nivel de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Los digeridos anaeróbicos incluyen una fracción de C lábil, compuesta principalmente por ácidos orgánicos de cadena corta, y otra de C recalcitrante, conformada por el material lignificado no degradado y polifenoles condensados, sin compuestos de labilidad intermedia, como se observó en la caracterización química y espectroscópica y se confirmó a través de la activación de la microbiota edáfica y de la dinámica de mineralización de C en los ensayos realizados. La mineralización negativa observada no fue consecuencia de una reducción en la abundancia de las comunidades procariontas, sugiriendo que podría deberse a cambios en el pool de C y/o en la abundancia de hongos que no fue evaluada. Adicionalmente, los digeridos presentaron una gran proporción de N inorgánico y una alta relación N/P, mientras que los compost presentaron la situación inversa. El N inorgánico (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) asociado a una fracción de C lábil en los digeridos, produjo una rápida inmovilización microbiana manteniendo una fracción del N como parte del pool orgánico fácilmente degradable.

Los residuos que presentaron mayor proporción de compuestos lignificados, como el aserrín de la cama de pollo y la paja de cereal incluida en el estiércol de feed lot, generaron digeridos con mayor proporción de materia orgánica remanente, indicando menor eficiencia en la producción de biogás, presentando a su vez mayor relación C/N y menor Ni/N y en consecuencia menor capacidad fertilizante. En estos casos la incorporación de otros residuos con mayor proporción de carbohidratos fermentables, como los residuos de cebolla (codigestión), mejoró la eficiencia del proceso anaeróbico, redujo la MO remanente, la relación C/N e incrementó la relación Ni/N mejorando su capacidad fertilizante.

El biochar y el digerido de cerdo presentaron una gran complementariedad, el primero como fuente de C estable y el segundo como fuente de N y otros nutrientes disponibles. La aplicación combinada adelantó la estabilización del biochar, incrementó la disponibilidad promedio de N y la relación P lábil/ P no lábil.

En relación al problema ambiental de las emisiones de CO<sub>2</sub>, en este trabajo se observó que los residuos sin procesar generaron importantes emisiones de CO<sub>2</sub> posaplicación, los compost produjeron menores emisiones que los materiales sin procesar pero mayores que el suelo sin enmiendas, mientras que los digeridos anaeróbicos generaron una reducción respecto a los materiales originales y en muchos casos respecto al suelo sin enmendar. Las menores emisiones de los digeridos podrían estar asociadas a un cambio en el pool de

carbono como consecuencia del aporte de C recalcitrante y de la reducción del C lábil posaplicación.

## **7.2 Recomendaciones y perspectivas**

Los digeridos anaeróbicos presentan la ventaja, al compararlos con los fertilizantes químicos, que junto al N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> aportan una fracción de C lábil que genera una rápida inmovilización microbiana reduciendo las pérdidas potenciales por lixiviado o volatilización, y el N inmovilizado en forma de biomasa microbiana constituye parte del pool orgánico fácilmente degradable.

Si consideramos el ciclo completo de los materiales procesados, se acentúan las ventajas de los digeridos respecto a la emisión de gases de efecto invernadero, ya que la mayor parte del C liberado durante la degradación anaeróbica es CH<sub>4</sub>, y este es reutilizado como biogás reduciendo el consumo de combustibles fósiles, mientras que, durante el proceso de compostaje el C se libera como CO<sub>2</sub> directamente a la atmósfera.

La gran desventaja de los digeridos anaeróbicos es que presentan una baja proporción de nutrientes (gran proporción de agua), debiendo aplicar grandes volúmenes que encarecen la aplicación y hacen inviable su transporte desde el punto de vista económico. En consecuencia debe utilizarse en la misma explotación donde es generado o sometido a algún otro proceso adicional para reducir su volumen. Confirmada la complementariedad que presentan con el biochar, una alternativa es desarrollar tecnologías para combinarlos en un producto que facilite el transporte y la aplicación. Esto permitiría incorporar nutrientes fácilmente disponibles pero acompañados de una fuente de C estable tan necesaria en la zona semiárida. Actualmente trabajamos en colaboración con la Dra. Ivana Cotabarrén del PLAPIQUI en la granulación de digeridos sobre partículas de biochar. En este sentido es fundamental explorar la capacidad de distintos biochar para retener amonio y su efecto sobre la dinámica de las comunidades procariotas, principalmente de los grupos nitrificadores y desnitrificadores.

Los resultados obtenidos del análisis integrado de los componentes del suelo, permiten sugerir que desde el punto de vista agronómico es conveniente aplicar los compost con una antelación a la siembra o trasplante del cultivo de aproximadamente 70 días y de 3 días presiembra de cultivos sensibles para el caso de los digeridos anaeróbicos. Ambos materiales presentan gran complementariedad siendo una gran alternativa su aplicación en conjunto. El compost como fertilización de base y los digeridos anaeróbicos como aporte de nutrientes disponibles, principalmente N, y la posibilidad adicional de fraccionarlo durante el transcurso del cultivo, constituye una alternativa para solucionar los problemas de sincronización entre la

disponibilidad de nutrientes del suelo y la demanda del cultivo en agricultura orgánica o agroecológica.

No se recomienda la aplicación de la fracción sólida de tambo sin procesar ya que genera una marcada inmovilización de N y un aumento en la actividad biológica pudiendo reducir la concentración de oxígeno del suelo y en consecuencia, producir mayores emisiones de metano.

A partir de los datos aportados por esta tesis y la información bibliográfica consultada podemos considerar la complementariedad de las diferentes enmiendas y la importancia de desarrollar un área específica dedicada a la nutrición vegetal orgánica. Sin embargo es necesario superar la lucha de lo sintético vs lo orgánico. Todos los que trabajamos sobre estos materiales, independientemente de nuestra postura ideológica, sabemos que las enmiendas orgánicas presentan mucha variabilidad y que no existe ningún material perfectamente balanceado. En este sentido debemos explotar al máximo las fuentes orgánicas, aprovechar su complementariedad y finalmente compensar los desbalances con fuentes sintéticas considerando su dinámica en el ambiente para minimizar las pérdidas y los problemas de contaminación asociados, logrando una nutrición “racional” de los cultivos.

