



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS DE DOCTOR EN AGRONOMIA**

**“EFECTO DE VICIA Y CENTENO COMO CULTIVO DE COBERTURA  
SOBRE EL BALANCE DE CARBONO Y NITRÓGENO EN UN SISTEMA  
DE SIEMBRA DIRECTA DE LA REGION SEMIARIDA PAMPEANA”**

**Ing. Agr. Ileana Frasier**

**BAHIA BLANCA**

**ARGENTINA**

**Año 2015**

## PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre el 7 de Septiembre de 2010 y el 8 de julio de 2015, bajo la dirección del Doctor Alberto Raúl Quiroga<sup>1,2</sup> y la Doctora Nilda Mabel Amiotti<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Cátedra de Edafología y Manejo de suelos, Universidad Nacional de La Pampa.

<sup>2</sup>Investigador EEA Anguil "Guillermo Covas", INTA.

<sup>3</sup>Profesora Asociada de la Cátedra de Génesis, Clasificación y Cartografía de Suelos, Universidad del Sur.

Ing. Agr. Ileana Frasier



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación  
Continua

La presente tesis ha sido aprobada el ..../..../..... , mereciendo la calificación de .....(.....)

**DEDICATORIA**

*“A Juan Pablo mi esposo y mi hija Sofia”*

## **AGRADECIMIENTOS**

Especialmente a la Dra. Elke Noellemeyer por su dirección durante el periodo de beca Conicet. Su guía constante, su visión sobre el tema, su preocupación y apoyo fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis.

A “Beto” por su confianza, por su visión práctica, por compartir su experiencia profesional y por apostar a mi formación en una nueva temática.

A mis compañeros de trabajo Eduardo Calabaza, Roberto Gómez y Guillermo Pérez por su ayuda en las extensas horas de muestreo a campo, siembras y cosechas de los ensayos.

Al Dr. Hugo Permingeat del laboratorio de Biotecnología de Facultad de Ciencias Agrarias de Zavalla (Rosario) por la capacitación recibida sobre extracción de ADN en muestras de suelo.

Al Dr. Leonardo Erijman y la Dra. Eva Figuerola del Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI, CONICET) por la capacitación recibida para la cuantificación de microorganismos del suelo por PCR cuantitativa.

A INTA por el financiamiento, uso de las instalaciones y equipamiento que permitieron llevar adelante esta tesis.

A los Laboratorios de Suelos y Biotecnología de la Universidad Nacional de La Pampa por el uso de las instalaciones y equipamiento.

## INDICE GENERAL

1) Introducción .....	1
2) Hipótesis a probar y predicciones .....	10
3) Objetivos y organización de la tesis .....	11
4) Materiales y métodos .....	14
4.1) <i>Descripción general del área bajo estudio</i> .....	14
4.2) <i>Ubicación de la experiencia</i> .....	14
4.3) <i>Diseño Experimental</i> .....	15
4.4) <i>Caracterización inicial del sitio de estudio</i> .....	17
4.5) <i>Determinación a campo de las variables bajo estudio</i> .....	18
4.5.1) <i>Caracterización del ambiente edáfico</i> .....	18
4.5.2) <i>Biomasa aérea de los cultivos</i> .....	19
4.5.3) <i>Biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y sorgo</i> .....	19
4.5.4) <i>Usos consuntivos de los cultivos y eficiencia de uso del agua</i> .....	21
4.5.5) <i>Eficiencia de uso del N (eficiencia agronómica)</i> .....	21
4.6) <i>Materia orgánica del suelo a 0-6 y 6-12 cm</i> .....	22
4.6.1) <i>Materia orgánica total y fraccionamiento físico</i> .....	22
4.6.2) <i>Materia orgánica disuelta extractable en agua</i> .....	23
4.6.2.1) <i>Carbono orgánico soluble</i> .....	23
4.6.2.2) <i>Nitrógeno orgánico soluble</i> .....	24
4.6.3) <i>Biomasa microbiana del suelo</i> .....	24
4.6.3.1) <i>Carbono de biomasa microbiana del suelo</i> .....	25
4.6.3.2) <i>N total de la biomasa microbiana del suelo</i> .....	26
4.7) <i>Caracterización de la estructura de la comunidad microbiana del suelo</i> .....	27
4.7.1) <i>Abundancia de hongos y bacterias mediante qPCR</i> .....	27
4.7.2) <i>Abundancia de ácidos grasos de membrana (FAME)</i> .....	30
4.7.2.1) <i>Marcadores utilizados para la caracterización de la estructura de la comunidad</i> ...	32
4.7.2.2) <i>Relación hongos/bacterias por FAME</i> .....	32
4.7.2.3) <i>Índice de diversidad de Shannon-Weaver</i> .....	32
4.8) <i>Residuos en la superficie del suelo</i> .....	32
4.9) <i>Mineralización aparente de N:</i> .....	33
5) Análisis estadísticos .....	34
6) Resultados .....	37
6.1) <i>Variables ambientales medidas a lo largo de los 3 años</i> .....	37
6.1.1) <i>Precipitaciones acumuladas</i> .....	37
6.1.2) <i>Humedad edáfica</i> .....	37
6.1.3) <i>N-Nitratos a 0-20 y 20-60 cm de profundidad</i> .....	38

6.1.4) <i>Temperatura del suelo</i> .....	40
6.2) <i>Productividad de los cultivos de cobertura y sorgo</i> .....	41
6.2.1) <i>Productividad aérea de los CC</i> .....	41
6.2.2) <i>Variaciones anuales de la productividad aérea de los CC</i> .....	43
6.2.3) <i>Calidad de la biomasa aérea de los CC</i> .....	44
6.2.4) <i>Usos consuntivos y eficiencias de uso del agua de los CC</i> .....	44
6.2.5) <i>Nitrógeno absorbido y eficiencias de uso del nitrógeno</i> .....	46
6.2.6) <i>Productividad de raíces de los CC</i> .....	47
6.2.7) <i>Carbono y nitrógeno de las raíces de los CC</i> .....	50
6.2.8) <i>Relación C/N de la biomasa de raíces de los CC</i> .....	53
6.2.9) <i>Productividad aérea del cultivo de verano</i> .....	55
6.2.10) <i>Contribución a la acumulación de residuos sobre la superficie del suelo</i> .....	57
6.2.11) <i>Remanente en pie del sorgo al finalizar la campaña 2010-2011</i> .....	58
6.2.12) <i>Usos consuntivos y eficiencia de uso del agua del cultivo de verano</i> .....	58
6.2.13) <i>Eficiencia de uso del nitrógeno del cultivo de verano</i> .....	59
6.2.14) <i>Productividad de raíces del cultivo de verano</i> .....	60
6.3) <i>Residuos acumulados sobre la superficie del suelo</i> .....	62
6.3.1) <i>Materia seca de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo</i> .....	62
6.3.2) <i>Contenidos de C y N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo</i> .....	64
6.3.3) <i>Calidad de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo</i> .....	66
6.3.4) <i>Dinámica de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo</i> .....	67
6.3.5) <i>Mobilización e inmovilización de C y N de los residuos sobre el suelo</i> .....	68
6.3.6) <i>Efecto de los residuos acumulados en superficie sobre la cantidad de N-nitratos, la temperatura y humedad del suelo</i> .....	70
6.3.7) <i>Relaciones entre la descomposición de los residuos, su calidad y el ambiente edáfico</i> ..	73
6.4) <i>Biomasa microbiana del suelo</i> .....	73
6.4.1) <i>Efecto de la inclusión de los CC en la rotación (generalidades)</i> .....	74
6.4.2) <i>Efecto de la profundidad de suelo</i> .....	74
6.4.3) <i>Efecto de la inclusión de los CC en la rotación en la profundidad de 0-6 cm</i> .....	76
6.4.4) <i>Efecto de la inclusión de los CC en la rotación en la profundidad de 6-12 cm</i> .....	77
6.4.5) <i>Variaciones anuales de los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo</i> ..	77
6.4.7) <i>Efecto del ambiente sobre los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo</i>	81
6.5) <i>Materia orgánica soluble</i> .....	85
6.5.1) <i>Efecto de los CC sobre la materia orgánica soluble</i> .....	85
6.5.2) <i>Efecto de la profundidad de suelo sobre la materia orgánica soluble</i> .....	85
6.5.3) <i>Variaciones anuales de la materia orgánica soluble</i> .....	86

6.5.4) Efecto del ambiente sobre la materia orgánica soluble .....	87
6.5.5) Relación entre la materia orgánica soluble, la biomasa microbiana del suelo y los residuos (aéreos y raíces).....	87
6.5.6) Relación entre los pools de N orgánico soluble y N inorgánico (nitratos) .....	90
6.5.7) Tasas de mineralización de N .....	91
6.5.8) Relación entre las tasas de mineralización de N, los sustratos y el ambiente .....	92
6.6) Fracciones de la materia orgánica del suelo .....	93
6.6.1) Efecto de los CC y variaciones en el tiempo.....	93
6.6.2) Relaciones con las fracciones de suelo.....	94
6.7) Estructura de la comunidad microbiana del suelo .....	100
6.7.1) Efecto de los CC sobre la abundancia relativa de bacterias y hongos (qPCR) .....	100
6.7.2) Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias (qPCR) .....	101
6.7.3) Variaciones en el tiempo de la abundancia relativa de hongos y bacterias .....	102
6.7.4) Relación entre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias (qPCR), los sustratos y el ambiente.....	102
6.7.5) Efecto acumulado de los CC sobre la abundancia de diferentes grupos de microorganismos y la diversidad biológica .....	103
6.7.6) Relación entre la composición de la comunidad microbiana (FAME), el sustrato y el ambiente edáfico.....	107
7) Discusión .....	110
7.1) Primera parte .....	110
7.1.1) Contribución de la producción aérea de la secuencia de cultivos a la acumulación de residuos sobre la superficie del suelo.....	110
7.1.2) Movilización de nutrientes de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.....	112
7.1.3) Contribución de las raíces de los cultivos al pool de residuos .....	113
7.1.4) Efecto de los residuos (aéreos y raíces) sobre la materia orgánica soluble .....	116
7.1.5) Efecto de los residuos (aéreos y raíces) sobre la biomasa microbiana del suelo....	118
7.1.6) Conclusiones parciales.....	121
7.2) Segunda parte .....	123
7.2.1) Flujo de N entre la materia orgánica soluble y la biomasa microbiana del suelo.....	123
7.2.2) Factores ambientales que condicionaron los pools N soluble y N de la biomasa microbiana del suelo .....	125
7.2.3) Mineralización de N y nitrificación.....	126
7.2.4) Impacto de los procesos biológicos sobre el sistema global.....	128
7.2.5) Conclusiones parciales.....	130
7.3) Tercera parte .....	131
7.3.1) Efecto de la inclusión de los CC sobre los niveles de materia orgánica del suelo...	131

7.3.2) <i>Efectos de los CC sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo en el corto plazo</i>	134
7.3.3) <i>Cambios en el mediano plazo de la composición de la comunidad microbiana del suelo</i>	134
7.3.4) Conclusiones parciales .....	138
7.4) <i>Integrador</i> .....	139
7.5) Conclusiones finales .....	144
8. Bibliografía .....	145
9. Anexo.....	167
10. Índice de Tablas del anexo.....	181

## Índice de Figuras

Figura 1: Representación esquemática de la teoría de jerarquía de agregados. Adaptado de Jastrow et al. (2007).....	2
Figura 2: Modelo conceptual de flujos de C y N edáficos .....	9
Figura 3: Plano del campo experimental EEA Anguil .....	15
Figura 4: Diagrama representativo del muestro de raíces. ....	20
Figura 5: Diagrama del muestreo anual a campo.....	22
Figura 6: Curvas de <i>melting</i> (qPCR).....	28
Figura 7: Perfil cromatográfico de los fosfolípidos bacterianos metilados estándares. ....	31
Figura 8: Precipitaciones mensuales acumuladas (mm).....	37
Figura 9: Humedad del perfil de suelo al metro de profundidad (mm) .....	38
Figura 10: Contenido de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm) a 0-20 y 20-60 cm .....	39
Figura 11: Temperatura del suelo (°C) a 5 cm y 10 cm. ....	40
Figura 12: Productividad aérea (g MS m <sup>-2</sup> ) de los CC .....	41
Figura 13: Contribución de la vicia (V) y del centeno (Ce) (g MS m <sup>-2</sup> ) en la productividad aérea de la consociación.....	42
Figura 14: Carbono en biomasa aérea de los CC (g m <sup>-2</sup> ) .....	42
Figura 15: Nitrógeno en biomasa aérea de los CC (g m <sup>-2</sup> ).....	43
Figura 16: Relación C/N de la biomasa aérea producida por los CC.....	44
Figura 17: Uso consuntivo (mm) de los CC.....	45
Figura 18: Eficiencia de uso del agua de los CC en términos de materia seca (EUA <sub>B</sub> ) y carbono (EUA <sub>C</sub> ) .....	46
Figura 19: Biomasa de raíces totales (g MS m <sup>-2</sup> ) en los primeros 12 cm de suelo.....	49
Figura 20: Biomasa de raíces totales (g MS m <sup>-2</sup> ) a 0-6 cm y 6-12 cm de profundidad .....	50
Figura 21: Contenido de C de la biomasa de raíces totales determinada al finalizar el ciclo de los CC en los primeros 12 cm de profundidad de suelo .....	51
Figura 22: Contenido de C de raíces a 0-6 cm y 6-12 cm determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas .....	52
Figura 23: Contenidos de N de raíces determinadas al finalizar el ciclo de los CC en la profundidad de 0-12 cm en las tres campañas evaluadas.....	53
Figura 24: Contenido de N de raíces a 0-6 cm y 6-12 cm determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas .....	53
Figura 25: Relación C/N de la biomasa de raíces al finalizar el ciclo de los CC en la profundidad de 0-12 cm .....	54
Figura 26: Relación C/N de la biomasa de raíces a 0-6 cm y 6-12 cm determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas.....	55
Figura 27: Productividad aérea del cultivo de sorgo (g MS m <sup>-2</sup> ).....	56

Figura 28: Cantidad de carbono producido en la biomasa aérea del cultivo de sorgo ( $\text{g C m}^{-2}$ ) durante las tres campañas evaluadas .....	57
Figura 29: Cantidad de N de la biomasa aérea del cultivo de sorgo ( $\text{g N m}^{-2}$ ) durante las tres campañas evaluadas .....	57
Figura 30: Usos consuntivos (mm) del cultivo de sorgo.....	59
Figura 31: Eficiencias de uso del agua ( $\text{g m}^{-2} \text{mm}^{-1}$ ) en términos de materia seca y carbono del cultivo de sorgo .....	59
Figura 32: Contenidos de C y N de la biomasa de raíces totales ( $\text{g m}^{-2}$ ) al finalizar los CC (octubre) y el cultivo de verano (abril) durante los tres años de la experiencia para las profundidades de estudio de 0-6 y 6-12 cm.....	62
Figura 33: Residuos acumulados sobre la superficie del suelo ( $\text{g MS m}^{-2}$ ) durante los tres años de la experiencia .....	63
Figura 34: Contenido de C de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo .....	65
Figura 35: Concentración de N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo ...	66
Figura 36: Calidad de los residuos acumulados al inicio del cultivo de verano .....	66
Figura 37: Pérdida de materia seca de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo ( $\text{g MS m}^{-2}$ ) durante los tres años de la experiencia.....	67
Figura 38: Pérdida de materia seca ( $\text{g m}^{-2}$ ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en función de la proporción de N remanente en los mismos.....	68
Figura 39: Pérdida anual de N en función de la pérdida de C de los residuos sobre la superficie del suelo ( $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ ) .....	70
Figura 40: Concentración de N-nitratos a 0-20 cm de profundidad (ppm) al inicio del cultivo de verano (V4-V6) en función de la pérdida de N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo .....	71
Figura 41: Temperatura edáfica a 5 cm y 10 cm de profundidad en función de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.....	71
Figura 42: Agua total (mm) en los primeros 20 cm del perfil de suelo .....	72
Figura 43: Contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 y 6-12 cm de profundidad .....	75
Figura 44: Contenidos de N de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 y 6-12 cm de profundidad .....	76
Figura 45: Variación anual de los contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo ( $\text{g m}^{-2}$ ) en 0-6 y 6-12 cm de profundidad de suelo .....	78
Figura 46: Variación anual de los contenidos de N de la biomasa microbiana del suelo ( $\text{g m}^{-2}$ ) en 0-6 y 6-12 cm de profundidad de suelo .....	78
Figura 47: Contenido de C de la biomasa microbiana del suelo en función de su contenido de N ( $\text{g m}^{-2}$ ) en las profundidades de 0-6 cm y 6-12 cm .....	79

Figura 48: Contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo en función del C-raíces de los cultivos de cobertura ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 cm y 6-12 cm.....	80
Figura 49: Contenido de N de la biomasa microbiana del suelo en función del N-raíces de los CC ( $\text{g m}^{-2}$ ) en para las profundidades 0-6 cm y 6-12 cm. ....	81
Figura 50: Contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo en función de la temperatura edáfica en los primeros 0-6 cm de suelo .....	82
Figura 51: Contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo ( $\text{g m}^{-2}$ ) en función del porcentaje de poros llenos de agua .....	83
Figura 52: Contenido de N-nitratos ( $\text{g m}^{-2}$ ) en función del porcentaje de poros llenos de agua .....	83
Figura 53: C asimilado en la biomasa microbiana del suelo en función de la disponibilidad de N-nitratos ( $\text{g m}^{-2}$ ). ....	84
Figura 54: Contenidos de C soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 y 6-12 cm a lo largo de los 3 años de la experiencia .....	86
Figura 55: Contenidos de N soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 y 6-12 cm a lo largo de los 3 años de la experiencia .....	86
Figura 56: Carbono de la biomasa microbiana del suelo en función del C soluble .....	89
Figura 57: Carbono de la biomasa microbiana del suelo en función del N soluble .....	89
Figura 58: Nitrógeno soluble del suelo en función del contenido de N-nitratos.....	90
Figura 59: Variaciones anuales del N soluble (0-12 cm) y el N-nitratos (0-20 cm) para cada tratamiento a lo largo de la experiencia.....	90
Figura 60: Tasas de mineralización de N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) bruta y neta.....	92
Figura 61: C particulado en función del carbono soluble a 0-6 cm de profundidad.....	95
Figura 62: C particulado en función del contenido de N de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 cm de profundidad .....	95
Figura 63: C particulado en función del contenido de C de la biomasa microbiana del suelo a 6-12 cm de profundidad .....	96
Figura 64: N particulado en función del C soluble a 0-6 cm de profundidad .....	97
Figura 65: N particulado en función del contenido de C de la biomasa microbiana del suelo a 6-12 cm de profundidad .....	97
Figura 66: C asociado a la fracción mineral ( $< 53 \mu\text{m}$ ) en función del contenido de C de la biomasa microbiana del suelo.....	98
Figura 67: C asociado a la fracción mineral ( $< 53 \mu\text{m}$ ) en función de la tasa de mineralización neta de N ( $\text{g m}^{-2}$ ). ....	99
Figura 68: Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias al inicio y al final de la experiencia .....	101

Figura 69: Abundancia relativa de hongos respecto de bacterias a 0-6 cm y 6-12 cm de profundidad .....	102
Figura 70: Tasa de mineralización neta N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) en función de la relación hongos/ bacterias ( $\log_{10} \text{H/B}$ ) en las profundidades de 0-6 cm y 6-12 cm .....	103
Figura 71: Análisis de componentes principales de la comunidad microbiana del suelo ( $\log_{10}$ (%mol FAME)) para las profundidades 0-6 cm y 6-12 cm .....	104
Figura 72: Análisis de componentes principales incluyendo la composición de la comunidad microbiana del suelo (FAME) para la profundidad de 0-6 cm. ....	107
Figura 73: Análisis de componentes principales incluyendo la composición de la comunidad microbiana del suelo (FAME) .....	109

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Caracterización del estrato superficial del horizonte A.....	15
Tabla 2: Fechas de siembra de los cultivos de cobertura.....	16
Tabla 3: Fechas de finalización de los CC, siembra y cosecha del cultivo sucesor para cada año de la experiencia.....	17
Tabla 4: Densidad aparente ( $\text{g cm}^{-3}$ ), concentración de N-nitratos (ppm), agua total del perfil al metro de profundidad y residuos sobre la superficie del suelo determinado previo al inicio de la experiencia.....	17
Tabla 5: Materia orgánica total (%), peso (g) y concentración de C y N (%) de las fracciones mayor y menor a $53 \mu\text{m}$ previo al inicio de la experiencia.....	18
Tabla 6: Descripción de los ácidos grasos metilados utilizados como estándares, su tiempo de retención (TR), y la nomenclatura estándar indentificatoria.....	31
Tabla 7: Nitrógeno absorbido en la biomasa aérea y la biomasa de raíces de los CC ( $\text{g m}^{-2}$ ) y las eficiencias de uso del nitrógeno.....	46
Tabla 8: Biomasa de raíces en el entresurco (ES, $\text{g MS m}^{-2}$ ) y en la línea de siembra (LS, $\text{g MS m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 cm, 6-12 cm y 0-12 cm de suelo.....	47
Tabla 9: Cantidad de rastrojo remanente en pie de sorgo ( $\text{g MS m}^{-2}$ ), relación hoja/tallo (H/T), concentración de C y N (%), cantidad de C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) y relación C/N al finalizar la campaña 2010-2011.....	58
Tabla 10: Nitrógeno absorbido por el cultivo ( $\text{g m}^{-2}$ ) y eficiencias fisiológicas de N para las campañas 2010-2011 y 2011-2012.....	60
Tabla 11: Proporción de C y N remanente en los residuos acumulados sobre la superficie del suelo y cantidad de C y N liberado durante la descomposición de los mismos ( $\text{g m}^{-2}$ ).....	69
Tabla 12: Rectas de regresión de las relaciones entre la pérdida de C (x) y la pérdida de N (y) de los residuos para cada tratamiento.....	70
Tabla 13: Temperatura del mes de diciembre ( $^{\circ}\text{C}$ ) a 5 cm y 10 cm.....	71
Tabla 14: Regresiones lineales múltiples que explican la descomposición de los residuos en superficie.....	73
Tabla 15: Concentración ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y contenidos ( $\text{g m}^{-2}$ ) de C y N de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 y 6-12 cm de profundidad durante los tres años de la experiencia.....	74
Tabla 16: Modelos de regresión múltiple que relacionan la biomasa microbiana del suelo y la descomposición de residuos en superficie.....	79
Tabla 17: Ecuaciones de regresión del modelo “un tramo con plateau” que relacionan los contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo y de la biomasa de raíces para las profundidades 0-6 y 6-12 cm.....	80

Tabla 18: Ecuaciones de regresión del modelo “un tramo con plateau” que relacionan los contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo y de la biomasa de raíces para las profundidades 0-6 y 6-12 cm.....	81
Tabla 19: Modelos de regresión múltiple para la biomasa microbiana del suelo y el ambiente edáfico en ambas profundidades de estudio (0-6 y 6-12 cm). ....	84
Tabla 20: Concentración ( $\mu\text{g g suelo}^{-1}$ ) y contenidos ( $\text{g m}^{-2}$ ) de C y N de la materia orgánica soluble a 0-6 y 6-12 cm de profundidad .....	85
Tabla 21: Modelos de regresión múltiple para la materia orgánica soluble en relación a factores ambientales en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm. ....	87
Tabla 22: Modelos de regresión múltiple para la materia orgánica soluble en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm. ....	88
Tabla 23: Coeficientes de regresión y su nivel de significancia de las variables mineralización bruta y neta de N ( $\text{g m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ). ....	92
Tabla 24: Contenidos de C y N total, particulado y asociado a la fracción mineral del suelo ( $\text{g m}^{-2}$ ) en las profundidades 0-6 y 6-12 cm para el primer y último año de la experiencia.....	94
Tabla 25: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el C particulado a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) .....	95
Tabla 26: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el C particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) .....	96
Tabla 27: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el N particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) .....	97
Tabla 28: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el C asociado a la fracción mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) y para el C asociado a la fracción mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ).....	98
Tabla 29: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el N asociado a la fracción mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) y para el N asociado a la fracción mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ).....	99
Tabla 30: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para el C total y N total ( $\text{g m}^{-2}$ ) a 0-6 y 6-12 cm de profundidad .....	100
Tabla 31: Abundancia de bacterias, de hongos (nro. copias $\text{g suelo seco}^{-1}$ ) y la relación entre ambas poblaciones en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm.....	100
Tabla 32: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise $p=0,1$ ) para la abundancia de hongos respecto de bacterias ( $\log_{10} H/B$ ) para la profundidad de 0-6 cm y de 6-12 cm. ....	103
Tabla 33: Correlaciones de cada componente con las variables originales para las profundidades 0-6 cm y 6-12 cm. ....	105

Tabla 34: Proporción de diferentes clases estructurales de ácidos grasos (% mol del total) y la relación entre hongos y bacterias (H/B) al finalizar la experiencia en las profundidades 0-6 y 6-12 cm. ....	106
Tabla 35: Índice de diversidad biológica de Shannon-Weaver en la profundidad de 0-6 y 6-12 cm.....	106
Tabla 36: Correlaciones de cada componente con las variables originales para la profundidad de 0-6 cm.....	108
Tabla 37: Correlaciones de cada componente con las variables originales para la profundidad de 6-12 cm.....	109

## ABREVIATURAS

- Ce: secuencia de cultivos con centeno como cultivo de cobertura (centeno-sorgo).
- Ce+N: secuencia de cultivos con centeno como cultivo de cobertura fertilizado con urea (40N).
- T: Monocultura de sorgo (sin cultivo de cobertura).
- V: secuencia de cultivos con vicia como cultivo de cobertura.
- VCe: secuencia de cultivos con centeno consociado con vicia como cultivo de cobertura.
- 
- AT: Agua total del suelo (mm).
- AU: Agua útil (mm)
- BA/BRT: relación entre la biomasa aérea del cultivo y la biomasa de raíces a 0-12 cm de profundidad.
- BA: biomasa aérea del cultivo ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- BAME: mezcla de fosfolípidos bacterianos estándares metilados.
- BM: biomasa microbiana del suelo.
- BR (ES): biomasa de raíces en el entresurco ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- BR (LS): biomasa de raíces en la línea de siembra ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- BRT: biomasa de raíces totales en términos de materia seca ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- C/N: relación carbono/ nitrógeno.
- C: Carbono orgánico ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- C-BA: contenido de carbono de la biomasa aérea del cultivo ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- CBM: contenido de carbono orgánico de la biomasa microbiana del suelo ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- C-BRT: contenido de carbono de la biomasa de raíces totales ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- CC: cultivo de cobertura.
- CT: carbono total ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- CO: carbono orgánico del suelo.
- Ct (*threshold cycle*): número de ciclos de PCR necesarios para alcanzar cierta fluorescencia umbral.
- Dap: densidad aparente ( $\text{Tn m}^{-3}$ ).
- ADN: ácido desoxirribonucleico.
- DOC (*dissolved organic carbon*): carbono soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- DON (*dissolved organic nitrogen*): nitrógeno soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ).
- DOM (*dissolved organic matter*): materia orgánica disuelta o soluble.
- ES (%): porcentaje de influencia del entresurco sobre la sección total de muestro de raíces.
- EUA<sub>B</sub>: eficiencia de uso del agua en términos de la materia seca producida por el cultivo ( $\text{g MS m}^{-2}\text{mm}^{-1}$ ).

EUA<sub>C</sub>: eficiencia de uso del agua en términos del carbono producido en la biomasa aérea (g C m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup>).

EUN<sub>B</sub>: eficiencia de uso del nitrógeno en términos de la materia seca producida por el cultivo (g MS g Nabs<sup>-1</sup>).

EUN<sub>C</sub>: eficiencia de uso del nitrógeno en términos del carbono producido en la biomasa aérea (g C g Nabs<sup>-1</sup>).

FAME (Phospholipid Acids Methyl Ester): perfiles de ácidos grasos de membrana metilados.

G-: bacterias Gram negativas (% mol FAME).

G+: bacterias Gram positivas (% mol FAME).

H/B: relación entre hongos y bacterias del suelo.

H: humedad edáfica (mm).

LS (%): porcentaje de influencia de la línea de siembra sobre la sección total de muestreo de raíces.

Min. Bruta: Mineralización bruta aparente de N (g m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>).

Min. Neta: Mineralización neta aparente de N (g m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>).

MOS: materia orgánica del suelo.

MOP: materia orgánica particulada.

MOM: materia orgánica asociada a la fracción mineral de suelo.

MS: Materia seca (g m<sup>-2</sup>).

N: Nitrógeno total (g m<sup>-2</sup>).

Nabs: Nitrógeno absorbido por el cultivo (g m<sup>-2</sup>).

N-BA: contenido de nitrógeno de la biomasa aérea del cultivo (g m<sup>-2</sup>).

NBM: contenido de nitrógeno total de la biomasa microbiana del suelo (g m<sup>-2</sup>).

N-BRT: contenido de nitrógeno de la biomasa de raíces totales (g m<sup>-2</sup>).

Nrem: proporción de N remanente en los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.

P: porcentaje de poros llenos de agua en los primeros 20 cm del perfil.

Pp: Precipitaciones (mm).

P/V: peso/ volumen.

qPCR (quantitative polymerase chain reaction): PCR en tiempo real que corresponde a la reacción en cadena de la polimerasa que cuantifica el producto de la amplificación del ADN.

SD: siembra directa

T5: temperatura del suelo a los 5 cm de profundidad (°C).

T10: Temperatura del suelo a los 10 cm de profundidad (°C).

UC: uso consuntivo del cultivo (mm).

16S: subunidad ribosomal que contiene genes que codifican para bacterias.

18S: subunidad ribosomal que contiene genes que codifican para hongos.

## RESUMEN

En los sistemas de siembra directa, la ubicación de los residuos sobre la superficie del suelo y su baja calidad, surgen como limitantes para el secuestro de carbono (C). La inclusión de leguminosas como cultivo de cobertura (CC) sería una estrategia posible para favorecer la captura de C en estos sistemas. Sin embargo, resulta necesario profundizar acerca de las relaciones entre los procesos de mineralización e inmovilización de manera tal de poder reconocer la conexión entre el metabolismo del C y nitrógeno (N) del suelo y sus cambios a través de la descomposición del pool de biomasa microbiana del suelo. Los objetivos planteados fueron: cuantificar el C y N orgánico en diferentes compartimientos de sus ciclos, obtener información acerca de condiciones ambientales y calidad de residuos que determinan la mineralización neta de N, evaluar el efecto de la rizósfera y disponibilidad de N sobre la composición de la población microbiana, evaluar la respuesta de las poblaciones bacterianas y fúngicas a sustratos con diferente calidad y evaluar la disponibilidad de N fijado por la vicia sobre el cultivo sucesor. Los tratamientos testeados fueron: centeno, centeno + 40N; vicia; vicia-centeno y un testigo sin CC. Se cuantificó la productividad total de los cultivos de la rotación (aérea y raíces), residuos, fracciones de la MOS a 0-6 y 6-12 cm de profundidad ( $>$  y  $<$  53  $\mu\text{m}$ , biomasa microbiana y MO soluble), temperatura (5 y 10 cm), humedad, nitratos y la composición de la comunidad microbiana del suelo. La biomasa de raíces fue el sustrato que mejor explicó las variaciones observadas en la biomasa microbiana del suelo. Mayor disponibilidad de agua (45-50% poros llenos de agua) y temperaturas por debajo de los 25°C durante el mes de diciembre tuvieron un efecto retroalimentador positivo sobre la biota del suelo. La biomasa microbiana alcanzó valores máximos de capacidad de carga evidenciando un estado aparente de equilibrio. Para un suelo *Paleustol petrocálcico* con un nivel de CO del 1,5%, se necesitan 102 g C-raíces  $\text{m}^{-2}$  y 3,7 g N-raíces  $\text{m}^{-2}$  para sostener y mantener estable la biomasa microbiana con un contenido de C y N de 20,1 y 1,9 g  $\text{m}^{-2}$ . Cuando el sistema estuvo limitado por N (secuencia centeno-sorgo), sostener en el tiempo altos niveles de carga microbiana implicó la pérdida de N de la materia orgánica particulada y asociada a las partículas minerales del suelo que se correspondió con la pérdida de COS. La inclusión de la vicia, sola o consociada, mejoró la calidad de los residuos de la rotación e impactó positivamente sobre el cultivo sucesor. La leguminosa contribuyó con 31 y 112 kg N  $\text{ha}^{-1}$  por fijación biológica el primer y segundo año de la experiencia. Una mayor disponibilidad de N en el sistema se tradujo en un incremento de la tasa de ciclado de nutrientes y en consecuencia mayor secuestro de C total en ambas profundidades de suelo y más N en los primeros 6 cm del perfil. Además, la comunidad microbiana del suelo sufrió cambios en el muy corto plazo hacia una población dominada por bacterias. En cambio, secuencias con residuos de menor calidad evidenciaron una sucesión microbiana de una comunidad inicial dominada

por hongos a una dominada por bacterias luego de tres años de efectos acumulados. Los resultados de esta experiencia demuestran el rol fundamental del N sobre el ciclado de nutrientes por la biota del suelo y el secuestro de C y N en la MOS.

**ABSTRACT**

In no-till systems, litter position on soil surface and its low quality represent a limiting step for C sequestration (C). The inclusion of legumes as cover crops (CC) would be a possible strategy to improve C capture in these systems. However, it is necessary to study the relationships between mineralization and immobilization to allow us to recognize the link between soil C and N metabolism and its changes through microbial biomass pool decomposition. The objectives of this study were to quantify organic C and N in different compartments of their cycles; to obtain information about environmental conditions and residue quality that define N net mineralization rate; to assess rhizosphere effect and N availability on microbial biomass composition, to assess the response of bacterial and fungal populations with different quality substrate and to calculate the contribution of biologically fixed N by vetch on the following crop. The treatments tested were: rye, rye + 40N; vetch; vetch-rye and a control without CC. Total productivity of crop rotations (aerial biomass and roots), soil organic matter fractions at 0-6 cm and 6-12 cm depth ( $>$  and  $<$ 53  $\mu$ m carbon and nitrogen, microbial biomass and dissolved organic matter), temperature (at 5 and 10 cm depth), moisture, nitrates and soil microbial community composition were quantified. Root biomass was the substrate that best explained the variations in soil microbial biomass. Water availability (45-50% water-filled pore space) and temperatures below 25°C during December had a positive feedback on soil biota. Soil microbial biomass at 0-6 cm depth reached maximum values of carrying capacity demonstrating an apparent steady state. For a *petrocalcic Paleustoll*, with a CO level of 1,5%, it required 102 g C-roots  $m^{-2}$  and 3,7 g N-roots  $m^{-2}$  to support and maintain a stable microbial biomass containing 20,1 g C  $m^{-2}$  and 1,9 g N  $m^{-2}$ . N limited systems (rye-sorghum sequence) showed loss of particulate and mineral-associated organic N to sustain high levels of microbial biomass over time, which was associated with loss of carbon. Including vetch as a CC, alone or consociated, improved litter quality of the sequence and affected succeeding crop yield positively. The legume contributed with 31 and 112 kg  $ha^{-1}$  of biologically fixed N in the first and second years of the experience respectively. Greater N availability in the system increased the rate of nutrient cycling (net N mineralization rate) and consequently sequestered more C in both depths and more N within 0-6 cm depth. In addition, soil microbial community changed in the very short term to a population dominated by bacteria. However, sequences with lower litter quality showed a microbial succession of an initial community dominated by fungi to a community dominated by bacteria after three years of cumulative effects. The results of this experience demonstrate the fundamental role of N to enhance nutrient cycling by soil biota that favor C and N sequestration in SOM.

**Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.**

.....  
**Firma del Director**

.....  
**Firma del co-Director**

## 1) Introducción

La creciente preocupación por el cambio climático global y el incremento de la concentración de gases de “efecto invernadero”, ha impulsado al estudio de los suelos como reservorio de carbono orgánico debido a su importancia en el balance global de C. Si bien los esfuerzos han sido orientados principalmente hacia la cuantificación de efectos debido a cambios en el uso y manejo de los suelos (Moscatelli et al., 2007; Kirschbaum et al., 2008); resulta necesario profundizar acerca de los procesos subyacentes y los mecanismos que controlan los niveles de carbono orgánico del suelo en sistemas agrícolas bajo siembra directa.

El término “secuestro” se refiere al ingreso de carbono en el suelo, su transformación a materia orgánica y estabilización a largo plazo. Los procesos que involucra son principalmente bioquímicos y biológicos, mientras que los mecanismos de estabilización son del tipo físico-químicos. Estas transformaciones ocurren dentro de la matriz del suelo, en la interfase residuo-suelo y también sobre los mismos residuos que se van acumulando en superficie. Estos “hábitats” condicionan de manera diferencial la disponibilidad de energía y nutrientes para la actividad biológica, y por ende, para la formación de compuestos orgánicos e inorgánicos producto de su metabolismo. La comunidad microbiana habitante del suelo, puede ocupar distintos “microhábitats” dentro de la matriz del suelo, y tanto su biomasa como los productos de su actividad se encuentran sujetos a procesos de protección física (Elliott, 1986; Hassink, 1997; Six et al., 2000b; Sørensen, 1972; Tisdall and Oades, 1982). Se proponen 3 mecanismos por los que ocurre la estabilización del C y N en el suelo. La oclusión física dentro de los agregados (Elliott, 1986; Six et al., 2000b; Tisdall and Oades, 1982), las interacciones químicas con minerales de arcilla (Hassink, 1997) y la bioquímica recalcitrante (Krull et al., 2003). Estos procesos favorecen la estabilización de compuestos orgánicos de diferente “labilidad” y esto ocurre en mayor o menor grado de acuerdo a la genética del suelo, es decir, su textura, la mineralogía de las arcillas y la concentración de iones polivalentes que actuarían como “puentes” para la formación de complejos órgano-minerales (Bronick and Lal, 2005; Indraratne et al., 2007; Lützow et al., 2006; Sanderman et al., 2014; Six, 2004). En suelos evolucionados sobre material parental loessico como los Molisoles de la Región Pampeana, los cationes polivalentes que cumplen esta función son calcio y magnesio, en cambio, en Oxisoles de regiones tropicales el hierro y el aluminio forman los puentes entre coloides orgánicos y minerales (Camargo et al., 2013). Debido a que en los suelos Molisoles los materiales orgánicos son los principales agentes cementantes, la jerarquía de agregados es más prominente (Denef et al., 2001). Como consecuencia, la dinámica de la materia orgánica se encuentra íntimamente relacionada con la dinámica de los agregados (Jastrow et al., 2007). La evidencia actual indica que los microagregados se forman dentro de los macroagregados

(Figura 1) a medida que se descompone la materia orgánica particulada derivada principalmente de las raíces (Angers et al., 1997; Gale et al., 2000a; Golchin et al., 1994; Six et al., 2000b). Del mismo modo, los microagregados pueden estabilizarse por la deposición de subproductos microbianos y la condensación de humatos para formar complejos con las partículas minerales, y por la descomposición de restos orgánicos dentro de los microagregados (Golchin et al., 1994).

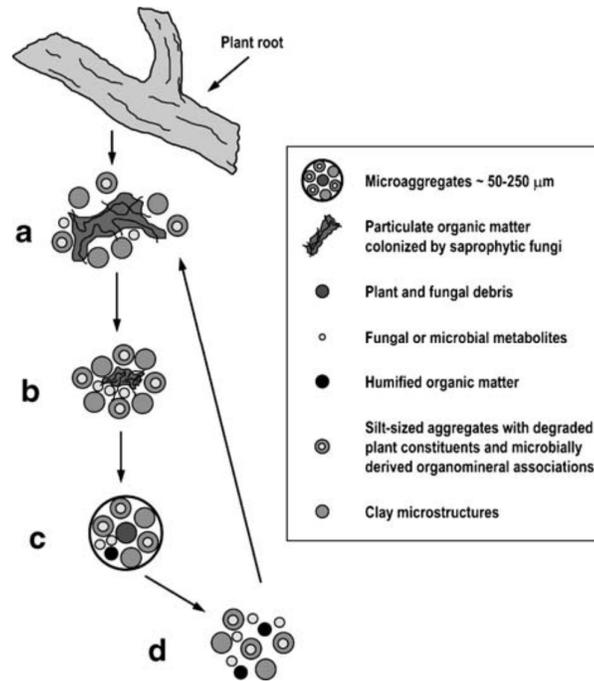


Figura 1: Representación esquemática de la teoría de jerarquía de agregados. Adaptado de Jastrow et al. (2007). *Modelo conceptual de la formación y ciclado de microagregados (basado en (Gale et al., 2000; Golchin et al., 1994; Six et al., 2000a)).* Los estadios ilustrados son (a) residuos y raíces fragmentados y descompuestos que se incrustan con las partículas minerales del suelo formando microagregados; (b) la descomposición continua pero a una tasa lenta debido a la protección física; los microagregados se estabilizan; (c) la descomposición desacelerada y el íntimo contacto con las partículas minerales del suelo en microagregados estables permite que la materia orgánica se humifique o sea químicamente protegida por la asociación con la fracción mineral; (d) los agentes aglutinantes se descomponen lo suficiente para que el agregado sea desestabilizado; la fracción mineral enriquecida con nuevas asociaciones órgano-minerales se encuentra disponible para su incorporación en nuevos microagregados.

Los compuestos que se producen tanto en la interfase residuo-suelo como en los mismos residuos constituyen una fuente de entrada de carbono y nitrógeno al suelo (Kandeler et al., 1999), y también se encuentran sujetos a procesos de asimilación biológica, adsorción a partículas coloidales o lixiviación. Los productos microbianos resultantes de su metabolismo pueden actuar como agentes aglutinantes o cementantes (*"binding agents"*) en la formación de nuevos agregados (Pronk et al., 2013). Chenu y Cosentino (2011), proponen que la alta tendencia de estas macromoléculas a adsorberse sobre la superficie mineral (alta afinidad y baja reversibilidad) y su efecto puente entre partículas minerales constituyen los mecanismos

que explicarían su rol como agentes agregantes. Si bien, la habilidad de producir estos polisacáridos es una característica ampliamente distribuida entre bacterias, hongos y algas (Chenu, 1995), aparentemente los polisacáridos de alto peso molecular y con la habilidad de formar redes pluri-moleculares serían más efectivos (Czarnes et al., 2000). Otro mecanismo de estabilización de agregados que se encuentra mediado por la acción de los microorganismos involucra la formación de redes de hifas sobre la superficie de los agregados ("*physical entanglement of soil particles*") (Tisdall y Oades, 1982). La fuerza de adhesión de las hifas a las partículas de suelo, su fuerza de tracción y la arquitectura de la red micelar dentro de la matriz del suelo han sido propuestos como factores influyentes sobre la agregación, sin embargo, existe poca información acerca de las propiedades mecánicas de los hongos (Chenu y Cosentino, 2011). Dadas las características morfológicas de los hongos se sugiere que podrían ser más efectivos en generar cambios en la estructura del suelo y su estabilidad, y es por ello, que la relación hongos/ bacterias ha sido utilizada como indicador del impacto de diferentes manejos o usos del suelo. Por otra parte, las raíces, conforme su crecimiento, colonizan los macroporos del suelo y debido a la presión que ejercen va ocurriendo la formación de nuevos canales. Los exudados de raíces no solo estimulan la actividad biológica en la rizósfera, sino también, pueden actuar como agentes cementantes favoreciendo la agregación del suelo (Shahzad et al., 2015). Como resultado de todos estos procesos ocurre un balance positivo a favor de la acumulación de materia orgánica estabilizada dentro y entre agregados del suelo. Six et al., (2000) explican la estabilización del carbono en siembra directa como la consecuencia de una menor tasa de ciclado de macroagregados que favorece la formación de nuevos microagregados en los cuales el carbono es secuestrado a largo plazo. Esta propuesta cambia el paradigma anterior en el que se asumía que la materia orgánica estabilizada eran fracciones químicamente recalcitrantes (compuestos aromáticos resistentes) que formaban los complejos órgano-minerales de los microagregados (Tisdall y Oades, 1982).

Debido a la complejidad que reviste el estudio de los procesos que conllevan al secuestro de carbono y nitrógeno en el suelo, resulta necesario utilizar un enfoque holístico para abordar su estudio. Si bien los modelos resultan una simplificación de la realidad, son una herramienta útil para comprender el funcionamiento de un sistema. Se han desarrollado un gran número de modelos para explicar la dinámica del carbono en el suelo. La mayoría de los modelos clásicos asume que la descomposición de la materia orgánica del suelo esta explicada por una cinética de primer orden donde cada pool posee un valor "K" que define su calidad (Chertov y Komarov, 1997; Molina et al., 1990; Parton et al., 1987; Van Veen et al., 1984). Los modelos actuales amplían esta visión del sistema asumiendo que la dinámica de la materia orgánica del suelo es una función no solo de su calidad sino también del crecimiento

microbiano resultante del balance entre el carbono que ingresa producto de la descomposición y lo que los microorganismos invierten para su mantenimiento y producción de enzimas (Manzoni et al., 2008, 2004; Schimel y Weintraub, 2003; Xu et al., 2014). La cinética deja de ser de primer orden y comienzan a observarse modelos hiperbólicos del tipo Michaelis-Menten. No sólo el hincapié se hace sobre el carbono sino también sobre el nitrógeno y la conexión entre ambos ciclos biogeoquímicos (Lawrence et al., 2009; Li et al., 2014; Manzoni et al., 2004; Porporato et al., 2003). A pesar de esta evidente complejización, estos modelos en general toman en cuenta a los residuos como un “pool total” sin discriminar entre fracciones o compartimientos que difieren en cuanto al contacto con la matriz del suelo. Sin embargo, recientemente el efecto del contacto con la matriz del suelo sobre la descomposición ha sido jerarquizado (Garnier et al., 2008), y por ende, la importancia de la contribución que realizan las raíces a la materia orgánica del suelo (Kätterer et al., 2011; Kong y Six, 2012).

La relación entre el aporte de residuos, la materia orgánica del suelo y la biomasa microbiana se ha convertido en un tema central para comprender el funcionamiento de los ecosistemas terrestres (Anderson y Domsch, 2010), y actualmente, se reconoce la importancia de la cantidad de residuos aportados y su efecto sobre el crecimiento microbiano para el secuestro de carbono (Bradford et al., 2013). El uso de la siembra directa como práctica de manejo conservacionista y la inclusión de cultivos de cobertura en la rotación podrían ser posibles estrategias a implementar en sistemas agrícolas para reducir las pérdidas de carbono y capturar nutrientes durante los meses invernales (Daliparthi et al., 1994). Sin embargo, poco se conoce acerca de la contribución relativa de los residuos en superficie y las raíces en la acumulación de carbono en el perfil bajo siembra directa y su compartimentación en la materia orgánica del suelo. Gale et al. (2000) sugieren que los efectos beneficiosos de la siembra directa en la acumulación de carbono orgánico del suelo se deben principalmente al aumento de la retención de carbono derivado de las raíces.

Tanto los residuos, como los exudados de raíces y el reciclado de la biota del suelo constituyen las fuentes principales de C y N de la materia orgánica soluble del suelo (Kalbitz et al., 2000). La mayor proporción de exudados de raíces en términos de masa corresponden a compuestos de alto peso molecular como mucílagos (polisacáridos) y proteínas, aunque también se encuentran aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares y metabolitos secundarios de menor peso molecular (Badri y Vivanco, 2009; Haichar et al., 2014). Los polisacáridos estructurales de las paredes de las bacterias (peptidoglicano) y los hongos (quitina) constituyen un aporte importante de nitrógeno a este pool (N-acetil-glucosamina) al igual que los productos de la descomposición de los residuos (Zhou et al., 2015). El tamaño de este sub-compartimento de la materia orgánica y su disponibilidad como sustrato para la biota del

suelo (Blagodatsky et al., 2011) son críticos para el flujo de nutrientes en sistemas agrícolas (Gregorich et al., 2003). Si bien la materia orgánica soluble representa una fracción relativamente pequeña (0,04%-0,2%) del total de la materia orgánica del suelo, cumple un rol importante en procesos claves del suelo y como sustrato para la actividad microbiana (Cookson et al., 2005; Farrell et al., 2014; Kalbitz, 2003; McDowell, 2003; Qualls y Bridgham, 2005). Como gran parte de las formas orgánicas que se encuentran en la solución del suelo son polímeros, deben ser hidrolizados a monómeros para poder ser asimilados por la biota del suelo ("*direct route*"), o en el caso de los compuestos de bajo peso molecular, pueden ser mineralizados a amonio ("*MIT route*") (Geisseler et al., 2010). Esta hidrólisis la llevan a cabo enzimas extracelulares que son producidas y excretadas por los microorganismos del suelo. Estas reacciones que controlan la mineralización del N se encuentran sujetas a procesos de regulación, de manera tal que la presencia de sustrato induce la activación de las enzimas involucradas como también se sugiere que la presencia de los productos finales puede suprimir su actividad (Allison y Vitousek, 2005; Geisseler y Horwath, 2008; Weintraub y Schimel, 2005). Sin embargo, también se ha reportado la producción de enzimas extracelulares constitutivas como proteasas (Haab et al., 1990; Kalisz, 1988), quitinasas (Felse y Panda, 1999) y muramidasa (Grant et al., 1990; Lincoln et al., 1997) cuyas reacciones son independientes de la presencia del sustrato o de los productos finales.

El N soluble del suelo ha sido utilizado como un indicador de mineralización de N en el suelo (Cookson y Murphy, 2004; Cookson et al., 2008; Ros et al., 2011). Este se origina a partir de los lixiviados de residuos de plantas, de origen microbiano, exudados de raíces, y la hidrólisis de la materia orgánica del suelo (Haynes, 2005). Su dinámica está controlada por los procesos de mineralización-inmovilización, adsorción-desorción y precipitación-solubilización (Kalbitz, 2001; Qualls y Bridgham, 2005; Qualls, 2000). Este pool está compuesto por moléculas de bajo peso molecular (aminoácidos y proteínas) que son utilizadas rápidamente por los microorganismos y por moléculas de alto peso molecular (ej. sustancias húmicas), con un ciclado más lento (Jones et al., 2004). Aparentemente L-péptidos dominarían el flujo de N a través de la solución del suelo, y tanto las plantas como los microorganismos, tendrían la capacidad de utilizar esta fuente de N (Bardgett et al., 2003; Hill et al., 2012). Existe evidencia cada vez más convincente que los pequeños péptidos liberados al inicio de la descomposición de las proteínas serían los sitios de mayor competencia por N entre microorganismos y plantas (Farrell et al., 2012, 2011; Hill et al., 2011a, 2011b, 2011c). Los microorganismos del suelo, que se encuentran limitados en primer instancia por carbono, serían capaces de responder rápidamente a un flujo transitorio de compuestos nitrogenados solubles para satisfacer su demanda de carbono (Farrell et al., 2014; Geisseler et al., 2010). Si bien el N soluble representa un pool significativo en la mayoría de los ecosistemas, en comparación con el N

inorgánico ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ ), poco se conoce acerca de los factores que controlan la concentración y su destino en el suelo (Christou et al., 2006).

La ubicación de los residuos sobre la superficie del suelo en los sistemas bajo siembra directa (menor contacto residuo-suelo-microorganismos) y la baja calidad de los residuos (alta C/N) surgen como limitantes para la transformación de los mismos a materia orgánica del suelo. El aporte de importantes volúmenes de carbono de los cereales invernales como cultivos de cobertura, podría contribuir aún más a la acumulación de residuos en superficie (Poeplau y Don, 2015). En este sentido, los microorganismos del suelo cumplen un rol fundamental al descomponer la materia orgánica presente y aportada al suelo permitiendo el ciclado de nutrientes y evitando que los componentes orgánicos se acumulen indefinidamente en el suelo. Al parecer los hongos podrían colonizar la capa superficial de residuos como consecuencia de su capacidad de extensión de las hifas pudiendo de esta manera translocar el nitrógeno inorgánico del suelo hacia el estrato de material vegetal con baja disponibilidad de nitrógeno (Beare et al., 2007; Frey et al., 2000; Holland y Coleman, 1987). La inclusión de leguminosas en la rotación sería una estrategia posible para favorecer la captura de carbono en estos sistemas (Paustian et al., 1992; Sisti, 2004; Urquiaga et al., 2002), sin embargo, no resulta claro el rol del nitrógeno como limitante de la captura de carbono proveniente de los residuos (Gärdenäs et al., 2011; Kirschbaum et al., 2008).

La inclusión de los cultivos de cobertura plantea una rotación de cultivos más intensiva, que no sólo aumentaría el ingreso de carbono al suelo con un mayor aporte de raíces sino también, incrementaría la biomasa microbiana favoreciendo la continuidad de su actividad en el suelo debido a una mayor disponibilidad de compuestos orgánicos en la rizósfera derivados de la raíz (carbohidratos solubles) a lo largo del año (Djigal et al., 2012; Lehman et al., 2012). Lupwayi et al. (1999) observaron que los niveles de biomasa microbiana fueron mayores cuando las leguminosas fueron incluidas en la rotación como cultivos de cobertura, respecto de rotaciones con barbecho. Similares resultados fueron observados por Gude et al. (2012). Por otro lado, cambios en la calidad de los residuos debido a la incorporación de leguminosas también modificarían la presencia de comunidades microbianas del suelo. Al respecto, (Bossuyt et al., 2001) sugieren que la biomasa de hongos puede verse favorecida por la presencia de residuos de baja calidad mientras que la población bacteriana predominaría en presencia de residuos de alta calidad (Kramer et al., 2012). Estos cambios en la abundancia relativa y la actividad de hongos y bacterias afectarían significativamente el ciclado de carbono y su almacenamiento en los distintos sub-compartmentos de la materia orgánica del suelo.

Otra consecuencia esperable, de aplicación práctica, producto de los cambios en la relación C/N de los residuos se vería reflejada en cambios en las tasas de mineralización de N, afectando la disponibilidad del elemento para el cultivo sucesor (Ågren et al., 2013; Oelbermann y Echarte, 2011; Kramberger et al., 2009; Ranells y Wagger, 1997; Jagadamma et al., 2014). La capacidad potencial de las leguminosas de fijar N de la atmósfera biológicamente y la habilidad del centeno de captar y conservar el N inorgánico residual del suelo favorecerían la disponibilidad de N al momento de mayor demanda del cultivo sucesor disminuyendo las pérdidas por lixiviación (Zotarelli et al., 2009). Este aporte de N al cultivo sucesor podría reducir los requerimientos de fertilización nitrogenada.

Actualmente el concepto desarrollado por Cambardella y Elliott (1994) de fracciones de materia orgánica relacionadas con diferentes tamaños de partículas es el más aceptado en la disciplina. Las fracciones que consideran son el carbono orgánico particulado asociado a la fracción  $> 53 \mu\text{m}$ , que refleja el material vegetal recién incorporado al suelo y la fracción más estabilizada asociada a las partículas minerales que se halla en el tamaño  $< 53 \mu\text{m}$ . La materia orgánica asociada a las partículas del tamaño de las arcillas y los limos (ej. sesquióxidos y silicatos) proveen una mayor superficie de contacto y numerosos sitios donde la materia orgánica puede ser adsorbida por intercambio o uniones puente con cationes polivalentes. En cambio, la MOS asociada a la fracción de arenas exhibe una débil afinidad a unirse a la superficie de dichas partículas (Sposito et al., 1999). Por lo tanto, la asociación de las partículas y el arreglo espacial que conforman condicionan la distribución de la MOS en el suelo restringiendo su accesibilidad para la biota del suelo (Lagomarsino et al., 2011). En función del mecanismo de estabilización que opere las fracciones de la materia orgánica también pueden definirse como fracciones activas, lentas o pasivas según su vida media en el suelo que puede abarcar entre días y hasta siglos (Quiroga y Studdert, 2015). La fracción particulada de la materia orgánica representa un reservorio de nutrientes para las plantas (Galantini y Rosell, 1997), y además, es sustrato para la biota del suelo (Barrios et al., 1996; Gregorich et al., 1994; Hassink, 1995; Phiri et al., 2001; Salas et al., 2003). Esta fracción ha sido utilizada como un indicador de cambios en el corto plazo asociados al manejo del suelo (Carter y Gregorich, 2010; Gale et al., 2000a; Quiroga et al., 1996; Wander y Yang, 2000). En los sistemas agrícolas en particular, la implementación de prácticas de manejo conservacionistas como la siembra directa aparentemente incrementaría los niveles no sólo de materia orgánica particulada sino también la asociada a la fracción mineral del suelo (Wander y Yang, 2000). Similares resultados se han evidenciados cuando se incluyeron cultivos de cobertura en la rotación (Bayer et al., 2001). Estudios recientes demuestran que la materia orgánica particulada derivada de los residuos de raíces tendría un rol más importante en la estabilización de los agregados en el corto plazo que la proveniente de los residuos

acumulados sobre la superficie del suelo (Carter y Gregorich, 2010; Gale et al., 2000a; Mazzilli et al., 2015; Six et al., 2002). Sin embargo, otros autores sugieren que la acumulación de C se encontraría distribuida al azar dentro de los agregados del suelo (Urbanek et al., 2011).

Cada vez hay más conciencia del impacto del ciclo del nitrógeno sobre el ciclo del carbono en el suelo, sin embargo, el alcance de esta interacción y las implicancias sobre la dinámica de la materia orgánica del suelo es aún objeto de debate (Knicker, 2011). La disponibilidad de N orgánico del suelo no solo determina la fertilidad de un suelo sino que también condiciona la cantidad de MOS y su velocidad de ciclado. Chivenge et al. (2011) encontraron que residuos de baja calidad favorecieron el secuestro de C y N en los macroagregados del suelo en el corto plazo (3 años) en comparación con los de alta calidad. Sin embargo, la combinación de residuos de baja calidad con una fuente de N (urea) evidenció una menor agregación del suelo como consecuencia de la descomposición y pérdida de CO y N del suelo debido a un ciclado más veloz de los agregados. En cambio, McDaniel et al. (2014a), observaron que una rotación de cultivos más intensiva por la inclusión de CC incremento el stock de C y N de la biomasa microbiana del suelo y también los niveles de C y N del suelo. Sumado a ello, Dinesh et al. (2004) observaron que la utilización de una leguminosa como CC incrementó los niveles de C y N del suelo asociado a una mayor actividad biológica del suelo, y en consecuencia, mayor ciclado de nutrientes, sin embargo, estos autores no determinaron la compartimentación de la materia orgánica del suelo.

En base a los antecedentes presentados, resulta necesario profundizar acerca de las relaciones entre los procesos de mineralización e inmovilización de manera tal de poder reconocer la conexión entre el metabolismo del C y N del suelo y sus cambios a través de la descomposición del pool de biomasa del suelo. La biomasa microbiana es un componente biológico clave que afecta la descomposición de los residuos, el ciclado de nutrientes y el secuestro de C, y por lo tanto, debería reflejar los cambios en la relación entre estos procesos. Se propone el siguiente modelo conceptual de flujo de C y N a modo de poder aportar conocimientos acerca del rol del N como limitante del secuestro de C en suelos bajo SD y la intervención de los microorganismos en la dinámica de la materia orgánica (Figura 2):

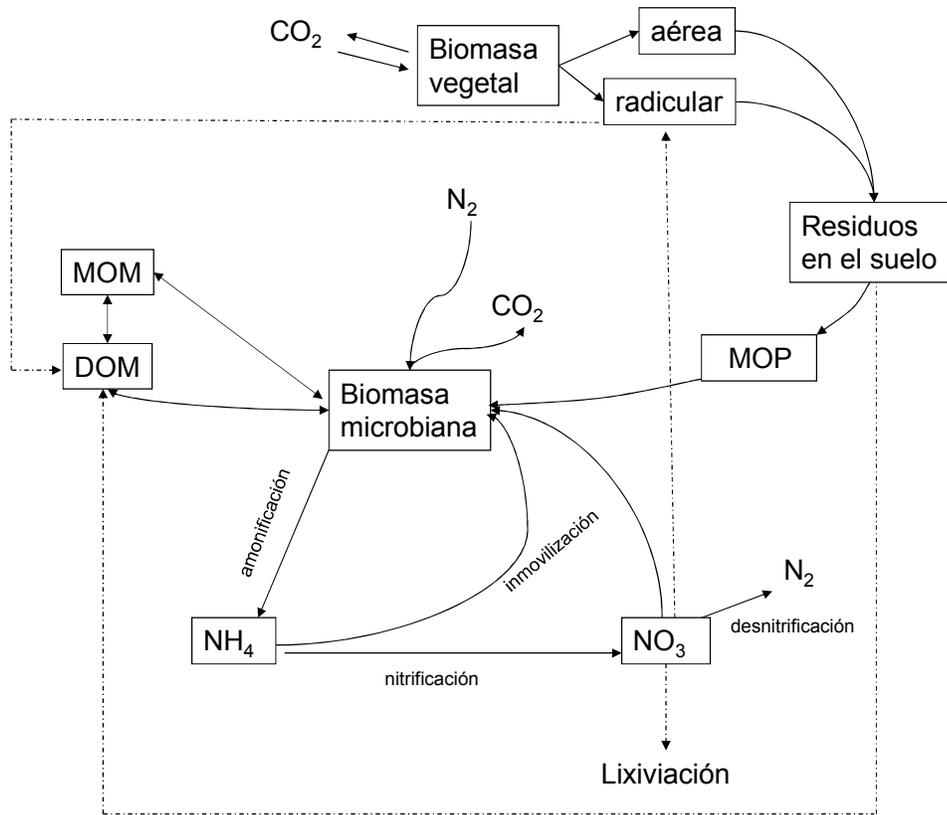


Figura 2: Modelo conceptual de flujos de C y N edáficos (MOP: materia orgánica particulada; MOM: materia orgánica asociada a la fracción mineral de suelo).

