

El cambio de pH del sustrato como causa de la reducción de altura de *Glycine max* tras recibir tratamientos con concentraciones elevadas de urea

Materia: Biología

Número de palabras: 3887

# Contenido

1. Introducción.....	1
1.1 Importancia de la fertilización .....	1
1.2 Absorción del nitrógeno .....	2
1.3 Relación entre el pH y el desarrollo vegetal .....	3
1.4 Propósito de la investigación .....	3
1.5 Hipótesis.....	4
2. Investigación parte 1. Efecto de la urea sobre la altura de <i>G. max</i> .....	5
2.1 Materiales .....	5
2.2 Método .....	5
2.3 Resultados.....	7
3. Investigación parte 2. Efecto de la urea sobre el pH del sustrato .....	9
3.1 Materiales .....	9
3.2 Método .....	9
3.3 Resultados.....	11
4. Resultados con respecto a la pregunta de investigación .....	12
5. Discusión .....	13
6. Conclusión .....	16
7. Bibliografía.....	17
8. Anexo .....	21
Experimentación 1. Método. ....	21
Experimentación 2. Método. ....	24
Datos brutos 1.....	27
Datos brutos 2.....	28

# 1. Introducción

## 1.1 Importancia de la fertilización

En la agricultura actual, el uso de fertilizantes (también llamados abonos) está muy extendido, siendo responsable de hasta el 50% de la producción agrícola mundial (ANFFE, 2015). Estos fertilizantes se aplican a las plantas o su sustrato con objetivo de favorecer el crecimiento y mejorar la producción y calidad nutritiva de los cultivos (Finck, 1988); es decir, permiten aumentar el rendimiento de las plantaciones, aspecto muy importante frente al crecimiento de población mundial y su consiguiente necesidad de alimento. Actualmente, la producción industrial de fertilizantes sintéticos supera los 180 millones de toneladas globales (FAO, 2015). Además, la FAO prevé que en 2050 el uso de fertilizantes habrá aumentado un 45% con respecto a la actualidad (Goñi, 2017).

Los fertilizantes se pueden clasificar según su composición química en nitrogenados, fosfatados, y potásicos. De estos tres, el uso de fertilizantes nitrogenados (que contienen nitrógeno) es el más relevante debido a que el nitrógeno es el elemento principal en la producción y crecimiento vegetal (Finck, 1988). El nitrógeno juega un papel importante durante las primeras fases de crecimiento, debido al fuerte desarrollo celular para formar tallos y hojas (Mateo Box, 2005); sin este elemento, el área foliar y la actividad fotosintética disminuyen. Por ello, cuando es insuficiente la cantidad de nitrógeno en el suelo, se deben aplicar fertilizantes nitrogenados.

Dentro de los fertilizantes nitrogenados, la urea es uno de los más utilizados por los agricultores, por su contenido en nitrógeno (46%) y su económico precio. Por esta razón, muchas veces los agricultores se exceden en el uso de la urea, lo cual tiene

consecuencias negativas para la propia eficiencia del cultivo y para el medioambiente, como la contaminación de las aguas superficiales o la acidificación del terreno (San Martín, 2014). Así, uno de los valores de esta investigación es alentar a la reducción en el uso de fertilizantes para minimizar los efectos negativos que producen sobre el medioambiente.

## 1.2 Absorción del nitrógeno

La urea, por su aplicación a través del riego – método conocido como “fertirrigación” (AEFA, 2017) – entra en la tierra, donde, en aproximadamente dos o tres días, se descompone formando amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) por la acción de la enzima ureasa (producida por bacterias) (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002). Posteriormente, en el proceso de “nitrificación”, dos grupos de bacterias llevan a cabo la oxidación de amonio a nitrito, y la oxidación de nitrito a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Oregon State University, 2004). Entonces, las plantas pueden absorber el nitrógeno del suelo tanto en forma amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) como nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ).

A pesar de sus beneficios, la urea tiene riesgos, dado que una aplicación excesiva puede tener efectos negativos y se recomienda tener una moderación a la hora de aplicarla (Urbano, 2013). Así, por ejemplo, un exceso de nitrógeno en fases tempranas del crecimiento puede originar enfermedades o problemas en la formación de los nódulos (Galarza, Gudelj, & Vallone, 2001). También puede modificar el pH del suelo, lo cual tiene un impacto sobre el crecimiento de la planta. Además, la sobrefertilización del terreno puede acarrear consecuencias medioambientales como la contaminación de aguas superficiales o subterráneas con nitratos (San Martín, 2014).

### 1.3 Relación entre el pH y el desarrollo vegetal

Los fertilizantes pueden modificar el pH del suelo sobre el que se aplican, al provocar la liberación de iones  $\text{OH}^-$  o  $\text{H}^+$ . Como ya se explicó previamente, la urea lleva a cabo dos procesos. En el primero se forma carbonato amónico y luego amonio, aumentando el pH del suelo; y el segundo produce nitrato a partir del amonio, reduciendo el pH. Así, el resultado global es una acidificación del suelo (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002).

El pH del suelo es un factor importante en el crecimiento de una planta. Esto se debe a que determina la disponibilidad de nutrientes. Así, en suelos ácidos ( $\text{pH} < 5.5$ ) disminuye la disponibilidad de molibdeno, calcio y magnesio y aumenta la de hierro, manganeso, zinc y cobre; en suelos más básicos ( $\text{pH} > 6.5$ ) ocurre lo contrario (Chen López, 2017). Además, el exceso de nutrientes puede resultar tóxico para la salud de la planta. Por ello, suele aconsejarse mantener el pH del sustrato entre 5,5 y 6,5. Cuando el pH del sustrato no es adecuado para el cultivo, las plantas no pueden asimilar todos los micronutrientes que necesitan, por lo que presentan problemas en su salud y crecimiento (Hodges & Constable, 1986).