# Bibliografía

- Abbasi M K, Hina M, Khaliq A, Razaq Khan. 2007. Mineralization of three organic manures used as nitrogen source in a soil incubated under laboratory condition. *Commun Soil Sci Plan* 38: 1691-1711.
- Abdullahi Y A, Akunna J C, White N A, Hallett P D, Wheatley R. 2008. Investigating the effects of anaerobic and aerobic posttreatment on quality and stability of organic fraction of municipal solid waste as soil amendment. *Bioresour Technol* 99: 8631- 8636.
- Abubaker J, Cederlund H, Arthurson V, Pell M. 2013. Bacterial community structure and microbial activity in different soils amended with biogas residues and cattle slurry. *App Soil Eco* 72: 171-180.
- Achat D L, Bakker MR, Zeller B, Pellerin S, Bienaime S, Morel C. 2010. Long-term organic phosphorus mineralization in Spodosols under forests and its relation to carbon and nitrogen mineralization. *Soil Bio Biochem* 42: 1479-1490.
- Ahmad R, Jilani G, Arshad M, Zahir Z A, Khalid A. 2007. Bio-conversion of organic wastes for their recycling in agriculture: An overview of perspectives and prospects. *Ann Microbiol* 57: 471-479.
- Al Marzooqi F, Yousef L F. 2017. Biological response of a sandy soil treated with biochar derived from a halophyte (*Salicornia bigelovii*). *App Soil Ecol* 114: 9-15.
- Albrecht R, Petit J L, Terrom G, Périssol C. 2011. Comparison between UV spectroscopy and NIR to assess humification process during sewage sludge and green wastes co-composting. *Bioresour Technol* 102: 4495–4500.
- Albuquerque J A, De la Fuente C, Bernal M P. 2012. Chemical properties of anaerobic digestates affecting the dynamics of amended soils. *Agr Ecosyst Environ* 160: 15-22.
- Álvarez Solís J D, Díaz Pérez E, León Martínez N S, Guillén Velásquez J. 2010. Enmiendas orgánicas y actividad metabólica del suelo en el rendimiento de maíz. *Terra Latinoam* 28: 239-245.
- Amir S, Hafidi M, Bailly J R, Revel J C. 2003. Characterization of humic acids extracted from sewage sludge during composting and their Sephadex® gel fraction. *Agronomie* 23: 269-275.
- Amlinger F, Götz B, Dreher P, Geszti J, Weissteiner C. 2003. Nitrogen in biowaste and yard waste compost: dynamics of mobilisation and availability- a review. *Eur J Soil Biol* 39: 107-116.
- Anderson, J. 1982. Soil respiration. En: Page A L, Millar R H, Keeney D R (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. Pag. 831-871.

- Andruschkewitsch M, Wanchendorf C, Wanchendorf M. 2013. Effects of digestates from different biogas production systems on above and belowground grass growth and the nitrogen status of plant-soil-system. *Grassl Sci* 59: 183-195.
- Angst T E, Sohi S P. 2013. Establishing release dynamics for plant nutrients from biochar. *GCB Bioenergy* 5: 221-226.
- APHA. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Arbon I M. 2002. Worldwide use of biomass in power generation and combined heat and power schemes. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part A: Journal of Power and Energy* 216: 41–57.
- Aruani M C, Gili P, Fernández L, González Junyent R, Reeb P, Sánchez E. 2008. Utilización del Nitrógeno en diferentes manejos de fertilización en lechuga (*Lactuca sativa* L.) y su efecto sobre algunas variables biológicas del suelo, Neuquén. Argentina. *AGRO SUR* 36 (3): 147-157.
- Atkinson C F, Fitzgerald J D. y Hipps, N.A. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant Soil* 337:1-18.
- Azeez J O, Van Averbeke W. 2010. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on sandy clay loam soil. *Bioresour Technol* 101: 5645-5651.
- Azim K, Soudi B, Boukhari S, Perissol C, Roussos S & Thami Alami I. 2017. Composting parameters and compost quality: a literature review. *Org Agr* 8(2):141-158.
- Bates S T, Berg-Lyons D, Caporaso J G, Walters W A, Knight R, Fierer N. 2011. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil. *The ISME Journal* 5: 908–917.
- Beffa T, Blanc M, Lyon P F, Vogt G, Marchiani M, Fischer J L, Aragno M. 1996a. Isolation of *Thermus* Strains from Hot Composts (60 to 80 degrees C). *Appl Environ Microbiol* 62:1723–1727.
- Beffa T, Blanc M, Aragno M. 1996b. Obligately and facultatively autotrophic, sulfur- and hydrogen-oxidizing thermophilic bacteria isolated from hot composts. *Arch Microbiol* 165: 34–40.
- Benítez V, Mollá E, Martín-Cabrejas M, Aguilera Y, López-Andréu F, Cools K, Terry L, Esteban R. 2011. Characterization of industrial onion wastes (*Allium cepa* L.): Dietary fibre and bioactive compounds. *Plant Foods Hum Nutr* 66: 48-57.
- Bernal M, Roig A. 1993. Nitrogen transformations in calcareous soils amended with pig slurry under aerobic incubation. *J Agric Sc* 120: 89-97.
- Bernal M P, Albuquerque J A, Moral R. 2009. Composting of Animal Manures and Chemical Criteria for Compost Maturity Assessment. A Review. *Bioresour Technol* 100: 5444-5453.



- Bouzo C A, Favaro J C. 2002. Curva de crecimiento adimensional en lechuga para el fraccionamiento de la fertilización nitrogenada. *Agron Trop* 52: 187-196.
- Brady N C, Weil R R. 2002. *The Nature and properties of Soils*. 13er Ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Bray R H, Kurtz LT. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorous in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Bremner J M. 1996. Total nitrogen. En: Sparks D L (Ed), *Methods of Soil Analysis*. Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series Nº 5, Madison, (pag. 1085-1121).
- Bridgeman T G, Jones J M, Shield I, Williams P T. 2008. Torrefaction of reed canary grass, wheat straw and willow to enhance solid fuel qualities and combustion properties. *Fuel* 87: 844–856.
- Brown T R, Wright M M, Brown R C. 2011. Estimating profitability of two biochar production scenarios: slow pyrolysis vs fast pyrolysis. *Biofpr J*, 5: 54–68.
- Brüchert V. 1996. Degradation of lignin monomers and oligomers by a consortium of anaerobic bacteria. *Microbial Diversity*. Marine Biological Laboratory. The University of Chicago. [http://www.mbl.edu/microbialdiversity/files/2012/08/1996\\_bruchert.pdf](http://www.mbl.edu/microbialdiversity/files/2012/08/1996_bruchert.pdf)
- Bruun E W, Ambus P, Egsgaard H, Hauggaard-Nielsen H. 2012. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics. *Soil Biol Biochem* 46: 73-79.
- Büneman E K. 2015. Assesment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus – A Review. *Soil Biol Biochem*, 89: 82-98.
- Cabello P, Roldán D, Moreno-Vivián C. 2004. Nitrate reduction and the nitrogen cycle in archaea. *Microbiology* 150: 3527-3546.
- Calderon F J, McCarty G W, Reeves J B III. 2006. Pyrolysis-MS and FT-IR analysis of fresh and decomposed dairy manure. *J Anal Appl Pyrolysis* 76: 14–23.
- Cambardella C A, Richard T L, Russell A E. 2003. Compost mineralization in soil as a function of composting process conditions. *Eur J Soil Biol* 39: 117-127.
- Campitelli P, Ceppi S. 2008. Chemical, physical and biological compost and vermicompost characterization: A chemometric study. *Chemometer Intell Lab* 90: 64–71.
- Cao X, Harris W. 2010. Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. *Bioresour Technol* 101: 5222–5228.
- Carballo T, Gil M V, Gomez X, Gonzalez-Andre F, Moran A. 2008. Characterization of different compost extracts using fourier-transforms infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis. *Biodegradation* 19: 815–830.
- Castaldi S, Riondino M, Baronti S, Esposito F R, Marzaioli R, Rutigliano F A, Vaccari F P, Miglietta F. 2011. Impact of biochar application to a Mediterranean wheat crop on soil microbial activity and greenhouse gas fluxes. *Chemosphere* 85: 1464–1471.