## 2) Hipótesis a probar y predicciones

*1. La inclusión de los CC en la rotación con sorgo bajo SD representa un mayor aporte de residuos y de raíces favoreciendo la actividad biológica del suelo.*

La inclusión de CC en la rotación con cultivos de verano bajo SD incrementará el ingreso de C (por el aporte los residuos y de raíces) y aumentará la biomasa microbiana del suelo favoreciendo la continuidad de su actividad a lo largo del año debido a una mayor disponibilidad de compuestos orgánicos en la rizósfera.

*2. La utilización de vicia como CC contribuye a mejorar la calidad de los residuos de la rotación y su descomposición.*

La utilización de vicia como CC reducirá la relación C/N de los residuos y favorecerá el flujo de nutrientes, predominando el proceso de mineralización del N.

*3. La calidad de los residuos también afecta la estructura de la comunidad del suelo*

La mayor calidad de los residuos de vicia modificará la composición de la comunidad microbiana del suelo hacia una mayor predominancia de la población de bacterias respecto a la presencia hongos.

*4. Cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo afectan el ciclado de nutrientes y su almacenamiento en los diferentes compartimentos de la materia orgánica del suelo.*

Estos cambios en la abundancia relativa de las poblaciones de microorganismos del suelo afectarán el ciclado de C y su almacenamiento en las fracciones de la MOS.

*5. La mayor disponibilidad de N afecta el estatus nutricional del cultivo sucesor.*

La mayor tasa de liberación de N producto de la descomposición de residuos de mayor calidad (< relación C/N) se verá reflejada en la productividad aérea del cultivo sucesor.

### 3) Objetivos y organización de la tesis

En esta tesis se analiza el impacto de la inclusión de diferentes CC en sucesivas rotaciones con sorgo bajo SD sobre los flujos y variables de estado más relevantes de los ciclos de C y N de un suelo *Paleustol petrocálcico* de la Región Semiárida Pampeana. El objetivo general fue evaluar los efectos de la inclusión de cultivos de cobertura, en una secuencia de cultivos de verano destinados a silo, sobre la dinámica de C y N, EUA y comunidades microbianas.

Los objetivos específicos planteados fueron:

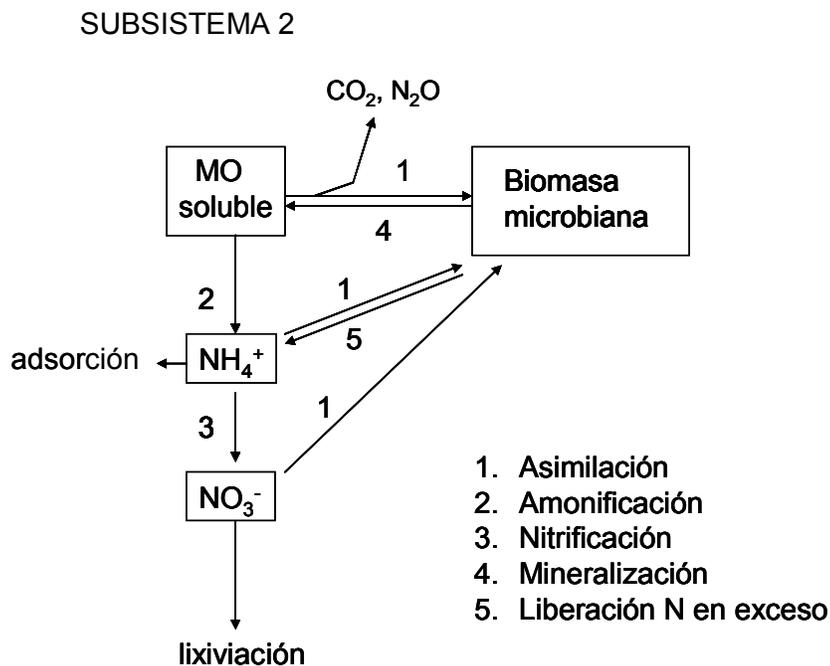
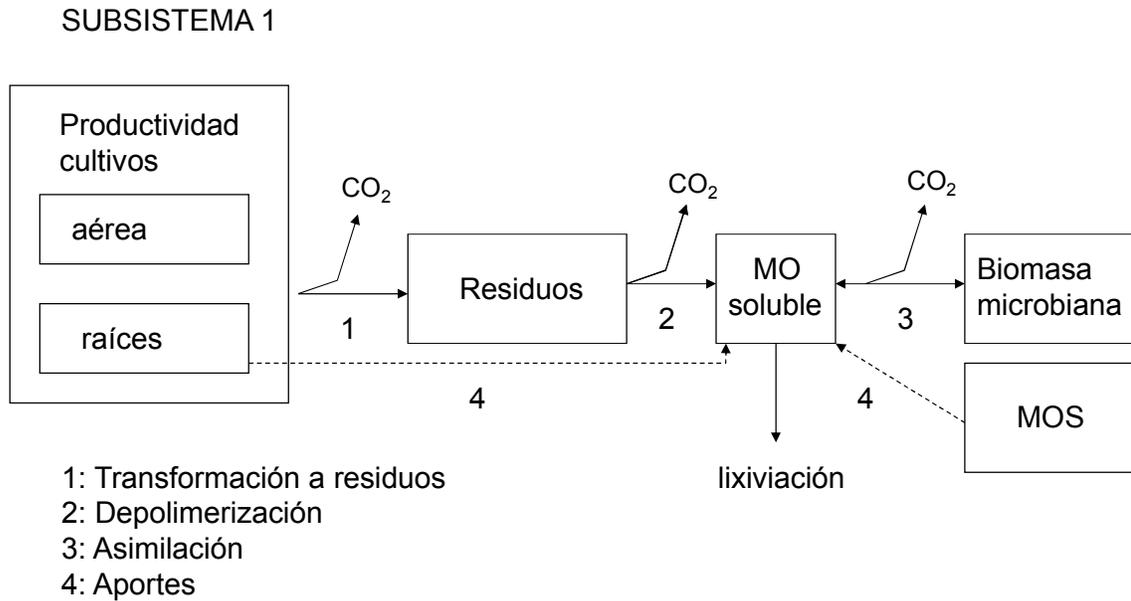
1. Cuantificar los contenidos de C y N en diferentes compartimientos del ciclo de C en las condiciones experimentales;
2. Obtener información acerca de las condiciones ambientales y de la calidad de residuos que determinan la mineralización neta de N;
3. Evaluar el efecto de la rizósfera y de la disponibilidad de N sobre la composición de la comunidad microbiana;
4. Evaluar la respuesta de las poblaciones bacterianas y fúngicas a sustratos con diferente calidad (relación C/N); y
5. Evaluar la disponibilidad de N fijado por la vicia sobre el cultivo sucesor.

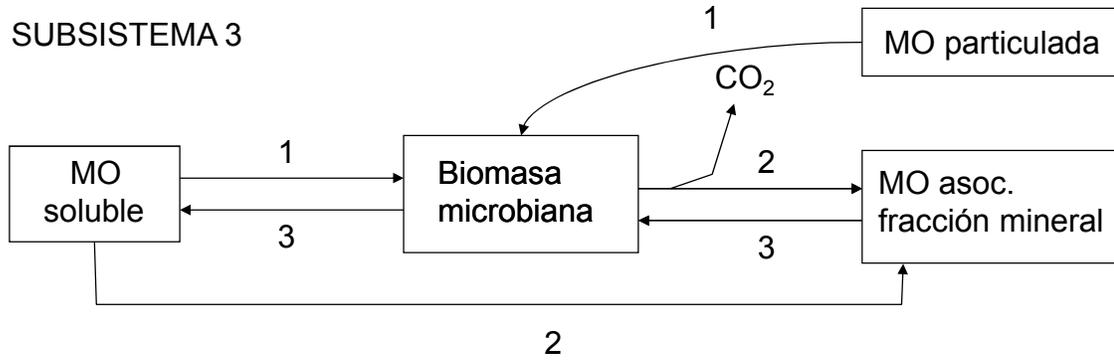
Para abordar este estudio se propuso un enfoque de sistema basado en un continuo suelo-planta que se particionó en tres subsistemas cuyos resultados se presentan en un único capítulo de resultados, mientras que las discusiones de cada subsistema se organizaron en secciones de dicho capítulo (Parte 1, 2 y 3). Por último se elaboró una sección dentro del capítulo de discusión que integra los tres subsistemas.

Se delimitaron diferentes compartimientos de C y N (variables fijas de stock). Si bien la materia orgánica soluble y la biomasa microbiana del suelo constituyen fracciones de la MOS con diferente cinética, fueron identificadas como variables de stock en los subsistemas para facilitar la interpretación de los resultados y su esquematización. Por otra parte, las variaciones anuales han sido utilizadas para inferir los flujos de estos elementos (procesos) a través de todo el sistema.

El primer subsistema estuvo representado por las variables de stock productividad de los cultivos en la rotación (biomasa aérea y de raíces), residuos y materia orgánica soluble. Este subsistema representa el flujo de C desde la biomasa de los cultivos, su transformación a residuos y la producción de compuestos solubles producto de la descomposición de los

mismos (subsistema 1). El segundo subsistema está compuesto por las variables materia orgánica soluble, biomasa microbiana del suelo y N-nitratos y representa principalmente el flujo de N dentro del suelo (inmovilización y mineralización) (subsistema 2). El tercer subsistema caracterizado por la biomasa microbiana del suelo, la materia orgánica particulada y la asociada a la fracción mineral representan la dinámica de C y N entre los diferentes compartimentos de la MOS (subsistema 3). Por último, se presenta un capítulo integrador donde se discuten ambos ciclos de C y N en conjunto.





1. Asimilación
2. Secuestro
3. Mineralización

#### 4) Materiales y métodos

##### 4.1) Descripción general del área bajo estudio

La provincia de La Pampa comprende parte de las regiones árida y semiárida pampeana, caracterizada en parte por una importante transición entre zonas húmedas y secas, con una gran variabilidad en la ocurrencia de sus precipitaciones (Scian, 2002) que condiciona la viabilidad de los sistemas de producción. En ese sentido, la provincia está comprendida entre la isoyeta de los 700 mm al NE, con predominancia de suelos Molisoles, hasta los 200 mm al O con predominancia de suelos Entisoles y Aridisoles. En el área centro y NE de La Pampa en particular, donde se llevó a cabo la experiencia, se pueden identificar dos zonas con características agroecológicas muy diferentes. Por un lado, se encuentra la Planicie Medanosa que presenta suelos arenoso-francos a franco-arenosos profundos con contenidos de limo + arcilla entre 20 y 45%, cuyo paisaje característico corresponde a planicies extendidas y onduladas. Esta zona representa el sector de mayor potencial productivo de la provincia, donde además de registrarse las mayores precipitaciones existe un acuífero freático cercano a la superficie que puede incidir positivamente sobre la productividad de los cultivos (Saks et al., 2014). Por otro lado, también se puede diferenciar la Planicie con Tosca, caracterizada por la presencia de *Paleustoles petrocálcicos*, con un perfil del tipo A-AC-C-tosca, cuya principal limitante es la presencia de un manto calcáreo a profundidad variable (Lorda et al., 2008) que condiciona la productividad (Fontana et al., 2006).

##### 4.2) Ubicación de la experiencia

La experiencia se realizó dentro de la Estación Experimental Agropecuaria INTA "Ing. Agr. Guillermo Covas", situada en la localidad de Anguil a 27 km de la Ciudad de Santa Rosa (RN5), Departamento Capital. Se seleccionó un suelo *Paleustol petrocálcico* franco arenoso con secuencia de horizontes A, AC, C, C<sub>k</sub> y con presencia de un manto calcáreo de profundidad variable a partir de los 60 cm, ubicado dentro del lote 6D (S 36° 36' 37,95''; W 63° 58' 48,22'') del campo experimental (Figura 3). La historia previa del lote corresponde a una secuencia de cultivos anuales destinados a ganadería, establecidos en siembra convencional (arado rastra) y con siembra directa los últimos tres años. Las propiedades edáficas del sitio experimental para las dos profundidades de suelo estudiadas se presentan en la Tabla 1.

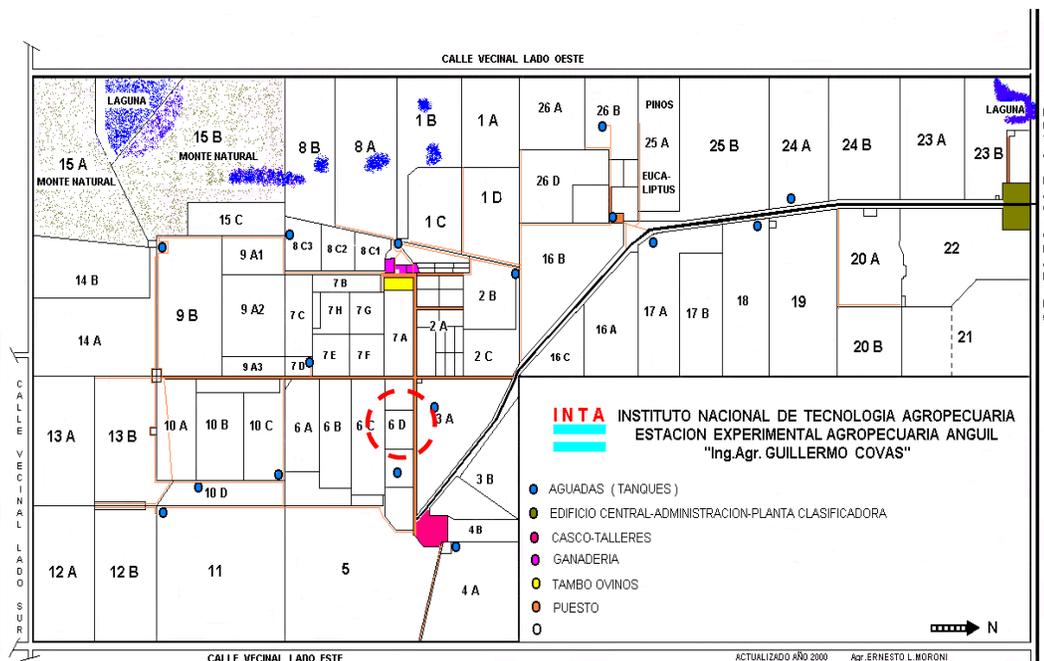


Figura 3: Plano del campo experimental y localización del sitio de estudio (6D).

Tabla 1: Caracterización del estrato superficial del horizonte A.

	Textura	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	MOS (%)	NT (%)	P disp. (mg/Kg)	pH	C.E. (dS/m)	CIC (meq/100g)
0-6 cm	Franco arenoso	56.6	27.5	15.9	2.53	0.121	39.2	5.9	1.2	8.16
6-12 cm	Franco arenoso	56.7	28.0	15.3	2.42	0.124	27.0	5.7	0.9	8.65

#### 4.3) Diseño Experimental

Se planteó una rotación de cultivos bajo siembra directa (SD), de tres años de duración, con inclusión de cultivos de cobertura (CC) a base de vicia (*Vicia villosa ssp. dasycarpa*) y centeno (*Cereale secale* cv. "Ewald", INTA Bordenave) como antecesores de cultivos de verano destinados a la producción de silo, específicamente sorgo granífero (*Sorghum bicolor*). Se eligió este cultivo porque se adapta muy bien a las condiciones ambientales de la región, debido a su buen comportamiento frente a déficit hídricos y altas temperaturas, asegurando una importante producción de biomasa que es utilizada como reserva forrajera mediante la confección de silo.

En base a los objetivos planteados se definieron los siguientes tratamientos:

- T<sub>1</sub>: centeno (Ce)
- T<sub>2</sub>: centeno fertilizado con 40 kg N (Ce+N)
- T<sub>3</sub>: barbecho (sin CC) (T)
- T<sub>4</sub>: vicia (V)
- T<sub>5</sub>: centeno + vicia (VCe)

Se realizó un diseño en bloques completamente aleatorizados (DBCA) con cuatro replicas. El tamaño de las parcelas fue de 10 m de ancho por 50 m de largo. La siembra de los CC se realizó con una sembradora Schiarre de grano fino (ancho de labor 4 m) adaptada para SD de cereales de invierno. La densidad de siembra utilizada fue de 200 semillas m<sup>-1</sup> lineal, tanto para vicia como para centeno, y la misma fue regulada con una proporción 60/40 para el tratamiento vicia-centeno. La distancia entre hileras fue de 17 cm. La orientación de la siembra fue E-W en forma transversal a los vientos predominantes. Las fechas de siembra de los CC en cada año de la experiencia se indican en la Tabla 2.

Tabla 2: Fechas de siembra de los cultivos de cobertura.

Año de la experiencia	Fecha de siembra CC
2010	31 marzo
2011	12 abril
2012	29 abril

Todos los tratamientos fueron fertilizados con fósforo a la siembra de los CC (20 kg P ha<sup>-1</sup>) para evitar deficiencias de este elemento. La fertilización de fósforo y nitrógeno se realizó al voleo, y las fuentes empleadas fueron superfosfato triple (46% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) y urea granulada (46% N). El crecimiento de los CC se detuvo hacia principios del mes de octubre mediante una pulverización combinada de glifosato (3 L ha<sup>-1</sup>) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (400 gr ha<sup>-1</sup> diluidos en 100 L de agua) para asegurar el secado total de la vicia. La finalización de los CC se postergó hasta dicha fecha debido al escaso desarrollo que presentaba el cultivo de vicia en los meses previos como consecuencia de las bajas temperaturas y escasas lluvias.

La siembra del cultivo de verano (sorgo) se realizó hacia mediados del mes de noviembre con el propósito de favorecer la recarga del perfil. Para dicha labor, se dispuso de una sembradora Baumer de cuatro surcos con un distanciamiento entre cuerpos de 52 cm. La orientación de la siembra del cultivo de verano fue N-S. La densidad de siembra implementada fue de 10-13 plantas por m lineal. No se realizó control químico de malezas durante el ciclo del cultivo de verano para evitar posibles variaciones en las variables biológicas analizadas al inicio del mismo. Los destinos del sorgo fueron: picado para alimentación de la hacienda en la campaña 2010-2011 y elaboración de rollos en las campañas 2011-2012 y 2012-2013. Se seleccionaron

híbridos de ciclo intermedio-corto. En la Tabla 3 se presentan las fechas de finalización de los cultivos invernales e inicio y finalización del cultivo de verano para cada año de la experiencia.

Tabla 3: Fechas de finalización de los CC, siembra y cosecha del cultivo sucesor (sorgo) para cada año de la experiencia.

Año	Finalización del CC	Siembra sorgo	Cosecha sorgo
2010	6/10	16/11	31/03
2011	17/10	21/11	9/04
2012	10/10	15/11	22/04

#### 4.4) Caracterización inicial del sitio de estudio

Se realizó un muestreo inicial de las variables que se enumeran a continuación a modo de establecer una línea de base de estudio (caracterización de la condición inicial). Los niveles de base del estudio se presentan en las Tablas 4 y 5.

- Densidad aparente y materia orgánica del suelo: A partir de cilindros de volumen conocido ( $471,2 \text{ cm}^3$ ) se extrajeron cuatro muestras de suelo por bloque a 0-6 y 6-12 cm de profundidad. Los cilindros se colocaron en estufa a  $60^\circ\text{C}$  por una semana y luego se pesaron. Las mismas muestras se utilizaron para el fraccionamiento físico de MOS ( $<53$  y  $> 53 \mu\text{m}$ ) (Noellemeyer et al. (2006) adaptado de Cambardella y Elliott (1994) y la determinación de los contenidos de C y N total de cada fracción (LECO – TrueSpec® CN).
- Humedad edáfica y N- $\text{NO}_3$ : Se tomaron 4 muestras por bloque cada 20 cm hasta la profundidad del manto calcáreo o tosca para determinar humedad edáfica por el método gravimétrico. Durante el mismo muestreo se separó suelo para la determinación de nitratos a las profundidades de 0-20 y 20-60 cm y las mismas fueron almacenadas en freezer hasta su procesamiento por el método de Cataldo et al. (1975).
- Residuos sobre la superficie del suelo, C y N total: Se tomaron cuatro muestras por parcela, las cuales se secaron en estufa a  $60^\circ\text{C}$  durante 72 hs y se determinó su peso seco, previo tamizado. Los contenidos de C y N se determinaron a partir de muestras compuestas de cada bloque (7 submuestras).

Tabla 4: Densidad aparente ( $\text{g cm}^{-3}$ ), concentración de N-nitratos (ppm), agua total del perfil al metro de profundidad y residuos sobre la superficie del suelo determinado previo al inicio de la experiencia.

Dap ( $\text{g cm}^{-3}$ )		N- $\text{NO}_3$ (ppm)		AT (mm)	Residuos		
0-6 cm	6-12 cm	0-20 cm	20-60 cm		g MS $\text{m}^{-2}$	Nt (%)	CO (%)
1,2	1,2	35	38	237	359	0,9	33

Tabla 5: Materia orgánica total (%), peso (g) y concentración de C y N (%) de las fracciones mayor y menor a 53  $\mu\text{m}$  determinadas previo al inicio de la experiencia.

Profundidad	Fraciones	Peso (g)	C (%)	N (%)	MO (%)
0-6 cm	> 53 $\mu\text{m}$	17,5	0,7	0,05	2,2
	< 53 $\mu\text{m}$	19,3	2,6	0,15	
6-12 cm	> 53 $\mu\text{m}$	16,9	0,7	0,06	2,0
	< 53 $\mu\text{m}$	19,1	2,5	0,15	

#### 4.5) Determinación a campo de las variables bajo estudio

##### 4.5.1) Caracterización del ambiente edáfico

Durante el primer año de la experiencia el seguimiento de las variables presentadas a continuación se realizó en forma mensual a modo de evaluar la dinámica hídrica y la fluctuación de la temperatura del suelo a lo largo del año. En los dos años sucesivos de la experiencia, el muestreo se efectuó en forma trimestral coincidente con la siembra y cosecha de los cultivos de la rotación con una intensidad de muestreo de 3 muestras por parcela:

- Temperatura edáfica a 5 y 10 cm de profundidad con termómetro digital (-50 a 150°C)
- Contenido hídrico del suelo cada 20 cm hasta el metro de profundidad (método gravimétrico). A partir del contenido de agua de los primeros 20 cm se determinó la cantidad de poros llenos de agua de acuerdo a la siguiente ecuación (Robertson y Groffman, 2007).

$$\text{Poros llenos de agua (\%)} = (\text{AT} * \text{Dap} * 100) / (1 - (\text{Dap}/2,65))$$

$$\text{AT} = (\text{peso húmedo} - \text{peso seco}) / \text{peso seco}$$

Donde:

AT: Agua total a 0-20 cm de profundidad ( $\text{g g}^{-1}$ )

Dap: densidad aparente ( $\text{g cm}^{-3}$ )

2,65: densidad real ( $\text{g cm}^{-3}$ )

En forma trimestral se evaluó:

- El contenido de N-NO<sub>3</sub> del suelo a 0-20 y 20-60 cm de profundidad en los momentos de siembra y cosecha del CC y del cultivo de verano (Cataldo et al., 1975). Para la extracción se partió de 50 g de suelo húmedo al que se le agregaron 50 ml de agua destilada y 3 g de CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O. Las muestras se sometieron a agitación por 30 minutos. Para separar la fase sólida de la líquida, las muestras fueron centrifugadas por 3 minutos y se filtró el sobrenadante. Para determinar la concentración de nitratos se tomó una alícuota de 5 ml del sobrenadante de cada muestra y se colocó en un tubo de ensayo, al cual se le agregó 1 ml de salicilato de Na 0.5% P/V, y se llevaron a sequedad en estufa a 105°C durante un día.

Se resuspendió la muestra con 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y se dejó reposar por 15 minutos. Luego se agregaron 10 ml de NaOH (4 M) y tartrato de Na y K (5%) y se dejó enfriar hasta lectura en espectrofotómetro a 420 nm.

#### 4.5.2) *Biomasa aérea de los cultivos*

- Cultivos de cobertura:

Se realizaron dos cortes durante el ciclo del CC, uno en julio como primera fecha probable de secado, y otro en octubre, momento en el cual se interrumpió químicamente su crecimiento con glifosato y 2,4-D. En las parcelas VC se separó manualmente el material verde aportado por cada especie. La intensidad de muestreo en todos los cortes fue de 3 muestras por parcela utilizando un aro de 0.25 m<sup>2</sup>. Las mismas fueron llevadas inmediatamente al laboratorio donde fueron pesadas y se colocaron en estufa a 60°C por 72 hs o hasta lograr su peso constante. Se registró el peso seco de las muestras y se molieron para su posterior determinación de C y N total (LECO – TrueSpec® CN).

- Cultivo de verano (sorgo)

Se realizó un corte por parcela de 1m lineal recolectando el material correspondiente a dos líneas de siembra (1m<sup>2</sup>), determinando su peso fresco en el campo. El material se secó en estufa a 60°C por 72 hs o hasta lograr su peso constante para determinar el contenido de materia seca. A partir del material seco y molido se cuantificó su contenido de C y N (LECO – TrueSpec® CN).

#### 4.5.3) *Biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y sorgo*

Para evaluar el aporte de raíces al ciclo de C y N del suelo se determinaron dos momentos de muestreo en el año: al finalizar los CC y al momento de floración del cultivo de verano. En ambos casos, se trazaron tres transectas al azar por parcela entre dos líneas de siembra. En cada transecta se realizaron 4 piques equidistantes y a dos profundidades de muestreo (0-6 y 6-12 cm) utilizando un barreno tubular de 3 cm de diámetro de manera tal de evaluar la distribución espacial de las raíces. El primer y último pique coincidió con las líneas de siembra del cultivo. Los piques correspondientes al entresurco se unificaron en una única submuestra por profundidad y por transecta. El mismo procedimiento se realizó con las muestras correspondientes a la línea de siembra. En el caso particular de las parcelas sin CC (con barbecho), la intensidad de muestreo fue de una transecta por parcela para obtener un dato promedio de la biomasa de raíces presente al momento del muestreo. En la Figura 4 a se presenta el diagrama de muestreo de raíces de los CC.

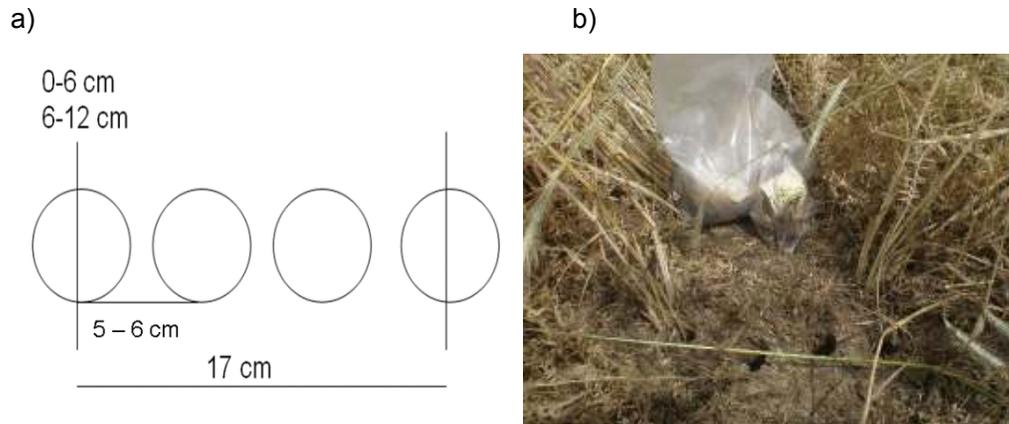


Figura 4: a) Diagrama representativo del muestro de raíces entre líneas de siembra al finalizar el ciclo de crecimiento de los CC y b) Muestreo a campo.

Las muestras fueron llevadas inmediatamente al laboratorio y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  en freezer hasta su procesamiento. Para separar las raíces del suelo se utilizaron dos baterías de tamices de 500 y 250 micrones (Barley, 1970) aplicándoles presión con un chorro de agua. Las raíces obtenidas en los tamices se separaron manualmente de posibles impurezas utilizando una pinza metálica. Ninguna distinción se realizó entre las raíces vivas y muertas (Fotos 1 y 2). Las muestras tamizadas se colocaron en estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  por 24 hs y luego fueron pesadas. El material seco se almacenó para su posterior molienda y análisis de C y N total (LECO – TrueSpec® CN).

Foto 1 y 2: Determinación de raíces de los cultivos de cobertura.



#### 4.5.3.1) Cálculo de la biomasa total de raíces

La cuantificación del peso seco de las raíces remanentes en el suelo tanto en la línea de siembra (LS) como en el entresurco (ES) se utilizó para determinar la biomasa de raíces totales (BRT) por unidad de superficie, teniendo en cuenta el porcentaje de influencia de LS y ES en cada transecta de muestreo. De esta manera, se determinó que el 71% de la transecta fue ocupado por ES ( $12\text{ cm}/17\text{ cm} \times 100$ ) y el 29% por LS ( $5\text{ cm}/17\text{ cm} \times 100$ ) para

los CC, mientras que para el cultivo de verano se calcularon valores de porcentaje de influencia de ES y LS de 90% (47/52cm) y 10 % (5/52cm) respectivamente. El cálculo de biomasa de raíces totales se realizó a partir de las siguientes ecuaciones:

$$BRT = BR (ES) + BR (LS)$$

$$BR (ES) = [(\sum \text{peso seco piques}) / (\pi \times r^2 \times \text{nro. piques})] / 0,001 \times ES (\%)$$

$$BR (LS) = [(\sum \text{peso seco piques}) / (\pi \times r^2 \times \text{nro. piques})] / 0,001 \times LS (\%)$$

Donde:

BR (ES): es la biomasa de raíces en el entresurco ( $\text{g m}^{-2}$ )

BR (LS): es la biomasa de raíces sobre la línea de siembra ( $\text{g m}^{-2}$ )

ES y LS (%) = son los porcentajes de influencia del entresurco y la línea de siembra sobre la transecta de muestreo (71 y 29 % para los CC y para sorgo 10 y 90%)

0,001 es el factor de conversión de  $\text{g cm}^{-2}$  (peso seco piques (g)/ sección cilindro ( $\text{cm}^{-2}$ )) a  $\text{g m}^{-2}$

#### 4.5.4) Usos consuntivos de los cultivos y eficiencia de uso del agua

Los usos consuntivos de cada cultivo (UC) fueron calculados según la siguiente ecuación (López y Arrúe, 1997):

$$UC = AU_i + Pp - AU_f$$

Donde:

AU<sub>i</sub>: Agua útil inicial al metro de profundidad (mm)

Pp: Precipitaciones acumuladas durante el ciclo del cultivo (mm)

AU<sub>f</sub>: Agua útil final al metro de profundidad (mm)

Las eficiencias de uso del agua de cada cultivo se determinaron a partir de la siguiente ecuación (Quiroga et al., 2006):

$$EUA (\text{g m}^{-2} \text{ mm}^{-1}) = \text{Productividad aérea} (\text{g m}^{-2}) / UC (\text{mm})$$

#### 4.5.5) Eficiencia de uso del N (eficiencia agronómica)

La eficiencia de uso del nitrógeno se calculó a partir de la siguiente ecuación (de Wit, 1953):

$$EUN (\text{g g}^{-1}) = \text{Productividad aérea} (\text{g m}^{-2}) / N \text{ absorbido} (\text{g m}^{-2})$$

#### Determinaciones anuales

Las determinaciones que se presentan a continuación se realizaron durante la fase vegetativa del cultivo de verano (4-6 hojas con lígula visible) en los tres años de la experiencia (fines de diciembre). Este momento fue elegido teniendo en cuenta no solo la mineralización de los residuos correspondientes a los CC (Poll et al., 2008), sino también la producción de compuestos orgánicos rizosféricos por parte del cultivo de verano y la influencia de la época del año sobre la actividad microbiana del suelo. Para el muestreo a campo se tomaron 7 submuestras a 0-6 y 6-12 cm de profundidad distribuidas dentro de un aro de 0,25 m<sup>2</sup> colocado entre dos líneas de siembra del sorgo (Figura 5), tomando la mayor cantidad de piques sobre la zona de actividad radicular del cultivo, utilizando un barreno tubular de 3,2 cm de diámetro. Se realizaron 3 repeticiones por parcela distribuidas al azar. El volumen de suelo extraído fue mezclado en el campo en bandejas plásticas al momento de su recolección para homogeneizar cada repetic n, y se dividió en dos bolsitas de 250 y 150 g de suelo, para los posteriores análisis de biomasa microbiana y materia orgánica soluble, y para el fraccionamiento de materia orgánica del suelo, extracciones de ADN y extracciones de ácidos grasos de membrana respectivamente. Las muestras fueron llevadas inmediatamente al laboratorio donde, previo a su almacenamiento, se corroboró que el peso de las bolsitas fuera suficiente para los análisis. Las muestras no fueron tamizadas.

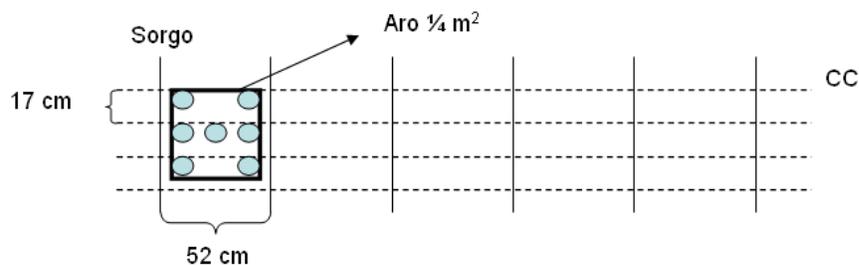


Figura 5: Diagrama del muestreo anual a campo

#### 4.6) *Materia orgánica del suelo a 0-6 y 6-12 cm*

##### 4.6.1) *Materia orgánica total y fraccionamiento físico*

(Noellemeyer et al., 2006 adaptado de Cambardella y Elliott (1994))

La separación de las fracciones de suelo se basó en la dispersión completa del suelo seguida de su tamizado en húmedo. Para ello, se colocaron 50 g de suelo secado al aire en botellas plásticas con 200 ml de agua destilada y 3 perlitas de vidrio para asegurar la disrupción total del suelo. Las mismas se colocaron en un agitador rotatorio durante 6 hs a 120 rev. min<sup>-1</sup>. La suspensión de suelo obtenida fue tamizada en húmedo a través de un tamiz de 53  m durante 3 minutos (Fritsch Analysette Vibratory 3 Spartan). Las fracciones de suelo recolectadas fueron colocadas en tarritos de metal en estufa a 60 C hasta su completa desecación. Se registró el peso seco de la fracción > 53  m (materia orgánica particulada), y por diferencia se

calculó el peso de la fracción < 53  $\mu\text{m}$  (materia orgánica asociada a la fracción mineral de suelo). Luego el suelo fue mortereado y guardado hasta su posterior análisis de C y N por LECO (TrueSpec® CN). La materia orgánica total se determinó mediante la suma de las fracciones.

#### 4.6.2) *Materia orgánica disuelta extractable en agua (water-extractable organic matter; DOM)* (Chantigny et al. (2006), adaptado de Kalbitz et al. (2003) y Zsolnay (1996)).

A partir de las bolsitas con 250 g de suelo recolectadas a campo y conservadas en heladera a 2°C, se obtuvieron los extractos de DOM utilizando 25 g de suelo a humedad de campo y 50 ml de  $\text{CaCl}_2$  Anhidro PA 5mM (1:2 P/V) con un rendimiento de 30 ml de extracto por muestra. Previo a la extracción se removieron las raíces visibles con una pinza metálica, tratando de disturbar las muestras lo menos posible. El filtrado se realizó con filtros de policarbonato de 0,4  $\mu\text{m}$  HTTP (ISOPORE *Membrane Filters*, Millipore) y jeringas plásticas de 50 ml (Foto 3). El tiempo máximo que las muestras permanecieron en la heladera hasta su análisis fue de 15 días y el tiempo registrado desde el agregado del extractante hasta completar el filtrado fue de 10 minutos en tandas de 8 muestras. Se determinó el contenido de humedad de cada muestra al momento del filtrado para corregir los resultados. Los extractos fueron almacenados a -20°C hasta su posterior análisis de C y N total.

Foto 3: Dispositivo para el filtrado de materia orgánica disuelta.



##### 4.6.2.1) *Carbono orgánico soluble (DOC, "dissolved organic carbon")*

El contenido de carbono de la materia orgánica soluble se determinó mediante el método de reducción con dicromato adaptado de (Vance et al., 1987). La mezcla de digestión constó de 4 ml de extracto con 1 ml de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  66,7 mM (0,4 N), 10 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) y 5 ml  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%). La digestión se realizó en un block a 120°C por 50 minutos. Los blancos se prepararon sustituyendo el extracto por 4 ml de  $\text{CaCl}_2$  anhidro (5 mM). La titulación se efectuó con Sal de

Mohr (sulfato ferroso amoniacal 33,3 mM + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4M) y una solución 25 mM 1,10-phenanthroline-ferrous sulfate complex (SIGMA) como indicador (2-3 gotas) hasta el viraje del verde al anaranjado con un volumen de agua destilada de 50 ml mediante bureta automática (precisión 0,01). Para determinar la normalidad exacta de la sal, la misma se estandarizó con un blanco con dicromato 0,01 N (10 ml K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> + 10 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 5 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>).

#### 4.6.2.2) Nitrógeno orgánico soluble (DON, "dissolved organic nitrogen")

(Kjeldahl -Normas IRAM 29572 adaptado de (Brookes y Joergensen, 2005; Brookes et al., 1985).

El contenido de nitrógeno soluble fue determinado por el método de digestión de Kjeldahl a partir de la mezcla de 20 ml de extracto de DOM, 1 g de mezcla catalítica (94 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 6 g CuSO<sub>4</sub>) y 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por tubo. La mezcla de digestión fue calentada a 380°C durante 1 hora. El amonio (NH<sub>3</sub>) reducido bajo estas condiciones fue cuantificado por destilación con 40 ml de NaOH 10M (40%) y absorbido en 5 ml H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 2% con indicador mixto (0,1 g verde de bromocresol + 0,07 g rojo de metilo en 100 ml de etanol). Se tituló la solución resultante con HCl 10 mM a pH 4,8. La estandarización del HCl se realizó con 10 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5mM utilizando como indicador 2 gotas de fenoltaleína.

#### 4.6.3) Biomasa microbiana del suelo

Los extractos se realizaron de acuerdo con el método de fumigación-extracción con cloroformo adaptado por (Voroney et al., 2007) de la versión original de (Jenkinson y Powlson, 1976). Para la obtención de los extractos de biomasa microbiana se utilizó el suelo conservado en heladera a 2°C por un período no mayor a 2 meses (Cernohlávková et al., 2009), donde cada submuestra por parcela constituyó una repetición del método de extracción. Previo a la extracción se retiraron las raíces visibles con una pinza metálica (Mueller et al., 1992). La relación suelo/extractante empleada para los tratamientos fumigados (F) con cloroformo libre de etanol (cloroformo grado HPLC) y sin fumigar (SF) fue de 30 g de suelo y 60 ml de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M obteniendo un rendimiento aproximado de 50 ml de extracto por muestra para ambos suelos. La suspensión de suelo obtenida luego de su agitado por 1 hora, se filtró con bomba de vacío a través de papel de filtro Whatman GF 934-AH (110 mm). Las fumigaciones se realizaron en desecadores de vidrio cuya capacidad permitió alojar 20 muestras más un frasco de 50 ml de cloroformo por desecador (Foto 4). De la misma muestra de suelo se pesaron 15 g para corregir los cálculos por humedad. Los extractos fueron almacenados a -20°C hasta su posterior análisis de C y N total.

Foto 4: Determinación de biomasa microbiana por fumigación con cloroformo.



#### 4.6.3.1) Carbono de biomasa microbiana del suelo

El contenido de carbono orgánico se determinó a partir de la mezcla de digestión de 8 ml de extracto con 2 ml de  $K_2Cr_2O_7$  66,7 mM (0,4 N), 10 ml  $H_2SO_4$  (98%) y 5 ml  $H_3PO_4$  (85%) (Vance et al., 1987). La misma se realizó en un block a 120°C por 50 minutos. Los blancos se prepararon sustituyendo el extracto por 8 ml de  $K_2SO_4$  anhidro (0,5 M). La titulación se efectuó con Sal de Mohr (sulfato ferroso amoniacal 33,3 mM +  $H_2SO_4$  0,4M) y una solución 25 mM 1,10-phenanthroline-ferrous sulfate complex (SIGMA) como indicador (2-3 gotas) hasta el viraje del verde al anaranjado con un volumen de agua destilada de 80 ml mediante bureta automática (precisión 0,01). Para determinar la normalidad exacta de la sal, la misma se estandarizó con un blanco con dicromato 0,01 N (10 ml  $K_2Cr_2O_7$  + 10 ml  $H_2SO_4$  + 5 ml  $H_3PO_4$ ).

Calculo de carbono de biomasa microbiana:

$$CBM (\mu g C g \text{ suelo}^{-1}) = (C_F - C_{SF})/k_{EC}$$

$$C_{F, SF} (\mu g g \text{ suelo}^{-1}) = [(T_b - T_m) * N_{sal} * 3 * V_s * 1000] / V_e * P_s$$

Donde:

$C_{F, SF}$ : C de los tratamientos fumigados y sin fumigar

$k_{EC}$  = 0,45 (Vance et al., 1987; Wu et al., 1990)

$T_b$ : ml titulados con el blanco

$T_m$ : ml titulados con las muestras fumigadas (F) y sin fumigar (SF) con cloroformo

$N_{sal}$  = (10 ml  $K_2Cr_2O_7$  \* N  $K_2Cr_2O_7$ )/ml titulados

$V_s$  = [(peso húmedo suelo (g) – peso seco suelo (g))/1g ml<sup>-1</sup>] + volumen total del extractante (ml)

Ve=volumen del extracto utilizado en la digestión (ml)

Ps= peso del suelo en base seca (g)

3 = masa atómica (12 mg/mmol)/ valencia (4)

Los valores obtenidos fueron transformados a masa para cada profundidad de suelo utilizando la densidad aparente (Dap) determinada para cada bloque del ensayo:

$$\text{CBM (g m}^{-2}\text{)} = \text{CBM } (\mu\text{g g}^{-1}) * 10.000 \text{ (m}^2 \text{ ha}^{-1}\text{)} * 0,06 \text{ (m)} * \text{Dap (Tn m}^{-3}\text{)} / 10000$$

#### 4.6.3.2) N total de la biomasa microbiana del suelo

(Kjeldahl - Normas IRAM 29572 adaptado de (Brookes y Joergensen, 2005; Brookes et al., 1985).

El contenido de nitrógeno total de la biomasa microbiana fue determinado por el método de digestión de Kjeldahl a partir de la mezcla de 20 ml de extracto de BM, 1 g de mezcla catalítica (94 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 6 g CuSO<sub>4</sub>) y 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por tubo. La mezcla de digestión fue calentada a 380°C durante 1 hora. El amonio (NH<sub>3</sub>) reducido bajo estas condiciones fue cuantificado por destilación con 40 ml de NaOH 10M (40%) y absorbido en 5 ml H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 2% con indicador mixto (0,1 g verde de bromocresol + 0,07 g rojo de metilo en 100 ml de etanol). Se tituló la solución resultante con HCl 10 mM a pH 4,8. La estandarización del HCl se realizó con 10 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5mM utilizando como indicador 2 gotas de fenolftaleína.

Calculo de nitrógeno de biomasa microbiana:

$$\text{NBM } (\mu\text{g N g suelo}^{-1}) = (\text{N}_F - \text{N}_{\text{SF}}) / \text{k}_{\text{EN}}$$

$$\text{N}_{F, \text{SF}} (\mu\text{g g suelo}^{-1}) = [(\text{Tm} - \text{Tb}) * \text{M}_{\text{HCl}} * 14 * \text{Vs}] / \text{Ve} * \text{Ps}$$

Donde:

N<sub>F, SF</sub>: N de los tratamientos fumigados y sin fumigar

k<sub>EN</sub>= 0.54 (Brookes et al., 1985)

Tm: ml titulados con las muestras fumigadas (F) y sin fumigar (SF) con cloroformo

Tb: ml titulados con el blanco

M<sub>HCl</sub>: molaridad de HCl (mM) = 10 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> \* 5mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / 2 \* vol. gastado de HCl (ml)

14 = peso en mg de 1 mmol de N

Vs= [(peso húmedo suelo (g) – peso seco suelo (g))/1g ml<sup>-1</sup>] + volumen total del extractante (ml)

Ve=volumen del extracto utilizado en la digestión (ml)

Ps= peso del suelo en base seca (g)

Los valores obtenidos fueron transformados a masa para cada profundidad de suelo utilizando la densidad aparente (Dap) determinada para cada bloque del ensayo:

$$\text{NBM (g m}^{-2}\text{)} = \text{NBM } (\mu\text{g g}^{-1}) * 10.000 \text{ (m}^2 \text{ ha}^{-1}\text{)} * 0,06 \text{ (m)} * \text{Dap (Tn m}^{-3}\text{)} / 10000$$

#### 4.7) Caracterización de la estructura de la comunidad microbiana del suelo

##### 4.7.1) Abundancia de hongos y bacterias mediante qPCR

A partir de las muestras del primer y tercer año de la experiencia (2010 y 2012) se realizaron las extracciones de ADN del suelo utilizando el kit Power Soil™ (MO BIO Laboratories Inc.) según las especificaciones del producto (Fotos 5 y 6). Debido al alto número de muestras solo se analizaron las correspondientes a 3 bloques del ensayo. Se cuantificó el ADN de las muestras mediante espectrofotómetro NanoDrop™ 1000 obteniendo un rendimiento de ~10 ng. Para la cuantificación de bacterias y hongos totales implementando qPCR (MJ Research Opticon 2 System) se utilizaron los primers universales *R534 5'-ATTACCGCG GCTGCTGG-3' and 338P 5'-C CTACGGGAGGCAGCAG-3'* para 16S (Muyzer et al., 1993) y *FU18S1 5'-GGAAACTCACCAGGTCCAGA-3' y SSU-1536 5'-ATTGCAATGCYCTATCCCCA-3'* para 18S (Borneman y Hartin, 2000; Plassart et al., 2008). Para 16S se pudo confeccionar adecuadamente el estándar (*ALF2L*) mientras que en el caso de 18S se utilizaron diluciones del fragmento purificado y cuantificado por gel. Las amplificaciones para ambos años fueron llevadas a cabo para un volumen total de reacción de 25 µl. La mezcla de reacción para qPCR constó de 10 ng de ADN del suelo, 0,5 µl de cada primer, 12,5 µl de mezcla real 2x para SYBR Green (Biodynamics) y 0,5 ul de BSA (10 µg ml<sup>-1</sup>). Las condiciones de amplificación consistieron en un primer paso inicial de desnaturalización y activación de la enzima por 5 min a 94°C seguida de 35 ciclos de 20 seg de desnaturalización a 94°C, 20 seg de annealing a 55°C para 16S y 56°C para 18S, 30 seg de extensión a 72°C y 3 seg de extensión a 82°C, con un paso de extensión final de 2 min a 72 °C. Solo en el caso particular de las muestras de ADN del suelo del tercer año fue necesario realizar diluciones 1/10. Luego de completar la reacción en cadena de la polimerasa, se efectuó el análisis de la curva de *melting* implementando el software Opticon Monitor (versión 2.02), para determinar la existencia de dímeros de primers u otra fuente de error a un nivel detectable para la medición de fluorescencia con SYBER Green (Figura 6). Se utilizaron los datos brutos de fluorescencias de cada muestra y sus Cts para calcular el número de copias por gramo de suelo de acuerdo con el método propuesto por Brankatschk et al. (2012). A partir de estos datos se determinó la relación 18S/16S (Fierer et al., 2005).

Foto 5: Kit de extracción de ADN



Foto 6: Pasos de la extracción de ADN del suelo

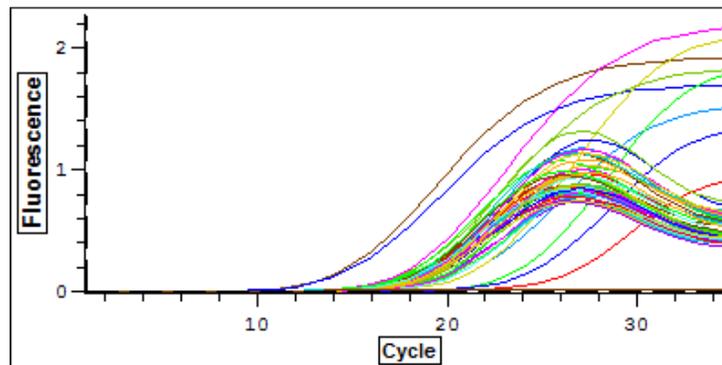


Figura 6: Curvas de *melting* para determinar la existencia de dímeros luego de la cuantificación de bacterias con PCR

Para obtener el ADN plasmídico utilizado como estándar (templado de concentración conocida) se llevaron a cabo los siguientes pasos:

#### I. Preparación de células electrocompetentes:

Se inocularon 3 ml de medio YT (agar extracto de levadura, peptona y tripteína) con una colonia de *Escherichia coli* DH10 $\beta$  y se incubó durante 16 hs a 37°C con agitación (180 rpm). Se inocularon 500 ml de medio SOB (*Super Optimal Broth*) con 0,5 ml del cultivo y se incubó en las mismas condiciones hasta obtener una densidad óptica a 600 nm de 0,6 a 0,8. Se enfrió en hielo 15 min y se centrifugó a 1250 g y 4°C durante

15 min. Se descartó el sobrenadante y se resuspendieron las células en 350 ml de glicerol 10% estéril frío. Se repitió el procedimiento de centrifugación y resuspensión en 250 ml, 125 ml y finalmente en 0,75 ml, obteniéndose una DO a 600 nm de entre 0,2 y 0,3. Las células se congelaron en nitrógeno líquido en alícuotas de 50  $\mu$ l y se conservaron a -70°C hasta su utilización.

## II. Clonado:

Amplificación, purificación y cuantificación del fragmento 18S. Se realizó una reacción en cadena de la polimerasa a partir del ADN genómico extraído del suelo utilizando los primers universales para 16 y 18S. El producto fue purificado por electroforesis en gel de agarosa 2%, las bandas fueron recortadas y extraídas del gel por medio del kit de extracción Axy Prep ADN (*Axygen Bioscience*). Se cuantificó en espectrofotómetro a 260 nm ( $58 \text{ ng } \lambda^{-1}$ ).

## III. Reacción de ligada en el vector de clonado:

El fragmento purificado fue ligado en el vector pGem T-easy (Promega) durante 16 horas a 4°C, utilizando una relación inserto-vector de 3:1 según las instrucciones del fabricante. Este vector contiene genes de resistencia a ampicilina para la selección de bacterias que incorporaron el plásmido, y los genes para la enzima  $\beta$ -galactosidasa conteniendo el sitio de clonado, para el screening de las bacterias transformadas: color blanco en placas conteniendo IPTG/X-Gal (*isopropyl thiogalactoside/5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-galactopyranoside*) indica presencia del inserto interrumpiendo el ORF de la  $\beta$ -galactosidasa.

## IV. Transformación de células *Escherichia coli* DH10 $\beta$ electrocompetentes:

Se transfirieron 50  $\mu$ l de células electrocompetentes a una celda de electroporación de 1mm de paso, se agregaron 2  $\mu$ l del producto de ligada y se sometieron a un pulso Ec1 en un electroporador Micropulser (Bio-Rad). Inmediatamente se agregaron 250  $\mu$ l de SOC (*Super Optimal Broth with Catabolite repression*) a temperatura ambiente, se transfirió a tubos de cultivo de 15 ml y se incubó a 37°C durante 1 hora con agitación. El cultivo se rastrilló en placas de LB-agar (*Lysogenic Broth*) conteniendo 100  $\mu$ g/ml de ampicilina, IPTG (26  $\mu$ l de un stock 0,1M por placa) y X-Gal (16  $\mu$ l de un stock 40  $\mu$ g/ $\mu$ l por placa). Las placas fueron incubadas por 16 horas en estufa a 37°C.

## V. Screening de las colonias transformadas por colony-PCR: las colonias que presentaron color blanco, indicativo de células que incorporaron el plásmido con inserto, fueron analizadas por PCR con los primers M13 para corroborar que el tamaño del fragmento fuera el esperado. De esta manera se seleccionaron los clones para su secuenciación. Se inocularon 3 ml de LB-ampicilina (100 $\mu$ g $\text{ml}^{-1}$ ) con cada clon. Se incubó por 16 horas a 37°C con agitación. Los cultivos se centrifugaron 15 min a 7000 g. Se descartó

el sobrenadante y se conservaron los clones en freezer  $-20^{\circ}\text{C}$  para la futura obtención del ADN plasmídico.

#### 4.7.2) Abundancia de ácidos grasos de membrana (*Phospholipid Acids Methyl Ester - FAME*)

Para la extracción de ácidos grasos metilados las muestras fueron procesadas en tres etapas:

- I. Extracción: la extracción de lípidos del suelo se realizó a partir de 8 gr de muestra con una mezcla de 20 ml MeOH/ $\text{CHCl}_3$ /Bufér (2/1/0.8) en dos fases. El solvente de extracción se dejó decantar todo una noche y se separó la fase orgánica inferior. Se llevó a sequedad con corriente de  $\text{N}_2$ .
- II. Purificación: el extracto orgánico obtenido se resuspendió en  $\text{CHCl}_3$  (3x1 ml) y se lo purificó por cromatografía en columna (0.5 g de sílica). Como fase móvil se emplearon 5 ml de  $\text{CHCl}_3$ , 10ml de acetona y 5 ml de MeOH. El solvente de interés (MeOH) se recuperó en forma separada y se llevó a sequedad con corriente de  $\text{N}_2$ .
- III. Metilación: a la fase orgánica metanólica residual se le agregó 1ml de MeOH/Tol (1/1), 1ml de KOH 0.2 M (MeOH), 2 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 0.3 ml de AcOH 1.0 M. Este tubo se colocó por 15 min en un baño termostatzado a  $37^{\circ}\text{C}$ . Terminado el proceso de metilación, se agregaron 50 ml de estándar interno 10% P/V (Nonadecanoato de Metilo, C19:0, Sigma). Se dejó la solución en reposo por 30 min. y luego se realizó la extracción de la fase orgánica superior a otro tubo de Kahn, donde fue guardada en el freezer hasta su análisis cromatográfico. La muestra fue llevada a volumen final de 30 ml justo antes del análisis cromatográfico, con corriente de  $\text{N}_2$ .

Análisis cromatográfico (Figura 7):

- Equipo: GC-MS Clarus 600, Perkin Elmer (N° serie 664N9100105). Columna: DB5 (60 m, 0.25 mm ID, 0.25 mm de partícula), marca Perkin Elmer. Carrier: Helio (49.6 psi). Inyector:  $250^{\circ}\text{C}$ , transfer line:  $250^{\circ}\text{C}$ . Los datos fueron adquiridos empleando el programa TurboMass 5.4.2.
- Programa:  $180^{\circ}\text{C}$  (5 min), rampa:  $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta  $240^{\circ}\text{C}$  (10 min), rampa  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta  $260^{\circ}\text{C}$  (15min). Volumen de inyección 2ml en modo de inyección Splitless.
- GC-MS: el cromatograma fue obtenido en modo "scan", desde  $m/z=50$  a  $m/z=400$  (scan time: 0.2 s, inter-scan time: 0.1s), solvent delay: 5 min.

La identificación de los picos se realizó por comparación con los espectros de las Bibliotecas del programa NIST MS Search 2.0 y por comparación de los espectros y tiempos de retención con una mezcla de fosfolípidos bacterianos estándares metilados (BAME, Sigma).

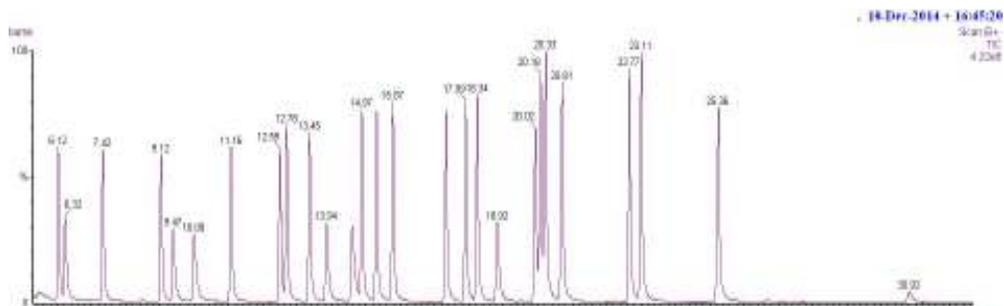


Figura 7: Perfil cromatográfico de los fosfolípidos bacterianos metilados estándares.

Los ácidos grasos fueron designados utilizando la nomenclatura estándar A:B $\omega$ C, donde A es el número total de átomos de carbono, B es el número de dobles enlaces (grado de insaturación) y  $\omega$ C indica el número de átomos de carbono desde el extremo alifático de la molécula y el primer enlace insaturado. Los isómeros se indicaron con los sufijos c (cis) o t (trans) y el grupo ciclopropilo con cy. Los grupos metilo ramificados se describieron con los prefijos i (iso) y a (anteiso) respectivamente. 10Me indica la presencia de un grupo metilo en el décimo átomo de carbono a partir del grupo carboxilo al final de la molécula (Arao, 1999; Bååth y Anderson, 2003; Steenwerth et al., 2003) (Tabla 6).

Tabla 6: Descripción de los ácidos grasos metilados utilizados como estándares, su tiempo de retención (TR), y la nomenclatura estándar indentificatoria.

Descripción	TR (min)	Nomenclatura
Methyl undecanoate	6,12	11:0
Methyl ( $\pm$ )-2-hydroxydecanoate	6,32	$\alpha$ 10:0
Methyl dodecanoate	7,42	12:0
Methyl tridecanoate	9,12	13:0
Methyl 2-hydroxydodecanoate	9,47	$\alpha$ 12:0
Methyl ( $\pm$ )-3-hydroxydodecanoate	10,08	$\beta$ 12:0
Methyl myristate	11,16	14:0
Methyl 13-methyltetradecanoate	12,59	i15:0
Methyl 12-methyltetradecanoate	12,78	a15:0
Methyl pentadecanoate	13,42	15:0
Methyl 2-hydroxytetradecanoate	13,94	$\alpha$ 14:0
Methyl 3-hydroxytetradecanoate	14,69	$\beta$ 14:0
Methyl 14-methylpentadecanoate	14,97	i16:0
Methyl cis-9-hexadecenoate	15,4	16:1 $\omega$ 7c
Methyl palmitate	15,87	16:0
Methyl 15-methylhexadecanoate	18,33	i17:0
Methyl heptadecanoate	17,42	17:0
Methyl cis-9,10-methylenehexadecanoate	17,99	cy17:0
Methyl 2-hydroxyhexadecanoate	18,92	$\alpha$ 16:0
Methyl linoleate	20,02	18:2 $\omega$ 6c
Methyl oleate	20,18	C18:1 $\omega$ 9c
Methyl trans-9-octadecenoate	20,33	18:1 $\omega$ 9t
Methyl stearate	20,81	18:0
Methyl nonadecanoate	23,11	19:0
Methyl eicosenoate	25,36	20:0

#### 4.7.2.1) Marcadores utilizados para la caracterización de la estructura de la comunidad

Los ácidos grasos individuales fueron utilizados como marcadores para varios grupos funcionales de microorganismos:

- I. Ácidos grasos de cadena ramificada *iso/anteiso* fueron indicadores de bacterias Gram positivas: i15:0, a15:0, i16:0 y i17:0 (Lechevalier y Lechevalier, 1988; O'leary y Wilkinson, 1988; Haack et al., 1994; Zelles, 1999);
- II. Ácidos grasos monoinsaturados (16:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 9c and 18:1 $\omega$ 9t (Ratlidge y Wilkinson, 1988)), con un grupo hidroxilo en el segundo o tercer carbono ( $\alpha$ 14:0,  $\beta$ 14:0 y  $\alpha$ 16:0 (Galbraith y Wilkinson, 1991)), y con un anillo ciclopropilo (cy17:0 (Zelles, 1999)) fueron indicadores de bacterias Gram negativas.
- III. Las bacterias totales se identificaron incluyendo los ácidos grasos identificadores de bacterias Gram y también los ácidos grasos saturados 15:0 y 17:0 identificadores de bacterias en general (Kaur et al., 2005).
- IV. El ácido poliinsaturado 18:2 $\omega$ 6c fue indicador de la biomasa de hongos (Bååth y Anderson, 2003; Federle, 1986).

