

ORIGINAL

The effect of Hydropolymers on soil microbial activities in Mediterranean areas

El efecto de los polímeros absorbentes en la actividad microbiana del suelo bajo condiciones mediterráneas

Helena Dvořáčková*¹ Ph.D, Hueso González P² Ph.D, Jaroslav Záhora¹ M.Sc, Ruiz Sinoga RS² Prof.

¹Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Zemědělská 1, CZ 61300 Brno, Czech Republic. ²Physical Geography and Land Management Research Group RNM279, Department of Geography, University of Málaga, Andalucía Tech. Campus de Teatinos s/n, 29071, Málaga, Spain. *Correspondence: helenadvorackovaa@gmail.com

Received: June 2017; Accepted: November 2017.

ABSTRACT

Objectives. The aim of this study was to evaluate the effect of the hydropolymer TerraCottem on soil microbial activity by measuring soil respiration and leaching of mineral nitrogen. **Materials and methods.** The incubation experiment contained control variants with natural soil of Nerja area (South Spain, inside the Sierra Tejeda, Almajara and Alhama Natural Park, 36.7985173° N 3.8511693° W; WCGS84), variants with the addition of easy available nitrogen compounds (kg N ha⁻¹), easy accessible carbon compounds (1% glucose solution) and a combinations of both. Within each variant, the recommended amount of control hydropolymers (1.5 kg/m³) and a double dose of 3.0 kg/m³ were compared. **Results.** Showed that respiration activity of the soil in this Mediterranean area was not eliminated by the lack of ready available nitrogen or carbon substrates. Furthermore, differences in CO₂ production between the variants containing different amounts of hydropolymers were not significant. A statistically significant difference in the CO₂ production was found in the first week compared to longer time periods. **Conclusions.** The mineral nitrogen leaching measurement showed that the biological activity of the studied is not affected by nitrogen dynamics which is balanced regardless of the amount of applied hydropolymer. On the other hand, leaching processes occurred when soil was doped only with nitrogen compounds or only carbonaceous, a problem that can appear after fertilizers applicatio

Keywords: soil conditioners, respiration, leaching, terracottem, nitrogen (*Source:CAB*).

RESUMEN

Objetivo. El objetivo de este estudio pasa por evaluar el efecto del-Terracottem- en la actividad microbiana del suelo mediante la medida de la respiración edáfica y la pérdida de nitrógeno mineral por lixiviación. El ensayo se ha realizado en condiciones de laboratorio controladas y con suelos naturales. **Materiales y metodos.** Para el experimento, se han diseñado varios tratamientos: i) suelos naturales a los que se les ha adicionado compuestos nitrogenados de libre disponibilidad (Kg N

ha-1); ii) suelos naturales a los que se les ha adicionado carbohidratos de libre disponibilidad (1% de solución de glucosa); iii) suelos naturales a los que se les ha adicionado una mezcla de compuestos nitrogenados de libre disponibilidad (Kg N ha-1) con carbohidratos (1% de solución de glucosa). En cada variante se han testeado diferentes dosis del polímero. **Resultados.** Los resultados han demostrado que la actividad respiratoria del suelo es independiente de la disponibilidad de compuestos como el nitrógeno o carbono. Tampoco se han observado diferencias significativas entre las diferentes dosis del polímero. Por el contrario, si se observaron diferencias en la producción de CO₂. **Conclusiones.** La lixiviación únicamente se producía cuando los suelos era enmendado con compuestos únicamente nitrogenados o únicamente sólo carbonosos.

Palabras clave: acondicionador de suelos, respiración, lixiviados, Terracottem, nitrógeno (*Fuente: CAB*).

INTRODUCTION

Around 80% of ecosystem services can be connected to soil functions. However, these services can be critically altered by the effects of anthropogenic activities (tillage on slopes, deforestation, pasture production, etc.) and desertification processes (1).

Soil parameters are commonly used to estimate soil quality or functionality in restoration including individual determinations of basic physical and chemical factors as the soil organic matter content or soil loss (2); however, these parameters fail to account for biological processes. Therefore, activities of soil microbiota can be used as a significant indicator of the soil quality in degraded areas (3).

During dry periods, in Mediterranean areas, the lack of water entering the soil matrix reduces organic contributions via plant remnants and rhizodepositions to the soil. These processes lead to reduced fertility [MMR3]: and ecological functions of soils (4). The effect of restored vegetation communities can be decisive to regenerate the soil functionality. Thus, the restoration of degraded ecosystems should aim not only to recover the capacity of soil to support vegetation, but also to restore the ecosystem functions and services (5). Sowing, germination and plant establishment stages are critical (6), but during these stages the beneficial effects of the vegetation may not be apparent, and the soil is highly susceptible to erosion and depletion of soil organic carbon (1). Under these conditions, vegetation cover in areas with degraded soils may be better sustained with an external sources of soil organic matter (7).

Synthetic polymers such as hydrogels have proved to be an effective method to promote plant establishment in semiarid areas. These polymers are also called 'water absorbents'

INTRODUCCION

Alrededor del 80% de los servicios ecosistémicos pueden estar relacionados con las funciones del suelo. Sin embargo, estos servicios pueden verse gravemente alterados por los efectos de las actividades antropogénicas (labranza en laderas, deforestación, producción de pastos, etc.) y los procesos de desertificación (1).

Los parámetros del suelo se utilizan comúnmente para estimar la calidad o la funcionalidad del suelo en la restauración, incluidas las determinaciones individuales de factores físicos y químicos básicos como el contenido de materia orgánica del suelo o la pérdida de suelo (2); sin embargo, estos parámetros no tienen en cuenta los procesos biológicos. Por lo tanto, las actividades de la microbiota del suelo pueden utilizarse como un indicador importante de la calidad del suelo en zonas degradadas (3).

Durante los períodos secos, en las zonas mediterráneas, la falta de agua que entra en la matriz del suelo reduce las contribuciones orgánicas al suelo a través de los restos de plantas y las deposiciones de rizomas. Estos procesos conducen a una reducción en la fertilidad [MMR3]: y funciones ecológicas de los suelos (4). El efecto de las comunidades vegetales restauradas puede ser decisivo para regenerar la funcionalidad del suelo. Así pues, la restauración de los ecosistemas degradados debe tener por objeto no sólo recuperar la capacidad del suelo para sustentar la vegetación, sino también restaurar las funciones y los servicios ecosistémicos (5). Las etapas de siembra, germinación y establecimiento de plantas son críticos (6), pero durante estas etapas los efectos benéficos de la vegetación pueden no ser aparentes, y el suelo es altamente susceptible a la erosión y al agotamiento del carbono orgánico del suelo

because of their high capacity to retain water (8). Terracottem is a kind of hydroabsorbent polymer that consists of a mixture of over twenty components working in synergy. This product was developed in Ghent University (Belgium) to improve plant growth, and especially to enhance the resilience of soil to drought conditions (9). According to the producer, Terracottem significantly increases the capacity of soils and growing media to retain and provide water and nutrients, which promotes the growth of plant roots and shoots. The addition of this material to soils also increases water infiltration rates (1). All of these factors contribute to increasing soil water availability for plant growth and for successful and sustainable land management (10). The main portion of Terracottem is composed of a mix of 19 gel fragments acting as small individual reservoirs of available water for plants, and the remaining 10.5% is composed by a fertilizer (11). Many authors have demonstrated the positive effect of Terracottem on soil characteristics, e.g. water infiltration or cation exchange capacity (12). Thus, the above mentioned studies have shown that synthetic polymers such as hydrogels could be used as a promising method to restore some Mediterranean degraded soils.