### 1.4 Propósito de la investigación

Según lo expuesto anteriormente, un exceso de urea conlleva un mal crecimiento del cultivo, siendo la modificación del pH del suelo una de las posibles explicaciones al fenómeno. Esto lleva a la siguiente pregunta de investigación:

**¿Es el cambio en el pH del sustrato (causado por la aplicación de urea), el causante de la reducción del crecimiento de *Glycine max*?**

Para poder responder a la pregunta, es necesario abordar dos cuestiones: el crecimiento de *Glycine max* (soja) y el pH del sustrato. Así, la investigación se compone de dos experimentos a través de los cuales se determina:

- 1) El efecto que tiene la aplicación de cantidades crecientes de urea sobre la altura (medida desde la base hasta el extremo superior del tallo) de muestras de *G. max*.
- 2) El efecto que tiene la aplicación de cantidades crecientes de urea sobre el pH del sustrato (sin la presencia de plantas).

La primera experimentación permite comprobar la premisa de que el tratamiento con cantidades de urea superiores a las sugeridas en la web “Gabinete de Ingenieros Técnicos Agrícolas” (Gabinete de Ingenieros Técnicos Agrícolas, 2013), tienen un efecto negativo sobre el crecimiento de *G. max*, provocando una menor altura de las muestras.

A través de la segunda experimentación se determina el cambio que sufre el pH del sustrato al aplicar cantidades de urea por encima de las recomendadas. Después, los datos finales de pH y altura de las muestras se comparan para estudiar si existe una correlación entre ambos.

Se ha elegido la soja (*Glycine max*) como sujeto de estudio en esta investigación, al ser uno de los cultivos más extendidos a nivel mundial tras el maíz, trigo y arroz.

## 1.5 Hipótesis

Debido al carácter acidificante de la urea descrito por Ginés y Mariscal-Sancho (2002), se espera que, aumentando la concentración de urea en el agua de riego, se liberen más iones  $H^+$  al medio y, por tanto, el pH del sustrato disminuya. El cambio de pH del sustrato

altera la disponibilidad de micronutrientes, afectando al crecimiento de las plantas. Por eso se espera que el cambio del pH guarde una correlación con la reducción en el crecimiento de *G. max*.

## 2. Investigación parte 1. Efecto de la urea sobre la altura de *G. max*

El objetivo de esta primera experimentación es comprobar si cantidades de urea superiores a las recomendadas por “Gabinete de Ingenieros Técnicos Agrícolas” (2013) reducen el crecimiento de *G. max*. Se hacen grupos de plantas que se riegan con concentraciones crecientes de urea y se obtienen los datos sobre la longitud de sus tallos. Estos datos se podrán usar más adelante para compararlos entre sí y establecer una tendencia; y para compararlos con los datos del pH del sustrato y establecer si existe una correlación entre el pH del sustrato y la altura de las muestras.

### 2.1 Materiales

30 vasos de plástico	Sustrato para cultivo	120 semillas de <i>G. max</i>
6 cubetas	Guantes y gafas de seguridad	Probeta de 100 ml
Urea en polvo (46% N)	Cucharilla	Balanza de precisión
Pipeta de 25 ml	Tijeras	Regla

### 2.2 Método

La siguiente es una versión resumida del procedimiento de esta fase de la investigación.

La versión detallada se encuentra en el anexo “Experimentación 1. Método”.

#### **Plantación de las semillas de *G. max***

- 1) Preparar 30 “vasos de cultivo” con sustrato (pH 5,5 – 6,5), 4 semillas de *G. max* cada uno, y un agujero en la base para drenaje.

- 2) Colocar 5 vasos en cada cubeta (total: 6 cubetas con 20 semillas, para asegurar fiabilidad de los resultados). Rellenar cada cubeta con 500 ml de agua de grifo. El agua entra a los vasos por los agujeros.
- 3) Colocar en lugar iluminado y esperar hasta la germinación.

El día de la plantación se considera el “día 0”.

### **Riego de las cubetas con urea**

Al cabo de 2 días (día 2) las semillas ya habían germinado y comenzó la fertirrigación de urea. La recomendación de “Gabinete de Ingenieros Técnicos Agrícolas” (2013), es el aporte de 80 kg<sub>nitrógeno</sub>/hectárea. Esa recomendación se adapta a una concentración aproximada de 0,01 mol<sub>urea</sub>/L<sub>riego</sub> para las condiciones de cultivo del experimento.

Cada cubeta compone un “grupo” que se riega con determinada concentración de urea en el agua, que siempre es mayor a la recomendada. Así, hay 6 tratamientos diferentes, con soluciones de urea de concentración 0,1M, 0,5M, 1,0M, 1,5M y 2,0M. A continuación, se describe el proceso para regar un solo grupo/cubeta.

- 1) Antes de regar, quitar posibles hongos del sustrato.
- 2) Colocar 75 ml de solución de urea de la concentración correspondiente en una probeta (las concentraciones son las indicadas previamente). La masa de urea correspondiente se mide con balanza de precisión y se disuelve en el agua.
- 3) Distribuir a cada vaso de cultivo 15 ml de la solución correspondiente (5 vasos = 75 ml) utilizando una pipeta. La solución se aplica en círculos para una distribución de urea homogénea.
- 4) El proceso se repite con los 6 grupos.



Este tratamiento con urea se repitió 3 días: días 2, 5 y 9. El día 12 el experimento se considera terminado y se mide la altura de las muestras de *G. max*.

### Medición de la altura de las muestras de *G. max*

- 1) Cortar tallo por la base
- 2) Medir la longitud del tallo (desde la base hasta el extremo superior, ignorando hojas) usando una regla.

