

# Respuesta de la pradera mixta a la aplicación de nitrógeno. Fijación de nitrógeno

ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

INIA - CRIDA 01. Apdo. 10 (La Coruña)

## RESUMEN

*Se cuantifica, durante 2 años, la evolución de la fijación de N atmosférico, usando el método de reducción de acetileno a etileno en una pradera de raigrás inglés, dactilo y trébol blanco, sometido a dosis crecientes de N: 0, 40, 120 y 200 Kg./Ha.*

*En un año de verano húmedo, con un buen contenido de trébol y sin aplicar N, se fijaron 345 Kg. N/Ha., mientras que el siguiente, con sequía veraniega, esta cifra alcanzó sólo los 130 Kg./Ha. Al aplicar 200 Kg. de N por Ha., las cifras de fijación fueron de 108 y 60 Kg./Ha. en el primer y segundo año respectivamente.*

*Se establece una estrecha correlación entre el porcentaje de trébol presente y la actividad fijadora de N, dentro de cada época del año. La actividad fijadora es mucho mayor en primavera que en otoño, incluso para porcentajes de trébol similares. La paralización del crecimiento vegetal, por la sequía en verano o por el frío en invierno, reduce la fijación de N a cantidades inapreciables.*

## INTRODUCCIÓN

Existen en Galicia cerca de un millón de Has. de matorral y monte poco arbolado, una parte de las cuales podría servir de base para incrementar la producción ganadera de la región. El primer factor

limitante, desde el punto de vista técnico, para su puesta en explotación es la baja fertilidad de estos suelos a monte. La necesidad de P y Cal es prácticamente general para hacer la transformación de estos montes y poder introducir gramíneas y leguminosas productivas.

La capacidad de las leguminosas de fijar el N atmosférico y cederlo a la planta y al suelo cobra una gran importancia agronómica y económica por los precios que alcanzan los fertilizantes nitrogenados. El trébol es además un buen alimento para el ganado y en la pradera mixta da una distribución más uniforme de la producción a lo largo del año, que la pradera de gramínea (BROUGHAM, et al., 1976).

El trébol en la pradera mixta sufre sin embargo la competencia de la gramínea para la absorción de elementos nutritivos necesarios como el P y K. La ventaja de crecimiento de la gramínea en los períodos largos entre defoliaciones imponen al trébol otra importante limitación por falta de luz. Este efecto competitivo se pone de manifiesto en suelos fértiles o al aportar fertilizante nitrogenado: el trébol usa también el N mineral con lo cual la fijación atmosférica desciende.

En suelos pobres en nutrientes, la implantación de trébol es muy importante, ya que hay un alto nivel de fijación de N, sobre todo si está potenciado con el reciclaje animal. Con el tiempo se observa un descenso de la fijación atmosférica, en praderas de alto contenido de trébol que han ido enriqueciendo el suelo en nitrógeno (BALL, 1969).

La gramínea acompañante del trébol es también un fuerte competidor por el N mineral del suelo, obliga al trébol a aumentar su capacidad de fijación. En la práctica, se pasó de 70 a 96 Kg. N producido por tonelada de trébol, según que estuviera sólo o con una gramínea, a pesar de que al crecer ésta provocó un efecto de competencia por la luz que redujo el contenido de trébol en un 25 % (SEARS et al., 1965).

Tenemos aquí el primer factor de compromiso entre mantener un alto contenido de trébol en la pradera con alto nivel de fijación de N, en contra de algo también deseable como sería un alto nivel de N aportado en el suelo y por consiguiente un alto crecimiento de la pradera (principalmente la gramínea).

La cantidad de N que pasa de la atmósfera al ciclo *suelo-pradera mixta-animal en pastoreo*, se puede evaluar hoy en el campo por una técnica ampliamente usada como índice de fijación de nitrógeno: el método de reducción de acetileno a etileno.

En climas templados la fijación de N por los tréboles depende en gran medida de la temperatura del suelo (MASTERTON y MURPHY,

1975; HALLIDAY y PATE, 1976) y de la época del año, ya que las variaciones de luz, humedad y temperatura influyen en el crecimiento del trébol.