#### 4.7.2.2) Relación hongos/bacterias por FAME

Se determinó el cociente entre la biomasa de hongos y de bacterias totales obtenido mediante el uso de marcadores de fosfolípidos de membrana para cada grupo microbiano (Frostegård y Bååth, 1996).

#### 4.7.2.3) Índice de diversidad de Shannon-Weaver

Se calculó el  $(\sum p_i \ln p_i)$  donde  $p_i$  = área debajo de cada pico (i) identificado por cromatografía dividido el área de todos los picos cuantificados (Shannon y Weaver, 1949).

#### 4.8) Residuos en la superficie del suelo

Se recolectaron 3 muestras por parcela utilizando un aro de 0.25 m<sup>2</sup>. El material recogido fue previamente tamizado (<2 mm) para eliminar el suelo remanente y se colocó en estufa a 60°C por 72 hs o hasta lograr su peso constante y se registró su peso seco. Posteriormente, las muestras fueron mezcladas y molidas y se determinó el contenido de C y N de cuatro muestras compuestas de cada ensayo.

4.8.1) Existen varios métodos indirectos para determinar la descomposición de los residuos a campo que han sido muy bien detallados por Singh y Grupta (1977). En general, el más

utilizado es el modelo de Olson (1963) que expresa la descomposición como una función exponencial negativa ( $x/x_0 = e^{-k \cdot t}$ ) teniendo en cuenta la cantidad de residuos acumulados en un momento inicial ( $x_0$ ) y un momento final ( $x$ ). Este modelo ha sido utilizado con éxito cuando se implementa la técnica de las bolsitas ("*litterbags*") para recolectar los residuos, ya que el denominador del modelo ( $x_0$ ) es siempre el mismo. Sin embargo, cuando el aporte de residuos es variable y continuo como ocurre en rotaciones que incluyen CC, el valor inicial de los residuos varía para cada periodo de estudio y las proporciones de peso remanente superan el 100%. En ese sentido, Singh y Yadava (1974) proponen determinar la descomposición de los residuos a través de un balance entre el residuo inicial, el residuo final y el residuo remanente en pie. Esta forma de cálculo parecería ser más apropiada permitiendo obtener proporciones de MS, C y N remanente que variaron entre 0 y 1.

4.8.1.1) Se calculó la pérdida de materia seca, C y N de los residuos de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida (g m}^{-2}\text{)} = \text{Residuo inicial} + \text{producción de residuos} - \text{Residuo final}$$

4.8.1.2) Se determinó la proporción de peso remanente en términos de C y N de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Proporción peso remanente} = \text{Residuos finales} / (\text{Residuos iniciales} + \text{producción de residuos})$$

#### 4.9) Mineralización aparente de N:

La mineralización bruta de N se determinó a partir de la ecuación de balance para un sistema suelo-planta determinado propuesta por (Powelson y Barraclough, 1993):

$$\text{Min bruta} = \text{N planta} + \text{N-nitratos}_f - \text{N-nitratos}_i - \text{N fertilización} - \text{N descomposición}$$

Donde:

Min bruta: mineralización bruta aparente de N ( $\text{g m}^{-2}$ )

N planta: N absorbido en planta y en raíces (0-12 cm) ( $\text{g m}^{-2}$ ).

N-nitratos<sub>i</sub>: N-nitratos (0-20 cm) inicio de cada periodo estudiado ( $\text{g m}^{-2}$ ).

N-nitratos<sub>f</sub>: N-nitratos (0-20 cm) al final de cada periodo estudiado ( $\text{g m}^{-2}$ ).

N fertilización: fertilización con urea en Ce+N ( $\text{g m}^{-2}$ ).

N descomposición ( $\text{g m}^{-2}$ ) = residuo<sub>inicial</sub> + residuo aportado (aéreo + raíces + remanente sorgo) - residuo<sub>final</sub>

Para el cálculo de este balance no se incluyeron valores de pérdidas gaseosas de N ni de aportes por rizodeposición.

Los periodos evaluados, identificados con los años 2010, 2011 y 2012, corresponden al balance entre las siguientes fechas:

- 2010: Abril a diciembre de 2010 (240 días).
- 2011: Diciembre de 2010 a diciembre de 2011 (365 días).
- 2012: Diciembre de 2011 a diciembre de 2012 (365 días).

4.9.1) La mineralización neta aparente de N se determinó a partir de la siguiente ecuación (Binkley y Vitousek, 1989):

$$\text{Min neta} = \text{Min bruta} - \text{NBM}$$

Donde

Min neta: Mineralización neta aparente de N ( $\text{g m}^{-2}$ )

Min bruta: Mineralización bruta aparente de N ( $\text{g m}^{-2}$ )

NBM: Contenidos de nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo a 0-12 cm de profundidad ( $\text{g m}^{-2}$ )

4.9.2) A partir de los datos anteriores se determinaron las tasas diarias de mineralización bruta y neta de N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ).

## 5) Análisis estadísticos

El análisis de la varianza se llevó a cabo utilizando el procedimiento de los modelos lineales mixtos para mediciones repetidas en el tiempo de datos longitudinales, utilizando los tratamientos y el año como factores de clasificación. La heterocedasticidad de las varianzas se modelizó utilizando el tiempo como factor de agrupación. Se utilizaron diferentes combinaciones de matrices de correlación y modelizaciones de la heterocedasticidad de los datos, probando su verosimilitud según el criterio de AIC-BIC para cada una de las variables de estudio y para cada profundidad de estudio. Los modelos incluyeron las siguientes combinaciones:

- a. Errores independientes y homoscedásticos.
- b. Errores independientes y heteroscedásticos.
- c. Correlación constante entre errores de la misma parcela y varianza residual constante en el tiempo.

- d. Correlación constante entre errores de la misma parcela y varianza residual diferente en los distintos tiempos.
- e. Estructura autorregresiva de orden 1 entre los errores de la misma parcela y varianza residual constante en el tiempo.
- f. Estructura autorregresiva de orden 1 entre los errores de la misma parcela y varianza residual diferente en los distintos tiempos.
- g. Estructura autorregresiva de orden 1 entre los errores de la misma parcela, varianza residual constante en el tiempo y efecto aleatorio de parcela.
- h. Estructura autorregresiva de orden 1 entre los errores de la misma parcela, varianza residual diferente en los distintos tiempos y efecto aleatorio de parcela.
- i. Sin estructura para las correlaciones entre errores provenientes de la misma parcela y varianzas residuales diferentes en el tiempo.

La comparación de medias se realizó mediante una prueba protegida de Fisher con un nivel de significancia de 0,05 ( $\alpha$ ).

Se realizaron regresiones lineales simples y múltiples con el método Stepwise ( $p < 0,1$ ) para la selección de los modelos que incluyeron más de dos variables. Se implementó el modelo tramo-plateau para ajustar la relación entre los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo y de la biomasa de raíces de los CC (modelo 1). Se corroboró la significancia de cada tramo del modelo por regresión lineal obteniendo un valor de corte para cada profundidad de suelo. Se efectuó la comparación de rectas de los primeros tramos para verificar diferencias en las pendientes correspondientes a cada profundidad de suelo.

$$\text{Modelo 1: } BM = \alpha + (\beta * BRT) * (BRT < \gamma) + (\beta * \gamma) * (BRT \geq \gamma)$$

Para estudiar las relaciones entre el C y N liberado de los residuos se realizaron regresiones lineales utilizando variables *dummy*. A partir de la tabla de coeficientes de regresión se construyeron las ecuaciones de ajuste de cada tratamiento y se realizaron pruebas de igualdad de efectos promedio entre tratamientos y de homogeneidad de pendiente utilizando pruebas de contraste. Similar análisis se efectuó para las fracciones de materia orgánica del suelo.

Las variables de abundancia relativa de hongos y bacterias se transformaron al  $\log_{10}$  (nro. copias g suelo<sup>-1</sup>) para el estudio de las relaciones respecto de los sustratos y el ambiente. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con matriz de correlación para comprobar cambios en la abundancia de fosfolípidos de membrana, utilizando la variable expresada en porcentaje mol y transformada al  $\log_{10}$  de cada ácido graso individual

(Frostegård et al., 1993). Los resultados del ACP para cada profundidad de suelo se representaron gráficamente (Biplot) indicando la abundancia de ácidos grasos como vectores y los tratamientos como puntos. Las componentes se interpretaron en función de las correlaciones más altas con las variables originales.

Los grupos microbianos determinados por la agrupación de ácidos grasos identificadores de los mismos y la relación hongos/ bacterias se analizaron mediante ANOVA para determinar el efecto de los tratamientos. Las medias de los índices de diversidad de Shannon-Weber se compararon mediante una prueba T a dos colas y se calculó el intervalo de confianza al 95% ( $\alpha=0,05$ ) para cada tratamiento. Por último, se realizó un análisis de componentes principales para vincular los cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo y la dinámica de C y N.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat/P (Di Rienzo et al., 2009).

## 6) Resultados

### 6.1) Variables ambientales medidas a lo largo de los 3 años

#### 6.1.1) Precipitaciones acumuladas

El primer año de la experiencia la precipitación anual alcanzó valores máximos de 1049 mm, superiores al régimen pluviométrico registrado en la EEA Anguil para la serie 1973-2011 de 759 mm (Casagrande et al., 2012). En cambio, el segundo y el tercer año, las precipitaciones fueron inferiores pero acordes para la serie con valores de 782 y 816 mm (Figura 8). Las precipitaciones acumuladas durante el ciclo de los CC fueron de 195, 268 y 162 mm para el 2010, 2011 y 2012 respectivamente. Por otra parte, los CC fueron secados a principios del mes de octubre para permitir la recarga del perfil previo a la siembra del cultivo de verano en noviembre, registrándose magnitudes de 85, 117 y 36 mm para cada año de la experiencia respectivamente. Durante el ciclo del cultivo de verano, las precipitaciones fueron de 357, 368 y 264 mm para cada campaña.

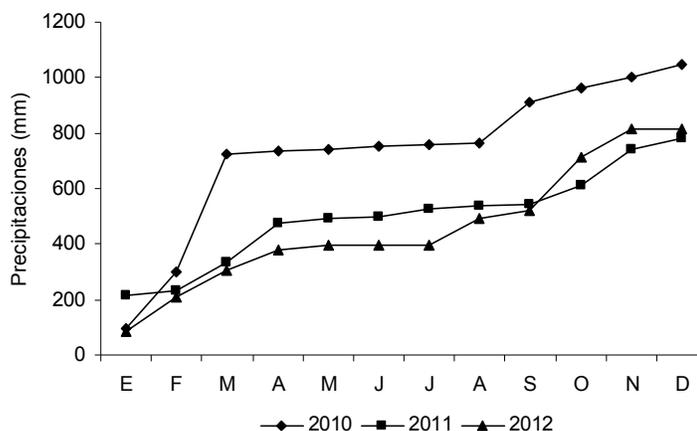


Figura 8: Precipitaciones mensuales acumuladas (mm) para cada año de la experiencia.

#### 6.1.2) Humedad edáfica

El seguimiento de la humedad del suelo fue mensual durante la primera campaña de los CC a modo de explorar en mayor detalle la dinámica del agua en la rotación. Si bien se partió de contenidos hídricos a la siembra similares (187-201 mm), se registraron diferencias entre el testigo (barbecho) y los tratamientos con CC a partir del tercer mes de su implantación (21-jun) con valores inferiores asociados al consumo por parte del cultivo (Figura 9). Las parcelas consociadas presentaron los menores contenidos de agua en el perfil al finalizar el ciclo de los CC (161 mm) en contraposición a las parcelas con barbecho (T) con una diferencia promedio de 70 mm. Estas diferencias entre tratamientos subsistieron durante el período de recarga (oct-nov '10), en cambio, los contenidos de agua del perfil fueron similares entre

tratamientos luego de transcurrido el primer mes de implantación del cultivo de verano (21-dic-10). A partir del segundo año, las mediciones de humedad se realizaron en forma trimestral. Nuevamente al finalizar el ciclo de los CC, el testigo presentó mayores contenidos de agua que los CC con una diferencia promedio de 60 mm en los primeros 100 cm del perfil. Luego de tres años de efectos acumulados los tratamientos Ce, Ce+N y T presentaron mayores contenidos hídricos al finalizar el ciclo de los CC (5-nov-12). Los altos contenidos de agua almacenada en el perfil durante los meses de noviembre y diciembre del último año de la experiencia estuvieron asociados a las precipitaciones registradas en dichos meses (193 y 101 mm).

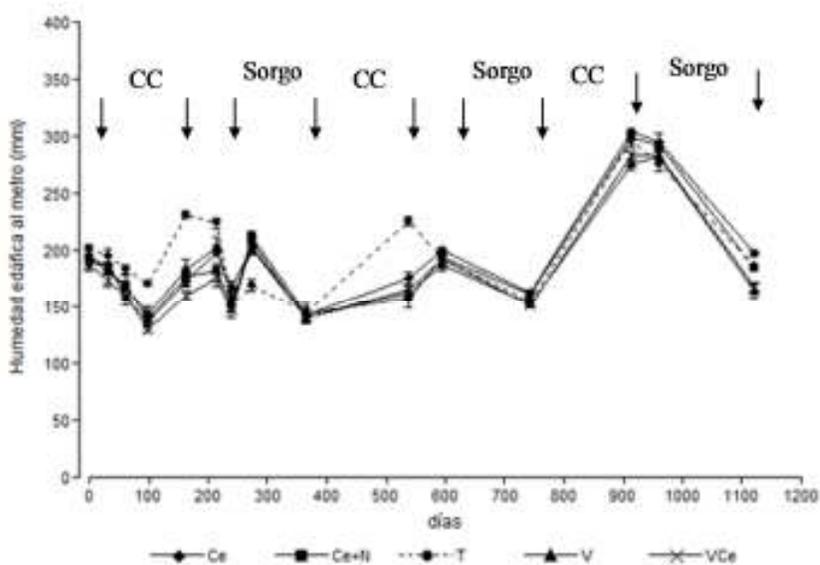


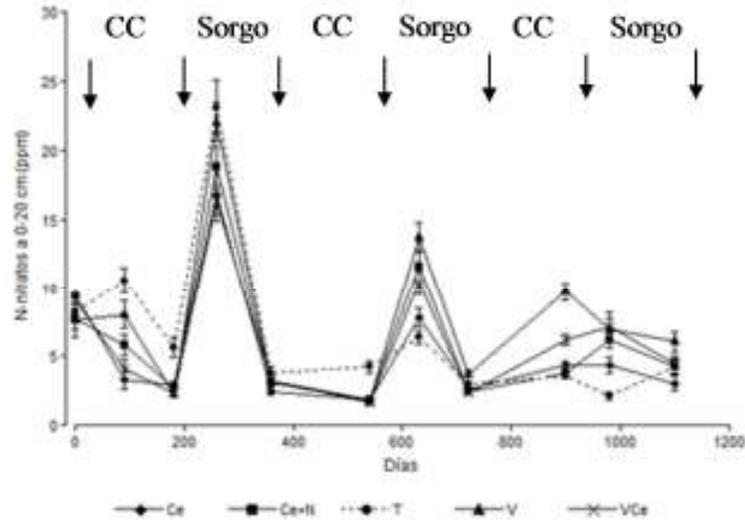
Figura 9: Humedad del perfil de suelo al metro de profundidad (mm) a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las flechas indican inicio y finalización del ciclo de los cultivos.

### 6.1.3) N-Nitratos a 0-20 y 20-60 cm de profundidad

Se encontró una fuerte interacción entre tratamiento y fechas de muestreo en ambas profundidades de suelo ( $p < 0.0001$ ;  $N = 615$ ). Las magnitudes máximas de esta variable se registraron al inicio del cultivo de verano (diciembre) en ambas profundidades de estudio. En cambio, los valores más bajos coincidieron con la finalización de los CC y del cultivo de verano (Figuras 10a y b). Además, todos los tratamientos evidenciaron una disminución progresiva en el tiempo que fue más evidente en el testigo en ambas profundidades de suelo. Durante el ciclo de CC y al finalizar el mismo, las parcelas testigo presentaron mayores contenidos de N-nitratos en los primeros dos años de la experiencia tanto en las profundidades de 0-20 como de 20-60 cm. En cambio, el último año, V y VCe presentaron contenidos superiores al resto de los tratamientos en ambas profundidades de suelo durante su ciclo de cultivo. Por otra

parte, al inicio del cultivo de verano (V4-6, diciembre), los tratamientos con altos contenidos de N-nitratos en la profundidad de 0-20 cm fueron T, V y Ce+N el primer año, V y Ce+N el segundo año, y V, VCe y Ce+N el tercer año del ensayo con diferencias significativas respecto del resto. En cambio, en la profundidad de 20-60 cm, las parcelas con V registraron los valores más altos principalmente los últimos dos años del estudio.

a)



b)

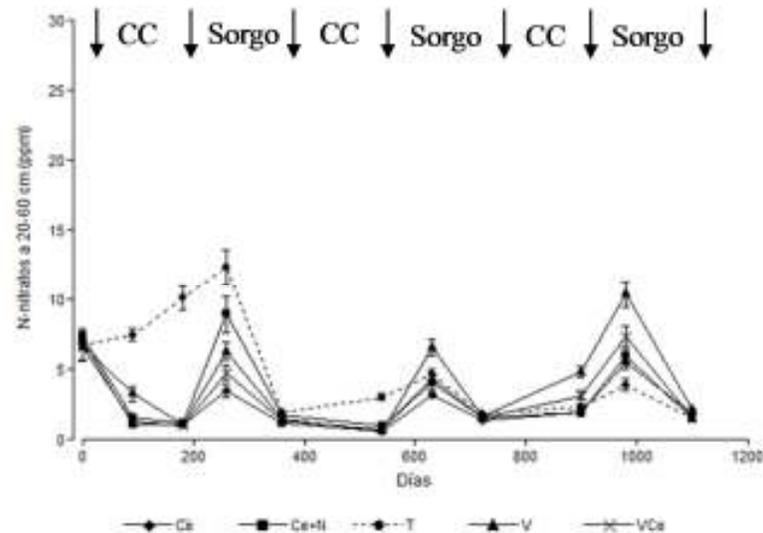
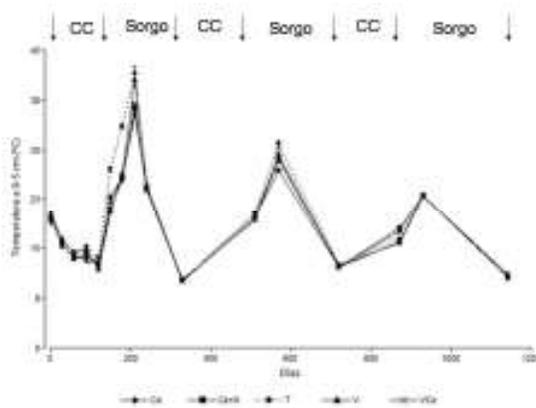


Figura 10: Contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ppm) en los primeros 0-20 (a) y 20-60 cm (b) de suelo a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

#### 6.1.4) Temperatura del suelo

Los resultados demuestran una interacción tratamiento x fecha ( $p < 0.0001$ ;  $n = 1280$ ) en ambas profundidades de estudio. Al inicio de la experiencia, se observaron diferencias de temperatura en los primeros 5 cm de suelo a partir del mes de junio que estuvieron asociados con el efecto cobertura del cultivo en pie principalmente en los tratamientos con centeno que cubren el entresurco antes que la leguminosa debido a su crecimiento inicial más precoz (Figura 11a). Este efecto también se evidenció en la temperatura del suelo a 5-10 cm de profundidad pero en el mes de julio, con valores superiores en T y V respecto de los tratamientos con la gramínea (Figura 11b). Por otro lado, el tratamiento con vicia comenzó a diferenciarse del testigo a partir del mes de septiembre en ambas profundidades de suelo como consecuencia de la alta tasa de crecimiento de la leguminosa asociada a mayores temperaturas durante ese periodo. Además, V presentó temperaturas inferiores no solo respecto del testigo sino también de los tratamientos con centeno en ambas profundidades tanto en el mes de septiembre como en octubre. Sin embargo, en el mes de enero nuevamente las temperaturas del suelo en T y V fueron similares entre sí y superiores al resto de los tratamientos, tanto en la capa de 0-5 como de 5-10 cm. El segundo año de la experiencia, la temperatura del suelo evidencio variaciones significativas entre tratamientos al finalizar los CC (octubre) y en el mes de diciembre. Aun luego de tres rotaciones sucesivas con CC estos tratamientos se diferenciaron del testigo hacia el final de su ciclo (oct-12) en ambas profundidades de suelo, mientras que en el mes de mayores temperaturas las diferencias resultaron no significativas.

a)



b)

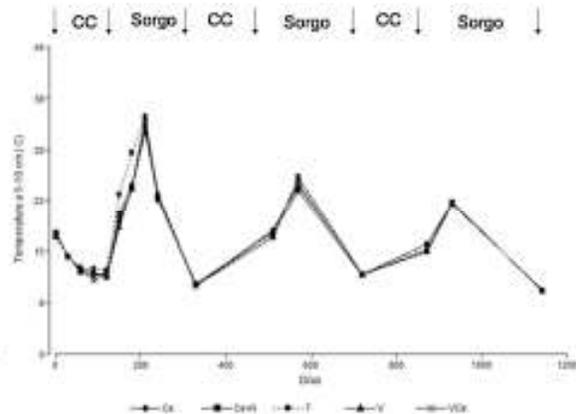


Figura 11: Temperatura del suelo ( $^{\circ}\text{C}$ ) a 0-5 cm (a) y 5-10 cm (b) a lo largo de toda la experiencia (21 de abril de 2010 hasta el 13 julio de 2013) para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados.

## 6.2) Productividad de los cultivos de cobertura y sorgo

### 6.2.1) Productividad aérea de los CC

Los CC son una importante entrada de materia seca, y por ende, de C y N al sistema ya que toda su producción aérea queda como remanente sobre la superficie del suelo. Los resultados muestran que los CC con centeno registraron los mayores volúmenes de materia seca producidos durante el período de crecimiento de abril a octubre a lo largo de toda la experiencia, con excepción del último año, que el tratamiento Ce fue inferior a V (Figura 12). Además, se observó respuesta a la aplicación de urea tanto en el 2011 como en el 2012, con valores de 333 y 135 g MS m<sup>-2</sup> en cada año respectivamente. También se evidenció respuesta al aporte de N biológico producto de la consociación con vicia los últimos dos años, con magnitudes de 154 y 193 g MS m<sup>-2</sup> en el 2011 y 2012 respectivamente. La contribución de la vicia en la consociación fue de 191, 129 y 200 g MS m<sup>-2</sup> para el 2010, 2011 y 2012 respectivamente, representando el 30% de la biomasa aérea de la consociación en los primeros dos años y el 50% al finalizar la experiencia (Figura 13).

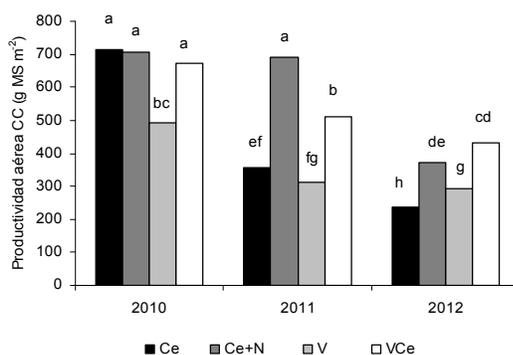


Figura 12: Productividad aérea (g MS m<sup>-2</sup>) de los CC centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años (p<0,0001).

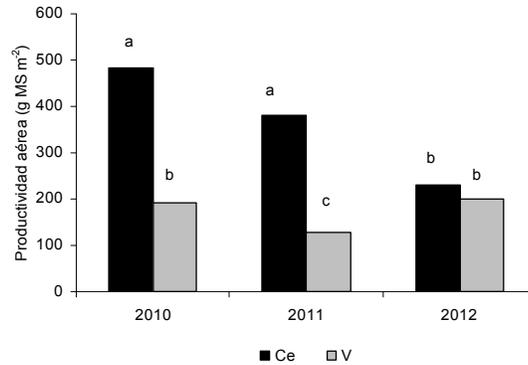


Figura 13: Contribución de la vicia (V) y del centeno (Ce) (g MS m<sup>-2</sup>) en la productividad aérea de la consociación. *Las letras indican diferencias entre especies y entre años ( $p < 0,0001$ ).*

La concentración de carbono en la biomasa aérea de los tratamientos con centeno varió entre 42-46% y en la vicia entre 40-45% (Tabla anexo A6). Además, las variaciones en la producción de materia seca de la gramínea versus la leguminosa se correspondieron con las diferencias registradas en los aportes de carbono de cada especie (Figura 14). En ese sentido, la gramínea fue la especie que aportó más carbono al sistema por lo menos los primeros dos años de la experiencia. En cambio, en el tercer año esto solo ocurrió en los tratamientos con centeno y con N (inorgánico o biológico). La respuesta a la aplicación de N inorgánico observada en el segundo año representó una magnitud de 146 g C m<sup>-2</sup>, valor que disminuyó drásticamente a 63 g C m<sup>-2</sup> el tercer año. En el caso del tratamiento consociado, se cuantificaron respuestas de 66 y 87 g C m<sup>-2</sup> para el 2011 y 2012 respecto de Ce (151 y 107 g C m<sup>-2</sup>). Al finalizar la experiencia, las variaciones observadas en C fueron de tal magnitud que su aporte en carbono resultó ser estadísticamente menor al cuantificado en V con magnitudes de 107 y 131 g C m<sup>-2</sup> respectivamente.

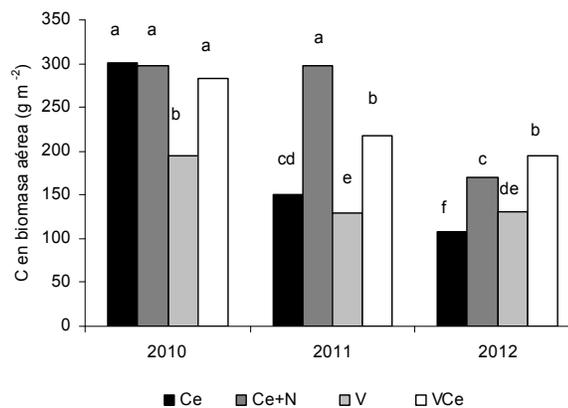


Figura 14: Carbono en biomasa aérea de los CC (g m<sup>-2</sup>) de los tratamientos centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. *Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).*

Los contenidos de N de la biomasa aérea de los CC con vicia (V y VCe) fueron superiores al resto de los tratamientos durante toda la experiencia con valores que variaron entre 11 y 14 g N m<sup>-2</sup> (Figura 15). Estos tratamientos presentaron altas concentraciones de N en sus tejidos con valores entre 2 y 4% en V y entre 2 y 3% en VCe (Tabla anexo A6). Por el contrario, estas magnitudes fueron inferiores en los tratamientos Ce y Ce+N (1-1,6%) y los contenidos de N en su biomasa aérea resultaron inferiores al resto y variaron entre 4 y 11 g N m<sup>-2</sup>. Sin embargo, los últimos dos años del ensayo, el tratamiento Ce+N evidenció una respuesta positiva a la fertilización con contenidos de nitrógeno un 40 y un 30% superiores a Ce ( $p < 0,0001$ ).

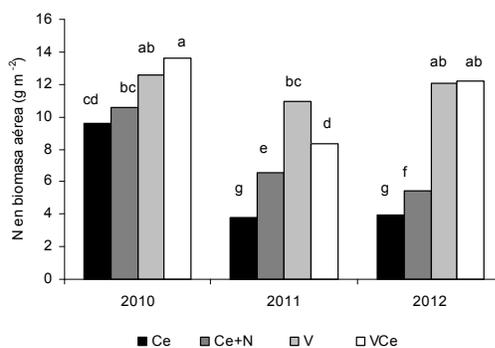


Figura 15: Nitrógeno en biomasa aérea de los CC (g m<sup>-2</sup>) de los tratamientos centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. *Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).*

### 6.2.2) Variaciones anuales de la productividad aérea de los CC

La productividad aérea de los CC varió entre años y tratamientos ( $p < 0,0001$ ) mostrando una tendencia en caída de los rendimientos con las sucesivas campañas principalmente en los tratamientos con la gramínea. Durante la primera campaña, los CC con centeno contribuyeron con aportes entre 671 y 712 g MS m<sup>-2</sup> mientras que la vicia lo hizo con 493 g MS m<sup>-2</sup>. Sin embargo, la productividad aérea de los CC fue mermando con las sucesivas rotaciones hasta alcanzar valores mínimos entre 237 y 430 g MS m<sup>-2</sup> en los tratamientos con centeno. La humedad del perfil al metro de profundidad de suelo y la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a 0-20 y 20-60 cm explicaron en parte esta disminución de los rendimientos del centeno en el tiempo ( $R^2 = 0,25$ ;  $p < 0,0001$  y  $R^2 = 0,35$ ;  $p < 0,0001$ ). En cambio, el rendimiento de la leguminosa fue más estable los últimos dos años del ensayo (entre 313 y 291 g MS m<sup>-2</sup>), período en el cual se registraron las menores precipitaciones anuales.

Las diferencias en producción de materia seca en el tiempo se tradujeron en menores contenidos de C y N por unidad de área en los tratamientos con centeno respecto de los que participó la leguminosa con una fuerte interacción entre tratamientos y años para ambas variables ( $p < 0,0001$ ). En ese sentido, después de tres rotaciones sucesivas, se registraron disminuciones en la producción de biomasa aérea en términos de carbono y de nitrógeno en

Ce y Ce+N del 60 y 40% respecto de la primera campaña. También se registró una disminución significativa en la productividad aérea en términos de carbono en V y VCe del 30% en el período 2010-2011. Sin embargo, los contenidos de N por unidad de área en V fueron similares entre años ( $12 \text{ g N m}^{-2}$ ) registrándose valores en alza de concentración de N en sus tejidos de 2,5, 3,5 y 4,2% para los años 2010, 2011 y 2012 respectivamente (Tabla anexo A6). Esta falta de diferencias también se evidencio en VCe entre los años 2010 y 2012 ( $13 \text{ g N m}^{-2}$ ) con valores de concentración de N de 2 y 2,9% para cada año. En cambio, en el 2011 estas magnitudes fueron inferiores (1,6% y  $8,3 \text{ g N m}^{-2}$ ).

### 6.2.3) Calidad de la biomasa aérea de los CC

Para el promedio de los 3 años, Ce y Ce+N presentaron las relaciones C/N más altas con magnitudes de 38 y 41 respectivamente. En cambio, la relación C/N de los tratamientos con vicia fue la menor (13) y la combinación vicia-centeno fue efectiva para lograr relaciones C/N intermedias (21) (Figura 16). Por otra parte, se registraron magnitudes máximas de esta relación en los tratamientos con centeno (Ce, Ce+N y VCe) el segundo año de la experiencia con valores de 41, 47 y 27 respectivamente. En el caso de Ce y Ce+N estos valores fueron similares el tercer año, en cambio VCe, presentó magnitudes inferiores y similares a los valores registrados el primer año en V (16). En relación a ello, la vicia contribuyo con el 50% del nitrógeno acumulado en la biomasa aérea de la consociación el último año (Tabla anexo A6). Por otra parte, la relación C/N en V fue inferior en 2011 y 2012 respecto del 2010 (12 vs 16).

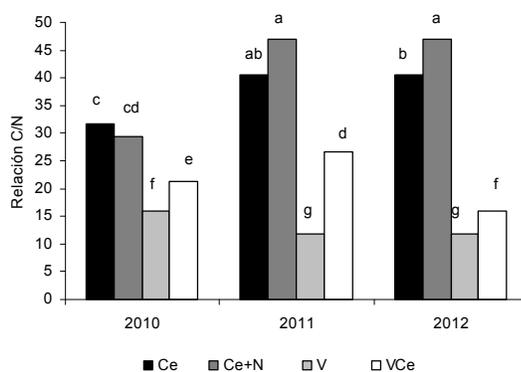


Figura 16: Relación C/N de la biomasa aérea producida por los CC a lo largo de los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

### 6.2.4) Usos consuntivos y eficiencias de uso del agua de los CC

El uso consuntivo de los CC alcanzó valores promedio de los tratamientos de 252 y 245 mm en 2010 y 2011 respectivamente, disminuyendo a 149 mm el último año ( $p < 0,0001$ ). No se

encontraron diferencias significativas entre tratamientos con centeno a lo largo de la experiencia, excepto el segundo año que Ce+N fue superior a Ce. Además, los usos consuntivos de los monocultivos de la gramínea respecto de la leguminosa fueron similares dentro de cada año (Figura 17).

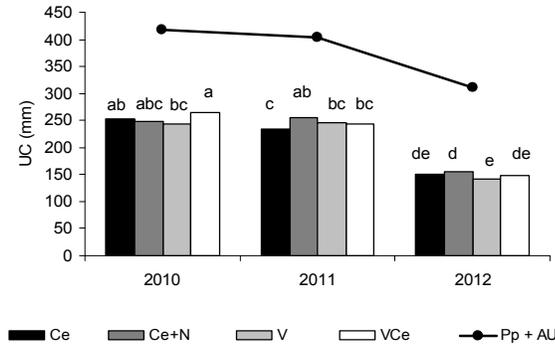


Figura 17: Uso consuntivo (mm) de los CC para cada año de la experiencia y la sumatoria de las precipitaciones durante su ciclo y el agua útil inicial (mm). Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,05$ ).

La eficiencia de uso del agua varió entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ). El primer año de la experiencia las eficiencias fueron similares entre tratamientos con centeno ( $2,5$ - $2,9$  g MS  $m^{-2}$   $mm^{-1}$ ) y superiores a V ( $2$  g MS  $m^{-2}$   $mm^{-1}$ ) (Figura 18a). El segundo año, se registró una disminución significativa en los tratamientos Ce, V y VCe con valores promedio de  $1,5$ ,  $1,3$  y  $2,1$  g MS  $m^{-2}$   $mm^{-1}$ . Sin embargo, los CC con centeno nuevamente evidenciaron eficiencias más altas que los CC con vicia. En cambio, el último año, los tratamientos con nitrógeno (VCe, V y Ce+N) presentaron las magnitudes más altas de esta variable ( $2,1$ ,  $2,5$  y  $2,4$  g MS  $m^{-2}$   $mm^{-1}$ ). En la Figura 18b se presentan las eficiencias en términos de la cantidad de carbono producido en la biomasa aérea de los CC por unidad de área y por mm de agua consumido ( $EUA_C$ ). Los tratamientos con centeno presentaron  $EUA_C$  entre  $0,6$  y  $1,3$  g C  $m^{-2}$   $mm^{-1}$  mientras que V varió entre  $0,5$  y  $0,9$  g C  $m^{-2}$   $mm^{-1}$ .

a)

b)

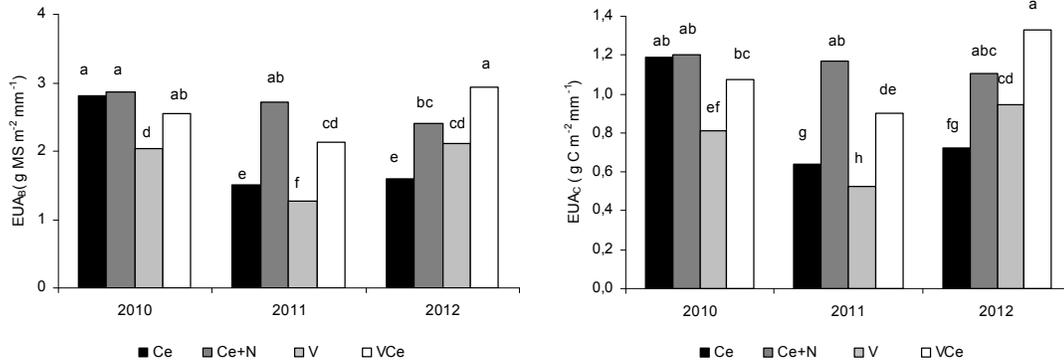


Figura 18: Eficiencia de uso del agua en términos de materia seca (a,  $EUA_B$ ) y carbono (b,  $EUA_C$ ) para los tratamientos centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

### 6.2.5) Nitrógeno absorbido y eficiencias de uso del nitrógeno

El N absorbido en la biomasa aérea fue superior en los tratamientos con nitrógeno (Ce+N, V y VCe) alcanzando valores máximos el último año de la experiencia (14 a 24 g N m<sup>-2</sup>). En cambio, Ce presentó los valores más bajos entre 10 y 14 g N m<sup>-2</sup> con las magnitudes mínimas en el año 2011 (Tabla 7). La eficiencia fisiológica con la que los cultivos utilizan el nitrógeno, depende de las características de la especie y la disponibilidad de N. Los resultados muestran que el centeno presentó eficiencias mayores a la vicia a lo largo de toda la experiencia con magnitudes promedio que variaron entre 1,8 y 5,2 g MS g Nabs<sup>-1</sup> en los tratamientos con centeno y entre 1,3 y 2,9 g MS g Nabs<sup>-1</sup> en V. En términos de carbono estos valores variaron entre 0,8 y 2,2 g C g Nabs<sup>-1</sup> y entre 0,6 y 1,1 g C g Nabs<sup>-1</sup>. Sin embargo, la fertilización del centeno con urea fue la opción que permitió obtener las mayores eficiencias durante toda la experiencia. En relación a las variaciones anuales, todos los tratamientos evidenciaron reducciones en la eficiencia de uso de N en el tiempo. En el caso de C estas reducciones fueron progresivas y significativas entre años (30% en 2011 y 50% en 2012), mientras que en VCe y Ce+N la disminución significativa ocurrió entre el año 2011 y 2012 (50%). En cambio, las eficiencias fueron estables los últimos dos años del ensayo en V, con diferencias significativas en los valores hallados entre el 2010 y 2011 (40%).

Tabla 7: Nitrógeno absorbido en la biomasa aérea y la biomasa de raíces de los CC (g m<sup>-2</sup>) y las eficiencias de uso del nitrógeno en términos de la cantidad de materia seca producida (g MS g Nabs<sup>-1</sup>,  $EUN_B$ ) y de carbono (g C g Nabs<sup>-1</sup>,  $EUN_C$ ) para los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	N abs g m <sup>-2</sup>		EUN <sub>B</sub> (g MS g Nabs <sup>-1</sup> )		EUN <sub>c</sub> (g C g Nabs <sup>-1</sup> )	
2010						
Ce	13,7	e	5,2	a	2,2	a
Ce+N	14,3	de	5,1	a	2,2	a
V	17,2	bc	2,9	c	1,1	c
VCe	18,7	b	3,6	b	1,5	b
2011						
Ce	10,3	f	3,5	b	1,5	b
Ce+N	14,9	cde	4,8	a	2,1	a
V	17,8	b	1,8	ef	0,7	de
VCe	14,8	cde	3,5	bc	1,5	b
2012						
Ce	13,7	e	1,8	e	0,8	d
Ce+N	16,4	bcd	2,3	d	1,1	c
V	22,3	a	1,3	f	0,6	e
VCe	24,2	a	1,8	e	0,8	d

### 6.2.6) Productividad de raíces de los CC

La biomasa de raíces totales (BRT) se determinó de acuerdo a valores porcentuales de influencia de las raíces cuantificadas sobre la línea de siembra (LS) y el entresurco (ES). Los resultados de estas variables se presentan en la Tabla 8. Para el promedio de los tratamientos con CC, la biomasa de raíces en LS fue 3 veces superior a la registrada en ES en los primeros 0-6 cm de suelo en las campañas 2010 y 2011, mientras que en el 2012, este valor disminuyó a 1,4. En cambio, en el estrato de profundidad de 6-12 cm, dicho valor fue más estable entre años y varió entre 0,6 y 0,7. Al analizar las dos profundidades en conjunto (0-12 cm), este coeficiente fue de 2 en 2010 y 2011 y de 1,2 en 2012. El componente LS fue el que más peso tuvo sobre el total de raíces y fue el que evidenció las principales diferencias de acuerdo con la especie y la profundidad de suelo. Mientras que todos los tratamientos con CC presentaron similares valores de raíces en ES a lo largo de toda la experiencia tanto en 0-6 como en 6-12 cm con valores superiores al testigo en 2010 y 2011 pero similares en el 2012.

Tabla 8: Biomasa de raíces en el entresurco (ES, g MS m<sup>-2</sup>) y en la línea de siembra (LS, g MS m<sup>-2</sup>) para las profundidades 0-6 cm, 6-12 cm y 0-12 cm de suelo de los tratamientos centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). *Las letras indican diferencias entre tratamientos y años (p<0,0001).*

Tratamiento	Prof.	BR (ES) (g MS m <sup>-2</sup> )	BR (LS) (g MS m <sup>-2</sup> )	
2010				
Ce		91,5	de	249,7 c
Ce+N		85,1	e	237,8 c
T	0-6	43,1	f	
V		89,2	e	111,0 e
VCe		101,4	cde	399,6 b
Ce		43,9	cd	23,1 e
Ce+N		46,6	cd	21,0 e
T	6-12	28,2	d	
V		52,5	c	39,5 d
VCe		44,9	cd	20,1 e
Ce		135,4	e	272,8 d
Ce+N		116,1	e	230,9 d
T	0-12	71,4	f	
V		141,7	de	150,5 e
VCe		146,4	de	419,7 c
2011				
Ce		106,9	cde	404,1 b
Ce+N		130,2	c	519,0 a
T	0-6	94,7	cde	
V		119,4	c	121,3 de
VCe		117,1	cd	443,2 ab
Ce		66,7	bc	49,7 bcd
Ce+N		80,9	b	49,4 bcd
T	6-12	52,1	c	
V		72,9	b	43,8 cd
VCe		73,6	b	67,6 ab
Ce		174,4	cd	452,0 bc
Ce+N		206,6	c	533,4 ab
T	0-12	146,9	de	
V		190,3	c	144,9 e
VCe		190,7	c	510,8 ab
2012				
Ce		282,7	a	421,7 b
Ce+N		306,9	a	441,0 ab
T	0-6	176,8	bc	
V		267,8	ab	203,2 cd
VCe		308,4	a	507,2 a
Ce		78,1	b	57,8 abc
Ce+N		99,3	ab	45,3 cd
T	6-12	99,4	ab	
V		67,4	bc	69,2 a
VCe		109,7	a	41,4 d
Ce		358,0	ab	484,9 abc
Ce+N		417,5	a	487,3 abc
T	0-12	276,2	bc	
V		371,9	ab	280,3 d
VCe		418,1	a	548,6 a

La BRT de los CC mostró diferencias de acuerdo a la especie utilizada y el estrato de profundidad de suelo analizado evidenciando un efecto acumulativo en el tiempo ( $p < 0,0001$ ). En general, el centeno fue la especie que mayor volumen de raíces presentó en los primeros 12 cm de suelo en cualquiera de las combinaciones utilizadas en el ensayo (Figura 19; Tabla anexo 9). Los valores registrados en esta profundidad variaron entre 408-843 g MS m<sup>-2</sup> para Ce, entre 346-905 g MS m<sup>-2</sup> para Ce+N y entre 566-967 g MS m<sup>-2</sup> para VCe. El tratamiento con vicia (V) también contribuyó con un volumen importante de raíces que varió entre 292-652 g MS m<sup>-2</sup>, y en particular en el primer ciclo de CC, este tratamiento aportó similares volúmenes de raíces que Ce y Ce+N, y además superó al testigo los tres años de la experiencia (71-276 g MS m<sup>-2</sup>).

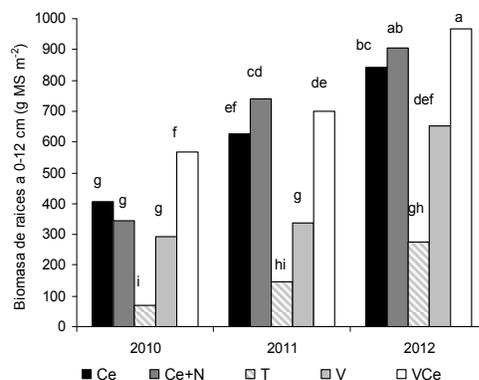


Figura 19: Biomasa de raíces totales (g MS m<sup>-2</sup>) en los primeros 0-12 cm de suelo para los tratamientos centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Por otra parte, la gramínea tuvo la mayor proporción de sus raíces en los primeros 0-6 cm de suelo, que para el promedio de la experiencia representó un 85% de acumulación superficial. Mientras que para la leguminosa y el testigo esta proporción fue del 71% y 63% respectivamente. En la Figura 20a se presentan los contenidos de biomasa de raíces en los primeros 0-6 cm de suelo al finalizar el ciclo de los CC. Los valores registrados en las parcelas con CC variaron entre 200 y 816 g MS m<sup>-2</sup> y en el testigo entre 43 y 177 g MS m<sup>-2</sup>. Los resultados muestran una importante interacción entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ). En el año 2010, la gramínea (Ce) aportó un 40% más de raíces que la leguminosa (V) con valores de 341 y 200 g MS m<sup>-2</sup>, mientras la combinación de ambas especies (VCe) dio lugar a una biomasa de raíces similar a la suma de los aportes individuales de cada una de ellas. En cambio, la fertilización del centeno con urea no generó cambios sustanciales en esta variable. En las campañas 2011 y 2012, la biomasa de raíces en los tratamientos con centeno fue entre un 30-60% superior a la acumulada en V. Además, el volumen de raíces cuantificado en Ce fue inferior respecto de Ce+N en 2011 y respecto de VCe en 2012, sin embargo, estos tratamientos no se diferenciaron entre sí en las últimas dos campañas.

En la profundidad de 6-12 cm, el volumen de raíces cuantificado fue inferior respecto del estrato superior y varió entre 65 y 151 g MS m<sup>-2</sup> en los tratamientos con CC y entre 28 y 99 g MS m<sup>-2</sup> en el testigo (Figura 20b). Los volúmenes de raíces cuantificados en V fueron similares a los registrados en los tratamientos con centeno los tres años evaluados, y en el año 2010 en particular, la biomasa de raíces de vicia superó en un 29% los valores registrados con centeno aunque esta diferencia no fue significativa. En relación a las variaciones anuales, también se observó un efecto acumulativo en los tratamientos con CC entre las campañas 2010 y 2011 ( $p = 0,0412$ ), mientras que en el último ciclo los valores permanecieron estables.

a)

b)

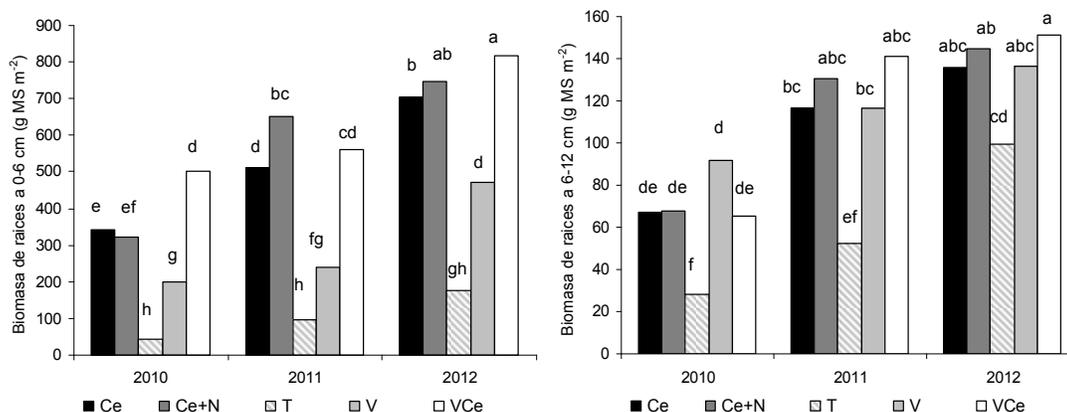


Figura 20: Biomasa de raíces totales (g MS m<sup>-2</sup>) a 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) de profundidad de suelo al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,05$ ).

#### 6.2.7) Carbono y nitrógeno de las raíces de los CC

La concentración de carbono de las raíces en los primeros 0-6 cm estuvo condicionada por el tratamiento ( $p < 0,0001$ ) y por el año ( $p < 0,0001$ ) y la interacción entre factores presentó un nivel de significancia de  $p = 0,08$  (Tabla anexo A10). Para el promedio de los tres años el testigo registró valores superiores (37,4%) respecto del resto (33,2%) alcanzando magnitudes máximas en el 2011 (40,3%) mientras que los tratamientos con CC presentaron similares valores de esta variable los tres años del ensayo. Por otra parte, la concentración de carbono de las raíces cuantificadas en la profundidad de 6-12 cm presentó una interacción tratamiento x año con un nivel de significancia mayor ( $p = 0,0025$ ). Los primeros dos años la concentración de carbono nuevamente fue superior en el tratamiento testigo (32,1 y 37,2%) sin detectar diferencias entre tratamientos con CC que en promedio alcanzaron valores de 26,1% en 2010 y 31,8% en 2011. En cambio, el último año, la concentración de C fue superior en Ce+N y V (36,3 y 33,9%) con diferencias significativas respecto de T que registró los valores más bajos dicho año (28,5%) (Tabla anexo A10).

Los contenidos de C de las raíces determinadas al finalizar los CC en los primeros 12 cm de suelo se presentan en la Figura 21. Los resultados muestran que los tratamientos con centeno acumularon más carbono de raíces que la leguminosa con valores entre 108 y 338 g C-BRT m<sup>-2</sup> para el promedio de los tratamientos con centeno y entre 86 y 222 g C-BRT m<sup>-2</sup> para V. Además, se registraron magnitudes mínimas en el tratamiento sin CC (T) que acumuló entre 24 y 91 g C-BRT m<sup>-2</sup>. La respuesta al aporte de nitrógeno (Ce vs Ce+N y Ce vs VCe) varió según el año evaluado. En el 2010 y 2012, se registraron respuestas significativas al aporte

de nitrógeno de la vicia en la consociación del 40 y 20%, mientras que en el año 2011, la respuesta se evidenció en Ce+N y fue del 30% ( $p < 0,0001$ ).

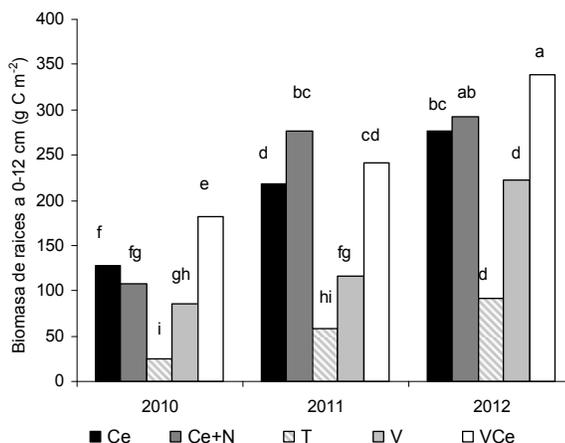


Figura 21: Contenido de C de la biomasa de raíces totales determinada al finalizar el ciclo de los CC en los primeros 0-12 cm de profundidad de suelo en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Por otra parte, los tratamientos con centeno contribuyeron con los valores más altos de C-BRT en los primeros 6 cm de suelo (Figura 22a). En promedio, los tratamientos con centeno produjeron entre 107 y 292 g C m<sup>-2</sup> en 0-6 cm mientras que en el estrato de 6-12 cm estas magnitudes fueron inferiores y variaron entre 16 y 52 g C m<sup>-2</sup>. Por otra parte, la producción de raíces de leguminosa aportó valores entre 60 y 89 g C-BRT m<sup>-2</sup> en 6-12 cm igualando en magnitud a los tratamientos con la gramínea los tres años del ensayo (Figura 22b). En cambio, en el estrato superficial (0-6 cm) el volumen de raíces de V fue inferior al registrado con los tratamientos con centeno durante toda la experiencia (60-161 g C-BRT m<sup>-2</sup>). Se registraron valores de carbono de raíces en las parcelas testigo de 15-63 g C-BRT m<sup>-2</sup> en 0-6 cm y de 9-28 g C-BRT m<sup>-2</sup> en 6-12 cm.

La concentración de N en la biomasa de raíces de los CC en los primeros 6 cm de suelo varió entre 0,8 y 2,1 % y en 6-12 cm entre 0,9 y 1,6% (Tabla anexo A10). La vicia presentó los valores más altos los tres años de la experiencia en ambas profundidades de estudio (1,6-2,1% en 0-6 cm y 1,5-1,6% en 6-12 cm) con diferencias altamente significativas respecto del resto de los tratamientos en el estrato de 0-6 cm ( $p < 0,0001$ ). Los tratamientos con centeno presentaron similares valores de esta variable en ambas profundidades, sin embargo, en el estrato de 0-6 cm, la concentración de nitrógeno de las raíces de dichos tratamientos mostró incrementos en el tiempo con una magnitud promedio de 0,9% en el año 2010 y de 1,2% en el año 2012. Esta tendencia no se observó en la profundidad de 6-12 cm. La concentración

de N de las raíces cuantificadas en las parcelas sin CC (T) fue similar los tres años del ensayo tanto en 0-6 cm (1-1,1%) como en 6-12 cm (0,9-1,2%).

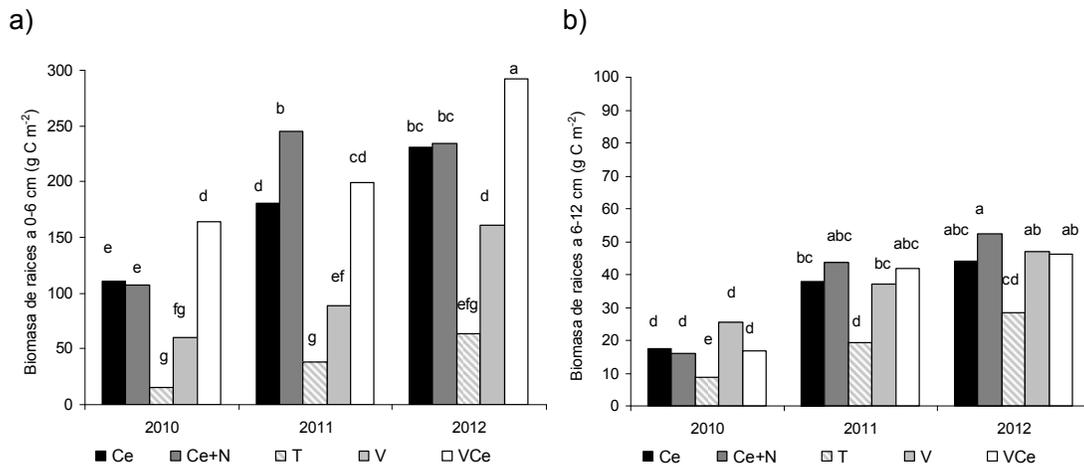


Figura 22: Contenido de C de raíces a 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años para 0-6 cm ( $p < 0,0001$ ) y para 6-12 cm ( $p = 0,0252$ ).

Los contenidos de N de las raíces determinadas al finalizar el ciclo de los CC correspondientes a la profundidad de 0-12 cm se presentan en la Figura 23. En general, todos los tratamientos mostraron valores en alza a lo largo de la experiencia con magnitudes entre 3,2 y 12 g N-BRT  $m^{-2}$ . En ninguno de los años estudiados se registraron diferencias entre tratamientos con CC. Las parcelas testigo acumularon entre 0,7 y 2,9 g N-BRT  $m^{-2}$ . Al analizar cada estrato de profundidad por separado, los contenidos de N-BRT de los tratamientos con CC fueron superiores en 0-6 cm respecto de 6-12 cm y variaron entre 0,4 y 10 g N  $m^{-2}$  y entre 0,2 y 2,1 g N  $m^{-2}$  respectivamente (Figuras 24a y b). En el caso de las parcelas testigo se registraron magnitudes promedio entre 0,4 y 1,9 en 0-6 cm y entre 0,3 y 0,9 en 6-12 cm. Por otra parte, la vicia contribuyó con importantes cantidades de N-BRT en 6-12 cm el primer año de la experiencia, mientras que en las sucesivas campañas los valores fueron similares al resto de los tratamientos con CC. En la profundidad de 0-6 cm no se registraron diferencias entre tratamientos con CC en ninguno de los años, excepto en el 2012, que VCe superó a V.

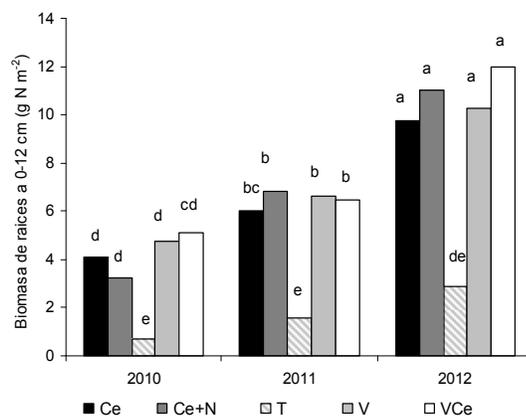


Figura 23: Contenidos de N de raíces determinadas al finalizar el ciclo de los CC en la profundidad de 0-12 cm en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p=0,0145$ ).

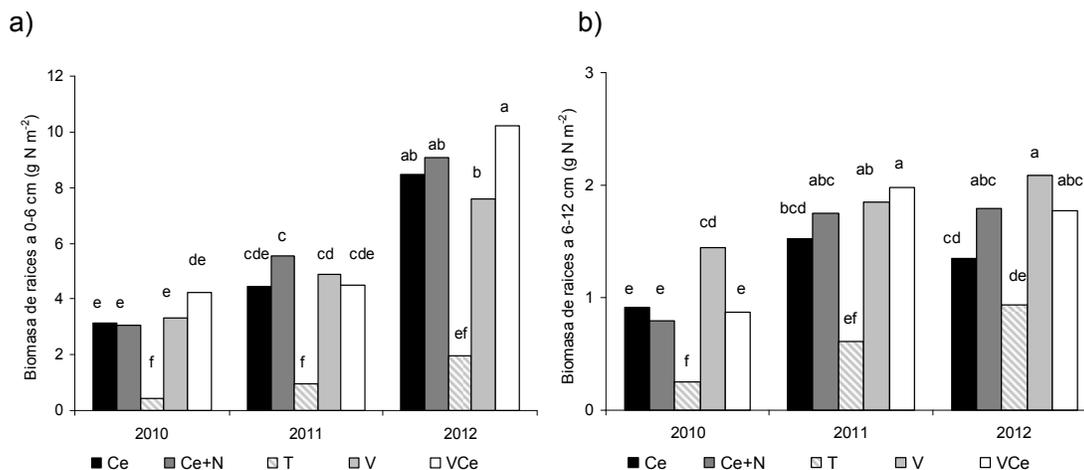


Figura 24: Contenido de N de raíces a 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años para 0-6 cm ( $p<0,0131$ ) y para 6-12 cm ( $p=0,0793$ ).

### 6.2.8) Relación C/N de la biomasa de raíces de los CC

La calidad de la biomasa de raíces de los CC en los primeros 0-12 cm estuvo condicionada por el tratamiento y por el año (Figura 25). Los tratamientos con centeno presentaron una relación C/N similar entre sí que varió en un rango entre 27 y 41 registrándose los valores más bajos hacia el final de la experiencia. Además, las parcelas sin CC (T) presentaron una calidad similar a estos tratamientos. En el caso particular de Ce+N, se registró un aumento de esta variable en 2011 (41) que resultó ser significativo. Por otra parte, las relaciones C/N más bajas se observaron en V con un valor promedio de 18 en 2010 y 2011 que aumentó en forma significativa a 23 en el año 2012.

