



**UNIVERSIDAD DE ALMERÍA**

**ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA**

**MÁSTER EN PRODUCCIÓN VEGETAL EN CULTIVOS PROTEGIDOS**

**“EVALUACIÓN DEL DMPP (3,4-DIMETILPIRAZOL FOSFATO) SOBRE LA  
CONCENTRACIÓN DE NITRATOS Y AMONIO DE UN SUELO ARENADO  
CULTIVADO CON PEPINO BAJO INVERNADERO”**

**ALUMNA:**

LIDIA MARÍA NOGUERA VICARIO

ALMERÍA, DICIEMBRE 2012

**DIRECTORES:**

DR. JULIO CÉSAR TELLO MARQUINA

DR. JUAN ANTONIO SÁNCHEZ GARRIDO

# **EVALUACIÓN DEL DMPP (3,4-DIMETILPIRAZOL FOSFATO) SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE NITRATOS Y AMONIO DE UN SUELO ARENADO CULTIVADO CON PEPINO BAJO INVERNADERO.**

**Autor: Lidia María Noguera Vicario**

## **Resumen**

En los sistemas hortícolas intensivos, los nitratos lixiviados con origen en los cultivos son la mayor fuente de contaminación de los acuíferos, y es un problema a escala mundial, tanto desde el punto de vista ambiental como sanitario. Esto es provocado por el uso excesivo de fertilizantes en la agricultura. Para reducir los problemas ocasionados por la lixiviación de nitratos al medio se están usando diversas moléculas que inhiben la nitrificación, como es el caso del DMPP (3,4-Dimetilpirazol fosfato), que reduce el riesgo de lixiviación de nitratos. En este trabajo se estudió la aplicación de una fertilización mixta nítrica/amoniaca en combinación con el DMPP, además de una reducción en la fertilización en un 25% en el contenido de N sobre un cultivo enarenado de pepino para ver las concentraciones de nitratos y amonio en el suelo durante el ciclo de producción otoño 2010. Los resultados expusieron que cuando aplicamos el DMPP con una concentración de 25% menos de N, el comportamiento de la molécula era el esperado, es decir, cuanto menos nitratos tenemos, más amonio se presenta en el suelo, mientras que con el DMPP con la concentración de 100% de N no se obtuvieron los resultados esperados a lo que podría describir el comportamiento por lo cual el DMPP ha sido desarrollado para su uso en las explotaciones hortícolas.

**Palabras clave:** lixiviación, fertilización mixta nítrica/amoniaca, inhibidor de la nitrificación, Nitrosomonas.

## **Abstract**

In intensive horticultural systems, nitrates leached from the crop are a major source of contamination of aquifers, and is a global problem, both environmentally and health. This is caused by the excessive use of fertilizers in agriculture. To reduce the problems caused by the leaching of nitrates to the environment are using various molecules that inhibit nitrification, as is the case with DMPP (3.4-dimethylpyrazole phosphate), which reduces the risk of leaching of nitrates. In this work, the application of nitrate/ammonia

mixed fertilization in combination with DMPP in addition to a reduction in fertilization by 25% in the N content on a crop cucumber sanded to see the concentrations of nitrate and ammonium in the soil during the fall 2010 production cycle. The results exhibited that when applying the DMPP with a concentration of 25% less of N, had the behavior of the molecule was expected, that is, the nitrates have less, more ammonium is produced in the ground, while the DMPP with concentration of 100% N not obtained the expected results which DMPP was developed for horticultural crops.