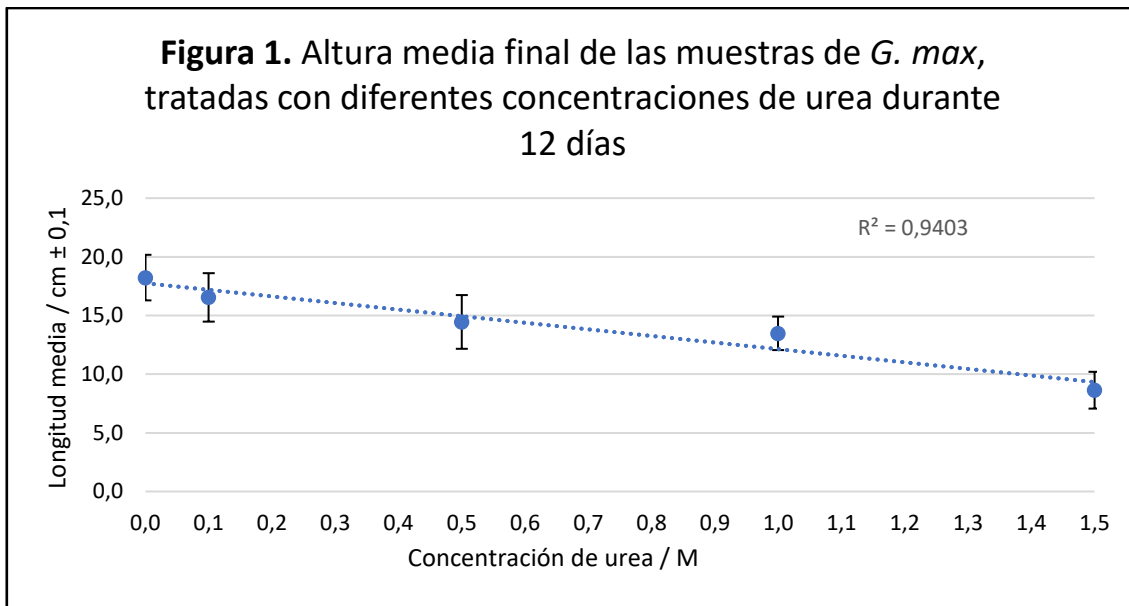
Es necesario notar que algunas muestras (principalmente las tratadas con mayor concentración de urea) no lograron desarrollarse. Así, las muestras con el tallo roto, las que apenas germinaron o las que no llegaron a desarrollar hojas (además de los cotiledones) se marcaron como anomalías y no se midió su altura ni se incluyeron en el cálculo de la media. En la tabla de resultados de esta primera experimentación solo se incluyen las muestras que sí se desarrollaron.

### 2.3 Resultados

**Tabla 1.** Altura de las muestras de *G. max*, tratadas con diferentes concentraciones de urea: altura media final (día 12) y desviación estándar de cada grupo.

Concentración de urea / M	Control	0,1	0,5	1	1,5	2
Longitud media final del tallo / cm $\pm$ 0,1	18,2 $\pm$ 1,9	16,5 $\pm$ 2,1	14,5 $\pm$ 2,3	13,5 $\pm$ 1,4	8,6 $\pm$ 1,6	-

Nota: la tabla previa contiene los datos procesados (media y desviación estándar). Los datos brutos de los que deriva esta tabla se encuentran en el anexo "Datos brutos 1".



En la Tabla 1 y Figura 1 se omite el grupo de urea 2,0M ya que todas sus plantas fueron descartadas, porque no crecieron adecuadamente tras la germinación y murieron.

Estos resultados muestran que la aplicación de urea en concentraciones iguales o mayores a 0,1M provocan un descenso del crecimiento en *G. max*. La tendencia que se observa es que, a medida que se aumentó la concentración de urea, la altura media de las muestras de *G. max* fue menor, existiendo por lo tanto una correlación negativa entre la concentración de urea aplicada y la altura de la muestra, que además es significativa como indica el elevado valor de  $R^2$ .

El grupo control, que no fue tratado con urea, presenta la mayor altura media, de 18,2 ± 1,9 cm; y el grupo tratado con urea 1,5M no llegó a la mitad de la altura del grupo control, con 8,6 ± 1,6 cm de media. Incluso las plantas tratadas con la menor concentración de urea (0,1M) crecieron hasta una altura menor que las del grupo control. Así, se puede confirmar la premisa de que las cantidades de urea superiores a las recomendadas tienen un efecto negativo sobre el crecimiento de *G. max*.

Hay que tener en cuenta que algunas secciones de las barras de error se solapan, indicando que las diferencias entre las concentraciones 0,0M, 0,1M, 0,5M, y 1,0M son menos significativas y que las diferencias comienzan a ser significativas a partir de 1,5M donde la altura llega a reducirse a la mitad del Control. Estas diferencias se pueden deber varios factores que se comentarán en el apartado “Discusión”.

### 3. Investigación parte 2. Efecto de la urea sobre el pH del sustrato

A través de esta parte se podrá comprobar si la aplicación de urea provoca la acidificación del sustrato, como indican algunas investigaciones (Baldoncini, 2015) (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002). Además, los datos de pH obtenidos sirven para analizar su relación con la altura de *G. max*.

#### 3.1 Materiales

18 vasos de plástico	Sustrato de pH 5,5 - 6,5	6 cubetas
Probeta de 100 ml	Guantes y gafas de seguridad	Cucharilla
Urea en polvo (46% N)	Balanza de precisión	Pipeta de 25 ml
pH-metro	Solución buffer pH 4	Agua destilada

#### 3.2 Método

La versión detallada del procedimiento se encuentra en el anexo “Experimentación 2. Método”.

#### **Preparación de las muestras de sustrato:**

- 1) Preparar 18 vasos con sustrato (pH 5,5 – 6,5) y un agujero en la base para drenaje. No se colocan semillas.

- 2) Colocar 3 vasos en cada cubeta (total: 6 cubetas). Rellenar cada cubeta con 500 ml de agua de grifo. El agua entra a los vasos por los agujeros.

Esto se hace el día 0, imitando la Experimentación 1.

### **Tratamiento con urea**

El día 2 comienza el tratamiento del sustrato con urea. Cada grupo se tratará en los mismos días con las mismas cantidades de urea que en la Experimentación 1.

- 1) Colocar 45 ml de solución de urea de la concentración correspondiente en una probeta. La masa de urea correspondiente se mide con balanza de precisión y se disuelve en el agua.
- 2) Distribuir a cada vaso de cultivo 15 ml de la solución correspondiente (3 vasos = 45 ml) utilizando una pipeta. La solución se aplica en círculos para una distribución de urea homogénea.

Antes de cada aplicación de urea, se toma una muestra de 1 g del sustrato de cada vaso y se mide su pH. El día 12 se mide el pH final de las muestras.

### **Medición del pH del sustrato**

Se lleva a cabo el método de dilución 1:20 (sustrato:agua).