La influencia de la variación diurna en la fijación de N (gr./Ha./hora) es muy pequeña a pesar de la variación en luz y temperatura en ensayos con muestras de campo. Esta variación es grande sin embargo en ensayos de invernadero (HAYSTED y MARRIOT, 1978).

Se presentan en este artículo los datos de fijación de N obtenidos en todas las épocas del año usando la técnica de reducción de acetileno en una pradera de raigrás inglés, dactilo y trébol blanco, en Mabe-gondo (La Coruña) que se sometió durante 2 años a dosis crecientes de N: 0, 40, 120 y 200 Kg./Ha. y se aprovechó en condiciones de siega.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Tratamientos y diseño*

Se realizó un ensayo en parcela de 8 x 4 metros en bloques al azar con 3 repeticiones. La aplicación de N de los tratamientos y fechas de corte están en la tabla adjunta.

La pradera mixta permanente fue sembrada en otoño de 1976 con 40 Kg. N/Ha., 100 Kg. P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/Ha. y 60 Kg. K<sub>2</sub>O/Ha., 2 años antes había recibido 5 Tm. de calizas molidas por Ha. En enero de 1978 se aplicaron 80 Kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/Ha. y 50 Kg. K<sub>2</sub>O/Ha.

### CUADRO 1

#### FECHAS DE APLICACION DE NITROGENO (N) Y DE CORTE (C)

Tratamiento	Kg. N/Ha. Total	F E C H A S							
		1977 1978	18/03 08/03	28/04 13/04	02/06 22/05	30/06 06/07	10/08	13/10	23/11
1	0		C	C	C	C	C	C	C
2	40		N	C	C	C	C	C	C
3	120		N	CN	C	C	CN	C	C
4	200		N	CN	CN	C	CN	CN	C

N = Aplicación de 40 Kg./Ha.

C = Corte.

### *Método de reducción de acetileno*

La fijación de nitrógeno en el campo se estima por el método de HARDY y col. (1968), que es rápido y muy sensible y aunque mide

velocidad de fijación a corto plazo, ha sido puesto a punto para medir la fijación atmosférica en soja. Para praderas mixtas el método ha sido empleado por MASTERTON y MURPHY (1975) en Irlanda. Las variaciones del método empleadas en nuestro caso están detalladas por HOGLUND y BROCK (1978) y modificadas por BALL y col. (1979) para praderas mixtas de Nueva Zelanda.

### *Toma de muestras*

El procedimiento consiste en tomar al azar dentro de cada parcela, a media mañana, 14 muestras de suelo de 2,5 cm. de diámetro y de 7,5 cm. de profundidad. Se incuban a temperatura ambiente protegidas del sol durante 1 hora en un frasco hermético en una mezcla de aire y un 10 % de acetileno. La temperatura de incubación se debe aproximar a la T.<sup>a</sup> media diaria (HOGLUND y BROCK, 1978) lo cual en nuestras condiciones y en la mayoría de los casos sucede a media mañana a temperatura ambiente y evitando el sol directo sobre los frascos de incubación. En estas condiciones la producción de etileno es lineal durante unas 6 horas después de los 5 primeros minutos (MASTERTON y MURPHY, 1975). Se realiza paralelamente una incubación de acetileno sin suelo como blanco, así como una incubación de suelo sin acetileno por si hubiese alguna producción natural de etileno, que se restan a los tratamientos con suelo y acetileno. Al final de la incubación realizada en el campo, se toman muestras del gas resultante con tubos de vacío y agujas de doble punta y se llevan al laboratorio.

Para determinar el ciclo de fijación de N hemos realizado muestras semanales durante los períodos de máxima actividad de los nódulos, primavera y otoño, y quincenales en los de mínima actividad esperada, verano e invierno. La integración de esta curva nos da la actividad fijadora de nitrógeno anual por unidad de área.

### *Análisis en laboratorio*

Los gases son analizados en un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer equipado con un detector de ionización de llama de hidrógeno. La columna de alumina activada, tipo H de 100-120 de malla, tiene la fase estacionaria de esqualeno y el gas de arrastre de nitrógeno, separan el acetileno y el etileno anotando sus picos en un registrador gráfico, en 6 minutos por muestra. El pico de acetileno es usado como patrón interno para estandarizar los picos de etileno. La concentración de etileno se determina por comparación de estos

picos con los de una curva patrón preparada en las mismas condiciones a partir de diversas diluciones de etileno puro en aire.