Microbial indicators are more sensitive to disturbances than physical and chemical parameters and should be routinely incorporated in soil assessment studies in restoration programs. Soil microbial activities and diversity play key roles in the sustainability of vegetation communities by maintaining vital functions in the soil part of ecosystem, involving carbon and nutrient cycling (10). Enhancing soil microflora can increase the amount of nutrients available to plants and promote the symbiosis plant/fungus to expand the root surface (11).

The aim of this study was to investigate the effects of Terracottem on soil microbiota in relation to restoration of soil functions and services. The specific objectives of the study were to: 1) analyse the soil respiration in soil amended with different doses of Terracottem; 2) determine the leaching of nitrogen mechanism affected by different doses of Terracottem; and 3) determine the effectiveness of Terracottem to restore the soil function in Mediterranean degraded soils.

MATERIAL AND METHODS

Soil characteristics. Soil characteristics. Soil used in all experiments was obtained from the El Pinarillo experimental site (mountainous region of southern Spain, inside the Sierra Tejeda, Almirajara and Alhama Natural Park 36.7985173° N 3.8511693° W; WGS84), in spring 2015

(1). En estas condiciones, la cubierta vegetal de las zonas con suelos degradados puede sustentarse mejor con una fuente externa de materia orgánica del suelo (7).

Los polímeros sintéticos como los hidrogeles han demostrado ser un método eficaz para promover el establecimiento de plantas en zonas semiáridas. Estos polímeros también se denominan "absorbentes de agua" debido a su gran capacidad para retener agua (8). Terracottem es una especie de polímero hidroabsorbente que consiste de una mezcla de más de veinte componentes que trabajan en sinergia. Este producto se desarrolló en la Universidad de Gante (Bélgica) para mejorar el crecimiento de las plantas y, especialmente, la resistencia del suelo a las condiciones de sequía (9). Según el productor, Terracottem aumenta significativamente la capacidad de los suelos y de los sustratos de cultivo para retener y proporcionar agua y nutrientes, lo que favorece el crecimiento de las raíces y los brotes de las plantas. La adición de este material a los suelos también aumenta las tasas de infiltración de agua (1). Todos estos factores contribuyen a aumentar la disponibilidad de agua en el suelo para el crecimiento de las plantas y para una gestión eficaz y sostenible de las tierras (10). El componente principal de Terracottem está compuesto por una mezcla de 19 fragmentos de gel que actúan como pequeños depósitos individuales de agua disponible para las plantas, y el 10,5% restante está compuesto por fertilizante (11). Muchos autores han demostrado el efecto positivo del Terracottem en las características del suelo, por ejemplo, la infiltración de agua o la capacidad de intercambio catiónico (12). Por lo tanto, los estudios antes mencionados han demostrado que los polímeros sintéticos como los hidrogeles podrían utilizarse como un método prometedor para restaurar algunos suelos degradados del Mediterráneo.

Los indicadores microbianos son más sensibles a las perturbaciones que los parámetros físicos y químicos y deben ser incorporados rutinariamente en los estudios de evaluación del suelo en los programas de restauración. Las actividades microbianas del suelo y la diversidad juegan un papel clave en la sostenibilidad de las comunidades vegetales al mantener las funciones vitales en la parte del suelo de la vegetación que involucran el ciclo del carbono y los nutrientes (10). La mejora de la microflora del suelo puede aumentar la cantidad de nutrientes disponibles para las plantas y promover la simbiosis planta/hongo para expandir la superficie radicular (11).

(X: 424,240 m; Y: 4,073,098 m; UTM30N/ED50). According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) – the World Reference Base for Soil Resources (2006), the soils are classified as lithic and eutric leptosols. They are characterized by a high level of rock fragment cover on the surface (>50%), a high gravel content in the profile (total gravel content =56%; gravel content >10 mm =31%; gravel content 2 fine (f) mm =10%; gravel content 5f 1 mm =15%), and a sandy loam texture (sand =60%, silt =32%, and clay =8%). The general soil properties and characteristics of the soil are given in Table 1.

Table 1. Climatic conditions and soil properties under natural conditions at the El Pinarillo experimental site.

Annual rainfall	(mm/y)	589.0
Climatic regime		Dry
Soil properties		
Gravel	(%)	56.0
Sand	(%)	60.0
Silt	(%)	32.0
Clay	(%)	8.0
Field capacity SWC	(%)	25.2
Wilting point SWC	(%)	6.4
Available water	(%)	18.8
Aggregate stability	(%)	51.0
CEC	Meq/100 g	120.4
TC	(%)	12.5
TN	(%)	0.2
C/N		9.5
SOC	(%)	1.9
pH		8.0
EC	(μ S/cm)	501.0

CEC: cationic exchangeable capacity; TC: total carbon; TN: total nitrogen; C/N: carbon/nitrogen ratio; EC: electrical conductivity; SOC: organic carbon content; SWC: soil water content.

Soil, excluding surface litter, was collected randomly (10 samples) at the study site to the depth of 25 cm using a soil sampler, and was combined into one composite sample. The mixed soil sample was taken to the laboratory (Geomorphology and Soil laboratory, University of Málaga, Spain) within 24 hr from the sampling and sieved through a 2 mm mesh, removing visible pebbles and roots. The homogenised soil was left to dry at 23°C in the laboratory and then stored in plastic bags in the refrigerator (at 4°C) and kept there until the start of experiments.

Experimental design. The incubation experiment with the homogenised soil was conducted in June 2015 using plastic containers (volume??, n=48). Each plastic container, was filled with 200 g of the soil sample and left incubated under 15% soil moisture. Soil

El objetivo de este estudio fue investigar los efectos de Terracottem sobre la microbiota del suelo en relación con la restauración de las funciones y servicios del suelo. Los objetivos específicos del estudio fueron: 1) analizar la respiración del suelo en suelos modificados con diferentes dosis de Terracottem; 2) determinar la lixiviación del mecanismo de nitrógeno afectado por diferentes dosis de Terracottem; y 3) determinar la efectividad de Terracottem para restaurar la función del suelo en suelos mediterráneos degradados.

MATERIALES Y METODOS

Características del suelo. Características del suelo. El suelo utilizado en todos los experimentos se obtuvo del sitio experimental de El Pinarillo (región montañosa del sur de España, dentro del Parque Natural de Sierra Tejeda, Almijara y Alhama 36.7985173° N 3.8511693° W; WCGS84), en la primavera de 2015 (X: 424.240 m; Y: 4.073.098 m; UTM30N/ED50). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) - Base Mundial de Referencia para los Recursos del Suelo (2006), los suelos están clasificados como leptosoles líticos y eutricos. Se caracterizan por un alto nivel de cobertura de fragmentos rocosos en la superficie (>50%), un alto contenido de grava en el perfil (contenido total de grava =56%; contenido de grava >10 mm =31%; contenido de grava 2 fina (f) mm =10%; contenido de grava 5f 1 mm =15%), y una textura franco-arenosa (arena =60%, limo = 32%, y arcilla = 8%). Las propiedades y características generales del suelo se dan en la Tabla 1.

El suelo, excluyendo la hojarasca superficial, se recolectó aleatoriamente (10 muestras) en el sitio de estudio hasta una profundidad de 25 cm usando un muestreador de suelo, y se combinó en una muestra compuesta. La muestra de suelo mezclado se llevó al laboratorio (Laboratorio de Geomorfología y Suelos, Universidad de Málaga, España) en un plazo de 24 horas desde el muestreo y se tamizó a través de una malla de 2 mm, eliminando gravas y raíces visibles. La tierra homogeneizada se dejó secar a 23°C en el laboratorio y luego se almacenó en bolsas de plástico en el refrigerador (a 4°C) y se mantuvo allí hasta el comienzo de los experimentos.

