



CEU
*Universidad
San Pablo*

Informe final sobre el plan de seguimiento con variedades modificadas genéticamente portadoras del evento MON810 durante dos campañas consecutivas

Dr. José Antonio Lucas García (Coordinador)
Lda. Ana García-Villaraco Velasco
Dr. Agustín Probanza Lobo

Facultad de Farmacia. Dpto. de CC Ambientales y Recursos
Naturales. 3 de Abril de 2006

ÍNDICE

	pág
Primera campaña.	
1.-Introducción.....	4
2.- Material y métodos.....	5
2.0. Diseño experimental.....	5
2.1. Caracterización del suelo.....	5
2.2. Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.....	6
3.Resultados.....	8
3.1. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Marchamalo (Localidad A, variedad PR33P67).....	8
3.1.1. Resultados de la caracterización del suelo.....	8
3.1.2. Resultados del análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.....	13
3.1.2.1. Resultados de los análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.....	13
3.1.2.2. Resultados del análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).....	17
3.2. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Yunquera de Henares (Localidad B, variedad DK6575).....	20
3.2.1. Resultados de la caracterización del suelo.....	20
3.2.2. Resultados del Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.....	25
3.2.2.1. Resultados de los Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.....	25
3.2.2.2. Resultados del Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).....	28
4.- Conclusiones.....	33

Segunda campaña	pág
5.- Introducción.....	34
6.- Material y métodos.....	35
7.- Resultados.....	36
7.1. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Marchamalo (Localidad A, variedad PR33P67).....	36
7.1.1. Resultados de la caracterización del suelo.....	36
7.1.2. Resultados del análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.....	42
7.1.2.1. Resultados de los análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.....	42
7.1.2.2. Resultados del análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).....	48
7.2. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Yunquera de Henares (Localidad B, variedad DKC 6575).....	50
7.2.1. Resultados de la caracterización del suelo.....	50
7.2.2. Resultados del Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.....	56
7.2.2.1. Resultados de los Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.....	56
7.2.2.2. Resultados del Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).....	62
8.- Conclusiones.....	67
9.- Conclusiones generales.....	68
10.- Bibliografía.....	74

PRIMERA CAMPAÑA

1.- INTRODUCCIÓN

En el primer año de ensayos, se ha trabajado sobre las variedades modificadas genéticamente de maíz PR33P67 y DKC 6575, derivadas de las variedades convencionales P66 y Tietar respectivamente, y que portan el evento MON810. Los ensayos se llevaron a cabo en campos de cultivo normalmente usados en el cultivo de maíz. El primero se localizaba en la localidad de Marchamalo (Guadalajara) y el segundo en Yunquera de Henares (Guadalajara), ambos situados en la cuenca del Henares.

Desde el 15 de Abril de 2004 hasta el 15 de Septiembre de 2004, se realizaron 5 muestreos, el primero de ellos antes de la siembra y el resto con la presencia de plantas. En todos los casos, se recogieron muestras de suelo rizosférico procedentes de maíz convencional, maíz transgénico y de los márgenes de las parcelas, representando un suelo similar no cultivado.

El suelo recogido se llevó al laboratorio y se midieron los siguientes parámetros:

- a) Transformaciones del nitrógeno (amonificación, nitrificación y desnitrificación potenciales).
- b) Transformaciones del carbono (mineralización del carbono).

En ambos casos, se trata de parámetros íntimamente relacionados con la fertilidad del suelo y que están directamente relacionados con la actividad de los microorganismos del suelo y para determinarlos se siguieron los procedimientos descritos en el siguiente apartado.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.0. *Diseño experimental*

Las muestras se tomaron en dos campos de cultivo de maíz situados en la provincia de Guadalajara, el primero en Marchamalo (sitio A) y el segundo en Yunquera de Henares (sitio B). En ambos casos la toma de muestras se realizó una vez al mes durante 5 meses, desde antes de la siembra hasta el final del ciclo del maíz.

En el primer tiempo de muestreo, antes de la siembra, (T0) se recogió:

- Suelo del campo de cultivo (TG-CV)
- Suelo cercano no cultivado (SC)

En cada uno de los siguientes muestreos (T1, T2, T3 y T4) se recogió:

- Suelo rizosférico de plantas de maíz convencional (CV)
- Suelo rizosférico de plantas de maíz transgénico (TG)
- Suelo cercano no cultivado (SC)

Se tomaron tres réplicas de cada tratamiento en cada campo y en cada muestreo.

2.1. *Caracterización del suelo*

2.1.1 *Determinación del nitrógeno amonio*

A 10 g de suelo se le añaden 100 mL de KCl 2 M y se mantiene en agitación durante 1 h (Sahrawat, 1982). Posteriormente se valora el ión amonio siguiendo el método de Berthelot, aunque modificado por Weatherburn (Weatherburn, 1967; Hecht y Mohr, 1990).

Del extracto obtenido anteriormente se toman 10 mL a los que se añaden 0,4 mL de disolución alcohólica de fenol al 10 %, 0,4 mL de nitroprusiato sódico al 0,5 % y 1 mL de disolución oxidante (se prepara, mezclando 100 mL de una disolución de citrato sódico que contiene 100 g de $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, 5 g de NaOH y 500 mL de agua, con 25 mL de una disolución de hipoclorito sódico 1,5 N). La mezcla se mantiene en reposo durante 1 h y posteriormente se mide la absorbancia a 640 nm.

2.1.2. *Determinación del nitrógeno nitrato*

Se añaden 10 mL de KCl 0,1 M a 2 g de suelo. Tras agitar durante 15 min, se determina en el filtrado el nitrógeno nitrato por fotocolorimetría con un fotómetro Merck modelo 502130/SQ118. Los nitratos reaccionan con nitrospectal® para dar un compuesto de color rojo intenso.

2.1.3. *Determinación del carbono orgánico*

La materia orgánica se determina por diferencia de peso. En un crisol de porcelana se pesan 2 g de suelo y se lleva a calcinación en mufla a 600 °C durante 4 h. Ya calcinada la materia orgánica, se saca el crisol y se introduce en un desecador para evitar la hidratación por humedad del aire, y se pesa. La diferencia de peso expresada en porcentaje representa el contenido en materia orgánica (Frostegård y Bååth, 1996).

2.1.4. *Medida del pH*

Se realiza frente a agua destilada. Se mezclan 20 g de tierra y 20 mL de agua destilada, agitándose la mezcla durante 20 minutos.

2.2. Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana

2.2.1. Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.

Los métodos que se describen a continuación se basan en las directrices de la OECD del año 2000.

2.2.1.1. Determinación del potencial amonificante

Para evaluar la amonificación potencial se modifican las condiciones propuestas por Aleff y Kleiner (1986). En recipientes de 100 mL se incuban 15 g de suelo en presencia de 0,09 g de asparagina, 0,15 mL de disolución de oligoelementos, 3,75 mL de disolución de Winogradsky doble concentrada y agua destilada hasta capacidad de retención máxima; los recipientes se tapan con algodón para evitar la entrada de microorganismos y permitir la transpiración.

Se toman 5 g de la mezcla de cada recipiente al iniciarse la incubación y otros tantos tras la misma, verificada en oscuridad durante 72 h. En estas alícuotas se mide el amonio producido (apartado 2.1.1), obteniéndose respectivamente N_0 (nitrógeno mineralizado a tiempo cero) y N_t (nitrógeno mineralizado a tiempo t), el incremento de amonio en dicho período es el potencial amonificante.

2.2.1.2. Determinación del potencial nitrificante

Para la determinación del potencial nitrificante se emplean las condiciones propuestas por Robertson y Vitousek (1981). Se introducen 100 g de suelo en recipientes de 250 mL y se incubarán con 0,016 g de $(NH_4)_2SO_4$, cantidad suficiente para que la concentración de amonio esté entre 10 y 800 ppm. Por debajo de 10 ppm el amonio es limitante para la nitrificación (Verstrate, 1981), y por encima de 800 ppm se inhibe el proceso (Jones y Hedlin, 1970).

Se toma una muestra de suelo de cada recipiente al inicio de la incubación y se determina el contenido en nitrato. Tras 20 días en oscuridad a 21 °C, se procede a medir el contenido en nitrato según se describió en el Apartado 2.1.2. El incremento de nitrato durante dicho período constituye el potencial nitrificante. Durante la incubación se pesan los recipientes cada 48 horas para reponer con agua destilada estéril las pérdidas de humedad.

2.2.1.3. Determinación del potencial desnitrificante

Se efectúa por el método de inhibición por acetileno (Yoshinari y Knowles, 1976; McKenney *et al.*, 1996), en las condiciones dadas por Vinther (1984). Se toman 100 g de suelo a los que se añaden un 2,5 % de glucosa y agua hasta capacidad de retención máxima; en estas condiciones se incuba en recipientes estanco de 600 mL, en los que se ha sustituido el 10 % de la atmósfera por acetileno, durante 96 h a temperatura ambiente.

El óxido nitroso producido se evalúa con un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna Chromosorb-101 (malla 80/100) de 200 cm de longitud y 0,2 cm de diámetro en las siguientes condiciones:

Temperatura de la columna: 40 °C
Temperatura del inyector: 50 °C
Temperatura del detector: 100 °C

Gas portador: Helio
Flujo del gas portador: 20 mL/min
Volumen de la muestra: 1 mL

2.2.2. *Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).*

Los métodos que se describen a continuación se basan en las directrices de la OECD del año 2000.

Para establecer la producción de CO₂ se sigue el mismo protocolo que en la desnitrificación, tanto en las condiciones de incubación como de cromatografía. La columna y condiciones empleadas permiten separar el CO₂ del resto de los gases (Linares *et al.*, 1991) y por lo tanto conocer su producción en moles de gas por gramo de suelo y hora.

3.- RESULTADOS

3.1. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Marchamalo (Localidad A, variedad PR33P67)

3.1.1. Resultados de la caracterización del suelo

3.1.1.1. Determinación del nitrógeno amonio

En la Figura 1 se muestran los resultados de amonio. La cantidad de amonio en el primer tiempo de muestreo, antes de la siembra (T0) es similar en los tres suelos (TG, CV y SC). Pero a partir del siguiente muestreo empiezan a aparecer diferencias en la cantidad de amonio, diferencias que dependen del momento de muestreo, siendo la más llamativa el aumento en la cantidad de amonio en la rizosfera de plantas transgénicas en T3.

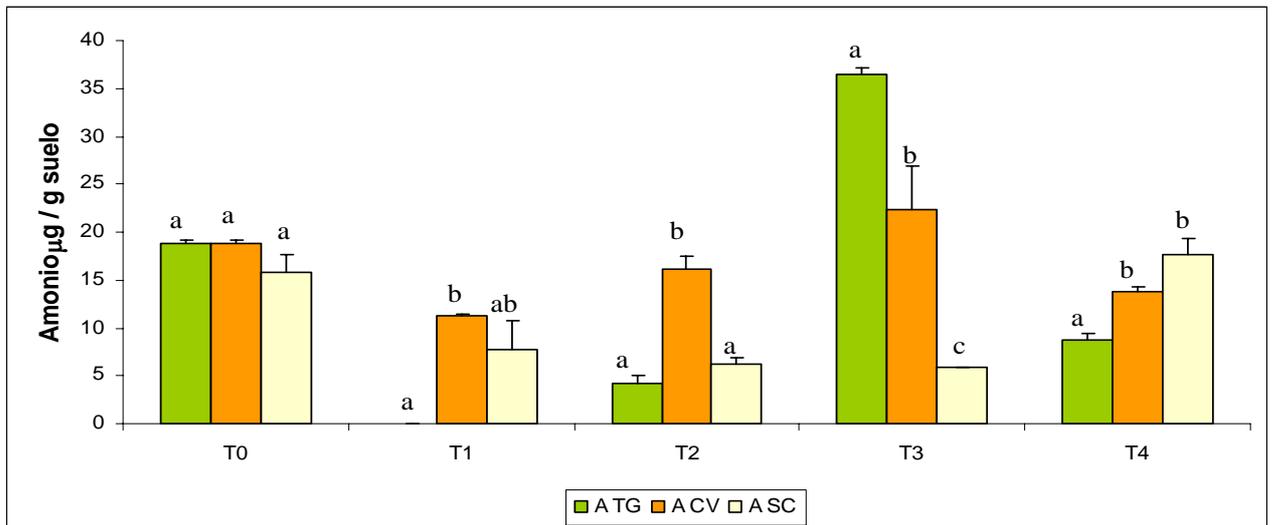


Figura 1. Determinación del nitrógeno amonio en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 2 se presenta la media de la cantidad de amonio entre los distintos muestreos, excepto T0 cuya medida de amonio no se ha incluido en esta media, ya que lo que interesa es apreciar las posibles diferencias, si las hubiera, entre plantas transgénicas y convencionales, y en T0 no había plantas. Aunque no existen diferencias significativas se puede observar que, como tendencia, en los suelos cultivados (con plantas transgénicas o convencionales) la cantidad de amonio es mayor que en el suelo sin cultivar.

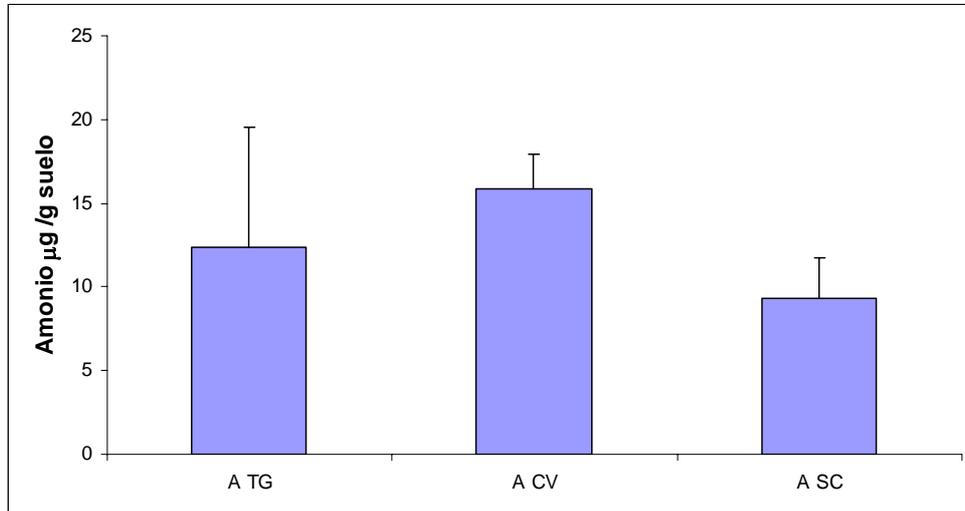


Figura 2. Media de la cantidad de amonio de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.1.1.2. Determinación del nitrógeno nitrato

En la figura 3 se presentan los resultados de las medidas de nitratos. Cabe destacar los altos valores de nitratos en T0 en los suelos de cultivo (TG y CV), valores que en T1 disminuyen para dar los valores más bajos de toda la campaña. Esta disminución de nitratos en T1 puede ser debida a un aumento de la demanda por parte de las plantas durante el proceso de crecimiento entre T0 y T1. En el siguiente muestreo (T2) aumenta de nuevo la cantidad de nitratos en el suelo, ya que dos días antes de este muestreo adicionaron urea al campo de cultivo.

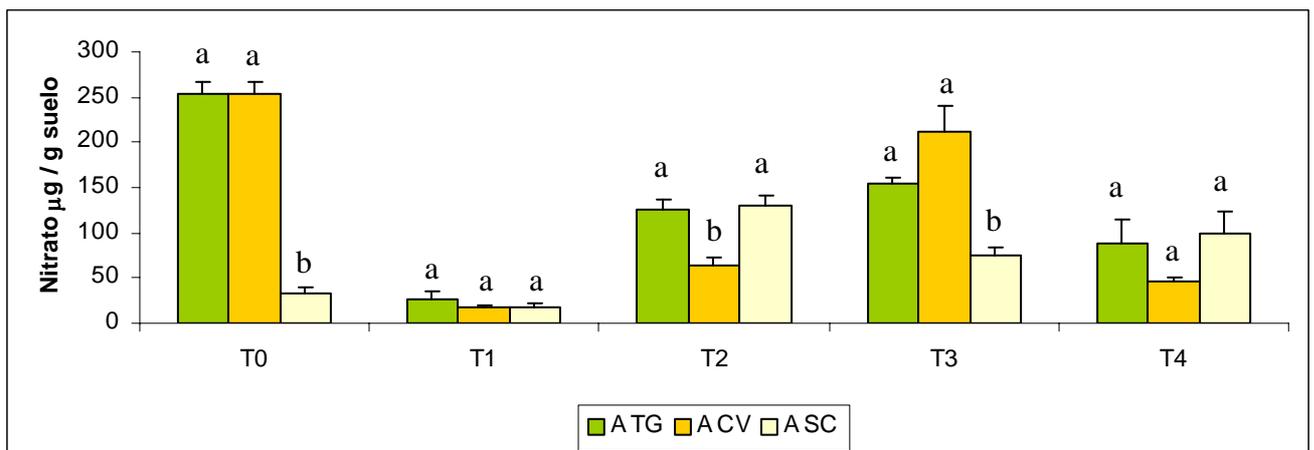


Figura 3. Determinación del nitrógeno nitrato en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 4 se puede observar que la cantidad de nitratos (media de los valores de nitrato de los distintos momentos de muestreo excepto T0) en los tres es muy similar, y de hecho no se encontraron diferencias estadísticas.

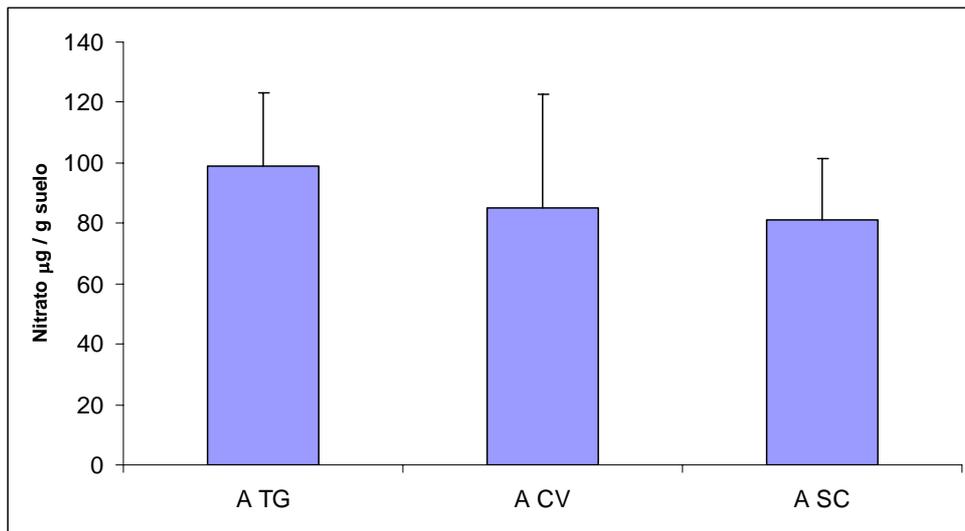


Figura 4. Media de la cantidad de nitrato de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.1.1.3. Determinación del carbono orgánico

En la figura 5 se presentan los valores de carbono orgánico. En las rizosferas de maíz convencional, así como en el suelo sin cultivar no se observan diferencias significativas en la cantidad de materia orgánica entre los diferentes momentos de muestreo. En cambio, la rizosfera de maíz transgénico presenta variaciones significativas en la cantidad de carbono que varían entre 6.7% y 4.2% en los distintos momentos de muestreo. En la figura 6 están representados estos mismos valores a lo largo el tiempo, y en ella se puede observar que en T0 no hay diferencias, pero a partir de T1 hay menos carbono orgánico en las rizosferas de plantas transgénicas que en el suelo sin cultivar; y la rizosfera de plantas convencionales tiene un contenido en materia orgánica similar al de las transgénicas (en T1 y T4) o similar al del suelo libre de cultivo (en T2 y T3).

La ausencia de variación en el porcentaje de carbono orgánico en T0, así como variaciones en este parámetro a partir de T1, se puede explicar debido a que a partir de T1 ya hay plantas cuyos exudados van a determinar en cierta medida el porcentaje de carbono orgánico del suelo. Por tanto, en los casos en los que no se observan diferencias significativas de porcentaje de carbono se puede pensar que es debido a que esas plantas tienen similares patrones de exudación (figura 6).

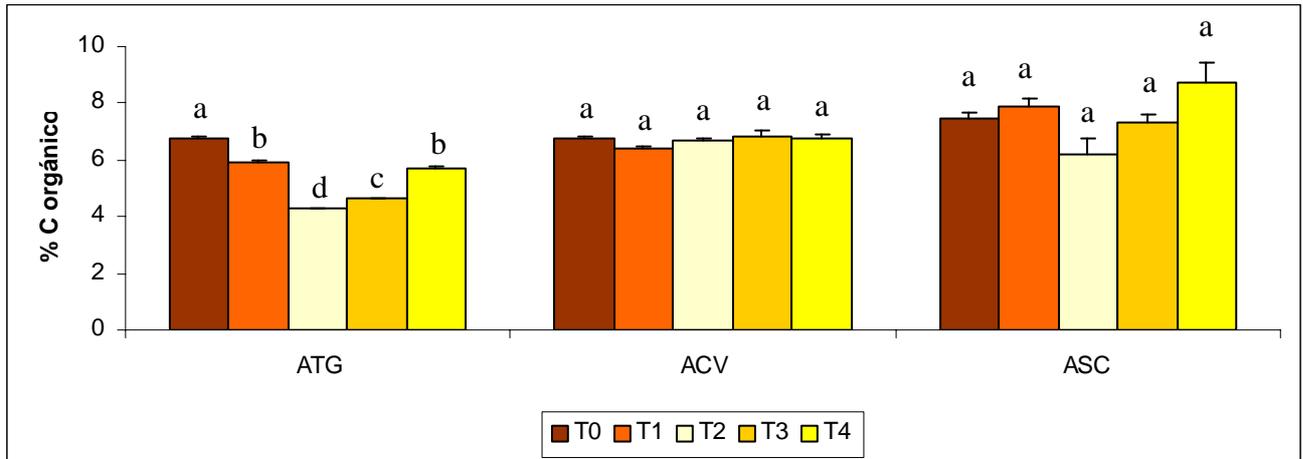


Figura 5. Determinación del carbono orgánico en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

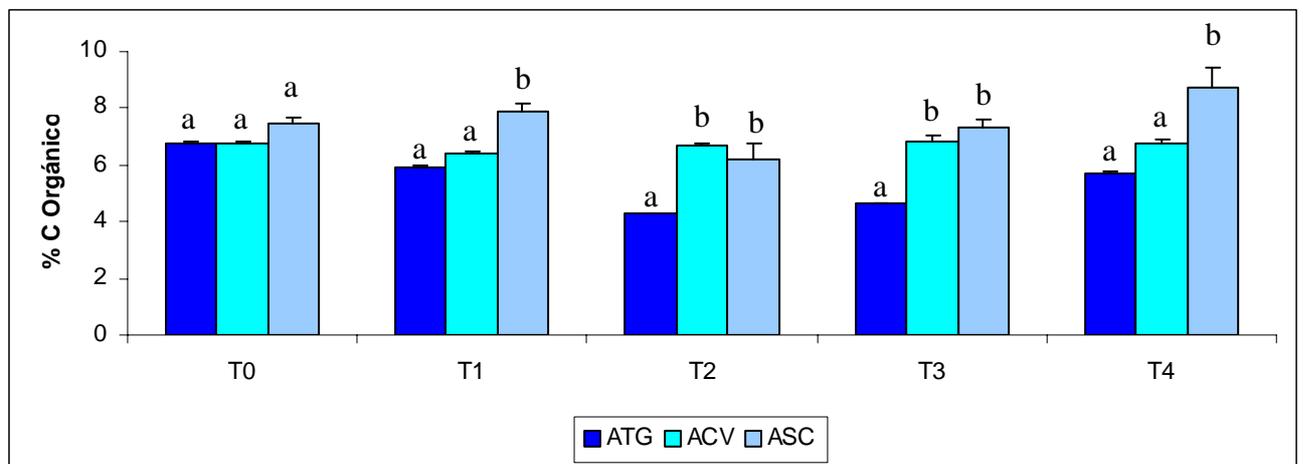


Figura 6. Determinación del carbono orgánico en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

3.1.1.4. Medida del pH

En las figuras 7 y 8 se muestran las medidas de pH. No existen diferencias significativas en los valores de pH de las rizosferas ni de plantas transgénicas ni convencionales entre los distintos momentos de muestreo (figura 7) siendo además estos valores de pH muy similares entre las rizosferas de plantas convencionales y transgénicas.

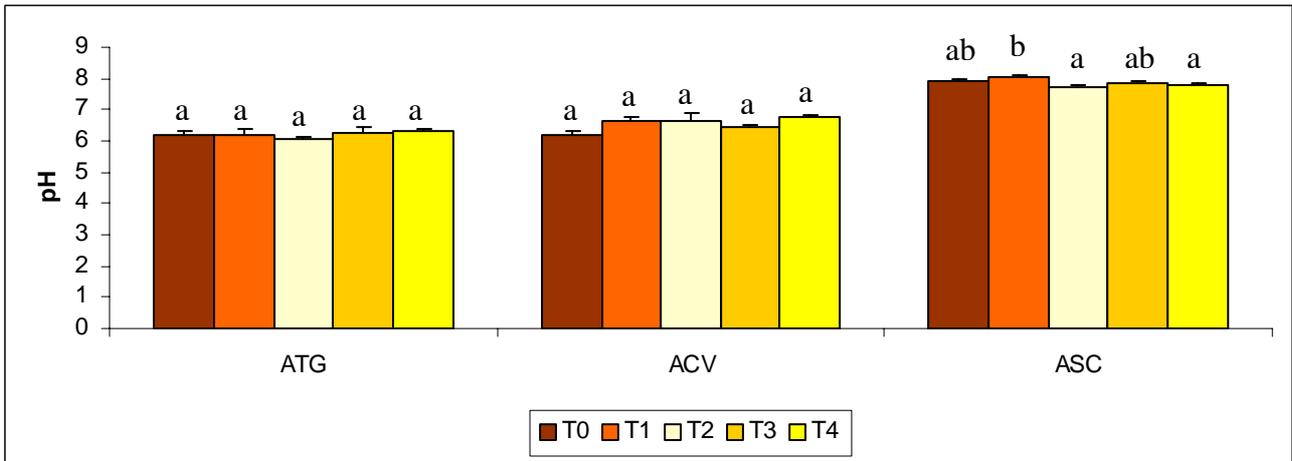


Figura 7. Valores de pH en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

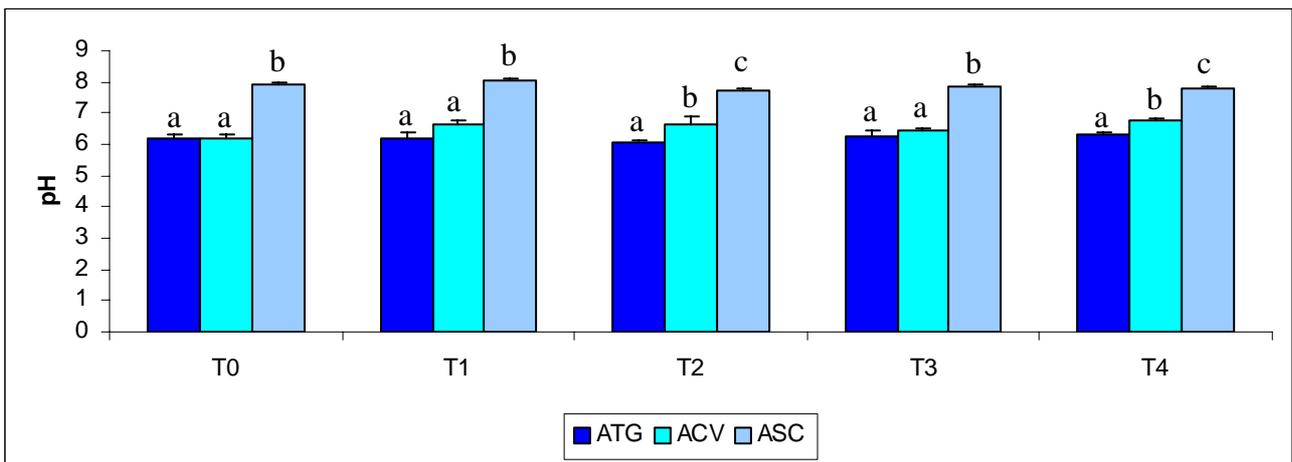


Figura 8. Valores de pH en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

Los valores de pH del suelo sin cultivar son más altos que los del suelo cultivado con plantas transgénicas o convencionales; estos valores de pH del suelo sin cultivar, además varían significativamente entre los diferentes momentos de muestreo (figuras 7 y 8). La similitud en el valor de pH de los dos suelos cultivados, bien con plantas transgénicas bien con plantas convencionales, puede ser debida a:

- que el “manejo agrícola” del suelo es el mismo, y este manejo no se lleva a cabo en el suelo sin cultivar cercano (ASC).
- que el tipo de plantas en el suelo cultivado es sólo maíz, mientras que en el suelo no cultivados crecen de forma espontánea diversas especies de herbáceas.