Para transformar el etileno obtenido en las muestras a nitrógeno fijado se ha seguido el método de MASTERTON y MURPHY (1975) basados en la relación cuantitativa fija de  $C_2H_2$ :  $N_2$  de 3 : 1 de HARDY et al. (1968), que también ha sido ensayada por HOGLUND y BROCK (1978), y RICE (1980) para el mismo tipo de muestreo y técnica en el campo.

Estas transformaciones están actualmente en estudio y constante revisión, por lo cual el valor de las cifras de fijación de N es más bien relativo entre tratamientos y entre distintas épocas y años. No hemos hecho correcciones por la actividad que produce la hidrogenasa de los nódulos pues el error es mínimo (SCHUBERT y EVANS, 1976).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se resumen los resultados de producción de materia seca total y trébol que son objeto de otro trabajo en preparación (GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, A., 1982).

CUADRO 2

RESPUESTA DE LA PRADERA MIXTA A LA APLICACION DE N  
(t M.S./Ha.)

	Kg. N/Ha				D.M.S.
	0	40	80	120	
<b>PRIMAVERA (3 Cortes)</b>					
1977					
Producción total	3,51	4,53	4,80	5,87	0,74
Producción trébol	1,30	0,83	0,87	0,92	N.S.
%	37	18	18	16	
1978					
Producción total	4,92	5,72	6,49	7,28	1,10
Producción trébol	0,58	0,25	0,25	0,25	N.S.
%	12	4	4	3	
<b>VERANO (1 Corte)</b>					
1977					
Producción total	2,89	2,65	2,20	2,20	0,54
Producción trébol	1,16	0,92	0,69	0,45	0,20
%	40	35	31	20	
<b>OTOÑO (2 Cortes)</b>					
1977					
Producción total	2,60	2,55	2,89	3,10	N.S.
Producción trébol	0,90	0,73	0,81	0,34	N.S.
%	35	29	28	11	

La actividad fijadora de nitrógeno y el contenido de trébol de 3 cortes efectuados en primavera de 2 años se recoge en la figura 1.

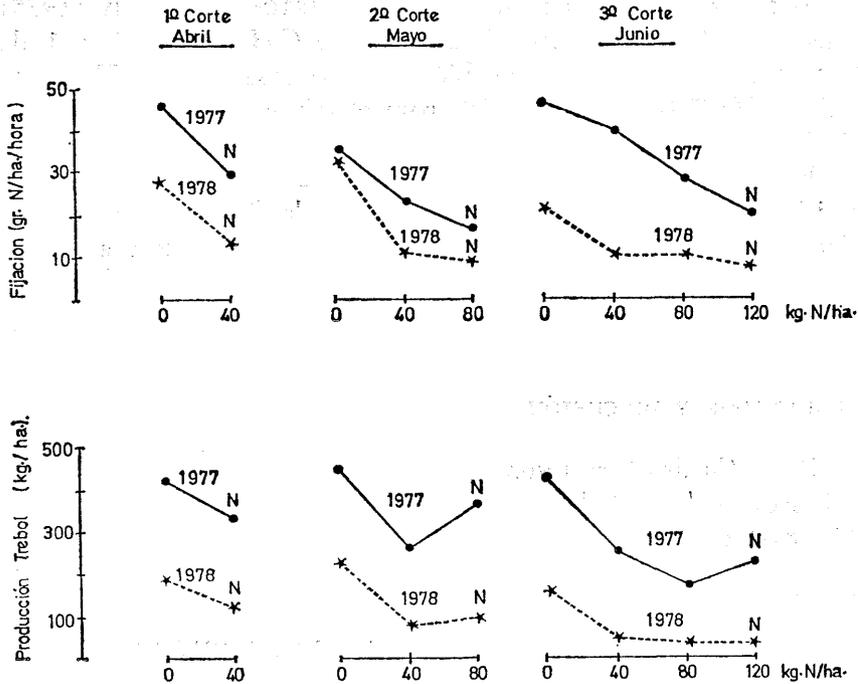


Figura. 1.—Fijación de nitrógeno y contenido de trébol en 3 cortes de primavera.

N = Aplicación de 40 Kg. N/Ha.