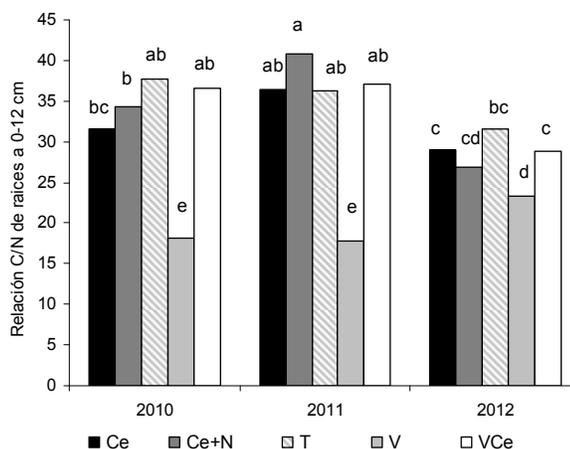


Figura 25: Relación C/N de la biomasa de raíces a 0-12 cm determinada al finalizar el ciclo de los CC. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

La calidad de las raíces también estuvo condicionada por la profundidad de suelo. Las magnitudes registradas tanto en el año 2010 como en 2011 los tratamientos con centeno fueron un 40-50% superior en 0-6 cm respecto de 6-12 cm, mientras que en V la calidad de las raíces fue similar entre estratos de profundidad de suelo los tres años del ensayo. En las Figuras 26a y b se presentan las relaciones C/N de la biomasa de raíces de los CC a 0-6 y 6-12 cm de profundidad. No se registraron diferencias significativas entre tratamientos con centeno tanto en 0-6 como en 6-12 cm, excepto en el 2012 en el estrato inferior, que la calidad de raíces en VCe fue inferior a la registrada en Ce. En ese sentido, se cuantificaron magnitudes promedio de los tratamientos con centeno a 0-6 cm de 37, 43 y 28 en 2010, 2011 y 2012 respectivamente. Mientras que en 6-12 cm, estos valores fueron de 21 y 25 los primeros dos años, y de 30, 33 y 27 para Ce, Ce+N y VCe el tercer año. En el caso de V, esta variable fue inferior respecto del resto los tres años de la experiencia y varió entre 18 y 23 tanto en 0-6 cm como en 6-12 cm. Por otra parte, las parcelas sin CC (T) presentaron relaciones C/N similares a los tratamientos con centeno en 0-6 cm mientras que en 6-12 cm fueron superiores a estos en el 2010 y 2011. En relación a las variaciones anuales, se registró una disminución de la relación C/N de las raíces hacia el final de la experiencia en los tratamientos con centeno y en T en los primeros 0-6 cm de suelo, en contraposición a V que no acusó variaciones significativas. En cambio en 6-12 cm, esta relación fue en incremento con el tiempo en todos los tratamientos con CC con diferencias significativas principalmente entre los valores iniciales y finales del ensayo.

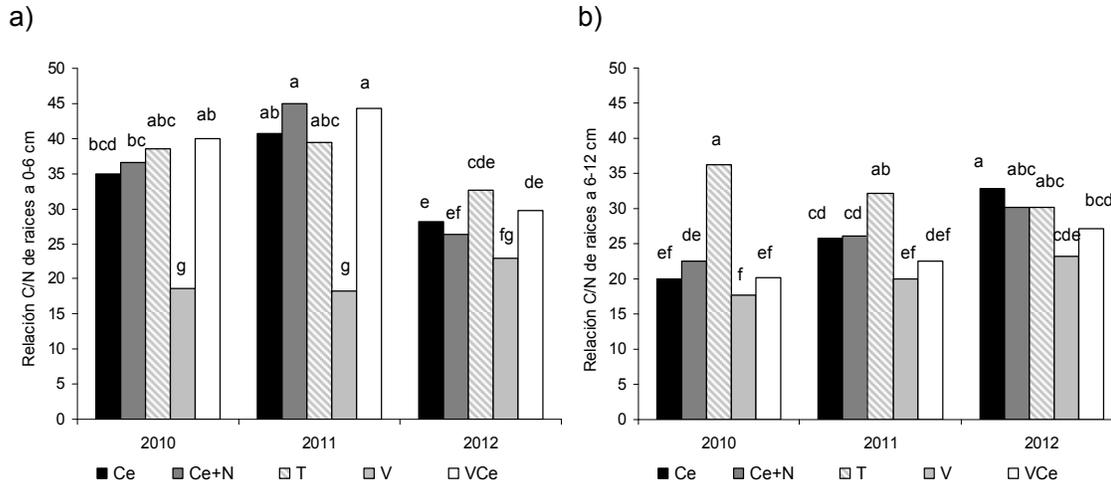


Figura 26: Relación C/N de la biomasa de raíces a 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) determinada al finalizar el ciclo de los CC en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años para 0-6 cm ( $p < 0,0001$ ) y para 6-12 cm ( $p = 0,0543$ ).

#### 6.2.9) Productividad aérea del cultivo de verano

La producción de materia seca del cultivo de verano estuvo condicionada por el cultivo antecesor y el año ( $p < 0,0001$ ) (Figura 27). El primer año de la experiencia, la productividad aérea del sorgo fue mayor en las parcelas con antecesor V y sin antecesor CC (T) alcanzando magnitudes máximas de 2153 y 1987 g MS m<sup>-2</sup>, mientras que en las parcelas con antecesor Ce los valores fueron mínimos (1522 g MS m<sup>-2</sup>). El segundo año, los rendimientos más altos se registraron en los tratamientos con antecesor VCe y V (1889 y 1786 g MS m<sup>-2</sup>) y los menores en Ce y Ce+N (1146 y 1153 g MS m<sup>-2</sup>), mientras que el tercer año de la experiencia, los valores máximos se observaron con el antecesor VCe y los mínimos con T (1140 y 483 g MS m<sup>-2</sup>). Por otra parte, se registró un plus extra en la productividad aérea del cultivo de verano del 20, 50 y 60% para cada año de la experiencia cuando el antecesor fue VCe respecto de Ce ( $p < 0,0001$ ). Sin embargo, esta respuesta en rendimiento no se evidenció en la secuencia sorgo-Ce+N en ninguno de las tres campañas. En relación a las variaciones anuales, los rendimientos del cultivo de verano en la rotación con VCe fueron similares en las campañas 2010-2011 y 2011-2012, mientras que en el resto de las combinaciones se registraron mermas significativas del 20-30%. En la última campaña (2012-2013) los rendimientos del cultivo de verano también presentaron una reducción significativa que varió entre 40 y 70% según el cultivo antecesor, excepto en la rotación con Ce+N, evidenciando las mermas más importantes en las parcelas testigo.

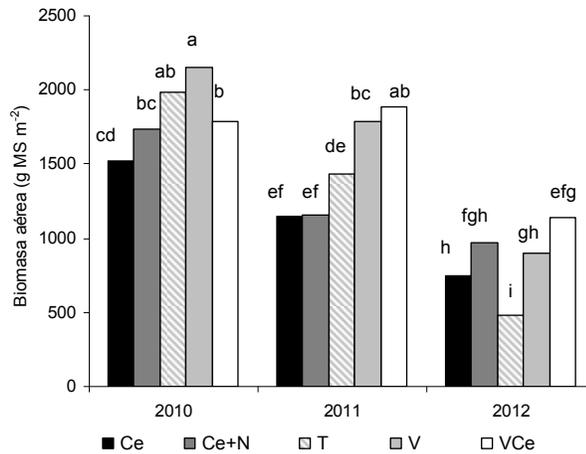


Figura 27: Productividad aérea del cultivo de sorgo ( $\text{g MS m}^{-2}$ ) durante las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al cultivo antecesor: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin antecesor ó barbecho (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

La concentración de carbono en la biomasa aérea producida por el cultivo de sorgo varió entre 40 y 45,2% (Tabla anexo A12). En términos de la cantidad de carbono producido se registraron variaciones de acuerdo al antecesor y el año (Figura 28). Los primeros dos años de la experiencia, las parcelas con antecesor V y VCe, produjeron los mayores volúmenes de biomasa aérea de sorgo que variaron entre 719 y 862  $\text{g C m}^{-2}$ , aunque el último año los rendimientos cayeron a 375 y 501  $\text{g C m}^{-2}$  respectivamente. Cuando el antecesor fue Ce+N, la productividad aérea del sorgo fue similar a la registrada con el antecesor VCe tanto en la campaña 2010-2011 como en la 2012-2013 con valores de 705 y 436  $\text{g C m}^{-2}$ . En cambio, los rendimientos fueron inferiores cuando el antecesor fue Ce en las primeras dos campañas, registrándose magnitudes de 608 y 511  $\text{g C m}^{-2}$ , mientras que al finalizar la experiencia este tratamiento se igualó con V y VCe con una producción de 331  $\text{g C m}^{-2}$ . Las parcelas que permanecieron en barbecho invernal también evidenciaron una brusca caída en los rendimientos, con magnitudes de 808 y 209  $\text{g C m}^{-2}$  en la primer y última campaña. La concentración de N en la biomasa aérea de sorgo varió entre 0,5 y 1,3% de acuerdo al cultivo antecesor y el año ( $p < 0,0001$ ) (Tabla anexo A12). En el primer ciclo de cultivo, las concentraciones de N fueron similares entre tratamientos con valores entre 0,5 y 0,6%. A partir del segundo ciclo de cultivo, se observó un incremento en los valores de esta variable con las magnitudes más altas en los tratamientos con antecesor V y VCe (1-1,3%). En ese sentido, la producción de biomasa aérea por unidad de área en términos de N fue superior en estos tratamientos respecto del resto, tanto en la campaña 2011-2012 (19 y 18  $\text{g N m}^{-2}$ ) como en la 2012-2013 (12 y 11  $\text{g N m}^{-2}$ ) (Figura 29). En cambio, en el primer ciclo de cultivo todos los tratamientos presentaron similares contenidos de N en su biomasa aérea en un rango entre 8 y 11  $\text{g N m}^{-2}$ .

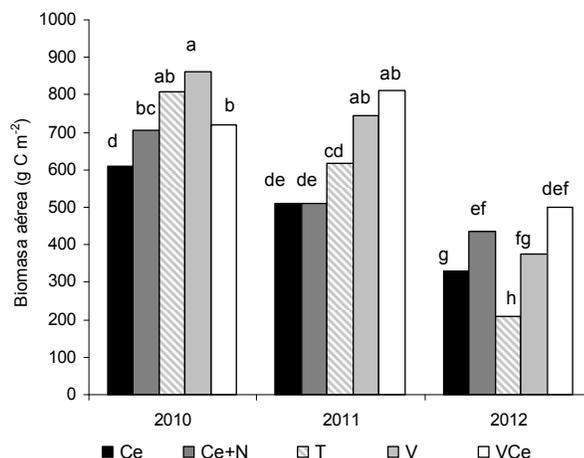


Figura 28: Cantidad de carbono producido en la biomasa aérea del cultivo de sorgo ( $\text{g C m}^{-2}$ ) durante las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al cultivo antecesor: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin antecesor ó barbecho (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

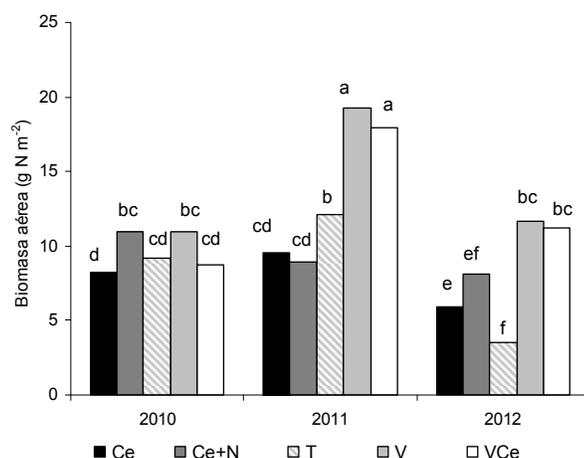


Figura 29: Cantidad de N de la biomasa aérea del cultivo de sorgo ( $\text{g N m}^{-2}$ ) durante las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al cultivo antecesor: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin antecesor ó barbecho (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

#### 6.2.10) Contribución a la acumulación de residuos sobre la superficie del suelo

El cultivo de sorgo también representó un ingreso de C y N al pool de residuos sobre la superficie del suelo de acuerdo al destino de su producción. Debido a la inclusión de los CC en cada rotación, el ciclo del cultivo de verano se vio restringido en su duración con lo cual su producción se destinó, según la practicidad operativa del momento, a la elaboración de silo bolsa en la campaña 2010-2011 dejando un remanente en pie cuantificable. En cambio, en las últimas dos campañas, el destino de la producción fue la elaboración de rollos (corte al ras) considerando despreciable el remanente en pie.

### 6.2.11) Remanente en pie del sorgo al finalizar la campaña 2010-2011

Al finalizar el primer ciclo de cultivo de sorgo (2010-2011), la cantidad de rastrojo en pie varió entre 893 y 1035 g MS m<sup>-2</sup> (Tabla 9). Este material remanente presentó una relación hoja/tallo superior en las parcelas sin antecesor CC (0,8) y con antecesor VCe (0,71) respecto del resto (0,56-0,65). Dicho remanente no presentó variaciones entre tratamientos en la concentración de C y de N en sus tejidos ( $p < 0,1$ ), y por lo tanto, contribuyó a aportes similares que estuvieron en el orden de los 141-176 g C m<sup>-2</sup> y 2,5-3,6 g N m<sup>-2</sup>. Tampoco se registró diferencias en la calidad del material remanente en los diferentes tratamientos.

Tabla 9: Cantidad de rastrojo remanente en pie de sorgo (g MS m<sup>-2</sup>), relación hoja/tallo (H/T), concentración de C y N (%), cantidad de C y N (g m<sup>-2</sup>) y relación C/N al finalizar la campaña 2010-2011. Los cultivos antecesores fueron centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $\alpha < 0,05$ ).

Tratamiento	g MS m <sup>-2</sup>	H/T	C (%)	N (%)	C (g m <sup>-2</sup> )	N (g m <sup>-2</sup> )	C/N
Ce	990	a 0,56 b	41,2 a	0,6 a	415,9 a	5,6 a	74,3 a
Ce+N	981	a 0,64 b	41,2 a	0,6 a	411,2 a	5,5 a	74,8 a
T	893	a 0,84 a	41,8 a	0,5 a	373,0 a	4,3 a	86,7 a
V	1035	a 0,65 b	41,2 a	0,6 a	435,8 a	5,7 a	76,5 a
VCe	1008	a 0,71 ab	41,7 a	0,6 a	420,2 a	5,8 a	72,4 a

### 6.2.12) Usos consuntivos y eficiencia de uso del agua del cultivo de verano

Los usos consuntivos del sorgo variaron entre 360 y 467 mm registrándose los valores más bajos en el último ciclo de cultivo. Esta variable evidenció diferencias entre tratamientos durante la primera y última campaña de sorgo ( $p < 0,0001$ ). En la primer campaña (2010-2011) los usos consuntivos fueron mayores en las parcelas sin antecesor CC (T) y con antecesor vicia (437 y 420 mm), mientras que los valores más bajos se registraron con los antecesores Ce+N y VCe (395 y 393 mm). En cambio, en la última campaña (2012-2013) evaluada los usos consuntivos fueron mayores con antecesor V y VCe (379 y 382 mm) respecto del testigo (360 mm) (Figura 30).

Las eficiencias de uso del agua del sorgo también evidenciaron una importante interacción entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ). En general, dichas eficiencias fueron superiores en los primeros dos ciclos de cultivo alcanzando valores máximos cuando el antecesor fue V (5,1 g MS m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup>) en la campaña 2010-2011 y cuando el antecesor fue V y VCe (4,4 y 4,7 g MS m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup>) en la campaña 2011-2012. En cambio, durante el período 2012-2013, en el cual la productividad del cultivo se vio restringida, las eficiencias de uso del agua fueron inferiores a los periodos anteriores y similares entre tratamientos con antecesor CC que en promedio fue de 2,5 g MS m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup> (Figura 31a). Además, los valores más bajos de esta variable se

registraron en las parcelas con monocultivo de sorgo luego de tres rotaciones sucesivas ( $0,6 \text{ g MS m}^{-2} \text{ mm}^{-1}$ ). En la figura 31b se presentan los resultados de las eficiencias de uso del agua en términos del carbono producido.

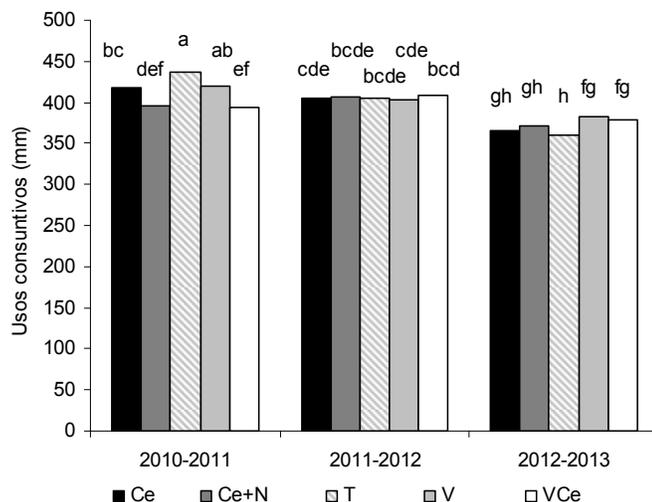


Figura 30: Usos consuntivos (mm) del cultivo de sorgo durante las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al antecesor centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V), vicia-centeno (VCe) y sin antecesor CC (T). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

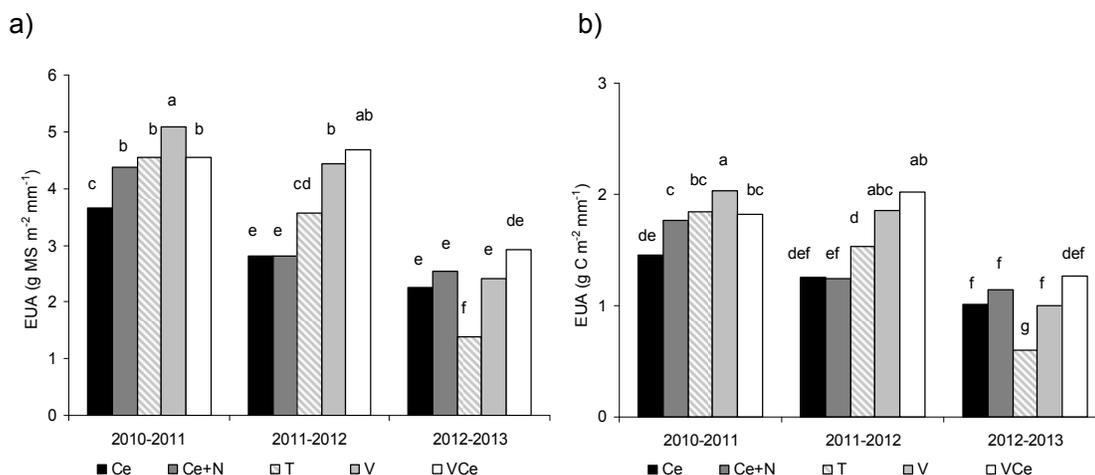


Figura 31: Eficiencias de uso del agua ( $\text{g m}^{-2} \text{ mm}^{-1}$ ) en términos de materia seca (a) y carbono (b) del cultivo de sorgo para las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al antecesor centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V), vicia-centeno (VCe) y sin antecesor CC (T). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

### 6.2.13) Eficiencia de uso del nitrógeno del cultivo de verano

El N absorbido en la biomasa producida por el sorgo (biomasa aérea + raíces 0-12 cm) y su eficiencia de uso variaron según el cultivo antecesor y el año ( $p < 0,0001$ ). Durante la primer campaña el N absorbido en la biomasa varió entre 21 y 19  $\text{g N m}^{-2}$  con valores superiores en

los tratamientos con antecesor T y V (Tabla 10). Dichos tratamientos presentaron eficiencias fisiológicas de uso de N de 15 y 13 g MS g Nabs<sup>-1</sup> que resultaron superiores al resto. En términos del carbono producido, dichas eficiencias fueron de 6 y 5 g C g Nabs<sup>-1</sup>. En cambio, en la campaña 2011-2012, las eficiencias más altas se alcanzaron en las parcelas con antecesor VCe (14 g MS g Nabs<sup>-1</sup> y 6 g C g Nabs<sup>-1</sup>) que fueron similares a las registradas con antecesor V (11,8 g MS g Nabs<sup>-1</sup> y 4,9 g C g Nabs<sup>-1</sup>). Dichos tratamientos presentaron similares contenidos de N en su biomasa en ambos ciclos de cultivo. En ambas campañas, los valores más bajos de eficiencia de uso de N se obtuvieron en los tratamientos con antecesor Ce+N, alcanzando valores mínimos de 7 g MS g Nabs<sup>-1</sup> y 3 g C g Nabs<sup>-1</sup> en el período 2011-2012 con diferencias significativas respecto del resto de los tratamientos.

Tabla 10: Nitrógeno absorbido por el cultivo (g m<sup>-2</sup>) y eficiencias fisiológicas de N en términos de materia seca (g MS g Nabs<sup>-1</sup>) y de carbono (g C g Nabs<sup>-1</sup>) para las campañas 2010-2011 y 2011-2012. Los tratamientos indican el cultivo antecesor centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V), vicia-centeno (VCe) y sin antecesor CC (T). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Tratamiento	N abs g m <sup>-2</sup>		EUN <sub>B</sub> (g MS m <sup>-2</sup> Nabs <sup>-1</sup> )		EUN <sub>C</sub> (g C m <sup>-2</sup> Nabs <sup>-1</sup> )	
2010-2011						
Ce	18	b	13	b	5	bc
Ce+N	16	cd	12	bc	5	de
T	21	a	15	a	6	a
V	19	ab	13	ab	5	abc
VCe	17	bc	12	b	5	cd
2011-2012						
Ce	13	e	9	d	4	e
Ce+N	11	f	7	e	3	f
T	15	de	10	cd	4	de
V	17	bcd	12	bc	5	cd
VCe	20	ab	14	ab	6	ab

#### 6.2.14) Productividad de raíces del cultivo de verano

La concentración de carbono en los tejidos de las raíces varió entre 30 y 42% (Tabla anexo A14). En los primeros 0-6 cm de suelo, no se registraron diferencias entre tratamientos pero sí entre años ( $p=0,091$ ) con valores menores en la segunda campaña. En cambio, en la profundidad de 6-12 cm, esta variable no presentó variaciones anuales significativas. Por otra parte, la concentración de N varió entre 0,6 y 1,2% con variaciones anuales significativas en 0-6 cm ( $p < 0,0001$ ) e interacción año x tratamiento también significativa en 6-12 cm ( $p=0,0103$ ). Además, en la profundidad de 6-12 cm las parcelas con antecesor VCe y Ce superaron a aquellas que permanecieron en barbecho invernal (T) con valores de 1,2%, 1,1% y 0,95% respectivamente, mientras que en la segunda campaña, T superó a ambos tratamientos (1,2%, 0,96 y 0,97%).

Los contenidos de carbono de las raíces de sorgo, en los primeros 12 cm, variaron entre 233 y 306 g C m<sup>-2</sup> y con valores en alza el segundo año cuando el antecesor fue Ce (p=0,0015) (Tabla anexo A14). No se comprobó un efecto del cultivo antecesor sobre los contenidos de carbono de la biomasa de raíces de sorgo. Para el promedio de los tratamientos, la biomasa de raíces en los primeros 6 cm de profundidad fue de 221 y 242 g C m<sup>-2</sup> en la primera y segunda campaña del cultivo, mientras que en 6-12 cm, los valores fueron de 46 y 34 g C m<sup>-2</sup>. Se registró un incremento de esta variable cuando el antecesor fue Ce tanto en la profundidad de 0-6 cm (p=0,0083) como en 6-12 cm (p=0,0295). Similar efecto se registró en las parcelas con monocultura de sorgo (T) (p=0,0002) y antecesor VCe (p=0,05) en 6-12 cm (Figura 32a y b). En relación a los contenidos de N de la biomasa de raíces de sorgo, el año también fue el factor condicionante más importante (p<0,0001). En los primeros 12 cm, los valores promedio de los tratamientos fueron de 4,3 y 8,3 g N m<sup>-2</sup> para ambas campañas respectivamente. Todos los tratamientos evidenciaron un aumento significativo de los contenidos de N en la biomasa de raíces hacia el final de la experiencia. En la profundidad de 0-6 cm, los valores promedio de los tratamientos fueron de 3,6 y 6,9 g N m<sup>-2</sup> en cada ciclo de cultivo respectivamente. En cambio, en la profundidad de 6-12 cm, estos valores estuvieron muy por debajo de estos niveles (1,1 y 1,3 g N m<sup>-2</sup>). En relación a las variaciones anuales, todos los tratamientos evidenciaron incrementos significativos hacia el final de la experiencia (p<0,0001) en los primeros 0-6 cm de profundidad, mientras que en 6-12 cm, este incremento solo ocurrió en las parcelas con monocultura de sorgo (Figura 32c y d). Por otra parte, la relación C/N de las raíces mostró variaciones de acuerdo a la profundidad de suelo y la campaña analizada. En la profundidad de 0-12 cm se registraron magnitudes promedio de los tratamientos de 56 y 37 para cada ciclo de cultivo (p<0,0001), mientras que en el estrato de 0-6 estos valores fueron de 64 y 37 (p<0,0001) y en 6-12 cm fueron de 33 y 37 (p=0,0014) respectivamente.

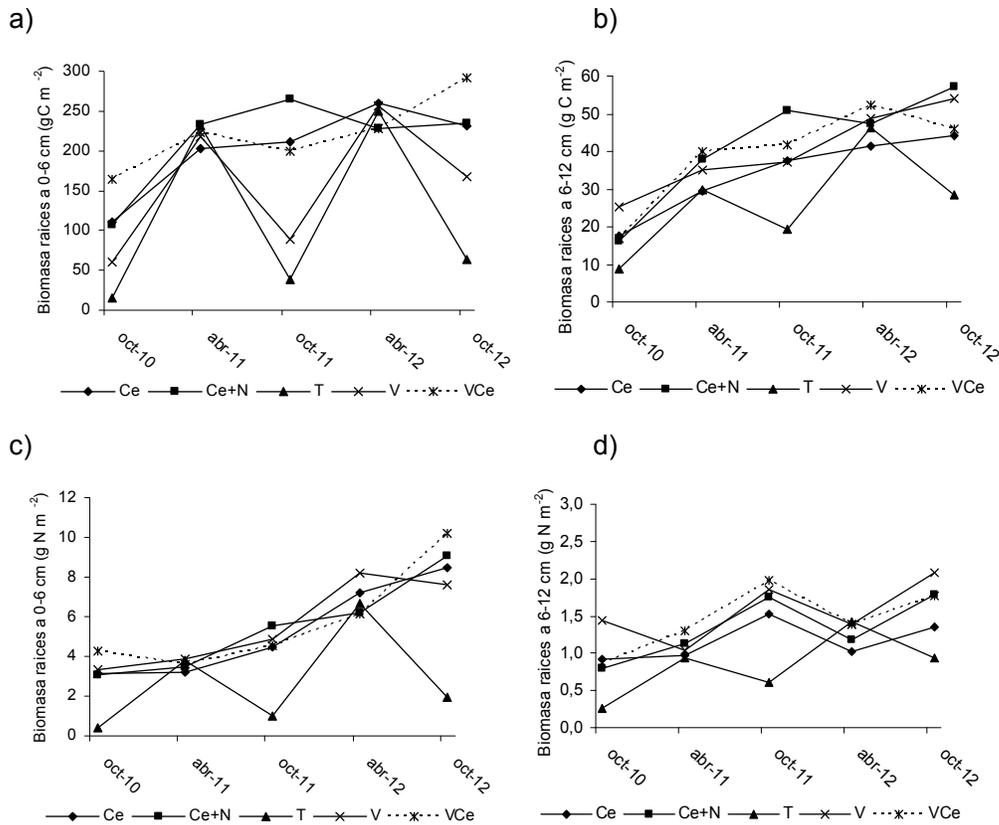


Figura 32: Contenidos de C y N de la biomasa de raíces totales ( $\text{g m}^{-2}$ ) al finalizar los CC (octubre) y el cultivo de verano (abril) durante los tres años de la experiencia para las profundidades de estudio de 0-6 y 6-12 cm. Los tratamientos indican el cultivo antecesor centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V), vicia-centeno (VCe) y sin antecesor CC (T).

### 6.3) Residuos acumulados sobre la superficie del suelo

#### 6.3.1) Materia seca de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo

La cantidad de residuos acumulados sobre la superficie del suelo previo al inicio de la experiencia (abril de 2010) varió entre 303 y 378  $\text{g MS m}^{-2}$ . La inclusión de los CC en la rotación se tradujo en una mayor acumulación de residuos sobre la superficie del suelo respecto del testigo (sin CC) que estuvo en el orden del 50 al 70% (Figura 33). Luego de tres años de experiencia, la capa de residuos resulto ser muy voluminosa (~15 cm) (Fotos 7 a 9). Las diferencias más importantes se observaron a partir del segundo año de la experiencia (dic-2011) donde las rotaciones que incluyeron al centeno como CC superaron en magnitud a la vicia ( $p < 0,0001$ ). Además, los tratamientos Ce+N y VCe representaron situaciones intermedias respecto a estos tratamientos. Por otro lado, ese mismo año se registraron las magnitudes más altas de acumulación de residuos de todos los tratamientos con valores máximos en Ce de 1268  $\text{g MS m}^{-2}$ . Este incremento generalizado estuvo asociado al remanente en pie del sorgo de 910-1035  $\text{g MS m}^{-2}$  con una relación C/N de 77. En cambio, el

último año de la experiencia, la cantidad de materia seca acumulada en la superficie del suelo resulto menor al año anterior en todos los tratamientos. Se registraron cantidades mínimas en T de 205, 790 y 414 g MS m<sup>-2</sup> en diciembre de 2010, 2011 y 2012 respectivamente.

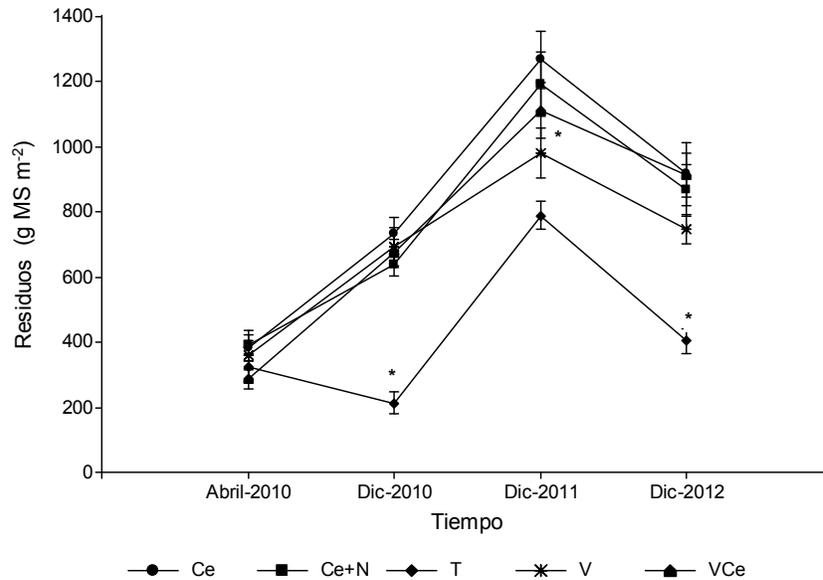


Figura 33: Residuos acumulados sobre la superficie del suelo (g MS m<sup>-2</sup>) durante los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. El (\*) indica diferencias significativas entre tratamientos dentro de un mismo año ( $\alpha < 0,05$ ).

Foto 7-9: Residuos acumulados sobre la superficie del suelo al momento de establecer el CC durante el tercer año de la experiencia. La foto inferior ilustra la cobertura de residuos al momento de establecer el primer CC.

Foto 7: Secuencia Ce+N-sorgo



Foto 8: Secuencia V-sorgo



*Foto 9: Línea de base*



### *6.3.2) Contenidos de C y N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo*

Las concentraciones de C de los residuos se mantuvieron en un rango entre 32 y 41% mientras que las concentraciones de N variaron entre 0.7 y 1.5% (Tabla anexo A16). Todos los tratamientos con CC evidenciaron disminuciones de la concentración de C del residuo al finalizar la experiencia respecto de los valores del primer año ( $p < 0,0001$ ), mientras que T presentó valores similares. En relación a las variaciones anuales en la concentración de N de los residuos, la secuencia sorgo-VCe mostró incrementos al finalizar el ensayo respecto de los valores del primer año, en cambio, las parcelas con monocultivo de sorgo (T sin CC) presentaron valores inferiores a los iniciales ( $p < 0,0001$ ). Los tratamientos con Ce, Ce+N y V no presentaron variaciones significativas. Las variaciones registradas en las concentraciones

de C y N, entre el primer y segundo año, estuvieron influenciadas por el aporte de residuos del cultivo de verano en su primer ciclo como se mencionó anteriormente.

Las variaciones encontradas en los contenidos de C de los residuos se correspondieron con los resultados en materia seca (Figura 34). Se registraron valores entre 97 y 129 g C m<sup>-2</sup> al inicio de la experiencia. Luego del primer ciclo con CC, se registró un incremento en la acumulación de C de los residuos del 70-80% respecto a T. En el segundo año de la experiencia se alcanzaron valores máximos de 507 g C m<sup>-2</sup> en rotaciones con Ce con diferencias significativas respecto de V (393 g C m<sup>-2</sup>) ( $p < 0,0001$ ). Al finalizar la experiencia, las rotaciones con CC con centeno acumularon en promedio 306 g C m<sup>-2</sup> mientras que rotaciones con V estuvieron en el orden de los 242 g C m<sup>-2</sup>, en cambio, las parcelas testigo acumularon 137 g C m<sup>-2</sup>.

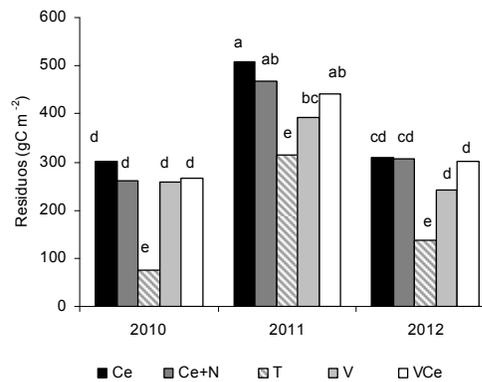


Figura 34: Contenido de C de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

La inclusión de los CC en la rotación también se tradujo en mayores contenidos de N de los residuos sobre la superficie del suelo respecto de las parcelas con barbecho invernal a lo largo de toda la experiencia (Figura 35). Para el promedio de la experiencia, las rotaciones con CC acumularon 9 g N m<sup>-2</sup> mientras que el testigo solo acumuló 4 g N m<sup>-2</sup> ( $p < 0,0001$ ). Dentro de las distintas combinaciones con CC, V y VCe fueron los tratamientos que presentaron los valores más altos (11 g m<sup>-2</sup>) durante los tres años de la experiencia sin diferencias significativas entre años. Los tratamientos Ce y Ce+N presentaron valores inferiores a dichos tratamientos pero superiores respecto de T.

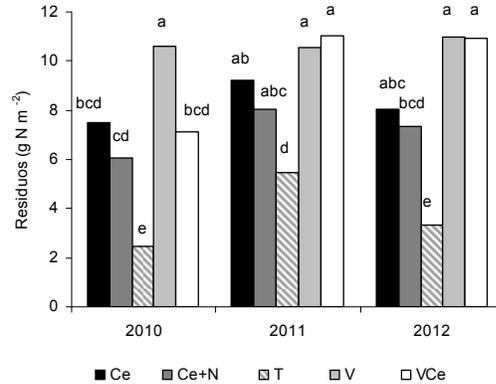


Figura 35: Concentración de N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

### 6.3.3) Calidad de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo

La calidad de los residuos varió entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ) (Figura 36). En 2010, los tratamientos VCe, Ce y Ce+N evidenciaron similares relaciones C/N con valores de 40, 43 y 45 respectivamente, superiores a V y T (25 y 30). A partir del segundo año del ensayo, se diferenciaron dos grupos de tratamientos de calidad contrastante. Por un lado, Ce, Ce+N y T mostraron valores superiores de relación C/N tanto en 2011 como en 2012, y el promedio de estos tratamientos fue de 59 y 41 para cada año. Por otro lado, V y VCe acumularon residuos de mejor calidad con valores similares (40) en 2011, mientras que en 2012, estos tratamientos se diferenciaron entre sí, con magnitudes de 22 y 28 para V y VCe.

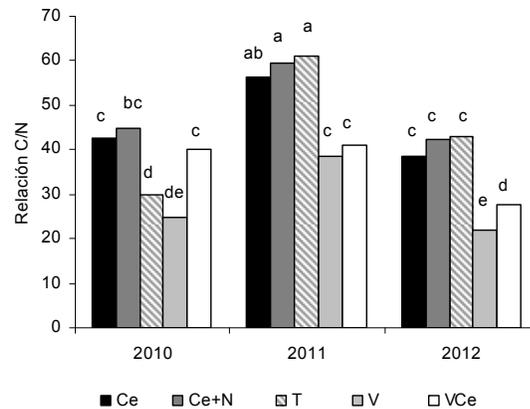


Figura 36: Calidad de los residuos acumulados al inicio del cultivo de verano expresada como la relación C/N a lo largo de toda la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

### 6.3.4) Dinámica de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo

La pérdida de materia seca de los residuos fue similar entre tratamientos con CC en cada año de la experiencia con valores promedio de 321, 988, 626 g MS m<sup>-2</sup> para 2010, 2011 y 2012 respectivamente (Figura 37). A pesar de esta falta de diferencias entre tratamientos con CC, Ce+N presentó magnitudes superiores durante toda la experiencia. En contraposición, las parcelas testigo presentaron los valores más bajos de pérdida de MS con magnitudes promedio de 88, 349 y 393 g MS m<sup>-2</sup> para cada año del ensayo. En relación a las variaciones anuales, todos los tratamientos con y sin CC mostraron un incremento significativo en la descomposición de los residuos entre el año 2010 y 2011 asociado a un mayor aporte de materia seca proveniente del sorgo al sistema y una disminución de los valores de descomposición entre el periodo 2011-2012.

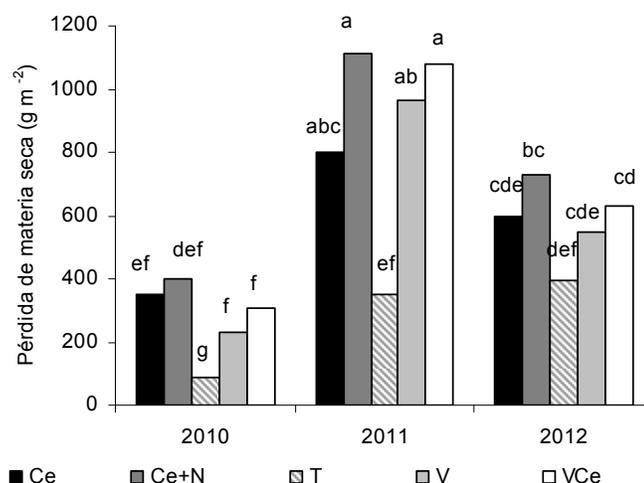


Figura 37: Pérdida de materia seca de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo (g MS m<sup>-2</sup>) durante los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

Por otra parte, la pérdida de materia seca de los residuos estuvo explicada por el N remanente en los mismos mediante el modelo exponencial que se presenta en la Figura 38 ( $p < 0,0001$ ;  $y = 1425,03 e^{(-5,17x)}$ ). Este modelo demuestra que la pérdida de materia seca de los residuos (descomposición) ocurrió a tasas decrecientes a medida que la proporción de N remanente en el mismo aumentó.

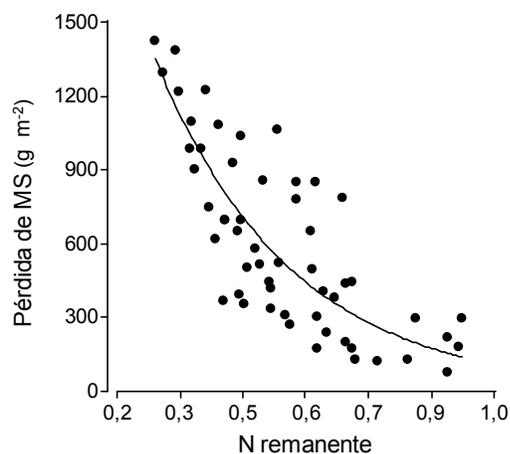


Figura 38: Pérdida de materia seca ( $\text{g m}^{-2}$ ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en función de la proporción de N remanente en los mismos.

#### 6.3.5) *Movilización e inmovilización de C y N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo*

La proporción de C remanente en los residuos estuvo condicionada principalmente por el año ( $p < 0,0001$ ). Se registraron valores iniciales entre 0.7 y 0.8 sin diferencias significativas entre tratamientos. En el segundo año, que se caracterizó por importantes aportes de residuos de sorgo de la campaña 2010-2011, los tratamientos con CC presentaron valores inferiores al control ( $p = 0,0012$ ). Al finalizar la experiencia todos los tratamientos presentaron proporciones similares entre 0.4 y 0.5 (Tabla 11). Debido a las variaciones en las cantidades de residuos iniciales y el remanente en pie aportado por los cultivos (denominador del cálculo de C remanente) para cada período estudiado, similares proporciones se tradujeron en diferentes magnitudes de C liberado por unidad de área evidenciando diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada año. En ese sentido, el primer año de la experiencia, el testigo liberó menos C que Ce+N y VCe con valores de 27, 166 y 123  $\text{g C m}^{-2}$  respectivamente ( $p < 0,0079$ ), a pesar de presentar la misma proporción de C remanente (0,7). El segundo año de la experiencia, la cantidad de C liberado alcanzó valores máximos en todos los tratamientos con CC con magnitudes entre 495 y 353  $\text{g C m}^{-2}$  registrándose diferencias significativas entre Ce+N y Ce ( $p < 0,0001$ ). La pérdida de C de los residuos resultó ser inferior en el testigo tanto el segundo (133  $\text{g C m}^{-2}$ ) como el último año (177  $\text{g C m}^{-2}$ ) ( $p = 0,0305$ ).

Tabla 11: Proporción de C y N remanente en los residuos acumulados sobre la superficie del suelo y cantidad de C y N liberado durante la descomposición de los mismos ( $\text{g m}^{-2}$ ). Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos para cada año ( $\alpha < 0,05$ ).

Tratamiento	C remanente		C liberado ( $\text{g m}^{-2}$ )		N remanente		N liberado ( $\text{g m}^{-2}$ )	
2010								
Ce	0,8	a	116	ab	0,62	bc	5	b
Ce+N	0,7	a	166	a	0,45	c	8	ab
T	0,7	a	27	c	0,93	a	0,3	c
V	0,8	a	60	bc	0,70	b	5	b
VCe	0,7	a	123	ab	0,43	c	9	a
2011								
Ce	0,6	b	353	b	0,51	ab	9	b
Ce+N	0,5	b	495	a	0,41	bc	13	b
T	0,7	a	133	c	0,59	a	5	c
V	0,5	b	420	ab	0,37	c	20	a
VCe	0,5	b	461	ab	0,49	abc	12	b
2012								
Ce	0,5	b	304	a	0,68	a	4	b
Ce+N	0,5	b	330	a	0,68	a	4	b
T	0,4	a	177	b	0,64	a	2	c
V	0,5	b	282	ab	0,54	a	10	a
VCe	0,5	b	333	a	0,60	a	9	a

La proporción de N remanente en los residuos fue similar entre tratamientos con centeno (Ce, Ce+N y VCe) los tres años de la experiencia con valores superiores al finalizar la experiencia respecto de los iniciales (Tabla 17). Se registraron magnitudes promedio de estos tratamientos de 0,5 y 0,7 para el primer y último año del ensayo respectivamente. En cambio, esta variable resultó ser superior en V respecto de VCe y Ce+N el primer año de la experiencia ( $p=0,0001$ ) y respecto de Ce el segundo año ( $p=0,0605$ ), en cambio, el último año no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. Por otra parte, el testigo movilizó menos N por unidad de área a lo largo de toda la experiencia ( $0.3$  y  $5 \text{ g N m}^{-2}$ ). Los tratamientos con CC liberaron entre  $5$  y  $9 \text{ g N m}^{-2}$  al inicio del ensayo, con los valores más altos en VCe similares a los observados en Ce+N y superiores al resto ( $p < 0,0001$ ). En el segundo año, V superó a todos los tratamientos alcanzando un valor promedio de  $20 \text{ g N m}^{-2}$  ( $p < 0,0001$ ). En el tercer año, V y VCe movilizaron más N respecto de Ce+N, Ce y T con magnitudes de  $10$  y  $9$  vs.  $4$ , y  $2 \text{ g N m}^{-2}$  respectivamente ( $p < 0,0001$ ).

Las relaciones entre C y N movilizado de los residuos para cada tratamiento se presentan en la Figura 39. Todos los tratamientos evidenciaron una relación lineal entre ambas variables (Tabla 12). La pendiente de estas rectas indica la mineralización de N por unidad de C liberado de los residuos ( $\text{g N g C}^{-1}$ ) a lo largo de la experiencia. Estos resultados evidenciaron que V

tuvo la mayor pendiente, y por lo tanto, entregó al sistema más N por unidad de C movilizado de los residuos. Del análisis de comparación de rectas se comprobó que V superó significativamente a Ce ( $p=0,0005$ ), Ce+N ( $p<0,0001$ ), VCe ( $p<0,0001$ ) y T ( $p=0,0703$ ) mientras que el resto de los tratamientos presentaron pendientes similares entre sí.

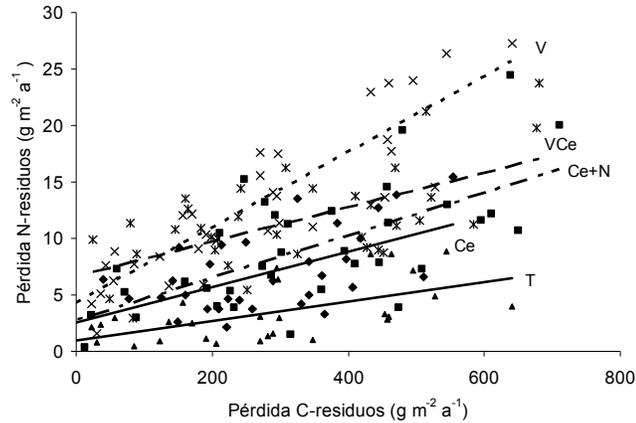


Figura 39: Pérdida anual de N en función de la pérdida de C de los residuos sobre la superficie del suelo ( $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ ) para cada tratamiento: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

Tabla 12: Rectas de regresión de las relaciones entre la pérdida de C (x) y la pérdida de N (y) de los residuos para cada tratamiento.

	Ecuación	$R^2$	valor p (x)	valor p (const)
Ce	$y = 0,018 x + 1,671$	0,48	$< 0,0001$	0,1695
Ce+N	$y = 0,016 x + 3,308$	0,46	$< 0,0001$	0,0469
T	$y = 0,022 x + 0,015$	0,52	$< 0,0001$	0,5979
V	$y = 0,035 x + 3,272$	0,82	$< 0,0001$	0,0005
VCe	$y = 0,016 x + 6,174$	0,43	$< 0,0001$	$< 0,0001$

### 6.3.6) Efecto de los residuos acumulados en superficie sobre la cantidad de N-nitratos, la temperatura y humedad del suelo

Las concentraciones más elevadas de N-nitratos en el suelo en los primeros 0-20 cm de profundidad se registraron el primer año de la experiencia con valores promedio de 16, 17, 19, 22 y 23 ppm en VC, C, C+N, V y T respectivamente. En cambio, las concentraciones promedio de los últimos dos años fueron inferiores ( $p<0,0001$ ) y se mantuvieron en un rango entre 6 y 14 ppm el segundo año y entre 2 y 7 ppm el último año. La concentración de N mineral en el suelo evidenció incrementos asociados con la pérdida de N de los residuos a partir del segundo año de la experiencia (Figura 40).

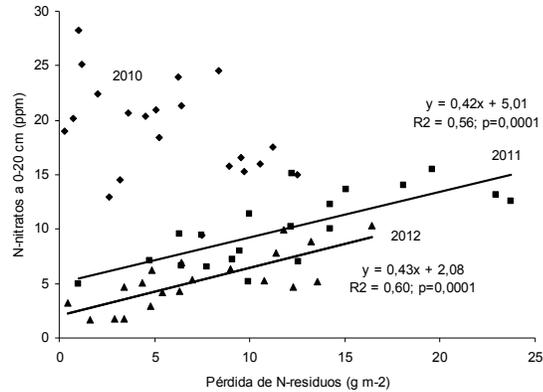
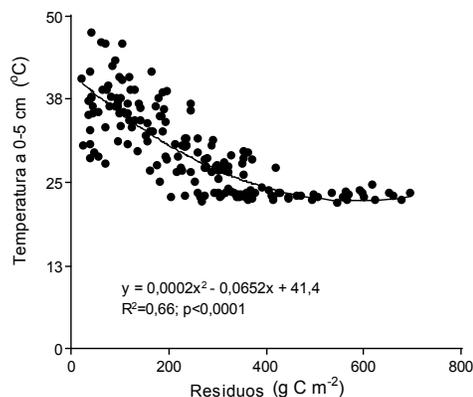


Figura 40: Concentración de N-nitratos a 0-20 cm de profundidad (ppm) al inicio del cultivo de verano (V4-V6) en función de la pérdida de N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo para cada año de la experiencia.

Los residuos acumulados sobre la superficie del suelo tuvieron un efecto importante sobre la temperatura del suelo. En ese sentido, encontramos que esta variable permitió explicar el 66 y 71% de la variabilidad observada en la temperatura del suelo del mes de diciembre a 0-5 y 5-10 cm de profundidad (Figuras 41a y b). Al finalizar la experiencia se registraron diferencias en la temperatura del suelo respecto de los valores al inicio del ensayo del orden de los 15 y 11°C para las profundidades de 0-5 cm y 5-10 cm respectivamente. En la Tabla 13 se presentan los valores promedio para cada tratamiento y año en ambas profundidades. Para el estrato de 0-5 cm, las parcelas sin CC (barbecho) presentaron las temperaturas más altas junto con V el primer año de la experiencia con valores promedio de 42 y 41°C respectivamente. En cambio, los tratamientos con centeno, ese mismo año, tuvieron temperaturas inferiores con una diferencia promedio de 6°C. Recién en el tercer año del ensayo los tratamientos se asemejaron entre sí con temperaturas promedio de 23°C. Por otra parte, no se observó un efecto tratamiento sobre la temperatura a 5-10 cm de profundidad.

a)



b)

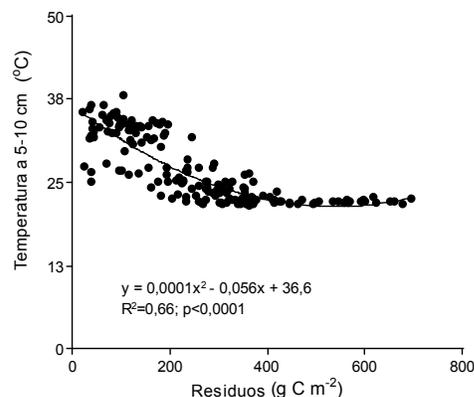


Figura 41: Temperatura edáfica a 5 cm (a) y 10 cm (b) de profundidad en función de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.

centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos y años a 0-5 cm ( $p=0,0044$ ) y 5-10 cm ( $p=0,049$ ).

Tratamiento	0-5 cm	5-10 cm
2010		
Ce	35 b	33 b
Ce+N	36 b	33 ab
T	42 a	35 a
V	41 a	34 ab
VCe	36 b	33 b
2011		
Ce	28 de	25 cd
Ce+N	27 e	24 d
T	31 c	26 c
V	29 cd	26 c
VCe	29 cde	25 cd
2012		
Ce	22,8 f	22,0 e
Ce+N	23,1 f	22,3 e
T	23,0 f	22,0 e
V	23,0 f	22,0 e
VCe	23,0 f	22,0 e

La humedad del suelo en los primeros 20 cm del perfil evidenció diferencias significativas entre tratamientos durante el periodo de recarga del perfil (barbecho) y establecimiento del cultivo de verano (Figura 42). Los valores de humedad aumentaron con las sucesivas campañas. En promedio, los tratamientos con CC presentaron valores de 29 mm y el testigo de 23 mm en diciembre de 2010 ( $p<0,0001$ ), mientras que en diciembre de 2011 estos valores fueron de 38 y 33 mm respectivamente (Tabla anexo A3). Dicho año se registraron diferencias significativas respecto de los tratamientos con centeno ( $p<0,0001$ ). En cambio, en diciembre de 2012, los valores de humedad se mantuvieron en un rango entre 56 y 61 mm y las principales diferencias se observaron entre Ce+N respecto de Ce, T y VCe con valores de 61, 57, 56 y 57 mm respectivamente ( $p<0,0001$ ). A pesar de este incremento en los contenidos de agua del suelo no se pudo comprobar una relación directa entre esta variable y los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.

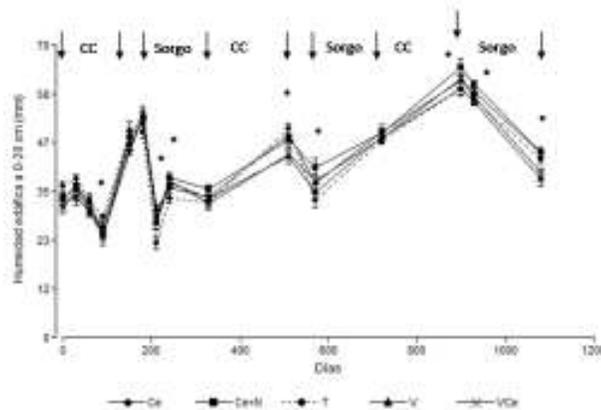


Figura 42: Agua total (mm) en los primeros 20 cm del perfil de suelo para los tres años evaluados. Las letras indican los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las flechas indican inicio y finalización del ciclo de los cultivos y (\*) indica diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha<0,05$ ).

### 6.3.7) Relaciones entre la descomposición de los residuos, su calidad y el ambiente edáfico

En la Tabla 14 se presentan las regresiones múltiples que explicaron las variaciones observadas en la pérdida de MS, C y N de los residuos.

Tabla 14: Regresiones lineales múltiples que explican la descomposición de los residuos en superficie.

y	x	Est.	valor p	R <sup>2</sup> Aj
Pérdida de MS (g m <sup>-2</sup> )	const	720,0	0,2592	0,83
	N rem	-2198,4	<0,0001	
	C/N residuos <sub>i</sub>	8,9	0,0025	
	C/N residuos <sub>f</sub>	-12,5	0,0001	
	DON	244,9	0,0002	
	C-BA	1,5	0,0006	
	H	13,9	0,0119	
	N-nitrato	-132,0	0,1482	
	T5	36,0	0,0312	
	N-BA	-22,3	0,1065	
Pérdida de C (g m <sup>-2</sup> )	const	-379,0	0,1106	0,81
	N rem	-221,9	0,0131	
	C-BA	0,90	<0,0001	
	C-residuo <sub>f</sub>	-0,75	<0,0001	
	C-residuo <sub>i</sub>	0,55	0,0042	
	DON	82,7	0,0017	
	H	7,7	0,0013	
	T5	19,7	0,0022	
	CBM	5,1	0,0142	
	Pérdida de N (g m <sup>-2</sup> )	const	20,9	
N rem		-27,9	<0,0001	
N-residuo <sub>f</sub>		0,35	0,0706	
N-BA		0,90	<0,0001	
C/N sg		-0,15	<0,0001	
C-BA		-0,02	0,0001	
Poros		0,15	0,0013	
DON		1,70	0,0085	
N-nitrato		-2,4	0,0418	
C/N residuo <sub>f</sub>		0,05	0,0950	

*Nrem*: proporción de nitrógeno remanente en los residuos acumulados sobre la superficie del suelo. *C/N residuo<sub>i</sub>*: relación C/N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo al inicio de cada periodo de estudio. *C/N residuo<sub>f</sub>*: relación C/N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo al final de cada periodo de estudio. *DON*: N soluble del suelo a 0-6 cm (g m<sup>-2</sup>). *C-BA*: contenido de C de la biomasa aérea de los CC. *H*: humedad edáfica (mm) a 0-20 cm de profundidad. *N-nitrato*: cantidad de N-nitratos 0-20 cm (g m<sup>-2</sup>). *T5*: temperatura 0-5 cm (°C). *N-BA*: contenido de N de la biomasa aérea de los CC. *C-residuo<sub>i</sub>*: Contenido de C en los residuos iniciales acumulados sobre la superficie del suelo (g m<sup>-2</sup>). *C-residuo<sub>f</sub>*: Contenido de C en los residuos finales acumulados sobre la superficie del suelo (g m<sup>-2</sup>). *CBM*: contenido de C de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 cm de profundidad (g m<sup>-2</sup>). *N-residuo<sub>f</sub>*: Contenido de N en los residuos finales acumulados sobre la superficie del suelo (g m<sup>-2</sup>). *C/N sg*: relación C/N del remanente del cultivo de sorgo. *Poros*: porcentaje de poros llenos de agua a 0-20 cm de profundidad.

### 6.4) Biomasa microbiana del suelo

El pool de CBM representó el 1-1,6% de la materia orgánica total del suelo mientras que NBM constituyó el 0,07-0,15%. Los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo variaron entre 21 y 44 g C m<sup>-2</sup> y entre 1,6 y 4,4 g N m<sup>-2</sup> en los primeros 12 cm del perfil de suelo y la relación C/N microbiana estuvo acotada en un rango entre 10 y 14 (Tabla anexo A18). Al

diferenciar entre estratos de profundidad, el rango de valores para la profundidad de 0-6 cm fue de 13-24 g C m<sup>-2</sup> y 0,9-2,3 g N m<sup>-2</sup> mientras que para 6-12 cm fue de 8-21 g C m<sup>-2</sup> y 0,7-2,5 g N m<sup>-2</sup>.

#### 6.4.1) Efecto de la inclusión de los CC en la rotación (generalidades)

Los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos con y sin CC a partir del primer año de la experiencia. En promedio, los tratamientos con CC tuvieron un 30% más C y un 60% más N en la biomasa microbiana del suelo que el testigo en los primeros 0-6 cm de suelo, mientras que en la profundidad de 6-12 cm, estas proporciones fueron del 20 y 30% respectivamente. Dentro de los tratamientos con CC, las magnitudes más altas de CBM y NBM se alcanzaron en la consociación vicia-centeno en los primeros 6 cm de suelo (24 g C m<sup>-2</sup> y 2,3 g N m<sup>-2</sup> equivalente a 317 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 32 µg N g suelo<sup>-1</sup>), mientras que en la profundidad de 6-12 cm esto ocurrió en el tratamiento con vicia (21 g C m<sup>-2</sup> y 2 g N m<sup>-2</sup> equivalente a 284 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 27 µg N g suelo<sup>-1</sup>). Sin embargo, Ce+N presentó picos máximos de CBM en la profundidad de 0-6 cm y de NBM en la profundidad de 6-12 cm que superaron a los tratamientos mencionados particularmente en el año 2011 (Tabla 15).

Tabla 15: Concentración (µg g<sup>-1</sup>) y contenidos (g m<sup>-2</sup>) de C y N de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 y 6-12 cm de profundidad durante los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años excepto para la variable CBM 6-12 cm (g m<sup>-2</sup>) que indican diferencias entre tratamientos dentro de cada año ( $\alpha < 0.05$ ).