Diseño experimental. El experimento de incubación con el suelo homogeneizado se realizó en junio de 2015 utilizando recipientes de plástico (volumen???, n=48). Cada

conditions were maintained constant during the incubation period. All 48 containers were placed in a randomized block design, and during the incubation period they were rotated periodically to minimize any systematic failure.

In July 2015, after one week of the pre-incubation, different amendments of a hydropolymer, glucose, nitrogen fertilizer and their combinations were added to test the activity of soil microorganisms. DAM 390 was used as a nitrogen fertilizer, which is a solution of ammonium nitrate and urea with an average content of 30% nitrogen. The amount of a mineral nitrogen fertilizer corresponds to a dose of 50 kg N ha⁻¹. The form of nitrogen application was made as a solution.

The glucose addition was the same as recommended by Ghani et al (12), 1% of dry matter (DM) of soil. These additives were applied at the end of the first week of the incubation. During the remaining three weeks, the soil moisture was regularly controlled and kept at 15% of moisture by the addition of distilled water.

Two doses of hydropolymers TerraCottem Universal were tested (Table 2): i) 1.5 kg m⁻³ and ii) 3.0 kg m⁻³ during the incubation according to the specification of the producer of Terracottem. Hydropolymers were thoroughly mixed with the soil before inserting the mixture into the containers. Four containers without any additions were used as the control samples.

Table 2. Setting up of different substrate treatments. 4 repetitions.

Treatment	Terracottem	Additives
A0	-	-
A1	1.5 kg m ⁻³	-
A2	3.0 kg m ⁻³	-
B0	-	Glucose (1%)
B1	1.5 kg m ⁻³	Glucose (1%)
B2	3.0 kg m ⁻³	Glucose (1%)
C0	-	Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)
C1	1.5 kg m ⁻³	Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)
C2	3.0 kg m ⁻³	Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)
D0	-	Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)
D1	1.5 kg m ⁻³	Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)
D2	3.0 kg m ⁻³	Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha ⁻¹)

Measurements

Soil respiration. During four weeks, the soil respiration was measured every seven days with alkali absorption of CO₂ by soda lime according to the methodology proposed by Keith and Wong (13). A plastic container with 12 g of dry soda lime was placed on the surface of the soil sample and airtightly closed with a sealing chamber (Figure 1). After 24 hours, the production of CO₂ was measured.

recipiente de plástico, se llenó con 200 g de la muestra de suelo y se dejó incubando bajo 15% de humedad del suelo. Las condiciones del suelo se mantuvieron constantes durante el período de incubación. Los 48 contenedores fueron colocados en un diseño de bloques aleatorios, y durante el período de incubación fueron rotados periódicamente para minimizar cualquier falla sistemática.

En julio de 2015, después de una semana de la pre-incubación, se añadieron diferentes proporciones de un hidropolímero, glucosa, fertilizante nitrogenado y sus combinaciones para probar la actividad de los microorganismos del suelo. El DAM 390 se utilizó como fertilizante nitrogenado, que es una solución de nitrato de amonio y urea con un contenido medio de nitrógeno de 30%. La cantidad de un abono mineral nitrogenado corresponde a una dosis de 50 kg N ha⁻¹. La forma de aplicación del nitrógeno se hizo en solución.

La adición de glucosa fue la misma recomendada por Ghani et al (12), 1% de materia seca (MS) del suelo. Estos aditivos se aplicaron al final de la primera semana de incubación. Durante las tres semanas restantes, la humedad del suelo se controlaba regularmente y se mantenía al 15% de humedad mediante la adición de agua destilada.

Se probaron dos dosis de hidropolímeros TerraCottem Universal (Tabla 2): i) 1,5 kg m⁻³ y ii) 3,0 kg m⁻³ durante la incubación según las especificaciones del productor de Terracottem. Los hidropolímeros se mezclaron bien con la tierra antes de insertar la mezcla en los recipientes. Como muestras de control se utilizaron cuatro recipientes sin adiciones.

Mediciones

Respiración del suelo. Durante cuatro semanas, se midió la respiración del suelo cada siete días con absorción alcalina de CO₂ por cal sodada según la metodología propuesta por Keith y Wong (13). Se colocó un recipiente de plástico con 12 g de cal sodada seca en la superficie de la muestra de suelo y se cerró herméticamente en una cámara de sellado (Figura 1). Después de 24 horas, se midió la producción de CO₂.

La producción de CO₂[R; (g C m⁻² IP⁻¹); IP~ período de incubación] se expresó según la fórmula de Keith & Wong (2006):

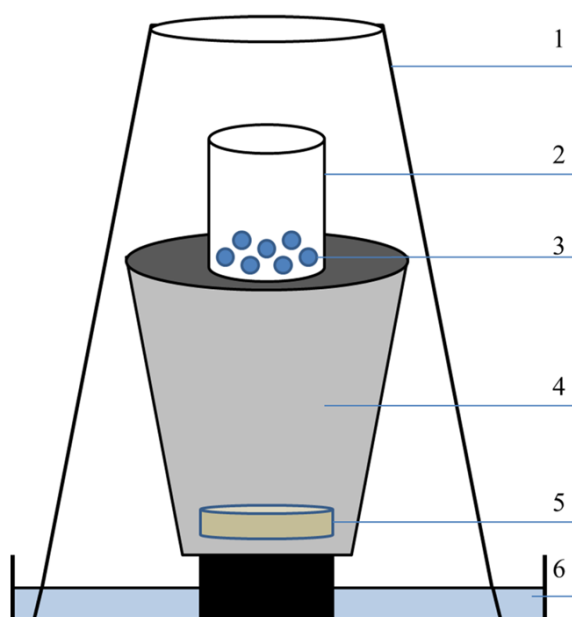


Figure 1. Diagram illustrating the pot with a soil sample, soda lime trap, IER disc, and a sealing chamber design, where: 1- Sealing chamber design, 2- Plastic container, 3- Soda Lime, 4- Container with soil, 5 -IER discs, 6 - Container with distillate water

The production of CO₂ [R; (g C m⁻² IP⁻¹); IP ~ incubation period] was expressed according to the formula of Keith & Wong (2006):

$$\left\{ \frac{[(\text{sample weight gain}(g) - \text{mean blank weight gain}(g)) \times 1.69]}{\text{chamber area}(m^2)} \right\} \times \left[\frac{24(\text{hr})}{\text{duration of exposure}(hr)} \right] \times \left[\frac{12}{44} \right]$$

To obtain the cumulative production of CO₂ during the whole week before the repeated rewetting, respiration rate on the first day was multiplied by an empirical constant (C=3.5), obtained in preliminary experiments. This reflects the remaining production of CO₂ during next six days, when the alkali trap was not present inside the chamber in order to avoid underestimation of the process of nitrification, which could be limited by the insufficient amount of CO₂ (14).

Leaching of nitrogen. Leaching of mineral nitrogen (N_{min}), calculated as the sum of NH₄⁺-N and NO₃⁻-N was assessed by using ion exchange resin (IER) flat covers (bags) similar to those used by Binkley and Matson (15). The IER bags for trapping N_{min} were placed in the sand layer at the bottom of the pots under the soil sample, and exposed there for 4 weeks (see Figure 1). N_{min} captured into IER was extracted into the solution of 1.7 M NaCl and determined by the

$$\left\{ \frac{[(\text{sample weight gain}(g) - \text{mean blank weight gain}(g)) \times 1.69]}{\text{chamber area}(m^2)} \right\} \times \left[\frac{24(\text{hr})}{\text{duration of exposure}(hr)} \right] \times \left[\frac{12}{44} \right]$$

Para obtener la producción acumulada de CO₂ durante toda la semana antes de la rehumectación repetida, la frecuencia respiratoria del primer día se multiplicó por una constante empírica (C=3.5), obtenida de experimentos preliminares. Esto refleja la producción restante de CO₂ durante los siguientes seis días, cuando la trampa alcalina no estaba presente dentro de la cámara para evitar subestimar el proceso de nitrificación, que podría verse limitado por la cantidad insuficiente de CO₂ (14).