3.1.2. Resultados del análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.

3.1.2.1. Resultados de los análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.

3.1.2.1.1. Potencial amonificante

Como se observa en la figura 9 el potencial amonificante en T0 es similar en los tres tratamientos. En los dos siguientes muestreos (T1 y T2) el valor del potencial amonificante aumentó, sobre todo en el suelo rizosférico de plantas transgénicas (siendo estas diferencias significativas), este aumento puede deberse al incremento en los niveles de exudación a medida que se desarrollan las plantas. Y en los dos últimos muestreos, el valor del potencial amonificante cae y llega a tener valores negativos (en T3); existen dos explicaciones posibles a esta disminución del potencial amonificante:

- En T3 la cantidad de amonio en el suelo es mucho mayor que en otros momentos de muestreo (figura 1) y esto inhibe el proceso de amonificación.
- El granizo caído unos días antes del muestreo T3, dañó la parte aérea fotosintética de las plantas pudiendo ésto disminuir la cantidad de exudados.

Los valores de potencial amonificante del suelo cultivado con plantas transgénicas y del suelo sin cultivar son semejantes y más altos que los de plantas convencionales (figura 10). Se puede observar que es exactamente la tendencia inversa que en el caso de la medida de amonio (figura 2), esto indica que el suelo sin cultivar y el suelo rizosférico de las plantas transgénicas mineralizan más materia orgánica nitrogenada, aumentando así la fertilidad del suelo (si bien no existen diferencias significativas).

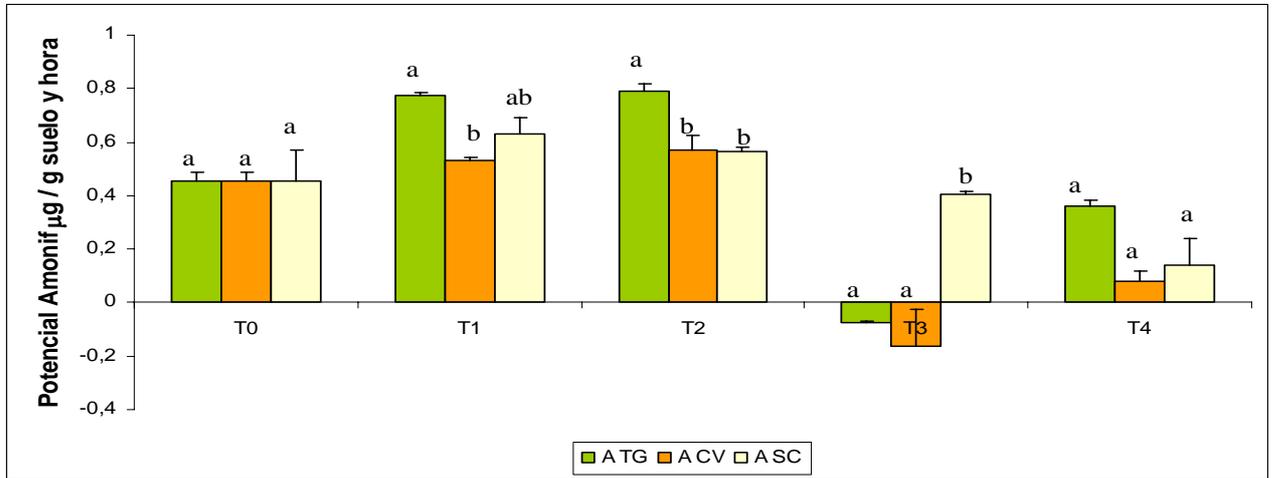


Figura 9. Potencial amonificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

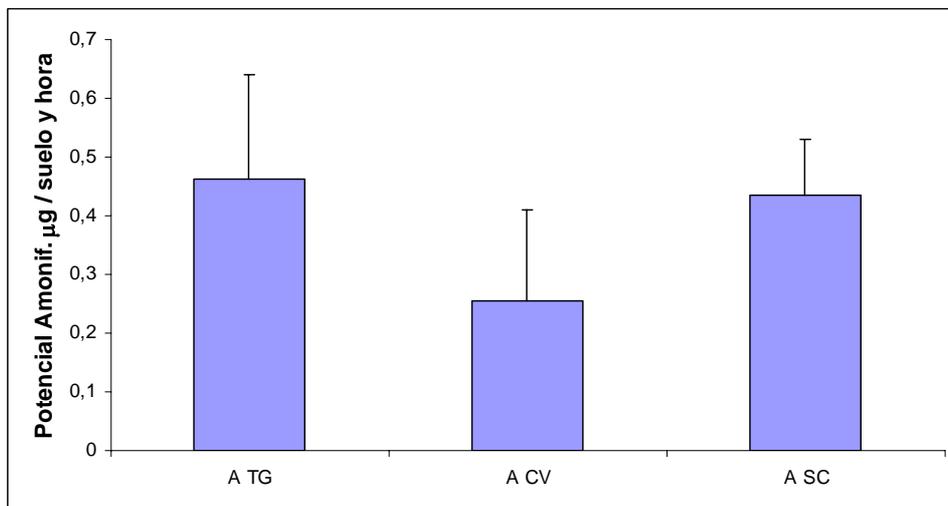


Figura 10. Media de potencial amonificante de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.1.2.1.2. Potencial nitrificante

El potencial nitrificante (figura 11) en el primer momento de muestreo tiene valores negativos. En los tres muestreos siguientes aumenta, y sólo en T1 para la rizosfera de plantas transgénicas es significativamente mayor que para los otros dos (rizosfera de plantas convencionales y suelo sin cultivar). Por último, en el último mes, los valores de potencial nitrificante vuelven a disminuir. Parece, igual que ocurría para el amonio y el proceso de amonificación, que se puede observar una relación inversa; si se observan las

figuras 3 y 11, se puede apreciar que en los momentos de muestreo en los que hay mayor cantidad de nitratos en el suelo es cuando el proceso de nitrificación (potencial nitrificante) es menor, ya que se ve inhibido por la gran concentración del producto de la reacción.

Por otra parte también existe una relación entre los procesos de amonificación y nitrificación; en las figuras 9 y 11 se puede apreciar que existe un desacople entre estos dos procesos en T3 y T4. Este hecho puede explicarse porque en T3 la concentración de amonio en los suelos cultivados con las plantas transgénicas y convencionales eran elevadas, lo que provocaba una aceleración del proceso nitrificante y una inhibición del proceso amonificante por exceso de producto. Esto se ve ya compensado en T4 cuando los niveles de amonio han disminuido y se vuelve a activar el proceso amonificante desacelerándose el proceso nitrificante.

La media de los valores de potencial nitrificante de todos los muestreos excepto T0 se presenta en la figura 12 El mayor valor de potencial nitrificante lo presenta el suelo rizosférico de plantas de maíz convencionales, pero no se encontraron diferencias estadísticas.

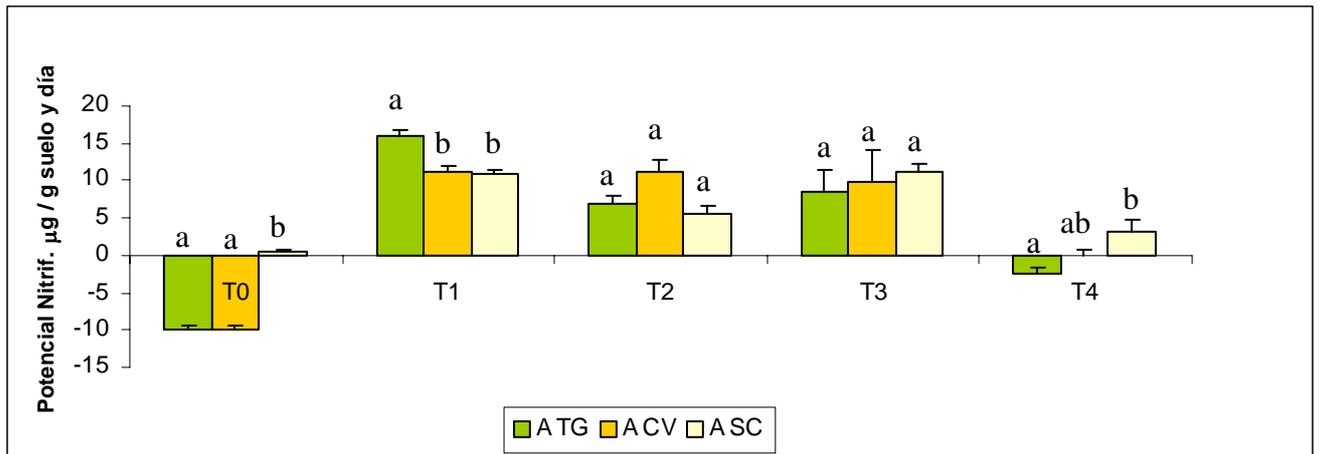


Figura 11. Potencial nitrificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

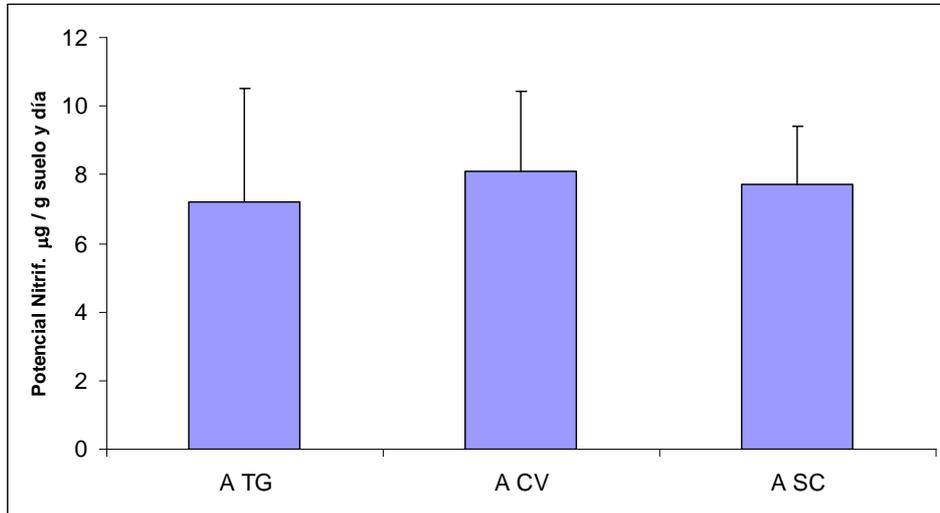


Figura 12. Media de potencial nitrificante de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

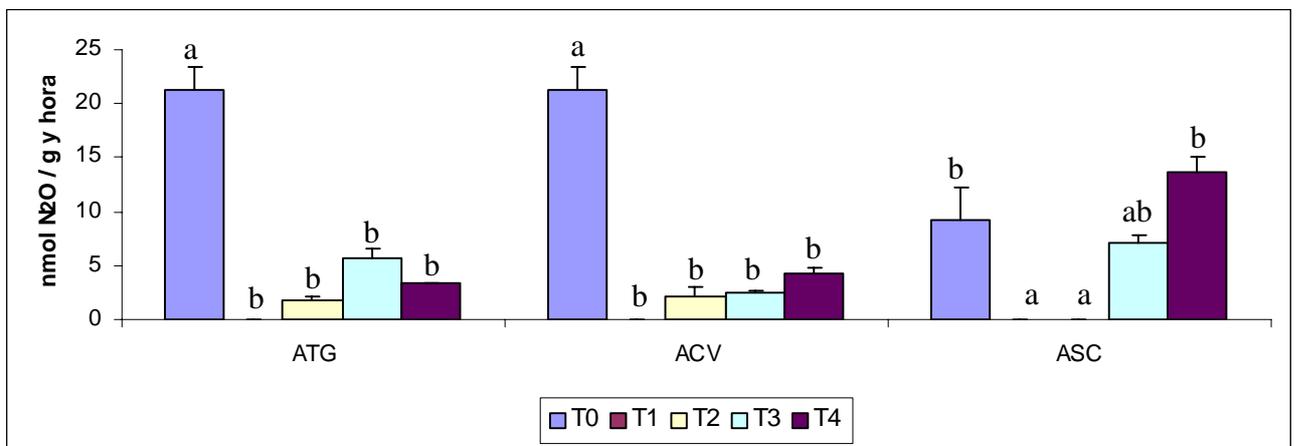


Figura13. Potencial desnitrificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 13 se muestran los resultados obtenidos en la producción de óxidos de nitrógeno. Un mes después de la siembra (T1) no se obtuvieron valores de producción de N₂O detectables con la técnica y equipo utilizados. Dos meses después de la siembra (T2), se pudo observar una mayor producción de óxidos de nitrógeno en los suelos cultivados que en los no cultivados (en los que no se detectó desnitrificación), si bien las diferencias no fueron significativas. Tres meses después de la siembra (T3) se encontraron valores significativamente más bajos en el suelo cultivado con la variedad convencional con respecto a los otros dos (suelo sin cultivar y suelo sembrado con la variedad modificada).

genéticamente). Cinco meses después de la siembra (T4) son los valores del suelo sin cultivar los que aumentan significativamente con respecto a los otros dos.

Hay que destacar que en los dos suelos cultivados, independientemente de que sea transgénica o no, la presencia de la planta hace disminuir significativamente la producción de óxidos de nitrógeno. Estos altos valores de potencial desnitrificante en T0, sobre todo en el suelo de cultivo, coinciden con los valores de nitratos más altos, que también se encuentran en T0 (figura 3). No se puede encontrar una relación con la cantidad de materia orgánica (figura 5) (relación que cabría esperar debido a la gran cantidad de energía que requiere el proceso de desnitrificación) ya que el porcentaje de carbono orgánico es alto y constante en los distintos tratamientos, por lo que no se convierte en limitante. En general, los bajos valores de potencial desnitrificante pueden ser debidos a que este proceso también requiere condiciones de anaerobiosis, y durante toda la etapa de cultivo no se han dado las condiciones necesarias, ya que en cualquier campo de cultivo hay una humedad más o menos adecuada para las plantas pero sin llegar al encharcamiento (excepto en otros tipos de cultivos, como los arrozales) que confiere estas condiciones de anaerobiosis.

En la figura 14 se representa la media de producción de óxidos de nitrógeno teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T0. Aunque no es significativo, el suelo no cultivado, tiene de forma global una producción mayor de N₂O que los suelos cultivados (con plantas transgénicas o convencionales).

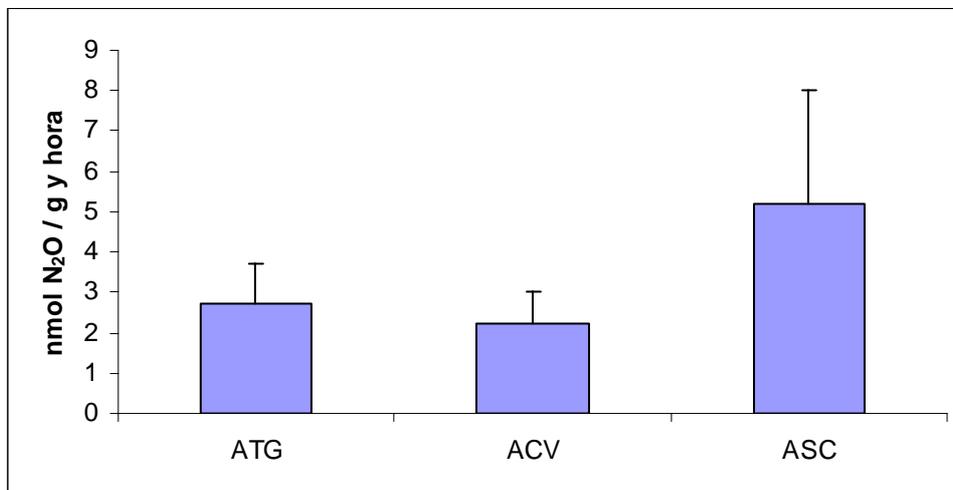


Figura 14. Media de producción de N₂O de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.1.2.2. Resultados del análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).

En la figura 15 se muestran los resultados obtenidos en la producción de dióxido de carbono. Sólo tres meses después de la siembra (T3) se observan aumentos significativos en el suelo cultivado con la variedad modificada genéticamente con respecto a los otros,

aumentos que no parecen relacionados con la cantidad de materia orgánica liberada por exudación (figuras 5 y 6) y sí tal vez con su calidad. Al final del experimento, es el suelo sin cultivar el que tiene los valores mas altos. Hay que destacar la disminución significativa que se produce en los dos suelos cultivados al final del experimento. Se puede observar como el comportamiento de ambos suelos cultivados es similar a lo largo del tiempo, a medida que aumenta la biomasa fotosintética de las plantas aumenta la cantidad de exudados y ésto hace que aumente la respiración de los microorganismos a lo largo de los distintos muestreos. Sin embargo, en la rizosfera de plantas de maíz en el último muestreo se produce un descenso drástico de la respiración de los microorganismos; esto se debe a que en este momento de su ciclo las plantas están utilizando gran parte de la energía para la formación de frutos, esto hace que la exudación sea menor y por tanto la respiración de los microorganismos disminuya.

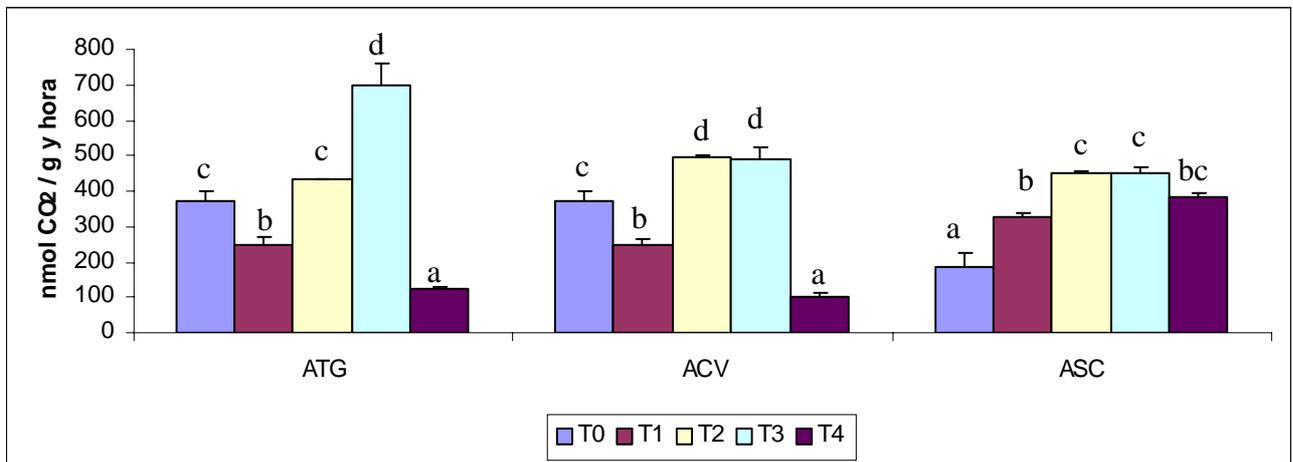


Figura15. Respiración potencial en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 16 se representa la media de producción de dióxido de carbono teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T0. No se observan diferencias significativas.

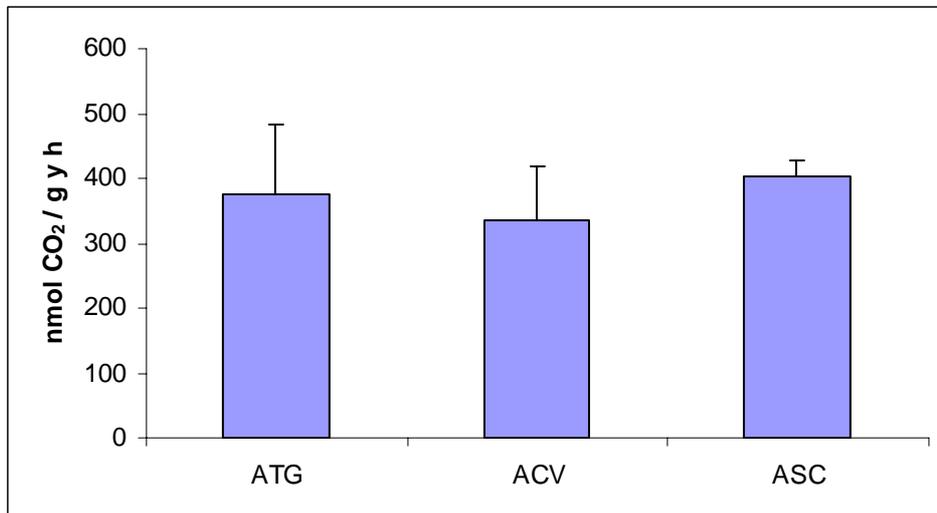


Figura 16. Media de producción de CO₂ de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.2. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Yunquera de Henares (Localidad B, variedad DKC 6575)

3.2.1. Resultados de la caracterización del suelo

3.2.1.1. Determinación del nitrógeno amonio

Sólo aparecen diferencias significativas en la cantidad de amonio en T3, en el que la cantidad de amonio de la rizosfera de plantas convencionales es mayor que en la otras dos, y en T4 en el que el suelo sin cultivar es el que tiene mayor cantidad de amonio (figura 17).

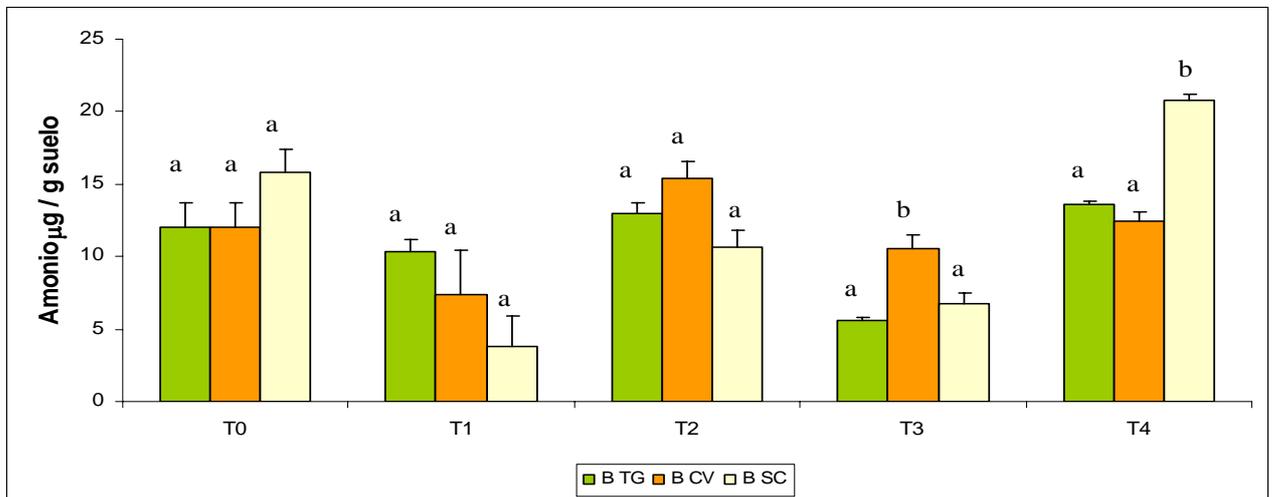


Figura 17. Determinación del nitrógeno amonio en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

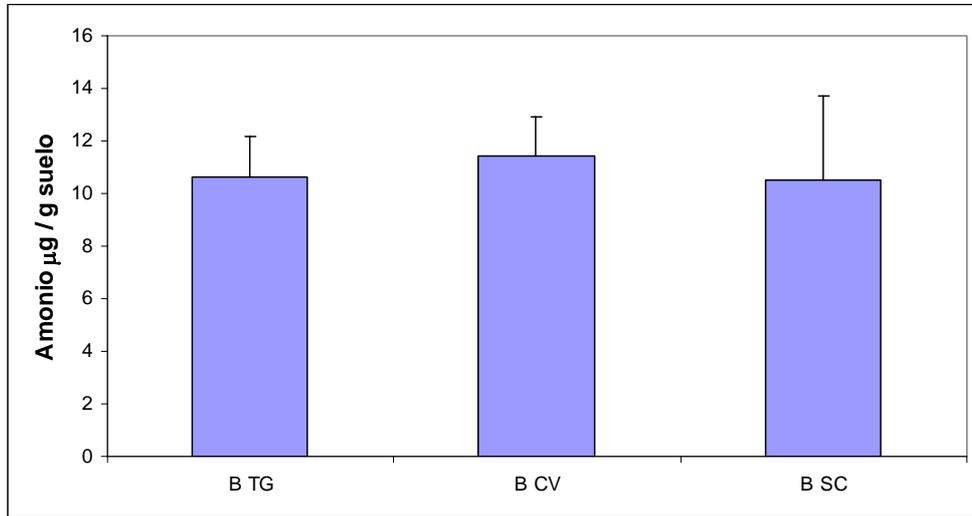


Figura 18. Media de la cantidad de amonio de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

La media de los valores de amonio de los distintos muestreos excepto T0 se presenta en la figura 18. Como se observa en la figura, los valores de amonio más bajos los presenta el suelo sin cultivar, sin embargo estas diferencias no son significativas.

3.2.1.2. Determinación del nitrógeno nitrato

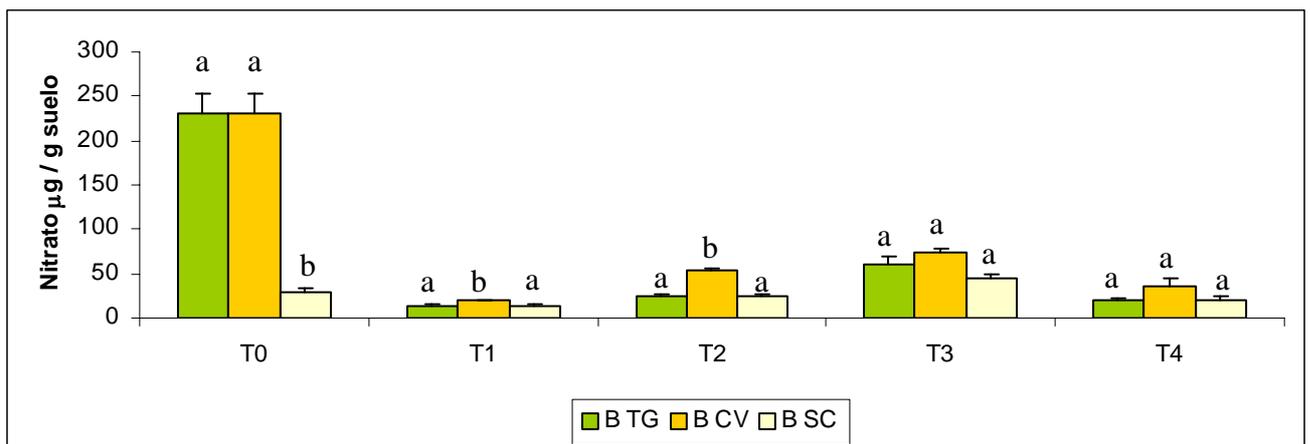


Figura 19. Determinación del nitrógeno nitrato en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

La mayor cantidad de nitratos se encontró en el primer tiempo de muestreo (T0) para los dos suelos cultivados (con plantas transgénicas y convencionales). A partir del siguiente muestreo, los valores de nitratos son mucho más bajos para los tres tratamientos (figura 19). La cantidad de nitratos disminuye a partir de T1 (igual que ocurría en el campo A) porque en el momento que empiezan a salir las plantas necesitan utilizar esos nitratos del suelo, pero a diferencia del campo A, los valores de nitratos se mantienen bajos a lo largo de toda la campaña, a pesar de que se fertilizó con urea después del muestreo de T1. Esto puede indicar que entre el muestreo de T1 (mayo) y T2 (junio), los procesos de mineralización, absorción radical y posibles pérdidas por lixiviación han sido lo suficientemente rápidos como para que no se hayan detectado grandes diferencias en la concentración de nitrato en el suelo.