**Keywords:** leaching, nitrate/amonium mixed fertilization, nitrification inhibitor, Nitrosomonas.

## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es el elemento químico de mayor aplicación para el desarrollo de los diversos cultivos hortícolas; y su forma en  $\text{NO}_3^-$  es el más utilizado en la fertilización mineral (Granados, 2011). Dicho elemento tanto en su forma amoniacal como nítrica afecta en las plantas de forma positiva mejorando sus niveles de producción y calidad, más que cualquier otro elemento (Pasda *et al.*, 2001; Zerulla *et al.*, 2001). El amonio debido a sus características físico-químicas tiene una mayor retención en los suelos debido a su capacidad de intercambio catiónico, además de ser utilizado por la microbiota edáfica (Bohn et al, 2001). Esta forma amoniacal es esencial en el ciclo del nitrógeno y su exceso en el suelo puede derivar en una oxidación microbiana hacia nitratos (Bollmann, 2006).

Pero no todos los aspectos son positivos para el nitrógeno, su alta movilidad en el suelo en forma de nitratos lo hace altamente susceptible de lixiviarse generando de esta forma connotaciones adversas para su entorno. (Di y Cameron, 2002; Wu *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2008).

Actualmente, las emisiones de nitratos en las aguas de riego y drenaje son la principal causa de contaminación de acuíferos subterráneos y superficiales (IFAPA, 2012). Una de las consecuencias que afectan al medio ambiente es la eutrofización de las aguas (Kelly, 2001), haciendo imposible el desarrollo de diversas especies acuáticas. Por otra parte las altas concentraciones de nitratos pueden derivar en problemas de salud pública (Granados, 2011).

Por ello, la Unión Europea en su directiva 91/676/CEE (12 de Diciembre de 1991), instituye en todos sus estados miembros un plan de monitoreo y control sobre los

lixiviados de origen agrícola y desarrolló una serie de acciones que tienen como fin el de reducir las cantidades de N aportadas a los suelos agrícolas estableciendo un límite máximo en la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en aguas subterráneas y superficiales de  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Dicha directiva fue también adoptada en España mediante el Real Decreto 261/1996 (16 de Febrero de 1996) y en Andalucía con los Decretos 261/1998 (15 de Diciembre de 1998) y 36/2008 (5 de Febrero de 2008), con la que se definen las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos (ZVCN).

Diversas estrategias se han propuesto para paliar esta problemática como lo son el uso racional de los fertilizantes nitrogenados, un manejo óptimo de las dotaciones del agua de riego o el uso de diversas moléculas químicas conocidas como inhibidores de la nitrificación. Dentro del grupo de los inhibidores de la nitrificación se encuentra el DMPP (3,4-Dimetilpirazol fosfato) que aplicado en combinación con fertilizantes como la Urea o el Nitrato de amonio, inhibe el primer paso de la nitrificación retrasando la oxidación del  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$  que efectúan las bacterias del género *Nitrosomonas* (McCarty, 1999; Zerulla *et al.*, 2001); reduciendo de ésta forma el riesgo de lixiviación de nitratos.

El campo de Almería es una zona intensiva de producción hortícola, la cual ha sido designada como ZVCN (Decreto 261/1998) en donde el uso de fertilizantes nitrogenados es la principal fuente de lixiviados con altas concentraciones de nitratos. En base a esta problemática, el propósito de este estudio fue el de evaluar el efecto del DMPP y una nutrición mixta nítrico/amoniaco sobre la concentración de nitratos y amonio en un suelo arenado cultivado con pepino bajo invernadero.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Un cultivo enarenado de pepino (*Cucumis sativus*) tipo Almería cv Borja se estableció durante la campaña de producción de otoño del 2010 (con una duración de 113 días) en un invernadero de tipo multitúnel en el sureste español (Almería, España). El cultivo se estableció a siembra directa con una densidad de población de  $1,6 \text{ plantas}\cdot\text{m}^{-2}$ . En el experimento se desarrollaron 3 tratamientos de fertilización en un diseño de bloques aleatorios con 3 repeticiones cada uno. Los tratamientos aplicados fueron: Tratamiento 0 (Testigo) en el cual se aplicó una fertilización mixta nítrica/amoniaco utilizando  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (34,2%) como fuente nitrogenada siendo la fertilización de base  $8 \text{ mM}$  de  $\text{NH}_4^+$  y  $8 \text{ mM}$  de  $\text{NO}_3^-$ ; Tratamiento 1 (DMPP 100%N) con DMPP en el fertilizante líquido mixto nítrico/amoniaco Novatec Fluid<sup>®</sup> (10%