Destaca el paralelismo entre la fijación de N y el contenido de trébol en cada corte y para cada año. Se establece una alta correlación entre la actividad fijadora de N y la cantidad de trébol presente ( $r = 0.834$  y  $r = 0.996$  en la primavera de los años 1977 y 78, respectivamente), así como con el porcentaje de trébol ( $r = 0.952$  y  $r = 0.993$  para los dos años). Parece ser mejor correlación esta última pues la fijación depende no sólo del trébol presente, sino de la proporción de éste dentro de la masa vegetal.

La figura 2 expresa la distribución de la actividad fijadora de N por unidad de área a lo largo de la primavera de 2 años. La curva de mayor fijación corresponde a la parcela que no ha recibido N y que posee un mayor contenido y porcentaje de trébol. La curva de menor fijación es la que ha recibido nitrógeno en cada corte (120 Kg. N/Ha.) y es la que posee menor contenido de trébol.

En ambas figuras vemos la gran influencia de la aplicación de N en el descenso de la fijación ya desde el primer corte. También se aprecia el efecto residual del N aplicado para el corte anterior, con un nivel de actividad fijadora más bajo que donde no se aplicó N.

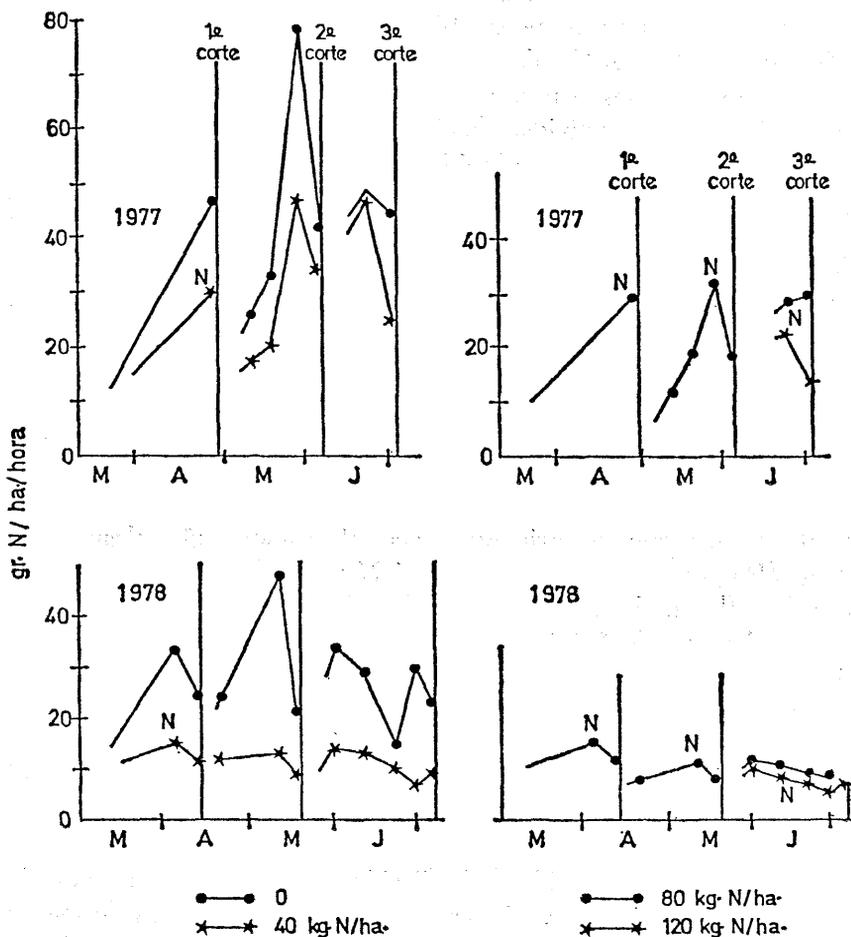


Figura 2.—Distribución de la fijación de nitrógeno en primavera.