Los valores medios de nitratos en suelos cultivados con plantas convencionales fueron significativamente mayores que los del suelo sin cultivar, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el suelo cultivado con plantas transgénicas y con plantas convencionales. (figura 20).

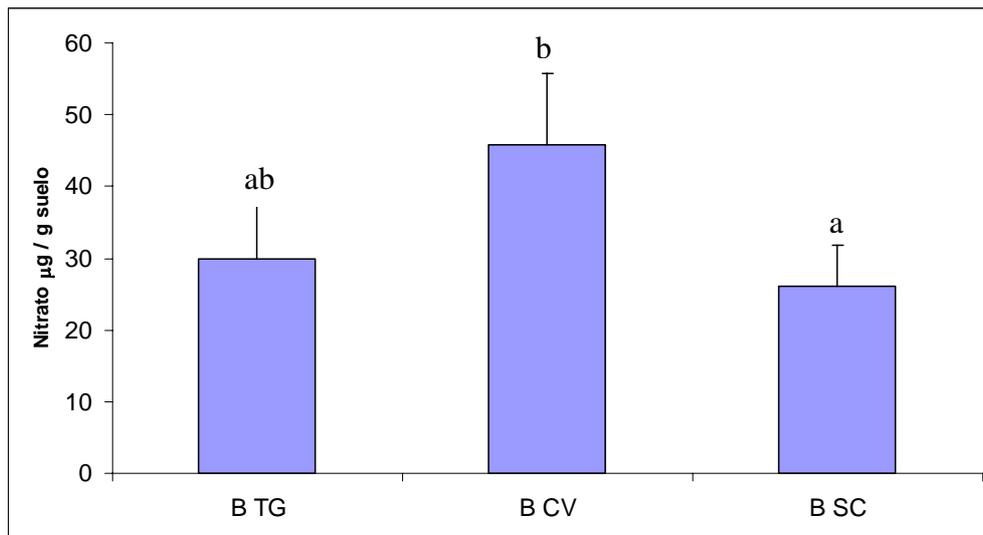


Figura 20. Media de la cantidad de nitrato de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Las letras indican la significación estadística, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

3.2.1.3. Determinación del carbono orgánico

El porcentaje de carbono orgánico, que inicialmente (T0) es de 5.16 en el campo de cultivo, en los siguientes muestreos difiere entre plantas convencionales y transgénicas: siempre es algo mayor en las plantas convencionales que en las transgénicas pero las diferencias son mínimas ya que en las plantas convencionales varía entre el 6 y el 6.4 % y en las transgénicas entre el 4.6 y el 6 %, además, en el último momento de muestreo los valores se igualan para ambos tipos de plantas (figuras 21 y 22)

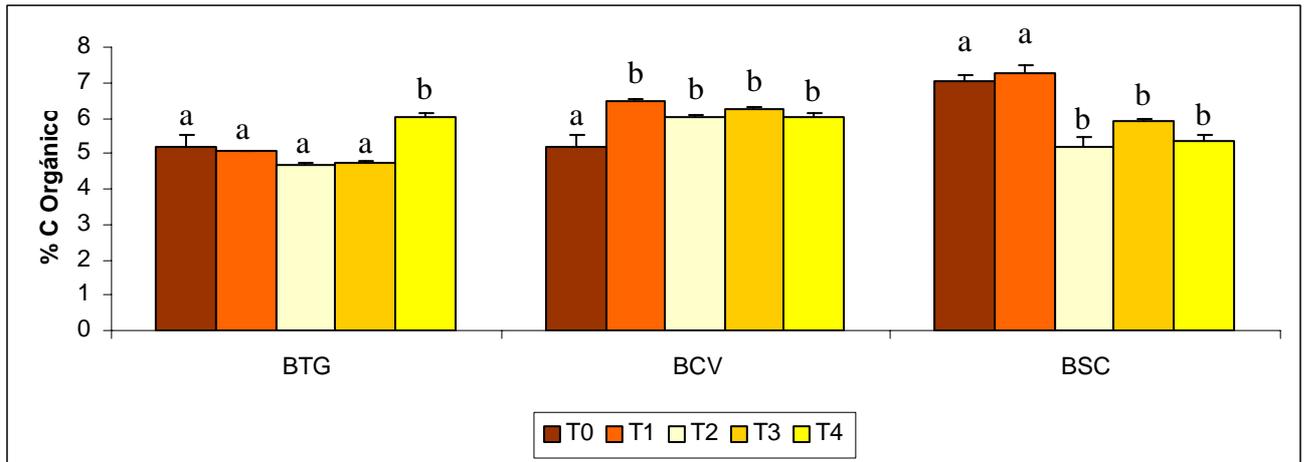


Figura 21. Determinación del carbono orgánico en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

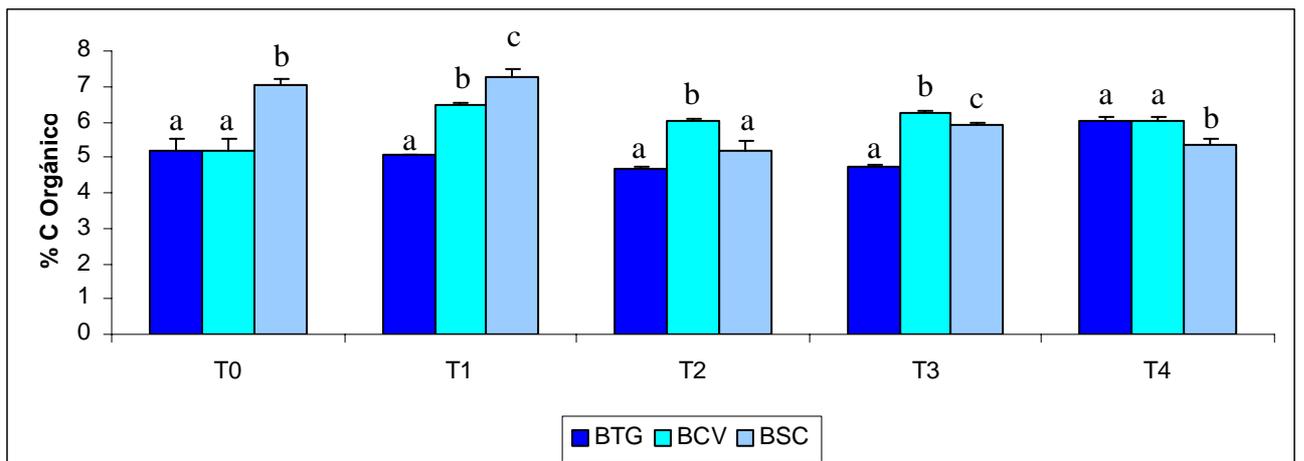


Figura 22. Determinación del carbono orgánico en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

3.2.1.4. Medida del pH

El valor de pH del suelo rizosférico de plantas transgénicas es de aproximadamente 8 en todos los muestreos excepto en el segundo muestreo (T1) en que observamos un incremento significativo de este pH hasta 8.4 (figura 23). En el suelo cultivado con la variedad convencional no hay diferencias significativas de pH entre los distintos muestreos. Y en el suelo sin cultivar sólo en el primer muestreo (T0) el valor de pH es significativamente más bajo que en el resto de muestreos (figura 23). En la figura 24 se representan los mismos valores de pH pero representando los distintos muestreos en el eje de las x. Se

puede observar de nuevo que los valores de pH de los suelos cultivados, bien con plantas transgénicas o bien con plantas convencionales, son bastante similares entre sí, sólo existe una gran diferencia entre ellos en T1.

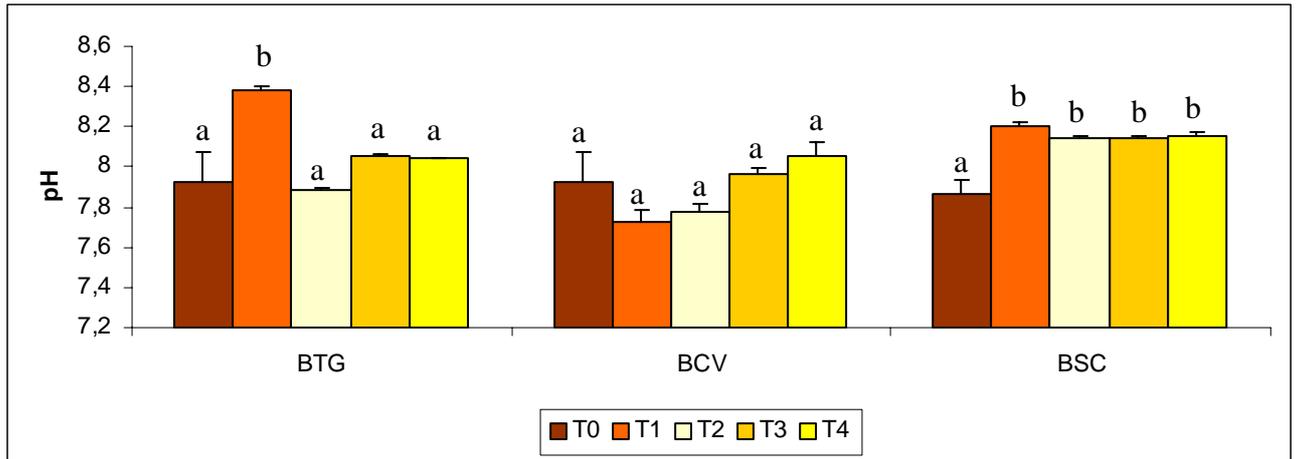


Figura 23. Valores de pH en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

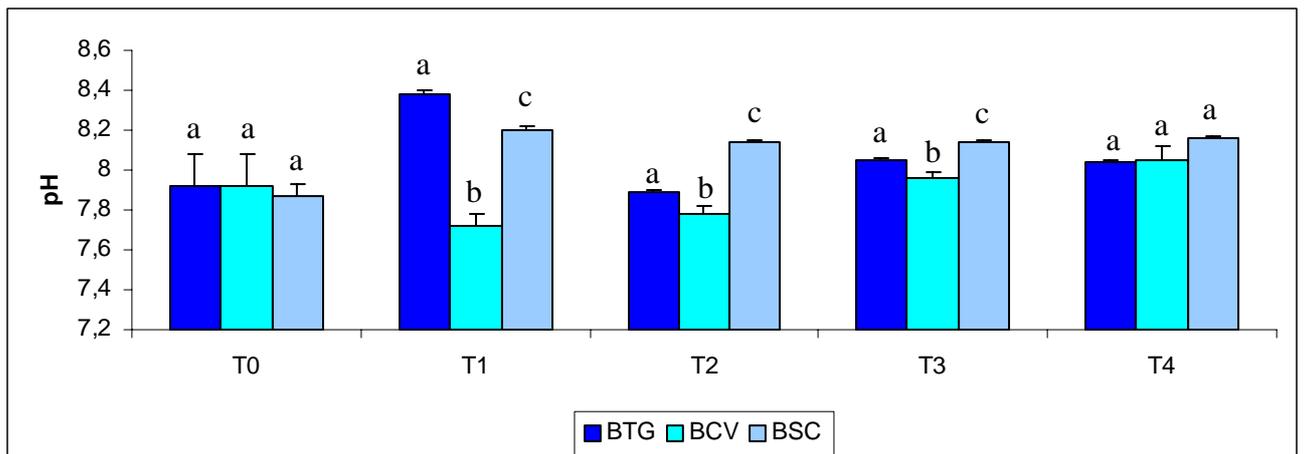


Figura 24. Valores de pH en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

3.2.2. Resultados del Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.

3.2.2.1. Resultados de los Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.

3.2.2.1.1. Potencial amonificante

Como se observa en la figura 25, no se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos en el valor del potencial amonificante en ninguno de los momentos de muestreo. Éste valor es más alto al principio (en T0 y T1 está alrededor de 0.008 g / g suelo y hora), disminuye en los dos muestreos siguientes (T2 y T3, alrededor de 0.005 g / g suelo y hora) y en T4 es cuando se midió el potencial amonificante más bajo (alrededor de 0.0017 g / g suelo y hora). La disminución del potencial amonificante en T4, puede deberse al fuerte granizo caído alrededor del muestreo anterior que dañó a las plantas, en concreto las hojas; esto reduce la capacidad fotosintética de las plantas y por tanto los niveles de exudación. Los exudados también disminuyen a medida que se van desarrollando los frutos, porque los fotosintatos se traslocan preferentemente a estos frutos, y esto también explica la disminución del potencial amonificante, sobre todo en los últimos muestreos (figura 25).

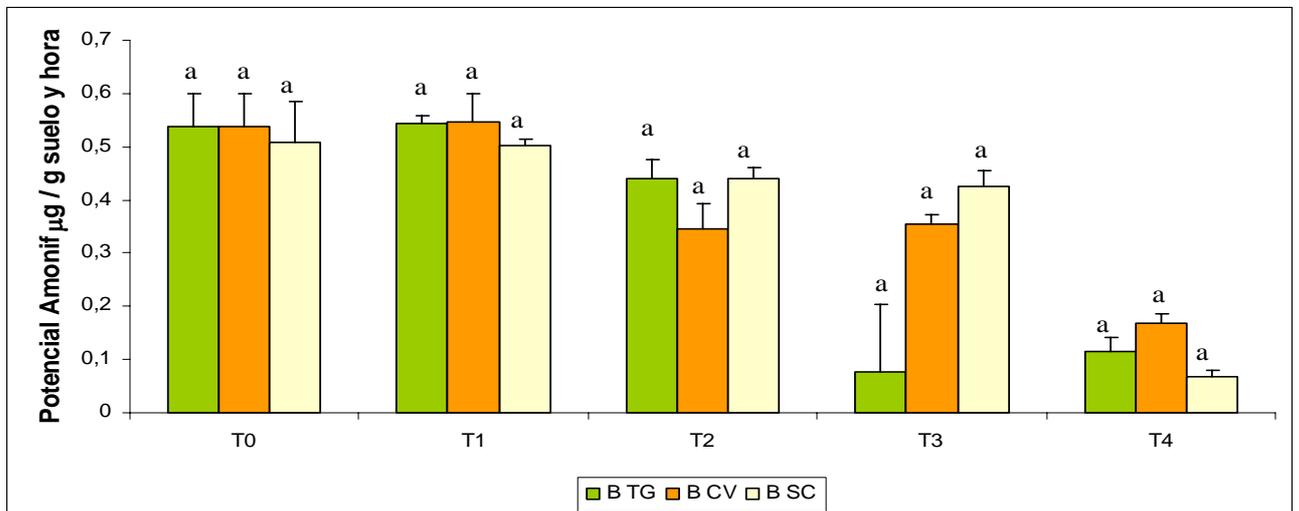


Figura 25. Potencial amonificante en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

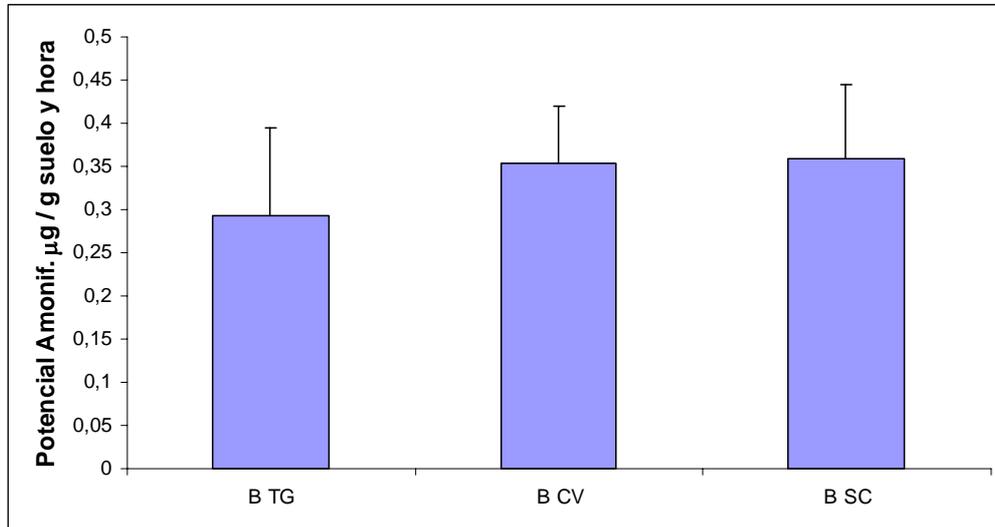


Figura 26. Media del potencial amonificante de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.2.2.1.2. Potencial nitrificante

En la figura 27 se presentan los valores obtenidos para el potencial nitrificante. El perfil de estos valores a lo largo del tiempo es muy similar al del potencial nitrificante en el otro campo (A). Valores negativos de nitrificación en T0, que se recuperan en T1 y se mantienen así hasta T3, y en T4 los valores de nitrificación son prácticamente cero. Los valores negativos de nitrificación en T0 en el campo de cultivo, coinciden con los valores más altos de nitratos (figura 19) ya que el nitrato, al ser el producto de la reacción de nitrificación, la inhibe.

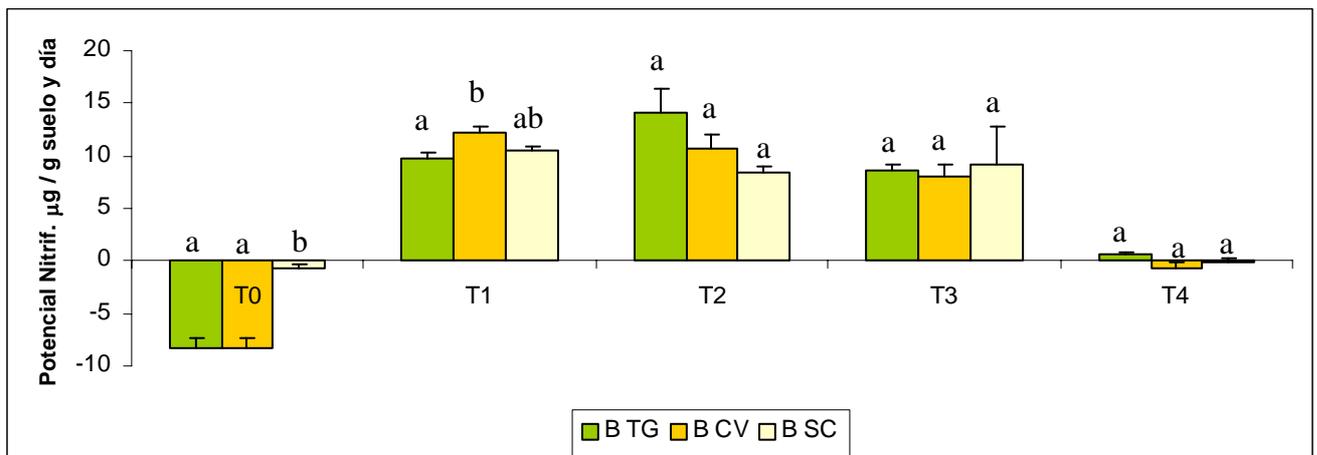
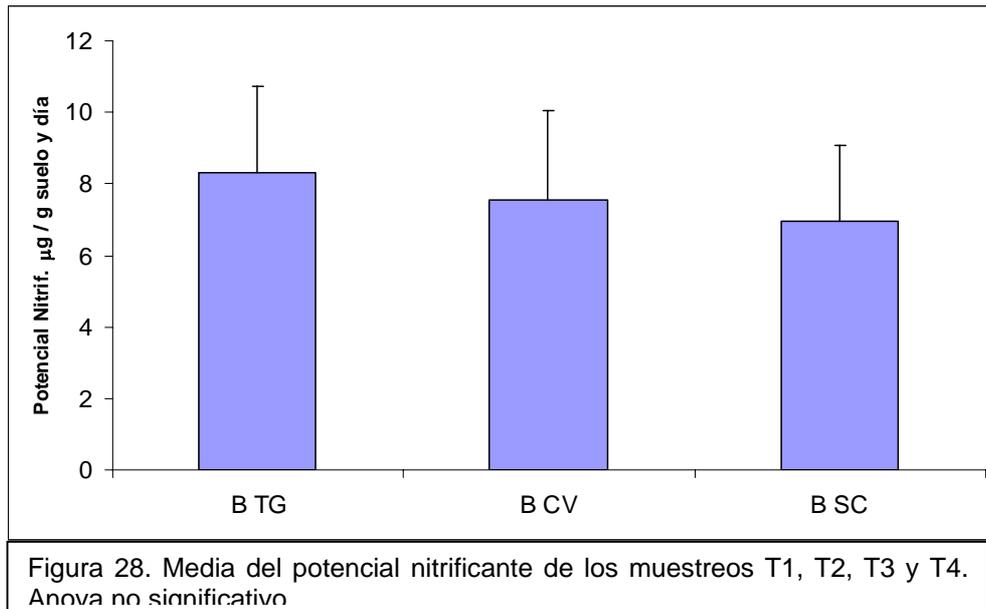


Figura 27. Potencial nitrificante en la localidad B (Yunque de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 28 aparecen representados los valores medios de potencial nitrificante a lo largo de todos los muestreos (excepto T0). El valor más alto es el del suelo rizosférico de plantas transgénicas y el más bajo el de el suelo sin cultivar. Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los tres tratamientos.



3.2.2.1.3. *Potencial desnitrificante*

En la figura 29 se muestran los resultados obtenidos en la producción de óxidos de nitrógeno. Un mes (T1) y tres meses (T3) después de la siembra se encuentran valores significativamente menores que en el resto de tiempos de muestreo. En estos momentos, los dos suelos cultivados muestran valores menores que el suelo no cultivado. Los dos suelos cultivados muestran similares comportamientos. Al final del experimento, los dos, muestran valores significativamente mayores que en momentos anteriores, exceptuando el primer muestreo (antes de la siembra). Los altos niveles de desnitrificación antes de la siembra (T0) coinciden con los mayores niveles de de nitratos (sustrato del proceso de desnitrificación). Igual que ocurría en el campo A, el carbono orgánico no parece limitante.

En la figura 30 se representa la media de producción de óxidos de nitrógeno teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T0. En este caso los dos suelos cultivados (bien con plantas modificadas genéticamente, bien con plantas convencionales) muestran valores muy similares, y es el suelo sin cultivar el que presenta los valores más altos, aunque esta diferencia no es significativa.

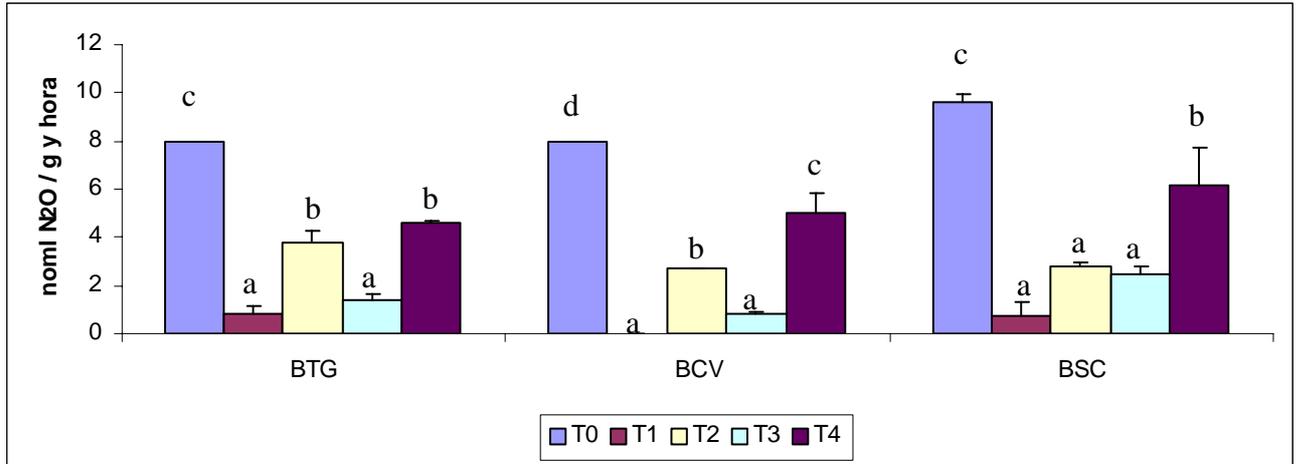


Figura 29. Potencial desnitrificante en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

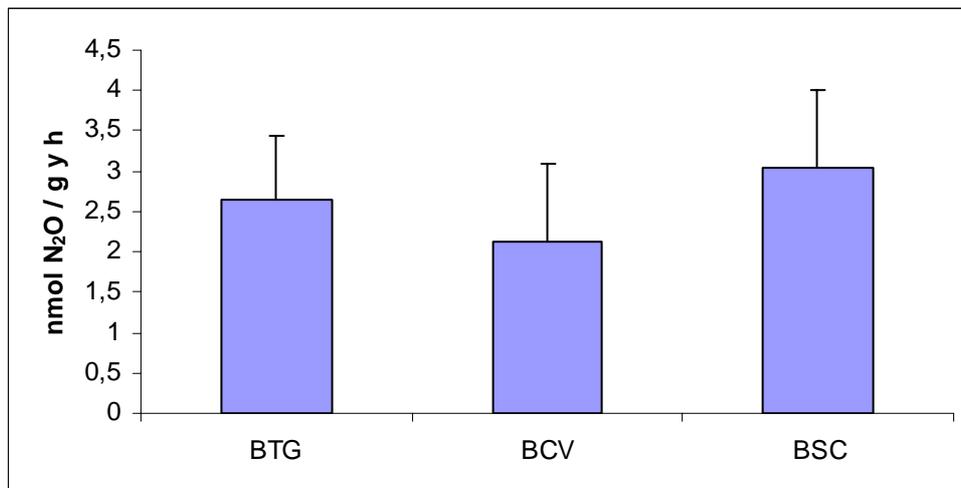


Figura 30. Media del potencial desnitrificante de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

3.2.2.2. Resultados del Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).

En la figura 31 se muestran los resultados obtenidos en la producción de dióxido de carbono. Hay que destacar la disminución significativa que se produce en los dos suelos cultivados al final del experimento. Se puede observar como el comportamiento de ambos

suelos cultivados es similar a lo largo del tiempo, aumenta en los tiempos intermedios a medida que la planta desarrolla superficies fotosintéticas cada vez mayores y por tanto cada vez produce más cantidad de exudados, lo que a su vez hace que aumente la respiración de los microorganismos del suelo. Sin embargo, en el último muestreo, la respiración es mucho menor, debido a que los niveles de exudación de la planta disminuyen en el momento de formación de los frutos, ya que gran parte de la energía se dedica a la formación de éstos. En el caso del suelo sin cultivar, al desarrollarse plantas de menor porte (leguminosas, gramíneas, brasicáceas, todas ellas ruderales) y de ciclo fenológico corto, el proceso se evidencia en T3.

En la figura 32 se representa la media de producción de dióxido de carbono teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T0. Aunque no es significativo, el suelo cultivado con la planta modificada convencional, tiene de forma global una producción mayor de CO₂ que los suelos cultivados con la variedad modificada genéticamente.