Tratamiento	0-6 cm						6-12 cm									
	CBM (µg g <sup>-1</sup> )		CBM (g m <sup>-2</sup> )		NBM (µg g <sup>-1</sup> )		NBM (g m <sup>-2</sup> )		CBM (µg g <sup>-1</sup> )		NBM (g m <sup>-2</sup> )					
2010																
Ce	262	bc	19	b	26	ab	2,0	abc	150	fg	11	ab	18	def	1,3	efg
Ce+N	213	de	16	cd	19	cd	1,4	def	156	f	12	ab	17	ef	1,3	fg
T	179	e	13	d	12	e	0,9	g	107	h	8	c	9	g	0,7	h
V	245	cd	18	bc	18	cd	1,3	ef	170	ef	13	a	26	abc	1,9	bc
VCe	286	ab	21	ab	23	bcd	1,7	cde	127	gh	9	bc	18	cdef	1,3	efg
2011																
Ce	251	bcd	19	bc	24	abc	1,8	bcd	220	cd	16	bc	18	cdef	1,4	defg
Ce+N	319	a	24	a	26	ab	1,9	abc	272	ab	20	a	33	a	2,5	a
T	207	de	15	cd	16	de	1,2	fg	205	de	15	c	16	f	1,2	fg
V	249	bcd	18	bc	29	ab	2,2	ab	284	a	21	a	27	ab	2,0	b
VCe	286	abc	21	ab	32	a	2,3	a	255	abc	19	ab	24	bcd	1,8	bcd
2012																
Ce	257	bc	19	b	26	ab	1,9	bc	222	cd	17	a	15	f	1,1	g
Ce+N	269	bc	20	b	25	ab	1,8	bc	215	cd	16	a	22	bcde	1,6	cde
T	244	cd	18	bc	19	cd	1,4	ef	213	d	16	a	23	bcd	1,7	bcd
V	284	abc	21	ab	25	ab	1,8	bc	246	abcd	18	a	18	def	1,3	fg
VCe	317	a	24	a	25	ab	1,9	bc	241	bcd	18	a	20	bcdef	1,5	def

#### 6.4.2) Efecto de la profundidad de suelo

Los valores iniciales de CBM fueron considerablemente más altos en los primeros 6 cm del perfil respecto de 6-12 cm con magnitudes promedio de 18 y 11 g m<sup>-2</sup> respectivamente. En

cambio, el segundo año, esta diferencia entre estratos de profundidad fue muy pequeña (19 y 18 g m<sup>-2</sup>) al igual que en el último año de la experiencia (20 y 17 g m<sup>-2</sup>). Sin embargo, se registraron diferencias significativas entre profundidades al finalizar la experiencia en los tratamientos Ce+N y VCe (Figura 43).

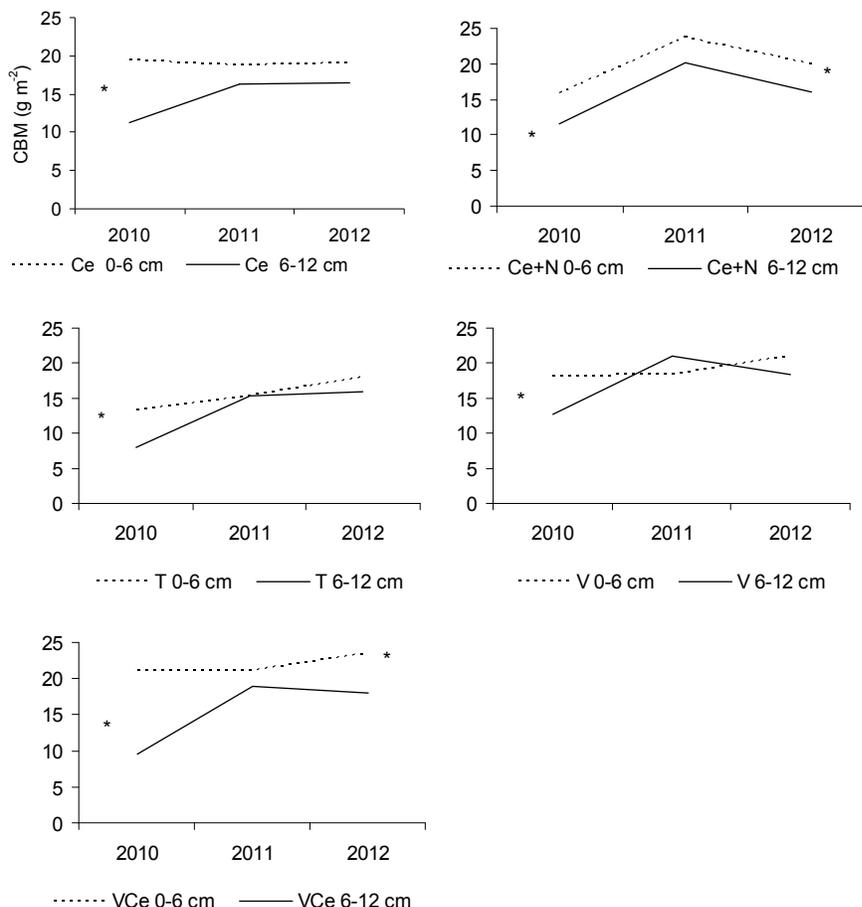


Figura 43: Contenidos de CBM a 0-6 y 6-12 cm de profundidad para cada tratamiento (testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe)). (\*) Indica diferencias entre profundidades dentro de cada año ( $\alpha < 0,05$ ).

Los valores de NBM en los primeros 0-6 cm de suelo no siempre resultaron superiores a los registrados en la profundidad de 6-12 cm (Figura 44). Al inicio de la experiencia se observaron diferencias significativas entre profundidades solamente en los tratamientos Ce y V, sin embargo, en V los contenidos de N fueron superiores en la profundidad de 6-12 cm. Similar comportamiento se registró en Ce+N el segundo año, y en T el último año de la experiencia. VCe y V también evidenciaron diferencias entre profundidades al finalizar el ensayo con valores superiores en la profundidad de 0-6 cm.

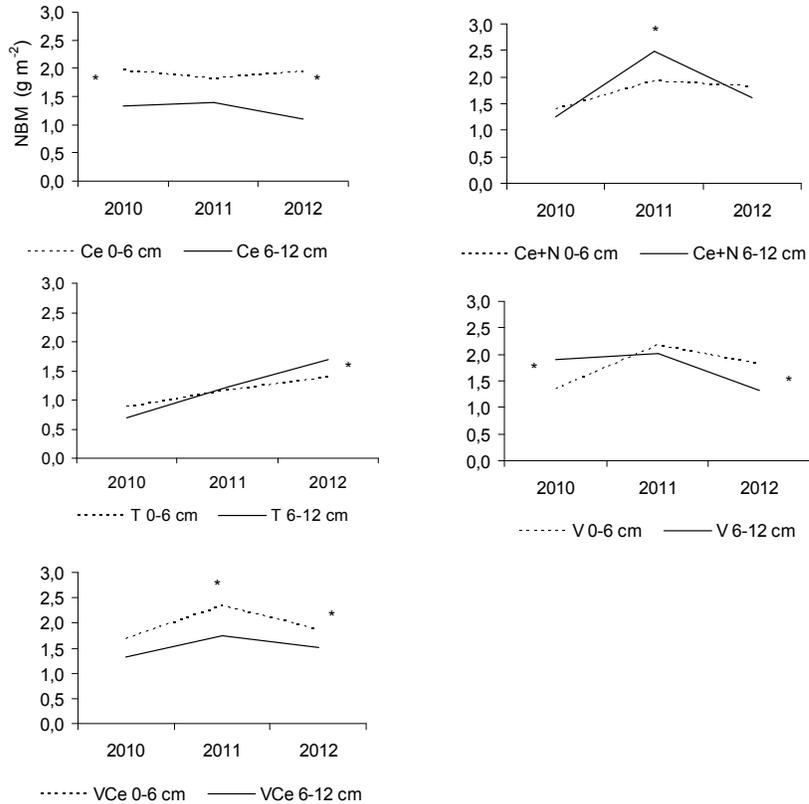


Figura 44: Contenidos de NBM a 0-6 y 6-12 cm de profundidad para cada tratamiento (testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe)). (\*) Indica diferencias entre profundidades dentro de cada año ( $\alpha < 0,05$ ).

#### 6.4.3) Efecto de la inclusión de los CC en la rotación en la profundidad de 0-6 cm

Al inicio de la experiencia los contenidos de CBM y NBM en el tratamiento Ce+N fueron inferiores al tratamiento Ce ( $p=0,0058$ ) sugiriendo un impacto negativo de la fertilización nitrogenada (Tabla 21). Se registraron valores de  $16 \text{ g C m}^{-2}$  y  $1,4 \text{ g N m}^{-2}$  equivalentes a  $213$  y  $19 \mu\text{g g suelo}^{-1}$  para Ce+N y de  $19 \text{ g C m}^{-2}$  y  $2 \text{ g N m}^{-2}$  equivalentes a  $262$  y  $26 \mu\text{g g suelo}^{-1}$  para Ce. En cambio, la combinación vicia-centeno (VCe) presentó valores similares a Ce para ambas variables. Por otro lado, la asimilación de carbono en la consociación fue superior a la observada en la vicia con una diferencia de  $3 \text{ g m}^{-2}$  ( $41 \mu\text{g g suelo}^{-1}$ ) evidenciando una limitación inicial por carbono. En términos del contenido de NBM, si bien la asimilación fue superior en magnitud en VCe respecto de V ( $1,7$  y  $1,3 \text{ g m}^{-2}$  equivalente a  $23$  y  $18 \mu\text{g g suelo}^{-1}$ ), no se observaron diferencias significativas entre estos tratamientos. Todos los tratamientos con CC asimilaron más carbono en la biomasa microbiana respecto del testigo, con excepción de Ce+N. Además, todos los tratamientos con CC asimilaron más nitrógeno que el testigo en la biomasa microbiana del suelo. El segundo año de la experiencia, los tratamientos con centeno fertilizado con urea (Ce+N) y el consociado con vicia (VCe) presentaron los valores

más altos de CBM (24 y 21 g m<sup>-2</sup> equivalente a 319 y 286 µg g suelo<sup>-1</sup>). Además, las magnitudes registradas en Ce+N fueron superiores a las observadas en Ce (p=0,0058) sugiriendo una posible limitación por N. Por otra parte, todos los tratamientos con CC presentaron similares contenidos de NBM en promedio 2,1 g m<sup>-2</sup> (equivalente a 28 µg g suelo<sup>-1</sup>) superiores al testigo (1,2 g m<sup>-2</sup> equivalente a 16 µg g suelo<sup>-1</sup>). El último año, las magnitudes más altas de CBM se registraron en VCe y V (24 y 21 g m<sup>-2</sup> equivalente a 317 y 284 µg g suelo<sup>-1</sup>), observándose diferencias significativas entre VCe y Ce sugiriendo una limitación por N hacia el final de la experiencia. Nuevamente los contenidos de NBM fueron similares entre tratamientos con CC y superaron al testigo.

#### 6.4.4) Efecto de la inclusión de los CC en la rotación en la profundidad de 6-12 cm

El primer año de la experiencia, los contenidos de CBM y NBM fueron similares entre Ce, Ce+N y VCe con valores promedio de 11 g C m<sup>-2</sup> y 1,3 g N m<sup>-2</sup> equivalente a 150 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 18 µg N g suelo<sup>-1</sup> (Tabla 21). Las diferencias entre Ce y T sugieren una limitación inicial por C como se observó en el estrato superior de suelo, con un plus extra en Ce de 3 g C m<sup>-2</sup> que en términos de N fue de 0,7 g N m<sup>-2</sup> (equivalente a 43 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 9 µg N g suelo<sup>-1</sup>). Los contenidos de CBM y NBM en las parcelas consociadas fueron inferiores a los valores hallados en las parcelas con vicia. Ce+N también presentó valores inferiores de NBM respecto de V, sin embargo, las magnitudes de CBM fueron similares entre estos tratamientos. El segundo año, en cambio, si pudimos comprobar diferencias significativas entre Ce+N y Ce (posible limitación por N) tanto en CBM como en NBM. El último año de la experiencia, todos los tratamientos presentaron similares contenidos de CBM, sin embargo, la asimilación de N fue inferior en Ce respecto de T y superior en Ce+N respecto de Ce.

#### 6.4.5) Variaciones anuales de los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo

El comportamiento de CBM en el tiempo varió de acuerdo a la profundidad de suelo (Figura 45a y b). En los primeros 6 cm de suelo, si bien se registró una respuesta positiva en el muy corto plazo asociado al aporte de raíces de los CC, los tratamientos tuvieron una respuesta limitada en el tiempo. Al final de la experiencia los valores de CBM se mantuvieron en un rango entre 18 y 24 g m<sup>-2</sup>. El testigo fue el único tratamiento que mostró un incremento progresivo a lo largo de los tres años del ensayo con diferencias significativas entre los valores inicial y final (13 y 18 g m<sup>-2</sup>). En el tratamiento Ce+N, CBM mostró un incremento de 8 g m<sup>-2</sup> en el periodo 2010-2011 y un descenso de 4 g m<sup>-2</sup> en el periodo 2011-2012, ambos significativos. En cambio, en VCe, V y Ce esta variable se mantuvo estable en el tiempo. Por otra parte, en la profundidad de 6-12 cm se observó una fase inicial de rápida respuesta al

aporte de sustrato, y una segunda fase de crecimiento más lento en la cual los tratamientos se igualaron en magnitud en un rango de valores entre 16 y 18 g C m<sup>-2</sup>.

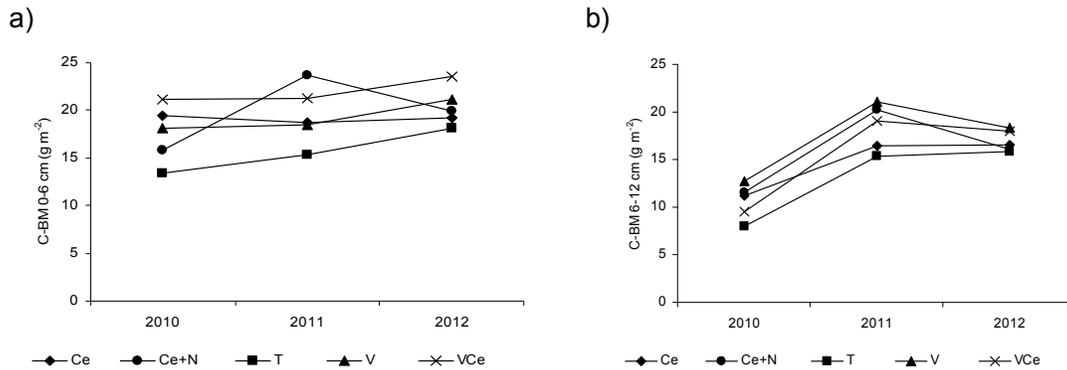


Figura 45: Variación anual de los contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo (g m<sup>-2</sup>) en 0-6 (a) y 6-12 cm (b) de profundidad de suelo durante los tres años de la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

A pesar de la respuesta limitada en la asimilación de carbono en los primeros 0-6 cm de profundidad, los contenidos de NBM en los tratamientos con nitrógeno (VCe, V y Ce+N) aumentaron significativamente entre el período 2010-2011 en esta profundidad de suelo (Figura 46a). En cambio, en Ce los valores fueron estables a lo largo de los tres años y el testigo solo presentó diferencias significativas entre el inicio y el final del ensayo. En la profundidad de suelo de 6-12 cm, cada tratamiento tuvo un comportamiento particular en el tiempo (Figura 46b). El testigo tuvo incrementos progresivos de NBM entre 0,7 y 1,7 g m<sup>-2</sup>, mientras que Ce y VCe presentaron valores similares de esta variable los tres años. En cambio, en V los valores se mantuvieron estables entre 2010 y 2011 y disminuyeron entre 2011-2012. El tratamiento fertilizado con urea tuvo un incremento del N asimilado entre 2010-2011 y luego disminuyó entre 2011-2012.

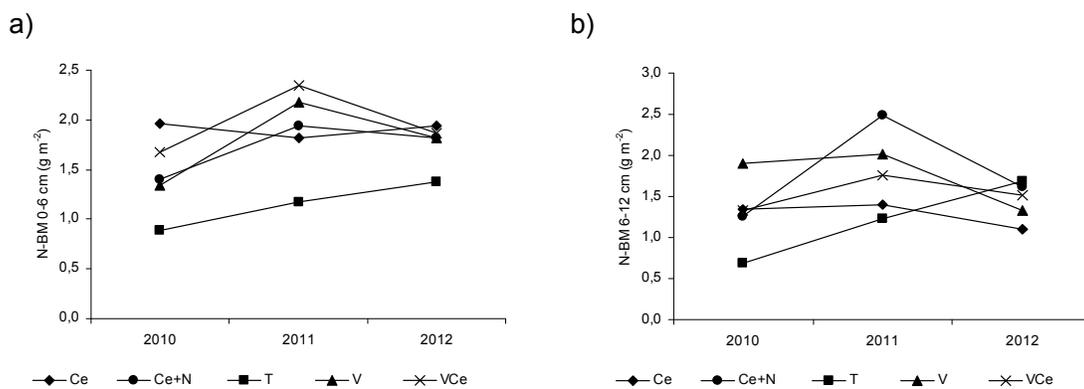


Figura 46: Variación anual de los contenidos de N de la biomasa microbiana del suelo (g m<sup>-2</sup>) en 0-6 (a) y 6-12 cm (b) de profundidad de suelo durante los tres años de la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

#### 6.4.6) Relación entre la biomasa microbiana del suelo y el aporte de residuos sobre la superficie del suelo y residuos de raíces

Incrementos en los contenidos de carbono de la biomasa microbiana estuvieron asociados con aumentos en los contenidos de N de este pool en ambas profundidades de suelo (Figura 47a y b).

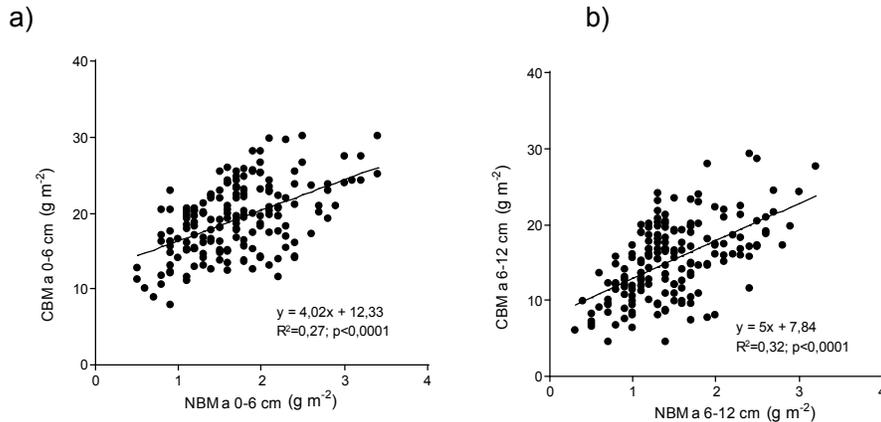


Figura 47: Contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo en función de su contenido de N ( $\text{g m}^{-2}$ ) en las profundidades de 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b).

No se comprobó relación entre la biomasa microbiana y la biomasa aérea de los cultivos de cobertura. Tanto la pérdida de materia seca de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo como las cantidades iniciales y finales de los mismos explicaron solamente un 18-22% de la variación observada en CBM en los primeros 0-6 cm del perfil (Tabla 16 modelos 2-4). De manera similar, la pérdida de materia seca explicó muy poco la variabilidad en NBM a 0-6 cm de profundidad ( $R^2=0,24$ ; Tabla 23 modelo 5). La relación C/N de los residuos y de la biomasa aérea de los CC no fue un buen indicador del estatus de C y N en la biomasa microbiana del suelo. Por otra parte, la movilización de C y N de los residuos se relacionó positivamente con CBM y NBM explicando entre el 25-28% de su variación en 0-6 cm y entre 11-50% en 6-12 cm (Tabla 23 modelos 6-13).

Tabla 16: Modelos de regresión múltiple que relacionan la biomasa microbiana del suelo y la descomposición de residuos en superficie (las unidades de las variables fueron en  $\text{g m}^{-2}$ ).

Modelo	Ecuación	$R^2$	valor p
2	CBM (0-6 cm) = 0,0044 Pérdida MS + 16,75	0,18	0,0009
3	CBM (0-6 cm) = 0,01 C-Residuo inicial + 16,74	0,18	0,0009
4	CBM (0-6 cm) = 0,01 C-Residuo final + 15,27	0,22	0,0002
5	NBM (0-6 cm) = 0,00069 Pérdida MS + 1,3	0,24	0,0002
6	CBM (0-6 cm) = 0,38 Pérdida N + 16,24	0,28	<0,0001
7	NBM (0-6 cm) = 0,05 Pérdida N + 1,3	0,25	0,0001
8	CBM (0-6 cm) = 0,01 Pérdida C + 16,46	0,25	0,0001
9	NBM (0-6 cm) = 0,0016 Pérdida C + 1,29	0,28	<0,0001
10	CBM (6-12 cm) = 0,44 Pérdida N + 11,58	0,28	<0,0001
11	NBM (6-12 cm) = 0,03 Pérdida N + 1,21	0,11	0,0115
12	CBM (6-12 cm) = 0,02 Pérdida C + 10,47	0,51	<0,0001
13	NBM (6-12 cm) = 0,001 Pérdida C + 1,21	0,12	0,0008

Por otra parte, las raíces de los CC explicaron en una mayor proporción la dinámica del carbono en la biomasa microbiana del suelo en ambas profundidades de suelo estudiadas (Figura 48a y b). De acuerdo con estas regresiones, el contenido de C-BRT de los CC explicó el 46% y el 61% de la variación observada en CBM a 0-6 cm ( $p=0.0003$ ) y 6-12 cm ( $p<0.0001$ ). Para las condiciones de nuestra experiencia la biomasa microbiana del suelo mostró incrementos lineales por el aporte de C-BRT hasta un valor máximo de 102 y 35  $\text{g m}^{-2}$  para 0-6 y 6-12 cm. Por encima de estos niveles la biomasa microbiana no mostró variaciones por el agregado de este sustrato y se estabilizó en magnitudes de 20,1 y 17,6  $\text{g m}^{-2}$ . Las ecuaciones de las regresiones se presentan en la Tabla 17.

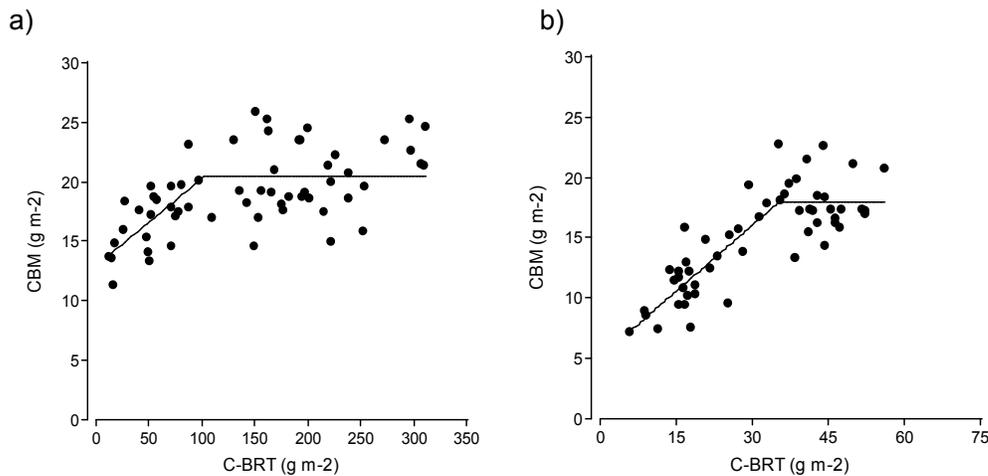


Figura 48: Contenidos de carbono de la biomasa microbiana del suelo en función del C-raíces de los cultivos de cobertura ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades a) 0-6 cm y b) 6-12 cm.

Tabla 17: Ecuaciones de regresión del modelo “un tramo con plateau” que relacionan los contenidos de carbono de la biomasa microbiana del suelo y de la biomasa de raíces para las profundidades 0-6 y 6-12 cm.

Modelo	Ecuación	$R^2$	valor p
14	CBM (0-6 cm) = $13,0 + 0,07 \text{ C-BRT}$ (C-BRT < 102) CBM (0-6 cm) = 20,1 (C-BRT > 102)	0,46	0,0003
15	CBM (6-12 cm) = $5,0 + 0,36 \text{ C-BRT}$ (C-BRT < 35) CBM (6-12 cm) = 17,6 (C-BRT > 35)	0,61	<0,0001

Similares relaciones se obtuvieron entre NBM y N-BRT en los primeros 0-6 cm de suelo (Figura 49a). Para las condiciones de la experiencia la biomasa microbiana del suelo mostró incrementos lineales por el aporte de N-BRT hasta un valor máximo de 3,67  $\text{g m}^{-2}$ . Por encima de estos niveles la biomasa microbiana no mostró variaciones por el agregado de este sustrato y se estabilizó en magnitudes de 1,9  $\text{g m}^{-2}$ . Por otra parte, en la profundidad de 6-12 cm la relación entre estas variables fue lineal a lo largo de toda la experiencia y explicó el 39% de

la variación en NBM (Figura 49b). Las ecuaciones de las regresiones se presentan en la Tabla 18.

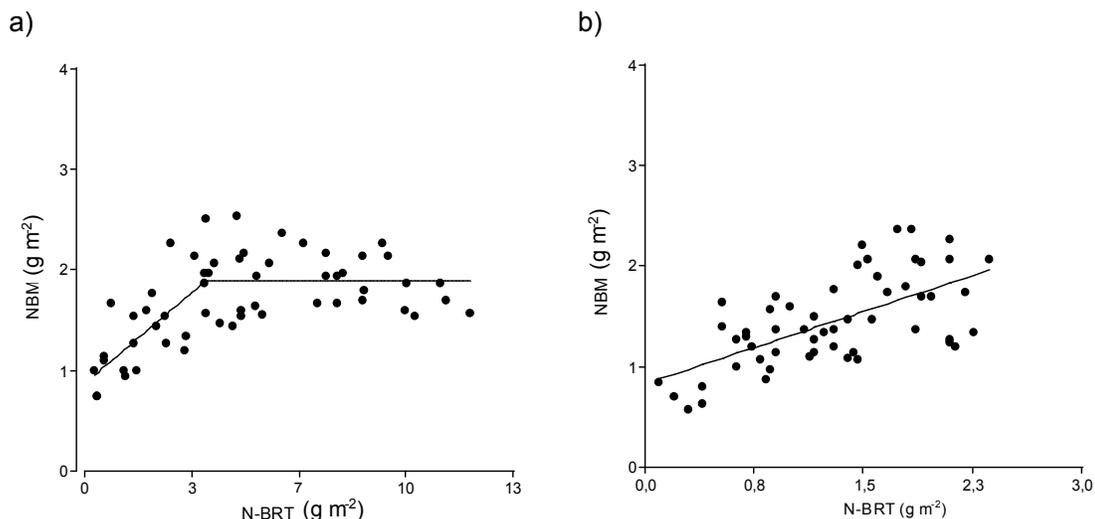


Figura 49: Contenido de N de la biomasa microbiana del suelo en función del N-raíces de los CC ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades a) 0-6 cm y b) 6-12 cm.

Tabla 18: Ecuaciones de regresión del modelo “un tramo con plateau” que relacionan los contenidos de carbono de la biomasa microbiana del suelo y de la biomasa de raíces para las profundidades 0-6 y 6-12 cm.

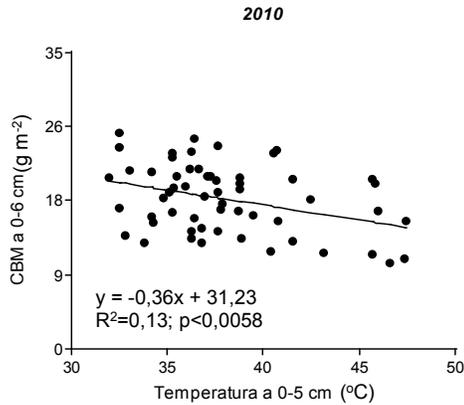
Modelo	Ecuación	$R^2$	valor p
16	$\text{NBM (0-6 cm)} = 0,87 + 0,28 \text{ N-BRT (N-BRT < 3,67)}$ $\text{NBM (0-6 cm)} = 1,9 \text{ (N-BRT > 3,67)}$	0,43	0,0003
17	$\text{NBM (6-12 cm)} = 0,48 \text{ N-BRT} + 0,83$	0,39	<0,0001

#### 6.4.7) Efecto del ambiente sobre los contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo

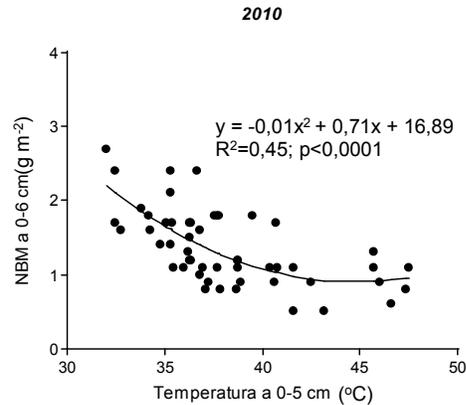
Las temperaturas registradas en los primeros 5 cm de suelo al inicio del cultivo de verano estuvieron acotadas en un rango entre 23 y 41°C. Los valores máximos correspondieron a los tratamientos con menor cobertura sobre la superficie del suelo (T y V) el primer año del ensayo, mientras que los valores más bajos se registraron al final de la experiencia sin diferencias significativas entre tratamientos con o sin CC y se encontraron en un rango entre 23 y 25°C. Se comprobaron relaciones negativas entre la biomasa microbiana del suelo (CBM y NBM) y la temperatura en los primeros 0-6 cm de profundidad el primer año (Figura 50a y b) y solo con CBM el segundo año de la experiencia (Figura 50c y d). En cambio, el tercer año estas variables no se relacionaron entre sí. En la profundidad de 6-12 cm no se comprobó ninguna relación significativa entre estas variables en ninguno de los tres años evaluados y las temperaturas estuvieron acotadas en un rango entre 35-33°C el primer año, entre 26-24°C

el segundo año, mientras que el tercer año todos los tratamientos registraron una temperatura promedio de 22°C.

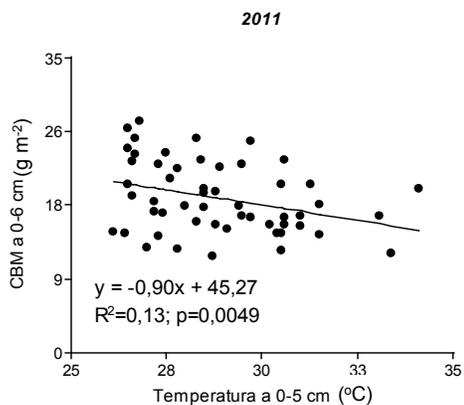
a)



b)



c)



d)

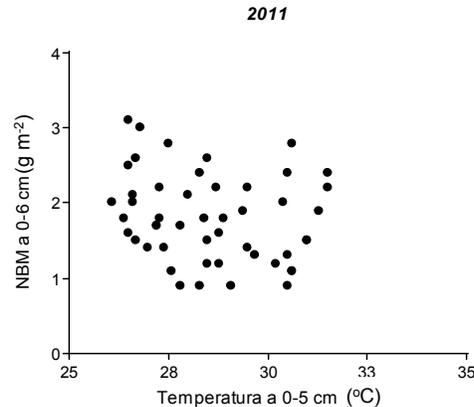


Figura 50: Contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo en función de la temperatura edáfica en los primeros 0-6 cm de suelo determinadas al inicio del cultivo de verano para el primer y segundo año de la experiencia (2010-2011).

Por otra parte, el contenido de agua del suelo (0-20 cm) explicó muy poco la variación observada en la biomasa microbiana ( $R^2=0,04$ ;  $y=0,27x+197,1$ ;  $p=0,0057$ ). Sin embargo, la aireación del suelo estimada a través de la cantidad de poros llenos de agua (0-20 cm), que ha sido muy utilizada como estimador de la actividad biológica del suelo, presentó relaciones cuadráticas con la biomasa microbiana del suelo (Figuras 51) y con los contenidos de N-nitratos (Figura 52). Además, se registraron relaciones lineales negativas entre CBM y la disponibilidad de N-nitratos en el suelo (Figura 53). Estas regresiones sugieren que la asimilación de C y N aumentó a medida que los poros se llenaron de agua, asociado también

a la utilización de N-nitratos en el suelo, hasta alcanzar un óptimo por encima del cual la disponibilidad de oxígeno limitaría la actividad biológica del suelo. Por otra parte, el efecto conjunto de las variables ambientales sobre la biomasa microbiana del suelo estuvo explicado por los modelos de regresión múltiple que se presentan en la Tabla 19.

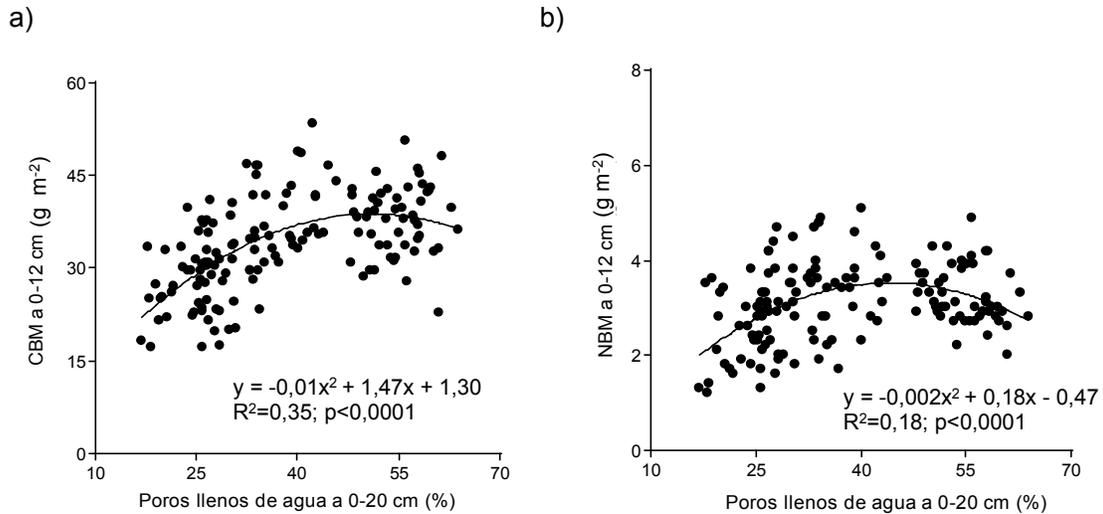


Figura 511: Contenidos de C y N de la biomasa microbiana del suelo a 0-12 cm de profundidad ( $\text{g m}^{-2}$ ) en función del porcentaje de poros llenos de agua en los primeros 0-20 cm de suelo.

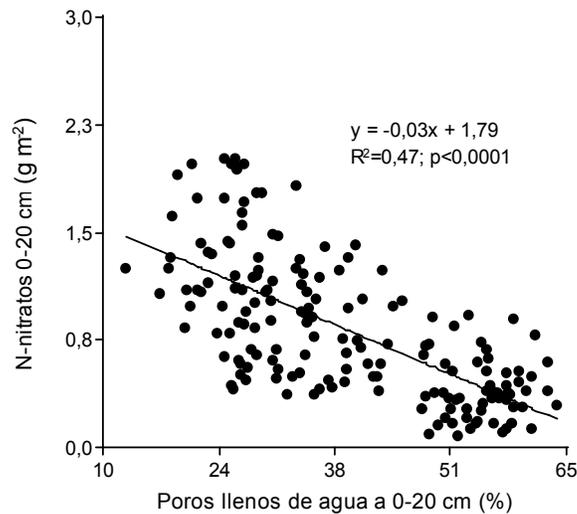


Figura 52: Contenido de N-nitratos ( $\text{g m}^{-2}$ ) en función del porcentaje de poros llenos de agua a 0-20 cm de profundidad de suelo.

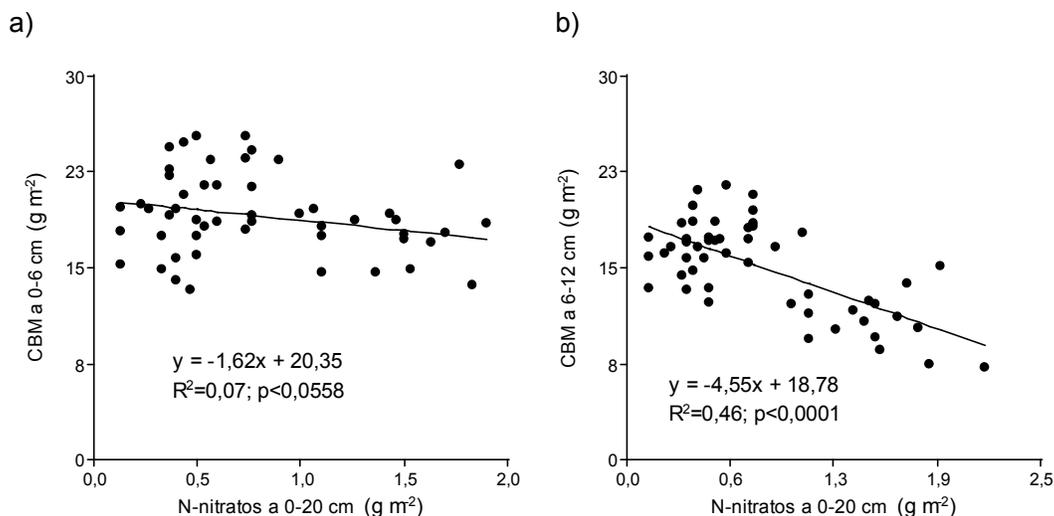


Figura 53: C asimilado en la biomasa microbiana del suelo en las profundidades de 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) en función de la disponibilidad de N-nitratos ( $\text{g m}^{-2}$ ).

Tabla 19: Modelos de regresión múltiple para la biomasa microbiana del suelo y el ambiente edáfico en ambas profundidades de estudio (0-6 y 6-12 cm).

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	valor p	R <sup>2</sup> Aj
18	CBM a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	29,82	<0,0001	0,29
		T5	-0,47	<0,0001	
		N-nitratos	3,77	0,0071	
19	NBM a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	5,18	<0,0001	0,2
		T5	-0,1	0,0006	
		N-nitratos	0,53	0,0187	
		P	-0,02	0,0399	
20	CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	42,46	<0,0001	0,65
		T10	-0,96	<0,0001	
		H	-0,09	0,0008	
		N-nitratos	2,75	0,0412	
21	NBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	3,24	<0,0001	0,19
		T10	-0,06	0,007	
		H	-0,01	0,0192	
		N-nitratos	0,33	0,1	

Donde:

N-nitratos = N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )

T5 = Temperatura del suelo a 0-5 cm ( $^{\circ}\text{C}$ )

T10 = Temperatura del suelo a 5-10 cm ( $^{\circ}\text{C}$ )

H = Humedad a 0-20 cm (mm)

P: Poros llenos de agua a 0-20 cm (%)

## 6.5) Materia orgánica soluble

### 6.5.1) Efecto de los CC sobre la materia orgánica soluble

La inclusión de los CC tuvo un efecto en el corto plazo sobre las concentraciones y los contenidos de C y N de la materia orgánica soluble (Tabla 20). El primer año de la experiencia, los tratamientos con CC presentaron magnitudes de C y N soluble superiores a T ( $p=0,0282$ ), sin embargo, tanto en el segundo como en el tercer año no se registraron diferencias entre tratamientos. Los valores de estas variables estuvieron acotados en un rango entre 1,5-10,4 g C m<sup>-2</sup> y entre 0,2-0,7 g N m<sup>-2</sup> en la profundidad de 0-6 cm (equivalente a 20-140 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 3,2-9 µg N g suelo<sup>-1</sup>) mientras que en la profundidad de 6-12 cm estos valores fueron de 1,8-8,6 g C m<sup>-2</sup> y 0,2-1 g N m<sup>-2</sup> (equivalente a 25-116 µg C g suelo<sup>-1</sup> y 3,2-12,9 µg N g suelo<sup>-1</sup>).

Tabla 20: Concentración (µg g suelo<sup>-1</sup>) y contenidos (g m<sup>-2</sup>) de C y N de la materia orgánica soluble a 0-6 y 6-12 cm de profundidad de suelo para los 3 años de la experiencia. Los tratamientos fueron testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos dentro de cada año ( $\alpha < 0.05$ ).

Tratamiento	DOC 0-6 cm		DOC 0-6 cm		DOC 6-12 cm		DOC 6-12 cm		DON 0-6 cm		DON 0-6 cm		DON 6-12 cm		DON 6-12 cm	
	(µg g suelo <sup>-1</sup> )		(g m <sup>-2</sup> )		(µg g suelo <sup>-1</sup> )		(g m <sup>-2</sup> )		(µg g suelo <sup>-1</sup> )		(g m <sup>-2</sup> )		(µg g suelo <sup>-1</sup> )		(g m <sup>-2</sup> )	
2010																
Ce	116	a	8,7	a	112	a	8,5	a	9,4	a	0,7	a	10,3	a	0,8	a
Ce+N	121	a	9,0	a	108	a	7,9	a	6,3	a	0,5	a	8,6	a	0,6	a
T	84	b	6,3	b	116	a	8,6	a	7,1	a	0,5	a	12,9	a	1,0	a
V	140	a	10,4	a	97	a	7,3	a	7,5	a	0,6	a	9,7	a	0,7	a
VCe	132	a	9,8	a	111	a	8,2	a	9,0	a	0,7	a	12,4	a	0,9	a
2011																
Ce	42	a	3,1	a	41	a	3,0	a	3,8	a	0,3	a	7,7	a	0,6	a
Ce+N	39	a	3,3	a	56	a	3,3	a	6,9	a	0,6	a	7,2	a	0,6	a
T	20	a	1,5	a	25	a	1,8	a	5,1	a	0,4	a	3,9	a	0,3	a
V	43	a	3,0	a	26	a	1,8	a	5,9	a	0,5	a	7,2	a	0,6	a
VCe	34	a	2,5	a	28	a	2,2	a	4,6	a	0,3	a	5,1	a	0,4	a
2012																
Ce	30	a	2,2	a	28	a	2,1	a	3,2	a	0,2	a	4,0	a	0,3	a
Ce+N	43	a	3,2	a	26	a	2,0	a	3,4	a	0,3	a	3,2	a	0,2	a
T	37	a	2,8	a	30	a	2,2	a	4,1	a	0,3	a	3,8	a	0,3	a
V	31	a	2,3	a	27	a	2,0	a	4,4	a	0,3	a	4,1	a	0,3	a
VCe	32	a	2,4	a	29	a	2,1	a	5,0	a	0,4	a	3,6	a	0,3	a

### 6.5.2) Efecto de la profundidad de suelo sobre la materia orgánica soluble

En general, los contenidos de C soluble en los primeros 0-6 cm de suelo superaron en magnitud a los observados en la profundidad de 6-12 cm, excepto en el testigo el primer año de la experiencia. Las principales diferencias significativas entre profundidades se registraron el primer año en los tratamientos T y V (Figura 54). En contraposición, los contenidos de N soluble fueron superiores en la profundidad de 6-12 cm el primer año y en algunos casos también en el segundo año, sin embargo, solamente se detectaron diferencias significativas entre profundidades en el tratamiento T el primer año (Figura 55). Por otra parte, el tercer año de la experiencia, los contenidos de C y N soluble fueron similares entre profundidades de suelo.

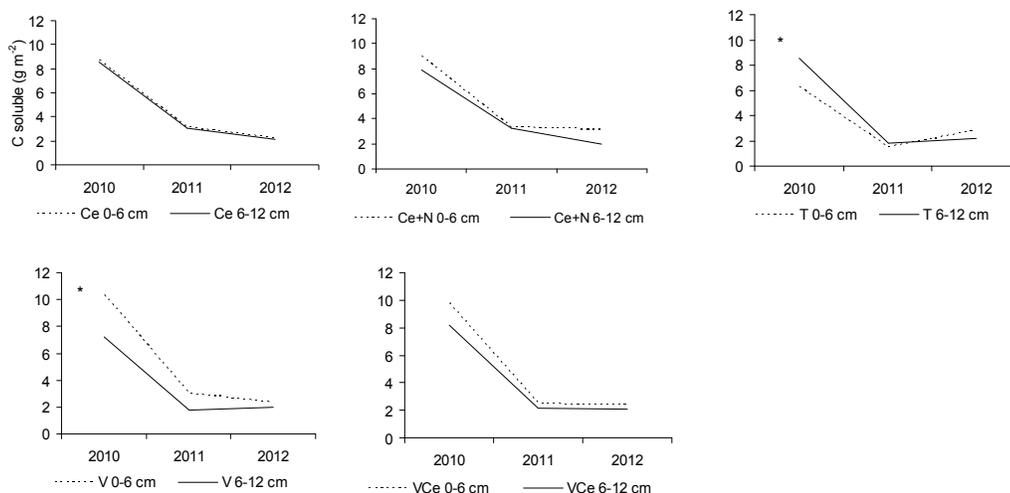


Figura 54: Contenidos de carbono soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 y 6-12 cm a lo largo de los 3 años de la experiencia. Los tratamientos fueron testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) (\*) Indica diferencias entre profundidades de suelo ( $\alpha=0.05$ ).

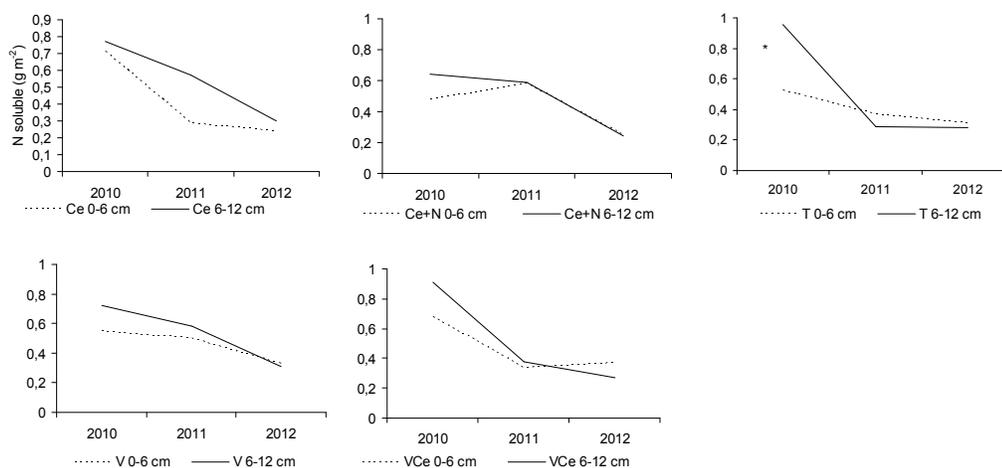


Figura 55: Contenidos de nitrógeno soluble ( $\text{g m}^{-2}$ ) para las profundidades 0-6 y 6-12 cm a lo largo de los 3 años de la experiencia. Los tratamientos fueron testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). (\*) Indica diferencias entre profundidades de suelo ( $\alpha<0.05$ ).

### 6.5.3) Variaciones anuales de la materia orgánica soluble

Todos los tratamientos mostraron una tendencia similar en el comportamiento del C soluble en el suelo a lo largo del tiempo en ambas profundidades de suelo, con valores superiores el primer año, que disminuyeron pronunciadamente el segundo ( $p<0,0001$ ), y se estabilizaron al final de la experiencia (Tabla 27). En general, la relación C/N de la materia orgánica soluble disminuyó significativamente en el tiempo en los primeros 0-6 cm de suelo con valores promedio de los tratamientos de 13, 9 y 7 para los años 2010, 2011 y 2012 respectivamente

( $p=0,0006$ ). En cambio, en la profundidad de 6-12 cm, solamente se registró una disminución significativa entre el primero y el segundo año ( $p=0,0016$ ). En promedio, esta relación fue de 10, 8 y 6 para cada año de la experiencia (Tabla anexo A18).

#### 6.5.4) Efecto del ambiente sobre la materia orgánica soluble

La temperatura y la humedad edáfica fueron variables ambientales que explicaron las variaciones observadas en la materia orgánica soluble. Los modelos se detallan en la Tabla 21.

Tabla 211: Modelos de regresión múltiple para la materia orgánica soluble en relación a factores ambientales en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm.

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	valor p	R <sup>2</sup> Aj
22	C soluble a 0-6 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	-20,08	<0,0001	0,84
		T5	0,66	<0,0001	
		H	0,13	<0,0001	
23	C soluble a 6-12 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	-13,92	<0,0001	0,84
		T10	0,59	<0,0001	
		H	0,05	0,0003	
24	N soluble a 0-6 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	-0,04	0,6836	0,24
		T5	0,01	0,0001	
25	N soluble a 6-12 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	-0,57	0,0001	0,54
		T10	0,04	<0,0001	

Donde:

T5 = Temperatura del suelo a 0-5 cm (°C)

T10 = Temperatura del suelo a 5-10 cm (°C)

H = Humedad a 0-20 cm (mm)

#### 6.5.5) Relación entre la materia orgánica soluble, la biomasa microbiana del suelo y los residuos (aéreos y raíces)

La materia orgánica soluble puede sufrir aportes por el metabolismo microbiano, ya sea por el reciclado de su propia biomasa y/o por la descomposición de los residuos vegetales, además de su rol como sustrato para los mismos. Teniendo en cuenta esta dinámica, se obtuvieron los modelos 26 y 27 para la profundidad de 0-6 cm y los modelos 28 y 29 para la profundidad de 6-12 cm que se detallan en la Tabla 22.

Tabla 222: Modelos de regresión múltiple para la materia orgánica soluble en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm.

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	valor p	R <sup>2</sup> Aj
26	C soluble a 0-6 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	12,27	<0,0001	0,58
		C-residuos <sub>i</sub>	-0,01	0,0002	
		Pérdida-C	-0,01	0,0021	
		BRT	0,0044	0,0309	
		CBM	-0,2	0,0876	
27	N soluble a 0-6 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	0,84	<0,0001	0,36
		C-residuos <sub>i</sub>	-0,00071	0,0001	
		C/N-residuos <sub>f</sub>	-0,01	0,0025	
28	C soluble a 6-12 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	14,7	<0,0001	0,73
		CBM	-0,47	<0,0001	
		C/N-residuos <sub>i</sub>	-0,06	0,0122	
		C-BRT	-0,04	0,0661	
29	N soluble a 6-12 cm (g m <sup>-2</sup> )	const	0,65	<0,0001	0,72
		C-residuos <sub>i</sub>	-0,0004	0,0062	
		Nrem	0,63	<0,0001	
		C/N-residuos <sub>i</sub>	-0,01	0,0018	
		C/N raices	-0,01	0,0165	

Donde:

CBM: contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo (g m<sup>-2</sup>).

BRT: Biomasa de raíces totales de los CC (g MS m<sup>-2</sup>).

Pérdida-C: cantidad de carbono liberado durante la descomposición de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo (g m<sup>-2</sup>).

C-residuos<sub>i</sub>: contenido de carbono de los residuos iniciales sobre la superficie del suelo (g m<sup>-2</sup>).

C/N-residuos<sub>f</sub>: relación C/N de los residuos finales.

C/N-residuos<sub>i</sub>: relación C/N de los residuos iniciales.

C-BRT: contenido de carbono de la biomasa de raíces totales de los CC (g m<sup>-2</sup>).

C/N raices: relación C/N de la biomasa de raíces totales determinada al final del ciclo de los CC.

Nrem: Proporción de N remanente en los residuos acumulados sobre la superficie del suelo.

Además, se comprobaron relaciones lineales entre la biomasa microbiana del suelo y el C soluble en ambas profundidades de suelo (Figura 56). Solamente pudimos comprobar una relación significativa entre el C de la biomasa microbiana y el N soluble en la profundidad de 6-12 cm (Figura 57).

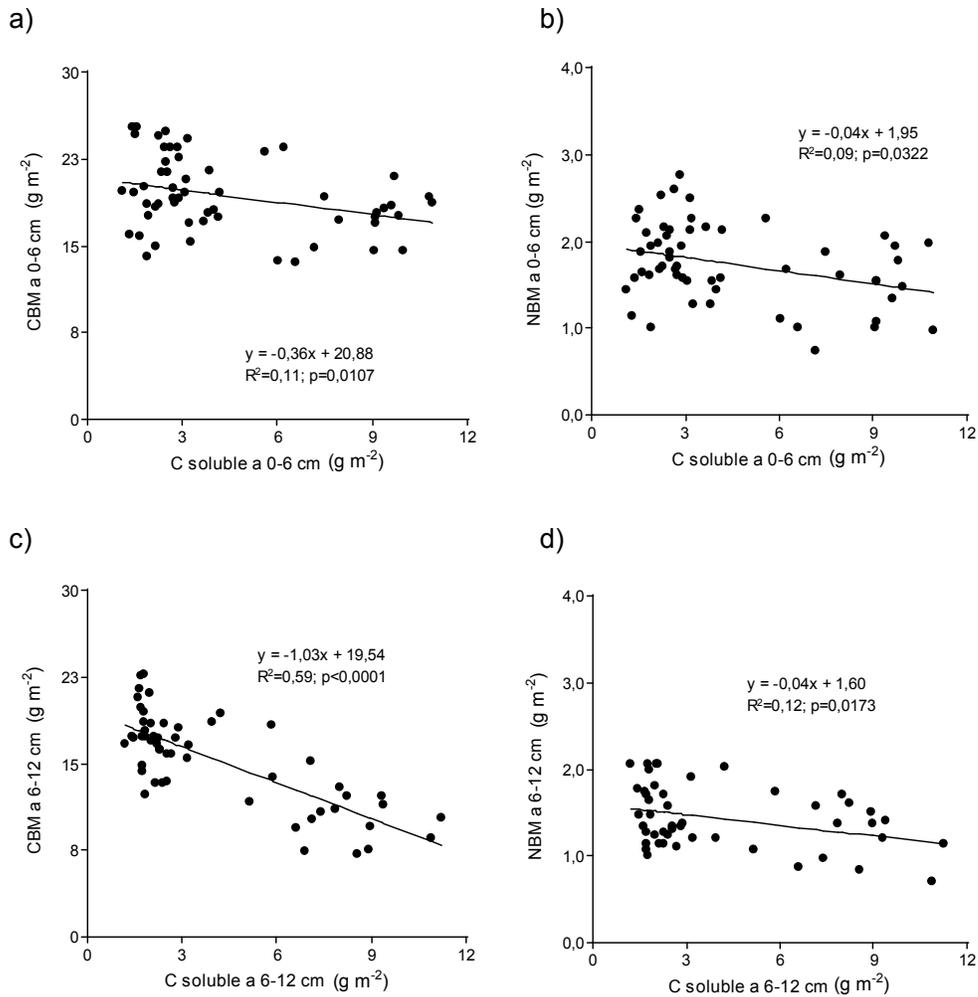


Figura 56: Carbono de la biomasa microbiana del suelo en función del C soluble para las profundidades 0-6 (a y b) y 6-12 cm (c y d).

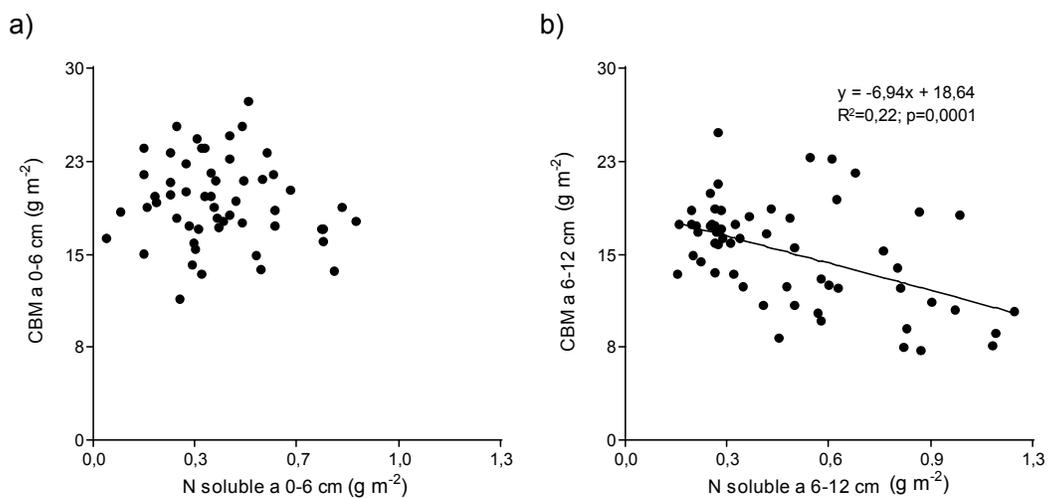


Figura 57: Carbono de la biomasa microbiana del suelo en función del N soluble para las profundidades 0-6 (a) y 6-12 cm (b).

### 6.5.6) Relación entre los pools de N orgánico soluble y N inorgánico (nitratos)

Se comprobó una relación lineal entre el N soluble en los primeros 0-12 cm y la disponibilidad de N-nitratos en la profundidad de 0-20 cm (Figura 58). El tamaño de estos pools y su dinámica en el tiempo fue similar a lo largo de la experiencia en todas las secuencias de cultivo (Figura 59).

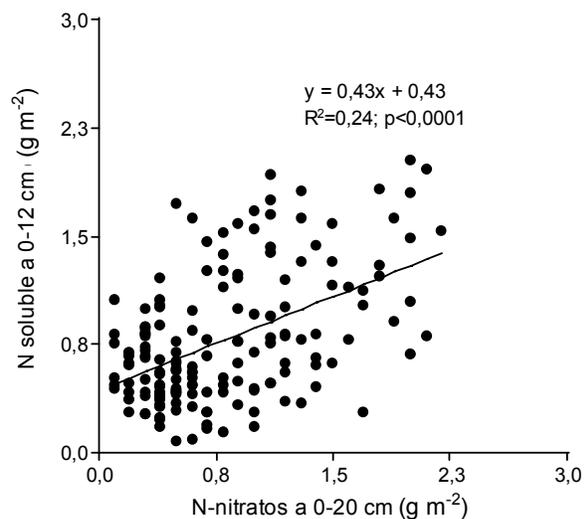


Figura 58: Nitrógeno soluble del suelo a 0-12 cm en función del contenido de N-nitratos a 0-20 cm de profundidad (N=180).

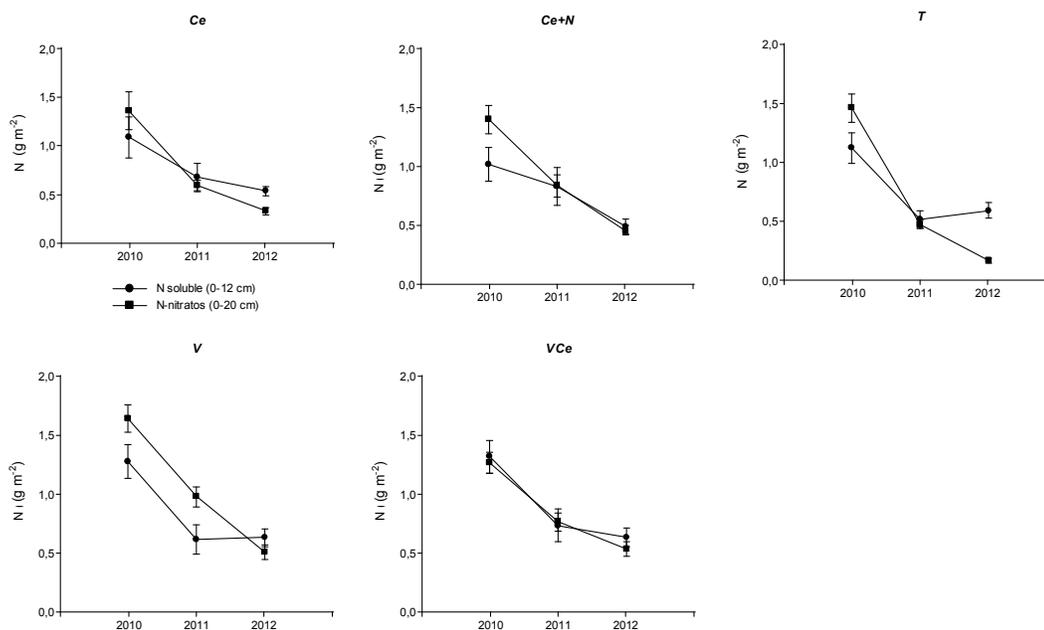


Figura 59: Variaciones anuales del N soluble (0-12 cm) y el N-nitratos (0-20 cm) para cada tratamiento a lo largo de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

### 6.5.7) Tasas de mineralización de N

Las tasas de mineralización bruta aparente de N determinadas por el método de balance para los primeros 0-20 cm de profundidad estuvieron acotadas en un rango entre 0,004 y 0,05 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (Figura 60a). Se comprobó interacción tratamiento x año ( $p=0,0048$ ). El tratamiento V presentó las tasas más altas el primer y tercer año de la experiencia (0,05 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>). Además, el primer año, VCe y Ce superaron en magnitud a T y Ce+N mientras que al finalizar el ensayo, los tratamientos Ce, Ce+N y T presentaron tasas similares entre sí e inferiores a V. Dicho año, VCe superó en magnitud a Ce y a Ce+N, sin embargo, no se registraron diferencias significativas respecto de T y V. El segundo año de la experiencia, no se observaron diferencias entre ninguno de los tratamientos. Las variaciones anuales observadas en V y VCe resultaron significativas ( $p=0,0048$ ), y en el caso particular de T, esto ocurrió solamente entre el segundo y el tercer año. En cambio, Ce y Ce+N presentaron tasas similares de mineralización bruta entre los tres años.