$\text{NH}_4^+$ ; 10%  $\text{NO}_3^-$  y 0,8% DMPP) e igual dosis de nitrógeno que el testigo; y un Tratamiento 2 (DMPP -25%N) con DMPP en el fertilizante líquido mixto nítrico/amoniaco Novatec Fluid<sup>®</sup> (10%  $\text{NH}_4^+$ ; 10%  $\text{NO}_3^-$  y 0,8% DMPP) pero con -25% de N en comparación con el Testigo y el Tratamiento 1. Todos los tratamientos fueron aplicados en cada dotación de riego utilizando una abonadora manual para cada parcela experimental. Y la fertilización para todas las parcelas fue aplicada mediante fertirrigación a partir de un cabezal principal basándose en el equilibrio nutritivo: 2,5 mM de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ; 2 mM de  $\text{SO}_4^{2-}$ ; 5 mM de  $\text{K}^+$ ; 4 mM de  $\text{Ca}^{+2}$ ; 2 mM de  $\text{Mg}^{+2}$  y micronutrientes.

Los suelos fueron muestreados para su análisis en las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  durante el ciclo de producción a los 14, 56 y 110 días después de la siembra, a una profundidad de 0 a 20 cm localizándose el punto de muestreo entre la planta y el gotero emisor de riego, estando cada repetición integrada por la mezcla de 3 puntos de muestreo.

Las muestras se analizaron en el Departamento de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Almería, midiendo en ellas las concentraciones de nitratos y amonio. El estudio empezó midiendo diversos parámetros básicos como la conductividad eléctrica (conductivímetro Crison 522), el pH y temperatura (pHmetro Crison micropH 2001).

### **Análisis de $\text{NO}_3^-$**

El contenido de nitratos en la solución del suelo se obtuvo por radiación ultravioleta. Las diluciones se midieron en un espectrofotómetro ultravioleta (Unicam UV/Vis) a dos longitudes de onda distintas: a 220 nm para obtener la lectura correspondiente a los nitratos, y a 275 nm para obtener la interferencia debida a la materia orgánica disuelta.

### **Análisis de $\text{NH}_4^+$**

Del nitrógeno de este suelo, se calculó el nitrógeno total y se hizo además su fraccionamiento (en orgánico, inorgánico, nítrico y amónico). Para la determinación del nitrógeno total se realizó con el método de Bouat y Crouzet (1965).

Posteriormente para el fraccionamiento del nitrógeno se utilizó la siguiente metodología: la determinación del nitrógeno inorgánico total ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ) y la determinación del nitrógeno amónico (N- $\text{NH}_4$ ) se determinaron por el método de

Mulvaney, (1996) y la determinación del nitrógeno orgánico se obtuvo por diferencia entre el nitrógeno total y el nitrógeno inorgánico.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el programa Statgraphics Plus 5.1, a través de un análisis de varianza (ANOVA), y realizando la comparación de medias mediante el método de las Diferencias Mínimas Significativas, para ver diferencias entre los tratamientos. Los resultados son presentados y discutidos en el siguiente apartado.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Concentración de $\text{NO}_3^-$**

No hay una significación estadística que siga una lógica que podamos entender, la tendencia de las gráficas merecen algunos comentarios:

No hay un muestreo representativo de un suelo, ni para una muestra tomada para evaluar los nutrientes, ni para evaluar la microbiota del suelo. Además tendríamos que tener en cuenta que el comportamiento de los nitratos está ligado al de otros iones como cloruros, sulfatos, sodio, calcio y potasio. A partir de aquí, las tendencias nos indican:

1. En el primer muestreo (Gráfica 1), realizado a los 14 días después de la siembra puede parecer claro que el producto ha actuado inhibiendo a la microbiota nitrificadora puesto que el testigo presenta mayor concentración de nitratos que los otros tratamientos (el DMPP 100%N tenía una concentración menor en un 68,95% y el DMPP -25%N un 44,56% menos en comparación al testigo) (Cuadro 1) y el tratamiento DMPP 100%N parece más eficiente en reducir los nitratos que el tratamiento DMPP -25%N (Gráfica 1).
2. En el segundo muestreo (Gráfica 1), los resultados graficados contradicen lo que de una manera aparentemente lógica se obtuvo en el primer muestreo. Véase el segundo punto de la gráfica. Y aunque el tratamiento DMPP -25%N parece seguir la lógica inicial en el primer muestreo tanto el testigo como el tratamiento DMPP 100%N contradicen esta lógica (el tratamiento DMPP 100%N presentó una concentración de  $\text{NO}_3^-$  mayor en un 44,46% y un 26,93% con respecto al tratamiento DMPP -25%N y al Testigo).
3. En el tercer muestreo (Gráfica 1) parece como si se restaurase la lógica del primer punto para los tratamientos con DMPP, ambos disminuyeron mientras que el testigo no se modificó (el Testigo presentó una concentración de  $\text{NO}_3^-$

mayor en un 33,51% para el DMPP 100%N y en un 58,10% mayor con respecto al DMPP -25%N).

Si se tiene en cuenta que el abonado y el riego del cultivo fue igual para los tres tratamientos, sería la molécula la que debería estar expresándose y sin embargo no lo hace.

¿Pudieron influir las temperaturas en la actividad microbiana del suelo y en consecuencia no actuar la molécula añadida sobre la población microbiana?

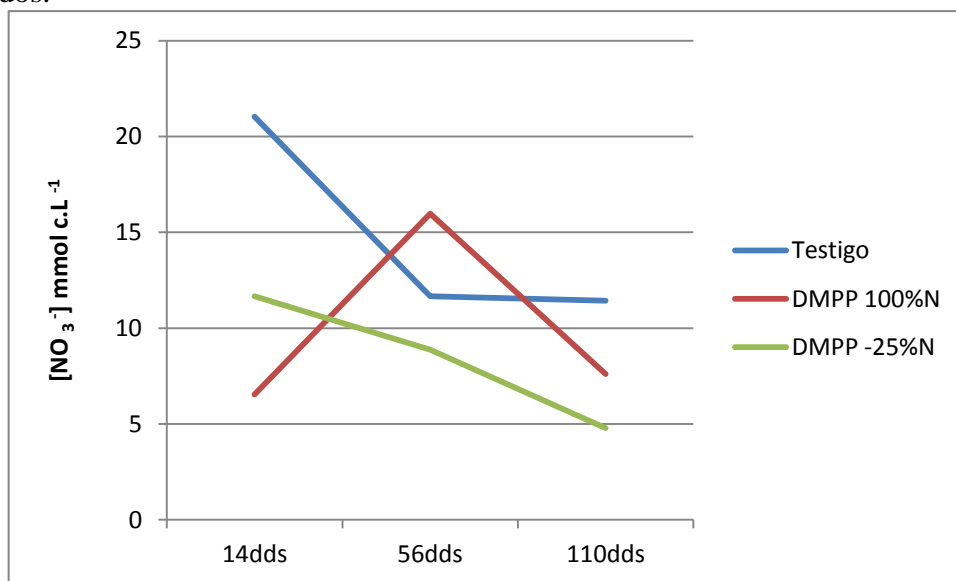
Expuesta esta aseveración, habría que considerar que el último muestreo se realizó aproximadamente 30 días después de que las temperaturas ambientes iniciaran su descenso, por lo que pudiera verse afectado el comportamiento microbiano. Pues según Paul y Clark (1989) la temperatura es un factor que claramente afecta a la tasa de la nitrificación en el suelo reduciéndose considerablemente cuando las temperaturas están por debajo de los 5°C.