- 1) Tomar muestra de 1g del sustrato, introducir en 20 ml de agua destilada, agitar 30 segundos.
- 2) Medir pH de la disolución usando medidor de pH electrónico. Enjuagar punta antes de cada medición.

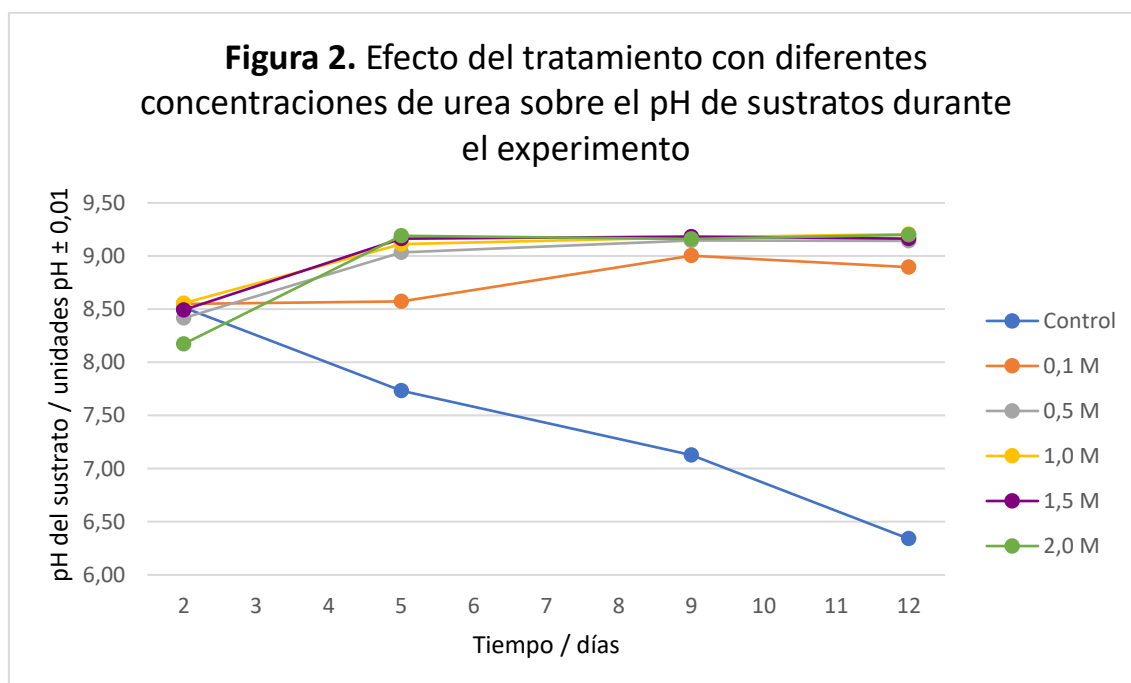
### 3.3 Resultados

**Tabla 2.** Valores de pH de sustratos, tratados con diferentes concentraciones de urea:

pH medio y desviación estándar de cada grupo.

Concentración de urea / M	pH medio del sustrato / unidades de pH $\pm$ 0,01			
	Día 2	Día 5	Día 9	Día 12
Control	8,52 $\pm$ 0,13	7,73 $\pm$ 0,18	7,13 $\pm$ 0,09	6,34 $\pm$ 0,24
0,1	8,55 $\pm$ 0,11	8,57 $\pm$ 0,11	9,00 $\pm$ 0,03	8,90 $\pm$ 0,27
0,5	8,42 $\pm$ 0,12	9,03 $\pm$ 0,06	9,15 $\pm$ 0,03	9,14 $\pm$ 0,02
1,0	8,56 $\pm$ 0,07	9,11 $\pm$ 0,03	9,18 $\pm$ 0,02	9,21 $\pm$ 0,02
1,5	8,49 $\pm$ 0,12	9,16 $\pm$ 0,02	9,18 $\pm$ 0,03	9,16 $\pm$ 0,04
2,0	8,17 $\pm$ 0,35	9,19 $\pm$ 0,03	9,16 $\pm$ 0,01	9,20 $\pm$ 0,03

Nota: la tabla previa contiene los datos procesados (media y desviación estándar). Los datos brutos de los que deriva esta tabla se encuentran en el anexo “Datos brutos 2”.



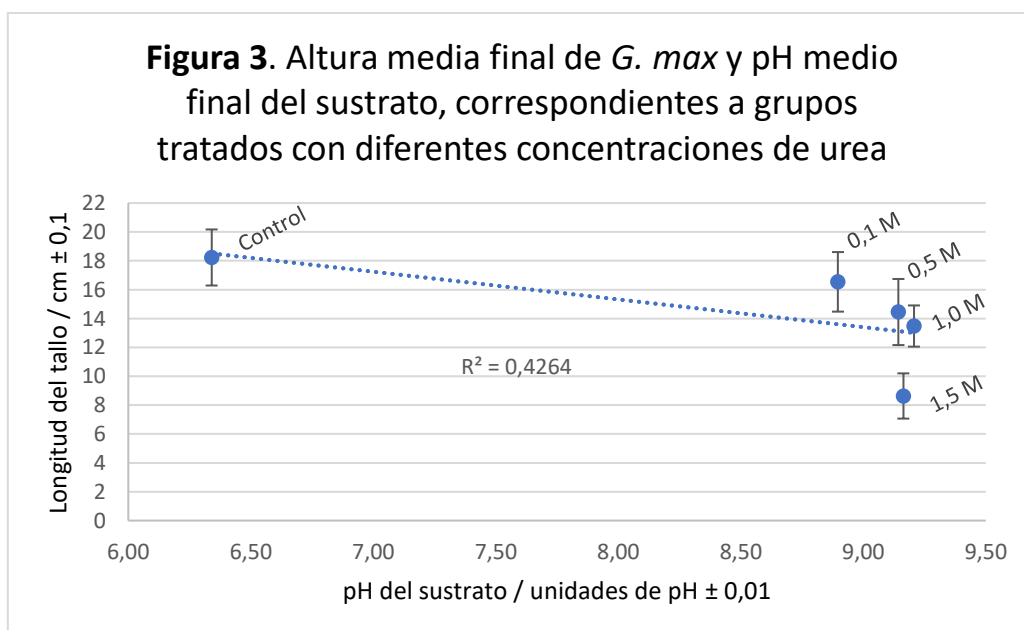
Los resultados sugieren que el tratamiento con urea provoca el aumento del pH, al contrario de lo que se planteó en la hipótesis. Todos los sustratos comenzaron en un pH

aproximado de 8,50 pero el pH del grupo Control disminuyó a lo largo del tiempo mientras que el pH de los grupos tratados aumentó. Entre el pH de los sustratos tratados con urea no existe una diferencia significativa.