- Cayuela M L, Sinicco T, Mondini C. 2009. Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Appl Soil Ecol* 41: 118-127.
- Cayuela M L, Sanchez-Monedero M A, Roig A, Hanley K, Enders A, Lehmann J. 2013. Biochar and denitrification in soils: when, how much and why does biochar reduce N<sub>2</sub>O emissions? *Sci Rep* 3: 1–7.
- Ceulemans T, Merckx R, Hens M, Honnay O. 2011. A trait-based analysis of the role of phosphorus vs. nitrogen enrichment in plant species loss across Northwest-west European grasslands. *J Appl Ecol* 48: 1155-1163.
- Chen J, Gu B, Leboeuf E J, Pan H, Dai S. 2002. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 48: 59–68.
- Chen X Y, Liu H L, Chen H. 2003. Characterization of phenol biodegradation by *Comamonas testosteroni* ZD4-1 and *Pseudomonas aeruginosa* ZD4-3. *Biomed Environ Sci* 16:163-72.
- Chen Y, Senesi N, Schnitzer M. 1977. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Sci Soc Am J* 41: 352-358.
- Cheng C H, Lehmann J, Thies J E, Burton S D, Engelhard M H. 2006. Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes. *Org Geochem* 37: 1477-1488
- Cheng C H, Lehmann J, Engelhard M. 2008. Natural oxidation of black carbon in soils: changes in molecular form and surface charge along a climosequence. *Geochim Cosmochim Acta* 72:1598–1610.
- Cheshire, 1977. Origins and stability of soil polysaccharide. *Eur J Soil Sci* 28: 1-10.
- Clough T J, Condrón L M, Kammann C, Müller C. 2013. A Review of Biochar and Soil Nitrogen Dynamics. *Agronomie* 3: 275-293.
- Codagnone R. 1991. Carta detallada de suelos de la EEA INTA Hilario Ascasubi Prov. de Bs. As. CIRN INTA Castelar.
- Cookson S J, Van Lijsebettens M, Granier C. 2005. Correlation between leaf growth variables suggest intrinsic and early controls of leaf size in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 28: 1355-1366.
- Corzo-Martínez M, Corzo N, Villamiel M. 2007. Biological properties of onions and garlic. *Trends Food Sci Technol* 18: 609-625.
- Dabert P, Delagenés J P, Moletta R, Godon J J. 2002. Contribution of molecular microbiology to the study in water pollution removal of microbial community dynamics. *Rev Environ Sci Biotechnol* 1: 39-49.
- Danon M, Franke-Whittle I H, Insam H, Chen Y, Hadar Y. 2008. Molecular Analysis of Bacterial Community Succession during Prolonged Compost Curing. *FEMS Microbiol Ecol* 65: 133-144.

- De Bedia G F, Navall J M, Auhad L A. 2016. Carbón Santiaguense: Características de un mercado en crecimiento. <https://inta.gob.ar/documentos/carbon-santiagoense-caracteristicas-de-un-mercado-en-crecimiento>.
- De Bok F A M, Plugge C M, Stams A J M. 2004. Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia. *Water Res.* 38: 1368-1375.
- De Graaf D R, Fendler R. 2010. Biogas production in Germany. SPIN Background Paper. Federal Environment Agency. Germany. [http://www.spin-project.eu/downloads/0\\_Background\\_paper\\_biogas\\_Germany\\_en.pdf](http://www.spin-project.eu/downloads/0_Background_paper_biogas_Germany_en.pdf)
- De la Fuente C, Albuquerque J A, Clemente R, Bernal M P. 2013. Soil C and N mineralization and agricultural value of the products of an anaerobic digestion system. *Biol Fertil Soils* 49: 313-322.
- De la Fuente C, Clemente R, Martínez J, Bernal M P. 2010. Optimization of pig slurry application to heavy metal polluted soils monitoring nitrification processes. *Chemosphere* 81: 603-610.
- Deublein D, Steinhauser A. 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 578 pag.
- Di Benedetto A, Tongetti J. 2016. Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *RIA* 42: 258-282.
- Di Rienzo J A, Casanoves F, Balzarini M G, Gonzalez L, Tablada M, Robledo C W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Di H J, Cameron K C, Shen J P, Winefield C S, O'Callaghan M, Bowatte S, He J Z. 2009. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nat Geosci* 2: 621-624.
- Dick D P, Santos J H Z, Ferranti E M. 2003. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern brazilian soils. *R Bras Ci Solo* 27: 29-39.
- Ding Y, Liu Y, Wu W, Shi D, Yang M, Zhong Z. 2010. Evaluation of biochar effects on nitrogen retention and leaching in multi-layered soil columns. *Water Air Soil Pollut.* 213: 47-55.
- Domeizel M, Khaill A, Prudent P. 2004. UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresour Technol* 94: 177-184.
- Downie A, Crosky A, Munroe P. 2009. Physical properties of biochar. En: Lehmann J y Joseph S (Eds). *Biochar for environmental management: science and technology*. Earthscan, London, pages 13-32.
- Drury CF, Voroney R P, Beauchamp EG. 1991. Availability of NH<sub>4</sub>-N to microorganisms and the soil internal N cycle. *Soil Biol Biochem* 23: 165-169.

- Eghball B, Wienhold B J, Gilley J E, Eigenberg R A. 2002. Mineralization of manure nutrients. *J Soil Water Conserv* 57: 470-473.
- Elliott E T, Coleman D C. 1988. Let the soil work for us. In: Eijsackers H, Quispel A, (Eds.) Ecological implications of contemporary agriculture. Proc. 4th European Ecology Symposium, Wageningen. *Ecol Bull* 39: 23-32.
- Emmerling C, Barton J. 2007. Anaerobic co-digestion of topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) and properties of the remaining biogas manure. *Arch Agron Soil Sci* 53(6): 683-690.
- Engwall M, Schnürer A. 2002. Fate of Ah-receptor agonists in organic household waste during anaerobic degradation—estimation of levels using EROD induction in organ cultures of chick embryo livers. *Sci Total Environ* 297(1–3):105–108.
- Fangueiro D, Coutinho J, Borges L, Cabral F, Vasconcelos E. 2014. Nitrogen and carbon availability of liquid and solid fractions of pig slurry obtained using different separation technologies. *Biol Fertil Soils* 50: 333–341.
- FAO. 1983. Métodos simples para fabricar carbón vegetal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación <http://www.fao.org/docrep/X5328S/X5328S00.htm>
- Felipó Oriol M T 2001. Los elementos potencialmente tóxicos (EPT) como criterio en la aplicación de residuos orgánicos al suelo. En: Aplicación agrícola de residuos orgánicos. Boixadera J, Teira MR, (Eds). Universitat de Lleida, pag. 159-174.
- Feng Y, Xu Y, Yu Y, Xie Z, Lin X. 2012. Mechanisms of biochar decreasing methane emission from Chinese paddy soils. *Soil Biol Biochem* 46: 80–88.
- Ferrari H, Ferrari C, Ferrari F. 2006. CobCal v 2.1. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Paraguay. <http://www.cobcal.com.ar> (accessed: 03.2014).
- Fidel R B, Laird D A, Parkin T B. 2017. Impact of six lignocellulosic biochars on C and N dynamics of two contrasting soils. *GCB Bioenergy* 9: 1279–1291.
- Filiberto D, Gaunt J. 2013. Practicality of biochar additions to enhance soil and crop productivity. *Agriculture* 3: 715–725.
- Frioni L. 2011. Microbiología: básica, ambiental y agrícola. 1a Ed. Orientación Gráfica Editora. Bs. As. Argentina. 778 pag.
- Funbapa. 2012. Memoria institucional 2012. <http://www.funbapa.org.ar/funbapa/wp-content/uploads/2013/11/MEMORIA-2012-FINAL.pdf>
- Galantini J A. 2001. Contenido y calidad de las fracciones orgánicas del suelo bajo rotaciones con trigo en la región semiárida pampeana. *RIA* 30: 125-146.
- Galantini JA, Suñer L, Krüger H. 2005. Dinámica de las formas de P en un Haplustol de la región semiárida pampeana durante 13 años de trigo continuo. *RIA* 34: 13-31.