Cuadro 1. Concentración de  $\text{NO}_3^-$  en mmolc/L a través de los diversos muestreos realizados con su análisis de la varianza y comparación de medias con un  $\alpha=0,05$ .

Tratamientos	[ $\text{NO}_3^-$ ] mmolc/L		
	14 DDS*	56 DDS*	110 DDS*
Testigo	21,03 ± 16,69	11,67 ± 0,99 b	11,43 ± 4,89
DMPP 100%N	6,53 ± 1,79	15,97 ± 3,50 ab	7,60 ± 3,18
DMPP -25%N	11,66 ± 2,87	8,87 ± 2,53 a	4,79 ± 0,63
p-valor	0,2641	0,0391	0,1316

DDS\*: Días después de la siembra.

Gráfica 1. Concentración de  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{mmol/L}$  a través de los diversos muestreos realizados.



### Concentración de $\text{NH}_4^+$

El cuadro 2 corresponde a los niveles de amonio. Téngase en cuenta que el DMPP actúa impidiendo que el  $\text{NH}_4$  se transforme en  $\text{NO}_3^-$ . Esto quiere decir que la relación es inversa. Veamos con detalle la gráfica 2 aunque no tengamos suficiente significación estadística. La discusión se realizó siguiendo la discusión anterior. Es decir, muestreo por muestreo.

En principio las curvas en su tendencia general (Gráfica 2) casi son complementarias a la inversa de la gráfica de los nitratos a excepción hecha de los testigos. La curva que representa al testigo es de la misma forma que para los nitratos. Lo que parece indicar que los nitratos y el amonio tienen un comportamiento complementario, tanto nitrato se produce como amonio se transforma.

Observemos la curva correspondiente al segundo tratamiento que es el DMPP 100%N, cuanto más disminuye la cantidad de amonio mas aumenta la cantidad de nitrato, la cual es lo contrario según el efecto de la molécula.

Para el tercer tratamiento (DMPP -25%N) ocurre que cuando menos nitrato, se produce más amonio en el suelo, y ésta es la respuesta esperada de la molécula.

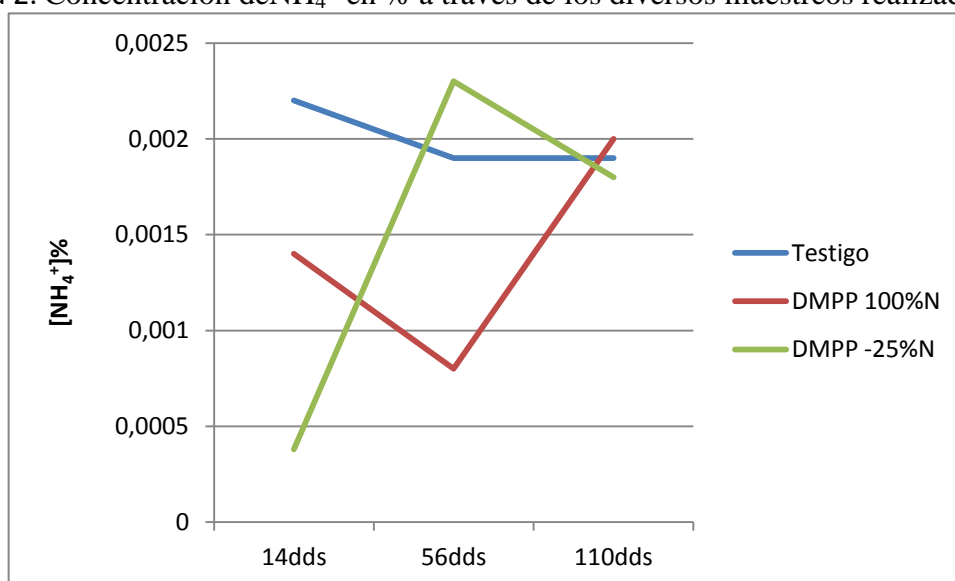


Cuadro 2. Concentración de  $\text{NH}_4^+$  en % a través de los diversos muestreos realizados con su análisis de la varianza y comparación de medias con un  $\alpha=0,05$ .