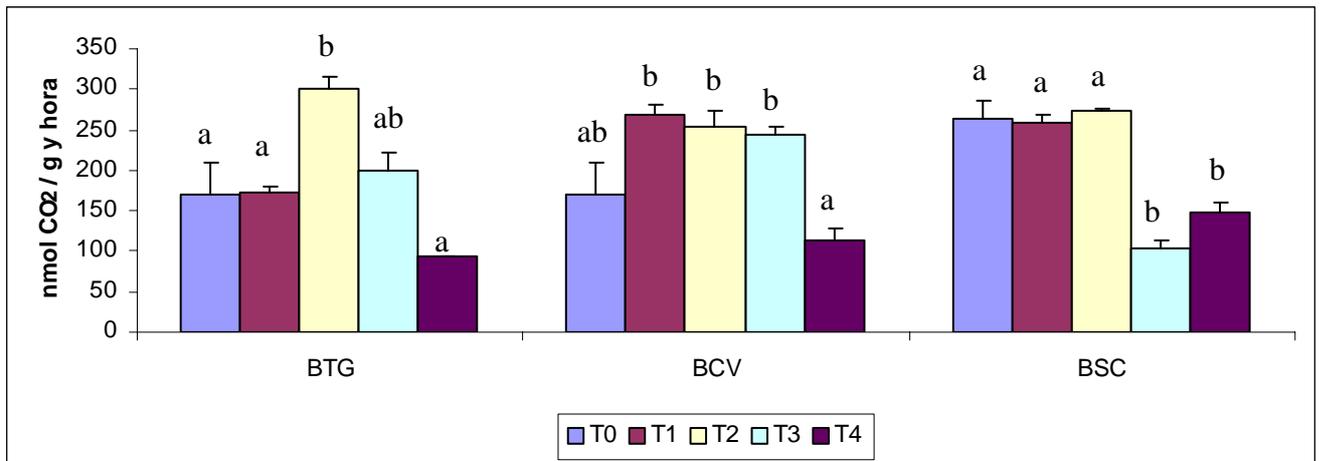


Figura 31. Respiración potencial en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

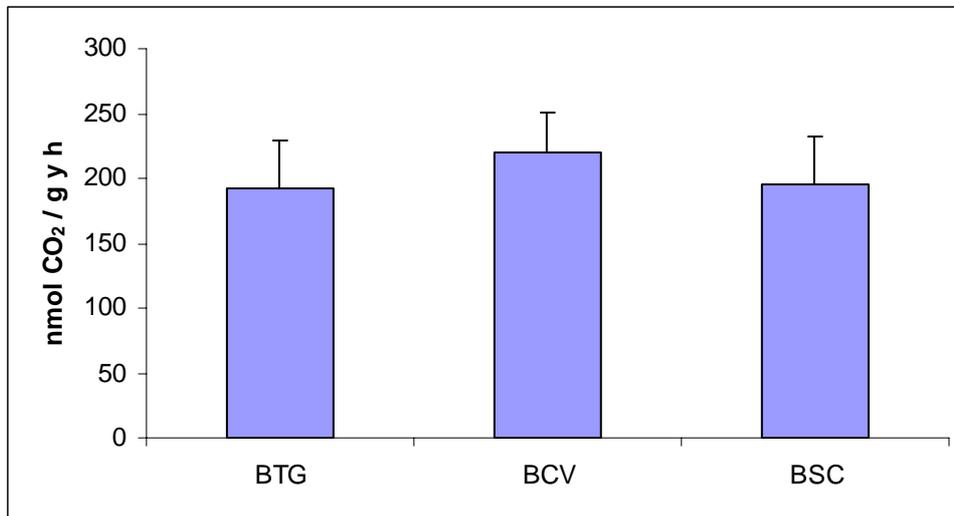


Figura 32. Media de la producción de CO₂ de los muestreos T1, T2, T3 y T4. Anova no significativo.

En las figuras 33, 34, 35 y 36 se muestran, a modo de resumen, los resultados de los dos suelos ensayados al mismo tiempo. Los datos representados en todos los casos son las medias de todos los tiempos de muestreo de las actividades enzimáticas del ciclo del nitrógeno y la respiración potencial.

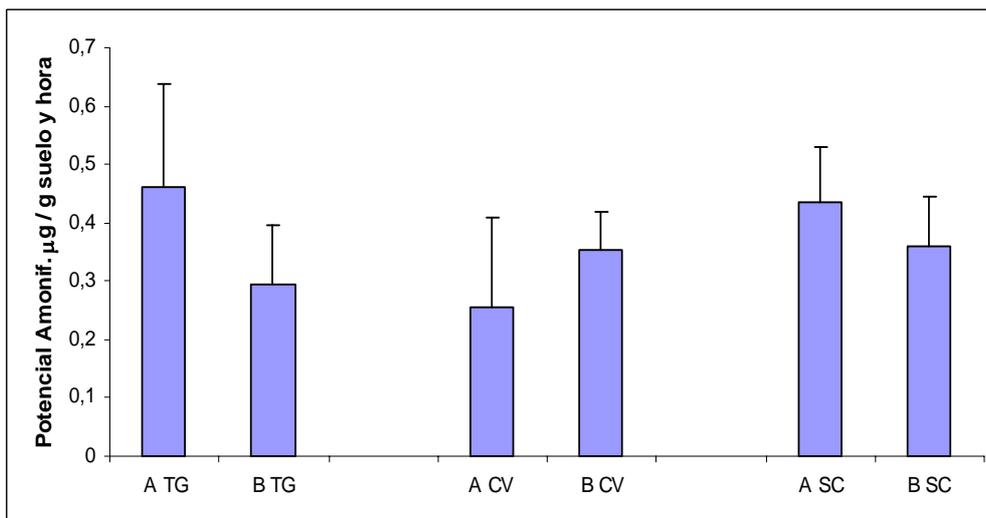


Figura 33. Media del Potencial Amonificante teniendo en cuenta los tiempos de muestreo T1, T2, T3 y T4 de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas.

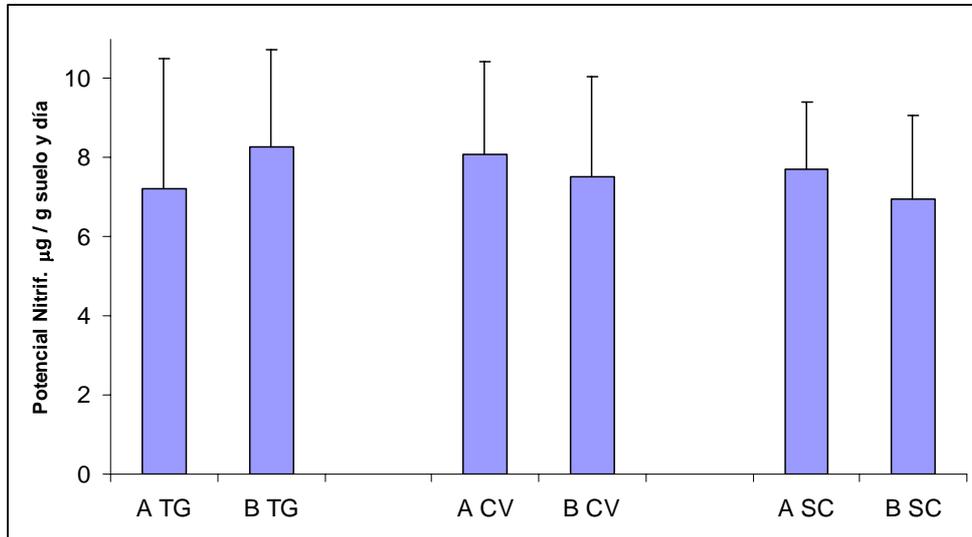


Figura 34. Media del Potencial Nitrificante teniendo en cuenta los tiempos de muestreo T1, T2, T3 y T4 de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas.

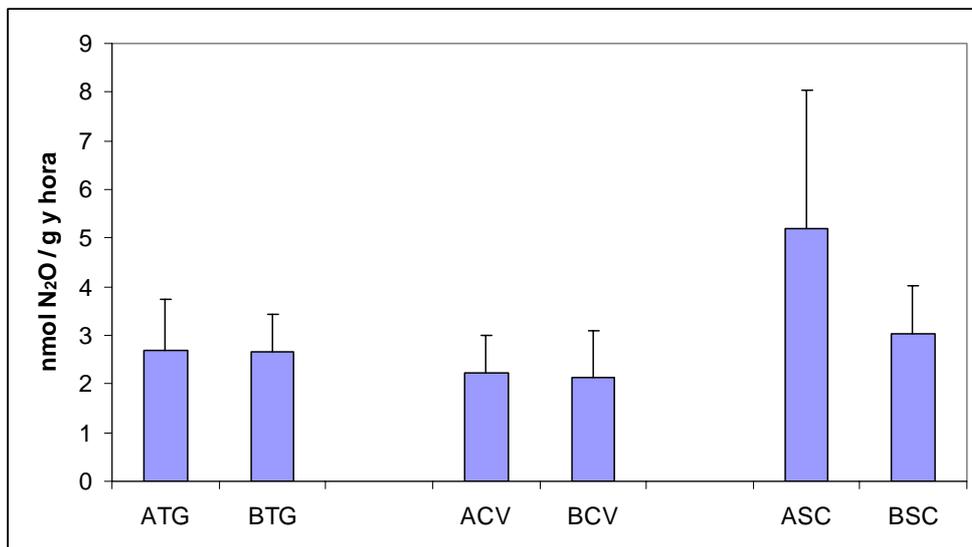


Figura 35. Media del Potencial Desnitrificante teniendo en cuenta los tiempos de muestreo T1, T2, T3 y T4 de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas.

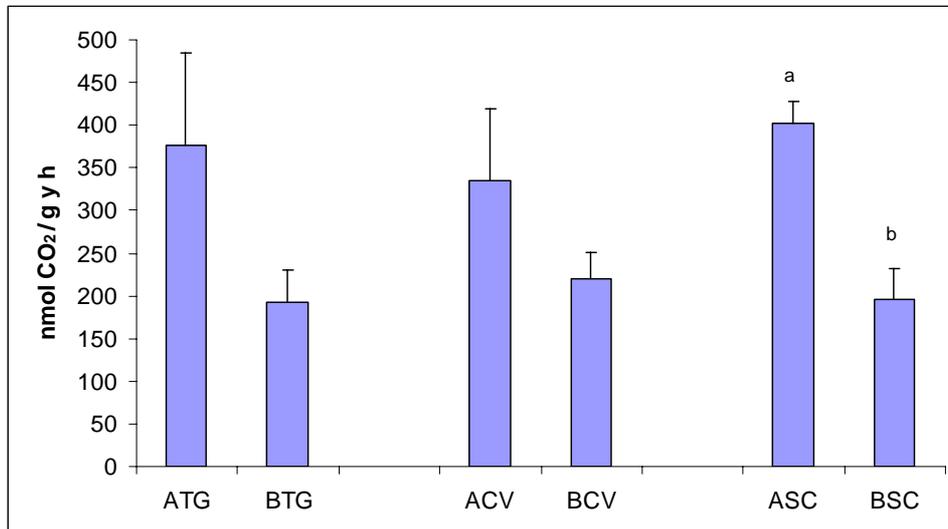


Figura 36. Media de la producción de CO₂ teniendo en cuenta los tiempos de muestreo T1, T2, T3 y T4 de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas, excepto en el suelo sin cultivar ($p \leq 0.05$).

4.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, podemos indicar las siguientes conclusiones:

1. Comparando los suelos cultivados (con variedad convencional o modificada genéticamente) con los no cultivados, dentro de cada campo, se encontraron algunas diferencias que en la mayoría de los casos no fueron significativas. **Estas diferencias resultan obvias, ya que los primeros están expuestos a un manejo agrícola y los segundos no. Por otro lado tenemos que indicar además, que este suelo que hemos denominado *no cultivado* es en realidad un suelo adyacente a la parcela cultivada que no tenía ningún manejo agrícola y en el que crecía una comunidad vegetal muy diversa. El hecho de haber escogido este suelo no fue una decisión arbitraria, se quería estudiar si la condición de transgénico tiene una menor incidencia sobre la comunidad microbiana del suelo que los manejos agrícolas, y así lo muestran los resultados.**
2. **Tanto la desnitrificación potencial como la respiración potencial alcanzan valores inferiores en las variedades convencionales y modificadas cultivadas con respecto al suelo no cultivado. Esta conclusión se verifica en los dos campos ensayados. Este aspecto resulta importante sobre todo respecto a la desnitrificación ya que las pérdidas de nitrógeno en los suelos cultivados se minimizan con respecto a los suelos no cultivados.**
3. **En los dos campos de cultivo ensayados, se observa una tendencia hacia un mejor reciclado del nitrógeno orgánico en los suelos cultivados que en los no cultivados. Esta tendencia (si bien no hay diferencias significativas) es más marcada en la rizosfera de las plantas transgénicas. En este aspecto se puede ver que las características fisico-químicas del suelo juegan un importante papel, ya que en el campo de cultivo A el proceso que se ve activado bajo la presencia de las plantas transgénicas es la amonificación mientras que en el campo de cultivo B es la nitrificación. Tampoco podemos descartar que al tratarse de dos variedades transgénicas procedentes de ecotipos diferentes se produzcan algunas diferencias en la exudación radical que puedan estar influyendo en lo comentado anteriormente. Este argumento puede servir de igual modo en las variedades convencionales en las que también se observan estas diferencias.**
4. **Por los datos obtenidos, no existen diferencias significativas entre la variedad convencional y la variedad modificada genéticamente si bien hay una ligera tendencia hacia un mejor reciclado del nitrógeno (fertilidad del suelo) en los suelos cultivados con la variedad transgénica que en la convencional.**

SEGUNDA CAMPAÑA

5.- INTRODUCCIÓN

En el segundo año de ensayo, se ha trabajado sobre las mismas variedades modificadas genéticamente y convencionales de maíz que el primer año, y en los mismos campos de cultivo en los que las variedades convencional y transgénica fueron sembradas en las mismas parcelas que el año anterior (ver apartado1).

Desde el 21 de Abril de 2005 hasta el 12 de Septiembre de 2005, se realizaron 5 muestreos, el primero de ellos antes de la siembra y el resto con la presencia de plantas. En todos los casos, se recogieron muestras de suelo rizosférico procedentes de maíz convencional, maíz transgénico y de un suelo cercano no cultivado.

El suelo recogido se llevó al laboratorio y se midieron los siguientes parámetros:

- a) Transformaciones del nitrógeno (amonificación, nitrificación y desnitrificación potenciales).
- b) Transformaciones del carbono (mineralización del carbono).

En ambos casos, se trata de parámetros íntimamente relacionados con la fertilidad del suelo y que están directamente relacionados con la actividad de los microorganismos del suelo y para determinarlos se siguieron los procedimientos descritos en el siguiente apartado.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño experimental seguido es el mismo que en la primera campaña y aparece descrito en el apartado 2.0. de este informe. Así mismo, la caracterización físico-química del suelo y los análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana se determinaron siguiendo los métodos descritos en los apartados 2.1. y 2.2.

7.- RESULTADOS

7.1. Resultados de la variedad con MON 810 cultivada en Marchamalo (Localidad A, variedad PR33P67)

7.1.1. Resultados de la caracterización del suelo

7.1.1.1. Determinación del nitrógeno amonio

En la figura 37 se muestran los resultados de amonio. En T5 (sin la presencia de plantas) no existen diferencias significativas. Sin embargo, a partir de T6 la presencia de plantas induce cambios en la concentración de amonio provocando diferencias significativas, siendo destacable la mayor cantidad de amonio en la rizosfera de las plantas transgénicas que en la rizosfera de las plantas convencionales y que el suelo sin cultivar. Teniendo en cuenta que tanto los manejos agrícolas como las condiciones ambientales afectan igual a unas que a otras, las diferencias pueden ser justificadas por un efecto diferencial de los exudados radicales, que deben ser distintos en calidad y cantidad. En T9 se igualan los valores en los campos cultivados y con cantidades menores que al comienzo de la campaña. Estos resultados pueden estar en relación con que en T9 las plantas disminuyen la liberación de exudados porque requieren un aporte de nutrientes muy importante para la formación de los frutos.

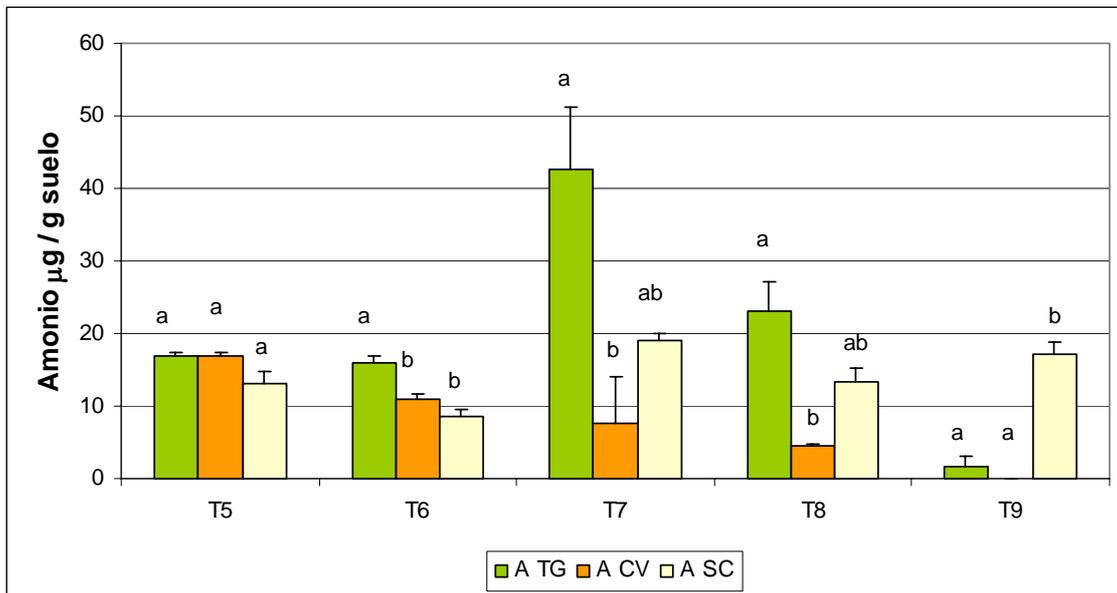


Figura 37. Determinación del nitrógeno amonio en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

En la figura 38 se presenta la media de la cantidad de amonio entre los distintos muestreos, **excepto T5 cuya medida de amonio no se ha incluido, ya que lo que**

interesa es apreciar las posibles diferencias, si las hubiera, entre plantas transgénicas y convencionales, y en T5 no había plantas. Se observó que la cantidad de amonio en las rizosferas de plantas transgénicas fue significativamente mayor que en las convencionales y los valores de amonio en el suelo sin cultivar se situaron en valores intermedios. Estos datos parecen indicar un efecto diferencial de los exudados de las plantas. Los exudados de las plantas transgénicas parecen mejorar el reciclado de la materia orgánica nitrogenada, lo que repercute en la concentración de amonio en la rizosfera.

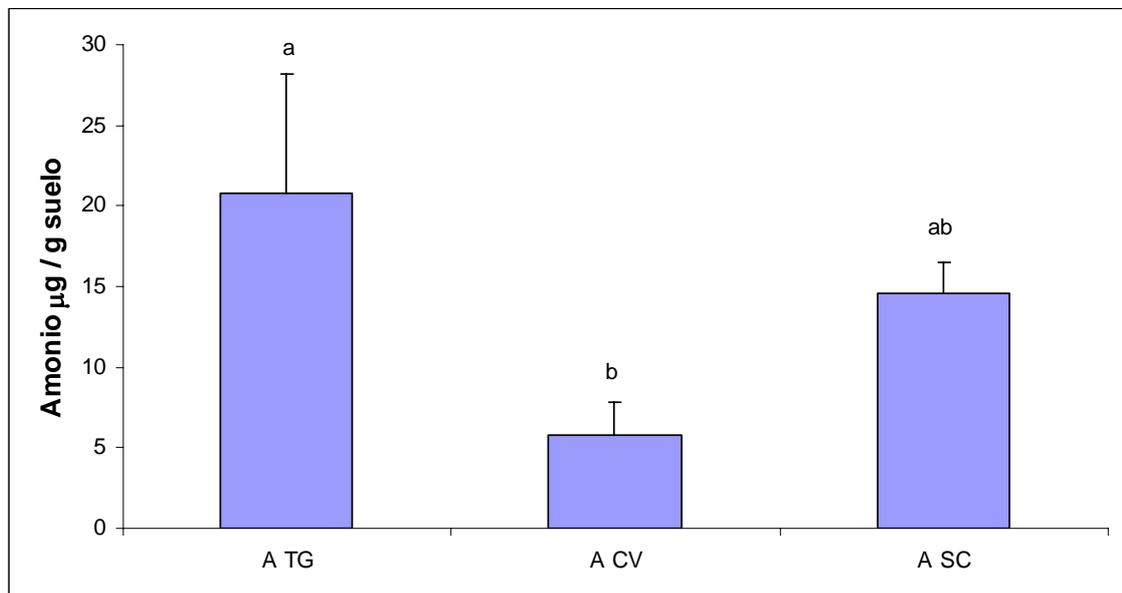


Figura 38. Media de la cantidad de amonio de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Las letras indican la significación estadística; letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.1.1.2. Determinación del nitrógeno nitrato

En la figura 39 se presentan los resultados de las medidas de nitratos. En los dos primeros momentos de muestreo no existen diferencias en la cantidad de nitratos entre plantas transgénicas, convencionales y suelo sin cultivar. En T7 cabe destacar un incremento de la cantidad de nitratos, probablemente debida a la adición de algún fertilizante nitrogenado al campo de cultivo a finales del mes de mayo (T6), momento a partir del cual los requerimientos nutricionales de la planta aumentan mucho por las condiciones ambientales y por la propia fisiología de la planta (floración y fructificación)

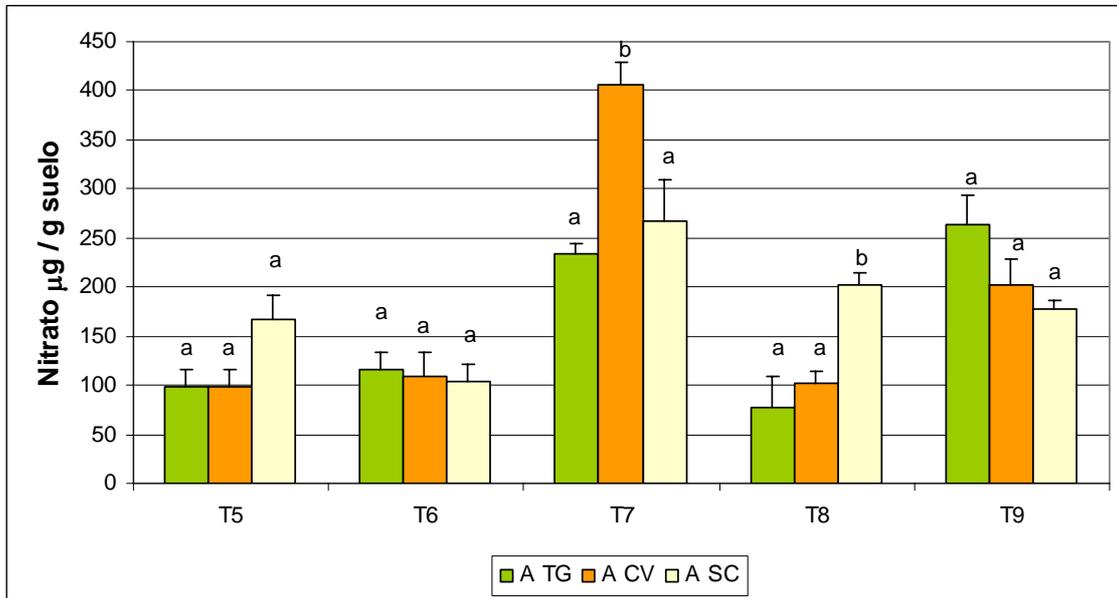


Figura 39. Determinación del nitrógeno nitrato en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

En la figura 40 se puede observar que la cantidad de nitratos (media de los valores de nitrato de los distintos momentos de muestreo excepto T5) en los tres es muy similar (valores entre 170 y 200 g nitrato / g suelo) y, de hecho, no se encontraron diferencias estadísticas. El manejo del nitrato en los sistemas agrícolas está muy intervenido por la mano del hombre, ya que es un nutriente que se pierde con mucha facilidad del sistema, tanto a través de la lixiviación como por el proceso desnitrificante. Por este motivo, pensamos que, en este caso, el factor manejo tiene mucha más importancia sobre los datos encontrados que el efecto de los exudados radicales.

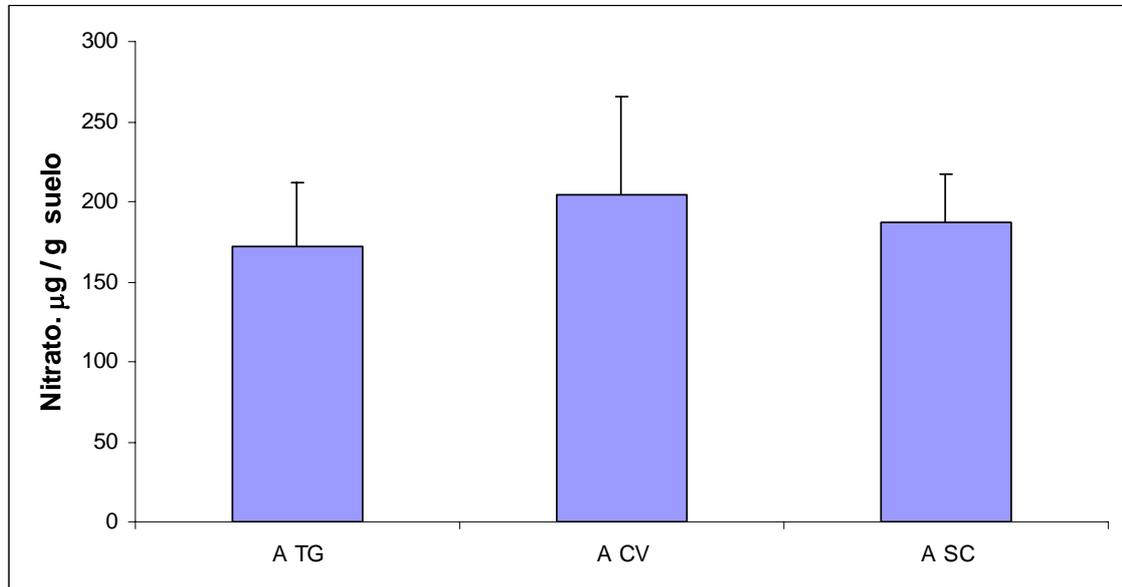


Figura 40. Media de la cantidad de nitrato de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.1.1.3. Determinación del carbono orgánico

En la figura 41 se presentan los valores de carbono orgánico. Las variaciones detectadas a lo largo del experimento son análogas en las tres rizosferas. En el suelo sin cultivar no se observan diferencias significativas en la cantidad de materia orgánica entre los diferentes momentos de muestreo. En cambio, las rizosferas de maíz transgénico y convencional presentan variaciones significativas en la cantidad de carbono, encontrándose los mayores valores de materia orgánica en T5 y T8. En la figura 42 están representados estos mismos valores a lo largo el tiempo, y en ella se puede observar que en T5 y T8 no hay diferencias significativas entre tratamientos, pero en los demás momentos de muestreo, hay más carbono orgánico en el suelo sin cultivar que en el suelo cultivado (con planta transgénica o convencional).

La cantidad de carbono orgánico es mayor en el suelo no cultivado (figura 41), lo que puede tener que ver con los datos de respiración (figura 51 y 52). Este hecho puede estar relacionado con una diferencia en la cantidad de los exudados liberados por las plantas que de forma natural se encuentran en las zonas no cultivadas, así como una diferencia en la mayor o menor dificultad de mineralización de dichos exudados.

Los casos en los que no se observan diferencias significativas de porcentaje de carbono entre diferentes plantas, se puede pensar que es debido a que esas plantas tienen similares patrones de exudación (en términos cuantitativos) que están determinando que en la rizosfera de esas plantas la cantidad de materia orgánica sea similar (figura 42).