Las tasas de mineralización neta de N se obtuvieron a partir de la diferencia entre la mineralización bruta y la cantidad de N en la biomasa microbiana del suelo cuantificada en los primeros 0-12 cm de profundidad (Figura 60b). El rango de valores para la experiencia estuvo acotado entre -0,01 y 0,04 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Valores negativos sugieren que en el balance entre los procesos de mineralización e inmovilización de N favoreció la inmovilización de N en el suelo, mientras que valores positivos sugieren lo opuesto. Se comprobó interacción tratamiento x año significativa ( $p=0,0041$ ). Las diferencias entre tratamientos se observaron en el primer y último año con las tasas netas más altas en V. Se registraron valores negativos el primer año para Ce+N con diferencias significativas respecto de Ce, VCe y V. El segundo año, no se encontraron diferencias entre tratamientos. Las tasas de mineralización neta de N variaron significativamente entre años en los tratamientos VCe y V mientras que en T solamente el incremento entre el segundo y el tercer año resultó significativo. El resto de los tratamientos no evidenció variaciones de esta tasa. Por otra parte, la tasa de mineralización neta de N presentó variaciones anuales significativas. Los tratamientos V y VCe mostraron una caída en las tasas de mineralización neta el segundo año ( $p<0,0001$ ). Todos los tratamientos excepto Ce+N evidenciaron un incremento entre el segundo y el tercer año de la experiencia (Tabla anexo A21).

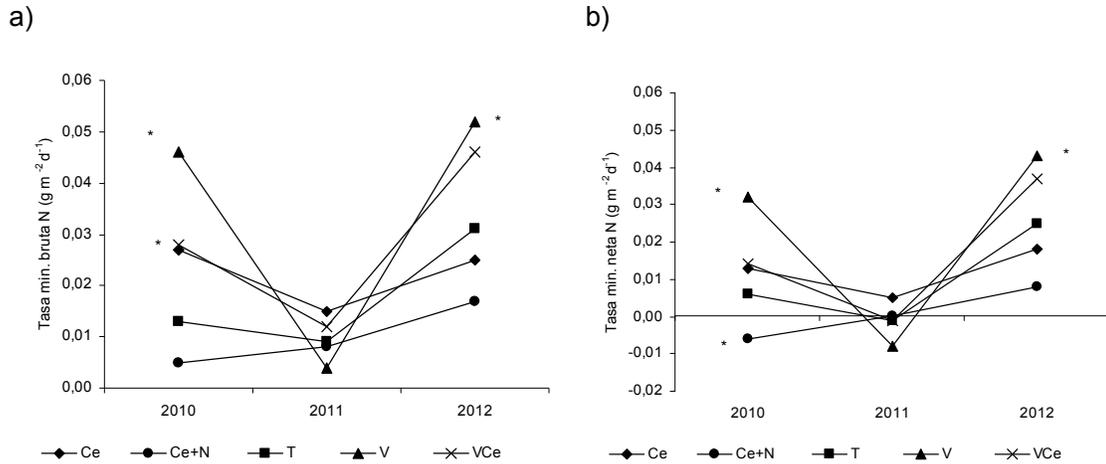


Figura 600: Tasas de mineralización de N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) bruta (a) y neta (b) a 0-20 cm durante los tres años de la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). (\*) Indican diferencias entre tratamientos dentro de cada año ( $\alpha < 0,05$ ) (Tabla anexo A21).

#### 6.5.8) Relación entre las tasas de mineralización de N, los sustratos y el ambiente

Las tasas de mineralización bruta y neta de N estuvieron explicadas por los modelos 26 y 27 (Tabla 23) obtenidos a partir del análisis de regresión múltiple de todas las variables medidas en el ensayo ( $R^2=0,66$  y  $R^2=0,62$ ). Llamativamente, la tasa de mineralización de N no se relacionó significativamente con las variables ambientales (humedad y temperatura) ni tampoco con el contenido inicial de nitratos, sugiriendo que a esta escala el sustrato tuvo un peso más importante. Tampoco se encontró una relación significativa entre el C soluble o el N soluble y las tasas de mineralización de N como se sugiere en la bibliografía (Ros et al., 2011).

Tabla 23: Coeficientes de regresión y su nivel de significancia de las variables mineralización bruta y neta de N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ).

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
26	Min. bruta N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ )	const	0,040	0,0009	0,66
		C/N residuos <sub>f</sub>	-0,001	<0,0001	
		Pérdida N-residuos	-0,001	0,0038	
		CBM	0,002	0,0024	
27	Min. neta N ( $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ )	const	0,030	0,0078	0,62
		C/N residuos <sub>f</sub>	-0,001	<0,0001	
		Pérdida N-residuos	-0,001	0,0309	
		CBM	0,002	0,0033	
		NBM	-0,010	0,1082	

Donde:

Min. bruta N: Tasa anual de mineralización bruta de N a 0-20 cm de profundidad ( $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ )

Min. neta N: Tasa anual de mineralización neta de N a 0-20 cm de profundidad ( $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ )

C/N residuos<sub>f</sub>: relación C/N de los residuos finales

Pérdida N-residuos: liberación de N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo asociada a su descomposición ( $\text{g m}^{-2}$ )

CBM: contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )

NBM: contenido de nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )

## 6.6) Fracciones de la materia orgánica del suelo

### 6.6.1) *Efecto de los CC y variaciones en el tiempo*

En la profundidad de 0-6 cm, los niveles de C total del suelo aumentaron significativamente respecto a los valores iniciales en los tratamientos Ce+N, V y VCe ( $p=0,0015$ ) mientras que en la profundidad de 6-12 cm todos los tratamientos acusaron un incremento de C total hacia el final de la experiencia ( $p=0,0003$ ). El N total aumentó el último año en Ce+N, V y VCe en los primeros 6 cm del perfil ( $p=0,0992$ ) y en V en el estrato de 6-12 cm mientras que solo el testigo evidencio una disminución en esta profundidad ( $p=0,0894$ ) (Tabla 24).

El C particulado representó el 25% del total del C en ambas profundidades. En general, el C particulado disminuyó el tercer año en la profundidad de 6-12 cm ( $p=0,0229$ ). Similares resultados se observaron con el N particulado a 0-6 cm de profundidad ( $p=0,0188$ ) (Tabla 31). El C asociado a la fracción mineral de suelo varió según el tratamiento y el tiempo en los primeros 6 cm del perfil ( $p=0,0002$ ). En los tratamientos V, VCe y Ce+N esta variable aumento hacia el final de la experiencia con diferencias entre la fuente de N orgánica (V y VCe) o inorgánica (Ce+N) utilizada. Sumado a ello, los tratamientos con N (V, VCe y Ce+N) también acusaron un aumento significativo en los niveles de N asociado a las partículas minerales en el estrato de profundidad de 0-6 cm ( $p=0,0237$ ). En la profundidad de 6-12 cm, todos los tratamientos tuvieron valores más altos de C asociado a las partículas del suelo el tercer año ( $p<0,0001$ ), sin embargo, no se detectaron diferencias entre tratamientos o tiempo en los niveles de N de esta fracción de materia orgánica del suelo.

Tabla 24: Contenidos ( $\text{g m}^{-2}$ ) de C y N total, particulado (p) y asociado a la fracción mineral del suelo (m) en las profundidades 0-6 y 6-12 cm para el primer y último año de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias según el nivel de significancia del factor ( $\alpha < 0,05$ ). El valor indicado con  $\pm$  corresponde al desvío estándar.

	Tratamiento	Cp ( $\text{g m}^{-2}$ )	Np ( $\text{g m}^{-2}$ )	Cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	Nm ( $\text{g m}^{-2}$ )	CT ( $\text{g m}^{-2}$ )	NT ( $\text{g m}^{-2}$ )
2010							
0-6 cm	T	399 $\pm$ 44 a	37 $\pm$ 2 a	1035 $\pm$ 44 cd	86 $\pm$ 4 cd	1434 $\pm$ 70 cd	123 $\pm$ 4 a
	Ce	391 $\pm$ 34 a	35 $\pm$ 2 a	1015 $\pm$ 34 cd	91 $\pm$ 4 bcd	1407 $\pm$ 54 cd	120 $\pm$ 4 a
	Ce+N	288 $\pm$ 29 a	31 $\pm$ 2 a	984 $\pm$ 29 d	82 $\pm$ 4 d	1272 $\pm$ 46 d	113 $\pm$ 4 b
	V	341 $\pm$ 27 a	33 $\pm$ 2 a	898 $\pm$ 27 d	84 $\pm$ 4 d	1331 $\pm$ 43 d	116 $\pm$ 4 b
	VCe	360 $\pm$ 29 a	35 $\pm$ 2 a	1051 $\pm$ 29 cd	85 $\pm$ 4 cd	1411 $\pm$ 63 cd	120 $\pm$ 4 b
6-12 cm	T	355 $\pm$ 23 a	35 $\pm$ 2 a	1001 $\pm$ 44 b	97 $\pm$ 3 a	1356 $\pm$ 38 b	130 $\pm$ 4 a
	Ce	290 $\pm$ 28 a	29 $\pm$ 2 a	1014 $\pm$ 34 b	93 $\pm$ 3 a	1302 $\pm$ 44 b	121 $\pm$ 4 a
	Ce+N	338 $\pm$ 28 a	31 $\pm$ 2 a	1014 $\pm$ 29 b	91 $\pm$ 3 a	1352 $\pm$ 44 b	122 $\pm$ 4 a
	V	335 $\pm$ 29 a	30 $\pm$ 2 a	1020 $\pm$ 27 b	89 $\pm$ 3 a	1355 $\pm$ 48 b	119 $\pm$ 4 a
	VCe	300 $\pm$ 25 a	32 $\pm$ 2 a	997 $\pm$ 29 b	97 $\pm$ 3 a	1298 $\pm$ 41 b	129 $\pm$ 4 a
2012							
0-6 cm	T	288 $\pm$ 27 a	31 $\pm$ 2 a	1097 $\pm$ 27 cd	90 $\pm$ 3 cd	1385 $\pm$ 44 d	121 $\pm$ 4 a
	Ce	336 $\pm$ 31 a	31 $\pm$ 2 a	1058 $\pm$ 31 cd	93 $\pm$ 3 bcd	1394 $\pm$ 49 d	124 $\pm$ 4 a
	Ce+N	351 $\pm$ 27 a	30 $\pm$ 2 a	1179 $\pm$ 27 b	100 $\pm$ 3 ab	1530 $\pm$ 44 bc	130 $\pm$ 4 a
	V	377 $\pm$ 31 a	33 $\pm$ 2 a	1311 $\pm$ 31 a	103 $\pm$ 3 a	1687 $\pm$ 50 a	136 $\pm$ 4 a
	VCe	326 $\pm$ 25 a	31 $\pm$ 2 a	1297 $\pm$ 25 a	103 $\pm$ 3 a	1622 $\pm$ 41 ab	135 $\pm$ 4 a
6-12 cm	T	280 $\pm$ 22 a	28 $\pm$ 2 a	1114 $\pm$ 27 a	90 $\pm$ 3 a	1394 $\pm$ 34 a	117 $\pm$ 4 a
	Ce	303 $\pm$ 28 a	30 $\pm$ 2 a	1165 $\pm$ 31 a	93 $\pm$ 3 a	1475 $\pm$ 44 a	123 $\pm$ 4 a
	Ce+N	261 $\pm$ 28 a	27 $\pm$ 2 a	1113 $\pm$ 27 a	95 $\pm$ 3 a	1373 $\pm$ 44 a	122 $\pm$ 4 a
	V	337 $\pm$ 24 a	32 $\pm$ 2 a	1193 $\pm$ 31 a	98 $\pm$ 3 a	1530 $\pm$ 38 a	130 $\pm$ 4 a
	VCe	293 $\pm$ 23 a	30 $\pm$ 2 a	1165 $\pm$ 25 a	97 $\pm$ 3 a	1457 $\pm$ 36 a	127 $\pm$ 4 a
0-6 cm	Tiempo	0.5406	0.0188	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0001
	Tratamiento	0.3241	0.5712	<0.0001	0.4259	0.0006	0.4497
	TxT	0.0824	0.6071	0.0002	0.0237	0.0015	0.0992
6-12 cm	Tiempo	0.0857	0.1985	<0.0001	0.8324	0.0003	0.7809
	Tratamiento	0.3976	0.8881	0.2128	0.5727	0.1960	0.4301
	TxT	0.1328	0.2370	0.5840	0.0915	0.2713	0.0894

### 6.6.2) Relaciones con las fracciones de suelo

Las variables que explicaron la variación del C particulado en los primeros 0-6 cm de suelo fueron el carbono soluble, el porcentaje de poros llenos de agua y el contenido de N de la biomasa microbiana del suelo (Tabla 25). La relación entre el C soluble y el C particulado no fue significativa para el tratamiento Ce ( $p=0,4208$ ), pero sí para el resto de los tratamientos. Del análisis de comparación de rectas se observó que T presentó una pendiente superior a VCe ( $p < 0,0001$ ), V ( $p=0,0002$ ) y Ce+N ( $p=0,0018$ ). No se comprobaron diferencias de pendiente entre los tratamientos con nitrógeno (VCe, V o Ce+N) (Figura 61). Por otra parte, la relación lineal negativa entre NBM y C particulado en los primeros 6 cm solamente fue

significativa para V ( $p=0,0050$ ) y VCe ( $p=0,0016$ ) y ambos tratamientos presentaron similar pendiente ( $p=0,9124$ ) (Figura 62).

Tabla 25: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para el C particulado a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ). *Número original de regresoras 20*

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
28	C particulado a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	253,7	0,0007	0,29
		C soluble a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	22,9	0,0175	
		Poros llenos de agua (%)	3,3	0,0443	
		NBM a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	-34,5	0,066	

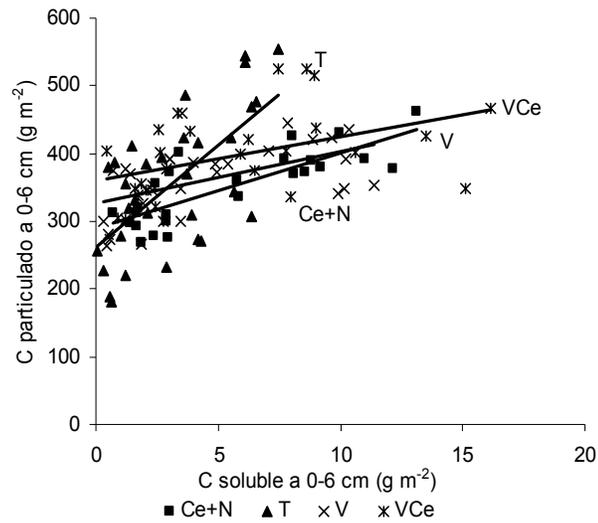


Figura 61: C particulado a 0-6 cm de profundidad en función del carbono soluble para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

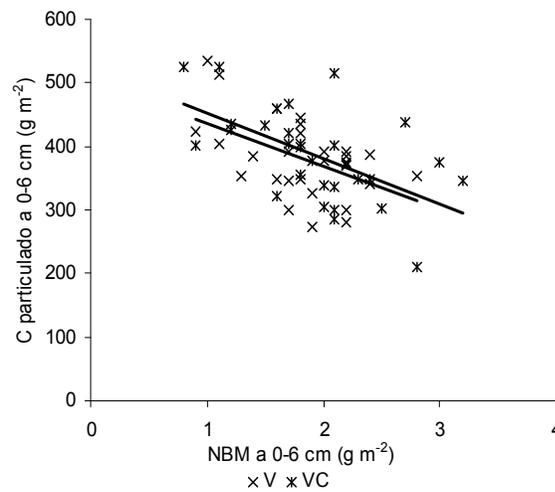


Figura 62: C particulado a 0-6 cm de profundidad en función del contenido de nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo (NBM) para los tratamientos vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

En la profundidad de 6-12 cm, la humedad y el contenido de C de la biomasa microbiana explicaron las variaciones del C particulado (Tabla 26). Se comprobó una relación lineal y positiva entre la biomasa microbiana del suelo y el C particulado solamente en los tratamientos Ce+N ( $p=0,0234$ ), V ( $p=0,0434$ ) y VCe ( $p=0,0290$ ) que presentaron similar pendiente ( $p=0,9$ ) (Figura 63).

Tabla 26: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para el C particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ). Número original de regresoras 13.

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
29	C particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	321,65	<0,0001	0,17
		Humedad a 0-20 cm (mm)	-1,7	<0,0001	
		CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	4,21	<0,0001	

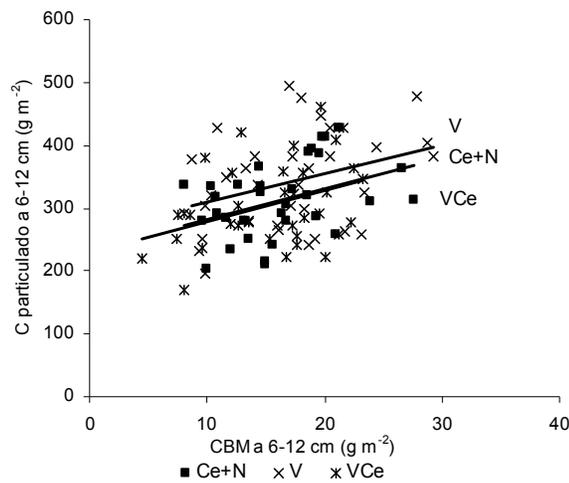


Figura 63: C particulado a 6-12 cm de profundidad en función del contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo (CBM) para los tratamientos centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

El carbono soluble fue la única variable que explicó las variaciones observadas en el N particulado cuando se realizó el análisis de regresión múltiple a partir de 20 variables medidas en el ensayo (Figura 64a). El tratamiento testigo presentó una pendiente superior a V ( $p=0,0085$ ), VCe ( $p=0,0354$ ) y Ce+N ( $p=0,0287$ ), mientras que en el caso de Ce, no se pudo corroborar una relación significativa entre ambas variables (Figura 64b). En cambio, en la profundidad de 6-12 cm, la biomasa microbiana, las raíces y el ambiente explicaron las variaciones observadas en el N particulado (Tabla 27). Se comprobó una relación lineal y positiva con el contenido de C de la biomasa microbiana del suelo en los tratamientos Ce+N ( $p=0,0794$ ), V ( $p=0,0752$ ) y VCe ( $p=0,1$ ) sin diferencias significativas entre pendientes de cada recta (Figura 65).

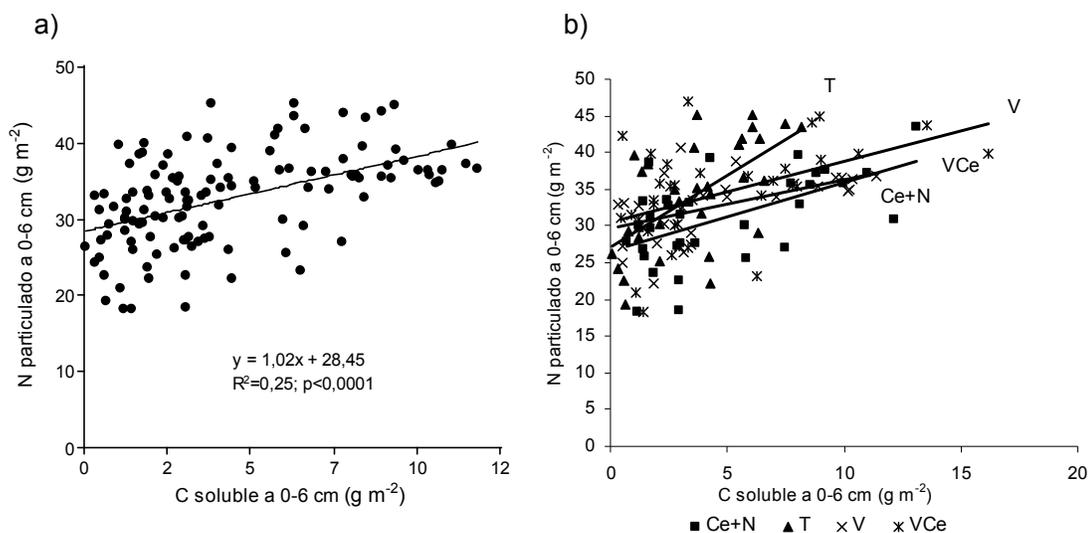


Figura 64: N particulado en función del carbono soluble a 0-6 cm obtenido a partir del análisis de regresión múltiple con 20 variables originales (a) y dicha relación para cada uno de los tratamientos en la que resultó significativa (centeno + 40N (Ce+N), testigo (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe)) (b).

Tabla 27: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para el N particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ). Número original de regresoras 13.

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
30	N particulado a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	25,17	<0,0001	0,2
		Humedad a 0-20 cm (mm)	-0,26	<0,0001	
		CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	0,35	0,0019	
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	3,92	0,0007	
		Poros llenos de agua (%)	0,26	0,0015	
		Biomasa de raíces a 6-12 cm ( $\text{g MS m}^{-2}$ )	-0,02	0,0332	

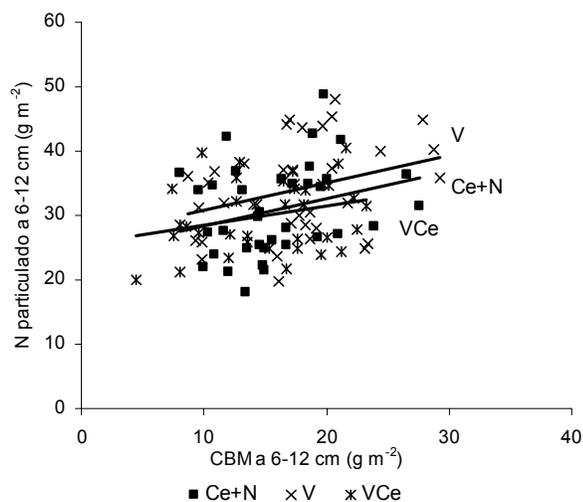


Figura 65: N particulado a 6-12 cm de profundidad en función del contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo (CBM) para los tratamientos centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

El C asociado a la fracción mineral en los primeros 6 cm de profundidad estuvo explicado por el contenido de carbono de la biomasa microbiana del suelo y por el ambiente edáfico (modelo 31; Tabla 28). En la profundidad de 6-12 cm el C asociado a la fracción mineral estuvo explicado por la temperatura del suelo y la biomasa microbiana (modelo 32, Tabla 36). Se observó una relación lineal y positiva con CBM ( $p < 0,0001$ ) (Figura 66a). La inclusión de la vicia sola o consociada con centeno en la secuencia de cultivos presentó una pendiente superior al testigo con un valor  $p = 0,09$  (Figura 66b). Por otra parte, solamente se comprobó una relación lineal y positiva entre el C asociado a la fracción mineral en los primeros 12 cm y la tasa de mineralización neta de N (Figura 67). No se pudo comprobar ninguna relación entre la materia orgánica particulada y las tasas de mineralización neta de N.

Tabla 28: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p = 0,1$ ) para el C asociado a la fracción mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) (número original de regresoras 20) y para el C asociado a la fracción mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) (número original de regresoras 13).

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
31	C asociado fraccion mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	558,28	<0,0001	0,43
		Humedad a 0-20 cm (mm)	8,95	<0,0001	
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	132,18	<0,0001	
		CBM a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	5,53	0,0249	
32	C asociado fraccion mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	1226,9	<0,0001	0,14
		Temperatura 5-10 cm	-7,17	0,0058	
		CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	4,71	0,0588	

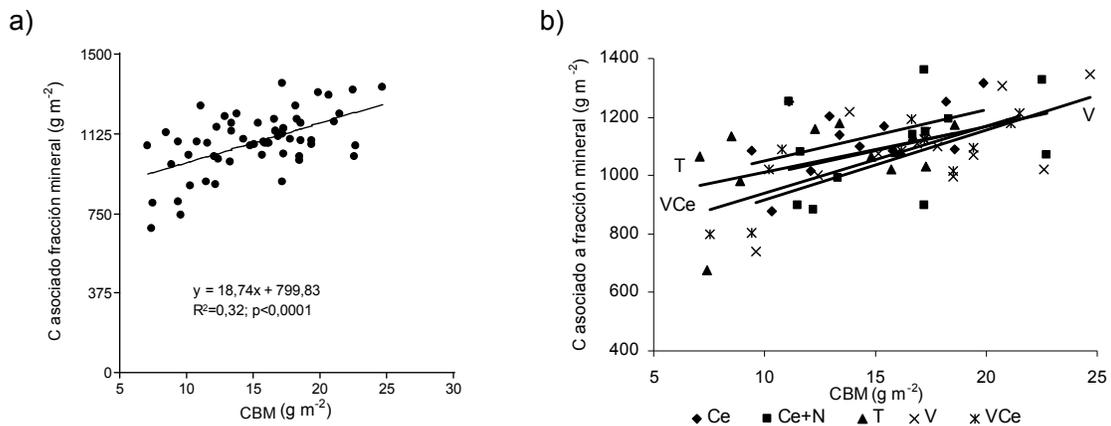


Figura 66: C asociado a la fracción mineral ( $< 53 \mu\text{m}$ ) en función del contenido de C de la biomasa microbiana del suelo a 6-12 cm de profundidad (a) y el efecto de cada tratamiento sobre dicha relación (b). Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

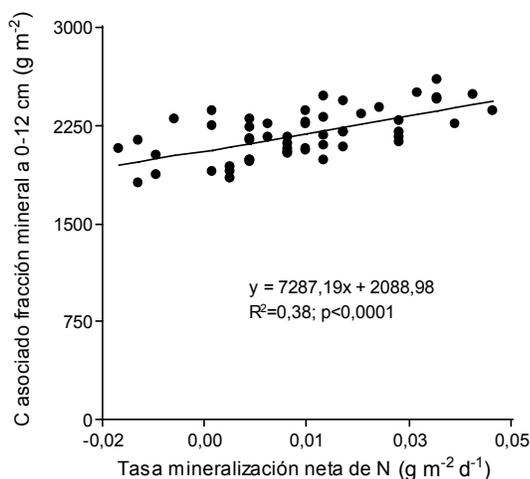


Figura 67: C asociado a la fracción mineral (< 53  $\mu\text{m}$ ) en función de la tasa de mineralización neta de N ( $\text{g m}^{-2}$ ).

Las variables que explicaron las variaciones encontradas en el nitrógeno asociado a la fracción mineral del suelo tanto a 0-6 como a 6-12 cm de profundidad fueron todas ambientales (modelos 33 y 34; Tabla 29). El modelo para la profundidad de 6-12 cm presentó un  $R^2$  muy bajo. Al suprimir las variables ambientales como posibles regresoras no se pudo comprobar ningún modelo que explique esta variable.

También se elaboraron modelos regresión múltiple para C y N total en ambas profundidades de suelo (Tabla 30) teniendo en cuenta las limitaciones de su alcance por el corto tiempo de acumulación de efectos.

Tabla 29: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para el N asociado a la fracción mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) (número original de regresoras 20) y para el N asociado a la fracción mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) (número original de regresoras 13).

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	$R^2$ Aj
33	N asoc fraccion mineral a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	59,19	<0,0001	0,32
		Humedad a 0-20 cm (mm)	0,66	<0,0001	
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	8,34	<0,0001	
34	N asoc fraccion mineral a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	85,03	<0,0001	0,03
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	4,54	0,0163	
		Poros llenos de agua (%)	0,14	0,0549	

Tabla 30: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para el C total y N total para la profundidad de 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ ) (número original de regresoras 20) y para la profundidad de 6-12 cm (número original de regresoras 13.)

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
35	CT a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	868,79	<0,0001	0,38
		Humedad a 0-20 cm (mm)	9,47	<0,0001	
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	182,44	<0,0001	
		CBM a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	5,5	0,0659	
36	NT a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	109,3	<0,0001	0,12
		Humedad a 0-20 cm (mm)	0,27	0,0024	
		Litter f g NT.m <sup>-2</sup>	0,82	0,0119	
		C soluble a 0-6 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	0,6	0,0616	
37	CT a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	1561,6	<0,0001	0,16
		CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	6,37	0,0151	
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	111,07	0,0003	
		Temperatura a 5-10 cm	-12,12	0,0012	
38	NT a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	const	112,93	<0,0001	0,11
		N-nitratos a 0-20 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	8,66	<0,0001	
		CBM a 6-12 cm ( $\text{g m}^{-2}$ )	0,73	0,0031	

## 6.7) Estructura de la comunidad microbiana del suelo

### 6.7.1) Efecto de los CC sobre la abundancia relativa de bacterias y hongos (qPCR)

El número de copias del gen 16S rRNA en los primeros 0-6 cm de suelo estuvo acotado en un rango entre  $4,7 \cdot 10^8$  y  $2,4 \cdot 10^9$  copias  $\text{g suelo}^{-1}$ , mientras que en la profundidad de 6-12 cm este rango varió entre  $4 \cdot 10^8$  y  $2,6 \cdot 10^9$  copias  $\text{g suelo}^{-1}$  (Tabla 31). En general, la abundancia de genes de bacterias en los primeros 6 cm de profundidad resultó superior en el tratamiento VCe respecto de T, mientras que en la profundidad de 6-12 cm, los valores más altos se observaron en Ce y Ce+N respecto de T. Por otra parte, el número de copias del gen 18S rRNA (hongos) estuvo acotado en un rango entre  $7 \cdot 10^7$  y  $6,9 \cdot 10^9$  copias  $\text{g suelo}^{-1}$  para la profundidad de 0-6 cm, mientras que en 6-12 cm, varió entre  $6,1 \cdot 10^7$  y  $3,6 \cdot 10^9$  copias  $\text{g suelo}^{-1}$ . La abundancia de genes de hongos resultó superior en los tratamientos Ce y Ce+N respecto de T y este efecto se vió reflejado en ambas profundidades de suelo.

Tabla 31: Abundancia de bacterias, de hongos (nro. copias  $\text{g suelo seco}^{-1}$ ) y la relación entre ambas poblaciones en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm al inicio y final de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos y entre años ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	Bacterias 0-6 cm (copias $\text{g}^{-1}$ )		Bacterias 6-12 cm (copias $\text{g}^{-1}$ )		Hongos 0-6 cm (copias $\text{g}^{-1}$ )		Hongos 6-12 cm (copias $\text{g}^{-1}$ )		H/B 0-6 cm		H/B 6-12 cm	
2010												
Ce	1,3E+09	cd	2,0E+09	b	6,7E+09	a	3,7E+09	b	5,7	a	1,9	a
Ce+N	1,7E+09	bc	2,6E+09	a	3,1E+09	b	6,1E+09	a	3,6	b	2,5	a
T	1,9E+09	b	1,2E+09	cd	3,7E+09	b	2,6E+09	bc	2,4	b	2,3	a
V	1,6E+09	bc	1,5E+09	bc	9,6E+08	cd	3,6E+09	b	0,7	c	2,6	a
VCe	2,4E+09	a	1,8E+09	b	1,7E+09	c	1,4E+09	c	0,8	c	0,8	b
2012												
Ce	5,1E+08	f	7,1E+08	ef	2,1E+08	e	2,3E+08	d	0,6	cd	0,3	c
Ce+N	4,7E+08	f	8,3E+08	de	4,1E+08	d	9,6E+07	e	0,9	c	0,1	cd
T	5,1E+08	f	4,0E+08	g	7,0E+07	f	3,6E+07	e	0,2	e	0,1	d
V	5,3E+08	f	5,3E+08	fg	1,5E+08	ef	1,2E+08	e	0,4	de	0,3	cd
VCe	1,1E+09	e	4,8E+08	fg	1,3E+08	ef	7,7E+07	e	0,1	e	0,2	cd

La proporción entre la abundancia de genes de hongos y de bacterias varió entre 0,1 y 5,7 en los primeros 6 cm del perfil, mientras que la profundidad de 6-12 cm, los valores estuvieron acotados entre 0,1 y 2,6 (Tabla 31). En general, los valores más altos asociados a una mayor abundancia relativa de hongos (relación >1) se observaron al inicio de la experiencia en las parcelas con centeno solo o fertilizado con urea principalmente en la profundidad de 0-6 cm. En contraposición, los tratamientos con vicia (V y VCe) presentaron relaciones hongos/bacterias bajas tanto al inicio como al final de la experiencia. Por otra parte, en la profundidad de 6-12 cm, la relación entre hongos y bacterias resultó ser relativamente estable. Sin embargo, el primer año de la experiencia el tratamiento V presentó una mayor predominancia de hongos en dicha profundidad (relación H/B >1).

#### 6.7.2) Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias (qPCR)

La abundancia relativa de genes de hongos respecto de bacterias fue similar en el tratamiento testigo en ambas profundidades tanto al inicio como al final de la experiencia. Luego del primer ciclo de CC, el tratamiento Ce presentó una mayor predominancia de hongos en el estrato de 0-6 cm respecto de 6-12 cm ( $p=0,0001$ ) (Figura 68). En cambio, el mismo año el tratamiento V presentó una mayor predominancia de bacterias en los primeros 6 cm del perfil ( $p=0,0028$ ). Ce+N y VCe presentaron similares proporciones de ambas poblaciones de microorganismos. Al finalizar la experiencia, el único tratamientos que mostró variaciones en la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias fue Ce+N, con una relación >1 en los primeros 6 cm del perfil ( $p=0,0006$ ).

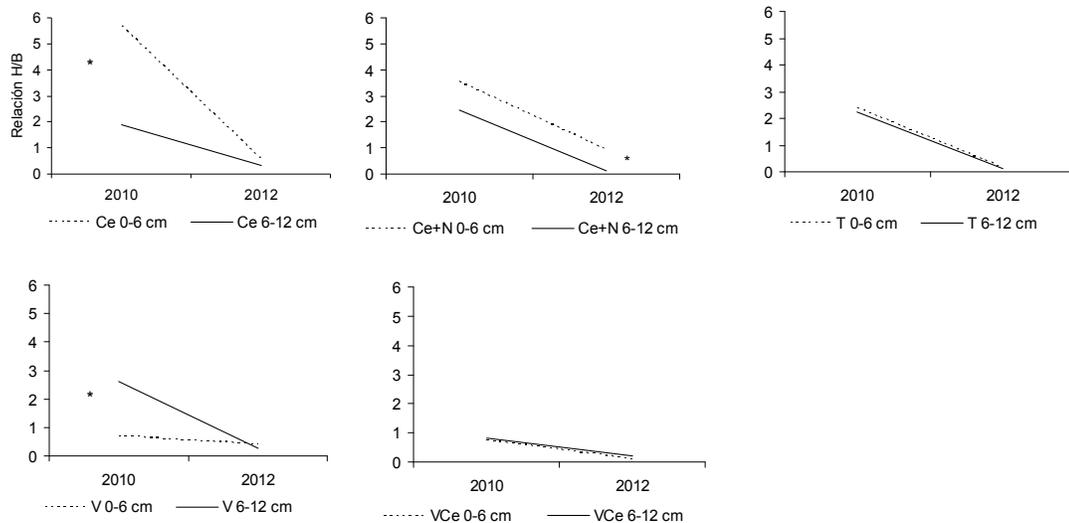


Figura 68: Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias al inicio y al final de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). (\*) Indica diferencias significativas entre profundidades de suelo en cada año evaluado ( $p < 0,001$ ).

### 6.7.3) Variaciones en el tiempo de la abundancia relativa de hongos y bacterias: inicio y final de la experiencia

La abundancia de genes de bacterias y hongos fue inferior al final de la experiencia en ambas profundidades de suelo (Tabla 31). Dado que el número de genes no puede ser convertido a número de células (Klappenbach et al., 2000; Smith and Osborn, 2009) esta disminución no necesariamente indicaría una menor biomasa de hongos o bacterias.

En los primeros 0-6 cm del perfil, el testigo acusó una disminución en el tiempo de la relación hongos/ bacterias con un valor inicial de 2,4 y final de 0,2 ( $p < 0,0001$ ) asociado a una mayor abundancia relativa de bacterias en la comunidad de microorganismos del suelo (Figura 69a). Los tratamientos Ce y Ce+N también evidenciaron similar efecto alcanzando relaciones inferiores a 1 al finalizar la experiencia (0,6 y 0,9). En cambio, esta relación no acusó variaciones significativas en el tiempo en los tratamientos con vicia (V y VCe) con valores promedio de 0,7 y 0,8 el primer año y de 0,4 y 0,1 al finalizar la experiencia respectivamente. En la profundidad de 6-12 cm, el tratamiento VCe tampoco acusó variaciones en el tiempo significativas (0,8 y 0,2), mientras que en el resto de los tratamientos la relación hongos/ bacterias disminuyó significativamente ( $p = 0,0034$ ). Se registraron valores promedio de 1,9; 2,5; 2,3 y 2,6 para Ce, Ce+N, T y V el primer año, mientras que el tercer año estos valores disminuyeron a 0,3; 0,1; 0,1 y 0,3 respectivamente (Figura 69b).

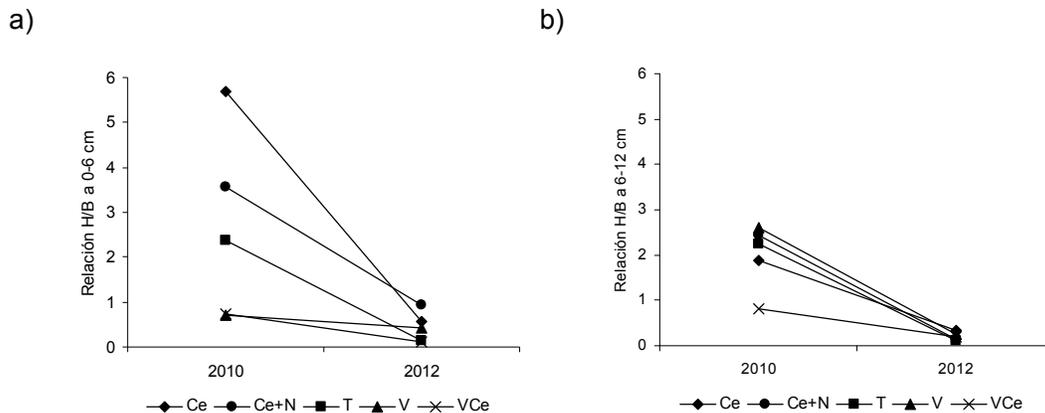


Figura 69: Abundancia relativa de hongos respecto de bacterias en las profundidades de 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b) al inicio y al final de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe).

### 6.7.4) Relación entre la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias (qPCR), los sustratos y el ambiente

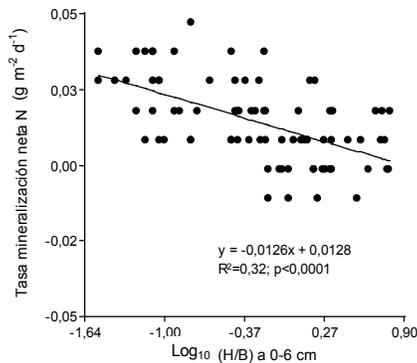
Se elaboraron modelos de regresión múltiple utilizando las variables cuantificadas de residuos sobre y dentro del suelo, calidad, ambiente edáfico y la materia orgánica del suelo. En los primeros 6 cm del perfil, la relación hongos/ bacterias estuvo explicada por el contenido de N

de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo y la temperatura como variable ambiental (modelo 39; Tabla 32). Además, la predominancia de hongos estuvo asociada con relaciones C/N altas de la materia orgánica particulada, altos contenidos de N en la biomasa microbiana del suelo y bajas tasas de mineralización neta de N (Figura 70a). En la profundidad de 6-12 cm solamente las variables ambientales (temperatura y disponibilidad de N-nitratos) resultaron significativas (modelo 40; Tabla 32). Sin embargo, se comprobó una relación significativa entre la relación hongos/ bacterias y las tasas de mineralización neta de N (Figura 70b)

Tabla 32: Coeficientes y estadísticos asociados del análisis de regresión múltiple (Stepwise  $p=0,1$ ) para la abundancia de hongos respecto de bacterias ( $\log_{10}$  relación hongos/ bacterias) para la profundidad de 0-6 cm (*número original de regresoras 24*) y de 6-12 cm (*número original de regresoras 24*).

Modelo	Variable independiente	Regresoras	Estimador	p-valor	R <sup>2</sup> Aj
39	Log <sub>10</sub> H/B a 0-6 cm	const	-2,1	<0,0001	0,49
		Temperatura a 0-5 cm	0,04	<0,0001	
		Tasa mineralización neta N (g m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	-11,25	0,0001	
		N liberado de los residuos (g m <sup>-2</sup> )	-0,03	0,0099	
		Relación C/N materia organica particulada a 0-6 cm	0,05	0,0428	
		NBM a 0-6 cm (g m <sup>-2</sup> )	0,22	0,0434	
40	Log <sub>10</sub> H/B a 6-12 cm	const	0,95	<0,0001	0,59
		Porcentaje de poros llenos de agua (%)	-0,03	<0,0001	

a)



b)

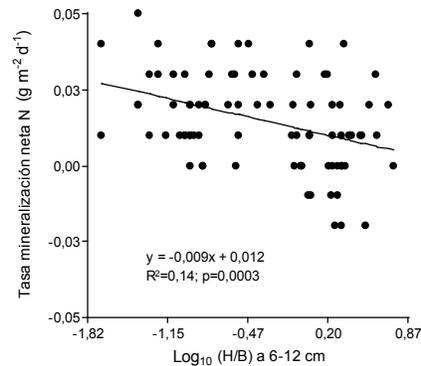


Figura 70: Tasa de mineralización neta N (g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) en función de la relación hongos/ bacterias ( $\log_{10}$  H/B) en las profundidades de 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b).

#### 6.7.5) Efecto acumulado de los CC sobre la abundancia de diferentes grupos de microorganismos y la diversidad biológica

Los fosfolípidos de membrana son un buen indicador de la biomasa microbiana viviente y pueden ser asociados a diferentes grupos microbianos para estudiar cambios en la comunidad microbiana del suelo. El análisis de componentes principales de los perfiles de ácidos grasos indicó que la estructura de la comunidad microbiana estuvo condicionada por la secuencia de cultivos en ambas profundidades de suelo. En la profundidad de 0-6 cm, CP1 explicó el 50,2% de la variación en los datos y CP2 el 25,4% (Figura 71a). La primer componente estuvo

definida por los ácidos grasos i15:0, i17:0 indicadores de bacterias Gram positivas, 18:1 $\omega$ 9c indicador de bacterias Gram negativas, 14:0 y 20:0 indicadores de microorganismos generales (Tabla 33). Esta componente permitió diferenciar los tratamientos Ce, V y T de Ce+N. La segunda componente estuvo definida negativamente por los ácidos grasos a15:0 indicador de bacterias Gram positivas y 18:1 $\omega$ 9t indicador de bacterias Gram negativas. Esta componente además estuvo definida positivamente por los ácidos grasos 18:0 indicador de microorganismos en general y 18:2 $\omega$ 6c indicador de la presencia de hongos. Esta componente permitió diferenciar el tratamiento VCe de Ce+N.

En la profundidad de 6-12 cm las componentes explicaron el 36,5 y 25,5% respectivamente (Figura 71b). La componente 1 estuvo definida positivamente por los ácidos grasos 16:0 indicador de microorganismos generalistas y i17:0 indicador de bacterias Gram positivas. Además, estuvo definida negativamente por los ácidos grasos 14:0 indicador de microorganismos generalistas y a15:0 indicador de bacterias Gram positivas (Tabla 41). Esta componente permitió diferenciar los tratamientos Ce de Ce+N, VCe y T. La segunda componente estuvo definida positivamente por cy17:0 indicador de bacterias Gram negativas y negativamente por i15:0 indicador de bacterias Gram positivas. Esta componente permitió diferenciar los tratamientos Ce y VCe de V.

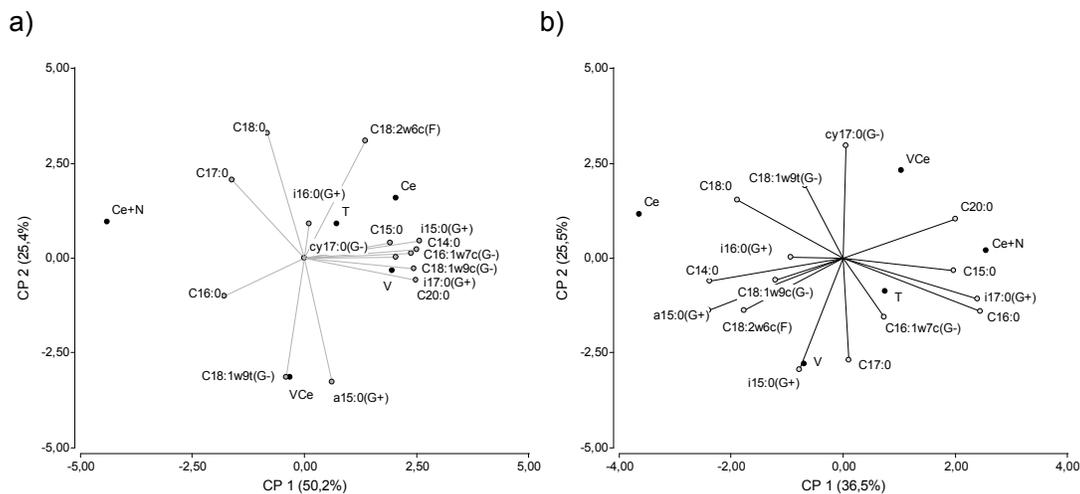


Figura 71: Análisis de componentes principales de la comunidad microbiana del suelo ( $\log_{10}$  (%mol)) para las profundidades 0-6 cm (a) y 6-12 cm (b).

Tabla 33: Correlaciones de cada componente con las variables originales para las profundidades 0-6 cm y 6-12 cm.

Variables	0-6 cm		6-12 cm	
	CP 1	CP 2	CP 1	CP 2
C14:0	0,91	0,03	-0,86	-0,18
i15:0 (G+)	0,99	0,12	-0,28	-0,89
a15:0 (G+)	0,24	-0,89	-0,87	-0,41
C15:0	0,74	0,11	0,72	-0,1
i16:0 (G+)	0,04	0,25	-0,34	0,01
C16:1w7c (G-)	0,79	0,01	0,27	-0,47
C16:0	-0,69	-0,28	0,89	-0,42
i17:0 (G+)	0,94	-0,08	0,87	-0,33
C17:0	-0,62	0,56	0,04	-0,81
cy17:0 (G-)	0	0	0,02	0,9
C18:2w6c (F)	0,53	0,84	-0,64	-0,41
C18:1w9c (G-)	0,97	0,06	-0,44	-0,17
C18:1w9t (G-)	-0,16	-0,86	-0,25	0,58
C18:0	-0,32	0,9	-0,69	0,47
C20:0	0,95	-0,16	0,73	0,31

Las diferencias entre tratamientos resultaron ser más claras cuando se compararon las proporciones de diferentes clases estructurales de ácidos grasos o grupos microbianos (Tabla 34). Las bacterias Gram positivas mostraron variaciones según la secuencia de cultivo. La proporción de este grupo resultó ser superior cuando se incluyeron los CC excepto en Ce+N ( $p=0,0067$ ) en los primeros 6 cm del perfil. Además, la proporción de bacterias totales resultó ser inferior en Ce+N respecto de Ce ( $p=0,0684$ ). En la profundidad de 6-12 cm, la proporción de bacterias Gram positivas aparentemente se vio estimulada principalmente en Ce ( $p=0,0183$ ). Una mayor proporción de bacterias Gram positivas se correspondió con altos niveles de N soluble en los primeros 6 cm del perfil ( $R^2=0,58$ ;  $p=0,0009$ ;  $y= 39,8x - 0,87$ ) mientras que en la profundidad de 6-12 cm la relación fue no significativa. Por otra parte, la proporción de bacterias Gram negativas no acusó variaciones asociadas a los tratamientos en ninguna de las dos profundidades ( $p$  valores 0,456 y 0,5567). La proporción de hongos también resultó ser similar entre tratamientos en ambas profundidades de suelo ( $p$  valor 0,4257 y 0,228). Por otra parte, el cociente entre hongos y bacterias varió en un rango entre 0,03 y 0,09 en la profundidad de 0-6 cm mientras que en 6-12 cm varió entre 0,09 y 0,12. Este cociente, basado en el análisis de ácidos grasos de membrana, no fue tan sensible en detectar diferencias entre tratamientos en ambas profundidades de suelo a diferencia de lo observado con las medidas de ADN. Solamente en los primeros 6 cm del perfil se observaron diferencias significativas entre VC y T, Ce y Ce+N ( $p=0,0414$ ).

Tabla 34: Proporción de diferentes clases estructurales de ácidos grasos (% mol del total) y la relación entre hongos y bacterias (H/B) al finalizar la experiencia en las profundidades 0-6 y 6-12 cm. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos para cada profundidad de suelo ( $\alpha < 0,05$ ).

0-6 cm										
Tratamiento	Gram +		Gram -		Bacterias		Hongos		H/B	
Ce	15,0	a	16,8	a	33,1	a	2,6	a	0,08	a
Ce+N	6,5	c	10,9	a	18,8	b	1,7	a	0,08	a
T	7,8	bc	18,1	a	26,0	ab	2,3	a	0,09	a
V	13,0	ab	19,2	a	36,6	a	2,1	a	0,06	ab
VCe	19,1	a	19,1	a	38,4	a	1,3	a	0,03	b
6-12 cm										
Ce	18,7	a	17,8	a	36,8	a	3,4	a	0,09	a
Ce+N	8,7	bc	15,3	a	26,9	a	1,9	a	0,07	a
T	7,2	bc	17,9	a	25,4	a	3,0	a	0,12	a
V	11,2	ab	19,1	a	34,8	a	3,6	a	0,11	a
VCe	5,3	c	20,2	a	26,2	a	2,8	a	0,11	a

El Índice de diversidad de Shannon-Weaver varió en un rango entre 1,47 y 1,89 en la profundidad de 0-6 cm, mientras que en la profundidad de 6-12 cm, el rango estuvo acotado entre 1,53 y 1,84 (Tabla 35). En los primeros 6 cm del perfil, este índice resultó ser superior en V respecto de T ( $p=0,0542$ ) indicando una mayor diversidad biológica cuando se incluyó vicia en la secuencia de cultivos. En contraposición, la diversidad biológica resultó ser inferior en Ce+N respecto de V ( $p=0,019$ ) y también de VCe ( $p=0,1$ ). En la profundidad de 6-12 cm, los valores más altos de diversidad también se observaron en V registrándose diferencias significativas respecto de VCe ( $p=0,03$ ).

Tabla 35: Índice de diversidad biológica de Shannon-Weaver en la profundidad de 0-6 y 6-12 cm. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). LI y LS indican el límite inferior y superior del intervalo de confianza (IC) con  $\alpha=0,05$ .

	ShaW	IC (95%)	LI	LS
0-6 cm				
Ce	1,67	$\pm 0,39$	1,28	2,06
Ce+N	1,47	$\pm 0,14$	1,33	1,61
T	1,58	$\pm 0,16$	1,42	1,74
V	1,89	$\pm 0,16$	1,73	2,05
VCe	1,74	$\pm 0,21$	1,53	1,95
6-12 cm				
Ce	1,75	$\pm 0,2$	1,55	1,95
Ce+N	1,58	$\pm 0,23$	1,35	1,81
T	1,63	$\pm 0,19$	1,44	1,82
V	1,84	$\pm 0,11$	1,73	1,95
VCe	1,53	$\pm 0,14$	1,42	1,64

### 6.7.6) Relación entre la composición de la comunidad microbiana (FAME), el sustrato y el ambiente edáfico

El análisis de componentes principales permitió discernir entre los factores más influyentes sobre los cambios en la estructura de la comunidad y la dinámica de C y N de las diferentes secuencias de cultivos. En los primeros 6 cm del perfil, las componentes principales explicaron el 81,5% de la variabilidad total de la información (Figura 72). La componente 1 estuvo definida positivamente por el C asociado a la fracción mineral, los contenidos de C de la biomasa microbiana del suelo, la proporción de bacterias totales y dentro de este grupo las Gram positivas (Tabla 36). Además esta componente estuvo definida negativamente por la relación hongos/ bacterias y la relación C/N de los residuos inicial y final. Esta componente permitió diferenciar los tratamientos V y VCe de T y Ce+N. En cambio, la componente 2 estuvo definida positivamente por la temperatura del suelo y negativamente por la proporción de bacterias Gram negativas. Esta componente permitió diferenciar entre los tratamientos T y Ce+N.

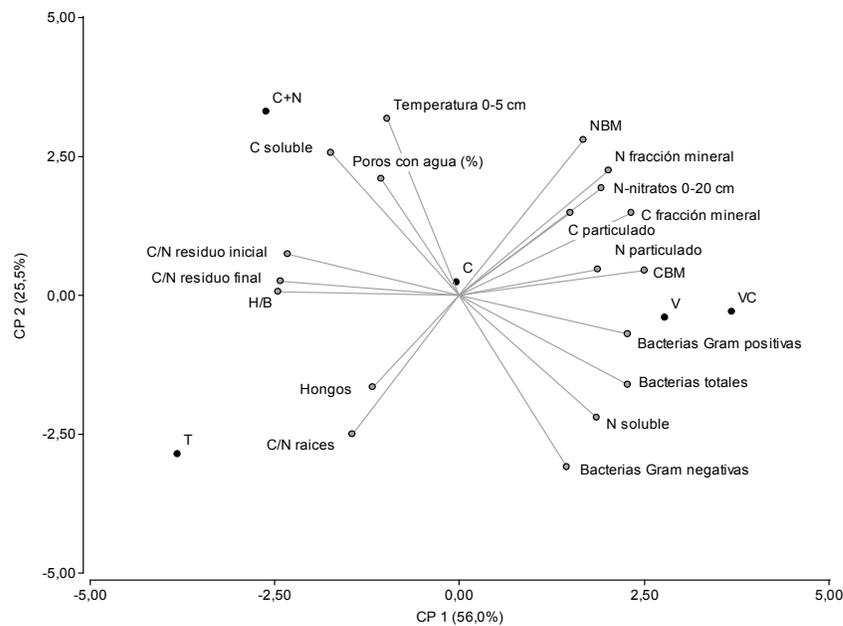


Figura 72: Análisis de componentes principales incluyendo la composición de la comunidad microbiana del suelo obtenida del análisis de perfiles de ácidos grasos para la profundidad de 0-6 cm.

Tabla 36: Correlaciones de cada componente con las variables originales para la profundidad de 0-6 cm

Variabes	CP 1	CP 2
Bacterias Gram positivas	0,89	-0,19
Bacterias Gram negativas	0,57	-0,82
Bacterias totales	0,89	-0,42
Hongos	-0,46	-0,44
H/B	-0,96	0,02
C/N residuo final	-0,95	0,06
C/N residuo inicial	-0,91	0,2
C soluble	-0,68	0,68
N soluble	0,73	-0,58
CBM	0,98	0,12
NBM	0,65	0,74
Temperatura a 0-5 cm	-0,38	0,84
Poros con agua (%)	-0,42	0,55
N-nitratos a 0-20 cm	0,75	0,51
C/N raices	-0,57	-0,66
C particulado	0,58	0,39
N particulado	0,73	0,13
C asociado a fracción mineral	0,91	0,39
N asociado a fracción mineral	0,79	0,59

En la profundidad de 6-12 cm, el análisis de componentes principales permitió explicar el 70,8% de la variabilidad total de los datos (Figura 73). La componente 1 estuvo definida positivamente por el porcentaje de poros llenos de agua, el C soluble y la relación C/N de las raíces. Además, esta componente estuvo negativamente definida por la proporción de bacterias Gram negativas, la relación hongos/ bacterias y los contenidos de carbono de la biomasa microbiana del suelo (Tabla 37). Esta componente permitió diferenciar los tratamientos Ce y Ce+N respecto de V, VCe y T. La componente 2 estuvo definida por las variables bacterias totales y N particulado en forma positiva mientras que en forma negativa estuvo definida por el contenido de nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo. Esta componente permitió diferenciar el tratamiento Ce de Ce+N, y también, el tratamiento T respecto de VCe (Tabla 45).

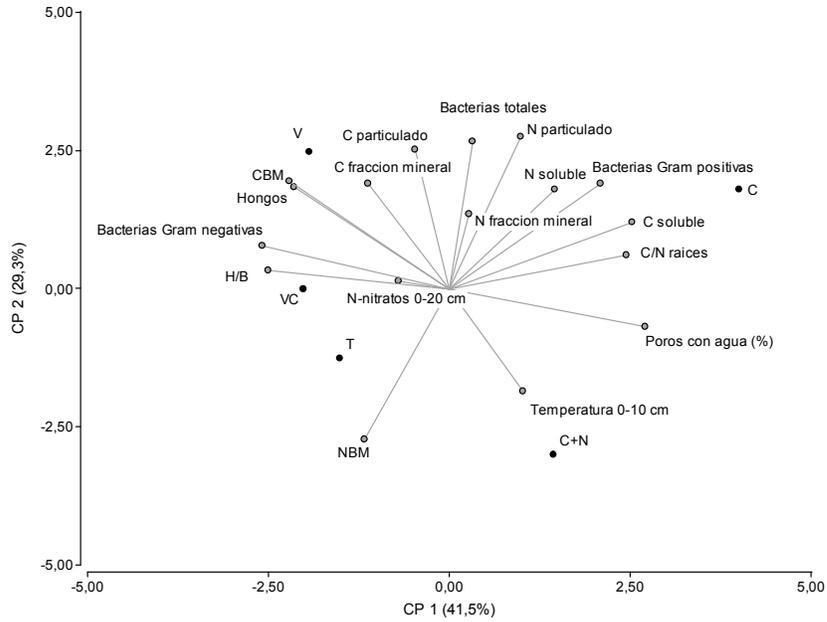


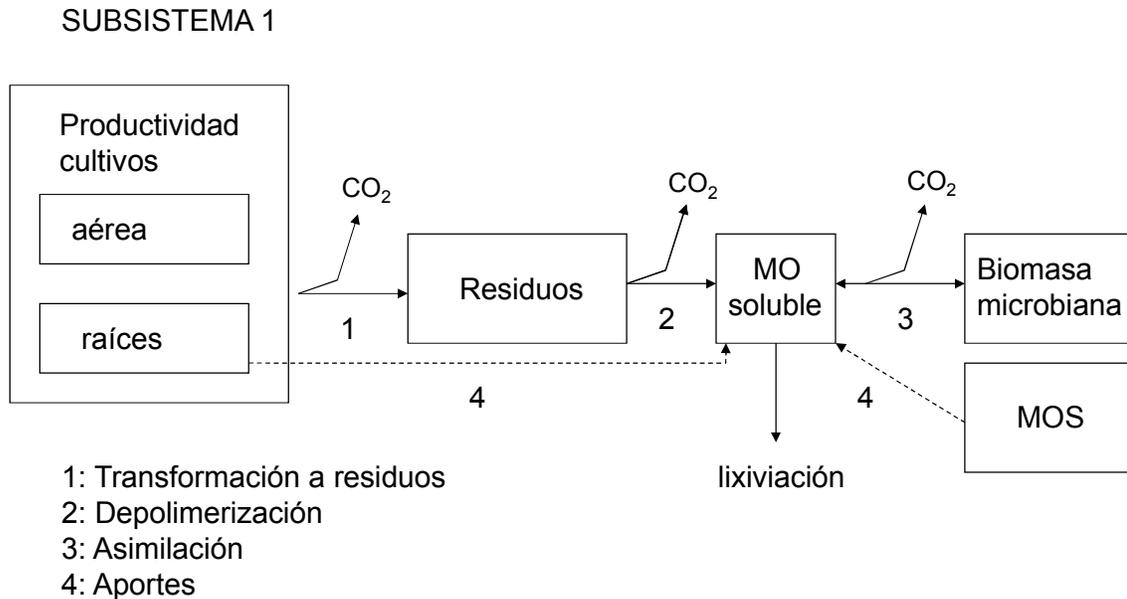
Figura 73: Análisis de componentes principales incluyendo la composición de la comunidad microbiana del suelo obtenida del análisis de perfiles de ácidos grasos para la profundidad de 6-12 cm.