Tratamientos	[ $\text{NH}_4^+$ ] %		
	14 DDS*	56 DDS*	110 DDS*
Testigo	0,0022 ± 0,00033 b	0,0019 ± 0,00080	0,0019 ± 0,00022
DMPP 100%N	0,0014 ± 0,0013 ab	0,00080 ± 0,00064	0,0020 ± 0,00053
DMPP -25%N	0,00038 ± 0,0005 a	0,0023 ± 0,0023	0,0018 ± 0,00043
p-val	0,0918	0,4508	0,9273

DDS\*: Días después de la siembra.

Gráfica 2. Concentración de  $\text{NH}_4^+$  en % a través de los diversos muestreos realizados.



Los resultados anteriormente expuestos cuentan con la dificultad de que los trabajos en los que se ha estudiado el comportamiento del DMPP inhibiendo la nitrificación realizados por Wu *et al.* (2007), Yu *et al.* (2008) y Li *et al.* (2008), han analizado los lixiviados en columnas de suelo bajo condiciones controladas en laboratorio (ya que en suelo hay numerosos factores que son difíciles de evaluar), en donde han encontrado una disminución en la tasa de nitrificación y obteniendo una mayor concentración de amonio durante un mayor tiempo en aquellos tratamientos en los que se aplicó el DMPP ( $\approx 1\%$  p/p). Los datos obtenidos para los nitratos en el suelo para el tratamiento DMPP 100%N y para el amonio presente en el testigo coinciden con el comportamiento a los publicados por Serna *et al.* (2000) en donde la nitrificación fue casi inmediata en el caso de los fertilizantes sin DMPP, en necesario aclarar que evaluó la nitrificación en un cultivo de cítricos desarrollado en macetas y aplicando como fuentes de fertilización  $\text{NH}_4\text{NO}_3 + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{DMPP}$ . Hay que poner de manifiesto

que el trabajo de Serna *et al.* (2000) evaluó la cantidad de amonio y nitratos en el suelo después de una única aplicación al comienzo del ensayo, difiriendo de esta forma a nuestra forma de aplicación continua del producto en cada dotación de riego.

## CONCLUSIONES

La comparación de las curvas de amonio y de nitratos nos permitió una lógica explicativa más nítida y por ello menos libre de contradicciones. La aproximación lógica fue que en el DMPP a un 25% menos de N, el comportamiento de nitrato y amonio es lo esperado. La contradicción surgió cuando se observa el DMPP con la concentración de 100% de N donde ocurrió lo contrario a lo esperado. ¿Tiene alguna explicación en la bibliografía este comportamiento? ¿Puede afectar nuestra forma de aplicación creando un exceso de N en el suelo que haga imperceptible el efecto del DMPP en las poblaciones microbianas nitrificantes?

## BIBLIOGRAFÍA

- ANON., CONSEJERÍA DE LA PRESIDENCIA (1999).** Decreto 261/1998, de 15 de Diciembre, por el que se designan las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de Andalucía. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía (BOJA) nº 5, 12/01/1999: 405-407.
- ANON., CONSEJERÍA DE LA PRESIDENCIA (2008).** Decreto 36/2008, de 5 de Febrero, por el que se designan zonas vulnerables y se establecen medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía (BOJA) nº 36, 20/02/2008: 5-15.
- ANON., MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA (1996).** Real Decreto 261/1996 de 16 Febrero adoptando la Directiva 91/676/EEC sobre protección de las aguas contra la contaminación causada por nitratos de origen agrario. Boletín Oficial del Estado (BOE) nº 61, 11-03/1996: 9734-9737.
- BOHN, A., HINRICH, L., BRIAN, L.,** Soil chemistry. 3 ed. Canada. John Wiley and Sons, Inc. 2001.
- BOLLMANN, A., 2006.** Cap 7.4. Nitrification in Soil. In: Microbiological methods for Assessing Soil Quality. CABI Publishing. UK. pp136-307.
- BOUAT, A., CROUZET, H. 1965.** Notes techniques sur un appareil semiautomatique de dossge d l'azote (et des certains composées volatils). Ann. Agr. 16.