Este descenso de fijación de N al aportar fertilizante nitrogenado es alto, a pesar que en muchos casos, el descenso del contenido de trébol no lo sea tanto. En los primeros cortes del primer año se nota particularmente este efecto: Al aplicar 40 Kg. N/Ha. a la salida del invierno, hubo un descenso de trébol en el primer corte de un 8,5 % con relación a donde no se aplicó N (de 423 a 387 Kg. trébol/Ha.),

que se correspondió con un descenso de la fijación de un 37 %. Tras el primer corte se aplicaron otros 40 Kg. N/Ha. en la misma parcela anterior, y hubo un descenso del trébol de un 8,3 % en el segundo corte (de 447 a 410 Kg. trébol/Ha.) y la fijación de N bajó en un 53 % respecto a donde no se aplicó N. Los sucesivos cortes del año también mostraron menor fijación, pero había ya una notable diferencia del contenido de trébol.

Cuando cortamos la parcela (figuras 2 y 3) se observa una reducción drástica de la actividad fijadora al retirar todo el material vegetal por faltar el área fotosintética de los tréboles y afectar la actividad de la nitrogenasa (HALLYDAY y PATE, 1976), hay una posterior recuperación de esta actividad a iniciarse el rebrote del trébol (RICE, 1980). Al final del crecimiento entre dos cortes parece haber una caída de la fijación, aunque no sucede entre todos los cortes, debida posiblemente a encontrarse los tréboles dentro de una mayor masa vegetal.

### *Otoño*

La fijación de nitrógeno durante el otoño (Fig. 3) es sensiblemente menor que en primavera ; en el primera año alcanza los 10 gr./Ha./hora, donde no se aplicó N y en el segundo año es de 5 gr./Ha./hora, al ser el contenido de trébol muy bajo.

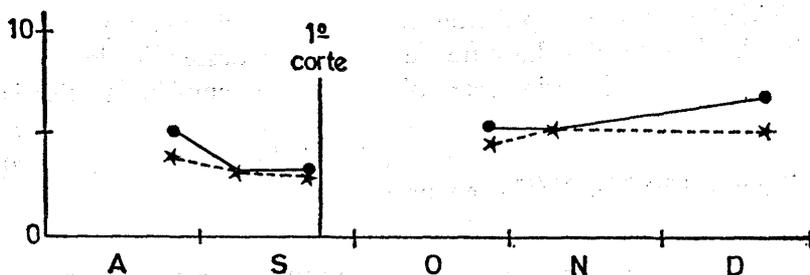
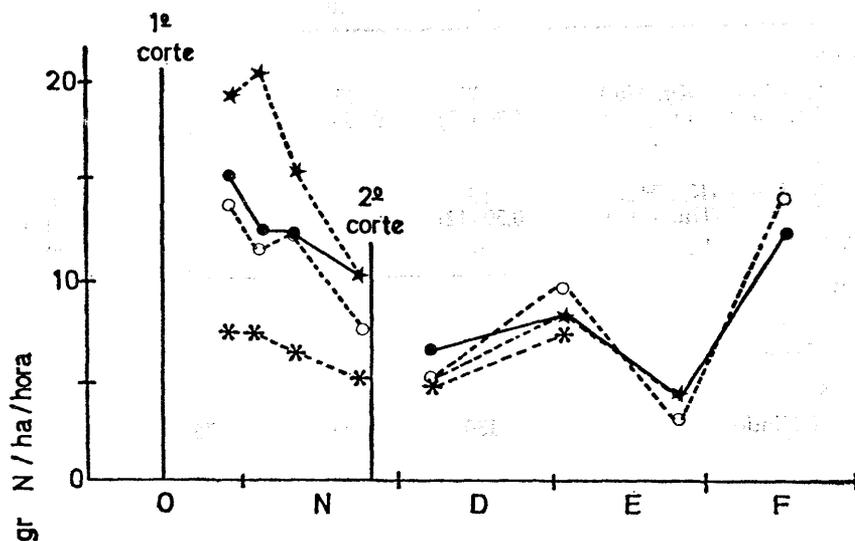
En el otoño de 1977 el contenido de trébol es de 900 Kg./Ha. (35 % de la producción de otoño) y su fijación fue menor que en la primavera del año siguiente a pesar de que el contenido de trébol en esta época fue más baja, 580 Kg./Ha. (19 %). Esto nos muestra que hay otros factores estacionales que influyen en la cantidad de N que es fijado por estas leguminosas.