Tabla 37: Correlaciones de cada componente con las variables originales para la profundidad de 6-12 cm

Variables	CP 1	CP 2
Poros con agua (%)	0,98	-0,21
N-nitratos a 0-20 cm	-0,25	0,04
Bacterias Gram positivas	0,76	0,57
Bacterias Gram negativas	-0,93	0,24
Bacterias totales	0,12	0,81
Hongos	-0,77	0,56
H/B	-0,9	0,1
C soluble	0,91	0,36
N soluble	0,52	0,55
CBM	-0,8	0,59
NBM	-0,42	-0,83
Temperatura a 5-10 cm	0,37	-0,56
C/N raices	0,89	0,18
C particulado	-0,17	0,76
N particulado	0,36	0,83
C asociado a fracción mineral	-0,41	0,57
N asociado a fracción mineral	0,1	0,41

## 7) Discusión

7.1) *Primera parte: Flujo de carbono y nitrógeno desde la biomasa de los cultivos hacia la biomasa microbiana del suelo.*



Este subsistema estuvo representado por las variables de stock productividad de los cultivos en la rotación (biomasa aérea y de raíces), residuos y materia orgánica soluble, y representa el flujo de C y N desde la biomasa de los cultivos, su transformación a residuos y la producción de compuestos solubles producto de la descomposición de los mismos.

7.1.1) *Contribución de la producción aérea de la secuencia de cultivos a la acumulación de residuos sobre la superficie del suelo*

La mayor parte de la producción aérea del cultivo de sorgo fue exportada del sistema por la cosecha. Cuando el destino fue la elaboración de silos como ocurrió en la campaña 2010-2011 el remanente en pie fue del 25%, y cuando el destino fue la elaboración de rollos, casi el 100% de la biomasa fue exportada del sistema. Como consecuencia, los niveles de residuos sobre la superficie del suelo resultaron inferiores en la monocultura a lo largo de toda la experiencia respecto a la secuencia de cultivos con CC (Figura 33). El material aportado por el sorgo presentó altas relaciones C/N (40-60). Además, su productividad aérea, influenciada por las condiciones climáticas, sufrió mermas considerables el último año, y en consecuencia, contribuyó con un menor nivel de residuos. Bajo estas condiciones, la monocultura de cultivos de verano podría resultar insuficiente o constituir una limitante para la acumulación de la materia orgánica del suelo y para asegurar la sustentabilidad del sistema a largo plazo.

La inclusión de los cultivos de cobertura en la secuencia de cultivos es una estrategia utilizada para aumentar los aportes de C y N al sistema. Los resultados muestran que su inclusión se tradujo en un incremento del 50 al 70% en la cantidad de residuos acumulados sobre la superficie del suelo. Claramente el centeno fue la especie que contribuyó con los mayores volúmenes de materia seca (aérea), y por ende, de carbono (Figuras 12 y 14). Sin embargo, la productividad aérea del centeno sufrió mermas importantes al finalizar la experiencia (~60%), que estuvieron asociadas a menores contenidos de humedad y N-nitratos en el suelo ( $R^2=0,25$  y  $0,35$  respectivamente). Esta disminución de la productividad aérea del centeno se tradujo en menores cantidades de residuos acumulados sobre la superficie del suelo el último año, aunque estos niveles fueron superiores a la monocultura a lo largo de toda la experiencia (Figura 33). Por otra parte, el aporte de importantes volúmenes de biomasa de centeno al sistema podría constituir una limitante para su transformación a materia orgánica del suelo debido a una alta relación C/N del material aportado por el sorgo (55-76) y por el centeno (32-41). De hecho, la secuencia centeno-sorgo fue la que evidenció mayor acumulación de residuos sobre la superficie del suelo (Figura 33).

El aporte de una fuente nitrogenada al centeno (CC), de origen biológico por la consociación con vicia, o inorgánico por la fertilización con urea, se tradujo en una mayor producción de biomasa aérea del centeno en los últimos dos años de la experiencia (Figura 12). Esta respuesta estuvo asociada a mayores eficiencias de uso del agua independientemente de la fuente de N utilizada (Figura 18) y similares resultados fueron observados por otros autores (Bertolla et al., 2013; Fernández et al., 2012). Solamente el segundo año de la experiencia la magnitud de la respuesta a la aplicación de urea representó un consumo de agua mayor por parte del centeno (Figura 17). La fertilización inorgánica también se correspondió con altas eficiencias de uso del nitrógeno (Tabla 7).

La inclusión de la vicia en consociación con el centeno se tradujo en una mayor producción de materia seca, y por lo tanto de carbono, sumado a una mayor concentración de N en sus tejidos (Figuras 12, 14 y 15). Como resultado de la combinación de ambas especies se produjo una biomasa aérea de alta calidad (C/N 16-27) que permitió disminuir la relación C/N de los residuos acumulados en superficie en dicha secuencia de cultivos (Figura 36). Esta ventaja de la vicia como CC para mejorar las características de los residuos y facilitar su descomposición ya ha sido reportada por otros estudios (Tosti et al., 2012). En cambio, cuando la fuente de N fue la urea, si bien se comprobó respuesta a la fertilización traducida en mayores contenidos de N en su biomasa aérea, no fueron lo suficientemente altos como para generar cambios en la calidad del material aportado por el CC (C/N 29-47) ni en la calidad de los residuos de la secuencia de cultivos acumulados sobre la superficie del suelo (C/N 38-

61). La inclusión de la vicia sola como CC aportó el material de mayor calidad (C/N 12-16) y permitió disminuir la relación C/N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo (C/N 22-38).

La inclusión de la vicia también tuvo un efecto positivo sobre el cultivo sucesor (Figuras 27 y 28). Uno de los primeros trabajos que demuestra las ventajas de incluir leguminosas como CC respecto de las gramíneas sobre los rendimientos del cultivo sucesor en sistemas bajo siembra directa fue publicado por Mitchell and Tell (1977). Estudios más recientes continúan afirmando este efecto positivo (Baker and Griffis, 2009; Decker et al., 1994; Ebelhar et al., 1984; Restovich et al., 2012). Los resultados mostraron un incremento en la productividad aérea del cultivo sucesor y en los contenidos de N en su biomasa, cuando la vicia se incluyó sola o cuando estuvo acompañada del centeno, principalmente los últimos dos años de la experiencia (Figuras 27 a 29). Dichos años, las magnitudes de respuesta en relación a la monocultura de sorgo fueron del 20-24% y del 46-57% respectivamente. Además, la eficiencia de uso del agua del sorgo también se vio incrementada cuando el antecesor fue vicia principalmente los primeros dos años de la experiencia (Figura 31). Numerosos estudios han comprobado que la inclusión de leguminosas como cultivo de cobertura produce una mayor disponibilidad de N para el cultivo sucesor que resulta en incrementos de su productividad aérea (Restovich et al., 2012; Sainju et al., 2005, 2003; Tosti et al., 2012). Esta mayor disponibilidad de N conlleva a aumentos en la eficiencia de uso del agua de los cultivos, ya que se logra mayor productividad a similares usos consuntivos (Cantero-Martínez et al., 2003; Cossani et al., 2012; Hatfield et al., 2001; Wang et al., 2010).

En contraposición, cuando el CC antecesor fue el centeno, con o sin fertilización inorgánica, se observó una merma en los rendimientos del cultivo de verano, excepto el último año (Figura 27). La baja disponibilidad de N debido a la fuerte inmovilización en condiciones de abundancia de residuos pobres en este elemento podría ser una posible causa de esta merma (Grandy et al., 2013; Molina et al., 2005; Soane et al., 2012). Inclusive en algunos estudios se ha observado un efecto sinérgico sobre la productividad cuando el rastrojo de maíz fue removido en un sistema con cultivos de cobertura bajo siembra directa (Pratt et al., 2014). Otra posible causa de esta disminución de los rendimientos del sorgo podría estar asociada a un posible efecto alelopático como consecuencia de la rotación gramínea sobre gramínea como ha sido reportado en la bibliografía (Bhowmik and Inderjit, 2003).

#### *7.1.2) Movilización de nutrientes de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo*

La pérdida de materia seca de los residuos fue superior en las secuencias con CC respecto a la monocultura de sorgo los tres años de la experiencia (Figura 37). Esta pérdida ocurrió a tasas decrecientes a medida que la proporción de N remanente de los residuos se vio incrementada (Figura 38). La monocultura de sorgo presentó valores de N remanente en los residuos (0,9-0,6) superiores a los valores observados en las secuencias con CC (0,4-0,7), principalmente los primeros dos años de la experiencia (Tabla 11). Estos resultados sugieren que la inclusión de los CC en la rotación favoreció la descomposición de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, y esto también se vio evidenciado en las mayores pérdidas de materia seca de los residuos de las secuencias con CC. Probablemente esta mayor descomposición de residuos se deba a la pérdida de materia seca del material aportado por los CC (biomasa aérea) que presentó una relación C/N inferior (C/N 12-47) al material producido por el sorgo (C/N 89-40). La movilización de N de los residuos en superficie por unidad de C liberado (anual) producto de su descomposición fue significativamente mayor en la secuencia de cultivos vicia-sorgo evidenciando una mayor velocidad de entrega de N al sistema respecto del resto de las secuencias de cultivo (Figura 39). Similar evidencia fue observada por Gliessman (2002). Los resultados también sugieren que el aporte de N biológico al centeno, que permitió disminuir la relación C/N de los residuos de la rotación, se entregó más lentamente al sistema. Si bien esto podría otorgar una ventaja al sistema en la eficiencia global de uso del N (Kuo and Jellum, 1990; Ranells and Waggar, 1996), probablemente el mayor beneficio se obtenga de las menores pérdidas de N por lixiviación respecto de largos periodos de barbecho invernal (Sainju et al., 2006, 2005). Tonitto et al. (2006) en un meta análisis del impacto de los CC sobre el rendimiento de los cultivos sucesores y la dinámica de N, encontraron una reducción del 70% en las pérdidas por lixiviación en secuencias de cultivo sin leguminosas, y del 40% en secuencias que sí se incluyeron leguminosas.

### *7.1.3) Contribución de las raíces de los cultivos al pool de residuos*

La biomasa de raíces de sorgo en la monocultura acumulada en los primeros 0-12 cm de profundidad, constituyó el 25-35% de la productividad total del cultivo de verano. Este cultivo presentó un importante desarrollo de raíces adventicias (Tabla anexo A14). Los resultados muestran que la biomasa de raíces de sorgo en el entresurco fue equivalente al 50% de la biomasa registrada sobre la línea de siembra. Además de este desarrollo lateral de raíces, se observó una acumulación en los primeros 0-6 cm de profundidad del 70% de la biomasa total de raíces. Largos periodos de barbecho invernal resultaron en disminuciones de la biomasa de raíces (C y N) en el suelo (octubre), sugiriendo su descomposición (Figura 32). Sin embargo, no todo este material se descompuso. Una proporción considerable de la materia

seca total de las raíces de sorgo quedo remanente en el suelo (30-40%), lo que podría estar asociado a su baja calidad (C/N 55). La descomposición de la biomasa de raíces no solo está influenciada por la calidad de las mismas (Li et al., 2015) sino que también por otros factores, siendo más rápida su descomposición a mayor profundidad del suelo (Sanallah et al., 2011).

La inclusión de los cultivos de cobertura implicó un aporte extra de raíces en la rotación que estuvo condicionado por la especie y la profundidad de suelo. El centeno contribuyó con los mayores volúmenes de raíces en los primeros 0-12 cm de profundidad superando en un 40% al aporte de la leguminosa (Figuras 19). Además, la biomasa de raíces del centeno y de la vicia representó el 36% de su productividad total. Estos resultados se corresponden con los observados por otros autores. Bolinder et al. (1997) registraron magnitudes del aporte de raíces de diferentes cereales invernales (avena, trigo y triticale) del 40, 31 y 22,5% de la biomasa total aportada (raíces + biomasa aérea) en los primeros 30 cm del perfil. Ozpinar y Baytekin (2006) observaron valores de biomasa de raíces del 40% del total para *Vicia sativa* en los primeros 20 cm del perfil. La arquitectura de las raíces de cada especie permitió explicar las diferencias observadas en cuanto al patrón de distribución espacial de raíces (Figura 20 y Tabla 8). El centeno, caracterizado por un sistema radicular en cabellera más superficial, acumuló una mayor biomasa en los primeros 0-6 cm (85%). En cambio, la vicia con un sistema radicular del tipo pivotante, realizó aportes sustanciales en la profundidad de 6-12 cm (30%). La calidad de las raíces también varió de acuerdo a la especie y a la profundidad de suelo (Figura 26). La biomasa de raíces del centeno presentó una relación C/N de 37 ( $\pm 7$ ) en los primeros 6 cm y de 25 ( $\pm 5$ ) en la profundidad 6-12 cm. La mayor calidad de las raíces en el estrato inferior estaría indicando el aporte de raíces más jóvenes (Graaff et al., 2013). La vicia, en cambio, aportó un material más rico en N en ambas profundidades de suelo (C/N 18-20).

El aporte de raíces de los CC durante el período invernal se tradujo en mayores contenidos de C y N de raíces durante toda la experiencia, y por ende, una mayor disponibilidad de sustrato para la biota del suelo a lo largo de todo el año (Figuras 21 y 24). Cuando se incluyó centeno en la rotación se observó una acumulación de carbono de raíces al final de cada ciclo de los CC que se tradujo también en un incremento durante el cultivo de verano en los primeros 0-6 cm de profundidad (Figura 32). Estos resultados sugieren que la baja calidad de ambas gramíneas pudo limitar la descomposición de este sustrato. En cambio, cuando el centeno tuvo un aporte de N (inorgánico o biológico) o se incluyó la vicia sola, este efecto acumulativo no se observó durante el cultivo de verano (Figura 32a). Probablemente el aporte extra de N estimuló la descomposición de raíces. En ese sentido, la relación C/N ha sido identificada como uno de los factores que influencia las tasas de descomposición de las raíces (Redin et al., 2014). Otros autores también han observado que la liberación de N a partir de

la descomposición de residuos ricos en este elemento podría facilitar la descomposición de residuos de baja calidad (Handa et al., 2014; Pérez Harguindeguy et al., 2008; Vos et al., 2013). Este constituye uno de los procesos por el cual sistemas con mayor diversidad de plantas evidencian mayores tasas de descomposición de raíces (Cong et al., 2015). Sin embargo, estos autores sugieren que el efecto sobre las tasas de descomposición podría disminuir la capacidad de secuestrar carbono en el suelo. Estudios previos han asumido o interpretado de similar manera que un ciclado más rápido por parte de la biomasa microbiana del suelo resultaría en menores tasas de estabilización de carbono orgánico en el suelo (Janzen, 2006; Jastrow et al., 2007). Por el contrario, existen otros trabajos recientes que han demostrado lo contrario. Es decir, que altas tasas de mineralización asociadas a un aumento de la actividad microbiana se tradujeron en mayores tasas de estabilización de C en el suelo (Fontaine et al., 2011; Kirkby et al., 2013; Kong y Six, 2012; Raiesi y Beheshti, 2014; Verchot et al., 2011). Por lo tanto, podríamos presumir que no estamos frente al dilema de conservar o utilizar (*“hoard or use”*) la materia orgánica del suelo tal como lo expresó Janzen (Janzen, 2006), sino que aparentemente el secuestro de carbono en el suelo es una función dinámica relacionada a altas tasas de actividad microbiana con adecuados niveles de aportes de residuos frescos que permitan mantener un equilibrio dinámico entre fracciones orgánicas y minerales (Dungait et al., 2012; Wieder et al., 2014). Este modelo de ciclado dinámico con altos aportes de residuos se traduciría en una mayor disponibilidad de nutrientes en el sistema, principalmente nitrógeno. El modelo conceptual propuesto por Clarholm (2005, 1985) involucra el ciclado de N a través de la predación por protozoos de la población de bacterias del suelo teniendo en cuenta la liberación de N sin la pérdida de materia orgánica del suelo (Bonkowski y Clarholm, 2012). Los resultados mostraron un aumento progresivo en los contenidos de N de las raíces en los primeros 6 cm de profundidad hacia el final de la experiencia que fue independiente de las especies que participaron en la rotación (Figura 32c). En correspondencia, las relaciones C/N de las raíces disminuyeron y esto se hizo evidente en el cultivo de verano hacia el final de la experiencia (Tabla anexo A14). Estos resultados aportarían más evidencia para el modelo conceptual descrito anteriormente, e indicarían que en un lapso de tres años, las secuencias de cultivos CC-sorgo han podido reestablecer una tasa de ciclado de los compuestos orgánicos que mantiene altos niveles de N disponible para su utilización por los cultivos.

En la profundidad de 6-12 cm, la abundancia de raíces cuantificadas en el periodo de floración del cultivo de verano también evidenciaron un incremento en los contenidos de carbono de raíces principalmente en la monocultura y en las secuencias de cultivo con centeno y vicia-centeno. Sin embargo, la calidad de las raíces en esta profundidad fue superior a la observada en la profundidad de 0-6 cm, sugiriendo la presencia de raíces más jóvenes, y por ende, más

fácilmente descomponibles (Graaff et al., 2013). No obstante, esto no se tradujo en una disminución de la relación C/N de este material. Por el contrario, esta variable aumentó en las secuencias de cultivo con centeno y vicia-centeno (floración del sorgo). Estos resultados indicarían la existencia de otros factores limitantes de su descomposición. Solamente la rotación con vicia y la monocultura evidenciaron un incremento significativo en los contenidos de N de raíces en floración del sorgo (Figura 32d).

#### *7.1.4) Efecto de los residuos (aéreos y raíces) sobre la materia orgánica soluble*

La dinámica de la materia orgánica soluble estuvo explicada por la cantidad y calidad (C/N) de los sustratos aportados al sistema (residuos en superficie + raíces), y por la biomasa microbiana del suelo (Tabla 22). Este pool puede sufrir aportes por el metabolismo microbiano, la descomposición de los residuos, los exudados de raíces y la MOS (Kalbitz et al., 2000; Zsolnay, 2003). Chantigny (2003) realizó una revisión bibliográfica en la cual pudo discriminar que el uso y las prácticas de manejo son los factores más importantes que condicionan los niveles de materia orgánica soluble en el suelo. Aparentemente incrementos en la intensidad de manejo aumentarían la proporción de materia orgánica soluble de origen microbiano altamente descomponible en el suelo (Leinweber et al., 2001). Los factores ambientales que explicaron las variaciones observadas en la disponibilidad de compuestos solubles fueron la temperatura y la humedad del suelo (Tabla 21), probablemente a través de su efecto directo sobre la actividad biológica del suelo, condicionado indirectamente por el nivel de residuos sobre la superficie del suelo. Estudios previos han demostrado que el contenido de agua del suelo condiciona la cantidad y calidad de la materia orgánica soluble en el suelo (Zsolnay, 2003).

El aporte de sustrato es un mecanismo de inducción de la producción de enzimas extracelulares (depolimerasas) de los microorganismos del suelo encargadas de hidrolizar los polímeros orgánicos (ej. proteínas, quitinas, peptidoglicano) provenientes de los residuos de las plantas y los de origen microbiano en subunidades solubles (Geisseler et al., 2010; Carrillo et al., 2014). Los resultados mostraron que la inclusión de los CC se tradujo en una mayor disponibilidad de compuestos solubles al inicio de la experiencia, principalmente C soluble (Figura 71a y b). Varios estudios también han comprobado un incremento inmediato y significativo en el C soluble por el aporte de residuos vegetales (Franchini et al., 2001; Jensen, 1997; McCarty y Bremner, 1992). Los resultados indicaron que la inclusión de vicia en la secuencia de cultivos se tradujo en un incremento de 4,1 g m<sup>-2</sup> en los contenidos de C soluble en los primeros 6 cm del perfil respecto de la monocultura de sorgo. En las secuencias con centeno, el incremento fue de 2,9 g m<sup>-2</sup>. Estos resultados coinciden con estudios previos

donde la rotación con leguminosas incrementó la cantidad de C soluble en el suelo en un rango entre 0,2-4,4 g m<sup>-2</sup> (equivalente a 2-44 kg ha<sup>-1</sup>) en los primeros 20 cm del perfil de suelo (Campbell et al., 1999; Mazzarino et al., 1993).

Los exudados de raíces constituyen una fuente muy importante de C soluble en el suelo (Rosenfeld et al., 2014; Högberg y Read, 2006; van Hees et al., 2005, Bradford et al., 2013). Esta mayor disponibilidad de energía estimuló la actividad biológica del suelo que se tradujo en un incremento de la biomasa microbiana en el corto plazo (6 meses) (Tabla 15 y Figura 45). Este fenómeno ha sido reconocido muchas veces como el efecto “*priming*” de la rizósfera (Zhu et al., 2014). Las fuentes de materia orgánica soluble son múltiples y están fuertemente condicionadas por su distribución espacial, tanto horizontal como vertical, a través de su difusión por el sistema poroso del suelo (Zsolnay, 2003). Aparentemente los exudados de raíces serían los compuestos que más efecto inductivo tendrían sobre la actividad microbiana del suelo (Kramer et al., 2012; Kušlienė et al., 2014; Shahzad et al., 2015).

De acuerdo con la hipótesis de Clarholm (2005, 1985) el C de los exudados radicales provee los medios para que la biota del suelo mineralice el nitrógeno de la materia orgánica del suelo para su propio uso, y este elemento puede ser subsecuentemente liberado por la actividad depredadora de la población de protozoarios que ejerce sobre las bacterias del suelo. Bonkowski y Clarholm (2012) sugieren que el modelo de reciclado de N de Clarholm (2005, 1985) se encontraría en correspondencia con el concepto de *priming effect* “aparente” (efecto inductivo) propuesto por (Kuzyakov, 2010). Este autor discrimina entre la respuesta al aporte de una fuente de carbono fácilmente descomponible acusada por un incremento de la biomasa microbiana del suelo sin pérdida de materia orgánica del suelo (aparente), del efecto real que conlleva a una pérdida neta del C orgánico del suelo (Dijkstra y Cheng, 2007). Shahzad et al. (2015) comprobaron que no solo los exudados radicales provocan este efecto “*priming*” sino también los residuos de raíces, aunque aparentemente difieren en su mecanismo de inducción. Si bien las mediciones realizadas en esta experiencia no permitieron discriminar el origen del C y N utilizado por la biota del suelo (materia orgánica vs. residuos), los resultados sugieren que una rizósfera continua a lo largo del año estimuló la biota del suelo sin una pérdida neta de C total del suelo con altas tasas de mineralización neta de N de la MOS cuando participó la vicia (sola o consociada con centeno).

La disponibilidad de C soluble disminuyó a lo largo de la experiencia sugiriendo su inmovilización en la biomasa microbiana del suelo en todas las secuencias de cultivo. Sin embargo, la monocultura de sorgo caracterizada por largos barbechos invernales sin presencia de raíces vivas y sin la contribución de la rizodeposición de compuestos orgánicos solubles a la solución del suelo, condicionaron desfavorablemente la actividad biológica. La

pérdida de estos compuestos solubles (C y N) por lixiviación se hizo evidente por los mayores niveles en la profundidad de 6-12 cm al inicio de la experiencia (Figura 54). De hecho, la disminución de C soluble hacia el segundo año de la experiencia no se tradujo en un aumento significativo de la biomasa microbiana del suelo (CBM) en los primeros 6 cm del perfil (Tabla 15). Esto indicaría que el C disponible no se utilizó para crecimiento sino para mantenimiento y respiración, y probablemente fue un factor limitante. Se estima que el aporte de compuestos de bajo peso molecular de las raíces (exudados) subsidia entre el 30 y 50% de la respiración heterotrófica del suelo (Högberg and Read, 2006; van Hees et al., 2005). Una mayor tasa de mortalidad asociada a las condiciones más restrictivas para la biota del suelo en la monocultura podría explicar el incremento de C soluble observado hacia el final de la experiencia (Figura 49).

#### 7.1.5) Efecto de los residuos (aéreos y raíces) sobre la biomasa microbiana del suelo

La biomasa de las plantas es la mayor fuente de C en los sistemas agrícolas y junto con la materia orgánica del suelo constituyen los sustratos más importantes que permiten mantener la biota del suelo. Muchos estudios realizados sobre sistemas agrícolas suponen una relación positiva entre la biomasa microbiana del suelo y la productividad aérea de los cultivos, la cual no se pudo corroborar. De manera similar, Chen et al. (2008) no encontraron relaciones entre la biomasa aérea, la biomasa microbiana del suelo o la relación C/N de las raíces. Pocos son los trabajos que han demostrado que esta relación sea estadísticamente significativa (Balota et al., 2014). Lo que sí se ha comprobado es el efecto beneficioso de la rotación de cultivos (Dick, 1992; Wardle, 1992), la inclusión de los cultivos de cobertura (Sainju et al., 2003; Schutter and Dick, 2002) y los sistemas de mínima labranza como la siembra directa (Balota et al., 2014; Frey et al., 1999; Helgason et al., 2010; Lupwayi et al., 2012, 2010; Wright, 2008) sobre la actividad biológica del suelo. Sin embargo, poco se conoce acerca de la respuesta de la biomasa microbiana al aporte de residuos en experiencias a campo.

A pesar del aporte extra de biomasa aérea de los CC, especialmente en los tratamientos con N (orgánico e inorgánico) que se tradujeron en incrementos en los niveles de residuos sobre la superficie del suelo, ninguna de estas variables explicó satisfactoriamente la respuesta en la biomasa microbiana del suelo. Los  $R^2$  obtenidos en estas regresiones fueron todos muy bajos (0,18 a 0,22; Tabla 23). La falta de contacto de los residuos con la matriz del suelo que favorezca su descomposición ("*spatial separation*") en los sistemas bajo siembra directa podría ser una de las razones que explicaría este efecto (Garnier et al., 2008; Holland and Coleman, 1987). Algunos autores han observado un retraso en la respuesta de la biomasa microbiana del suelo al sustrato acumulado en la superficie del suelo como consecuencia de

esta separación espacial (Beare et al., 1990; Poll et al., 2008). Estos resultados sugieren que en sistemas bajo siembra directa la biomasa microbiana del suelo no sería un buen indicador de la contribución de los residuos en superficie por lo menos en el corto plazo. Por otra parte, la calidad de los residuos y de la biomasa aportada por los cultivos de cobertura, medida como la relación C/N, no fue un buen indicador del estatus de C y N en la biomasa microbiana del suelo.

Las raíces de los cultivos de cobertura explicaron en una mayor proporción las variaciones observadas en la biomasa microbiana del suelo en ambas profundidades de estudio ( $R^2= 0,46-0,61$  y  $R^2= 0,43-0,39$  para C y N a 0-6 y 6-12 cm respectivamente) (Figuras 48 y 49). Estudios recientes han demostrado que una mayor proporción de carbono derivado de las raíces se acumuló en el suelo respecto del aportado por la biomasa aérea (Gale and Cambardella, 2000; Kong and Six, 2010; Wander and Yang, 2000), indicando la preferencia por este sustrato, que incrementó la actividad biológica del suelo (Puget and Drinkwater, 2001a). Esta respuesta pudo deberse al íntimo contacto entre la microbiota del suelo y las raíces dentro de los agregados (Santos et al., 2011), y la estimulación de la actividad biológica a través de los exudados de raíces y el ciclado de las raíces finas (Haichar et al., 2014; Puget and Drinkwater, 2001b). El carbono de la biomasa microbiana mostró incrementos en el muy corto plazo (6 meses). En concordancia, Werth and Kuzyakov (2008), en incubaciones realizadas en laboratorio, encontraron que el 41% del carbono derivado de las raíces se encontraba acumulado en la biomasa microbiana después de 40 días de iniciada la incubación. Sin embargo, no resulta claro si bajo condiciones de campo, y especialmente en cultivos invernales, existiría tal respuesta inmediata.

En la literatura se informan valores comparativos de los contenidos de carbono de la biomasa microbiana del suelo entre sistemas de labranza, rotaciones de cultivos y usos de la tierra que varían entre 250 a 600  $\mu\text{g g suelo}^{-1}$  para regiones frías y tropicales respectivamente (Bradford et al., 2013; Ekenler and Tabatabai, 2003; Silva et al., 2010, 2014; Wagai et al., 1998). No se encontró ningún trabajo realizado a campo que estudie las variaciones de la biomasa microbiana (CBM) para un mismo suelo y sistema de manejo a largo plazo. Contrario a lo esperado, no hubo un efecto acumulativo por el incremento en la disponibilidad de sustrato (aéreo y raíces) sobre la biomasa microbiana del suelo, por lo menos durante los tres años de la experiencia. Luego de la rápida respuesta inicial al sustrato de raíces de los CC, la biomasa microbiana del suelo (CBM) alcanzó un aparente estado de equilibrio (Figura 45). La respuesta al sustrato de raíces fue lineal hasta un valor máximo de 102 y 35  $\text{g C m}^{-2}$  para las profundidades de 0-6 y 6-12 cm respectivamente, y luego alcanzó un plateau. La monocultura de sorgo mostró un incremento progresivo durante los tres años, el cual estuvo muy por debajo

de este nivel de sustrato en el muestreo de octubre, sin embargo, acumulo la misma cantidad de biomasa de raíces que las rotaciones que incluyeron CC durante el ciclo de cultivo del sorgo. El contenido de C de la biomasa microbiana del suelo expresada como una proporción de CO del suelo fue menor ( $p=0,0009$ ) en la monocultura de sorgo (1,1%) que en las rotaciones que incluyeron CC (1,3 a 1,5%). Estos resultados sugieren que la biomasa microbiana del suelo se encontró en un estado de equilibrio a 274 y 243  $\mu\text{g g suelo}^{-1}$  (20,1 y 19,5 g CBM  $\text{m}^{-2}$ ) lo cual corresponde a proporciones de CO del suelo de 1,3 y 1,2 % para 0-6 y 6-12 cm de profundidad respectivamente. No encontramos ningún trabajo a campo que informe similares resultados, sin embargo, algunos modelos de predicción proponen valores de equilibrio para CBM. Li et al. (2014) obtuvieron valores similares a los encontrados en este trabajo (260  $\mu\text{g g soil}^{-1}$ ) utilizando tres modelos diferentes (Allison et al., 2010; German et al., 2012; Wang and Post, 2012). Aparentemente la capacidad de carga de un suelo (“*carrying capacity*”) en relación a la población microbiana que puede sostener, no solo está regulada por el sustrato sino también por las condiciones ambientales e intrínsecas de su hábitat, como la agregación y el contenido de arcillas (Smith y Paul, 1990). Anderson y Domsch (2010) plantean la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuánto sustrato es necesario para mantener constante la biomasa microbiana del suelo? Los resultados indicarían que para un suelo *Paleustol petrocálcico* de la región semiárida pampeana con un nivel de CO del suelo  $\sim 1.5\%$  (11,2 Tn  $\text{ha}^{-1}$ ), se necesita un aporte anual por lo menos de 102 g C-raíces  $\text{m}^2$  (equivalente a 1020 kg C-raíces  $\text{ha}^{-1}$ ) para mantener estable un nivel de CBM de 274  $\mu\text{g g suelo}^{-1}$  (equivalente a 201 kg CBM  $\text{ha}^{-1}$ ) en los primeros 6 cm de suelo.

El contenido de nitrógeno de las raíces también presentó correlaciones positivas con la biomasa microbiana del suelo ( $R^2=0,43$  y  $0,39$  para 0-6 y 6-12 cm respectivamente). Sin embargo, la respuesta de la biomasa microbiana (NBM) fue diferente según la profundidad de suelo. En los primeros 0-6 cm de suelo, NBM mostró incrementos en respuesta al N-raíces hasta un valor máximo de 3,67 g  $\text{m}^{-2}$ , por encima del cual la biomasa microbiana del suelo alcanzó un valor de equilibrio de 1,9 g  $\text{m}^{-2}$  (Figura 46a). En cambio, en la profundidad de 6-12 cm la relación entre estas variables fue lineal a lo largo de toda la experiencia sugiriendo una posible limitación por N en esta profundidad (Figura 46b).

Los residuos en superficie condicionaron en forma indirecta la actividad biológica del suelo a través de cambios en la temperatura y humedad del suelo a lo largo de la experiencia (Figura 41 y 42). Los resultados evidenciaron un efecto detrimental de las temperaturas del mes más caluroso del año (diciembre) superiores a 25°C (0-5 cm) sobre la actividad biológica del suelo, y por ende, sobre los contenidos de C y N de la biomasa microbiana (Figura 50). La monocultura de sorgo, con largos barbechos invernales y bajos niveles de residuos sobre la

superficie del suelo, presentó temperaturas edáficas del mes de diciembre por encima de los 40°C al inicio de la experiencia. En cambio, la cobertura lograda a través de las rotaciones con centeno permitió atenuar rápidamente las altas temperaturas (Dabney et al., 2001; Ranells y Waggoner, 1994). La inclusión de vicia en la rotación evidenció altas temperaturas principalmente el primer año de su inclusión, debido al aporte de un material fácilmente descomponible y menores niveles de residuos. Luego de tres años de monocultura de sorgo se registraron temperaturas por debajo del valor crítico observado (25°C), mientras que en las rotaciones con centeno esto se evidenció luego de dos ciclos de cultivo.

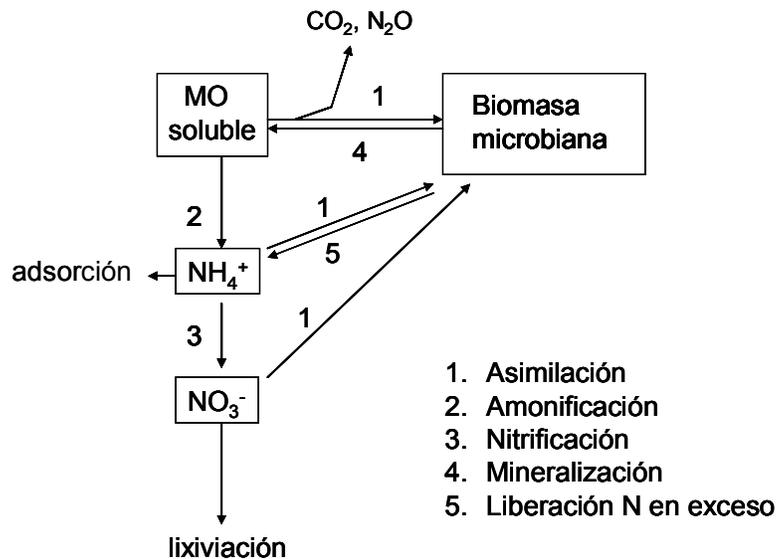
Las temperaturas registradas en los primeros 5 cm de profundidad se correspondieron con las registradas en la profundidad de 5-10 cm. La diferencia entre las mismas varió entre 1 y 7°C según el nivel de residuos acumulados sobre la superficie del suelo. Sin embargo, no pudimos comprobar un efecto de la temperatura edáfica en la profundidad de 5-10 cm sobre la biomasa microbiana del suelo. La humedad en los primeros 0-20 cm de profundidad explicó muy poco las variaciones observadas en la biomasa microbiana del suelo ( $R^2 = 0,04$ ). Sin embargo, el porcentaje de poros llenos de agua fue un mejor indicador (Figura 51). Esta variable no solo es un indicador de la disponibilidad hídrica sino también del nivel de aireación del suelo (Linn y Doran, 1984). Los resultados evidenciaron que a medida que los poros se llenaron de agua la biomasa microbiana mostró incrementos en los contenidos de C y N en ambas profundidades de estudio hasta un valor máximo entre 45-50% de poros llenos de agua. Valores por encima de este umbral tuvieron un efecto detrimental sobre la biomasa microbiana del suelo sugiriendo que la actividad biológica estaría limitada por una menor disponibilidad de  $O_2$ . Este valor umbral se encuentra por debajo del valor propuesto en el modelo conceptual de Linn y Doran (1984) del 60% de poros con agua.

#### 7.1.6) Conclusiones parciales

- La combinación vicia-centeno presentó el doble beneficio de aportar los mayores volúmenes de biomasa aérea con altos contenidos de N.
- La inclusión de vicia sola o consociada fue eficiente en disminuir la relación C/N de los residuos.
- La secuencia vicia-sorgo presentó las mayores tasas anuales de liberación de N de los residuos por unidad de C liberado producto de su descomposición.
- La biomasa microbiana del suelo no fue un buen indicador de la dinámica de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en el corto plazo.

- Todas las secuencias con CC presentaron una mayor disponibilidad de compuestos solubles en el suelo que estimularon la actividad biológica, mientras que largos barbechos invernales evidenciaron pérdidas por lixiviación de este pool.
- La biomasa de raíces fue el sustrato que mejor explicó las variaciones observadas en la biomasa microbiana del suelo debido al íntimo contacto con la matriz del suelo.
- La temperatura y el porcentaje de poros llenos de agua, condicionados por la cobertura del suelo, influenciaron la actividad biológica, y por ende, el tamaño de la biomasa microbiana del suelo.

7.2) Segunda parte: Flujo de nitrógeno del suelo entre la biomasa microbiana, la materia orgánica soluble y las formas inorgánicas



Este subsistema representa principalmente el flujo de N dentro del suelo a través de los procesos de mineralización-inmovilización mediados entre los compartimentos de la biomasa microbiana del suelo y la materia orgánica soluble; y los procesos de transformación de formas orgánicas de N a amonio (amonificación) y de amonio a nitrato (nitrificación).

7.2.1) Flujo de N entre la materia orgánica soluble y la biomasa microbiana del suelo

Los resultados indicaron que la materia orgánica soluble se vio enriquecida en compuestos nitrogenados en ambas profundidades de suelo. Esto estuvo evidenciado por una disminución de la relación C/N de este pool a lo largo de la experiencia (de 13 a 7 en 0-6 cm y de 10 a 6 en 6-12 cm de profundidad respectivamente), como consecuencia de las variaciones anuales registradas en los contenidos de C y N soluble. Los modelos de regresión múltiple (Tabla 22) indicaron que el pool de N soluble estuvo influenciado principalmente por la cantidad inicial y la calidad final de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo en los primeros 6 cm del perfil mientras que en la profundidad de 6-12 cm, la calidad de las raíces de los CC también condicionó este pool. Estas fuentes de N han sido identificadas en estudios previos como posibles aportes a este pool (Chantigny, 2003; Chantigny et al., 1999; Haynes, 2005; Kalbitz et al., 2000). La biota del suelo es otra posible fuente que contribuye a través del ciclado de su biomasa, sin embargo, esta variable no resultó significativa en los modelos de regresión (Tabla 22). No se pudo comprobar una relación entre los contenidos de N de la biomasa microbiana del suelo y el N soluble que sugieran en forma directa su inmovilización en los

primeros 6 cm del perfil, aunque, sí se relacionaron en el estrato de profundidad de 6-12 cm, evidenciando la importancia del pool de raíces y su contribución como fuente de N (Figura 53b).

El tamaño del pool de N soluble fue similar al pool de N inorgánico (nitratos) como ha sido evidenciado por otros autores (Jones y Kielland, 2002), demostrando la importancia de este compartimento en el ciclo del N (Figuras 54 y 55). Los compuestos de alto peso molecular con una baja tasa de ciclado (de naturaleza recalitrante) son los que se encuentran en mayor proporción en la materia orgánica soluble, mientras que los compuestos de bajo peso molecular (ej. aminoácidos y aminoazúcares) representarían una baja proporción (10-20%). Jones et al. (2005) sugiere en su revisión bibliográfica, que la presencia de moléculas no utilizables por las plantas y los microorganismos del suelo (alto peso molecular) podría ser la causa que explique los altos niveles de N soluble en relación al pool de N inorgánico. De hecho, existe evidencia que las raíces de las plantas solamente poseen la capacidad de utilizar compuestos de bajo peso molecular como aminoácidos y pequeños péptidos (Bush, 1993; DiTomaso et al., 1992; Wang et al., 2009; Yu et al., 2002) al igual que los microorganismos del suelo (Jones y Kielland, 2002). Sin embargo, no se encontró información acerca de la capacidad de la biota del suelo de utilizar estos compuestos nitrogenados de alto peso molecular. No existe información acerca de la caracterización de estas moléculas de alto peso molecular que componen la materia orgánica soluble, aparentemente asociado a limitaciones metodológicas (Jones y Willett, 2006; Jones et al., 2005), y por lo tanto, no resulta claro su rol en el suelo.

No existe un consenso acerca de si el N soluble controla la liberación de N inorgánico de la MOS. Cookson y Murphy (2004) demostraron que la remoción de DON por lixiviación disminuyó el nitrógeno de la biomasa microbiana del suelo y la mineralización de N. De manera similar, Marschner y Kalbitz (2003) y Schimel y Bennett (2004) sugieren que los compuestos orgánicos deben ser primero liberados a la solución del suelo para poder estar disponibles para los microorganismos y las plantas. Jones y Kielland (2002) sugieren que la transformación de las proteínas a aminoácidos sería el proceso que limita la disponibilidad de N y no la transformación de aminoácidos a  $\text{NH}_4^+$ .

En general, cambios en el uso de la tierra y en el manejo de nutrientes modifican el tamaño del pool de N soluble en el suelo (Haynes, 2005). Ros et al. (2010) encontraron que el agregado de residuos al suelo incrementó transitoriamente el pool de N soluble del suelo (30 días) y posteriormente los valores volvieron a las cantidades iniciales registradas. En contraposición, los resultados de esta experiencia mostraron que los niveles de N soluble

fueron similares entre secuencias de cultivos tanto al inicio como durante los tres años de la experiencia (Tabla 20). En relación a las variaciones anuales, no se encontró ningún trabajo que evalúe la dinámica de la materia orgánica soluble a largo plazo, probablemente por su dinámica veloz. Los resultados de esta experiencia indicaron que en el mediano plazo (3 años) los contenidos de N de la materia orgánica soluble disminuyeron en ambas profundidades de suelo. No obstante, en los primeros 6 cm del perfil se observaron diferencias en el patrón de variación anual de algunas secuencias de cultivo, aunque no se encontraron elementos que permitan explicar dichas variaciones. Algunos autores han advertido que la metodología utilizada podría ser un factor condicionante que enmascare los resultados debido a que durante el proceso de extracción parte de la biomasa microbiana y de la materia orgánica del suelo puede liberarse (Ros et al., 2010, 2009; Zsolnay, 1996). Sumado a ello, la falta de diferencias entre tratamientos dentro de cada año evaluado podría sugerir que esta aparente variación anual en algunas secuencias de cultivo en los primeros 6 cm del perfil podría ser un artefacto propio de la metodología utilizada para su medición.

Cambios en el tamaño de este pool de N soluble implicaría un impacto relativo sobre los procesos que lo controlan como son la mineralización e inmovilización (Kalbitz et al., 2000). En ese sentido, el N soluble ha sido utilizado por algunos autores como un indicador de la mineralización de N en el suelo determinada en incubaciones de laboratorio (Cookson y Murphy, 2004; Cookson et al., 2008). Sin embargo, en esta experiencia no se pudo comprobar una relación directa entre ambas variables. Ros et al. (2010) también observaron que cambios en la tasa de N soluble no indicaron cambios en la mineralización neta de N. Estos autores atribuyeron estos resultados a la mayor proporción de compuestos nitrogenados de alto peso molecular que contiene este compartimento de la materia orgánica del suelo. Si bien el N soluble no explicó los cambios observados en la mineralización aparente de N, sí se comprobó una relación lineal y positiva con la disponibilidad de N mineral en el suelo ( $R^2=0,24$ ; Figura 58).

#### *7.2.2) Factores ambientales que condicionaron los pools N soluble y N de la biomasa microbiana del suelo*

La temperatura y la humedad del suelo fueron los factores ambientales condicionantes de la materia orgánica soluble (Iqbal et al., 2010) y la biomasa microbiana del suelo (NBM) según se evidenció en los modelos de regresión múltiple (Tabla 19 y 21). Aparentemente la temperatura fue el factor con mayor incidencia sobre el pool de N soluble en ambas profundidades de suelo (modelos 24 y 25; Tabla 21) asociado a la actividad biológica del suelo (Figura 50). La disponibilidad de agua también condicionó la biomasa microbiana del suelo evidenciando un valor umbral (40-50% de poros llenos de agua) donde la biomasa microbiana

alcanzó valores máximos de tamaño (Figura 51b y d). Estos resultados estuvieron en concordancia con la dinámica del C de la biomasa microbiana del suelo.

### 7.2.3) Mineralización de N y nitrificación

La información obtenida a partir del balance de N según Powlson y Barraclough (1993) indicó que todas las secuencias de cultivo mineralizaron N de la MOS (tasas de mineralización de N positivas) a lo largo de toda la experiencia (Figura 60a). Sin embargo, este balance no considera en su cálculo la inmovilización de N en la biomasa microbiana del suelo para que efectivamente la tasa de mineralización de N sea neta (Binkley y Vitousek, 1989). Cuando se descontó el N inmovilizado en la biota del suelo, las secuencias con vicia sola o consociada, fueron las que presentaron las tasas más altas de mineralización neta de N de la MOS (Figura 60b). Sin embargo, el segundo año de la experiencia donde los niveles de residuos alcanzaron los valores más altos debido al remanente de cosecha del sorgo, las tasas de mineralización neta de N resultaron cercanas a cero o fueron negativas mostrando que cuando existe una oferta abundante de residuos pobres en N ocurre mayor inmovilización de este elemento. En base a esta evidencia, se podría estipular que las poblaciones microbianas se encuentran mayormente limitadas en su actividad por la falta de sustrato (“starvation” o “near starvation”) (Dungait et al., 2012). Llamativamente esto ocurrió no solo cuando se incluyeron los CC en la rotación con o sin aporte de N biológico o inorgánico sino también en la monocultura (Figura 60b). La cantidad de residuos acumulados sobre la superficie del suelo que condujo hacia una mayor inmovilización de N varió entre 314 y 514 g C m<sup>-2</sup> (equivalente a 3140 y 5140 kg C ha<sup>-1</sup>) sumado al aporte de carbono de raíces que varió entre 57 y 276 g m<sup>-2</sup> (equivalente a 570 y 2760 kg C ha<sup>-1</sup>). Estos resultados sugieren que la cantidad de sustrato (residuos aéreos y de raíces) fue la variable propulsora de cambios en el balance entre los procesos de mineralización e inmovilización, y para este nivel de residuos aparentemente la calidad no tuvo incidencia sobre el balance entre los procesos de mineralización-inmovilización, contrario a lo que generalmente se asume (Bruun et al., 2005). En cambio, el último año de la experiencia, si bien la biomasa de raíces tuvo un patrón acumulativo en el tiempo, los niveles de residuos en superficie disminuyeron un 60% en la monocultura y entre 30 a 40% en las rotaciones con CC. Como consecuencia, las tasas de mineralización neta de N aumentaron considerablemente y nuevamente se vieron estimuladas cuando la vicia participó en la rotación (Figura 60b). Sistemas de cultivo con una mayor disponibilidad de N no solo aceleran las tasas de descomposición de los residuos (Henriksen y Breland, 1999; Mary et al., 1996), sino también de la MOS (Sainju et al., 2006) producto de la estimulación de la actividad biológica del suelo. A pesar de la falta de efecto de la calidad de los residuos evidenciada el segundo año de la experiencia, los modelos de regresión múltiple indicaron que la calidad de

los mismos fue una variable regresora significativa. Probablemente niveles tan altos de residuos como los observados en el segundo año no sean tan habituales de encontrar en sistemas agrícolas, y ante circunstancias con menores cantidades de residuos, la calidad sería una variable propulsora de la tasa de mineralización de N como se evidenció el primer y segundo año de la experiencia.

El producto de la mineralización del N orgánico soluble es el amonio. La conversión del amonio en nitrito y nitrato es conocido como el proceso de nitrificación y es realizado por bacterias aerobias (Paul y Clark, 1996; Schmidt, 1982). Dado que las bacterias oxidantes del amonio y del nitrito generalmente se encuentran juntas, el nitrito rara vez se acumula en el suelo (Paul y Clark, 1996). Sumado a ello, en suelos aireados, se asume que el amonio es rápidamente oxidado a nitrato (Myrold, 1998). En general, los niveles de N-nitratos en la secuencia de cultivos con vicia resultaron superiores a lo largo de toda la experiencia (Figura 59), en concordancia con las mayores tasas de mineralización neta de N (Figura 60b). Además, la pérdida de N de los residuos producto de su descomposición explicó la variación en los contenidos de N-nitratos (Figura 40). Los contenidos de N-nitratos (0-20 cm) evidenciaron una caída hacia el final de la experiencia en un orden del 55% en las secuencias de cultivo con vicia y hasta un 90% en la monocultura de sorgo (Figura 59). Esta disminución podría sugerir su utilización por los cultivos y también por la biota del suelo (inmovilización). En ese sentido, se comprobó una relación lineal y negativa entre los niveles de N-nitratos y la biomasa microbiana del suelo aunque esta relación explicó muy poco la variación observada en los primeros 6 cm del perfil ( $R^2 = 0,07$ ) (Figura 53a), mientras que en 6-12 cm, el  $R^2$  fue del 46% (Figura 53b). Algunos autores han observado un alto efecto supresor o de inhibición de la nitrificación inducido por los exudados de las raíces del sorgo y del centeno (Haichar et al., 2014) que podría explicar esta caída en los contenidos de N-nitratos en el suelo. Lata et al. (2004) sugiere que la inhibición de la nitrificación podría ser un mecanismo de adaptación para conservar y usar eficientemente el N en sistemas que están limitados en N. En cambio, las leguminosas aparentemente no liberarían estos compuestos (exudados) inhibidores de la nitrificación lo que indicaría que esta especie estimularía la nitrificación en el suelo (Subbarao et al., 2007).

Por otra parte, el N inorgánico no solo es fuente de N para los microorganismos del suelo sino también para las plantas. En ese sentido, el cultivo sucesor acusó mayores rendimientos y niveles de N en su biomasa aérea cuando el antecesor fue vicia (Figuras 27 y 28). Similares resultados han sido demostrados en estudios previos (Restovich et al., 2012; Sainju et al., 2005, 2003; Tosti et al., 2012; Kramberger et al., 2009; Ranells and Wagger, 1997).

El proceso de nitrificación incrementa la movilidad del N en el suelo y la potencial pérdida por lixiviación. Las variaciones anuales de los niveles de N-nitratos en la profundidad de 20-60 cm podrían ser un indicador de pérdidas por lixiviación del estrato superior (Figura 10b). Sin embargo, estas pérdidas serían potenciales ya que el estrato de profundidad analizado para nitratos se encontraría dentro del rango de exploración de las raíces de los cultivos (Dardanelli et al., 1997; Fagioli, 1973; Stone et al., 2001). La monocultura evidenció pérdidas potenciales por lixiviación el primer año hacia el mes de octubre y el último año de la experiencia hacia el inicio del cultivo de verano. Estas pérdidas se correspondieron con precipitaciones >200 mm concentradas en un corto período de tiempo. La inclusión de los CC fue una alternativa para capturar los nutrientes móviles que se encuentran sujetos a proceso de pérdida durante barbechos largos (Restovich y Andriulo, 2013; Restovich et al., 2012). Solamente el último año de la experiencia la secuencia con vicia sola evidenció niveles de N-nitratos superiores en la profundidad de 20-60 cm en los meses previos a la siembra del sorgo. Este comportamiento se correspondió con lo señalado por Bono y Romano (2012) que expresaron que las mayores pérdidas por lixiviación de nitratos ocurren con altas precipitaciones, mayor oferta de nitrógeno y en momentos que hay bajo consumo de este nutriente por parte de los cultivos. Otros autores también han evidenciado que la falta de sincronización entre la demanda del cultivo sucesor y el aporte de N de los residuos incrementa las pérdidas de N (Crews y Peoples, 2005; Goulding, 2004). Los resultados también evidenciaron que en rotaciones sucesivas con vicia como CC el aporte de N producto de la mineralización aumentaría el riesgo de pérdidas por lixiviación en los meses previos a la siembra del cultivo del cultivo de sorgo en coincidencia con el período de concentración lluvias primaverales (octubre-noviembre). En ese sentido, la utilización de vicia consociada con centeno resultaría estratégica para atenuar dichas pérdidas potenciales. Este aspecto podría corresponderse con el mayor rendimiento del cultivo sucesor (sorgo) en la mencionada secuencia de cultivo luego de tres años de efectos acumulados (Figura 28).

#### *7.2.4) Impacto de los procesos biológicos sobre el sistema global*

La monocultura de sorgo probablemente restringió la actividad biológica del suelo durante el periodo de barbecho invernal, como consecuencia de los pulsos aislados de sustrato. Esta secuencia de cultivos se caracterizó por mayores pérdidas potenciales por lixiviación de N-nitratos durante el periodo de barbecho, y pérdidas de compuestos orgánicos solubles. Gran parte del N absorbido por el cultivo de verano fue exportado del sistema (corte para silo o rollo), y como consecuencia, el nivel de residuos sobre la superficie del suelo resultó inferior al resto de las secuencias. La monocultura no solo aportó menores cantidades de residuos sino que además, estos residuos fueron pobres en N, presentando bajas tasas de

descomposición y bajas tasas de mineralización neta de N de la MOS, es decir, el ciclado de nutrientes fue más lento. Aparentemente los residuos de raíces del sorgo constituyeron un sustrato importante para la biota del suelo durante el periodo de barbecho invernal (Figura 48 y 49), sin embargo, este sistema acusó una limitación por C evidenciada por la respuesta progresiva de la biomasa microbiana del suelo a lo largo de toda la experiencia (Figura 45).

La inclusión de los CC permitió solventar la limitación por C evidenciada por la monocultura, gracias al aporte extra de residuos sobre y dentro del suelo. Los residuos en superficie contribuyeron con más N al sistema producto de su descomposición (Figura 39). La biomasa de raíces también constituyó una fuente importante de N en el corto plazo que aportó compuestos rizosféricos en forma continua a lo largo del año. La mayor disponibilidad de N estimuló la actividad biológica del suelo reduciendo las pérdidas potenciales de compuestos solubles nitrogenados. Por otra parte, la utilización de los CC fue efectiva para disminuir las pérdidas de N-nitratos por lixiviación que fueron inmovilizados en sus tejidos vegetales durante su ciclo de cultivo (Sainju et al., 2006).

La utilización de centeno como CC aportó un material con una alta relación C/N, con bajas tasas de descomposición, que se acumuló sobre y dentro del suelo. Como consecuencia, la demanda de N por la biota del suelo se vio incrementada a lo largo de la experiencia y este elemento constituyó una limitante (Lloyd y Sheaffe, 1973; Zantua y Bremner, 1977, 1976). La fertilización con urea del centeno en las dosis utilizadas en la experiencia (40N) no produjo cambios en la calidad de los residuos ni en las tasas de descomposición de los mismos. Solamente el centeno respondió a este aporte de N mineral, y por ende, contribuyó con mayores volúmenes de residuos sobre y dentro del suelo (biomasa aérea y raíces) de baja calidad. Cuando el nivel de residuos en superficie alcanzó valores máximos (segundo año) la limitación por N del sistema fue evidente. Por otra parte, podría esperarse mayores pérdidas por volatilización asociadas a la forma de aplicación del fertilizante en esta secuencia de cultivos (al voleo sobre el rastrojo) (Ladha et al., 2005; Peoples et al., 1995). Sin embargo, cabe aclarar que probablemente dichas pérdidas no hayan sido tan importantes debido a las bajas temperaturas durante el ciclo del cultivo de cobertura.

La inclusión de la vicia en la rotación con un sustrato remanente rico en N producto de la fijación biológica de N atmosférico permitió mejorar la calidad de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo. Las tasas de descomposición de los residuos fueron las más altas de la experiencia y fue la secuencia que entregó más N al sistema (Figura 39). Además, las raíces contribuyeron con un material rico en N. Como consecuencia, la velocidad de ciclado del N fue más rápida (alta mineralización neta de N). Este ciclado más rápido de N se

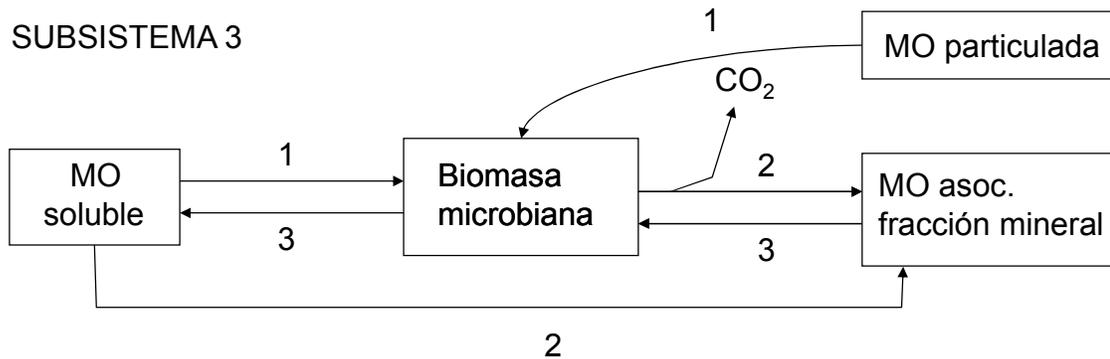
vio reflejado en mayores rendimientos del cultivo de verano (Kramberger et al., 2009; Ranells and Wagger, 1997) y mayores pérdidas potenciales de N por lixiviación. Luego del primer año la contribución por fijación biológica de la leguminosa fue de 31 kg N ha<sup>-1</sup> mientras que en el segundo ciclo de cultivo de sorgo la respuesta por efecto acumulado alcanzó un valor de 112 kgN ha<sup>-1</sup>.

La consociación vicia-centeno fue efectiva en reducir la relación C/N de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, sin embargo, esto no se tradujo en cambios significativos en la velocidad de descomposición de los residuos que las secuencias con centeno aunque liberó más N de los residuos por unidad de C (Figura 39). Las tasas de mineralización neta N fueron elevadas y similares a las secuencias con vicia sola, evidenciando una alta tasa de ciclado de C y N en el sistema. Sin embargo, esta secuencia también acusó una limitación por N hacia el final de la experiencia, sugiriendo que la proporción de vicia en la consociación no fue suficiente.

#### 7.2.5) Conclusiones parciales

- El pool de N soluble no fue una variable predictora de la mineralización de N o de la dinámica de N en la biomasa microbiana del suelo (0-6 cm).
- La temperatura y humedad del suelo fueron los factores ambientales condicionantes de la biomasa microbiana y la materia orgánica soluble del suelo.
- El aporte de residuos de centeno de baja calidad sobre y dentro del suelo acusó una limitación por N, y en consecuencia, los residuos se acumularon.
- La fertilización inorgánica no mejoró la calidad de los residuos mientras que la participación de la vicia en la consociación sí lo hizo.
- Las secuencias de cultivo con vicia sola o consociada con centeno estimularon la mineralización neta de N de la MOS acelerando el ciclado de N en el sistema.
- Cuando el nivel de residuos sobre la superficie del suelo alcanzó valores máximos el proceso de inmovilización de N fue predominante (tasas min neta N cero o negativas).

7.3) Tercera parte: Flujo de carbono y nitrógeno entre la materia orgánica soluble, la biomasa microbiana del suelo y las fracciones mayor y menor a 53  $\mu\text{m}$ .



1. Asimilación
2. Secuestro
3. Mineralización

Este subsistema está caracterizado por los compartimentos de la materia orgánica soluble, la biomasa microbiana del suelo y las fracciones de la materia orgánica particulada y la asociada a la fracción mineral. Este subsistema representa el flujo de C y N de los diferentes compartimentos de la MOS asociados con la actividad biológica del suelo (inmovilización-mineralización) que conllevan a la pérdida de  $\text{CO}_2$  o al secuestro de C.

7.3.1) Efecto de la inclusión de los CC sobre los niveles de materia orgánica del suelo

La materia orgánica particulada es un indicador sensible de cambios en el manejo del suelo (Wander, 2004) y en esta experiencia esto estuvo evidenciado por las variaciones en el tiempo de este compartimento de la MOS en las diferentes secuencias de cultivo (Tabla 24). Se ha demostrado en numerosos trabajos que la materia orgánica particulada está relacionada con el aporte de residuos tanto aéreos como de raíces (Gale et al., 2000a; Kong y Six, 2010; Puget y Drinkwater, 2001c; Wander y Yang, 2000). Sin embargo, los modelos de regresión múltiple realizados para esta variable bajo las condiciones de estudio y en un periodo de tres años, no presentaron a los residuos como una regresora significativa (Tabla 25 y 26).