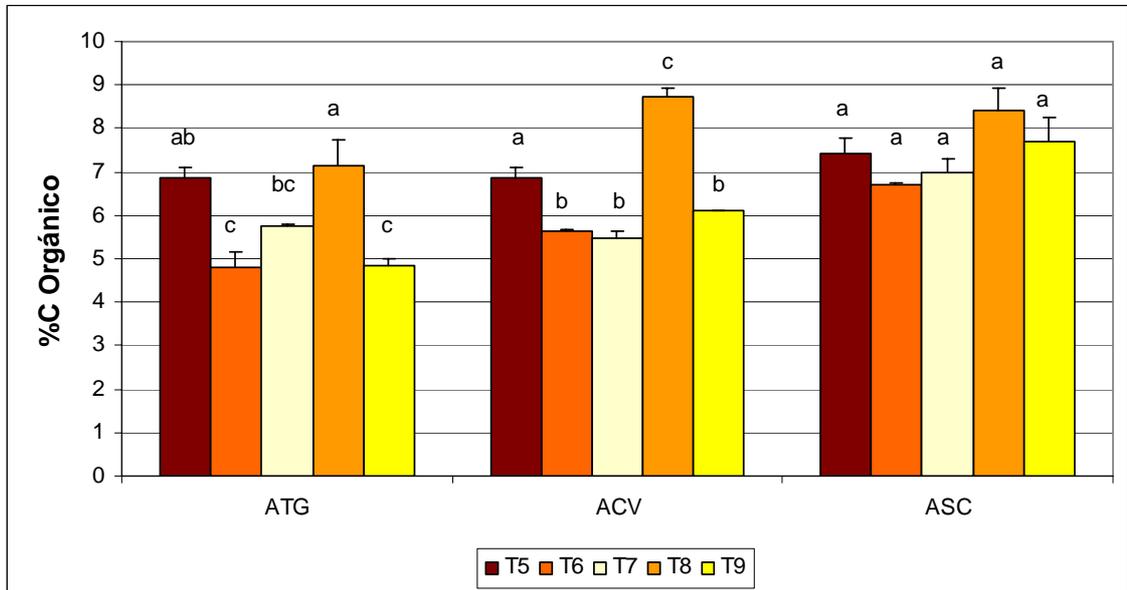


Figura 41. Determinación del carbono orgánico en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

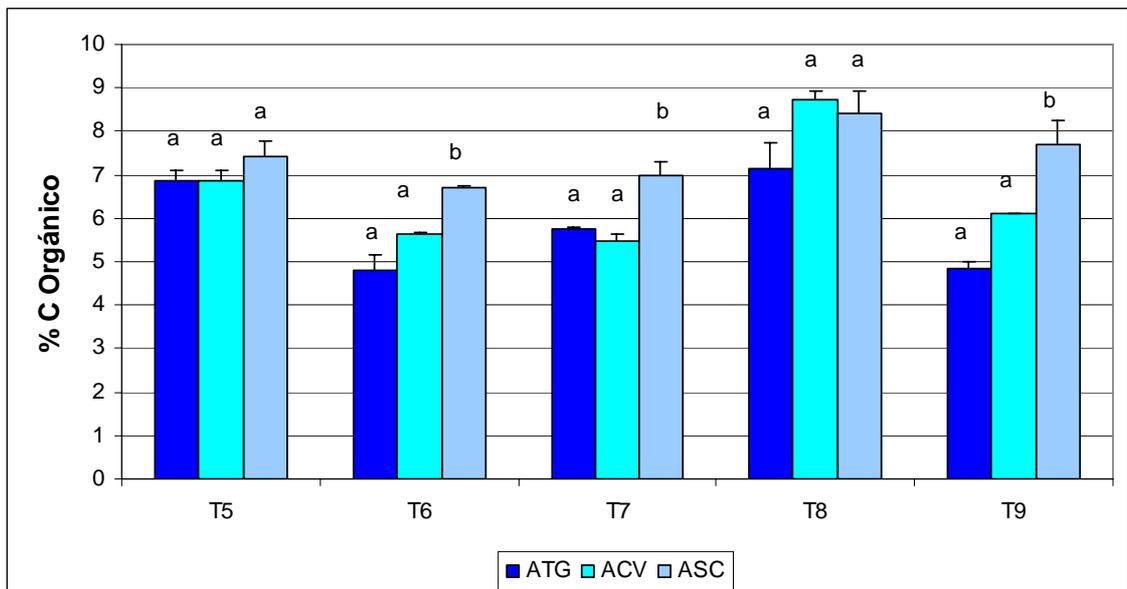


Figura 42. Determinación del carbono orgánico en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

7.1.1.4. Medida del pH

En las figuras 43 y 44 se muestran las medidas de pH. No existen diferencias significativas en los valores de pH del suelo sin cultivar entre los distintos momentos de muestreo, en cambio en el suelo cultivado se observan algunas diferencias en los valores de pH según el momento de muestreo (figura 43).

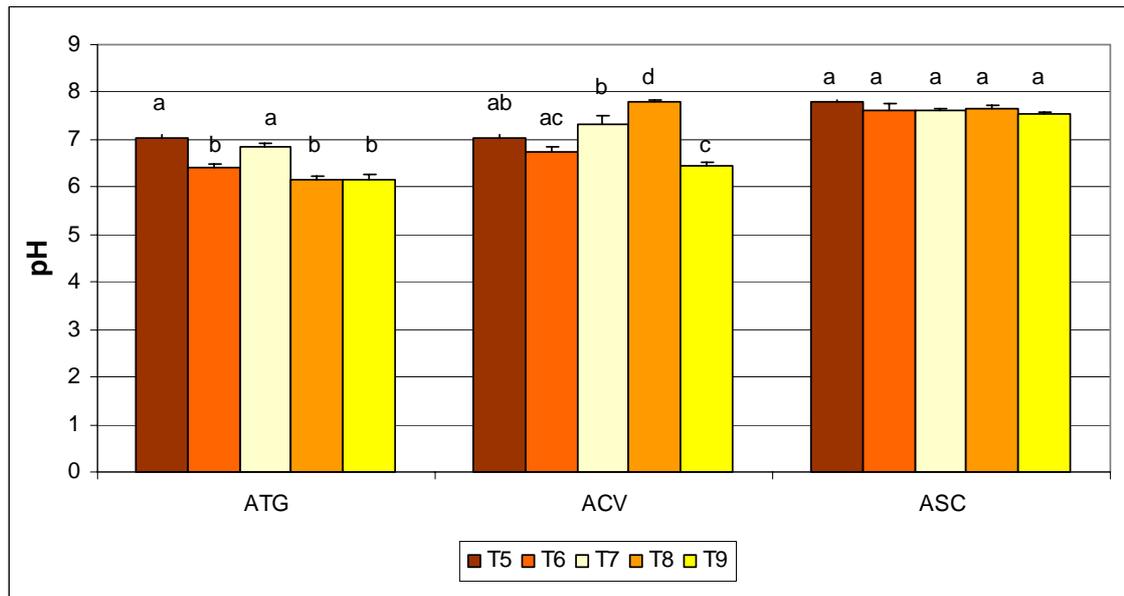


Figura 43. Valores de pH en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

Los valores de pH del suelo sin cultivar son más altos que los del suelo cultivado con plantas transgénicas o convencionales; (figuras 43 y 44). En el suelo cultivado el pH se encuentra en valores entre 6 y 7 (excepto ACV T7 y T8, que tienen un pH un poco más alto) y en el suelo sin cultivar entre 7 y 8. La similitud en el valor de pH de los dos suelos cultivados, bien con plantas transgénicas bien con plantas convencionales, puede ser debida a:

- Que el "manejo agrícola" del suelo es el mismo, y este manejo no se lleva a cabo en el suelo sin cultivar cercano (ASC).
- Que la actividad microbiana en la rizosfera de las plantas cultivadas es mayor que en la rizosfera de las plantas que crecen en el suelo sin cultivar, lo que produce una disminución del pH en las parcelas cultivadas.

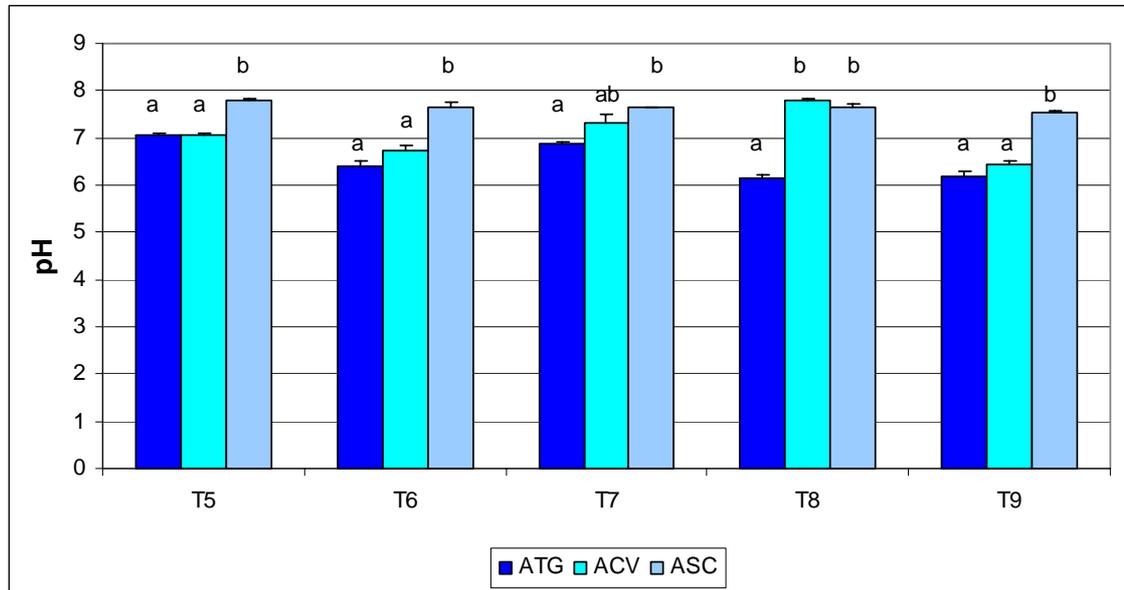


Figura 44. Valores de pH en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

7.1.2. Resultados del Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.

7.1.2.1. Resultados de los Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.

7.1.2.1.1. Potencial amonificante

Como se observa en la figura 45 el potencial amonificante presenta valores negativos (procesos de inmovilización) en los tres primeros muestreos; en los dos últimos muestreos, los valores van siendo más altos (valores positivos). Dentro de cada momento de muestreo prácticamente no hay diferencias significativas entre tratamientos (sólo para la rizosfera de plantas transgénicas en T7 que es más bajo que para la rizosfera de plantas convencionales y el suelo sin cultivar, y para el suelo sin cultivar en T9, que también es más bajo que en los suelos cultivados).

Cabría esperar una relación con los valores de amonio (figura 37) en la que se encontrarse mayor potencial amonificante con mayor cantidad de amonio medido en el suelo. Pero como se puede observar en estas dos gráficas (figuras 37 y 45) esta relación no existe. El amonio detectado en la rizosfera (figura 37), sólo puede provenir del proceso de amonificación de fertilizantes orgánicos nitrogenados aportados por el hombre, como puede ser la urea, o por procesos de mineralización de compuestos orgánicos nitrogenados

provenientes de los exudados radicales, metabolitos excretados por las bacterias, o por la mineralización de compuestos dejados por éstas una vez muertas.

En la rizosfera, todos estos procesos están controlados por la planta a través de sus exudados, si bien no se pueden descartar los manejos agrícolas como elemento regulador/perturbador. A la vista de los resultados, deben tener un impacto menor que la planta ya que en algunos casos el comportamiento es diferente en las distintas rizosferas teniendo en dos de ellas (planta convencional y planta transgénica) el mismo manejo agrícola (mirar figura 46 en la que se representa la media de todos los tiempos de muestreo excepto T5).

Los resultados obtenidos hacen pensar que, en **condiciones reales** (no hay que olvidar que los datos presentados son en **condiciones de potenciales**, sin la presencia de plantas) los procesos de amonificación, mineralización y absorción de amonio por las plantas, se encuentran muy acelerados, es decir, el reciclado de nitrógeno orgánico está muy activo. Esto puede influir en la cantidad de nitrógeno disponible para los microorganismos, lo que se ve reflejado en procesos de inmovilización en condiciones potenciales.

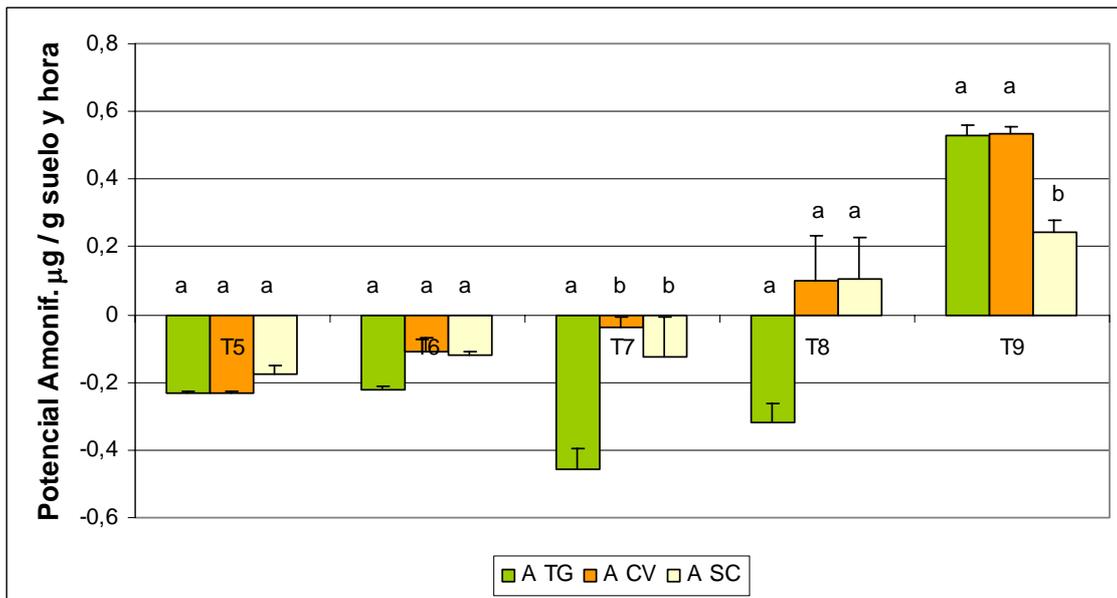


Figura 45. Potencial amonificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

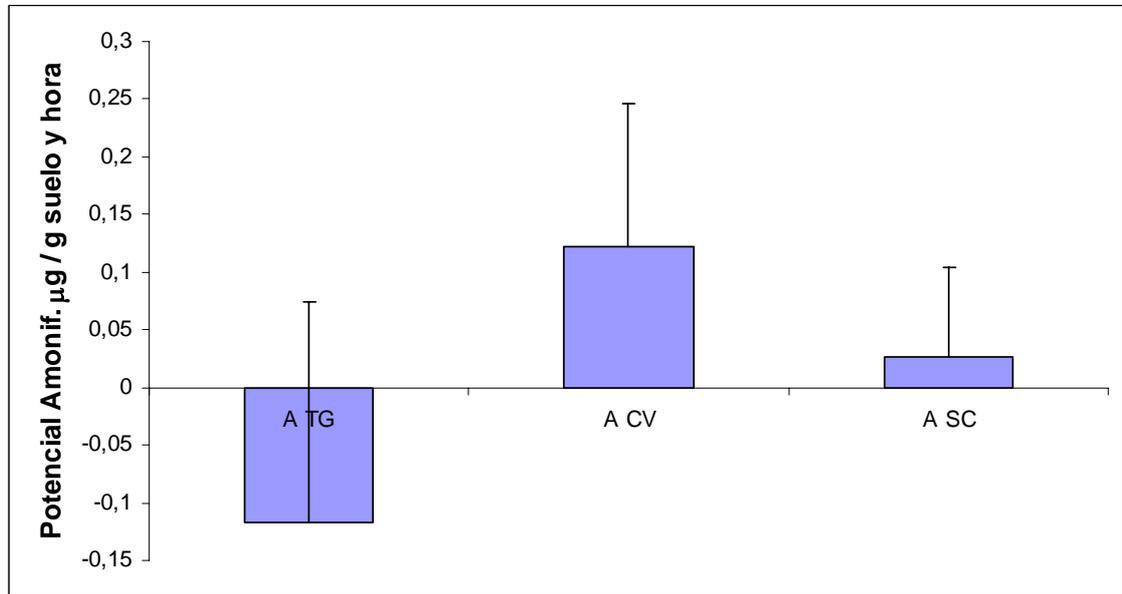


Figura 46. Media de potencial amonificante de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.1.2.1.2. *Potencial nitrificante*

El potencial nitrificante (figura 47) muestra valores negativos en todos los tiempos de muestreo excepto en T6. En cada momento de muestreo sólo se observaron diferencias significativas entre plantas convencionales y los otros tratamientos en T6 y T7, donde el potencial nitrificante del suelo rizosférico de plantas convencionales es más bajo que el de plantas transgénicas y el de suelo sin cultivar.

En analogía con lo descrito para el amonio y el proceso de amonificación, se puede observar una relación inversa nitrato y nitrificación.

Si se observan las figuras 39 y 47, se puede apreciar que en los momentos de muestreo en los que hay mayor cantidad de nitratos en el suelo (T7) es cuando el proceso de nitrificación es menor, pudiéndose justificar por una inhibición por producto de la reacción (esto es cierto excepto para T6).

No parece haber relación entre las concentraciones de nitratos en el suelo y la actividad del potencial nitrificante. Esto puede explicarse porque las medidas de potenciales, que miden la capacidad que podrían tener los microorganismos en condiciones óptimas, son difíciles de extrapolar a condiciones reales.

A pesar de los inconvenientes que puedan apreciarse en las medidas potenciales, éstas son de gran utilidad cuando se pretende comparar estudios llevados a cabo por diferentes investigadores, en sitios muy distintos, en momentos diferentes o bajo condiciones no similares.

Por otra parte, ya se ha comentado que el control de la presencia de nitratos en los sistemas agrícolas está fuertemente intervenido por el hombre debido a que su presencia supone una pérdida muy rápida de nitrógeno del sistema, lo que hace disminuir la efectividad de los fertilizantes nitrogenados, razón por la cual es habitual el uso de inhibidores del proceso nitrificante como la Nitrapirina (NP), la Diciandiamina (DCD) y el 3,4-dimetilpirazolfosfato (DMPP), lo que puede estar condicionando los resultados obtenidos.

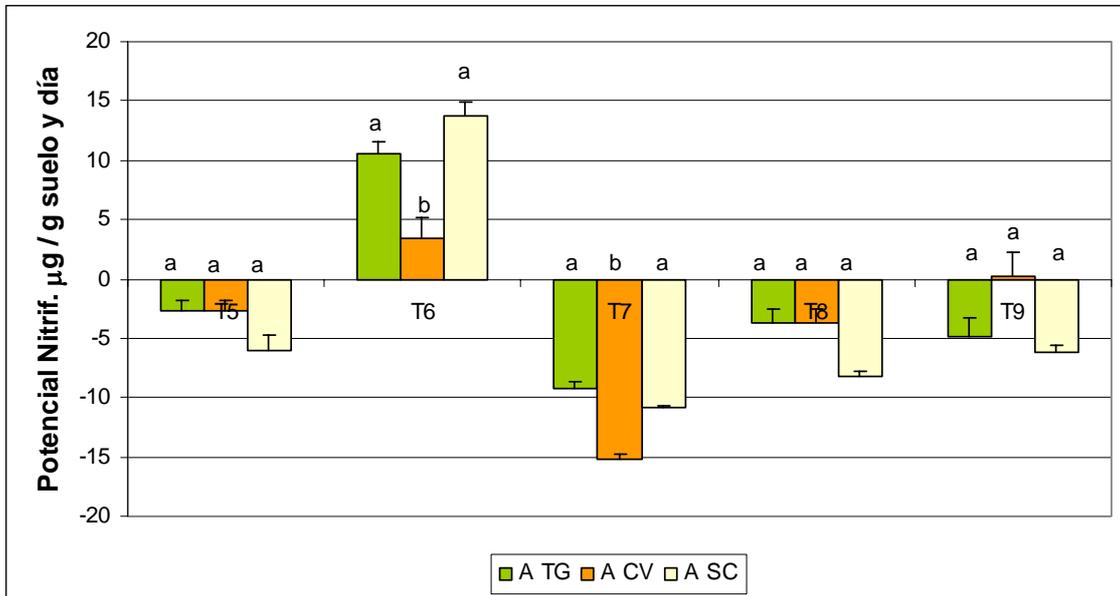


Figura 47. Potencial nitrificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; A CV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

La media de los valores de potencial nitrificante de todos los muestreos excepto T5 se presenta en la figura 48. El menor valor de potencial nitrificante lo presenta el suelo rizosférico de plantas de maíz convencionales, pero no se encontraron diferencias estadísticas. Es importante destacar que tampoco se hallaron diferencias significativas en las concentraciones de nitrato (figura 40), con lo que al considerar globalmente los momentos de muestreo, puede ser irrelevante este efecto (tiempo) en términos de producto (nitrato) y de proceso (nitrificación). El tipo de planta no da lugar a diferencias ni en la concentración de nitrato ni en el proceso de nitrificación.

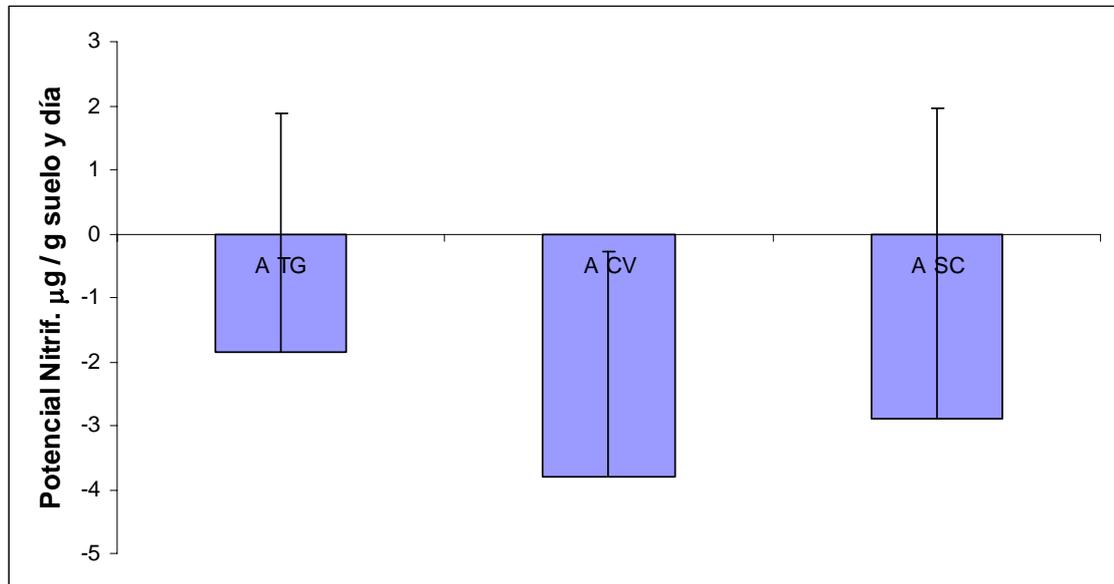


Figura 48. Media de potencial nitrificante de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.1.2.1.3. Potencial desnitrificante

En la figura 49 se muestran los resultados obtenidos en la producción de óxidos de nitrógeno. En los suelos cultivados, independientemente que sea planta transgénica o convencional se observa la misma tendencia en la producción de N_2O a lo largo del tiempo. Un mes después de la siembra el potencial desnitrificante disminuye, y al final de la campaña este potencial desnitrificante aumenta alcanzando valores incluso mayores que antes de la siembra.

La actividad desnitrificante está fuertemente condicionada por disponibilidad de materia orgánica y por condiciones de anaerobiosis (o microaerófilas). Éstas se dan al final (en la rizosferas de plantas transgénica y convencionales) tanto por la mayor capacidad de exudación de las plantas (más biomasa, más capacidad fotosintética, figura 41), como por el incremento de los riegos (encharcamiento del suelo –arcilloso- y descenso de la presión de oxígeno).

En el suelo sin cultivar la producción de óxidos de nitrógeno a lo largo del tiempo no es paralela a la del suelo de cultivo (no se riega, las plantas silvestres son más pequeñas y exudan menos), pero aquí sí que se aprecia una correlación con los valores de nitratos (figura 39) (a más cantidad de nitratos, mayor potencial desnitrificante).

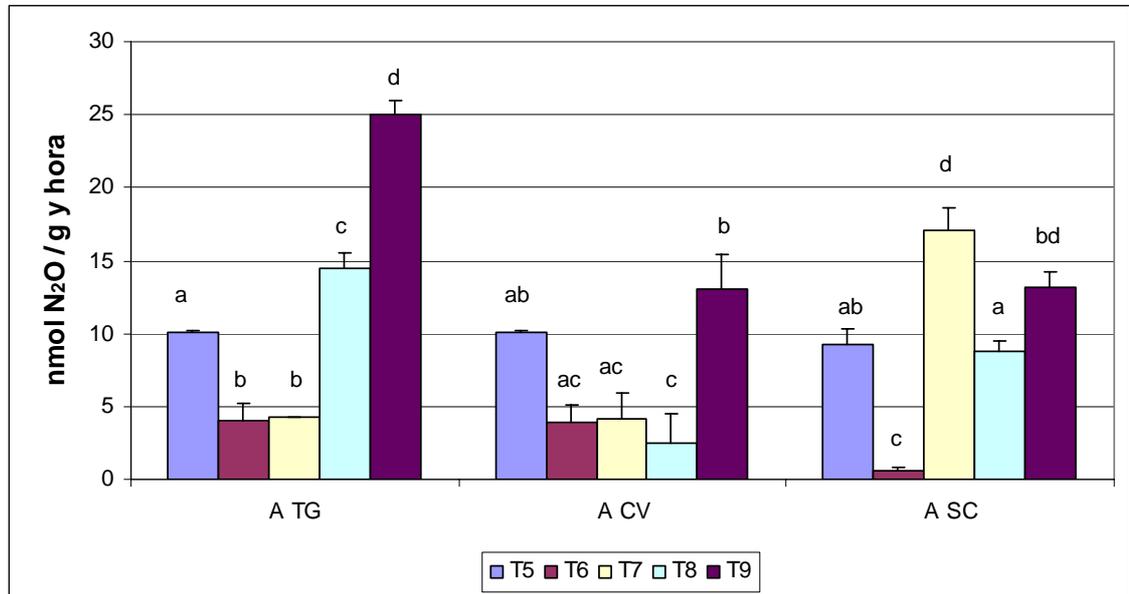


Figura 49. Potencial desnitrificante en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

En la figura 50 se representa la media de producción de óxidos de nitrógeno teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T5. Aunque no es significativo, el suelo cultivado con plantas transgénicas tiene de forma global una producción mayor de N_2O que el suelo cultivado con plantas convencionales y el suelo sin cultivar. Existe correlación entre el potencial nitrificante y desnitrificante. Potenciales nitrificantes menos bajos (figura 48) están relacionados con los potenciales de desnitrificación más altos (figura 50).

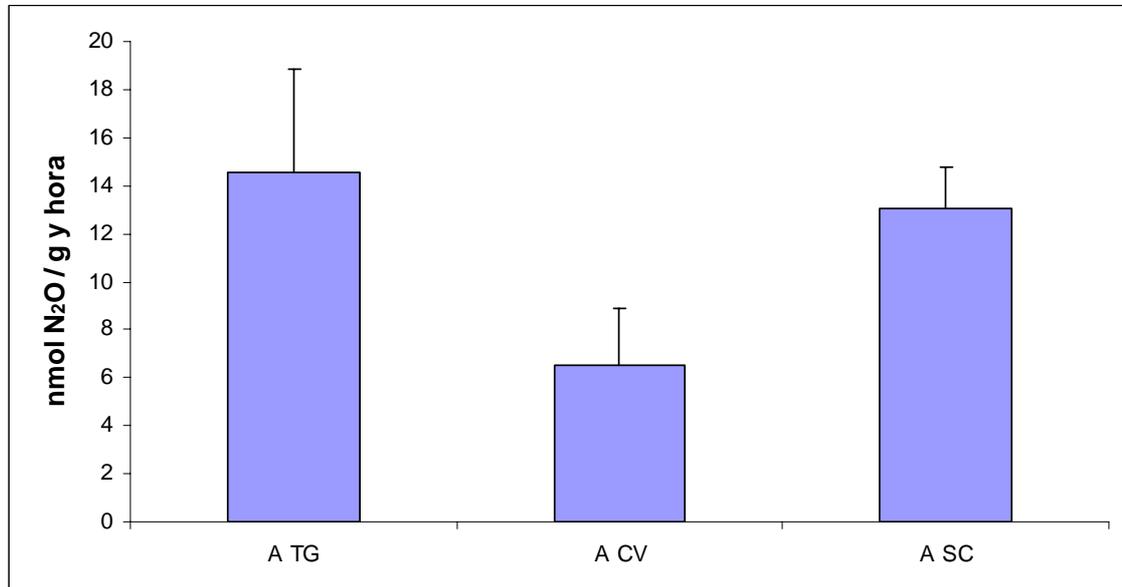


Figura 50. Media de producción de N₂O de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.1.2.2. Resultados del Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).