- DI, H.J., CAMERON, K.C.2002.** Nitrate leaching in temperate agroecosystems: sources, factors and mitigation strategies. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 46:237-256.
- EC, COMISIÓN EUROPEA, (1991).** Directiva del Consejo 91/676/EEC de 12 Diciembre de 1991 relativa a la protección de las aguas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L375, 31/12/1991:1-8.
- FERNANDEZ, M.M., BAEZA, R., CÁNOVAS, G., MARTÍN, E., 2012.** Protocolo de actuación para disminuir la contaminación por nitratos en cultivos de pimiento y tomate bajo abrigo. Ifapa, Centro La Mojonera.
- GARCÍA, M.C., ALONSO, M.M., 2006.** Contaminación por nitratos de origen agrario. Revisión legislativa. Fundación para la investigación Agraria de la Provincia de Almería. Fiapa.
- GRANADOS, MR., 2011.** Nitrate leaching from soil-grown vegetable crops under greenhouse conditions in Almería: magnitude, determining factors and development of an improved management system.311pp.
- GRANADOS, MR, THOMPSON, RB, FERNÁNDEZ, MD, GÁZQUEZ, JC, GALLARDO, ML, MARTÍNEZ-GAITÁN, C. 2007.** Reducción de la lixiviación de nitratos y manejo mejorado de nitrógeno con sondas de succión en cultivos hortícolas. Edita: Fundación Cajamar. Almería.
- KELLY, J. R. 2001.** Nitrogen effects on coastal marine ecosystems. In: Nitrogen in the environment. U.S. Environmental Protection Agency Paper. Paper 50.
- LI, H., LIANG, X., CHEN, Y., LIAN, Y., TIAN, G., NI, W. 2008.** Effect of nitrification inhibitor DMPP on nitrogen leaching, nitrifying organisms, and enzyme activities in a rice-oilseed rape cropping system. *Journal of Environmental Sciences*. 20:149-155.
- McCARTY, G.W. 1999.** Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol Fertil Soils*. 29:1-9.

- MULVANEY, R.L. 1996.** *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods* Chapter 38: Nitrogen-Inorganic Forms; 1123-1184.
- PASDA, G., HÄHNDEL, R., ZERULLA, W. 2001.** Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. *Biology and Fertility of Soils* 34, 85-97.
- PAUL, E.A., CLARK, F.E. 1989.** *Soil microbiology and biochemistry.* Academic Press, Inc. San Diego, California, USA. pp. 145.
- SERNA, M.D., BAÑULS, J., QUIÑONES, A., PRIMO-MILLO, E., LEGAZ, F. 2000.** Evaluation of 3, 4-Dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in a Citrus-cultivated soil. *Biol Fertil Soils.* 32:41-46.
- WU, S.F., WU, L.H., SHI, Q.W., WANG, Z.Q., CHEN, X.Y., LI, Y.S. 2007.** Effects of a new nitrification inhibitor DMPP (3, 4-Dimethylpyrazole phosphate) on nitrate and potassium leaching in two soils. *Journal of Environmental Sciences.* 19:841-847.
- YU, Q., YE, X., CHEN, Y., ZHANG, Z., TIAN, G. 2008.** Influences of nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate on nitrogen and soil salt-ion leaching. *Journal of Environmental Sciences.* 20:304-308.
- ZERULLA, W., BARTH, T., DRESSEL, J., HORCHLER, K., PASDA, G., RÄDLE, M., WISSEMEIER, A.H. 2001.** 3, 4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP). A new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biol Fertil Soils.* 34:79-84.