El grupo Control es el que sufre un mayor cambio de pH, a pesar de no recibir tratamiento. Esto podría deberse al aumento de humedad del sustrato a lo largo del experimento debido al riego. Así, tomar una muestra de 1g de sustrato el día 12 implica una cantidad mayor de agua y menor de “tierra” que en la muestra el día 2. Esto supone una limitación de los resultados, ya que el cambio de pH podría haber sido mayor en los grupos tratados y menor en el Control.

#### 4. Resultados con respecto a la pregunta de investigación

A partir de los datos obtenidos en la parte 1 y 2, se presenta la Figura 3, que muestra la relación entre la altura de *G. max* y el pH de su sustrato. Esos datos se usarán para argumentar si el cambio del pH es la causa de la disminución del crecimiento de *G. max* tras aplicar urea.



Los datos sugieren que todos los grupos tratados sufren un cambio de pH similar (aumento hasta 9 aproximadamente) con respecto al pH del Control (pH 6,34), sin embargo, existen diferencias significativas entre las alturas de los grupos tratados. En contra de lo establecido en la hipótesis, estos datos junto con el valor bajo de  $R^2$  (0,4264) sugieren que no existe una correlación directa entre el pH del sustrato y la altura de las plantas. También implica que el pH no se debe considerar la única causa en la reducción de crecimiento de *G. max*.

También hay que considerar la variabilidad de los datos, que se representan con las barras de error. Estas se solapan en varios casos (grupos 0,1M, 0,5M y 1,0M) indicando que quizá las diferencias entre sus alturas no son significativas. En cualquier caso, existe una diferencia significativa entre la altura de 1,5M y de los otros grupos tratados, lo cual sugiere de nuevo que la correlación entre pH y altura no existe.

## 5. Discusión

La aplicación de grandes cantidades de fertilizante supone un riesgo para los cultivos y por ello debe ser moderado (Urbano, 2013). Esta investigación demuestra que el aumento de concentración de urea en el riego tiene una correlación negativa directa con el crecimiento de *G. max*, aportando así pruebas que apoyan esa afirmación.

La aplicación de urea tiene un efecto sobre el pH del sustrato, debido a su hidrólisis a amonio y nitrificación a nitrato. Estas reacciones provocan que la urea tenga un carácter acidificante (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002) (Balducini, 2015). Sin embargo, los resultados de esta investigación sugieren que la aplicación de urea causa un aumento del pH y contrastan con la investigación de Ginés y Mariscal-Sancho (2002).

Según Baldoncini, la hidrolización de urea a amonio ocurre en los primeros días, generando un ambiente alcalino, que posteriormente se volvería ácido por la nitrificación del amonio gracias a la acción de bacterias nitrificantes (Baldoncini, 2015). Según sus resultados, la hidrolización ocurre en tan sólo 3 días y el pH comienza a disminuir a partir de los 14 días. Mis resultados muestran que el pH aumenta hasta 9, se estabiliza y no vuelve a bajar, lo cual podría deberse a una actividad bacteriana reducida. La elevada humedad del sustrato habría afectado a estas bacterias, bloqueando la nitrificación y haciendo que en los sustratos tratados con urea quede amonio sin convertirse a nitrato, manteniéndose el pH a niveles altos (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002).

Además, la similitud del cambio de pH de todos los grupos que fueron tratados con urea sugiere que, aun existiendo una correlación entre el cambio de pH y la *presencia* de urea, no existe una correlación directa entre el cambio del pH y la *concentración* de urea en el agua de riego. Esa similitud puede relacionarse con la capacidad amortiguadora natural del sustrato, que controla los cambios del pH (Bower, Morgan, Doug, Phillips, Koren, & Roeth, 2005) y podría impedir que el pH aumentase más al aumentar la concentración de urea.

La aplicación de fertilizante al sustrato provoca el cambio de pH del mismo, lo cual puede disminuir la disponibilidad de nutrientes en los cultivos (Chen López, 2017) y causar en ellos problemas de salud y crecimiento (Hodges & Constable, 1986). Si bien la urea causa un cambio en el pH del sustrato y reduce la altura de *G. max*; las diferencias significativas de altura entre los grupos tratados con urea, y su pH muy cercano sugieren que la reducción del crecimiento de las plantas – tras aplicar urea – no mantiene una



correlación directa con el cambio del pH de su sustrato. Esto implica que hay otras causas que reducen el crecimiento de las plantas.

Las reducciones del crecimiento de *G. max* pueden relacionarse al biuret, un compuesto tóxico presente en concentraciones muy bajas (<0,1%) en la urea. Existe mucha evidencia de los efectos negativos del biuret: interfiere con la síntesis de proteínas, la actividad de enzimas y el metabolismo de la planta (Mikkelsen, 2007).

La descomposición de la urea forma compuestos fitotóxicos que, al igual que el biuret, interfieren en el metabolismo de la planta. El amonio, por ejemplo, al acumularse en los tejidos llega a causar la necrosis de hojas (Pereira da Silva, 2015), la muerte de las puntas de las raíces y rizos en los bordes de hojas (Buechel, 2017). Esto coincide con las observaciones de mi investigación, ya que muchas hojas tras el tratamiento se volvieron rizadas, y los grupos 1,5M y 2,0M presentaban raíces muy cortas.

Tanto biuret como amonio aumentan su concentración proporcionalmente al aumentar la concentración de urea, y dado que el descenso de altura de *G. max* sigue una tendencia lineal, suponen una explicación razonable a esa supresión del crecimiento.