Lixiviación de nitrógeno. La lixiviación del nitrógeno mineral (N_{min}), calculada como la suma de NH₄⁺-N y NO₃⁻-N, se evaluó utilizando tapas planas (bolsas) de resina de intercambio iónico (IER) similares a las utilizadas por Binkley y Matson (15). Las bolsas IER para atrapar a N_{min} se colocaron en la capa de arena en el fondo de las macetas debajo de la muestra de suelo, y se expusieron allí durante 4 semanas (Figura 1). El N_{min} capturado en la IER se extrajo a la solución de 1.7 M NaCl y se determinó por el método de destilación-titulación según Binkley y Matson (15).

Análisis estadístico. Las diferencias estadísticamente significativas se determinaron mediante el análisis de varianza (ANOVA). La presunción de homoscedasticidad fue probada usando la prueba de Levene. En los casos de no homoscedasticidad (prueba de Levene; p<0.05), se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias de medias entre los diversos tratamientos experimentales del suelo se determinaron usando la prueba de Tukey o la prueba de Games-Howell. En todos los análisis el límite de significación seleccionado fue p<0.05. Los análisis se realizaron utilizando SPSS (versión 23) para Windows.

RESULTADOS

Efectos de la adición de carbono y nitrógeno en la respiración del suelo. La respiración del suelo aumentó (a) por la adición de glucosa (carbono fácilmente disponible), (b) después de la adición de fertilizante de nitrógeno, pero significativamente sólo (c) después de la adición

distillation-titration method according to Binkley and Matson (15).

Statistical analysis. Statistically significant differences were determined using analysis of variance (ANOVA). The assumption of homoscedasticity was tested using Levene's test. In cases of non-homoscedasticity (Levene test; $p < 0.05$), Kruskal-Wallis test was used. Mean differences between the various experimental soil treatments were determined using Tukey's test or the Games-Howell test. In all the analyses the selected significance limit was $p < 0.05$. The analyses were performed using SPSS (version 23) for Windows.

RESULTS

Effects of carbon and nitrogen addition on soil respiration. Soil respiration was increased (a) by the addition of glucose (easily available carbon), (b) after the addition of nitrogen fertilizer, but significantly only (c) after the combined addition of both, glucose together with the nitrogen fertilizer (Figure 2).

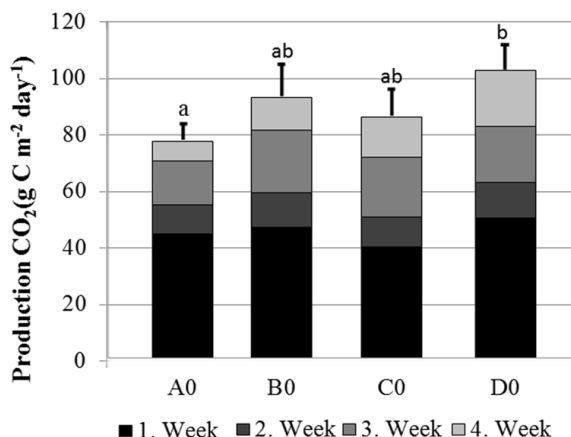


Figure 2. Cumulative soil respiration measured in laboratory during one month incubation period with repeated wetting, where: A0 - No additives, B0 - Glucose (1%), C0 - Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0 - Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹). Bars indicate one standard error (n=4). Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among treatments.

The highest values of respiration were noted during the first week in all treatments. In the A0, B0 and D0 treatments, respiration exceeded the sum of respiration in that time compared to the remaining weeks. This response can be a consequence of the disturbances of the experimental soil samples during soil sampling and homogenization, even if the experimental soil was exposed to the period of one month preincubation to avoid it.

combinada de ambos, glucosa junto con el fertilizante de nitrógeno (Figura 2).

Los valores más altos de respiración se observaron durante la primera semana de todos los tratamientos. En los tratamientos A0, B0 y D0, la respiración excedió la suma de la respiración en ese tiempo en comparación con las semanas restantes. Esta respuesta puede ser consecuencia de las perturbaciones de las muestras de suelo experimentales durante el muestreo y homogeneización, incluso si el suelo experimental se expuso al período de un mes de pre-incubación para evitarlo.

Lixiviación de nitrógeno mineral. Los valores de lixiviación del nitrógeno medidos en el tratamiento con C0 fueron más altos que los encontrados en las muestras de control (Figura 3). Esto podría explicarse por la adición de fertilizante nitrogenado al suelo, y la cantidad insuficiente de carbono para prevenir la inmovilización de nitrógeno por microorganismos.

La aplicación de carbono (glucosa) fácilmente disponible en el tratamiento con B0 puede haber causado una mineralización más rápida del nitrógeno orgánico del suelo, lo que condujo a una mayor lixiviación posterior del nitrógeno mineral. (Figura 3). Estos resultados indican que una fuente adicional de carbono y nitrógeno añadida al suelo experimental puede apoyar en general, la actividad microbiana. Sin embargo, al proporcionar sólo carbono o nitrógeno, la desestabilización del equilibrio natural de C/N puede promover un aumento de la pérdida de nitrógeno (16) (Tablas 2 y 3).

El efecto de TerraCottem en la respiración del suelo. De acuerdo con la Figura 4, la mayor producción de CO₂ se midió en la primera semana para todas las tasas de polímeros y todos los aditivos (A1, B1, C1, D1 y A2, B2, C2, D2). TerraCottem no afecta a la respiración del suelo durante la primera semana.

El efecto de TerraCottem en la lixiviación del nitrógeno. Las diferencias en la lixiviación del nitrógeno entre los tratamientos TerraCottem, sin tener en cuenta las dosis utilizadas, no fueron significativas (Tablas 3 y 4).

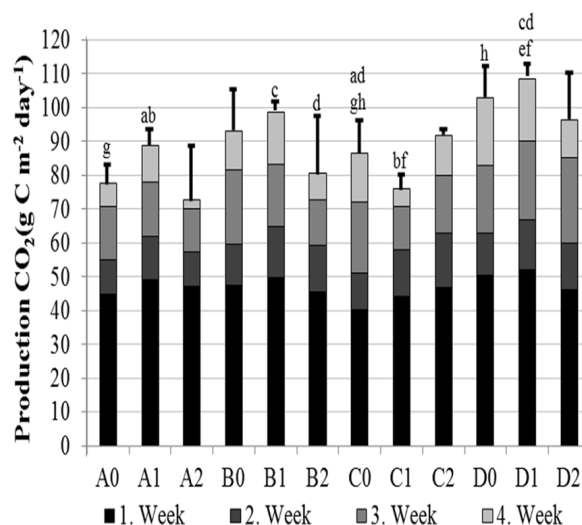
Se encontró una menor lixiviación en las variantes sin aditivos (A1, A2). Así, de acuerdo con nuestras mediciones anteriores, el factor más limitante para la microbiota del suelo en el área mediterránea fue el contenido de agua del suelo. Se encontró una tendencia similar en la variante, que contenía fertilizantes y glucosa juntos y TerraCottem en

Leaching of mineral nitrogen. The values of nitrogen leaching measured in C0 treatment were higher than those found in the control samples (Figure 3). This could be explained by the addition of nitrogen fertilizer to the soil, and insufficient amount of carbon for preventing nitrogen immobilization by microorganisms.