En la figura 51 se muestran los resultados obtenidos en la producción de dióxido de carbono. En el primer momento de muestreo suelo cultivado y sin cultivar presentan valores similares, pero es sólo en el suelo sin cultivar en el que se puede apreciar un aumento progresivo y significativo de los valores de CO₂ producidos por los microorganismos.

En las figuras 41 y 42 (carbono orgánico), se observaban concentraciones de carbono orgánico análogas entre las distintas rizosferas a lo largo del tiempo. Sin embargo, las pautas de respiración (figura 52) son completamente diferentes (suelo sin cultivar vs suelo rizosférico de planta transgénica vs suelo rizosférico de planta convencional). Esto puede deberse a que en el suelo sin cultivar la calidad (compuestos químicos de los exudados) sea más heterogénea (lógico, puesto que son diferentes especies de plantas coexistiendo) y propicie una mayor tasa de mineralización, como muestran nuestros resultados.

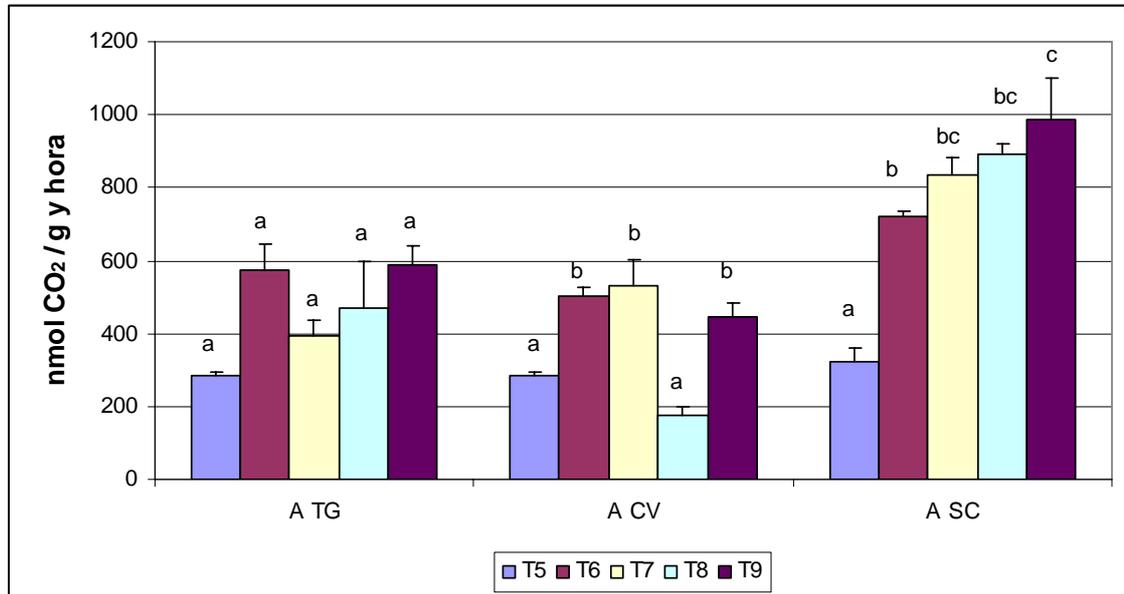


Figura 51. Respiración potencial en la localidad A (Marchamalo). ASC: suelo sin cultivar; ACV: suelo cultivado con la variedad convencional; ATG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

En la figura 52 se representa la media de producción de dióxido de carbono teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T5. El suelo no cultivado, tiene una producción significativamente mayor de CO₂ que los suelos cultivados (con la variedad convencional o modificada genéticamente).

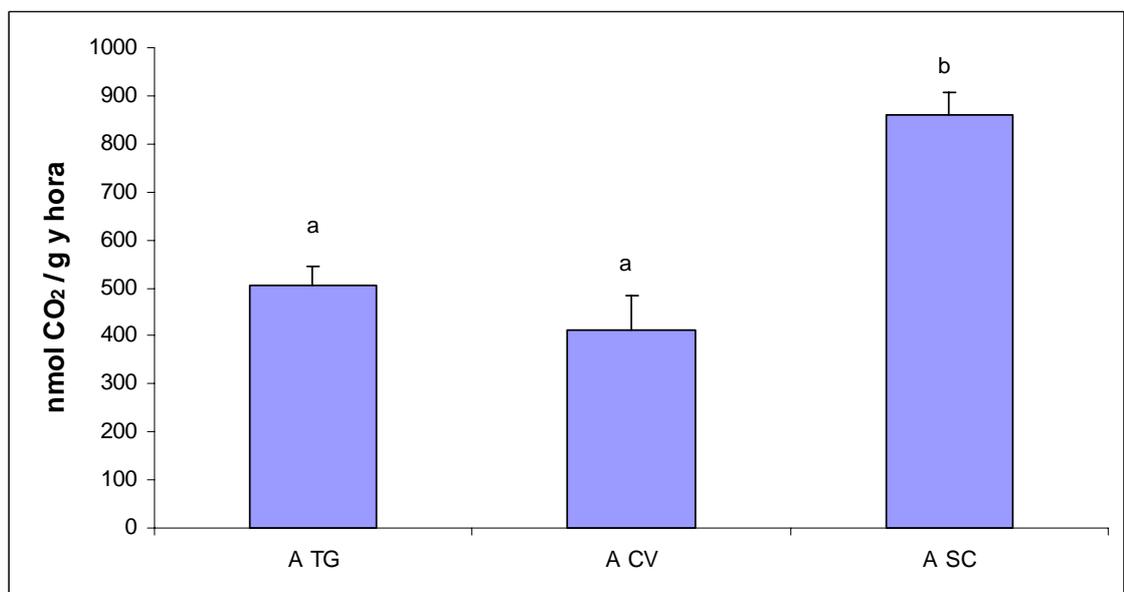


Figura 52. Media de producción de CO₂ de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Las letras indican la significación estadística; letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.2. Resultados de la variedad DSC 6575 cultivada en Yunquera de Henares (Sitio B)

7.2.1. Resultados de la caracterización del suelo

7.2.1.1. Determinación del nitrógeno amonio

Los valores de amonio (figura 53) se mantienen entre 10 y 15 μg amonio / g suelo en T5 y T6. En estos dos primeros momentos de muestreo, no hay diferencias estadísticas entre tratamientos. En T7 los valores de amonio aumentan, sobre todo para la rizosfera de planta transgénica que alcanza valores significativamente mayor que la de planta convencional y suelo sin cultivar en ese tiempo. Por último, en los dos últimos momentos de muestreo los valores de amonio vuelven a disminuir para ser los más bajos de toda la campaña (figura 53).

En general, se puede apreciar la misma pauta que en el campo A (figura 37). Así, podemos reafirmarnos en la discusión allí hecha, y agregar que el impacto en la concentración de amonio del tipo de suelo (única variable diferencial entre los dos sitios estudiados) es de mucha menor relevancia que las otras variables (cultivo o momento de muestreo).

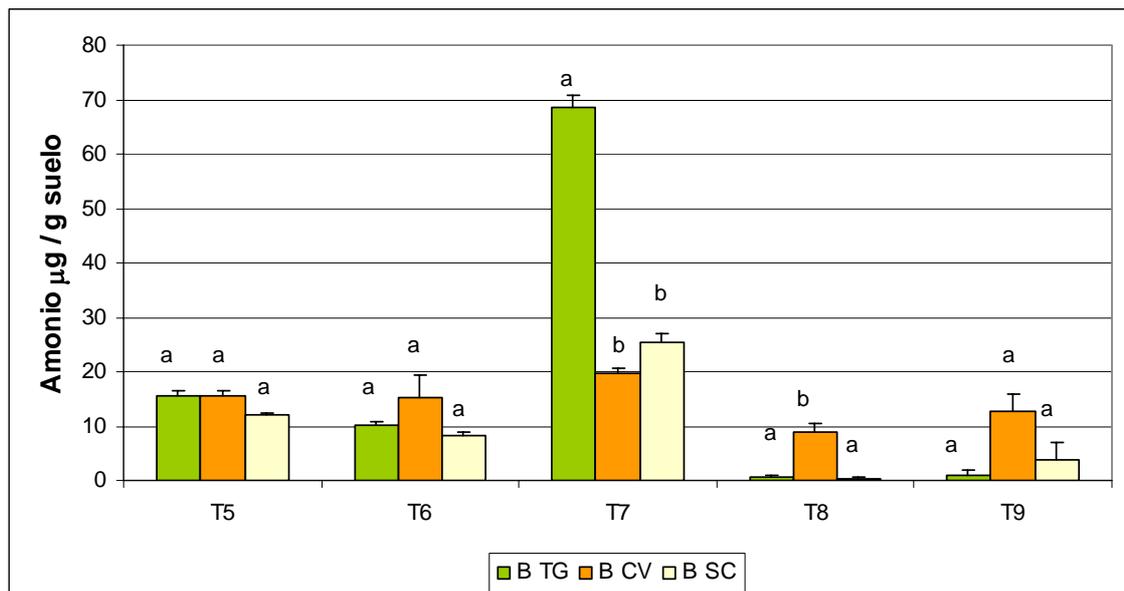


Figura 53. Determinación del nitrógeno amonio en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

La media de los valores de amonio de los distintos muestreos excepto T5 se presenta en la figura 54. Como se observa en la figura, los valores de amonio más bajos los presenta el suelo sin cultivar, sin embargo estas diferencias no son significativas.

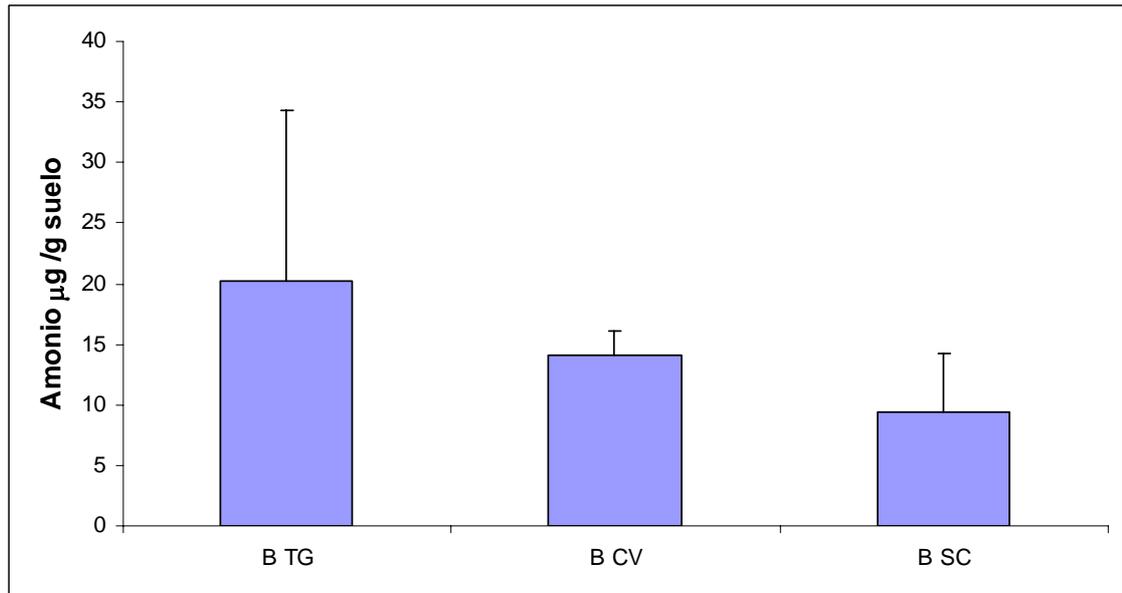


Figura 54. Media de la cantidad de amonio de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.2.1.2. Determinación del nitrógeno nitrato

En el suelo cultivado con planta transgénica, los valores de nitratos (figura 55) empiezan siendo en torno a 100 g nitrógeno / g suelo, y, en los siguientes muestreos, va aumentando hasta ser el doble en T7, a partir de entonces vuelve a disminuir para quedarse en el último momento de muestreo en torno a 100 g nitrógeno / g suelo (igual que al principio) (figura 55). En el suelo cultivado con planta convencional se puede observar un aumento progresivo de la cantidad de nitratos a lo largo de los momentos de muestreo. Dentro de cada momento de muestreo, no se encontraron diferencias significativas en T5 ni T6 para los diferentes tratamientos. En T7, los nitratos en el suelo sin cultivar fueron significativamente más bajos; en T8, los nitratos en el suelo cultivado con planta convencional fueron significativamente más altos, y, por último, en T9 los nitratos en el suelo cultivado con plantas transgénicas fueron significativamente más bajos (figura 55).

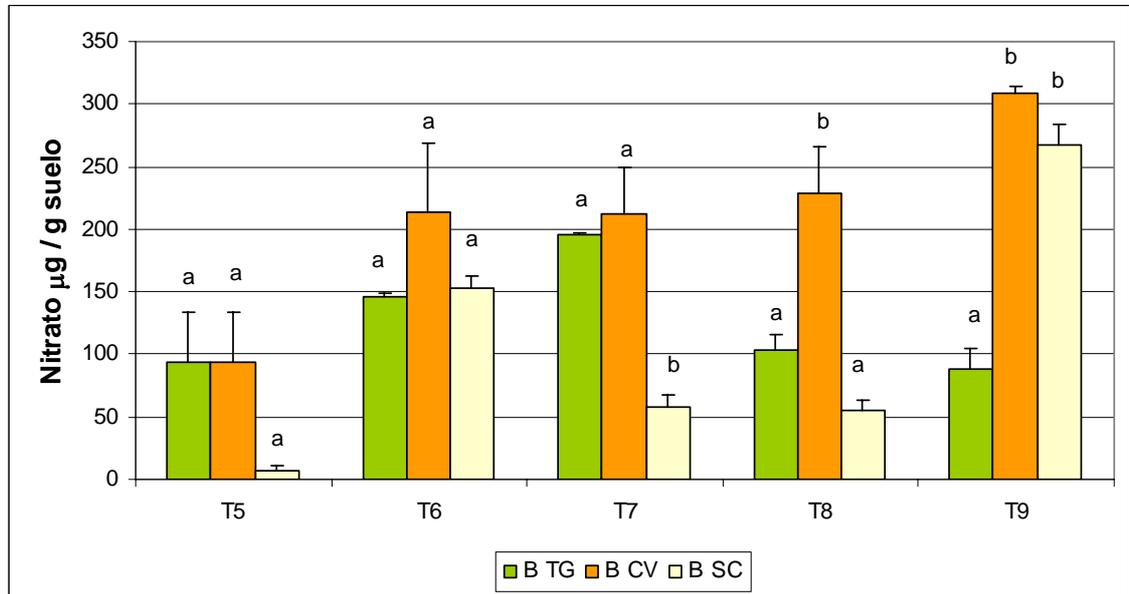


Figura 55. Determinación del nitrógeno nitrato en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas

Los valores medios de nitratos en suelos cultivados con plantas convencionales fueron significativamente mayores que los del suelo sin cultivar y los de suelos cultivados con plantas transgénicas (figura 56). Estos resultados son similares a los encontrados en el campo A (figura 40), la mayor cantidad de nitratos aparece en el suelo cultivado con planta convencional, siendo esto sólo significativo en el campo B.

Como ya se ha comentado en varias ocasiones, una menor concentración de nitrato repercute de forma positiva en el sistema, ya que su pérdida por diversas vías es la principal salida de nitrógeno del sistema.

Adicionalmente, las discrepancias entre los dos campos pueden deberse al tipo de manejo que se haga en cada caso, en lo que respecta a la adición de fertilizantes nitrogenados o inhibidores de la nitrificación.

Por último, esta diferencia (campo A/B) a efectos de concentración de nitrato podría relacionarse con las distintas características físico-químicas de los dos suelos (p.e. pH, ver figuras 43 y 59).

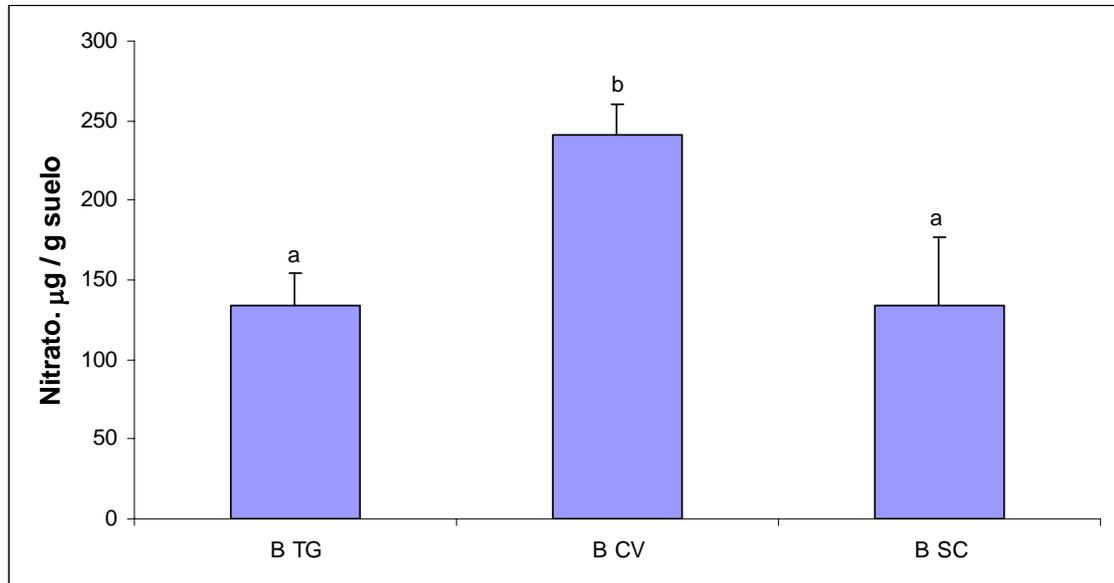


Figura 56. Media de la cantidad de nitrato de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Las letras indican la significación estadística, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.2.1.3. Determinación del carbono orgánico

El porcentaje de carbono orgánico no varía entre los distintos momentos de muestreo en el suelo sin cultivar; en el suelo cultivado, bien sea con planta convencional o transgénica se encontraron algunas diferencias entre tiempos, obteniéndose los porcentajes de materia orgánica más altos en T8 en las rizosferas de ambos tipos de plantas (figura 57). Esto mismo se puede observar en la figura 58, en la que sólo en T8 se observan diferencias entre tratamientos, siendo los valores de carbono más altos los de los suelos cultivados (con planta transgénica o convencional).

Pese a diferencias entre los diferentes tiempos, las pautas detectadas en el suelo cultivado con plantas transgénicas y convencionales en los campos A y B son análogas. Esto nuevamente confirma que la variable tipo de suelo es de menor orden de magnitud que la variable tipo de planta.

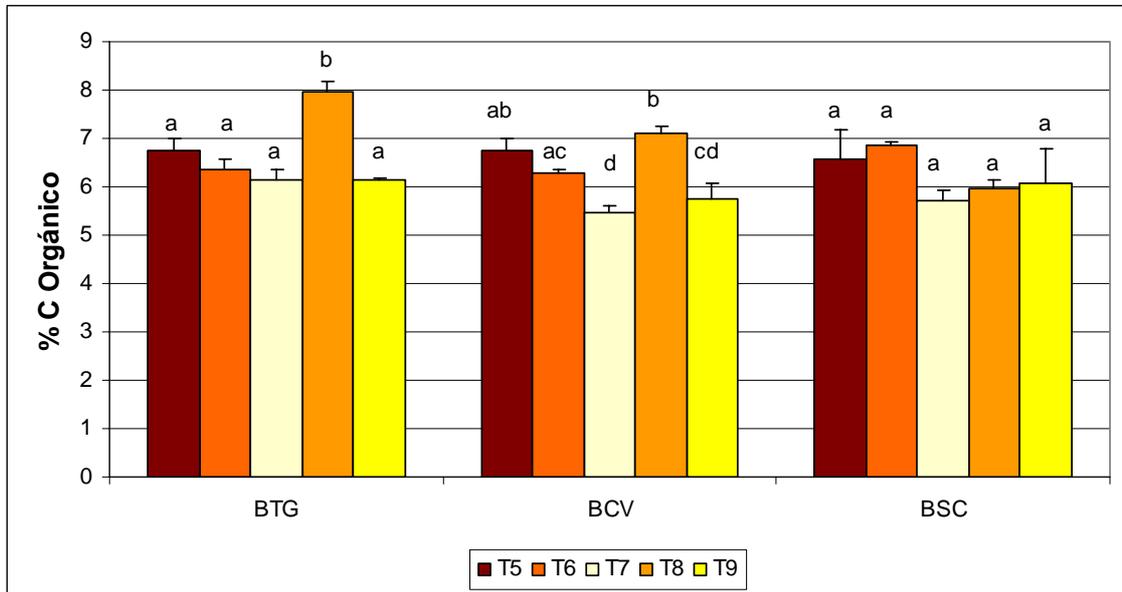


Figura 57. Determinación del carbono orgánico en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

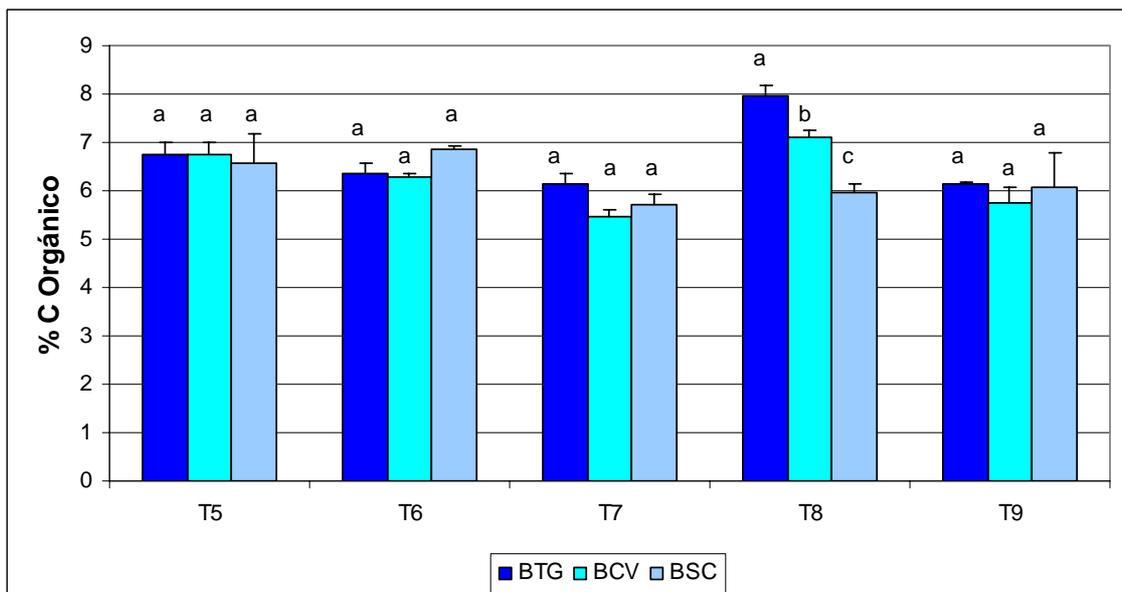


Figura 58. Determinación del carbono orgánico en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.2.1.4. Medida del pH

El valor de pH del suelo rizosférico de plantas convencionales no varió significativamente entre los distintos momentos de muestreo. El suelo rizosférico de plantas transgénicas presentó pH significativamente más bajos en T6 y T7 que en el resto de los momentos de muestreo. El suelo sin cultivar es el que presenta valores de pH mayores existiendo entre los distintos momentos de muestreo diferencias significativas (figura 59).

En la figura 60 se representan estos mismos valores de pH por momentos de muestreo. Sólo en T7 y T8 existen diferencias significativas entre suelo rizosférico de planta convencional, transgénica y suelo sin cultivar, en ambos tiempos el mayor valor de pH se midió en el suelo sin cultivar. De forma global, se aprecia un menor pH en los suelos cultivados con maíz que en el suelo sin cultivar, lo que puede estar denunciando una mayor actividad microbiana en unas rizosferas que en otras. Las diferencias observadas entre las dos variedades cultivadas, sin duda tiene que ver con una distinta cantidad y calidad de los exudados liberados en cada caso.

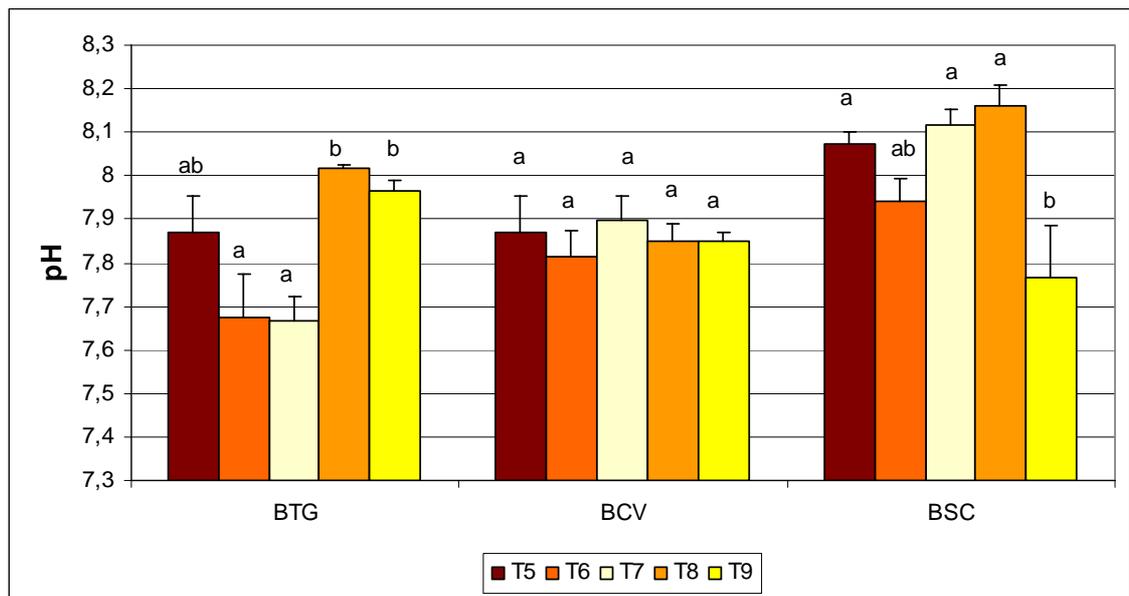


Figura 59. Valores de pH en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

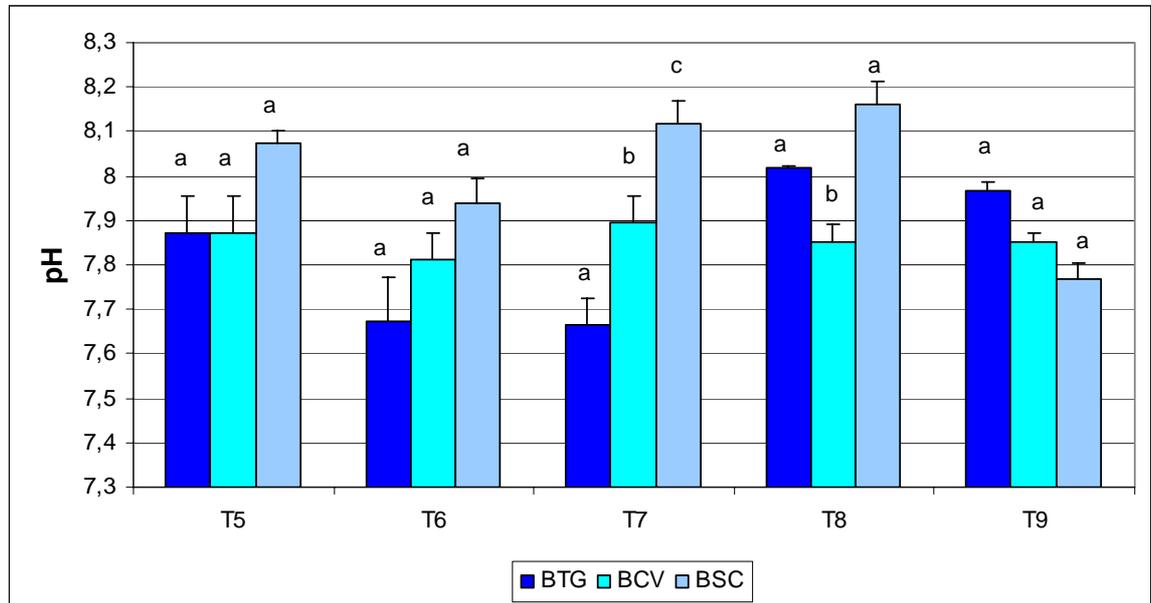


Figura 60. Valores de pH en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.2.2. Resultados del Análisis de los parámetros relacionados con la actividad microbiana.