Una de las observaciones más notorias durante la Investigación Parte 1 es la aparición de marcas circulares rojizas sobre la superficie de los tallos de grupos 1,5M y 2,0M. Según Galarza et al., grandes cantidades de N en el sustrato podrían favorecer la aparición de enfermedades o problemas en la nodulación, especialmente cuando la aplicación del fertilizante nitrogenado se realiza durante fases tempranas del crecimiento (como ocurre en esta investigación) (Galarza, Gudelj, & Vallone, 2001). Las marcas rojas podrían ser indicativos de estos problemas, siendo consecuencias de la aplicación de gran cantidad de urea. La enfermedad vegetal y los problemas en la

nodulación componen también posibles explicaciones a la reducción del crecimiento de las muestras de *G. max* tratadas con urea.

Es necesario también evaluar la metodología que limita la validez de los resultados de la investigación. La carencia de plantas en los sustratos tratados en la Parte 2 tiene un impacto sobre los valores de pH obtenidos, ya que la absorción de amonio y nitrato por la planta afecta al pH del sustrato (Buechel, 2017). Las plantas podrían haber liberado  $H^+$  tras absorber amonio, disminuyendo el pH del sustrato (Buechel, 2017). La investigación sería más fiable si en la parte 2 los sustratos tuviesen plantas en su interior.

Como se expuso en la sección 4.3, las muestras de 1g de sustrato tendrían más proporción de agua con el paso del tiempo, por lo que los valores de pH reales serían diferentes. Para hacer más exactos los resultados, las muestras se podrían secar para asegurar que se toma 1g de sustrato sin agua.

Otro factor limitante es la elevada humedad a la que se sometieron las muestras, que podría ralentizar la acción de las bacterias impidiendo la nitrificación y por ende la acidificación del sustrato (Ginés & Mariscal-Sancho, 2002). Para acercarse a condiciones reales, se podría disminuir el volumen del riego.

## 6. Conclusión

- 1) Como se predijo en la hipótesis, el tratamiento con urea en concentraciones crecientes y superiores a 0,1M mantiene una correlación lineal con la reducción de altura de *G. max*.
- 2) De acuerdo con la hipótesis, el tratamiento con urea provoca una modificación en el valor de pH del sustrato. Sin embargo, contrario a la hipótesis, el cambio

consiste en un aumento del pH, que además no aumenta de forma proporcional a la concentración de urea.

- 3) En contraposición a lo establecido en la hipótesis, el cambio del pH no mantiene una correlación directa con la altura de *G. max* y por ende no es la causa directa de la reducción de altura de *G. max*.

Aunque la respuesta a la pregunta de investigación se oponga a la hipótesis inicial, la investigación aporta evidencias de algunos riesgos de la sobrefertilización: alteración del pH del sustrato, reducción del crecimiento y aparición de enfermedades vegetales.

Posteriores investigaciones deberían realizarse para estudiar el efecto del propio amonio o el biuret sobre el crecimiento de las plantas, con objeto de poder analizar en más detalle las causas de la reducción del crecimiento. Se podría estudiar la aparición de enfermedades vegetales – como las marcas rojas – y su relación con cantidades crecientes de amonio o de biuret. Asimismo, sería oportuno estudiar el efecto de las concentraciones recomendadas de urea sobre la altura de las plantas para identificar las concentraciones de urea idóneas para el cultivo de *G. max*.

## 7. Bibliografía

AEFA. (2017). *Aplicación de cobertera*. Recuperado el 23 de febrero de 2018, de

Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes: <https://aeфа-agronutrientes.org/glosario-de-terminos-utiles-en-agronutricion/aplicacion-de-cobertera>

ANFFE. (2015). *Buena evolución del mercado de fertilizantes en España*. Recuperado el 18 de febrero de 2018, de Interempresas:

<https://www.interempresas.net/Grandes-cultivos/Articulos/144944-Buena-evolucion-del-mercado-de-fertilizantes-en-Espana.html>

Baldoncini, A. M. (2015). Efectos de la aplicación de fertilizantes sobre el pH de suelos series Oncativo. Universidad Nacional de Córdoba.

Bower, D., Morgan, Doug, Phillips, Koren, & Roeth, B. (2005). *The Effect of pH on the Growth of Green Beans (Draft 4)*. Recuperado el 3 de marzo de 2018, de Miami University:  
<http://jrscience.wcp.muohio.edu/nsfall05/LabpacketArticles/TheEffectofpHontheGrowth.html>

Buechel, T. (2017). *Toxicidad de amonio*. Recuperado el 2 de marzo de 2018, de PT Horticulture: <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/toxicidad-de-amonio/>

Chen López, J. (2017). *El pH del agua se relaciona con el pH del sustrato*. Recuperado el 26 de febrero de 2018, de PRO-MIX:  
<https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/serie-mitos-el-ph-del-agua-se-relaciona-con-el-ph-del-sustrato/>

Cox, D. (s.f.). *Current Methods of Greenhouse Media Testing and How They Differ*. Recuperado el 18 de febrero de 2018, de Center for Agriculture, Food and the Environment | University of Massachusetts Amherst:  
<https://ag.umass.edu/greenhouse-floriculture/fact-sheets/current-methods-of-greenhouse-media-testing-how-they-differ>

FAO. (2015). *El uso de fertilizantes sobrepasará los 200 millones de toneladas en 2018*.

Recuperado el 18 de febrero de 2018, de FAO Noticias:

<http://www.fao.org/news/story/es/item/277654/icode/>

Finck, A. (1988). *Fertilizantes y fertilización: fundamentos y métodos para la fertilización de los cultivos*. Reverte.

Gabinete de Ingenieros Técnicos Agrícolas. (2013). *Recomendaciones de abonado en hortalizas*. Recuperado el 1 de noviembre de 2017, de tecnicoagricola.es:

<http://www.tecnicoagricola.es/recomendaciones-de-abonado-en-hortalizas/>

Galarza, C., Gudelj, V., & Vallone, P. (2001). *Fertilización del Cultivo de Soja*.