- Garay Schiebelbein M M. 2015. Secuestro de carbono y patrón vertical de propiedades químicas en molisoles forestados con *Pinus radiata*. Tesis de Doctor en Agronomía. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Gerardi M H. 2003. The microbiology of anaerobic digesters. Wastewater microbiology series. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.
- Gioacchini P, Manici L M, Ramieri N A, Marzadori C, Ciavatta C. 2007. Nitrogen dynamics and microbial response in soil amended with either olive pulpe or its by-products after biogás production. *Biol Fertil Soil* 43: 621-630.
- Goldberg S, Sposito G. 1985. On the mechanism of specific phosphate adsorption by hydroxylated mineral surfaces: A review. *Commun Soil Sci Plant Anal* 16:801-821.
- Gómez-Brandón M, Fernández-Delgado Juárez M, Domínguez J, Insam H. 2013. Animal Manures: Recycling and Management Technologies. En: Matovic M D Ed. *Biomass Now – Cultivation and Utilization*. InTec, pag. 237-272.
- Griffin D M. 1985. A Comparison of the Roles of Bacteria and Fungi. En Leadbetter E R, Poindexter J S, (Eds). *Bacteria in Nature*. London: Plenum Publishing. pag. 221-255.
- Grigatti M, Cavani L, Marzadori C, Ciavatta C. 2014. Recycling of Dry-Batch Digestate as Amendment: Soil C and N Dynamics and Ryegrass Nitrogen Utilization Efficiency. *Waste Biomass Valor* 5: 823-833.
- Grigatti M, Di Girolamo G, Chincarini R, Ciavatta C, Barbanti L. 2011. Potential nitrogen, plant utilization efficiency and soil CO<sub>2</sub> emissions following the addition of anaerobic digested slurries. *Biomass Bioenerg* 35: 4619-4629.
- Gubry-Rangin, C.; Graeme, W.N. and Prosser, J.I. 2010. Archaea rather than bacteria control nitrification in two agricultural acidic soils. *FEMS Microbiol Ecol* 74: 566-574.
- Hadas A, Portnoy R. 1994. Nitrogen and carbon mineralization rates of composted manures incubated in soil. *J Environ Qual*, 23: 1184-1189.
- Hale SE, Alling V, Martinsen V, Mulder J, Breedveld G D, Cornelissen G. 2013. The sorption and desorption of phosphate-P, ammonium-N and nitrate-N in cacao shell and corn cob biochars. *Chemosphere* 91: 1612-1619.
- Hassink J, 1994. Effect of soil texture on the size of the microbial biomass and on the amount of C and N mineralized per unit of microbial biomass in dutch grassland soils. *Soil Biol Biochem* 26: 1573-1581.
- Hassink J. 1992. Effect of soil texture and structure on carbon and nitrogen mineralization in grassland soils. *Biol Fertil Soils* 14: 126-134.
- Haung R T 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers. Boca Raton. London, New York, Washington DC.

- He Z, Mao J, Honeycutt C W, Ohno T, Hunt J F, Cade-Menun B J. 2009. Characterization of plant-derived water extractable organic matter by multiple spectroscopic techniques. *Biol Fertil Soils* 45: 609-616.
- Helal Aly A, Murad G A, Helal, A.A. 2011. Characterization of different humic materials by various analytical techniques. *Arab. J. Chem.* 4: 51-54.
- Herman W E, McGill W B, Dormaar J F. 1977. Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. *Can J Soil Sci* 57: 205-215.
- Hernández T, Moral R, Pérez-Espinosa A, Moreno-Caselles J, Pérez-Murcia M D, García C. 2002. Nitrogen mineralisation potential in calcareous soils amended with sewage sludge. *Bioresour Technol* 83: 213-219.
- Hinedi Z R, Chang A C, Lee R W K. 1989. Characterization of phosphorus in sludge extracts using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Sci Soc Am J* 52: 323-329.
- Höper, H. 2005. Cap 6.3 Substrate-induced Respiration. En: Bloem J; Hopkins DW, Benedetti A, (Eds) *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. Pag. 84-92 CABI Publishing.
- Hu Y L, Wu F P, Zeng D H, Chang S X. 2014. Wheat straw and its biochar had contrasting effects on soil C and N cycling two growing seasons after addition to a Black Chernozemic soil planted to barley. *Biol Fertil Soils* 50: 1291–1299.
- Huang Y, Wei Z, Yin X, Wu C. 2012. Pyrolytic characteristics of biomass acid hydrolysis residue rich in lignin. *Bioresour Technol* 103: 470–476.
- Hussain M, Farook M, Nawaz A, Al-Sadi A M, Solaiman Z M, Alghamadi S S, Ammara U, Ok Y S, Siddique H M. 2016. Biochar for crop production: potential benefits and risks. *J Soils Sediments*.
- Insam H, Franke-Whittle I, Goberna M. 2010. Microbes in aerobic and anaerobic waste treatment. En: Insam H, Franke-Whittle I, Goberna M (Eds) *Microbes at Work*. Springer Berlin Heidelberg, págs 1-34.
- Jaime L, Martín-Cabrejas M A, Mollá E, López-Andréu F J, Esteban R M. 2001. Effect of storage on fructan and fructooligosaccharide of onion (*Allium cepa* L.). *J Agric Food Chem* 49: 982-988.
- Jaime, L.; Mollá, E.; Fernández, A.; Martín-Cabrejas, M.A.; López-Andréu, F.J. y Esteban, R.M. 2002. Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *J Agric Food Chem* 50: 122-128.
- Jenkinson D S, Ladd J N. 1981. Microbial Biomass in Soil: Measurement and Turnover. En Paul E A, Ladd J N (Eds) *Soil Biochemistry*, Vol. 5, pag. 415-471.
- Jia Z, Conrad R. 2009. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environ Microbiol* 11: 1658–1671.