The application of easy available carbon (glucose) in the B0 treatment may have caused faster mineralization of soil organic nitrogen, which led to the greater subsequent leaching of mineral nitrogen. (Figure 3). These results indicate that an extra source of carbon and nitrogen added to the experimental soil can cause the overall support for microbial activity. However, providing only carbon or nitrogen, destabilization in the natural balance of C/N can promote an increase in the nitrogen loss (16) (Tables 2 and 3).

The effect of TerraCottem on soil respiration.

According Figure 4 the highest production of CO₂ was measured in first week for all rates of polymer and all additives (A1, B1, C1, D1 and A2, B2, C2, D2). TerraCottem doesn't affect soil respiration in the first week.



A0: Control, A1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, A2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, B0: Glucose (1%), B1: Glucose (1%) and 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, B2: Glucose (1%) - 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, C0: nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0: Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹),

Figure 4. Cumulative CO₂ production (soil respiration) measured in the laboratory during one month incubation period with repeated wetting after applying of TerraCottem and additives together.

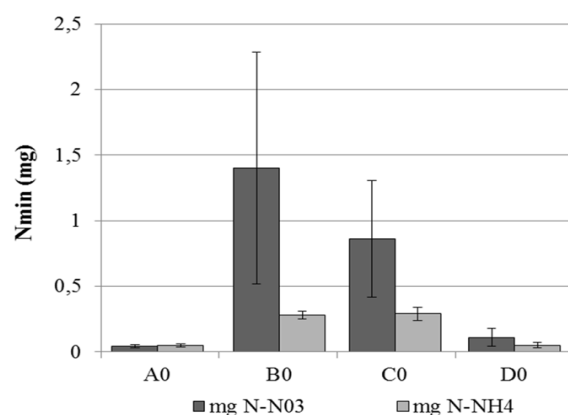


Figure 3. Mean and standard deviation (SD±) of mineral nitrogen leaching after the application of 3 types of additives. A0: Control, B0: Glucose (1%), C0: Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0: Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), during one month incubation period with repeated wetting.

las dosis recomendadas (D1). En esta variante, aplicamos una fuente de carbono así como una fuente de nitrógeno, ofreciendo bloques de construcción y una fuente de energía a la microbiota del suelo. Esto puede resultar en un ranurado limpio del consorcio del suelo sin perder nitrógeno. Sin embargo, en la variante D2, se observó un aumento de la lixiviación del nitrógeno. En esta variante se utilizaron dosis dobles de TerraCottem.

Sólo se aplicó glucosa a las variantes B1 y B2. En comparación con la muestra de control, la lixiviación aumentó en estos tratamientos. Los microorganismos del suelo tenían abundante sustrato de carbono disponible, pero estaban limitados en nitrógeno. Este hecho podría ser la causa de la mejora del nitrógeno. El polímero TerraCottem contiene nitrógeno que puede ser utilizado por la microbiota. Por lo tanto, la lixiviación disminuyó con el aumento de la concentración de TerraCottem.

En la última variante C, que contenía glucosa y TerraCottem (C1, C2), pudimos ver una tendencia opuesta a la de la variante B. Cuando aplicamos dosis más altas de TerraCottem, y por lo tanto nitrógeno adicional, la lixiviación disminuyó.

DISCUSIÓN

Efecto de la adición de carbono y nitrógeno en la respiración del suelo. Para determinar la tasa de respiración del suelo sin los hidropolímeros, se estimularon los microorganismos del suelo mediante la adición de carbono (B0), nitrógeno (C0), o ambos, C y N (D0).

The effect of TerraCottem on nitrogen leaching. Differences in nitrogen leaching among TerraCottem treatments, disregarding of the doses used, were not significant (Table 3 and 4).

Los valores más altos de respiración en la primera semana podrían explicarse parcialmente por el "efecto abedul", que describe un pulso transitorio de efluente de CO₂ en el suelo "in situ" cuando los suelos secos están mojados. El suelo en este experimento

Table 3. Results for Tukey leaching N-NO₃ between all treatments (A0-D2).

Tukey HSD test, NO ₃ , Mean Square (Error0) 0.006. The mean difference is significant at the 0.05 level												
	A0	A1	A2	B0	B1	B2	C0	C1	C2	D0	D1	D2
A0		1.000	1.000	0.047	0.035	0.976	0.037	0.003	0.018	1.000	1.000	0.218
A1	1.000		1.000	0.05	0.038	0.980	0.039	0.004	0.020	1.000	1.000	0.231
A2	1.000	1.000		0.052	0.039	0.982	0.041	0.004	0.021	1.000	1.000	0.237
B0	0.074	0.050	0.052		1.000	0.460	1.000	0.990	1.000	0.048	0.055	1.000
B1	0.035	0.038	0.039	1.000		0.383	1.000	0.996	1.000	0.035	0.041	0.998
B2	0.976	0.980	0.982	0.460	0.383		0.395	0.063	0.246	0.977	0.984	0.896
C0	0.037	0.039	0.041	1.000	1.000	0.395		0.996	1.000	0.037	0.043	0.999
C1	0.003	0.004	0.004	0.990	0.996	0.063	0.996		1.000	0.004	0.004	0.744
C2	0.018	0.020	0.021	1.000	1.000	0.246	1.000	1.000		0.019	0.022	0.984
D0	1.000	1.000	1.000	0.048	0.035	0.977	0.037	0.004	0.019		1.000	0.220
D1	1.000	1.000	1.000	0.055	0.041	0.984	0.043	0.004	0.022	1.000		0.246
D2	0.218	0.231	0.237	1.000	0.998	0.896	0.999	0.744	0.984	0.220	0.246	

A0: Control, A1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, A2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, B0: Glucose (1%), B1: Glucose (1%) and 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, B2: Glucose (1%) - 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, C0: nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0: Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹) Red numbers indicate significant difference between the treatments (p<0.05).

Table 4. Statistical analysis of leaching of NH₄ between all treatments

Tukey HSD test, NH ₄ , Mean Square (Error0) = 0.227. The mean difference is significant at the 0.05 level												
	A0	A1	A2	B0	B1	B2	C0	C1	C2	D0	D1	D2
A0		1.000	1.000	0.066	0.159	0.976	0.622	0.057	0.013	1.000	1.000	0.820
A1	1.000		1.000	0.062	0.151	0.972	0.604	0.054	0.012	1.000	1.000	0.806
A2	1.000	1.000		0.062	0.150	0.971	0.602	0.054	0.012	1.000	1.000	0.804
B0	0.066	0.062	0.062		1.000	0.559	0.959	1.000	1.000	0.093	0.068	0.847
B1	0.159	0.151	0.150	1.000		0.820	0.998	1.000	0.986	0.215	0.164	0.976
B2	0.976	0.972	0.971	0.559	0.820		0.999	0.519	0.187	0.992	0.978	1.000
C0	0.622	0.604	0.602	0.959	0.998	0.999		0.945	0.624	0.725	0.633	1.000
C1	0.057	0.054	0.054	1.000	1.000	0.519	0.945		1.000	0.082	0.059	0.816
C2	0.013	0.012	0.012	1.000	0.986	0.187	0.624	1.000		0.019	0.013	0.414
D0	1.000	1.000	1.000	0.093	0.215	0.992	0.725	0.082	0.019		1.000	0.893
D1	1.000	1.000	1.000	0.068	0.164	0.978	0.633	0.059	0.013	1.000		0.828
D2	0.820	0.806	0.804	0.847	0.976	1.000	1.000	0.816	0.414	0.893	0.828	

(A0-D2). A0: Control, A1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, A2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, B0: Glucose (1%), B1: Glucose (1%) and 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, B2: Glucose (1%) - 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, C0: nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0: Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹) Red numbers indicate significant difference between the treatments (p<0.05).