7.2.2.1. Resultados de los Análisis de la actividad enzimática potencial de los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno.

7.2.2.1.1. Potencial amonificante

Como se observa en la figura 61, no se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos en el valor del potencial amonificante en ninguno de los momentos de muestreo. Este valor se encuentra alrededor de $-0.1 \text{ g / g suelo y hora}$ al principio (en T5 y T6), disminuye en el muestreo siguiente (T7); en T8 aumentan los valores de potencial amonificante (en torno a $0.1 \text{ g / g suelo y hora}$), y en T9 es cuando se alcanzan los mayores valores ($0.5 \text{ g / g suelo y hora}$).

Existe un predominio de inmovilización hasta T8, igual que ocurría en el campo A, y es en T6 cuando se encuentra la mayor tasa de inmovilización.

Resulta sorprendente la similitud en el comportamiento del potencial amonificante en las dos localidades usadas en el estudio. Teniendo en cuenta que entre una localidad y otra hay algunos kilómetros de distancia, se refuerzan enormemente los argumentos

utilizados para discutir los resultados en la localidad A. Esto confirma claramente la influencia que las plantas, a través de sus exudados, tienen sobre esta actividad del ciclo del nitrógeno.

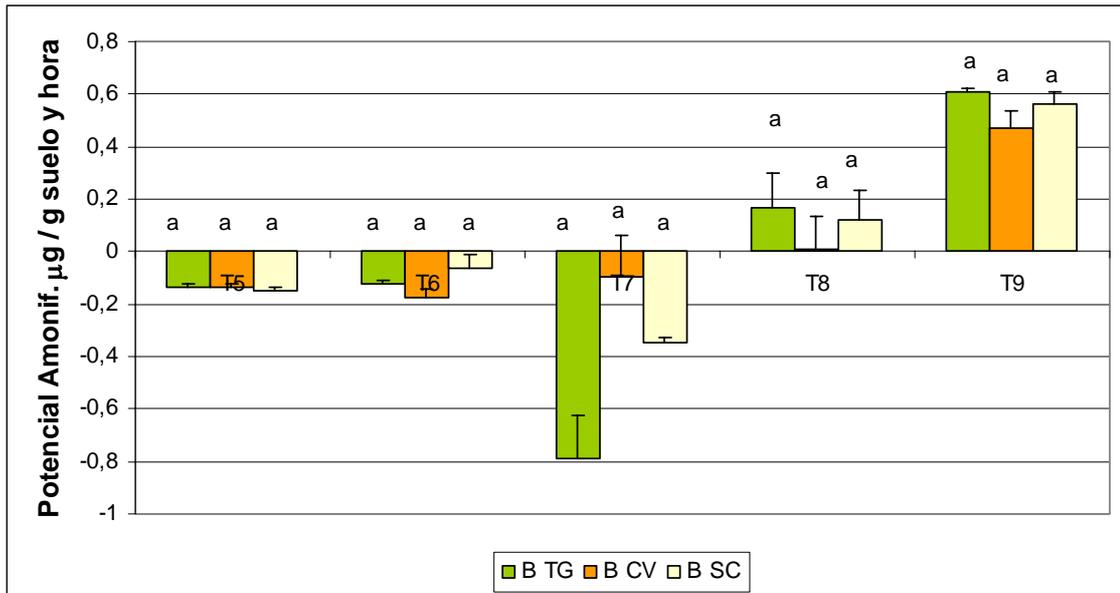


Figura 61. Potencial amonificante en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

El valor medio del potencial amonificante de todos los muestreos (excepto T5) no presentó diferencias significativas entre los tres tratamientos (figura 62).

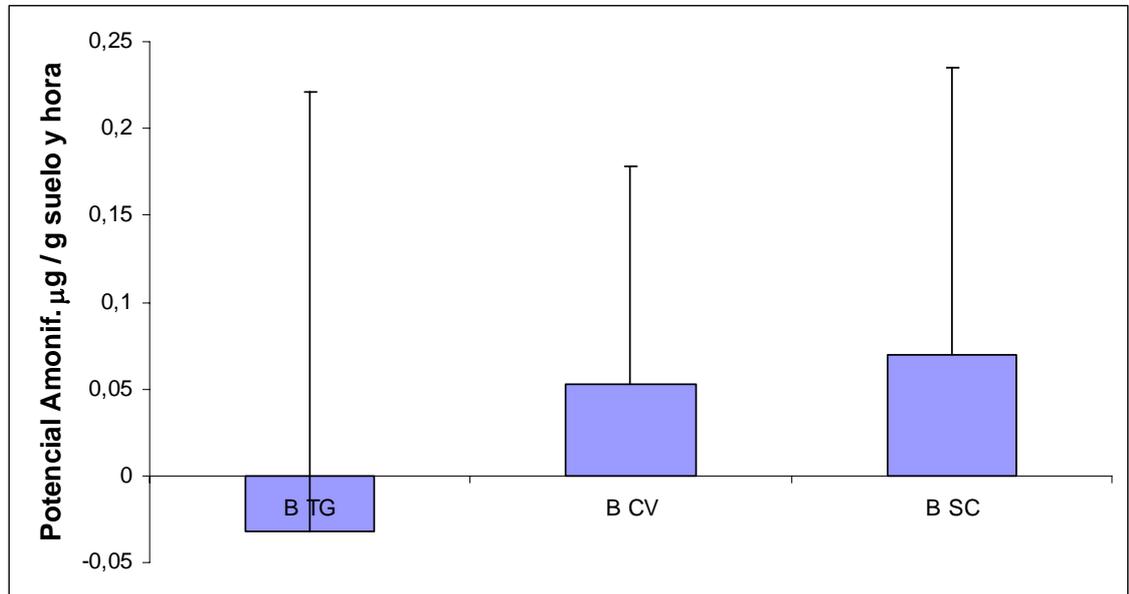


Figura 62. Media del potencial amonificante de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.2.2.1.2. *Potencial nitrificante*

En la figura 63 se presentan los valores obtenidos para el potencial nitrificante. Estos valores son, en su mayoría negativos, excepto el suelo rizosférico de planta transgénica en T7 que tiene un valor positivo y significativamente distinto del de planta convencional o suelo sin cultivar. Los valores más negativos de nitrificación, coinciden con los valores más altos de nitratos (figura 55) lo que puede estar evidenciando una inhibición por producto. Hay que recordar en cualquier caso, el decisivo efecto que sobre esta actividad tienen los manejos agrícolas, en los que el uso de inhibidores de la nitrificación es una práctica habitual como ya se ha comentado en este informe (campo A)

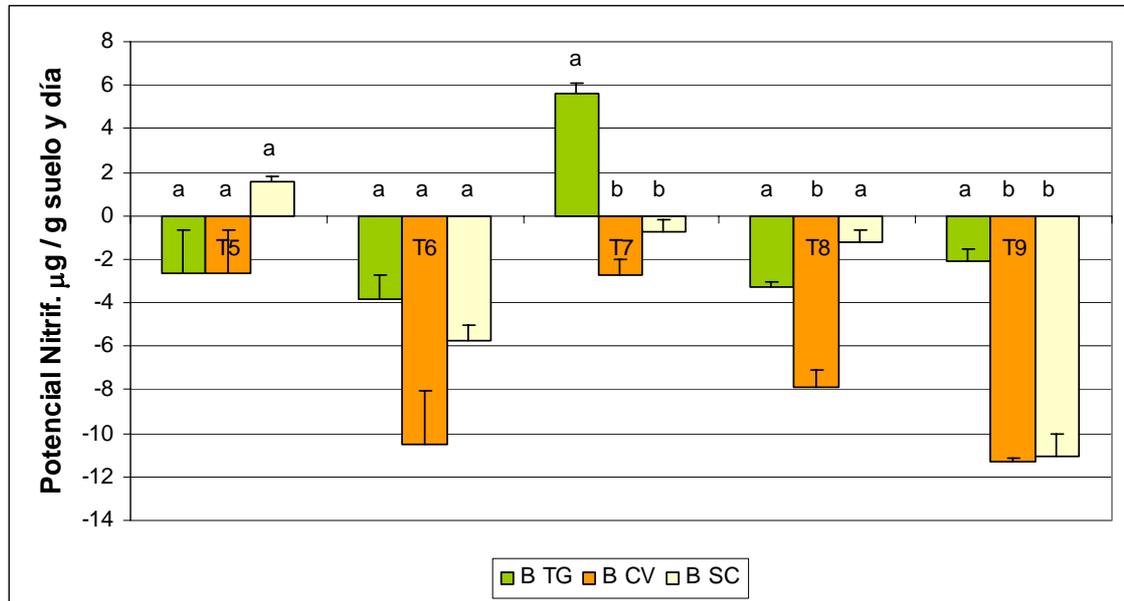


Figura 63. Potencial nitrificante en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada momento de muestreo, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 64 aparecen representados los valores medios de potencial nitrificante a lo largo de todos los muestreos (excepto T5). El valor más alto es el del suelo rizosférico de plantas transgénicas y el más bajo el del suelo rizosférico de plantas convencionales.

Al comparar la figura 47 (potencial nitrificante sitio A) y 63, se evidencian unas pautas absolutamente distintas a lo largo del tiempo de las diferentes rizosferas. Esto refuerza la hipótesis del impacto de los distintos manejos agrícolas que señalábamos en el epígrafe 7.2.1.2.

Sin embargo, al comparar valores medios de las distintas rizosferas (asimilando así las variaciones temporales) estas quedan compensadas. Puesto que la comparación entre la figura 48 (campo A) y la figura 64 (campo B) da perfiles análogos. Así mismo se refuerza nuevamente el carácter secundario del tipo de suelo en relación con el proceso de nitrificación (como ocurría para el amonio y el carbono orgánico).

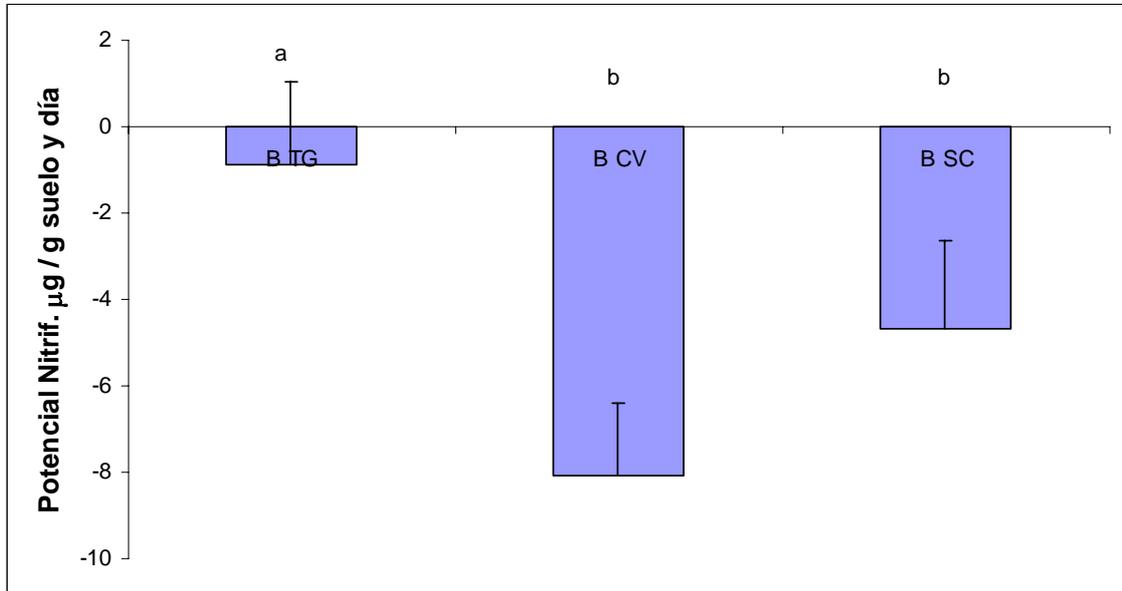


Figura 64. Medida del potencial nitrificante de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Las letras indican la significación estadística; letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

7.2.2.1.3. *Potencial desnitrificante*

En la figura 65 se muestran los resultados obtenidos en el potencial desnitrificante en cada uno de los tratamientos a lo largo del tiempo. Los datos indican que no existe un paralelismo entre las parcelas cultivadas entre sí ni con la parcela sin cultivar. Dado que el manejo es muy diferente entre el suelo cultivado y el sin cultivar, es razonable esa falta de paralelismo. En el caso de las parcelas cultivadas, las diferencias observadas tienen que ser explicadas por las diferencias que deben existir en la cantidad y la calidad de los exudados de cada una de las plantas cultivadas (maíz transgénico y maíz convencional).

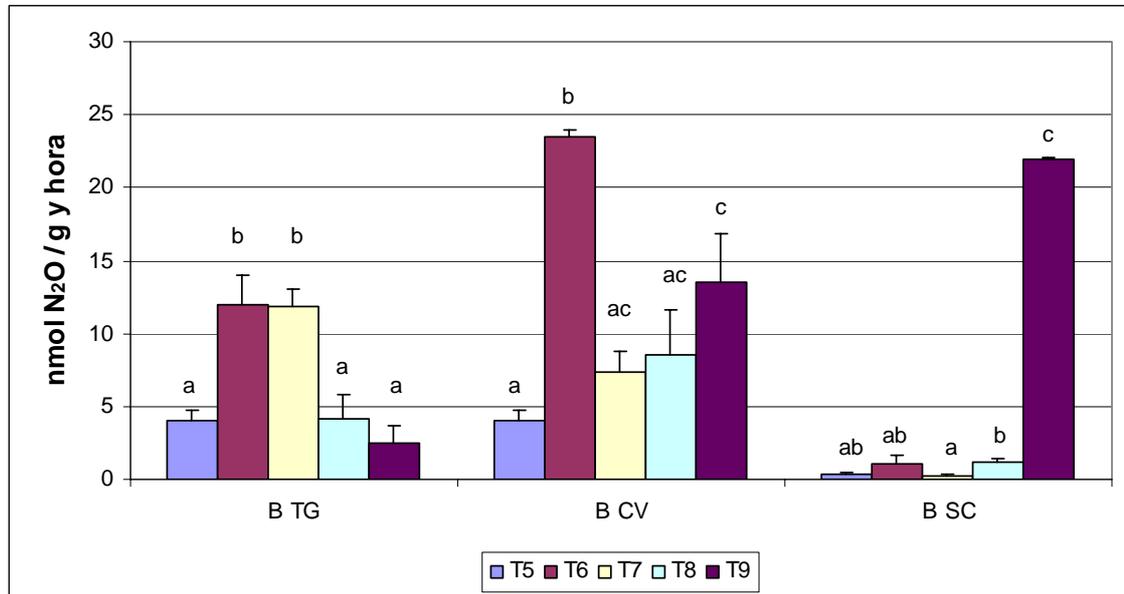


Figura 65. Potencial desnitrificante en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 66 se representa la media de producción de óxidos de nitrógeno teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T5. No se aprecian diferencias significativas cuando se realizó el análisis estadístico. Hay que destacar la relación positiva que existe entre la concentración de nitrato (figura 56) y la actividad desnitrificante, es decir, los mayores valores de nitrato (suelo cultivado con la planta convencional), coincide con un mayor potencial desnitrificante.

Al comparar estos resultados con los del campo A (figura 50) no se observan pautas análogas (como sucede con otros parámetros estudiados). Dado que entre los dos campos no hay grandes variaciones en la concentración de carbono orgánico, podemos descartar que estas diferencias en la desnitrificación se deban a ello. Probablemente puedan relacionarse con otro de los factores limitantes del proceso, la anaerobiosis. En este caso, la deducción sería que los resultados obtenidos están en relación con un diferente manejo de los riegos entre los dos campos.

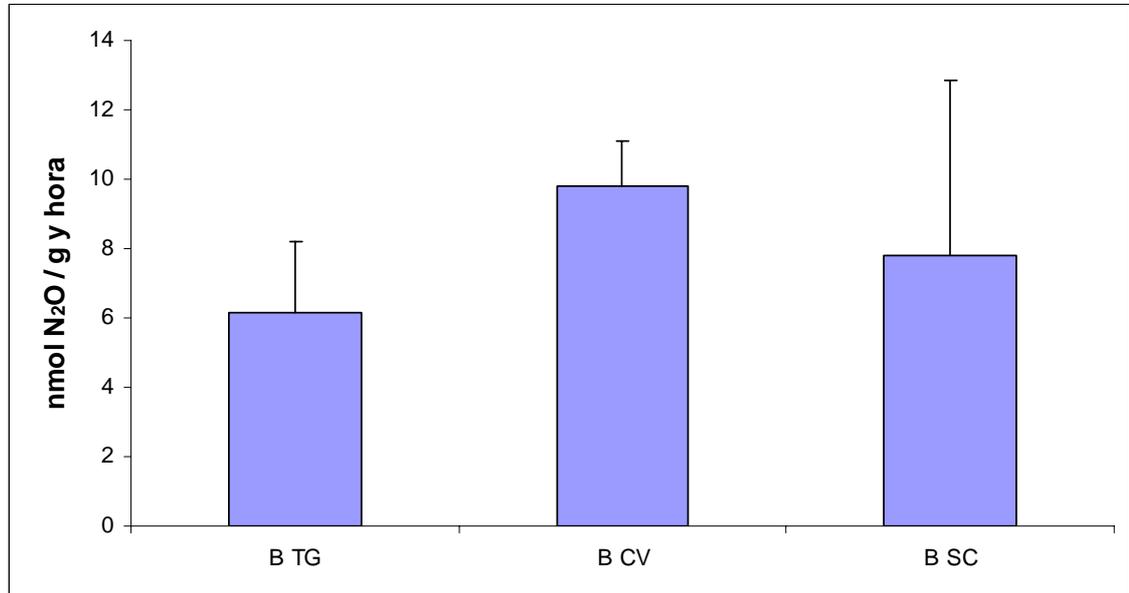


Figura 66. Media del potencial desnitrificante de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

7.2.2.2. Resultados del Análisis de las transformaciones del carbono orgánico mediante la medida de producción de dióxido de carbono (respiración potencial).

Los resultados obtenidos en la producción de dióxido de carbono se muestran en la figura 67 en la que se aprecia un aumento progresivo en la producción de CO₂ desde el primer muestreo hasta los muestreos intermedios, disminuyendo posteriormente hasta el final del experimento, si bien esta tendencia no se observa en los suelos no cultivados. Las distintas pautas de exudación relacionadas con los distintos estadios fisiológicos por los que pasa la planta (fase vegetativa, floración, fructificación) es probablemente la causa de las tendencias comentadas anteriormente. Existe una mayor exudación durante la fase vegetativa hasta la floración, disminuyendo esta durante el proceso de formación de los frutos, fase en la cual, la gran parte de los recursos de la planta se direccionan hacia el fruto en formación.

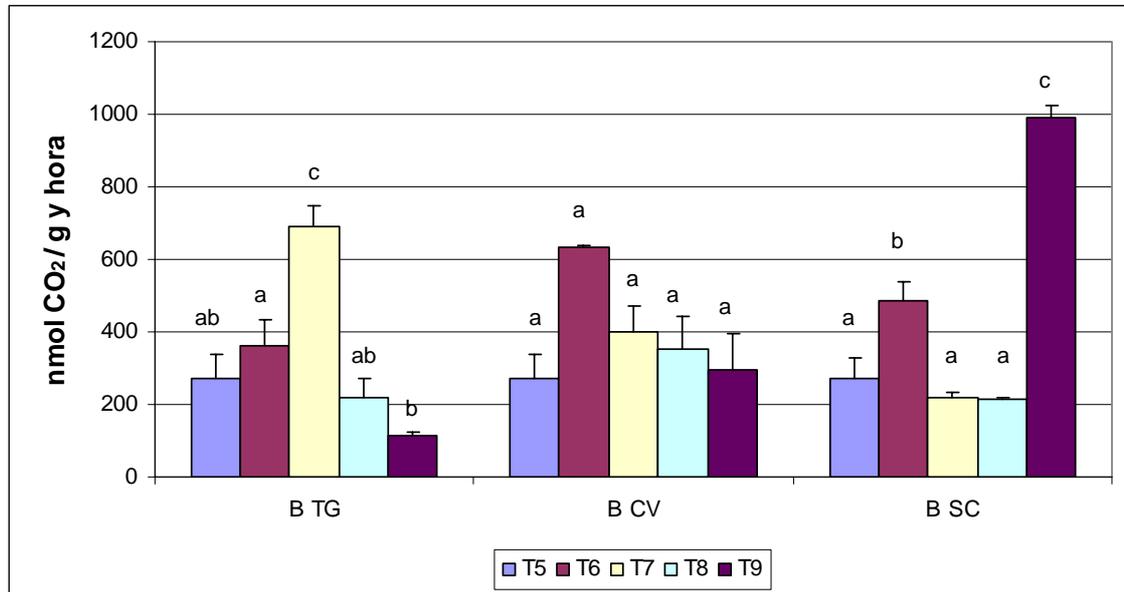


Figura 67. Respiración potencial en la localidad B (Yunquera de Henares). BSC: suelo sin cultivar; BCV: suelo cultivado con la variedad convencional; BTG: suelo cultivado con la variedad transgénica (con MON 810). Las letras indican la significación estadística ($p \leq 0.05$) dentro de cada tratamiento, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la figura 68 se representa la media de producción de dióxido de carbono teniendo en cuenta todos los tiempos de muestreo excepto T5. Aunque no es significativo, el suelo sin cultivar, tiene de forma global una producción mayor de CO_2 que los suelos cultivados con la variedad convencional o transgénica.

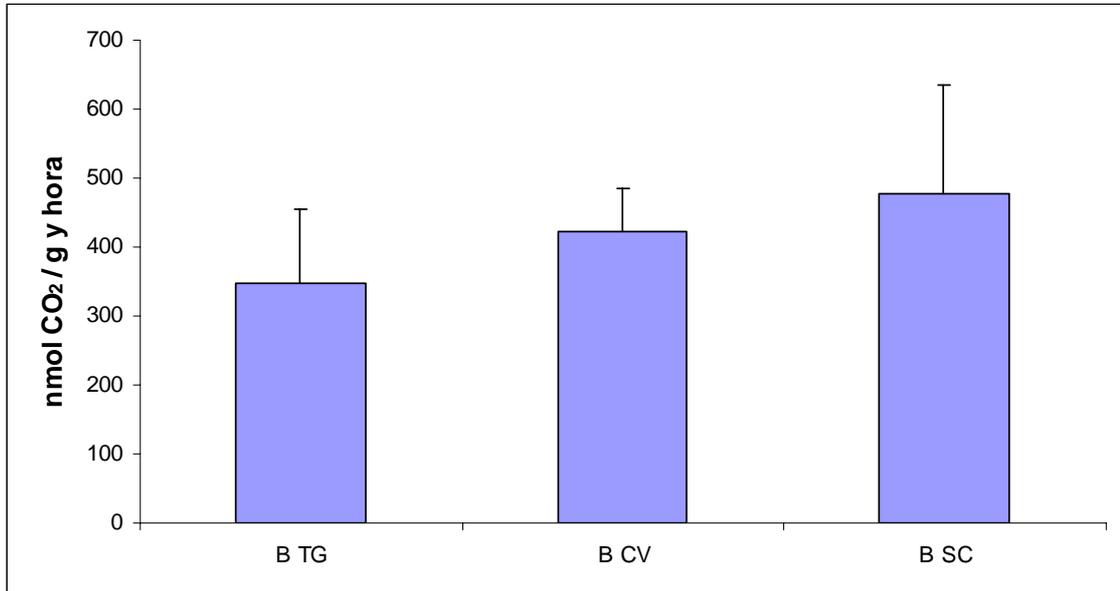


Figura 68. Media de la producción de CO₂ de los muestreos T6, T7, T8 y T9. Anova no significativo.

En las figuras 69, 70, 71 y 72 se muestran a modo de resumen los resultados de los dos suelos ensayados al mismo tiempo. Los datos representados en todos los casos son las medias de todos los tiempos de muestreo de las actividades enzimáticas del ciclo del nitrógeno y la respiración potencial.

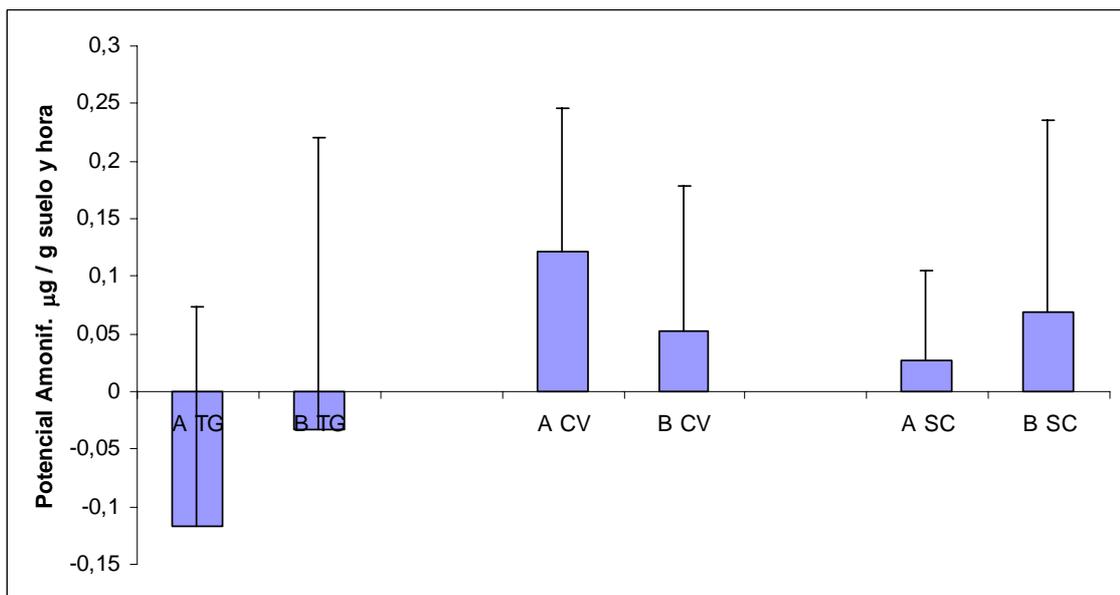


Figura 69. Media del Potencial Amonificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9) de los dos campos (A y B) . No se detectaron diferencias significativas. $p \leq 0.05$

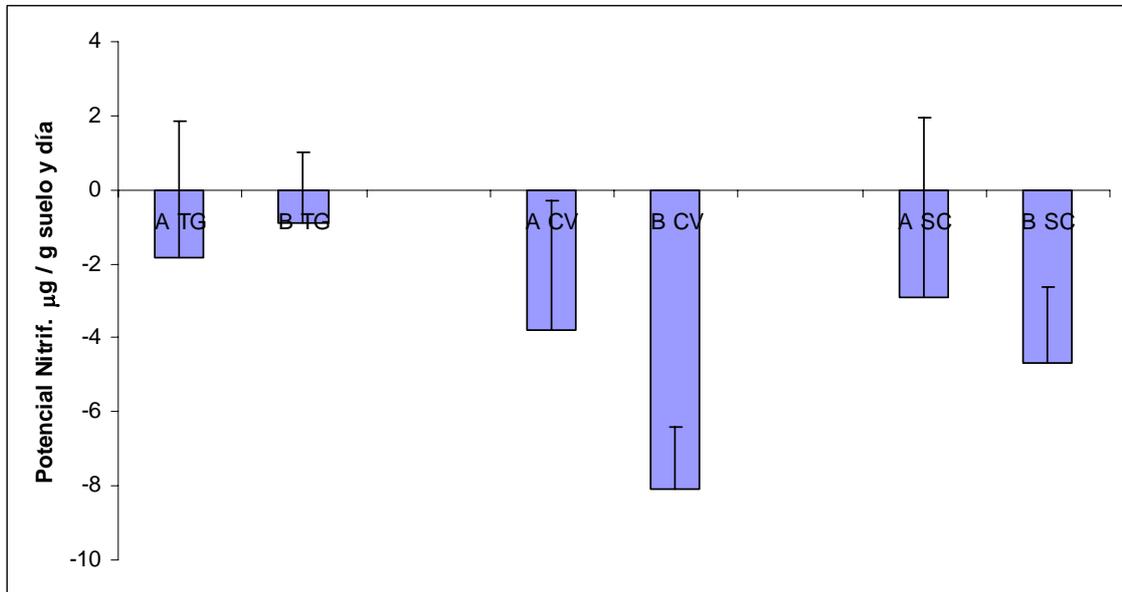


Figura 70. Media del Potencial Nitrificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9) de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas. $p \leq 0.05$

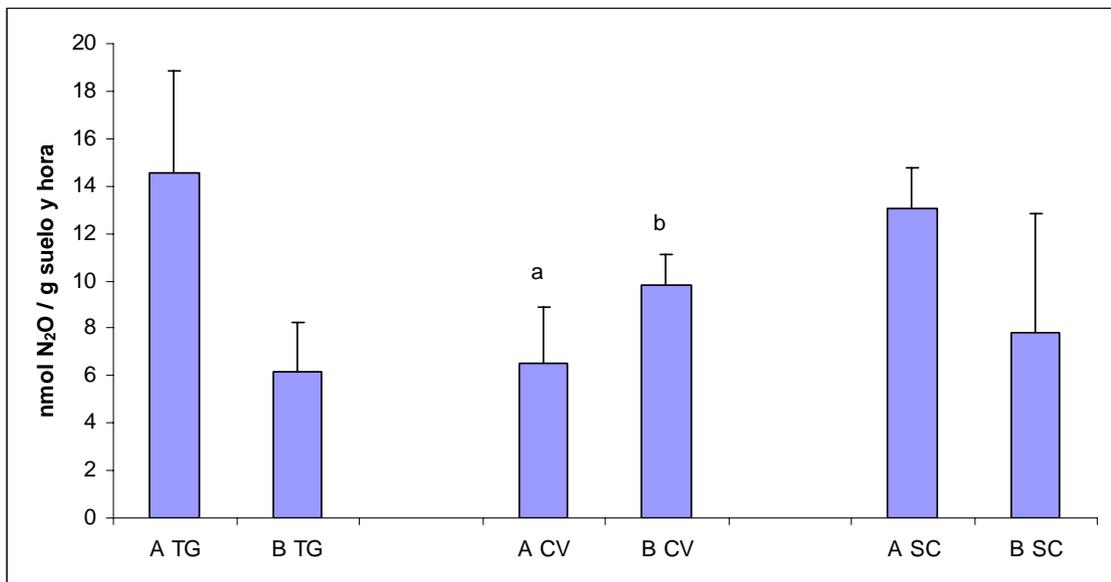


Figura 71. Media del Potencial Desnitrificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9) de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) excepto en el suelo cultivado con maíz convencional.