- Jindo K, Mizumoto H, Sawada Y, Sanchez-Monedero M A, Sonoki T. 2014. Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues. *Biogeosciences* 11: 6613–6621.
- Jones D L, Rousk J, Edwards-Jones G, Deluca T H, Murphy D V. 2012. Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in a three-year field trial. *Soil Biol Biochem* 45:113–124.
- Keiluweit M, Nico P S, Johnson M G, Kleber M. 2010. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). *Environ Sci. Technol* 44: 1247–1253.
- Khan M, Kim KW, Mingzhi W, Lim B K, Lee W H, Lee J Y. 2008. Nutrient-impregnated charcoal: an environmentally friendly slow-release fertilizer. *Environmentalist* 28: 231–235.
- Kirchmann H, Lundvall A. 1993. Relationship between N immobilization and volatile fatty acids in soil after application of pig and cattle slurry. *Biol Fertil Soils*, 15: 161-164.
- Kirchmann H, Witter E. 1992. Composition of fresh, aerobic and anaerobic farm animal dung. *Bioresour Technol* 40: 137-142.
- Knapp B A, Ros M, Insam H. 2010. Do Composts Affect the Soil Microbial Community? En: Insam H, Franke-Whittle I H, Goberna M, (Eds). *Microbes at Work: From Wastes to Resources*. Berlin Heidelberg: Springer. pag. 271-291.
- Knicker H. 2010. Black nitrogen—an important fraction in determining the recalcitrance of charcoal. *Org Geochem* 41: 947–950.
- Kookana R S, Sarmah A K, Van Zwieten L, Krull E, Singh B. 2011. Biochar application to soil: Agronomic and environmental benefits and unintended consequences. *Adv Agron* 112: 103–143.
- Kunz A, Miele M, Steinmetz R L R. 2009. Advanced swine manure treatment and utilization in Brasil. *Bioresour Technol* 100: 5485-5489.
- Kuo S. 1996. Phosphorus. En: *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. SSSA Book Series n° 5. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA.
- Kupper T, Büge D, Bachmann H J, Güsewell S, Mayer J. 2014. Heavy metals in source-separated compost and digestates. *Waste Manage* 34(5): 867–874.
- Lal R. 2008. Black and buried carbons' impacts on soil quality and ecosystems services. *Soil Tillage Res* 99: 1-3.
- Leconte M C, Mazzarino M J, Satti P, Crego M P. 2011. Nitrogen and phosphorus release from poultry manure composts: the role of carbonaceous bulking agents and compost particle sizes. *Biol Fert Soils* 47: 897-906.
- Lehmann J, Joseph S. 2009. Biochar for environmental management: An introduction. En Lehmann J, Joseph S (Eds). *Biochar for environmental mangement*. Earthscan, London, Sterling, VA, pag. 1-12.

- Lehmann J, Gaunt J, Rondon M. 2006. Bio-char Sequestration in Terrestrial Ecosystems – A Review. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 11: 403-427.
- Lehmann J; Skjemstad J, Sohi S, Carter J, Barson M, Falloon P, Coleman K, Woodbury P, Krull E. 2008. Australian climate-carbon cycle feedback reduced by soil black carbon. *Nat Geosci* 1: 832–835.
- Levén L, Schnürer A. 2005. Effects of temperature on biological degradation of phenols, benzoates and phthalates under methanogenic conditions. *Int Biodeter Biodegr* 55(2): 153–160.
- Li S. 2015. Biogas Production from Lignocellulosic Materials. Microbial Community Structure. Doctoral Thesis. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Microbiology. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Liang B, Lehmann J, Sohi S,P, Thies J E, O'Neill B, Trujillo L, Gaunt J, Solomon D, Grossman J, Neves E G, Luizão F J. 2010. Black carbon affects the cycling of non-black carbon in soil. *Org Geochem* 41: 206-213.
- Liang B, Lehmann J, Solomon D, Kinyangi J, Grossman J, O'Neill B, Skjemstad J O, Thies J, Luiza F J, Petersen J, Neves E G. 2006. Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils. *Soil Sci Soc Am J* 70: 1719–1730.
- Liang B, Lehmann J, Solomon D, Sohi S, Thies J E, Skjemstad J O, Luizao F J, Engelhard M H, Neves E G, Wirick S. 2008. Stability of biomass derived black carbon in soils. *Geochim Cosmochim Acta* 72: 6096–6078
- Liu L, Shen G, Sun M, Cao X, Shang G, Chen P. 2014. Effect of biochar on nitrous oxide emission and its potential mechanisms. *J Air Waste Manag Assoc* 64: 894–902.
- Liu S, Zhang Y, Zong Y, Hu Z., Wu S, Zhou J, Jin Y, Zou J. 2016. Response of soil carbon dioxide fluxes, soil organic carbon and microbial biomass carbon to biochar amendment: a meta-analysis. *GCB Bioenergy* 8: 392–406.
- Liu X, Zhang A, Ji C, Joseph S, Bian R, Li L, Pan G, Paz-Ferreiro J. 2013. Biochar's effect on crop productivity and the dependence on experimental conditions—A meta-analysis of literature data. *Plant Soil*, 373(1–2), 583–594.
- Lódola A, Brigo T, Morra F. 2010. II. Mapa de cadenas agroalimentarias de Argentina. En Anlló G, Bisang R, Salvatierra G. (Eds). *Cambios estructurales en las actividades agropecuarias. De lo primario a las cadenas globales de valor*. CEPAL, Naciones Unidas. Santiago de Chile. Chile, pag. 53-78.
- López-Mosquera M E, Carballo M E, Cabaleiro F, Carral E, Lema M J, López-Fabal A, Sainz M J. 2003. Valorización agronómica de estiércol de pollo deshidratado y granulado en el cultivo de lechuga (tipo trocadero) bajo invernadero. *Actas de Horticultura* N° 39. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas Pontevedra.



- Lubberding H J, Gijzen H J, Heck M, Vogels G D. 1988. Anaerobic digestion of onion waste by means of rumen microorganisms. *Biol Wastes* 25: 61-67.
- Lukehurst C T, Forst P, Al Seadi T. 2010. Utilization of digestate from Biogas Plant as Biofertilizer. IEA Bioenergy. Task 37, pag. 22.
- MacCarthy P, Rice J A. 1985. Chapter 21: Spectroscopic Methods (Other than NMR) for Determining Functionality in Humic Substances. Pag. 527-559. En Aiken G, McKnight D, Wershaw R, (Eds) *Humic Substances in Soil, Sedimen, and Water: Geochemistry, Isolation and Characerization*. John Wiley & Sons: New York.
- Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 2004. Brock. *Microbiología de los Microorganismos*. 10ª Edición. Pearson Educación S.A. Madrid. 1096 pag.
- Maguire R O, Sims J T, Dentel F K, Coale FJ, Mah J T. 2001. Relationships between biosolids treatment process and soil phosphorus availability. *J Environ Qual* 30: 1023-1033.
- Maji D, Misra P, Singh S, Kalra A. 2017. Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. *Appl Soil Ecol* 110: 97-108.
- Makádi M, Tomócsik A, Orosz V. 2012. Digestate: A New Nutrient Source – Review. Pag. 295-310 En: Kumar S (Ed) *Biogas*. InTech
- Manzoni S, Porporato A. 2009. Soil carbon and nitrogen mineralization: Theory and models across scales. *Soil Biol. Biochem* 51: 1355-1379.
- Marcato C E, Mohtar R, Revel J C, Pouech P. 2009. Impact of anaerobic digestion on organic matter quality in pig slurry. In *Biodeterior Biodegradation* 63, 260-266.
- Martens-Habbena W, Berube P M, Urakawa H, de la Torre J R, Stahl D A. 2009. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature* 461: 976-979.
- Martinez F E, Garcés G A. 2010. Crecimiento y producción de lechuga (*Lactuca sativa* var. Romana) bajo diferentes niveles de potasio. *Rev Colomb Cienc Hortic* 4: 185-198.
- Mata-Alvarez J, Dosta J, Macé S, Astals S. 2011. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. *Crit Rev Biotechnol* 31: 99–111.
- Materns D A. 2000. Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. *Soil Biol Biochem* 32: 361-369.
- Mathews J A. 2008. Carbon-negative biofuels. *Energy Policy* 36: 940–945.
- Mazzarino M K, Satti P, Roselli L. 2012. Capítulo 2: Indicadores de estabilidad, madurez y calidad de compost. En Mazzarino M K & Satti P (Eds.). *Compostaje en la Argentina: experiencias de producción, calidad y uso*. Orientación gráfica editora. 348 pag. ISBN 978-950-29-1162-5.
- Mazzarino M J, Satti P, Moyano S, Laos F. 2004. Compost de Biosólidos: efecto del tamizado sobre la inmovilización de nitrógeno del suelo. *Cienc Suelo* 22: 19-26.