También en esta etapa otoñal, como sucedía en primavera al aplicar N hay una reducción de la fijación (Fig. 3) que es más notoria en el primer año. En este año es de destacar que la curva de mayor fijación, en otoño es la que ha recibido 40 Kg N/Ha. al comienzo de primavera y que después de tener una producción mayor que donde no se aplicó N, ha mostrado una buena capacidad de recuperación de la fijación de N tras un verano húmedo.

### *Cantidad de fijación de nitrógeno*

La cantidad total de N fijado al cabo del año, en Kg. N por unidad de área, tiene más valor para comparar distintos tratamientos y años que valor absoluto. Las cifras de fijación de N son inver-

sas a la cantidad de N mineral aplicado y aumentan a medida que hay más cantidad de trébol en la pradera, como podemos ver en el Cuadro 3. Es de destacar la cifra de 345 Kg N/Ha. fijados en el primer año de establecimiento sin aplicación de N, produciéndose 4.35 t/Ha. de trébol.



<u>Kg N/ha</u>	<u>1977</u>	<u>1978</u>
0	●—●	●—●
40	*-*-*	*-*-*
120	○-○-○	*-*-*
200	*-*-*	

Figura 3.—Distribución de la fijación de nitrógeno en otoño.

CUADRO 3

COMPARACION ENTRE LA CANTIDAD DE NITROGENO FIJADO Y EL CONTENIDO DE TREBOL

Epoca primaveral: 163 días	Kg. N/Ha.			
	0	40	80	120
1977				
N fijado (Kg./Ha.)	287	156	118	108
Trébol (t/Ha. y %)	1,30 (37)	0,83 (18)	0,87 (18)	0,92 (16)
1978				
N fijado (Kg./Ha.)	93	39	41	29
Trébol (t/Ha. y %)	0,59 (12)	0,19 (3)	0,24 (4)	0,15 (2)
TOTAL ANUAL	0	40	120	200
1977				
N fijado (Kg./Ha.)	345	215	176	152
Trébol (t/Ha. y %)	3,35 (37)	2,50 (28)	2,30 (23)	1,70 (16)
1978				
N fijado (Kg./Ha.)	130	75	76	60
Trébol (t/Ha. y %)	—	—	—	—

El 83 % de esta cantidad se produjo durante la época primaveral que resultó ser la de máxima actividad fijadora. El resto de esta actividad se produjo prácticamente durante el otoño y el verano húmedo de este año. La cifra de fijación va descendiendo conforme aplicamos N en la primavera, disminuyendo también la eficacia de fijación de los tréboles que pasa de 0,22 Kg. de N fijado por Kg. trébol, sin aplicar N, a 0,12 Kg. N fijado por Kg. trébol donde aplicamos 120 Kg. N/Ha. en primavera.

La fijación fue muy distinta del primero al segundo año: en este año, mucho más seco en verano, la cantidad de trébol fue mucho menor y la fijación de N sólo alcanzó los 130 Kg./Ha. El 71 % producidos durante la primavera y el resto se produjo en otoño. En el verano seco, con paralización del crecimiento vegetal, la actividad fijadora se redujo a niveles inapreciables. Durante el invierno, enero y febrero, la actividad fijadora en ambos años estuvo a niveles muy bajos.

La cifra de N fijado a lo largo del año es muy variable, dependiendo de la cantidad de trébol presente en la pradera, la cual está inversamente relacionada con la dosis de N mineral aportado a la pradera, y con la climatología del año, especialmente la humedad

durante la época estival. Las cifras varían de 345 Kg. N/Ha. fijados, sin aplicar N en el primer año con verano húmedo, a 60 Kg. N/Ha. aplicando 200 Kg. N/Ha. durante dos años, en el segundo de los cuales, con un largo y seco verano, y un otoño ya sin trébol.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup>) Se establece una estrecha correlación entre el contenido de trébol y la actividad fijadora de N. Esta actividad fijadora parece ser mejor correlacionada con el porcentaje de trébol que con la cantidad de trébol presente.

2.<sup>a</sup>) Al aplicar N a la pradera mixta hay un descenso de la actividad fijadora que es de mayor medida que el descenso del contenido de trébol, al menos en los primeros cortes del año. Al aplicar 200 Kg. N/Ha. se fijan 108 Kg. N/Ha. en el primer año y 60 Kg. N/Ha. en el segundo.