Recuperado el 24 de febrero de 2018, de Red Agraria:

<http://redagraria.com/divulgaci%F3n%20t%E9cnica/articulos%20de%20dt/fertilizsoja01.html>

Ginés, I., & Mariscal-Sancho, I. (2002). Incidencia de los fertilizantes sobre el pH del suelo. *Fertiberia*.

Goñi, J. (2017). El papel de los fertilizantes en la agricultura: presente y futuro.

*Agronegocios*, 3.

Hodges, S., & Constable, G. (1986). Plant Responses to Mineral Deficiencies and Toxicities. En *Cotton Physiology*. Springer.

Mateo Box, J. M. (2005). *Prontuario de agricultura*. Mundi-Prensa Libros.

Mikkelsen, R. L. (2007). Biuret in urea fertilizers. *Better Crops With Plant Food*, 91(3), 7-

9.

Oregon State University. (2004). *Introduction*. Recuperado el 23 de febrero de 2018, de

Nitrification Network: <http://nitrificationnetwork.org/Introduction.php>

Pereira da Silva, G. (2015). *Síntomas de toxicidad de amonio en plantas de papaya*.

Recuperado el 3 de marzo de 2018, de Research Gate:

[https://www.researchgate.net/publication/294245059\\_Sintomas\\_de\\_toxicidad\\_de\\_amonio\\_en\\_plantas\\_de\\_papaya](https://www.researchgate.net/publication/294245059_Sintomas_de_toxicidad_de_amonio_en_plantas_de_papaya)

San Martín, D. (2014). *Cómo elegir un fertilizante nitrogenado adecuado*. Recuperado

el 20 de febrero de 2018, de El Mercurio:

<http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Redes/2014/01/02/Las-claves-para-elegir-un-fertilizante-nitrogenado-adecuado.aspx>

Urbano, P. (2013). *Abonado en Girasol Colza y Soja*. Recuperado el 18 de febrero de

2018, de tecnicoagricola.es: [www.tecnicoagricola.es/abonado-en-girasol-colza-y-soja/](http://www.tecnicoagricola.es/abonado-en-girasol-colza-y-soja/)

## 8. Anexo

### Experimentación 1. Método.

#### **Plantación de las semillas de *G. max***

- 1) En 30 vasos de plástico, hacer agujeros en la base y colocar sustrato (pH 5,5 – 6,5) en su interior. Estos son los “vasos de cultivo”. Los agujeros permiten la entrada de agua y el drenaje.
- 2) Colocar 4 semillas en cada vaso y cubrirlas con una fina capa de sustrato.
- 3) Usando 6 cubetas, rellenar cada una con 500 ml de agua de grifo y 5 vasos de cultivo. Cada cubeta contiene 20 semillas de *G. max* que componen un grupo de determinada concentración de urea.
- 4) Colocar etiquetas que indiquen la concentración de urea que se aplica a los cultivos de cada cubeta.

Cada día se pasa a rellenar la cubeta con 500 ml de agua, comprobando el estado de germinación de las semillas. Una vez que las semillas han germinado, comienza la fertirrigación de urea.

\*Nota: en el primer intento del experimento, se dejaron las semillas desatendidas durante 4 días tras su plantación por cierre del centro en días festivos. A la vuelta, la mayoría de las plantas habían superado los 4 cm de altura, por lo que se repitió el experimento. En el segundo intento del experimento, al cabo de 2 días las semillas ya habían germinado y se comenzó la aplicación de urea.

### Riego de las muestras con urea

- 1) Vaciar el agua de las cubetas, ya que las semillas han germinado y se pasa a otro modo de riego.
- 2) Utilizar guantes y gafas.
- 3) Con una cucharilla, quitar los hongos que puedan haber crecido en la superficie del sustrato, para evitar que interfiera con la salud de las plantas.
- 4) Llenar una probeta de 100 ml con 75ml de agua. Posteriormente se usarán 15ml de esa agua para cada vaso de plantas.
- 5) La urea se añade en diferente concentración a cada grupo de plantas:
  - a. 0.1 M: 450 mg urea
  - b. 0.5 M: 2250 mg urea
  - c. 1.0 M: 4500 mg urea
  - d. 1.5 M: 6755 mg urea
  - e. 2.0 M: 9010 mg urea
- 6) Utilizando una balanza de precisión, medir la cantidad de urea necesaria para cada grupo y disolverla en el agua.
- 7) Con una pipeta de 25 ml, distribuir los 75 cl de solución en los vasos, colocando 15 cl en cada uno.
- 8) Aplicar sobre la superficie de la tierra en círculo para que el suministro de urea sea lo más homogéneo posible.
- 9) Limpiar las probetas y dejarlas a secar.
- 10) Colocar las cubetas en algún lugar iluminado.



Este tratamiento con urea se repitió 3 días: días 2, 5 y 9. Los días que no se aplica urea, se rellena la cubeta con otros 500 ml de agua, para diluir los restos de solución de urea que hayan drenado del vaso. El día 12 el experimento se considera terminado y se mide la altura de las muestras de *G. max*.

#### **Medición de la altura de las muestras de *G. max***

- 1) Cortar tallo por la base.
- 2) Medir la longitud del tallo (desde la base hasta el extremo superior, ignorando hojas que crezcan por encima del tallo), usando una regla.
- 3) Anotar altura de las muestras en Excel, agrupando según la concentración de urea aplicada.

## Experimentación 2. Método.

### **Preparación de las muestras de sustrato:**

- 1) En 18 vasos de plástico, hacer agujeros en la base y colocar sustrato (pH 5,5 – 6,5) en su interior. Los agujeros permiten la entrada de agua y el drenaje.
- 2) Usando 6 cubetas, rellenar cada una con 500 ml de agua de grifo y 3 vasos con sustrato.
- 3) Colocar etiquetas que indiquen la concentración de urea que se aplica a los cultivos de cada cubeta.

Este es el día 0, en que se deja humidificar el sustrato con el agua de la cubeta. A partir del día 2 comienza el tratamiento del sustrato con urea.