- Mazzarino M J, Laos F, Satti P, Moyano S. 1998. Agronomic and environmental aspects of utilization of organic residues in soils of the Andean-Patagonian Region. *Soil Sci Plant Nutr*, 44: 105-113.
- Mc Donald S, Bishop A G, Prenzler P D, Robards K. 2004. Analytical chemistry of fresh water humic substances. *Anal Chim Acta* 527: 105-124.
- Mc Gill W B, Cole C V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, 26: 267-286.
- McLachlan K L, Chong C, Voroney R P. 2004. Assessing the Potential Phytotoxicity of Digestates during Processing of Municipal Solid Waste by Anaerobic Digestion: Comparison to Aerobic Compost. pag 638-643. En Bertschinger L, Anderson J D (Eds.). *Proceedings of 26th Sustainability of Horticultural Systems*:
- Meissl K, Smidt E, Schwanninger M. 2007. Prediction of humic acid content and respiration activity of biogenic waste by means of Fourier transform infrared (FTIR) spectra and partial least squares regression (PLS-R) models. *Talanta* 72: 791-799.
- Merrick M J, Edwards R A. 1995. Nitrogen control in bacteria. *Microbiol Rev* 59: 604–622
- Meyer S, Glaser B, Quicker P. 2011. Technical, economical, and climate-related aspects of biochar production technologies: A literature review. *Environ Sci Technol* 45: 9473–9483.
- Milesi Delaye L A, Branco de Freitas Maia C M. 2015. Biochar a partir de biomassa de miscanthus e quebracho, produzido em forno tubular em sistema aberto e sob fluxo de nitrogênio. *Comunicado Técnico* 375. Embrapa. Colombo, PR. ISSN 1980-3982.
- Miller W L. 1994. Chapter 7: Recent Advances in the Photochemistry of Natural Dissolved Organic Matter. Pag. 111-12. En Helz G R, Zepp R G, Crosby D G, (Eds) *Aquatic and Surface Photochemistry*. Lewis Publishers, Boca Raton, 552 pag.
- Ministerio de Agroindustria. 2016. Informe Situación de cebolla fresca. DMA – Área MCDO de hortalizas. Disponible en: [http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/areas/hortalizas/\\_archivos/000030\\_Informes/001000\\_Situaci%C3%B3n%20de%20Cebolla%20Fresca%202016.pdf](http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/hortalizas/_archivos/000030_Informes/001000_Situaci%C3%B3n%20de%20Cebolla%20Fresca%202016.pdf)
- Mizuta K, Matsumoto T, Hatate Y, Nishihara K, Nakanishi T. 2004. Removal of nitrate-nitrogen from drinking water using bamboo powder charcoal. *Bioresour Technol* 95: 255–257.
- Mohammadi K, Ghalavand A, Aghaalikhani M, Heidari G,R, Shahmoradi B, Sohrabi Y. 2011. Effect of different methods of crop rotation and fertilization on canola traits and soil microbial activity. *Aust J Crop Sci* 5: 1261–1268.
- Möller K. 2015. Effect of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review. *Agron Sustain Dev* 35: 1021-1041.

- Möller K, Müller T. 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: a review. *Eng Life Sci* 12: 242-257.
- Möller K, Stinner W. 2009. Effects of different manuring systems with and without biogas digestion on soil mineral nitrogen content and on gaseous nitrogen losses (ammonia, nitrous oxides). *Eur J Agron* 30: 1-16.
- Möller K, Schulz R, Müller T. 2010. Substrate inputs, nutrient flows and nitrogen loss of two centralized biogas plants in southern Germany. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 87: 307–325.
- Montemurro F, Ferri D, Tittarelli F, Canali S, Vitti C. 2010. Anaerobic Digestate and On-Farm Compost Application: Effects on Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Crop Production and Soil Properties. *Compost Sci Util* 18: 184-193.
- Mukome F N D, Zhang X, Silva L C R, Six J, Parikh S J. 2013. Use of chemical and physical characteristics to investigate trends in biochar feedstocks. *J Agric Food Chem*. 61: 2196-2204.
- Oberson A, Joner E J. 2005. Microbial turnover of phosphorus in soil. En: Turner B L, Frossard E, Baldwin D S (Eds). *Organic phosphorus in the environment*. CABI, Wallingford, pag. 133-164 (432 pag).
- Oehl F, Oberson A, Probst M, Fliessbach A, Roth H R, Frossard E. 2001. Kinetic of microbial phosphorous uptake in cultivated soils. *Biol Fertil Soils* 34: 31-41
- Offre P, Prosser J I, Nicol G W. 2009. Growth of ammonia-oxidizing archaea in soil microcosms is inhibited by acetylene. *FEMS Microbiol Ecol* 70(1): 99-108.
- Oguntunde P G, Fosu M, Ajayi A E, Van de Giesen N. 2004. Effects of charcoal production on maize yield, chemical properties and texture of soil. *Biol Fert Soils* 39: 295–299.
- Olsen S R, Sommers L E. 1982. Phosphorus pp 403-427. En: Page A L, Miller R H, Keeney D R (Eds) *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, American Society of Agronomy, Inc. Madison.
- Pandey K K. 1999. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. *J Appl Polym Sci* 71: 1969-1975.
- Parera i Pous J, Domingo Olive F, Mallol Nabot C, Canut Torrijos N. 2010. Adaptación del uso de la conductividad eléctrica (CE) para determinar de forma rápida el contenido en nutrientes del purín porcino en Catalunya. Libro de Actas II Congreso Español de Gestión Integral de Deyecciones Ganaderas. ISBN: 978-84-936421-2-9. 67-76 pag.
- Paul J V, Beauchamp E G. 1989. Relationship between volatile fatty acids, total ammonia, and pH in manure slurries. *Biol Wastes* 29: 313-318.
- Pell M, Stenström J, Granhall U. 2005. 12 Soil Respiration. Pag. 117-126. En Bloem J, Hopkins D W, Benedetti A (Eds). *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. CABI Publishing.