Lower leaching was found in the variants without additives (A1, A2). Thus, in agreement with our previous measurements, the most limiting factor for soil microbiota in the Mediterranean area was the soil water content. A similar trend was found in the variant, which contained fertilizers and glucose together and TerraCottem in the recommended doses (D1). In this variant, we

fue tomado durante una estación seca del Mediterráneo. Unger et al (17) observaron el efecto del abedul en la microbiota del suelo cuando el suelo mediterráneo seco fue humedecido por las primeras lluvias después de la estación seca. Después de la primera humectación, la respiración del suelo en todos los tratamientos se hizo más o menos

applied a source of carbon as well as a source of nitrogen, offering building blocks and a source of energy to soil microbiota. This can result in clean grooving of soil consortium

without losing nitrogen. However, in the variant D2, an increase of nitrogen leaching was observed. In this variant, double doses of TerraCottem were used.

We applied only glucose to the variants B1 and B2. In comparison to the control sample, the leaching increased in these treatments. Soil microorganisms had abundant available carbon substrate but they were limited in nitrogen. This fact could be the cause of the enhancement of nitrogen. The polymer TerraCottem contains nitrogen that can be used by microbiota. Thus, leaching was decreased with the increase of the TerraCottem concentration.

In the last variant C, which contained glucose and TerraCottem (C1, C2), we could see an opposite trend than in the variant B. When we applied higher doses TerraCottem, and therefore additional nitrogen, leaching decreased.

DISCUSION

Effect of carbon and nitrogen addition on soil respiration. In order to determine the soil respiration rate without the hydropolymers, soil microorganisms were stimulated either by addition of carbon (B0), nitrogen (C0), or both, C and N (D0).

The highest values of respiration in the first week could be partially explained by the "Birch effect" which describes a transient pulse of "in situ" soil CO₂ efflux when dry soils are wetted. Soil in this experiment was taken during a dry Mediterranean season. Unger et al (17) observed the Birch effect on soil microbiota when dry Mediterranean soil was moistened by first rainfall after the dry season. After the first wetting, soil respiration in all treatments became more or less stable (Figure 2). This possibly reflect the decreasing or limiting availability of the key sources (18). The higher soil CO₂ release after glucose addition, which is a readily decomposable material for soil microorganisms, is a well-known phenomenon (9). Nevertheless, glucose addition as a stimulating agent for soil microorganisms did not significantly increase soil respiration in our experiment. Interestingly the addition of nitrogen (C0) decreased soil respiration in the first week compared to the control treatment (A0), but the cumulative respiration during the whole month in this treatment was slightly higher than the that in A0.

estable (Figura 2). Esto refleja posiblemente la disponibilidad decreciente o limitada de las fuentes clave (18). La mayor liberación de CO₂ en el suelo tras la adición de glucosa, que es un material fácilmente descomponible para los microorganismos del suelo, es un fenómeno bien conocido (9). Sin embargo, la adición de glucosa como agente estimulante para los microorganismos del suelo no aumentó significativamente la respiración del suelo en nuestro experimento. Curiosamente, la adición de nitrógeno (C0) disminuyó la respiración del suelo en la primera semana en comparación con el tratamiento de control (A0), pero la respiración acumulativa durante todo el mes en este tratamiento fue ligeramente superior a la de A0. La ligera inhibición de la respiración del suelo en la primera semana podría ser el resultado de una síntesis insuficiente de varias enzimas oxidativas que consumen energía después de la adición de N, lo que lleva a la limitación de los recursos del sustrato y a una disminución de la respiración del suelo (19). Si las actividades reducidas de los microorganismos del suelo inducidas por la única adición de N fueran eliminadas por la adición simultánea de glucosa (D0), entonces la respiración acumulativa sería significativamente mayor en comparación con todos los otros tratamientos. Estos resultados apoyan la idea de que la disponibilidad de C y N, así como las oscilaciones de humedad, están estrechamente relacionadas con factores clave que influyen en la respiración heterótrofa de los microorganismos del suelo (20).

Sin embargo, en términos generales, nuestros resultados sugieren que el carbono y el nitrógeno adicionales aplicados a este suelo mediterráneo no promueven significativamente la actividad microbiana del suelo. Resultados similares han sido reportados en un estudio previo para tierras secas por Zohuriaan-Mehr et al (11).

Lixiviación del nitrógeno. mineral Según Binkley et al (15), la lixiviación del nitrógeno mineral es un indicador útil de la calidad del suelo. En un ecosistema natural, la lixiviación del nitrógeno mineral tendría lugar sólo ocasionalmente y en cantidades limitadas. Sólo en tales circunstancias, cuando las capacidades internas de los suelos para inmovilizar el nitrógeno están sobrecargadas, puede aparecer la lixiviación del nitrógeno amoniacal y nitrato. La producción de nitrógeno mineral con percolados del suelo es un mecanismo natural para equilibrar la oferta de nitrógeno en todo el perfil del suelo, por ejemplo, cuando se produce la acumulación de proteínas tras

The slight inhibition of soil respiration in the first week could be a result of insufficient synthesis of various energy-consuming oxidative enzymes after the addition of N leading to the limitation of substrate resources and a decrease in soil respiration (19). If the reduced activities of soil microorganisms induced by the solely N addition were eliminated by the simultaneous addition of glucose (D0), then the cumulative respiration would be significantly higher compared to all other treatments. These results support the idea that C and N availability as well as the moisture oscillations are tightly coupled with key factors that are influencing heterotrophic respiration of soil microorganisms (20).

However, in general terms, our results suggest that additional carbon and nitrogen applied to this Mediterranean soil do not significantly promote soil microbial activity. Similar results have been reported in a previous study for dry lands by Zohuriaan-Mehr et al (11).

Leaching of mineral nitrogen. According to Binkley et al (15), the leaching of mineral nitrogen is a useful indicator of soil quality. In a natural ecosystem, the leaching of mineral nitrogen would take place only occasionally and in limited amounts. Only in such circumstances, when internal capacities of soils to immobilize nitrogen are overloaded, the leaching of ammonium and nitrate nitrogen can appear. The output of mineral nitrogen with soil percolates is a natural mechanism to balance the offer of nitrogen in the whole soil profile e.g. when protein accumulation after death of an animal occurs (21). In case of overdoses of nitrogen fertilizers in arable soils, the leaching of mineral nitrogen, as a balancing mechanism of nitrogen cycle, could appear, which can be dangerous for parameters of seepage water and for the quality of the groundwater, especially in the water protection zones (15). In our study, lower rates of mineral nitrogen leaching occurred in the control sample (A0)(Figure 3). However, similar rates of leaching have been previously reported for Mediterranean soils (22). Lower leaching in this variant could be explained by the C/N ratio. In our soil, the C/N ratio was high (Table 1) and net nitrogen mineralization of organic material was very low, because soil microbiota is limited by an insufficient amount of nitrogen concentration. Anabolic microbial reactions, which produce new organic nitrogen compounds, effectively preserve the movement as well as leaching of mineral nitrogen in soils. These assumptions have been also reported by Cleveland et al (23).

la muerte de un animal (21). En caso de sobredosis de fertilizantes nitrogenados en suelos cultivables, puede aparecer la lixiviación de nitrógeno mineral, como mecanismo de equilibrio del ciclo del nitrógeno, lo que puede ser peligroso para los parámetros de las aguas de infiltración y para la calidad de las aguas subterráneas, especialmente en las zonas de protección del agua (15). En nuestro estudio, las tasas más bajas de lixiviación de nitrógeno mineral ocurrieron en la muestra de control (A0) (Figura 3). Sin embargo, ya se han comunicado tasas similares de lixiviación en suelos mediterráneos (22). La menor lixiviación en esta variante podría explicarse por la relación C/N. En nuestro suelo, la relación C/N era alta (Tabla 1) y la mineralización neta de nitrógeno de materia orgánica era muy baja, debido a que la microbiota del suelo está limitada por una cantidad insuficiente de concentración de nitrógeno. Las reacciones microbianas anabólicas, que producen nuevos compuestos orgánicos de nitrógeno, preservan eficazmente el movimiento así como la lixiviación del nitrógeno mineral en los suelos. Estas suposiciones también han sido reportadas por Cleveland et al (23).