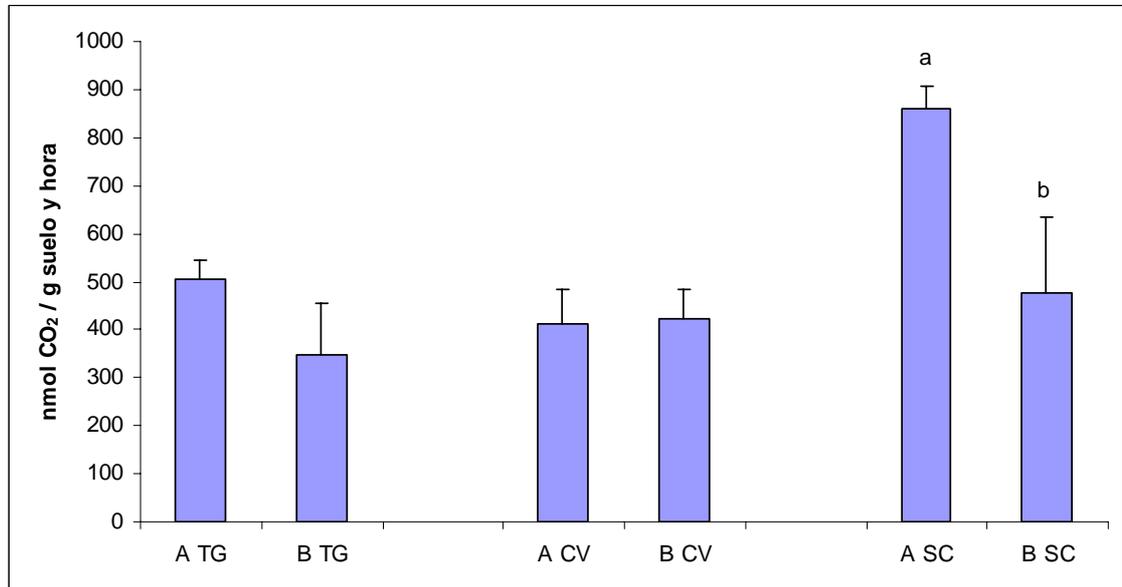


Figura 72. Media de la producción de CO₂ (de los muestreos T6, T7, T8 y T9) de los dos campos (A y B). No se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) excepto en el suelo sin cultivar.

8.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, podemos indicar las siguientes conclusiones:

1. Para todos los parámetros estudiados y en los dos campos, se encuentran diferencias (en algunos casos significativas) entre los diferentes tiempos de muestreo. Estas diferencias se relacionan no sólo con procesos biológicos, sino con los diferentes manejos agrícolas como las pautas de riego, de uso de fertilizantes o de inhibidores de la nitrificación imprimen un carácter diferente a los suelos con plantas de maíz (transgénicas o convencionales) respecto a los suelos sin cultivar.
2. Las tendencias generales encontradas en los dos campos para todos los parámetros estudiados, indican que el tipo de sustrato tiene un impacto menor que la planta (transgénica, convencional o suelo sin cultivar) o el momento fenológico, puesto que las pautas encontradas en los dos campos son, para todos los parámetros, superponibles en la mayoría de los casos.
3. Al considerar en su conjunto suelos y variedades, sólo se encuentran las siguientes diferencias significativas en los parámetros estudiados:
 - a) Amonio. **Mayor concentración en la rizosfera de plantas transgénicas en el campo A.**
 - b) Nitrato. **Mayor concentración en la rizosfera de plantas convencionales en el campo B.**
 - c) Potencial nitrificante. **Más bajo en la rizosfera de plantas transgénicas en el campo B.**
 - d) Respiración. **Más alta en el suelo sin cultivar en el campo A.**
4. Por los datos obtenidos, no existen grandes diferencias entre la variedad convencional y la transgénica, si bien hay una ligera tendencia a un mejor reciclado del nitrógeno en los suelos cultivados con la variedad convencional respecto a los cultivados con la variedad modificada genéticamente.

9.- CONCLUSIONES GENERALES

En las figuras 73 a 79, se hace un resumen de todos los parámetros estudiados en los dos campos muestreados y en las dos campañas.

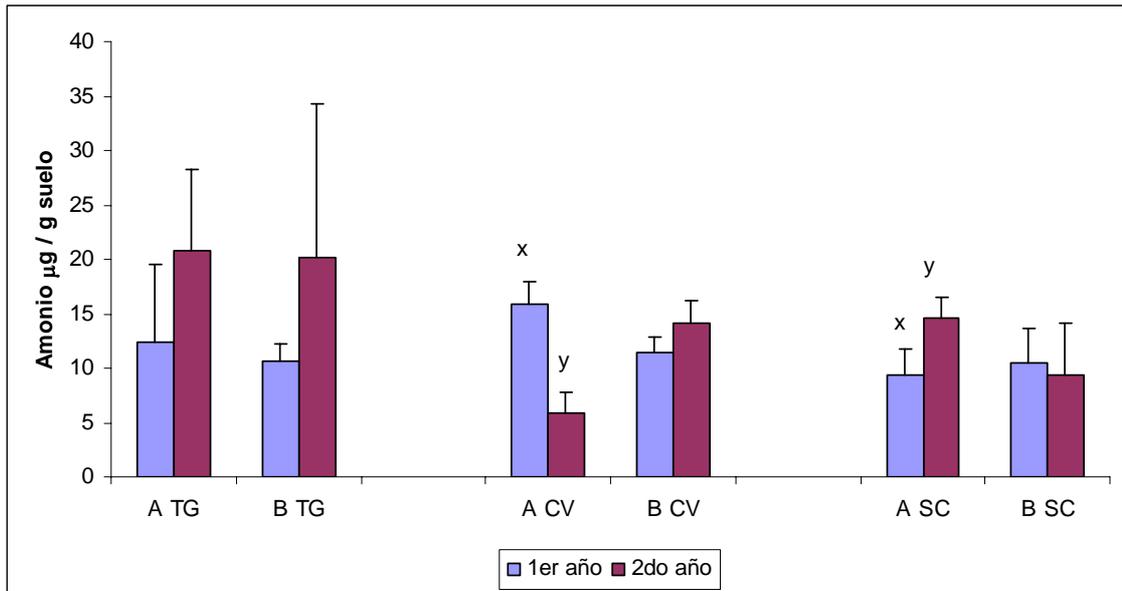


Figura 73. Media de la cantidad de amonio (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

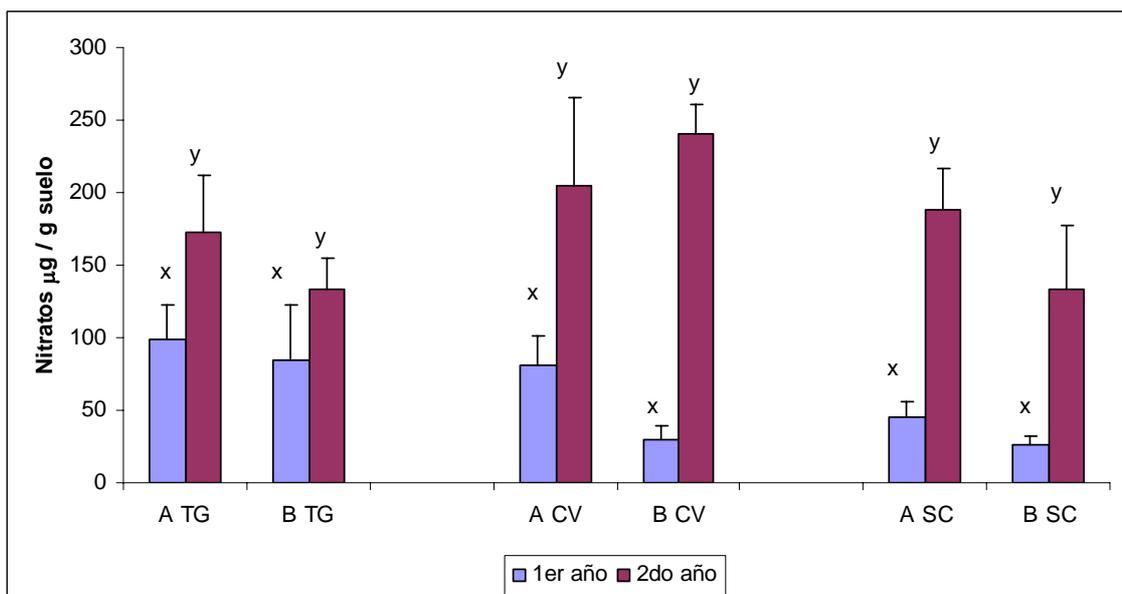


Figura 74. Media de la cantidad de nitrato (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

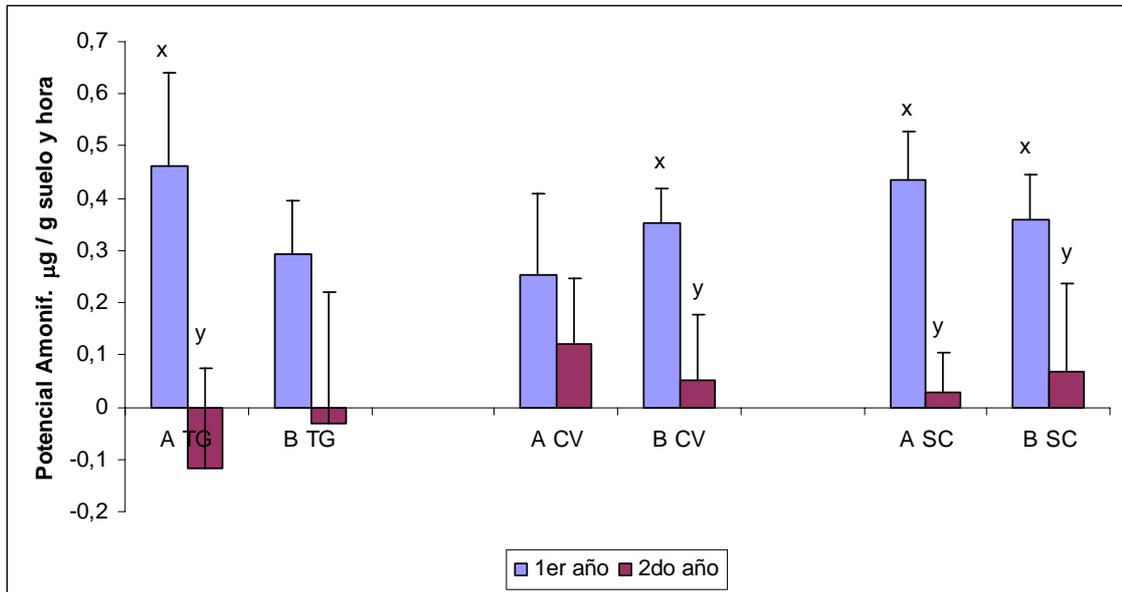


Figura 75. Media del Potencial Amonificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

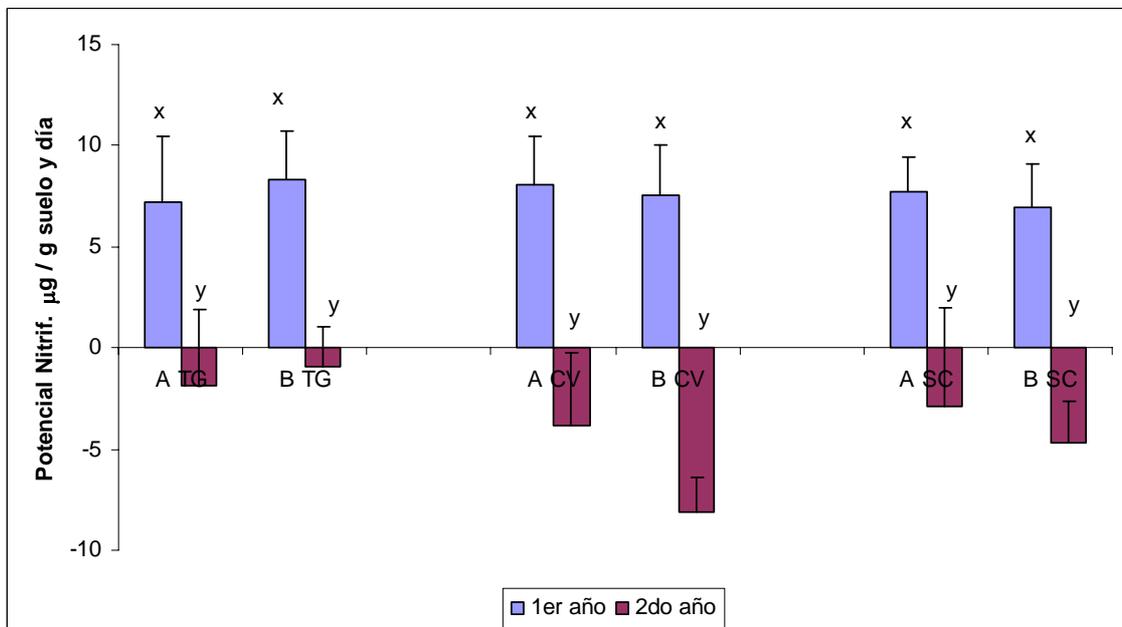


Figura 76. Media del Potencial Nitrificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

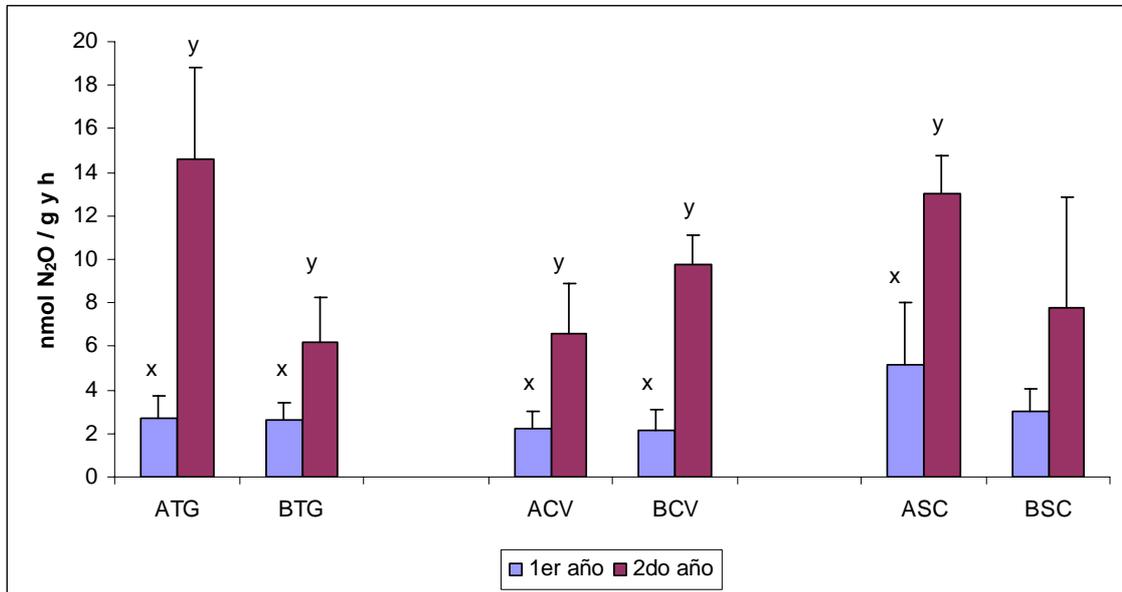


Figura 77. Media del Potencial Desnitrificante (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

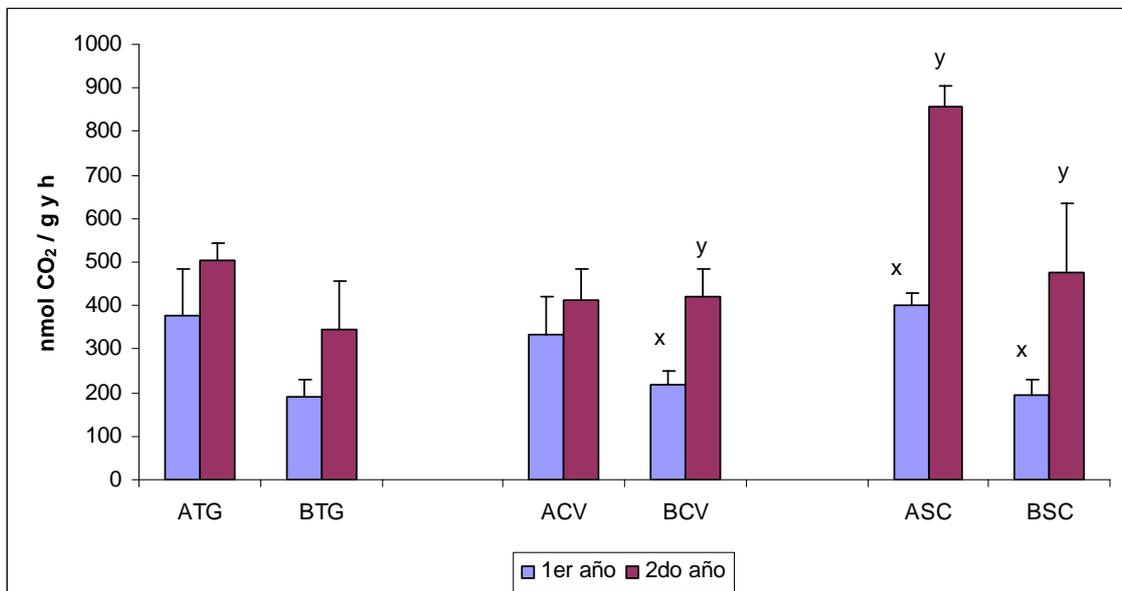


Figura 78. Media de la producción de CO₂ (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

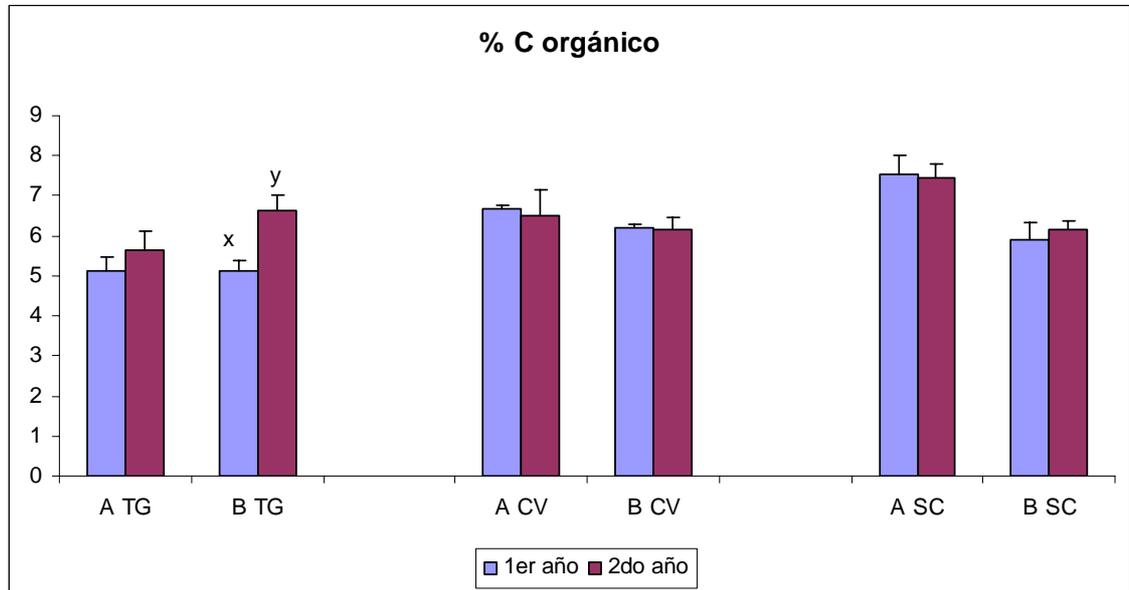


Figura 79. Media del porcentaje de carbono orgánico (de los muestreos T6, T7, T8 y T9), de los dos campos (A y B) y de los dos años. Las letras x e y indican diferencias significativas entre los dos años de muestreo dentro del mismo campo y tratamiento. Letras distintas indican que hay diferencias significativas.

En base a los resultados y conclusiones de las dos campañas, podemos establecer las siguientes conclusiones:

1. La campaña es el factor que más variación introduce, tanto al considerar campos de muestreo como tipo de cultivo (transgénica, convencional o suelo sin cultivar) para todos los parámetros estudiados.
Por lo tanto, las condiciones climáticas (temperatura, precipitación, evapotranspiración, etc...) y manejos agrarios, introducen mayor variación que el tipo de cultivo.
2. En cada campaña, el tipo de suelo no imprime grandes diferencias y, en términos generales, son análogos los resultados en plantas transgénicas y convencionales respecto al suelo sin cultivar. Esto es especialmente claro en la primera campaña.
3. En la tabla I se muestra el resumen de los ANOVAS realizados para los valores promedios de cada parámetro por campaña y campo. **De los veinticuatro ANOVAS, sólo cinco muestran diferencias significativas:**
 - a) **Respiración, campo A, segundo año y contenido de nitratos, campo B, segundo año.** No existen diferencias significativas entre rizosferas de plantas transgénicas y suelo sin cultivar. Es decir, que el posible impacto del transgénico es cuantitativamente igual que el que tienen las malas hierbas sobre el suelo.

- b) Adicionalmente, **en el contenido en nitrato, campo B, primer año**, si existen diferencias significativas de la rizosfera de plantas transgénicas respecto a la de convencionales y suelo sin cultivar, pero parece que con el tiempo desaparecen entre la rizosfera de plantas transgénicas y el suelo sin cultivar.
 - c) **En la segunda campaña, campo A, la concentración de amonio** en la rizosfera de plantas transgénicas es significativamente mayor que en suelo sin cultivar y ésta mayor que en la rizosfera de plantas convencionales. Cabe destacar que hay un pico de amonio en la rizosfera de plantas transgénicas en los tiempos intermedios de muestreo, que también se detecta en la primera campaña, este pico es menos acusado en la rizosfera de plantas convencionales. Todo ello contribuye a esta diferencia detectada.
 - d) **Potencial nitrificante, campo B, segundo año.** El valor más bajo se encuentra en la rizosfera de plantas transgénicas acoplado al momento de muestreo donde había el pico de amonio referido anteriormente. Tanto lo expuesto en este apartado como en el apartado **c)** puede ser un proceso estocástico o causado por los manejos.
4. Haciendo una valoración global del estudio realizado, podemos concluir que las variaciones y diferencias detectadas forman parte del ruido de fondo que imprimen a los procesos microbiológicos del suelo las variaciones macroscópicas (como las referidas en las conclusiones 1. y 2.) más que ser derivadas de factores de pequeña escala como el tipo de cultivo.

Tabla I Resultados de los ANOVAS globales de todos los parámetros estudiados, considerando(en cada caso) la variación por suelo y campaña.

	1er año		2do año	
	A	B	A	B
Amonio	ns	ns	TG>SC>CV	ns
Nitrato	ns	CV>TG>SC	ns	CV>TG=SC
Potencial Amonif.	ns	ns	ns	ns
Potencial Nitrif.	ns	ns	ns	CV=SC>TG
Potencial Desnitrif.	ns	ns	ns	ns
Respiración	ns	ns	TG>SC>CV	ns

10.- BIBLIOGRAFÍA

- ALEFF, K. y KLEINER, D. 1986. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 18: 233-235.
- FROSTEGÅRD, A. y BÅÅTH, E. 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol. Fertil Soils*, 22: 59-65.
- HECHT, U. y MOHR, H. 1990. Factors controlling nitrate and ammonium accumulation in mustard (*Sinapis alba*) seedlings. *Physiol. Plant.*, 78: 379-387.
- JONES, R. W. y HEDLIN, R. A. 1970. Ammonium, nitrite and nitrate accumulation in three Manitoba soils as influenced by added ammonium sulfate and urea. *Can. J. Soil Sci.*, 50: 331-338.
- LLINARES, F. PROBANZA, A., GUTIERREZ MAÑERO, F.J. y POZUELO, J.M. 1991. Determinación simultánea en tierras de la fijación de nitrógeno y desnitrificación mediante cromatografía de gases: condiciones de aplicación. *Tec. Lab.*, 163: 202-207.
- McKENNEY, D.J., DRURY, C.F. y WANG, S.W. 1996. Effect of acetylene on nitric oxide production in Soil under denitrifying conditions. *Soil Sci. Am. J.*, 60(3): 811-820 .
- OECD. 2000. OECD Guidelines for the testing of chemicals. *Soil Microorganisms: Nitrogen transformation test*.
- OECD. 2000. OECD Guidelines for the testing of chemicals. *Soil Microorganisms: Carbon transformation test*.
- ROBERTSON, G. P. y VITOUSEK, P. M. 1981. Nitrification potentials in primary and secondary succession. *Ecology*, 62: 376-386.
- SAHRAWAT, K. L. 1982. Nitrification in some tropical soils. *Plant and Soil*, 65: 281-286.
- VERSTRATE, W. 1981. Nitrification. *Ecol. Bull. (Stockholm)*, 33: 303-314.
- VINTHER, F. P. 1984. Total denitrification and the ratio between N_2O and N_2 during the growth of spring barley. *Plant and Soil*, 76: 227-232.
- WEATHERBURN, W. 1967. Phenol-hypoclorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.*, 39: 971-973.
- YOSHINARI, T. y KNOWLES, K. 1976. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 69: 05-710.



CEU
*Universidad
San Pablo*

Dr. José Antonio Lucas García (Coordinador)
En el Campus de Monteprincipe a 3 de Abril de 2006.