- Peuravuori J, Pihlaja K. 1997. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Anal Chim Acta* 337: 133-149.
- Plaza C, García-Gil J C, Polo A. 2007. Microbial activity in pig slurry amendmend soils under aerobic incubation. *Biodegradation* 18: 159-165.
- Poorter H. 2002. Plant growth and carbon economy. En: *Encyclopedia of life science*, Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group, London. Disponible en: [http://www.science.poorter.eu/2002\\_poorter\\_enclifesci.pdf](http://www.science.poorter.eu/2002_poorter_enclifesci.pdf)
- Pötsch E M, Pfundtner E, Resch R, Much P. 2004. Stoffliche Zusammensetzung und Ausbringungseigenschaften von Gärrückständen aus Biogasanlagen. En: Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein (Hrsg.) 10. Alpenländisches Expertenforum, 18.-19/3/2004, BAL, A-Irdning.
- Preusch P L, Adler P R, Sikora L J, Tworoski T J. 2002. Nitrogen and phosphorus availability in composted and uncomposted poultry litter. *J Environ Qual*, 31: 2051-2057.
- Prosser J I, Embley T M. 2002. Cultivation-based and molecular approaches to characterisation of terrestrial and aquatic nitrifiers. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 165-179.
- Provenzano M R, Iannuzzi G, Fabri C, Senesi N. 2011. Qualitative characterization and differentiation of digestates from different biowastes, using FTIR and fluorescence spectroscopies. *J Environ Prot* 2: 83-89.
- Provenzano M R, Malerba A D, Pezzolla D, Gigliotti G. 2014. Chemical and spectroscopic characterization of organic matter during the anaerobic digestion and successive composting of pig slurry. *Waste Manag* 34: 653-660.
- Rinland M E. 2015. Biodegradación anaeróbica del residuo de la producción de cebolla del Valle Bonaerense del Río Colorado. Tesis de Doctor en Agronomía. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. 173 pag.
- Risberg K, Cederlund H, Pell M, Arthurson V, Schnüreret A. 2017. Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. *Waste Manag* 61: 529-538.
- Ros M, Klammer S, Knapp B A, Aichberger K, Insam H. 2006. Long Term Effects of Soil Compost Amendment on Functional and Structural Diversity and Microbial Activity. *Soil Use Manag* 22: 209-218.
- Rose P, Whiteman M, Moore P K, Zhu Y Z. 2005. Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents. *Nat Prod Rep* 22: 351–368
- Rotondo R, Firpo I T; Ferreras L, Toresani S, Fernández S, Gómez E. 2009. Efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas y fertilizante nitrogenado sobre propiedades edáficas y productividad en cultivos hortícolas. *Horticultura Argentina* 28: 18-25.

- Rowbotham J S, Dyer P W, Greenwell H C, Theodorou M K. 2012. Thermochemical processing of macroalgae: a late bloomer in the development of third-generation biofuels? *Biofuels* 3: 441–461.
- Ryckeboer J, Mergaert J, Vaes K, Klammer S, De Clercq D, Coosemans J, Insam H, Swings J. 2003. A Survey of Bacteria and Fungi Occurring During Composting and Self-Heating Processes. *Ann Microbiol* 53: 349–410.
- Salminen E, Rintala J, Härkönen J, Kuitunen M, Högmander H, Oikari A. 2001. Anaerobically digested poultry slaughterhouse wastes as fertiliser in agriculture. *Bioresour Technol* 78: 81-88.
- Sanayal S K, de Datta S K. 1991. Chemistry of phosphorus transformations. *Soil Adv Soil Sci*, 16: 1-120.
- Sánchez F I, Delgado J L R. 2008. Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. Pag. 307-327. En Moreno Casco J, Moral Herrero R (Eds) *Compostaje*. Mundi Prensa.
- Sarraguça M C, Paulo A, Alves M M, Dias A M A, Lopes J, Ferreira E C. 2009. Quantitative monitoring of an activated sludge reactor using on-line UV-visible and near-infrared spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 395: 1159 –1166.
- Satti P S. 2007. Biodisponibilidad de nitrógeno y fósforo en suelos volcánicos bajo bosque nativo, disturbados y enmendados. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Comahue. San Carlos de Bariloche, Argentina. 231 pag.
- Schink B. 1997. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61: 262-280.
- Schleper C. 2010. Ammonia oxidation: different niches for bacteria and archaea? *The ISME Journal* 4: 1092–1094.
- Schnitzer M. 1982. Soil organic matter. pag. 581– 594. En Page A L, Miller A H, Keeney D R Eds. *Methods of Soil Analysis: Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, 2nd Ed. Agronomy Monograph, vol. 9. Soil Sci. Soc. of America, Madison, WI,
- Schnürer A, Jarvis A. 2010. Microbiological handbook for biogas plants. Swedish Gas Centre Report 207, pag. 13-138.
- Schwarzenbach R P, Gschwend P M, Imboden D M. 2003. *Environmental organic chemistry*. 2ª Ed. Wiley-Interscience. United State.
- Seredych M, Badosz T J. 2007. Mechanism of ammonia retention on graphite oxides: Role of surface chemistry and structure. *J Phys Chem C* 111: 15596–15604.
- Shah F A, Mahmood W, Shah M M, Pervez A, Asad S A. 2014. Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis. *The Scientific World Journal* Volume 2014, Article ID 183752, 21 pages.

- Shirshova L T, Ghabbour E A, Davies G. 2006. Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures. *Geoderma* 133: 204-216.
- Silverstein R M, Webster F G, Kiemle D J, Bryce D L. 2015. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 8th Edition. Wiley, New York, 426 pag.
- Smet E, Van Langenhove H. 1998. Abatement of volatile organic sulfur compounds in odorous emissions from the bio-industry. *Biodegradation* 9: 273–284.
- Smidt E, Meissl K. 2007. The applicability of Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. *Waste Manag* 27: 268-276.
- Smidt E, Lechner P, Schwanninger M, Haberhauer G, Gerzabek M H. 2002. Characterization of waste organic matter by FT-IR spectroscopy: Application in waste science. *Appl Spectrosc* 56: 1170-1175.
- Smith J L, Collins H P, Bailey V L. 2010. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol Biochem* 42: 2345–2347.
- Sohi S, Lopez-Capel E, Krull E, Bol R. 2009. Biochar, climate change and soil: A review to guide future research. *CSIRO Land and Water Science Report* 05/09.
- Sohi S P, Krull E, Lopez-Capel E, Bol R. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. *Adv Agron* 105: 47–82.
- Sommers L E, Nelson D D W. 1972. Determination of total phosphorus in soil. *Soil Sci Soc Am Proc* 36: 902-904.
- Song X, Pan G, Zhang C, Zhang L, Wang H. 2016. Effects of biochar application on fluxes of three biogenic greenhouse gases: a meta-analysis. *Ecosys Heal Sustain* 2(2): e01202
- Spohn M, Kuzyakov Y. 2013. Phosphorus mineralization can be driven by microbial need for carbon. *Soil Biol Biochem* 61: 69-75.
- Spokas K A. 2014. Review of the stability of biochar in soils predictability of O C molar ratios. *Carbon Manag* 1: 289–303.
- Spokas K A, Cantrel K B, Novak JM, Archer D W, Ippolito J A, Collins H P, Boateng A A, Lima I M, Lamb M C, McAllon A J, Lentz R D, Nichols K A. 2012. Biochar: A synthesis of its agronomic impact beyond carbon sequestration. *J. Environ. Qual.*, 41(4), 973–989.
- Stevenson FJ, Goh K M 1971. *Infrared Spectra of Humic Acids and Related Substances*. *Geochim Cosmochim Acta* 35(5): 471-485.
- Stevenson FJ. 1986. *Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York: John Wiley & Sons, 380 pag.
- Straka F, Jenicek P, Zabranska J, Dohanyos M, Kuncarova M. 2007. Anaerobic fermentation of biomass and wastes with respect to sulfur and nitrogen contents in treated materials. *Proceedings Sardinia 2007, 11th International Waste Management and Landfill Symposium S.Margherita di Pula, Cagliari, Italy*.