Los efectos similares de los desequilibrios inducidos entre la disponibilidad de fuentes de carbono para las actividades microbianas y la inmovilización del nitrógeno después de la adición de nitrógeno también se han descrito en otros estudios (24).

El efecto de TerraCottem en la respiración del suelo. Con base en los resultados, la adición de carbono, nitrógeno y ambos elementos biogénicos simultáneamente no afectó al suelo objetivo tan fuertemente como la humedad del suelo. Esto indica que el agua del suelo es probablemente el principal factor de control para la microbiota del suelo mediterráneo (Figura 2). Sin embargo, en las zonas mediterráneas la falta de precipitación puede representar un problema crítico para las actividades restantes del suelo (25).

Estudios anteriores han demostrado que la modificación del suelo con polímeros, incluidos el yeso y la poliacrilamida (PAM), aumenta el contenido de agua en el suelo y reduce la escorrentía y la erosión (26). Concretamente, Hueso-González et al (1) informaron de que la adición de TerraCottem al suelo de las zonas mediterráneas produce un suelo más húmedo, lo que mejora el proceso de infiltración de agua y aumenta el contenido de humedad del suelo en la capa de 0-10 cm de profundidad del suelo. Sin embargo, la forma en que la aplicación de este polímero puede afectar las actividades microbianas del suelo sigue siendo desconocida para los suelos mediterráneos.

Similar effects of induced imbalances between the availability of carbon sources for microbial activities and nitrogen immobilization after addition of nitrogen have been also described in other studies (24).

The effect of TerraCottem on soil respiration. Based on our results, addition of carbon, nitrogen and both biogenic elements simultaneously did not affect the target soil as strong as the soil moisture. This indicates that soil water is likely the main controlling factor for Mediterranean soil microbiota (Figure 2). However, in Mediterranean areas the lack of rainfall can represent a critical problem for remaining soil activities (25).

Previous studies have shown that amending soil with polymers, including gypsum and polyacrylamide (PAM), increases the soil water content and reduce runoff and erosion (26). Specifically, Hueso-González et al (1) reported that addition of TerraCottem to soil in Mediterranean areas results in wetter soil, which enhances the process of water infiltration and increases soil moisture contents in the 0-10 cm soil depth layer. However, how the application of this polymer can affect soil microbial activities remained so far unknown for Mediterranean soils.

In this study, we tested two different doses of TerraCottem (Table 2). Results for the recommended dose (A1, B1, D1) did not show a significant increase of the cumulative production of CO₂ in comparison to the treatments without TerraCottem addition (A0, B0, D0) (Figure 4). Only in the treatment with combined additions of TerraCottem and a nitrogen fertilizer we observed a decreased in the the cumulative soil respiration. This implies that avoiding a direct application of mineral nitrogen, an amount of 1.5 kg/m³ of TerraCottem could increase soil moisture in Mediterranean soils, as others authors previously reported Hueso-González et al (1), and it could be harmless for soil microbiota. However, the application of the double amount of TerraCottem caused a decrease in the soil respiration values compared to the A0 control treatment (Figure 4).

TerraCottem is a mix of copolymers with acrylamide and acrylic salt with potash (39.5%), fertilizers (with 10.5% amount of nitrogen) and a carrier material to further enhance the root and plant growth and to reduce inputs of key nutrients (9). These polymers increased their volume during moistening, and formed the continuum from the solid to gel-like state that

En este estudio, se probaron dos dosis diferentes de TerraCottem (Tabla 2). Los resultados de la dosis recomendada (A1, B1, D1) no mostraron un aumento significativo de la producción acumulada de CO₂ en comparación con los tratamientos sin adición de TerraCottem (A0, B0, D0) (Figura 4). Sólo en el tratamiento con adiciones combinadas de TerraCottem y un fertilizante nitrogenado se observó una disminución en la respiración acumulada del suelo. Esto implica que evitando una aplicación directa de nitrógeno mineral, una cantidad de 1,5 kg/m³ de TerraCottem podría aumentar la humedad del suelo en los suelos mediterráneos, como otros autores han informado anteriormente a Hueso-González et al (1), y podría ser inofensivo para la microbiota del suelo. Sin embargo, la aplicación de la doble cantidad de TerraCottem causó una disminución en los valores de respiración del suelo en comparación con el tratamiento de control A0 (Figura 4).

TerraCottem es una mezcla de copolímeros con acrilamida y sal acrílica con potasa (39,5%), fertilizantes (con una cantidad de nitrógeno del 10,5%) y un material portador para mejorar aún más el crecimiento de las raíces y las plantas y reducir el aporte de nutrientes clave (9). Estos polímeros aumentaron su volumen durante la humectación, y formaron el continuo desde el estado sólido hasta el estado gelatinoso que tuvo un efecto de unión-sellado en el suelo. Resultados similares se han encontrado in situ después de eventos de precipitaciones en suelos forestales mediterráneos (1). La disminución de la respiración del suelo, que se registró en el tratamiento con A2, probablemente desaparecería después de las adaptaciones de la microbiota del suelo (27).

Se encontraron patrones similares en suelos modificados con glucosa (B0, B1 y B2) y con mezcla de glucosa y fertilizante nitrogenado (D0, D1 y D2) (Figura 4). Por el contrario, se encontró un patrón diferente cuando el suelo fue tratado con un fertilizante nitrogenado, lo que puede explicarse por la reacción de la microbiota del suelo en el suministro de una fuente de nitrógeno fácilmente disponible (25).

El efecto de TerraCottem en la lixiviación del nitrógeno. Según nuestros resultados (Figura 5), la aplicación de TerraCottem en el suelo no ha afectado a la lixiviación de nitrógeno amoniacal o nitrato. Así, desde el punto de vista de la gestión de la conservación, los polímeros podrían ser una herramienta útil para reducir el estrés de las plantas durante una estación seca mediterránea sin un impacto en la pérdida de nitrógeno del suelo.

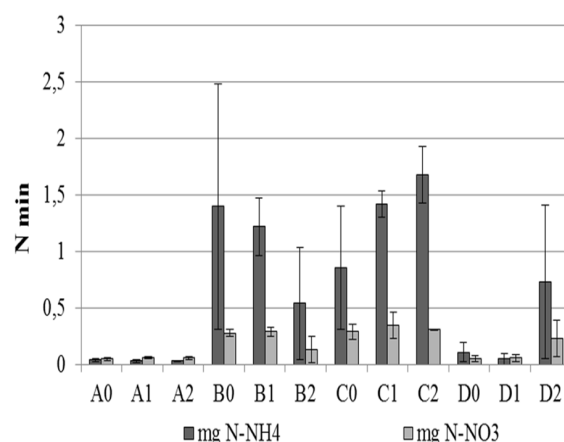
had a binding-sealing effect in the soil. Similar results have been found in situ after rainfall events in Mediterranean forestall soils (1). The decrease of soil respiration, which was recorded in the A2 treatment, would probably disappear after the adaptations of soil microbiota (27).