3.<sup>a</sup>) La actividad fijadora de N es mucho mayor en primavera que en otoño. En el primer año se fijan 220 gr. N por Kg. de trébol en primavera mientras que en otoño se producen 40 gr./Kg.

4.<sup>a</sup>) Durante el invierno la actividad fijadora es muy escasa. Esta aún se reduce a cantidades inapreciables durante el verano, si la sequía lleva a la paralización del crecimiento vegetal.

5.<sup>a</sup>) En un año con verano húmedo y sin aplicar N se fijaron 345 Kg. N/Ha., mientras que en un año normal de sequía veraniega esta cifra sólo alcanzó los 130 Kg. N/Ha.

## BIBLIOGRAFIA

- BALL, R. 1969. Legume and fertilizer nitrogen in N. Zealand pastoral farming. *Procc. N. Zealand Grassld. Assoc.* 31: 117-26.
- BALL, R.; BROUGHAM, R. W.; BROCK, J. L. 1979. Nitrogen fixation in pasture. I. Introduction and general methods. *N. Z. Jour. Exp. Agric.* 7: 1-5.
- BROUGHAM, R. W.; BALL, P. R.; WILLIAMS, W. M. 1976. The ecology and management of white clover-based pastures in «Plant relations in pastures». Ed. J. R. Robinson. *Procc. Symp. Brisbane. Melbourne, CSIRO.*
- GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, A. 1982. Respuesta de la pradera mixta a la aplicación de nitrógeno. Producción de materia seca. *Anales INIA.* (En prensa).

- HALLIDAY, J.; PATE, J. S. 1976. The acetylene reduction assay as a means of studying nitrogen fixation in white clover under sward and laboratory conditions. *J. British Grassld. Soc.* 31: 29-35.
- HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K. & BURNS, R. C. 1968. The acetylene-Ethylene Assay for  $N_2$  Fixation: Laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.* 43 (8): 1.185-1.207.
- HAYSTEAD, K.; MARRIOT, C. 1978. Fixation and transfer of nitrogen in a white clover-grass sward under hill conditions *Annal. Applied. Biol.* 88 (3): 453.
- HÖGLUND, J. H.; BROCK, J. L. 1978. Regulation of N fixation in a grazed pasture. *New Zealand J. Agric. Res.* 21 (4): 73-82.
- MASTERTON, C. L.; MURPHY, P. M. 1975. Application of the acetylene reduction technique to the study of  $N_2$  fixation by white clover in the field. In «Symbiotic  $N_2$  fixation in plants», Ed. P. S. Nutman. IBP, Vol. 7, p. 299. Cambridge. University Press. G. B.
- RICE, W. A. 1980. Seasonal pattern of N. fixation and dry matter production by clovers grown in the Peace River region. *Can. J. Plant Sci.* 60: 847-58.
- SCHUBERT, K. R.; EVANS, H. J. 1976. H. evolution: A major factor affecting the efficiency of N fixation in nodulated symbionts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* Vol. 73, núm. 4, 1.207-1.211.
- SEARS, P. D.; GOODHALL, V. C.; JACKMAN, R. H. y ROBINSON, G. S. 1965. Pasture growth and soil fertility. 8. The influence of grasses, white clover, fertilizers and the return of herbage clipping on pasture production of an impoverished soil. *N. Z. Jl. Agric. Res.* 8, 270-83.

## NITROGEN FERTILIZER RESPONSES ON A MIXED SWARD. NITROGEN FIXATION

### SUMMARY

The N fixation of a mixed sward of perennial ryegrass, cooksfoot and white clover was affected by four N rates: 0, 40, 120 and 200 Kg./Ha. and treated under cutting.

The first year, after autumn establishment, with a humid summer a total of 345 Kg. N/Ha. was fixed where no nitrogen was applied and having a good clover content. The second year with a normal dry summer, only 130 Kg. N/Ha. was fixed at the same sward. Where 200 Kg. N/Ha. were applied, the amount of N fixed biologically was 108 and 60 Kg. N/Ha. at first and second year respectively.

The N fixing activity was greater at spring than autumn. Very low activity was recorded in summer and winter; when clover growth was restricted by drought and low temperatures respectively. A good relationship between clover percent and N-fixing activity for every growth period was found.