- Sun R, Tomkinson J, Mao F C, Sun X F. 2001. Physicochemical characterization of lignins from rice straw by hydrogen peroxide treatment. *J Appl Polym Sci* 79: 719-732.
- Suñer L. 2007. Dinámica del fósforo en suelos agrícolas de la región semiárida pampeana. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Suñer L G, Galantini J A. 2013. Dinámica de las formas de P en suelos de la región sudoeste pampeana: estudio de la incubación con fertilizante fosfatado. *Cienc Suelo* 31: 33-44.
- Swift M J, Heal O W, Anderson J M. 1979. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 372 pag.
- Taghizadeh-Toosi A, Clough T J, Condon L M, Sherlock R R, Anderson C R, Craigie R A. 2011. Biochar incorporation into pasture soil suppresses in situ nitrous oxide emissions from ruminant urine patches. *J Environ Qual* 40: 468–476.
- Tambone F, Genevini P, D'Imporzano G, Adani F. 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic matter composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresour Technol* 100: 3140-3142.
- Tammeorg P, Simojoki A, Mäkelä P, Stoddard F, Alakukku L, Heleniu J. 2014. Biochar application to a fertile sandy clay loam in boreal conditions: effects on soil properties and yield formation of wheat, turnip rape and faba bean. *Plant Soil* 374: 89–107.
- Tei F, Scaife A, Aikman D P. 1996. Growth of lettuce, onion and red beet. 1. Growth analysis, light interception and radiation use efficiency. *Ann Bot* 78: 633-643.
- Thomas O, Burgess C. 2007. UV-visible spectrophotometry of water and wastewater. *Tech Instrum Anal Chem Techniques and instrumentation in analytical Chemistry* 27 1<sup>st</sup> Edition Elsevier 360 pag.
- Thummes K, Schäfer J, Kämpfer P, Jäckel U .2007. Thermophilic Methanogenic Archaea in Compost Material: Occurrence, Persistence and Possible Mechanisms for their Distribution to other Environments. *Syst Appl Microbiol.*30:634–643.
- Tisdall J M, Oades J. 1982. Organic Matter and Water-Stable Aggregates in Soils. *J Soil Sci* 33: 141-163.
- Tripathi B M, Kim M, Lai-Hoe A, Shukor N A, Rahim R A. Go R, Adams J M. 2013. pH dominates variation in tropical soil archaeal diversity and community structure. *FEMS Microbiol Ecol.* 86: 303-11.
- Uçar G, Meier D, Faix O, Wegener G. 2005. Analytical pyrolysis and FTIR spectroscopy of fossil *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) wood and MWLs isolated hereof. *Holz als Roh- und Werkstoff* 63: 57-63.
- Urien Pinedo, 2013. Ontención de biocarbonos y biocombustibles mediante pirolisis de biomasa residual. Tesis de magister. Departamento de Ciencias Análíticas. Universidad

Nacional de Educación a Distancia. España.  
([http://digital.csic.es/bitstream/10261/80225/1/BIOCARBONES\\_CENIM\\_CSIC.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/80225/1/BIOCARBONES_CENIM_CSIC.pdf)).

- Vavilin V A, Rytow S V, Pavlostathis S G, Jokela J, Rintala J. 2003. A distributed model of solid waste anaerobic digestion: sensitivity analysis. *Water Sci Technol* 48: 147-154.
- Verberne E L J, Hassink J, De Willigen P, Groot J J R, Van Veen J A 1990. Modelling organic matter dynamics in different soils. *Neth J Agric Sci*.38: 221-238.
- Walsh J J, Rousk J; Edwarda-Jones G, Jones D L, Prysor Williams A. 2012. Fungal and bacteria growth following the application of slurry and anaerobic digestate of livestock manure to temperate pasture soils. *Biol Fertil Soils* 48: 889-897.
- Wang J, Chen Z, Xiong Z, Chen C, Xu X, Zhou Q, Kuzyakov Y. 2015. Effects of biochar amendment on greenhouse gas emissions, net ecosystem carbon budget and properties of an acidic soil under intensive vegetable production. *Soil Use Manag* 31: 375–383.
- Wang J, Xiong Z, Kuzyakov Y. 2016. Biochar stability in soil: meta-analysis of decomposition and priming effects. *GCB Bioenergy* 8: 512-523.
- Xu G, Lv Y, Sun J, Shao H, Wei L. 2012. Recent advances in biochar applications in agricultural soils: Benefits and environmental implications. *Clean-Soil, Air, Water*, 40: 1093–1098.
- Yao Y, Gao B, Zhang M, Inyang M, Zimmerman A R. 2012. Effect of biochar amendment on sorption and leaching of nitrate, ammonium, and phosphate in a sandy soil. *Chemosphere* 89: 1467-1471.
- Yeboah S, Zhang R, Cai L, Li L, Xie J, Luo Z, Wu J, Antille D L. 2017. Soil water content and photosynthetic capacity of spring wheat as affected by soil application of nitrogen enriched biochar in semiarid environment. *Photosynthetica* 55 (3): 532-542.
- Zabaloy M C, Allegrini M, Tebbe D A, Schuster K, Gómez E. 2017. Nitrifying bacteria and archaea withstanding glyphosate in fertilized soil microcosms. *Appl Soil Ecol* 117-118: 88-95.
- Zabaloy M C, Carné I, Viassolo R, Gómez M A, Gómez E. 2016. Soil ecotoxicity assessment of glyphosate use under field conditions: microbial activity and community structure of Eubacteria and ammonia-oxidising bacteria. *Pest Manag Sci* 72: 684-691.
- Zaher U, Buffiere P, Steyer J P, Chen S. 2009. A procedure to estimate proximate analysis of mixed organic wastes. *Water Environ Res* 81: 407-415.
- Zethner G, Pfundtner E, Humer J. 2002. Qualität von Abfällen aus Biogasanlagen. Monographien des Umweltbundesamtes, Wien Bd 160, 50 S.
- Zhang W, Hendrix P F, Dame L E, Burke R A, Wu J, Neher DA, Li J, Shao Y, Fu S. 2013. Earthworms facilitate carbon sequestration through unequal amplification of carbon stabilization compared with mineralization. *Nat Commun* 4 (2576).



- Zibilske L M. 1994. Carbon Mineralization. En: Weaver R W, Angle S, Bottomley P Eds, Methods of soil analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties. Soil Sci Soc of America Inc, Wisconsin, USA. pag. 835-863.
- Zimmerman A R, Gao B, Ahn M-Y. 2011. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biol Biochem* 43: 1169–1179.
- Zimmerman A R. 2010. Abiotic and microbial oxidation of laboratory produced black carbon (biochar). *Environ Sci Technol* 44: 1295–1301.
- Zirkler D, Peters A, Kaupenjohann M. 2014. Elemental composition of biogas residues: variability and alteration during anaerobic digestion. *Biomass Bioenergy* 67: 89-98.
- Zohri A-N, Abdel-Gawad K, Saber S. 1995. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa* L.) oil. *Microbiol Res* 150: 167-172.