Similar patterns were found in soils amended with glucose (B0, B1 and B2) and with a mixture of glucose and a nitrogen fertilizer (D0, D1 and D2) (Figure 4). Opposite, a different pattern was found when soil was treated with a nitrogen fertilizer, which can be explained by the reaction of soil microbiota on the supply of an easily available source of nitrogen (25).

The effect of TerraCottem on nitrogen leaching. According to our results (Figure 5), the application of TerraCottem into the soil has not affected the leaching of ammonium or nitrate nitrogen. Thus, from the conservation management standpoint, polymers could be a useful tool for reduction of the plant stress during a Mediterranean dry season without an impact on losing nitrogen from the soil.

Acknowledgements

This paper was written as a part of the project IGA AF MENDELU no. TP 7/2015 with the support of the Specific University Research Grant, provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year of 2015. Authors also thank to TerraVida Company for their technical support during the experiment site set-up.



A0: Control, A1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, A2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, B0: Glucose (1%), B1: Glucose (1%) and 1.5 kg m⁻³ TerraCottem, B2: Glucose (1%) - 3.0 kg m⁻³ TerraCottem, C0: nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), C2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D0: Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D1: 1.5 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹), D2: 3.0 kg m⁻³ TerraCottem and Glucose (1%) + Nitrogen fertilizer (50 kg N ha⁻¹).

Figure 5. The leaching of nitrogen from different treatments of experimental soil.

Agradecimientos

Este documento fue escrito como parte del proyecto IGA AF MENDELU no. TP 7/2015 con el apoyo de la Beca de Investigación Universitaria Específica, proporcionada por el Ministerio de Educación, Juventud y Deportes de la República Checa en el año 2015. Los autores también agradecen a la compañía TerraVida por su apoyo técnico durante la instalación del sitio del experimento.

REFERENCES

- Hueso-González P, Ruiz-Sinoga R S, Martínez-Murillo J, Lavee H. Overland flow generation mechanisms affected by topsoil treatment: Application to soil conservation. *Geomorphology* 2015; 228:796–804.
- Sheoran V, Sheoran AS, Poonia P. Soil Reclamation of Abandoned Mine Land by Revegetation: A Review. *International Journal of Soil, Sediment and Water* 2010; 3(2):13.
- Jeffries L, Peter D. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* 2003; 37:1–16.

4. Jiménez MN, Fernández-Ondoño E, Ripoll MA, Castro-Rodríguez J, Huntsinger L, Bruno Navarro F. Stones and organic mulches improve the *Quercus ilex* L. afforestation success under Mediterranean climatic conditions. *Land. Degrad. Dev* 2013; 27:357–365.
5. Perring M P, Standish R J, Price J N, Craig M D, Erickson T E, Ruthrof K X, Whiteley A S. Advances in restoration ecology: rising to the challenges of the coming decades. *Ecosphere* 2015; 6:1–25.
6. Macci C, Doni S, Peruzzi G E, Masciandaro C, Mennone C, Ceccanti B. Almond tree and organic fertilization for soil quality improvement in southern Italy. *J Environ Manage* 2012; 95(S2):215–222.
7. Chaudhuri S, McDonald L M, Skousen J, Pena-Yewtukhiw E M. Soil organic carbon molecular properties: effects of time since reclamation in a minesoil chronosequence. *Land Degrad Dev* 2013; 26:237–248.
8. Johansson I, Karlsson I M, Shukla V K, Chrispeels M J, Larsson C, Kjellbom P. Water transport activity of the plasma membrane aquaporin PM28A is regulated by phosphorylation. *The Plant Cell* 1989; 10(3):451–459.
9. Danneels P and Van Cotthem W. The effect of a soil conditioning mixture on plant growth: Some experiments in pots. *Belgian Journal of Botany* 1994; 25:17–25.
10. Brevik EC, Cerdà A, Mataix-Solera J, Pereg L, Quinton J N, Six K J. The interdisciplinary nature of SOIL. *SOIL* 2015; 1:117–129.
11. Callaghan TV, Abdelnour H, Lindley DK. The environmental crisis in the Sudan: the effect of water-absorbing synthetic polymers on tree germination and early survival. *Journal of Arid Environments* 1988; 14(3):301–317.
12. Ghani A, McLaren R G, Swift R S. The incorporation and transformations of ³⁵S in soil: effects of soil conditioning and glucose or sulphate additions. *Soil Biology and Biochemistry* 1993; 25(3):327–335.
13. Keith H, Wong S C. Measurement of soil CO₂ efflux using soda lime absorption: both quantitative and reliable. *Soil Biology and Biochemistry* 2006; 38(5):1121–1131.
14. Kinsbursky R S, and Saltzman S. CO₂-nitrification relationships in closed soil incubation vessels. *Soil Biology and Biochemistry* 1990; 22(4):571–572.
15. Binkley D, and Matson P. Ion exchange resin bag method for assessing forest soil nitrogen availability. *Soil Science Society of America Journal* 1983; 47:1050–1052.
16. McGuire K L, and Treseder K K. Microbial communities and their relevance for ecosystem models: decomposition as a case study. *Soil Biology and Biochemistry* 2010; 42(4):529–535.
17. Unger S, Máguas C, Pereira J S, David T S, Werner C. The influence of precipitation pulses on soil respiration—Assessing the “Birch effect” by stable carbon isotopes. *Soil Biology and Biochemistry* 2010;42(10):1800–1810.
18. Bohnert D W, Del Curto T, Clark A A, Merrill M L, Falck S J, Harmon D L. Protein supplementation of ruminants consuming low-quality cool-or warm-season forage: Differences in intake and digestibility. *Journal of animal science* 2011; 89:3707–3717.
19. Li Y, Liu Y, Wu S, Niu L, Tian Y. Microbial properties explain temporal variation in soil respiration in a grassland subjected to nitrogen addition. *Scientific reports*, 5;2015
20. Bond-Lamberty B, Bolton B H, Fansler S, Heredia-Langner A, Liu C, McCue L A. 2016. Soil Respiration and Bacterial Structure and Function after 17 Years of a Reciprocal Soil Transplant Experiment. *PLoS ONE* 2016; 11: e0150599.
21. Schimel J, Bennett J. Nitrogen Mineralization: Challenges of a Changing Paradigm. *Ecology* 2004; 85:591–602.
22. Kindler R, Miltner A, Thullner M, Richnow H H, Kästner M. Fate of bacterial biomass derived fatty acids in soil and their contribution to soil organic matter. *Organic Geochemistry* 2009; 40(1):29–37.
23. Dise N B, Matzner E, Forsius M. Evaluation of organic horizon C: N ratio as an indicator of nitrate leaching in conifer forests across Europe. *Environmental Pollution* 1998; 102(1):453–456.

24. Elbl J, Plošek L, Kintl A, Přichystalová J, Záhora J, Friedel J K. The effect of increased doses of compost on leaching of mineral nitrogen from arable land. *Polish Journal of Environmental Studies* 2014; 23(3):697–703.
25. Gutser R, Ebertseder T, Weber A, Schraml M, Schmidhalter U. Short-term and residual availability of nitrogen after long-term application of organic fertilizers on arable land. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 2005; 168(4):439–446.
26. Abrol V, Shainberg I, Lado M, Ben-Hur M. Efficacy of dry granular anionic polyacrylamide (PAM) on infiltration, runoff and erosion. *European Journal of Soil Science* 2013; 64:699–705.
27. Heuer H, and Smalla K. Plasmids foster diversification and adaptation of bacterial populations in soil. *FEMS Microbiology Reviews* 2012; 36(6):1083–1104.