### **Riego del sustrato con urea:**

- 1) Utilizar guantes y gafas.
- 2) Llenar una probeta de 100 ml con 45ml de agua. Posteriormente se usarán 15ml de esa agua para cada vaso de plantas.
- 3) La urea se añade en diferente concentración a cada grupo de plantas:
  - a. 0.1 M: 0.270 g urea
  - b. 0.5 M: 1.352 g urea
  - c. 1.0 M: 2.704 g urea
  - d. 1.5 M: 4.057 g urea
  - e. 2.0 M: 5.409 g urea
- 4) Utilizando una balanza de precisión, medir la cantidad de urea necesaria para cada grupo y disolverla en el agua.
- 5) Con una pipeta de 25 ml, distribuir los 45 cl de solución en los vasos, colocando 15 cl en cada uno.

- 6) Aplicar sobre la superficie de la tierra en círculo para que el suministro de urea sea lo más homogéneo posible.
- 7) Limpiar las probetas y dejarlas a secar.

Este tratamiento con urea se repitió 3 días, igual que en la Experimentación 1: días 2, 5 y 9. Los días que no se aplica urea, se rellena la cubeta con otros 500 ml de agua, para diluir los restos de solución de urea que hayan drenado del vaso.

Antes de cada aplicación de urea, se toma una muestra de 1 g del sustrato de cada vaso y se mide su pH. El día 12 el experimento se considera terminado (ya que así se hizo cuando crecieron las plantas) y se mide el pH final de las muestras de sustrato.

### **Medición del pH del sustrato**

Se lleva a cabo el método de dilución 1:20 (sustrato:agua). Aunque lo común es utilizar la dilución 1:2 (Cox, s.f.), esto no reduce la fiabilidad de los resultados, porque no es importante el valor real del pH, si no que el objetivo es comparar el pH entre los grupos de distintas concentraciones – y todos ellos se midieron utilizando el mismo método.

- 3) Tomar una muestra de 1 gramo del sustrato (siempre de la superficie).
- 4) Introducir la muestra en un vaso con 20 ml de agua destilada. Siempre debe usarse el mismo volumen de agua, ya que esto afecta al pH.
- 5) Agitar durante 30 segundos y dejar reposar durante 10 minutos.
- 6) Sacar el pH-metro del buffer a pH 4 y enjuagar la punta con agua destilada para no contaminar la solución de sustrato.

- 7) Introducir el pH-metro en la solución, medir el pH y apuntar en una hoja de cálculo.
- 8) Si se va a medir otra vez, hay que primero enjuagar la punta con agua destilada para evitar contaminación de la nueva solución. Entonces se puede medir el pH de nuevo.
- 9) Una vez tomadas todas las medidas, limpiar el sensor con agua destilada e introducir en su solución buffer de pH 4.

Datos brutos 1.

Altura de las muestras de *G. max*, tratadas con diferentes concentraciones de urea: altura final (día 12), media, y desviación estándar de cada grupo.

	Concentración de urea / M					
	Control	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
Longitud final del tallo / cm ± 0,1	18,9	16,4	7,8	16,6	8,2	-
	16,8	19,5	15,4	14,4	9,0	-
	19,4	17,6	15,7	12,7	9,9	-
	20,6	16,7	14,5	13,7	7,0	-
	19,8	11,8	16,4	12,3	10,8	-
	18,6	17,5	12,3	13,4	6,9	-
	15,0	16,4	13,9	13,0	-	-
	17,9	14,5	14,7	12,3	-	-
	18,1	18,8	13,0	11,8	-	-
	19,9	17,9	16,0	14,6	-	-
	20,4	16,4	16,9	-	-	-
	13,7	15,0	15,3	-	-	-
	17,7	-	15,6	-	-	-
	16,9	-	14,8	-	-	-
	20,7	-	-	-	-	-
	18,5	-	-	-	-	-
17,0	-	-	-	-	-	
Media	18,2	16,5	14,5	13,5	8,6*	-
Desv. Est.	1,9	2,1	2,3	1,4	1,6	-

\*Ejemplo de cálculo de la media:  $\frac{8,2+9,0+9,9+7,0+10,8+6,9}{6} = 8,6$

Nota: las casillas marcadas con “-” corresponden a las muestras que se cuentan como anomalías, ya sea porque tenían el tallo roto, porque no crecieron tras la germinación, o por una combinación de las anteriores.

Datos brutos 2.

Valores de pH de sustratos, tratados con diferentes concentraciones de urea: pH, media y desviación estándar de cada grupo. Valores medidos en días 2, 5, 9 y 12.

		pH del sustrato ( $\pm 0,01$ )			
		Día 2	Día 5	Día 9	Día 12
Control		8,38	7,94	7,13	6,1
		8,53	7,64	7,04	6,34
		8,64	7,62	7,21	6,58
	Media	8,52*	7,73	7,13	6,34
	Desv. Est.	0,13	0,18	0,09	0,24
0,1 M		8,52	8,48	8,98	8,59
		8,46	8,55	8,99	9,03
		8,67	8,69	9,04	9,07
	Media	8,55	8,57	9,00	8,90
	Desv. Est.	0,11	0,11	0,03	0,27
0,5 M		8,28	8,97	9,17	9,13
		8,45	9,09	9,12	9,13
		8,52	9,04	9,15	9,17
	Media	8,42	9,03	9,15	9,14
	Desv. Est.	0,12	0,06	0,03	0,02
1,0 M		8,48	9,08	9,19	9,22
		8,6	9,12	9,19	9,21
		8,59	9,14	9,15	9,19
	Media	8,56	9,11	9,18	9,21
	Desv. Est.	0,07	0,03	0,02	0,02
1,5 M		8,36	9,14	9,21	9,18
		8,54	9,17	9,15	9,19
		8,58	9,18	9,19	9,12
	Media	8,49	9,16	9,18	9,16
	Desv. Est.	0,12	0,02	0,03	0,04
2,0 M		7,81	9,21	9,16	9,19
		8,2	9,2	9,17	9,23
		8,51	9,16	9,15	9,18
	Media	8,17	9,19	9,16	9,20
	Desv. Est.	0,35	0,03	0,01	0,03

\*Ejemplo de cálculo de la media:  $\frac{8,38+8,53+8,64}{3} = 8,52$

Nota: la medición del pH se hace en los días indicados, pero antes de volver a aplicar urea, para evitar que haya urea recién aplicada en la muestra.