Estudios previos han relacionado el pool de materia orgánica particulada con el crecimiento microbiano y el suministro de nutrientes (Barrios et al., 1996; Gregorich et al., 1994; Hassink, 1995; Phiri et al., 2001; Salas et al., 2003). Los resultados de esta experiencia concuerdan con estos autores. Se comprobó una relación lineal y positiva entre la materia orgánica particulada (C y N) y el C soluble del suelo en los primeros 6 cm del perfil (Figuras 61 y 64a).

Además, bajos niveles de C soluble estuvieron asociados a una biomasa microbiana más grande y probablemente más activa (Figura 56). De manera similar en la profundidad de 6-12 cm, el C y N particulado se relacionó directamente con la biomasa microbiana del suelo principalmente en las secuencias con mayor disponibilidad de N (Figura 63 y 65). Estas relaciones evidenciaron que la disminución en los niveles de la materia orgánica particulada podría explicarse por su utilización como fuente de C y N para la biota del suelo. De hecho, la monocultura (que mostró una fuerte limitación por C) presentó una alta tasa de mineralización de C y N particulado (expresada como la pendiente de la relación entre los niveles de C y N particulado y el C soluble) principalmente en los primeros 6 cm del perfil (Figura 61 y 64b).

Las secuencias de cultivo con centeno fertilizado con urea o consociado con vicia y las secuencias con vicia sola secuestraron más C y más N en la MO asociada a la fracción mineral en los primeros 6 cm del perfil (Tabla 24). En cambio, la inclusión de centeno solo como CC y el testigo no evidenciaron cambios en esta fracción. Si bien estudios previos han demostraron que la siembra directa incrementa los niveles de COS respecto de la labranza convencional (Dominguez et al., 2009; Sainju et al., 2008; Sheehy et al., 2015), la falta de cambios en los niveles de C asociado a la fracción mineral en la monocultura de sorgo en los primeros 6 cm del perfil haya sido consecuencia de los pocos años de siembra directa del sitio bajo estudio.

Como consecuencia de los cambios observados en las diferentes fracciones de la materia orgánica del suelo, se comprobó que solamente las secuencias que incluyeron la vicia como CC sola o consociada con centeno secuestraron más C y N en la materia orgánica total del suelo en los primeros 6 cm de profundidad al finalizar la experiencia (Tabla 24). Si bien se ha demostrado en numerosos trabajos el efecto beneficioso de la inclusión de los CC sobre los niveles de carbono orgánico del suelo, los resultados de esta experiencia indicaron que la especie utilizada puede ser un factor condicionante. En un meta análisis realizado por McDaniel et al. (2014) encontraron que la inclusión de los CC incrementó los niveles de C y N total del suelo en un rango entre 9 y 13% respecto de la monocultura. Los resultados de esta experiencia evidenciaron que la secuencia de cultivo con vicia aumentó los contenidos de C y N total (0-6 cm) en un 11% y 10,5% respecto de la monocultura luego de tres años de efectos acumulados. Cuando la vicia estuvo consociada con centeno este incremento fue del 10 y 12% respectivamente. Esto refuerza la propuesta de varios autores que la inclusión de la leguminosa favorece el secuestro de C y N en el suelo (Paustian et al., 1992; Sisti, 2004; Urquiaga et al., 2002). Existe evidencia en la actualidad que el procesamiento de C por la biota del suelo impacta positivamente sobre la estabilización de carbono de origen microbiano en el suelo (Kong y Six, 2010). Probablemente las raíces de los cultivos de cobertura hayan

contribuido más efectivamente a la estabilización de la MOS en el corto plazo respecto de los residuos en superficie (Kätterer et al., 2011; Kong y Six, 2010). Sin embargo, los resultados de esta experiencia evidenciaron que el N de origen biológico (vicia) tuvo un rol clave en el secuestro no solo de carbono sino también de N de los residuos.

Los modelos que se construyeron a partir de las variables medidas en este estudio indicaron que el carbono total del suelo estuvo explicado en parte por el pool de carbono de la biomasa microbiana del suelo, la disponibilidad de agua y de N mineral (Tabla 30). Las variables de estos modelos reflejaron que la inclusión de los CC tuvo un efecto positivo sobre los contenidos de C de la biomasa microbiana y en forma indirecta mejoraron los niveles de humedad en los primeros 20 cm de perfil asociado a la cobertura remanente sobre la superficie del suelo. Una biomasa más grande y activa en un ambiente edáfico más favorable, en términos de disponibilidad hídrica, estimuló la descomposición de los residuos y la COS. Cuando el aporte de residuos fue de alta calidad, la mayor disponibilidad de N en el sistema (N mineral y orgánico soluble) fue fundamental para que el secuestro de carbono sea evidente, y altas tasas de ciclado de N explicaron el secuestro de C asociado a la fracción mineral de la MOS (Figura 67). Estudios recientes han destacado la importancia de compuestos nitrogenados como proteínas, aminoácidos, péptidos, quitina, etc., y de los polisacáridos sobre el secuestro de COS en sistemas agrícolas (Chenu, 1995; Kiem y Kögel-Knabner, 2003; Kögel-Knabner, 2002). Contrario a la premisa que compuestos lábiles son fácilmente degradables (Paul y Clark, 1996), Gleixner et al. (2002) caracterizaron la estructura química y la composición isotópica del COS y encontraron que el reciclado de C de carbohidratos y compuestos nitrogenados presentó un tiempo de residencia en el suelo entre 49 y 54 años. Estos hallazgos demuestran que la preservación y estabilización de C como consecuencia del procesamiento de la materia orgánica por los microorganismos del suelo contribuye al secuestro de C en el suelo y no al efecto de la bioquímica recalcitrante de los residuos (Gentile et al., 2010; Gleixner et al., 2002; Kögel-Knabner, 2002). Si bien una gran proporción de C producto del procesamiento biológico de la MO (residuos + MOS) se pierde por respiración, mantener la actividad microbiana sería un pre requisito para un mayor secuestro de C en términos absolutos en sistemas agrícolas (Kong et al., 2011). Sumado a ello, estudios recientes realizados han demostrado que la MO asociada a la fracción mineral del suelo fue en gran proporción procesada por la biota del suelo (Gunina y Kuzyakov, 2014).

Llamativamente la temperatura del suelo no fue una variable regresora significativa en el estrato de profundidad de 0-6 cm pero sí en el de 6-12 cm (Tabla 30). Los resultados evidenciaron un efecto negativo sobre la biomasa microbiana del suelo con temperaturas superiores a los 25°C como se observó los primeros dos años de la experiencia (Figura 50).

En general, la temperatura es un factor clave en los modelos que explican la dinámica de la materia orgánica en el suelo (Allison et al., 2010; Garnier et al., 2008; Schimel and Schaeffer, 2012; Tornquist et al., 2009). Sin embargo, en nuestra experiencia, si bien el ambiente edáfico fue un factor muy importante y esto se vio reflejado en todos los modelos de C y N de la MO total y sus fracciones, las variables con mayor peso fueron la disponibilidad de agua (humedad o porcentaje de poros llenos de agua) y la disponibilidad de N mineral (N-nitratos).

### *7.3.2) Efectos de los CC sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo en el corto plazo*

Al inicio de la experiencia, la monocultura de sorgo se caracterizó por una comunidad con mayor predominancia de hongos en ambas profundidades de suelo. Estos resultados coinciden con estudios previos que han demostrado que los hongos son una población dominante en sistemas bajo siembra directa a través de un amplio rango de climas (Frey et al., 1999; Thiet et al., 2006). Sin embargo, la estructura de la comunidad del suelo puede sufrir modificaciones por cambios en las secuencias de cultivo (González-Chávez et al., 2010; Meriles et al., 2009). La inclusión de los CC en la secuencia de cultivos provocó cambios en la composición de la comunidad microbiana del suelo en el corto plazo. Luego del primer ciclo de CC, la secuencia centeno-sorgo presentó una mayor relación hongos/ bacterias que la monocultura de sorgo (Tabla 31). En contraposición, en las secuencias con vicia, sola o consociada, las bacterias fueron la población predominante principalmente en los primeros 6 cm del perfil. Estos resultados concuerdan con estudios previos que han observado que la biomasa de hongos puede verse favorecida por la presencia de residuos de baja calidad mientras que la población bacteriana predominaría en presencia de residuos de alta calidad (Bossuyt et al., 2001; Holland and Coleman, 1987; Six et al., 2006). La fertilización del centeno con una fuente de N inorgánica (urea) no acusó cambios significativos en la predominancia de una u otra población de microorganismos respecto de la monocultura. En la profundidad de 6-12 cm, las diferencias entre secuencias de cultivo no fueron tan contrastantes, sin embargo, la secuencia vicia-sorgo presentó dominancia de hongos en esta profundidad. Algunos autores sugieren que las leguminosas podrían estimular la presencia de micorrizas (Galvez y Douds, 1995), lo que podría explicar estos resultados.

### *7.3.3) Cambios en el mediano plazo de la composición de la comunidad microbiana del suelo*

El tercer año de la experiencia, la abundancia de genes de hongos y de bacterias disminuyó en forma generalizada (Tabla 31). Sin embargo, esta disminución no necesariamente indicaría una menor biomasa de hongos o bacterias. De hecho, el número de copias en muestras ambientales no puede ser convertido en número de células, ya que el número exacto de

copias del gen 16S rRNA varía entre especies bacterianas (Klappenbach et al., 2000). De manera similar, en los eucariotas (hongos) el número de genes 18S rRNA tampoco puede equipararse directamente a números de células (Smith y Osborn, 2009). Por ello se utilizan los valores relativos para interpretar diferencias entre muestras ambientales.

Los resultados obtenidos de los datos de ADN evidenciaron que todas las secuencias de cultivo presentaron una mayor predominancia de bacterias luego de tres años de efectos acumulados ( $H/B < 1$ ) en ambas profundidades de suelo (Figura 69). Este efecto también fue corroborado con la información obtenida de los perfiles de ácidos grasos (Tabla 34). Similares resultados fueron observados por Ferrari et al. (2015) y González-Chávez et al. (2010) que también encontraron una mayor predominancia de bacterias bajo siembra directa con este tipo de metodologías.

Las mediciones basadas en ADN ofrecen una mayor resolución y permitieron comprobar que las secuencias de cultivos con baja calidad de residuos (centeno solo o fertilizado con urea) presentaron relaciones hongos/ bacterias superiores a la monocultura de sorgo en los primeros 6 cm del perfil a pesar que la población dominante fue bacteriana (Tabla 31). Sin embargo, no se encontraron otros estudios que determinen variaciones temporales a mediano plazo en la composición de la estructura microbiana del suelo bajo siembra directa. Las medidas obtenidas por los marcadores de fosfolípidos de membrana no permitieron identificar diferencias entre secuencias de cultivo en la relación hongos/ bacterias, demostrando su menor nivel de resolución respecto de metodologías basadas en ADN (Tabla 34).

Se ha postulado que incrementos en la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias en la comunidad microbiana del suelo se encuentran asociados a tasas de ciclado de nutrientes reducidas e incrementos en el secuestro de C y N en el suelo (Bardgett et al., 2005; de Vries et al., 2006; Högberg, 2007). Los resultados de esta experiencia indican que altas relaciones hongos/ bacterias se correspondieron con bajas tasas de mineralización neta de N (Figura 70). Sin embargo, contrario a estos autores, las secuencias de cultivo con vicia con altas tasas de mineralización de N presentaron una comunidad de microorganismos dominada por bacterias y secuestraron más C y N en la materia orgánica total del suelo. Recientes estudios han observado y propuesto similares resultados (Bradford et al., 2013; Kong et al., 2011).

El grupo de bacterias que acusó variaciones como consecuencia de la inclusión de los CC en la secuencia de cultivos fueron las bacterias Gram positivas (Tabla 34). Estos resultados coinciden con Buyer et al. (2010) quienes también observaron un comportamiento diferencial

de este grupo con la inclusión de CC. Hattori (1988) citado en Wellington et al. (1997), encontró que las bacterias Gram positivas se encuentran en mayor proporción sobre la superficie de los agregados y en los poros más grandes (“*outer area*”) mientras que las bacterias Gram negativas fueron más abundantes dentro de los agregados (“*inner area*”). Estos autores sugieren que las bacterias Gram negativas se encuentran más protegidas contra la acción de predadores (protozoos) y cambios en el ambiente edáfico asociado a su hábitat dentro de los agregados. Esta evidencia podría explicar porque las bacterias Gram positivas fueron más sensibles a cambios en el manejo que las Gram negativas.

Kramer y Gleixner (2008) han demostrado que las bacterias Gram positivas y Gram negativas difieren en la utilización de las fuentes carbonadas disponibles en el suelo. Estos autores estudiaron la incorporación de C en ácidos grasos de membrana en comunidades microbianas sometidas a secuencias de cultivo con plantas C3 y C4, y evidenciaron que las bacterias Gram negativas contenían una mayor proporción de C-residuos mientras que las Gram positivas contenían una mayor proporción de C derivado de la MOS. Aparentemente esta tendencia estuvo asociada a la disponibilidad de residuos vegetales. Similares resultados fueron observados por Nottingham et al. (2009) y Waldrop y Firestone (2004). Los resultados de esta experiencia contribuyen con más evidencia en relación al impacto de sustratos de diferente calidad sobre estas poblaciones de bacterias. En la profundidad de 0-6 cm, ambos grupos bacterianos se encontraron en mayor proporción por la inclusión de los CC (Tabla 34), sin embargo, la calidad del sustrato tuvo un efecto estimulador sobre el grupo de las Gram positivas y esto se correspondió con un mayor secuestro no solo de C sino también de N en la materia orgánica del suelo. La mayor disponibilidad de compuestos solubles nitrogenados en las secuencias con vicia (sola o consociada) explicó en parte el incremento en la presencia de bacterias Gram positivas ( $R^2= 0,58$ ) y esto estuvo asociado a la presencia de residuos de alta calidad (relación C/N), mayores niveles de N particulado y mayores contenidos de C en la biomasa microbiana del suelo en los primeros 6 cm del perfil (Figura 72). Sin embargo, estos grupos bacterianos se comportaron de manera diferente a una profundidad de suelo mayor. En la profundidad de 6-12 cm, el aporte de residuos de alta calidad (raíces) en las secuencias con inclusión de vicia como CC estimuló la presencia de bacterias Gram negativas y también de hongos aun cuando la población predominante fue bacteriana ( $H/B < 1$ ) (Figura 73). La mayor proporción de bacterias Gram negativas, principalmente en la secuencia con vicia sola, pudo estar asociada a la presencia del género *Rhizobium*. Otros autores también han evidenciado la estimulación de la micorrización en presencia de leguminosas. Galvez and Douds (1995) observaron un incremento en la cantidad de inoculo de micorizas visiculo-arbusculares en el suelo cuando se incluyó la vicia en sistemas bajo siembra directa versus barbecho. Resultó llamativo que en esta profundidad de suelo (6-12 cm) las bacterias Gram

negativas se encontraron negativamente correlacionadas con el grupo de las Gram positivas contrario a lo registrado en los primeros 6 cm de suelo.

En general, los efectos de la fertilización inorgánica sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo son ambiguos y parecen depender de la naturaleza, cantidad y duración de la aplicación del fertilizante, del estatus inicial de fertilidad del suelo así como también del ecosistema considerado (Hamer et al., 2009). Los resultados mostraron que las secuencias con centeno fertilizado con urea presentaron valores inferiores de bacterias totales respecto de las secuencias con centeno sin fertilizar, sugiriendo un efecto detrimental (Tabla 34). Además, el grupo de bacterias que acusó cambios fueron las Gram positivas las cuales resultaron ser inferiores, evidenciando nuevamente que frente a un factor disturbador la población microbiana más afectada fueron las bacterias Gram positivas. Este efecto detrimental sobre la diversidad biológica del suelo a causa de la aplicación de fertilizantes sintéticos ha sido reportada por otros autores (He et al., 2013; Jangid et al., 2008).

La estructura de la comunidad microbiana del suelo a largo plazo estuvo condicionada por otro u otros factores además de la disponibilidad de los residuos (sustrato) y su calidad. Un ambiente edáfico menos fluctuante en temperatura y con mayor disponibilidad de agua, asociado al efecto de la cobertura de residuos, podría favorecer la predominancia de bacterias en todas las secuencias de cultivo al finalizar la experiencia. Los modelos de regresión múltiple que explicaron la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias indicaron una relación positiva con la temperatura y una relación negativa con el porcentaje de poros llenos de agua (Tabla 32). Es decir, que las altas temperaturas y menor porcentaje de poros llenos de agua (< cobertura) registradas al inicio de la experiencia se correspondieron con una mayor predominancia de hongos en el suelo (relaciones hongos/bacterias altas). En ese sentido, los hongos pueden sobrevivir mejor a condiciones hídricas desfavorables (sequía) en relación a las bacterias debido a su habilidad de crecer a bajos potenciales mátricos (Harris, 1981). En un meta análisis realizado por Allison y Martiny (2008) encontraron que la mayoría de los estudios (80%) mostraron cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo por efecto de la temperatura, sin embargo, estos autores no pudieron discernir si un grupo particular taxonómico (ej bacterias vs hongos) haya sido más o menos sensible a esta variable. Similares resultados fueron observados por Bárcenas-Moreno et al., (2009).

La inclusión de la vicia en la secuencia de cultivos se tradujo en una mayor diversidad biológica respecto de la monocultura de sorgo en ambas profundidades de suelo (Tabla 35). Otros autores también han observado que la rotación de cultivos con largos períodos de barbecho reduce la diversidad biológica del suelo (Zelles et al., 1992), mientras que la

implementación de siembra directa y la rotación de cultivos la favorece (González-Chávez et al., 2010; Spedding et al., 2004; Yin et al., 2010). La fertilización inorgánica del centeno tuvo un impacto negativo sobre la biodiversidad acusado por un bajo índice de Shannon respecto de utilizar una fuente biológica de N (vicia) principalmente en los primeros 6 cm del perfil. Allison et al. (2007) y Sradnick et al. (2013) también observaron que el índice de diversidad de Shannon disminuyó como consecuencia de la fertilización inorgánica.

#### 7.3.4) Conclusiones parciales

- La biomasa microbiana del suelo fue un buen indicador de cambios en el corto plazo.
- La biomasa microbiana del suelo acusó limitaciones por C y N que se correspondieron con caídas en los niveles de C y N particulado.
- El C asociado a la fracción mineral aumentó cuando se incluyó una fuente de N orgánica (vicia) u inorgánica (urea) en la secuencia de cultivos.
- El N asociado a la fracción mineral aumentó cuando se incluyó la vicia en la secuencia de cultivos.
- La inclusión de vicia sola o consociada se tradujo en un mayor secuestro de C y N en la MOT en los primeros 6 cm del perfil.
- La calidad de los residuos tuvo un efecto en el corto plazo sobre la composición de la comunidad microbiana.
- La relación hongos/ bacterias fue un indicador sensible a corto y mediano plazo.
- La predominancia de hongos se comprobó en las secuencias con residuos de baja calidad solamente al inicio de la experiencia.
- Luego de tres años de efectos acumulados la comunidad microbiana sufrió cambios sucesionales hacia una mayor predominancia de bacterias independientemente de la calidad de los residuos.
- El grupo de bacterias Gram positivas fue la población microbiana más sensible a cambios en la secuencia de cultivos y calidad de residuos.
- La inclusión de vicia favoreció la presencia de bacterias Gram positivas en los primeros 6 cm del suelo mientras que en 6-12 cm estimuló la presencia de bacterias Gram negativas y hongos.
- La inclusión de la vicia incrementó la diversidad biológica del suelo presentando los valores más altos del Índice de Shannon en ambas profundidades de suelo.
- La fertilización con urea del centeno afectó negativamente la diversidad biológica en los primeros 6 cm del perfil en contraposición a utilizar la vicia como acompañante.

#### 7.4) *Integrador*

El abordaje utilizado en esta experiencia, para evaluar el efecto de la inclusión de los CC sobre la dinámica de C y N del suelo, se basó en el estudio de diferentes compartimentos de C y N (variables fijas de stock) en un sistema agrícola bajo siembra directa. Las variaciones anuales han sido utilizadas para inferir los flujos de estos elementos (procesos) a través de todo el sistema. Este enfoque de tipo holístico permite comprender de manera integral el funcionamiento de un sistema que es mucho más que la suma de sus partes individuales.

La biomasa microbiana muchas veces definida como una gran caja negra (Tiedje et al., 1999) fue el compartimento que permitió explicar el nexo entre el ciclo del carbono y del nitrógeno en el suelo. Los resultados de esta experiencia demostraron el rol fundamental del N en el ciclado de nutrientes y el secuestro de C y N en la MOS y la importancia del aporte balanceado de estos elementos cuando el suelo alcanza su máxima capacidad de carga y el estado de equilibrio de la biomasa microbiana.

La biota del suelo es un paso obligatorio para la transformación de cualquier sustrato a MOS, y es la responsable de catalizar las reacciones que involucran la obtención de formas accesibles de N para las plantas y para su propio metabolismo. Tanto la cantidad como la calidad de los residuos que se aportan a un sistema controlan los cambios en el tamaño y la actividad de la biomasa microbiana del suelo (Kallenbach y Grandy, 2011) en interacción con un ambiente edáfico condicionado por el manejo. La inclusión de los CC incrementó el ingreso de C y N al suelo, por el aporte extra de residuos aéreos y de raíces, aumentando el tamaño de la biomasa microbiana del suelo y favoreciendo su actividad a lo largo del año debido a una mayor disponibilidad de compuestos rizosféricos (Djigal et al., 2012; Lehman et al., 2012). Esto se tradujo en variaciones en el tiempo de la materia orgánica particulada que se relacionaron con el crecimiento de la biota del suelo y el suministro de nutrientes al sistema (Barrios et al., 1996; Gregorich et al., 1994; Hassink, 1995; Phiri et al., 2001; Salas et al., 2003). Por otra parte, el ambiente edáfico condicionó la biota del suelo. La inclusión de los CC tuvo un efecto atenuador sobre la temperatura del suelo y sobre la interfase suelo-atmósfera minimizando las pérdidas de agua por evaporación (Kruger y Quiroga, 2013). Como consecuencia, el ambiente edáfico resultó ser más estable. Mayor disponibilidad de agua (45-50% poros llenos de agua) y temperaturas por debajo de los 25°C durante el mes de diciembre tuvieron un efecto retroalimentador sobre la biota del suelo. Frente a este nuevo hábitat, la biomasa microbiana del suelo alcanzó valores máximos de capacidad de carga (Smith y Paul, 1990) evidenciando un estado aparente de equilibrio a lo largo de la experiencia, principalmente en los primeros 6 cm del perfil de suelo. Las raíces en íntimo contacto con la

matriz del suelo fueron el sustrato que permitió explicar este comportamiento de la biomasa microbiana del suelo. Para un suelo *Paleustol petrocálcico* de la región semiárida pampeana con un nivel de carbono orgánico del 1,5%, se comprobó que se necesitan 102 g C-raíces m<sup>-2</sup> y 3,7 g N-raíces m<sup>-2</sup> para sostener y mantener estable la biomasa microbiana del suelo cuyo tamaño en términos de su contenido de C y N fue de 20 y 1,9 g m<sup>-2</sup> respectivamente.

La biomasa microbiana fue un buen indicador del estatus del sistema y las limitaciones acusadas por la misma tuvieron un impacto sobre el ciclado de nutrientes y el secuestro de C y N en el suelo que fueron evidentes principalmente en los primeros 6 cm del perfil. La limitación por C o por N se tradujo en bajas tasas de ciclado de nitrógeno en el sistema. En ese sentido, se podría suponer que tasas más lentas de ciclado conservarían mejor la materia orgánica, sin embargo, esto no fue así. El sistema que estuvo limitado por N tuvo un impacto negativo sobre los niveles de materia orgánica. Esta limitación estuvo inducida por el aporte extra de residuos de baja calidad (secuencia con centeno). Sostener en el tiempo altos niveles de carga microbiana implicó la pérdida de N de la MOS que estuvo asociada a pérdidas de CO y esto estuvo evidenciado por la falta de cambios en los niveles de C en las fracciones de la MOS a lo largo de la experiencia. En cambio, cuando la limitación fue por C (monocultura), el secuestro de C en la fracción de la materia orgánica asociada a las partículas minerales del suelo fue evidente, sin embargo, no representó un cambio en los contenidos de C total del suelo. En este caso, la biomasa microbiana del suelo respondió progresivamente a pulsos aislados de sustrato a pesar de su baja calidad y las raíces constituyeron un sustrato muy importante durante los periodos de barbecho invernal. Estos resultados evidenciaron que una mayor actividad biológica no necesariamente conlleva a pérdidas de C de la MO como muchos autores presumían, sino que su actividad está directamente vinculada con el secuestro de C (Kong et al., 2011). De hecho, cuando se incluyó la leguminosa en la rotación, sola o consociada, la disponibilidad de N en el sistema fue mayor y esto se evidencio por niveles superiores de N-nitratos y de N soluble. Como consecuencia, se aceleraron las tasas de ciclado de nitrógeno y no solo se secuestró más C en la materia orgánica total en ambas profundidades de suelo, sino que también, se secuestró más N en los primeros 6 cm del perfil. Nuevamente esta falta de respuesta a mayor profundidad estuvo en concordancia con una aparente limitación por N. Por lo tanto, la asimilación de C en la biomasa microbiana del suelo resultó dependiente de la disponibilidad de N en el sistema.

La mayor disponibilidad de N en las secuencias con vicia impactó positivamente sobre el cultivo sucesor en concordancia con otros estudios (Ågren et al., 2013; Oelbermann y Echarte, 2011; Kramberger et al., 2009; Ranells y Waggoner, 1997; Jagadamma et al., 2014). La contribución de la fijación biológica de la leguminosa fue de 31 kg N ha<sup>-1</sup> luego del primer ciclo

de CC y alcanzó un valor de 112 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> luego de dos ciclos sucesivos con vicia. No solo se evidenció una respuesta en rendimiento sino también en mayores contenidos de N en la biomasa aérea del sorgo y mayores eficiencias de uso del agua. Este beneficio no resultó tan evidente sobre el cultivo sucesor cuando la disponibilidad de agua constituyó una limitante importante como ocurrió el último año de la experiencia.

Se ha demostrado que la composición de la comunidad microbiana del suelo es susceptible a cambios asociados a las prácticas de manejo como la labranza y la rotación de cultivos (Beare et al., 1992; Bossio et al., 1998; Frey et al., 1999). Además, algunos autores sugieren que la biomasa de hongos puede verse favorecida por la presencia de residuos de baja calidad mientras que la población bacteriana predominaría en presencia de residuos de alta calidad (Bossuyt et al., 2001; Kramer et al., 2012). En ese sentido, las secuencias de cultivo con residuos de menor calidad, presentaron una aparente sucesión microbiana que se caracterizó por una comunidad dominada inicialmente por hongos, la cual se vio estimulada cuando se aportaron residuos de baja calidad, que fue sucedida por una comunidad dominada por bacterias al finalizar la experiencia independientemente de la calidad de los residuos. En cambio, las secuencias con residuos de alta calidad que incluyeron a la leguminosa, estuvieron dominadas por bacterias a lo largo de toda la experiencia. Frente a un ambiente limitado en sustrato y más fluctuante (temperatura y humedad), poblaciones más eficientes y tolerantes como los hongos resultaron predominantes. En cambio, ante condiciones más estables en el suministro de sustratos, temperatura y humedad predominaron las poblaciones con mayores tasas de crecimiento como las bacterias. Resulta interesante resaltar que los cambios sucesionales observados en las secuencias de cultivo con mayor disponibilidad de N por la inclusión de la leguminosa, condujeron al establecimiento más temprano de una comunidad aparentemente estable en relación a la predominancia de los grupos taxonómicos de bacterias y hongos. Esta evidencia concuerda con los cambios sucesionales observados por otros autores como consecuencia de la descomposición de residuos de diferente calidad en incubaciones realizadas sobre el sustrato (Baumann et al., 2009).

Los cambios en la abundancia relativa de hongos y bacterias afectarían el ciclado de carbono y su almacenamiento en los distintos sub-compartimentos de la materia orgánica del suelo. Sin embargo, algunos autores advierten que la influencia de los cambios en la comunidad microbiana del suelo sobre procesos "generales" como el ciclado de la materia orgánica del suelo son menos concluyentes (Schimel y Schaeffer, 2012). Los resultados de esta experiencia indicaron que las secuencias con vicia con una población dominada por bacterias y con una mayor diversidad biológica, secuestraron más C (0-12 cm) y más N (0-6 cm) en la materia orgánica total del suelo luego de tres años de efectos acumulados. Estos resultados

contradicen la hipótesis de Jastrow et al. (2007) que plantea que los hongos como población predominante serían los que incrementarían el potencial de secuestro de C. Strickland y Rousk (2010) confeccionaron una revisión bibliográfica sobre las implicancias de la dominancia de hongos vs bacterias en el suelo sobre el secuestro de C en el suelo y concluyeron que existe una falta de consistencia en los trabajos publicados recientemente sobre la temática (Busse et al., 2009; Mulder y Elser, 2009). Aparentemente la metodología utilizada para su determinación influiría sobre los resultados, sin embargo, no se encontró ningún trabajo que compare cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo con diferentes métodos. En esta experiencia se utilizaron dos metodologías de diferente resolución (qPCR y FAME) que verificaron similares resultados

La fertilización inorgánica no resultó efectiva para modificar la calidad de los residuos o la velocidad de descomposición, en consecuencia, el flujo de nutrientes fue lento. La biomasa microbiana evidenció un efecto detrimental de la fertilización al inicio de la experiencia dado por una biomasa microbiana de menor tamaño que la monocultura. Sin embargo, alcanzó valores de máxima capacidad de carga el segundo año demostrando la resiliencia de la biota del suelo (Allison y Martiny, 2008). Al finalizar la experiencia, la diversidad biológica del suelo en esta secuencia de cultivo resultó inferior respecto de utilizar una fuente biológica de N. Estos resultados concuerdan con otros autores que también evidenciaron el efecto detrimental de la fertilización inorgánica con N (Allison et al., 2007; Sradnick et al., 2013).

A partir de los resultados obtenidos en esta experiencia surgen algunos interrogantes que serán necesarios evaluar en futuras investigaciones:

- No resulta claro si la capacidad de carga del suelo, definida por el tamaño máximo de la biomasa microbiana que un suelo puede sostener, se encuentra condicionada por propiedades genéticas del suelo y también por el manejo.
- La falta de relación entre la biomasa microbiana del suelo y los residuos acumulados sobre la superficie del suelo sugiere un aparente desacople entre los procesos que ocurren en el suelo y en los residuos que podrían estar conectados por la materia orgánica soluble.
- No resulta claro el efecto de la fertilización inorgánica sobre la acumulación de C en el suelo.
- Los cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo a lo largo de los tres años de la experiencia no nos permitieron discernir claramente si corresponden a una sucesión microbiana producto de los cambios en la descomposición de los residuos de diferente calidad o al efecto del ambiente edáfico condicionado por el sistema de labranza.

- No existe información acerca de la abundancia relativa de hongos respecto de bacterias en distintos tipos de suelo en la región semiárida pampeana.
- Resulta necesario corroborar si realmente el aporte de N al sistema conduce a una comunidad “estable” en forma más temprana, no solo en relación a los hongos y bacterias, sino a otros grupos funcionales de interés para el ciclo de C y N del suelo.

### **7.5) Conclusiones finales**

La inclusión de los CC en secuencias con sorgo destinado a la producción de silo bajo siembra directa representó un aporte extra de residuos sobre y dentro del suelo que estimuló en el corto plazo la biota del suelo. Además, la inclusión de la vicia en las secuencias de cultivo fue una estrategia eficiente para reducir la relación C/N de los residuos de la rotación y por lo tanto mejorar su calidad. Residuos de mayor calidad presentaron mayores velocidades de descomposición, y por ende, entregaron más N al sistema. Esta mayor disponibilidad de N se tradujo en mayores rendimientos, eficiencias de uso del agua, y niveles de N en la biomasa aérea del cultivo sucesor (sorgo). La inclusión de la vicia en la rotación contribuyó con un aporte de N por fijación biológica de 31 a 112 kg ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup>. Por otra parte, la calidad de los residuos modificó la estructura de la comunidad microbiana del suelo en el corto plazo. Secuencias de cultivo con residuos de alta calidad como consecuencia de la participación de la vicia en la rotación (sola o consociada) evidenciaron una mayor predominancia de bacterias, mientras que secuencias con residuos de baja calidad estuvieron dominadas por hongos. A diferencia de lo esperado, la biota del suelo sufrió cambios en el mediano plazo (tres años) que fueron independientes de la calidad de los residuos sobre la superficie del suelo y todas las secuencias acusaron una predominancia de bacterias en la comunidad microbiana del suelo. El N tuvo un rol preponderante sobre el secuestro de C. Las secuencias que incluyeron vicia (sola o consociada) con una mayor disponibilidad de N en el sistema estimularon las tasas de ciclado de nutrientes y eso se tradujo en un mayor secuestro de C y N en la MO asociada a la fracción mineral, y también en la MOT principalmente en los primeros 6 cm del perfil.

## 8. Bibliografía

- Ågren, G.I., Hyvönen, R., Berglund, S.L., Hobbie, S.E., 2013. Estimating the critical N: C from litter decomposition data and its relation to soil organic matter stoichiometry. *Soil Biol. Biochem.* 67, 312–318. doi:10.1016/j.soilbio.2013.09.010
- Albuquerque, M.A., Dieckow, J., Sordi, A., Piva, J.T., Bayer, C., Molin, R., Pergher, M., Ribeiro-Junior, P.J., 2015. Carbon and nitrogen in a Ferralsol under zero-tillage rotations based on cover, cash or hay crops. *Soil Use Manag.* 31, 1–9. doi:10.1111/sum.12173
- Allison, S.D., Hanson, C., Treseder, K.K., 2007. Nitrogen fertilization reduces diversity and alters community structure of active fungi in boreal ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1878–1887. doi:10.1016/j.soilbio.2007.02.001
- Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *PNAS* 105, 11512–11519. doi:10.1073/pnas.0801925105
- Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biol. Biochem.* 37, 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Allison, S.D., Wallenstein, M.D., Bradford, M. a., 2010. Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nat. Geosci.* 3, 336–340. doi:10.1038/ngeo846
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 2010. Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2039–2043. doi:10.1016/j.soilbio.2010.06.026
- Angers, D.A., Bolinder, M.A., Carter, M.R., Gregorich, E.G., Drury, C.F., Liang, B.C., Voroney, R.P., Simard, R.R., Donald, R.G., Beyaert, R.P., Martel, J., 1997. Impact of tillage practices on organic carbon and nitrogen storage in cool, humid soils of eastern Canada, in: *Soil and Tillage Research*. pp. 191–201. doi:10.1016/S0167-1987(96)01100-2
- Arao, T., 1999. In situ detection of changes in soil bacterial and fungal activities by measuring <sup>13</sup>C incorporation into soil phospholipid fatty acids from <sup>13</sup>C acetate. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1015–1020. doi:10.1016/S0038-0717(99)00015-2
- Bååth, E., Anderson, T.-H., 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biol. Biochem.* 35, 955–963. doi:10.1016/S0038-0717(03)00154-8
- Badri, D. V., Vivanco, J.M., 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell Environ.* 32, 666–681. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x
- Baker, J.M., Griffis, T.J., 2009. Evaluating the potential use of winter cover crops in corn–soybean systems for sustainable co-production of food and fuel. *Agric. For. Meteorol.* 149, 2120–2132. doi:10.1016/j.agrformet.2009.05.017
- Balota, E.L., Calegari, A., Nakatani, A.S., Coyne, M.S., 2014. Benefits of winter cover crops and no-tillage for microbial parameters in a Brazilian Oxisol: A long-term study. *Agric. Ecosyst. Environ.* 197, 31–40. doi:10.1016/j.agee.2014.07.010
- Bárcenas-Moreno, G., Gómez-Brandon, M., Rousk, J., Baath, E., 2009. Adaptation of soil microbial communities to temperature: comparison of fungi and bacteria in a laboratory experiment. *Glob. Chang. Biol.* 15, 2950–2957. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.01882.x
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R., Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends Ecol. Evol.* 20, 634–41. doi:10.1016/j.tree.2005.08.005
- Bardgett, R.D., Streeter, T.C., Bol, R., 2003. Soil microbes compete effectively with plants for organic-nitrogen inputs to temperate grasslands. *Ecology* 84, 1277–1287. doi:10.1890/0012-9658(2003)084[1277:SMCEWP]2.0.CO;2
- Barley, K.P., 1970. The configuration of the root system in relation to nutrient uptake. *Adv. Agron.* 22, 159–201. doi:10.1016/S0065-2113(08)60268-0

- Barrios, E., Buresh, R.J., Sprent, J.I., 1996. Organic matter in soil particle size and density fractions from maize and legume cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 28, 185–193. doi:10.1016/0038-0717(95)00110-7
- Baumann, K., Marschner, P., Smernik, R.J., Baldock, J. a., 2009. Residue chemistry and microbial community structure during decomposition of eucalypt, wheat and vetch residues. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1966–1975. doi:10.1016/j.soilbio.2009.06.022
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J., Pillon, C.N., Sangoi, L., 2001. Changes in soil organic matter fractions under subtropical no-till cropping systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1473. doi:10.2136/sssaj2001.6551473x
- Beare, M.H., Neely, C.L., Coleman, D.C., Hargrove, W.L., Britam, G., Neely, L., 1990. A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. *Soil Biol. Biochem.* 22, 585–594. doi:10.1016/0038-0717(90)90002-H
- Beare, M.H., Parmelee, R.W., Hendrix, P.F., Cheng, W., Coleman, D.C., Crossley, A.J., Monographs, E., Dec, N., 2007. Microbial and Faunal Interactions and Effects on Litter Nitrogen and Decomposition in Agroecosystems. *Ecol. Monogr.* 62, 569–591.
- Beare, M.H., Parmelee, R.W., Hendrix, P.F., Cheng, W., David, C., Crossley, D.A., 1992. Microbial and Faunal Interactions and Effects on Litter Nitrogen and Decomposition in Agroecosystems. *Ecol. Monogr.* 62, 569–591.
- Bertolla, A., Baigorria, T., Gómez, D., Cazorla, C., Cagliero, M., Lardone, A., Bojanich, M., Aimetta, B., 2013. Efecto de la fertilización sobre la eficiencia de uso del agua de especies invernales utilizadas como cultivos de cobertura, in: Alvarez, C., Quiroga, A., Santos, D., Bodrero, M. (Eds.), *Contribuciones de Los Cultivos de Cobertura a La Sostenibilidad de Los Sistemas de Producción*. INTA, Anguil, p. 195.
- Bhowmik, P.C., Inderjit, 2003. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. *Crop Prot.* 22, 661–671. doi:10.1016/S0261-2194(02)00242-9
- Binkley, D., Vitousek, P., 1989. Soil nutrient availability, in: Percy, R.W., Ehleringer, J.R., Mooney, H.A., Rundel, P.W. (Eds.), *Plant Physiological Ecology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 75–96. doi:10.1007/978-94-009-2221-1
- Blagodatsky, S., Grote, R., Kiese, R., Werner, C., Butterbach-Bahl, K., 2011. Modelling of microbial carbon and nitrogen turnover in soil with special emphasis on N-trace gases emission. *Plant Soil* 346, 297–330. doi:10.1007/s11104-011-0821-z
- Bolinder, M. a., Angers, D. a., Dubuc, J.P., 1997. Estimating shoot to root ratios and annual carbon inputs in soils for cereal crops. *Agric. Ecosyst. Environ.* 63, 61–66. doi:10.1016/S0167-8809(96)01121-8
- Bonkowski, M., Clarholm, M., 2012. Stimulation of plant growth through interactions of bacteria and protozoa: Testing the auxiliary microbial loop hypothesis. *Acta Protozool.* 51, 237–247. doi:10.4467/16890027AP.12.019.0765
- Bono, A., Alvarez, R., Buschiazzi, D.E., Cantet, R.J.C., 2008. Tillage Effects on Soil Carbon Balance in a Semiarid Agroecosystem All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any informatio. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72, 1140–1149.
- Bono, A., Romano, N., 2012. Nitrógeno, in: Quiroga, A., Bono, A. (Eds.), *Manual de Fertilidad Y Evaluación de Suelos*. INTA, Anguil, pp. 60–64.
- Borneman, J., Hartin, R.J., 2000. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 4356–60.

- Bossio, D.A., Scow, K.M., Gunapala, N., Graham, K.J., 1998. Determinants of Soil Microbial Communities: Effects of Agricultural Management, Season, and Soil Type on Phospholipid Fatty Acid Profiles. *Microb. Ecol.* 36, 1–12. doi:10.1007/s002489900087
- Bossuyt, H., Denef, K., Six, J., Frey, S., Merckx, R., Paustian, K., 2001. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Appl. Soil Ecol.* 16, 195–208. doi:10.1016/S0929-1393(00)00116-5
- Bradford, M.A., Keiser, A.D., Davies, C.A., Mersmann, C.A., Strickland, M.S., 2013. Empirical evidence that soil carbon formation from plant inputs is positively related to microbial growth. *Biogeochemistry* 113, 271–281. doi:10.1007/s10533-012-9822-0
- Brankatschk, R., Bodenhausen, N., Zeyer, J., Bürgmann, H., 2012. Simple absolute quantification method correcting for quantitative PCR efficiency variations for microbial community samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4481–9. doi:10.1128/AEM.07878-11
- Bronick, C.J.J., Lal, R., 2005. Soil structure and management: A review. *Geoderma* 124, 3–22. doi:10.1016/j.geoderma.2004.03.005
- Brookes, P.C., Joergensen, R.G., 2005. Microbial biomass measurements by fumigation-extraction, in: Bloem, J., Hopkins, D.W., Benedetti, A. (Eds.), *Microbiological Methods for Assessing Soil Quality*. pp. 77–83. doi:10.1079/9780851990989.0077
- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G., Jenkinson, D.S., Station, R.E., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.* 17, 837–842. doi:10.1016/0038-0717(85)90144-0
- Bruun, S., Stenberg, B., Breland, T., Gudmundsson, J., Henriksen, T., Jensen, L., Korsath, a, Luxhoi, J., Palmason, F., Pedersen, a, 2005. Empirical predictions of plant material C and N mineralization patterns from near infrared spectroscopy, stepwise chemical digestion and C/N ratios. *Soil Biol. Biochem.* 37, 2283–2296. doi:10.1016/j.soilbio.2005.04.006
- Bush, D.R., 1993. Proton-Coupled Sugar and Amino Acid Transporters in Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44, 513–542. doi:10.1146/annurev.pp.44.060193.002501
- Busse, M., Sanchez, F., Ratcliff, a, Butnor, J., Carter, E., Powers, R., 2009. Soil carbon sequestration and changes in fungal and bacterial biomass following incorporation of forest residues☆. *Soil Biol. Biochem.* 41, 220–227. doi:10.1016/j.soilbio.2008.10.012
- Buyer, J.S., Teasdale, J.R., Roberts, D.P., Zasada, I.A., Maul, J.E., 2010. Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 42, 831–841. doi:10.1016/j.soilbio.2010.01.020
- Camargo, L.A., Marques, J., Pereira, G.T., Alleoni, L.R.F., 2013. Spatial correlation between the composition of the clay fraction and contents of available phosphorus of an Oxisol at hillslope scale. *Catena* 100, 100–106. doi:10.1016/j.catena.2012.07.016
- Cambardella, C.A., Elliott, E.T., 1994. Carbon and Nitrogen Dynamics of Soil Organic Matter Fractions from Cultivated Grassland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 123–130.
- Campbell, C.A., Lafond, G.P., Biederbeck, V.O., Wen, G., Schoenau, J., Hahn, D., 1999. Seasonal trends in soil biochemical attributes: Effects of crop management on a Black Chernozem. *Can. J. Soil Sci.* 79, 85–97. doi:10.4141/S98-029
- Cantero-Martínez, C., Angas, P., Lampurlanés, J., 2003. Growth, yield and water productivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) affected by tillage and N fertilization in Mediterranean semiarid, rainfed conditions of Spain. *F. Crop. Res.* 84, 341–357. doi:10.1016/S0378-4290(03)00101-1
- Carrillo, Y., Dijkstra, F.A., Pendall, E., LeCain, D., Tucker, C., 2014. Plant rhizosphere influence on microbial C metabolism: The role of elevated CO<sub>2</sub>, N availability and root stoichiometry. *Biogeochemistry*. doi:10.1007/s10533-014-9954-5

- Carter, M.R., Gregorich, E.G., 2010. Carbon and nitrogen storage by deep-rooted tall fescue (*Lolium arundinaceum*) in the surface and subsurface soil of a fine sandy loam in eastern Canada. *Agric. Ecosyst. Environ.* 136, 125–132. doi:10.1016/j.agee.2009.12.005
- Casagrande, G., Deanna, M.E., Farrell, M.A., Babinec, F.J., 2012. Estadísticas agroclimáticas de la EEA Anguil“ Ing. Agr. Guillermo Covas”. Periodo 1973-2011. Boletín Divulg. técnica Nro. 88.
- Cataldo, D.A., Maroon, M., Schrader, L.E., Youngs, V.L., 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6, 71–80. doi:10.1080/00103627509366547
- Cernohlávková, J., Jarkovský, J., Nesporová, M., Hofman, J., 2009. Variability of soil microbial properties: effects of sampling, handling and storage. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 2102–8. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.04.023
- Chantigny, M., 2003. Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma* 113, 357–380. doi:10.1016/S0016-7061(02)00370-1
- Chantigny, M.H., Angers, D. a, Prévost, D., Simard, R.R., Chalifour, F.-P., 1999. Dynamics of soluble organic C and C mineralization in cultivated soils with varying N fertilization. *Soil Biol. Biochem.* 31, 543–550. doi:10.1016/S0038-0717(98)00139-4
- Chantigny, M.H., Angers, D.A., Kaiser, K., 2007. Extraction and Characterization of Dissolved Organic Matter, in: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (Eds.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadian Society of Soil Science. CRC Press, pp. 617–635.
- Chen, M., Chen, B., Marschner, P., 2008. Plant growth and soil microbial community structure of legumes and grasses grown in monoculture or mixture. *J. Environ. Sci.* 20, 1231–1237. doi:10.1016/S1001-0742(08)62214-7
- Chenu, C., 1995. Extracellular polysaccharides: an interface between microorganisms and soil constituents, in: Huang, P.M., Berthelin, J., Bollag, J., McGill, W.B., Page, A.L. (Eds.), *Environmental Impact of Soil Component Interactions: Natural and Antropogenic Organics*. CRC Press, Inc, Florida, p. 423.
- Chenu, C., Cosentino, D., 2011. Microbial regulation of soil structural dynamics, in: Ritz, K., Young, I. (Eds.), *The Architecture and Biology of Soils: Life in Inner Space*. CABI, p. 216.
- Chertov, O.G., Komarov, A.S., 1997. SOMM: A model of soil organic matter dynamics. *Ecol. Modell.* 94, 177–189. doi:10.1016/S0304-3800(96)00017-8
- Chivenge, P., Vanlauwe, B., Gentile, R., Six, J., 2011. Organic resource quality influences short-term aggregate dynamics and soil organic carbon and nitrogen accumulation. *Soil Biol. Biochem.* 43, 657–666. doi:10.1016/j.soilbio.2010.12.002
- Christou, M., Avramides, E.J., Jones, D.L., 2006. Dissolved organic nitrogen dynamics in a Mediterranean vineyard soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2265–2277. doi:10.1016/j.soilbio.2006.01.025
- Clarholm, M., 2005. Soil protozoa: an under-researched microbial group gaining momentum. *Soil Biol. Biochem.* 37, 811–817. doi:10.1016/j.soilbio.2004.11.002
- Clarholm, M., 1985. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 17, 181–187. doi:10.1016/0038-0717(85)90113-0
- Cong, W.-F., Ruijven, J. Van, Werf, W. Van Der, Deyn, G.B. De, Mommer, L., Berendse, F., Hof, E., 2015. Soil Biology & Biochemistry Plant species richness leaves a legacy of enhanced root litter-induced decomposition in soil. *Soil Biol. Biochem.* 80, 341–348. doi:10.1016/j.soilbio.2014.10.017

- Cookson, W.R., Abaye, D. a., Marschner, P., Murphy, D. V., Stockdale, E. a., Goulding, K.W.T., 2005. The contribution of soil organic matter fractions to carbon and nitrogen mineralization and microbial community size and structure. *Soil Biol. Biochem.* 37, 1726–1737. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.007
- Cookson, W.R., Murphy, D.V., 2004. Quantifying the contribution of dissolved organic matter to soil nitrogen cycling using <sup>15</sup>N isotopic pool dilution. *Soil Biol. Biochem.* 36, 2097–2100. doi:10.1016/j.soilbio.2004.05.013
- Cookson, W.R., Murphy, D. V., Roper, M.M., 2008. Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biol. Biochem.* 40, 763–777. doi:10.1016/j.soilbio.2007.10.011
- Cossani, C.M., Slafer, G.A., Savin, R., 2012. Nitrogen and water use efficiencies of wheat and barley under a Mediterranean environment in Catalonia. *F. Crop. Res.* 128, 109–118. doi:10.1016/j.fcr.2012.01.001
- Crews, T.E., Peoples, M.B., 2005. Can the Synchrony of Nitrogen Supply and Crop Demand be Improved in Legume and Fertilizer-based Agroecosystems? A Review. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 72, 101–120. doi:10.1007/s10705-004-6480-1
- Czarnes, S., Hallett, P.D., Bengough, A.G., Young, I.M., 2000. Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport. *Eur. J. Soil Sci.* 51, 435–443. doi:10.1046/j.1365-2389.2000.00327.x
- Dabney, S.M., Delgado, J.A., Reeves, D.W., 2001. Using winter cover crops to improve soil and water quality. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 32, 1221–1250.
- Daliparthi, J., Herbert, S.J., Veneman, P.L., 1994. Dairy manure applications to alfalfa: Crop response, soil nitrate, and nitrate in soil water. *Agron. J.* 86, 927–933. doi:10.2134/agronj1994.00021962008600060001x
- Dardanelli, J.L., Bachmeier, O.A., Sereno, R., Gil, R., 1997. Rooting depth and soil water extraction patterns of different crops in a silty loam Haplustoll. *F. Crop. Res.* 54, 29–38. doi:10.1016/S0378-4290(97)00017-8
- De Vries, F.T., Hoffland, E., van Eekeren, N., Brussaard, L., Bloem, J., 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2092–2103. doi:10.1016/j.soilbio.2006.01.008
- De Wit, C.T., 1953. A physical theory on placement of fertilizers. Wageningen University.
- Decker, A.M., Clark, A.J., Meisinger, J.J., Mulford, F.R., McIntosh, M.S., 1994. Legume cover crop contributions to no-tillage corn production. *Agron. J.* doi:10.2134/agronj1994.00021962008600010024x
- Denef, K., Six, J., Bossuyt, H., Frey, S.D., Elliott, E.T., Merckx, R., Paustian, K., 2001. Influence of dry–wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1599–1611. doi:10.1016/S0038-0717(01)00076-1
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2009. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dick, R.P., 1992. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agric. Ecosyst. Environ.* 40, 25–36. doi:10.1016/0167-8809(92)90081-L
- Dijkstra, F.A., Cheng, W., 2007. Interactions between soil and tree roots accelerate long-term soil carbon decomposition. *Ecol. Lett.* 10, 1046–53. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01095.x

- Dinesh, R., Suryanarayana, M.A., Ghoshal Chaudhuri, S., Sheeja, T.E., 2004. Long-term influence of leguminous cover crops on the biochemical properties of a sandy clay loam Fluventic Sulfaquent in a humid tropical region of India. *Soil Tillage Res.* 77, 69–77. doi:10.1016/j.still.2003.11.001
- DiTomaso, J.M., Hart, J.J., Kochian, L. V., 1992. Transport Kinetics and Metabolism of Exogenously Applied Putrescine in Roots of Intact Maize Seedlings. *PLANT Physiol.* 98, 611–620. doi:10.1104/pp.98.2.611
- Djigal, D., Saj, S., Rabary, B., Blanchart, E., Villenave, C., 2012. Mulch type affects soil biological functioning and crop yield of conservation agriculture systems in a long-term experiment in Madagascar. *Soil Tillage Res.* 118, 11–21. doi:10.1016/j.still.2011.10.008
- Dominguez, G., Diovisalvi, N., Studdert, G., Monterubbianesi, M., 2009. Soil organic C and N fractions under continuous cropping with contrasting tillage systems on mollisols of the southeastern Pampas. *Soil Tillage Res.* 102, 93–100. doi:10.1016/j.still.2008.07.020
- Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., Whitmore, A.P., 2012. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Glob. Chang. Biol.* 18, 1781–1796. doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02665.x
- Ebelhar, S.A., Frye, W.W., Blevins, R.L., 1984. Nitrogen from Legume Cover Crops for No-Tillage Corn. *Agron. J.* doi:10.2134/agronj1984.00021962007600010014x
- Ekenler, M., Tabatabai, M. a., 2003. Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. *Biol. Fertil. Soils* 39, 51–61. doi:10.1007/s00374-003-0664-8
- Elliott, E.T., 1986. Aggregate Structure and Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Native and Cultivated Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 627. doi:10.2136/sssaj1986.03615995005000030017x
- Fagioli, M., 1973. Desarrollo de los aparatos radicales en cultivos de maiz y trigo en la region de Pergamino. *RIA* 10, 111–135.
- Farrell, M., Hill, P.W., Farrar, J., DeLuca, T.H., Roberts, P., Kielland, K., Dahlgren, R., Murphy, D. V., Hobbs, P.J., Bardgett, R.D., Jones, D.L., 2012. Oligopeptides Represent a Preferred Source of Organic N Uptake: A Global Phenomenon? *Ecosystems* 16, 133–145. doi:10.1007/s10021-012-9601-8
- Farrell, M., Hill, P.W., Wanniarachchi, S.D., Farrar, J., Bardgett, R.D., Jones, D.L., 2011. Rapid peptide metabolism: A major component of soil nitrogen cycling? *Global Biogeochem. Cycles* 25, n/a–n/a. doi:10.1029/2010GB003999
- Farrell, M., Prendergast-Miller, M., Jones, D.L., Hill, P.W., Condrón, L.M., 2014. Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biol. Biochem.* 77, 261–267. doi:10.1016/j.soilbio.2014.07.003
- Federle, T.W., 1986. Microbial Distribution in Soil-New Techniques, in: Megusar, F., Gantar, M. (Eds.), *Perspectives in Microbial Ecology*. Slovene Society for Microbiology, Ljubljana, pp. 493–498.
- Felse, P.A., Panda, T., 1999. Regulation and cloning of microbial chitinase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* doi:10.1007/s002530051374
- Fernández, R., Quiroga, A., Noellemeyer, E., 2012. Cultivos de cobertura, ¿una alternativa viable para la región semirárida pampeana? *Cienc. del suelo* 30, 137–150.
- Ferrari, A.E., Ravnkov, S., Larsen, J., Tønnersen, T., Maronna, R.A., Wall, L.G., 2015. Crop rotation and seasonal effects on fatty acid profiles of neutral and phospholipids extracted from no-till agricultural soils. *Soil Use Manag.* 31, 165–175. doi:10.1111/sum.12165

- Fierer, N., Jackson, J.A., Vilgalys, R., Jackson, R.B., 2005. Assessment of Soil Microbial Community Structure by Use of Taxon-Specific Quantitative PCR Assays 71, 4117–4120. doi:10.1128/AEM.71.7.4117
- Fontaine, S., Henault, C., Amor, a., Bdioui, N., Bloor, J.M.G., Maire, V., Mary, B., Revaillet, S., Maron, P. a., 2011. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.* 43, 86–96. doi:10.1016/j.soilbio.2010.09.017
- Fontana, F., Paturlane, M., Saks, M., Quiroga, A., 2006. Efecto del espesor de suelo sobre propiedades edáficas y rendimiento de trigo en la región semiárida pampeana, *Publicación Técnica N° 66*. INTA, Anguil.
- Franchini, J.C., Gonzalez-Vila, F.J., Cabrera, F., Miyazawa, M., Pavan, M.A., 2001. Rapid transformations of plant water-soluble organic compounds in relation to cation mobilization in an acid Oxisol. *Plant Soil* 231, 55–63. doi:10.1023/A:1010338917775
- Frey, S., Elliott, E., Paustian, K., 1999. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biol. Biochem.* 31, 573–585. doi:10.1016/S0038-0717(98)00161-8
- Frey, S.D., Elliott, E.T., Paustian, K., Peterson, G. a., 2000. Fungal translocation as a mechanism for soil nitrogen inputs to surface residue decomposition in a no-tillage agroecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 32, 689–698. doi:10.1016/S0038-0717(99)00205-9
- Frostegård, A., Bååth, E., 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol. Fertil. Soils* 22, 59–65. doi:10.1007/BF00384433
- Frostegård, A., Tunlid, A., Bååth, E., 1993. Phospholipid Fatty Acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 3605–3617.
- Galantini, J.A., Rosell, R.A., 1997. Organic fractions, N, P and S changes in an Argentine semiarid Haplustoll under different crop sequences. *Soil Tillage Res.* 42, 221–228. doi:10.1016/S0167-1987(97)00002-0
- Galbraith, L., Wilkinson, S.G., 1991. Polar lipids and fatty acids of *Pseudomonas caryophylli*, *Pseudomonas gladioli* and *Pseudomonas pickettii*. *J. Gen. Microbiol.* 137, 197–202. doi:10.1099/00221287-137-1-197
- Gale, W.J., Cambardella, C.A., 2000. Carbon dynamics of surface residue-and root-derived organic matter under simulated no-till. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 190–195. doi:10.2136/sssaj2000.641190x
- Gale, W.J., Cambardella, C.A., Bailey, T.B., 2000a. Surface Residue–and Root-derived Carbon in Stable and Unstable Aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* doi:10.2136/sssaj2000.641196x
- Gale, W.J., Cambardella, C.A., Bailey, T.B., 2000b. Root-Derived Carbon and the Formation and Stabilization of Aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 201–207. doi:10.2136/sssaj2000.641201x
- Galvez, L., Douds, D., 1995. An overwintering cover crop increases inoculum of VAM fungi in agricultural soil. *Am. J. ...* 10, 152–156. doi:10.1017/S0889189300006391
- Gärdenäs, A.I., Ågren, G.I., Bird, J. a., Clarholm, M., Hallin, S., Ineson, P., Kätterer, T., Knicker, H., Nilsson, S.I., Näsholm, T., 2011. Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions – From molecular to global scale. *Soil Biol. Biochem.* 43, 702–717. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.006
- Garnier, P., Cambier, C., Bousso, M., Masse, D., Chenu, C., Recous, S., 2008. Modeling the influence of soil-plant residue contact on carbon mineralization: Comparison of a compartmental approach and a 3D spatial approach. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2754–2761. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.032

- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biol. Biochem.* 40, 3040–3048. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.001
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2058–2067. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.021
- Gentile, R., Vanlauwe, B., Chivenge, P., Six, J., 2010. Trade-offs between the short- and long-term effects of residue quality on soil C and N dynamics. *Plant Soil* 338, 159–169. doi:10.1007/s11104-010-0360-z
- German, D.P., Marcelo, K.R.B., Stone, M.M., Allison, S.D., 2012. The Michaelis-Menten kinetics of soil extracellular enzymes in response to temperature: a cross-latitudinal study. *Glob. Chang. Biol.* 18, 1468–1479. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02615.x
- Gleixner, G., Poirier, N., Bol, R., Balesdent, J., 2002. Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil. *Org. Geochem.* 33, 357–366. doi:10.1016/S0146-6380(01)00166-8
- Gliessman, S.R., 2002. *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.
- Golchin, A., Oades, J., Skjemstad, J., Clarke, P., 1994. Soil structure and carbon cycling. *Aust. J. Soil Res.* 32, 1043. doi:10.1071/SR9941043
- González-Chávez, M.D.C. a., Aitkenhead-Peterson, J. a., Gentry, T.J., Zuberer, D., Hons, F., Loeppert, R., 2010. Soil microbial community, C, N, and P responses to long-term tillage and crop rotation. *Soil Tillage Res.* 106, 285–293. doi:10.1016/j.still.2009.11.008
- Goulding, K.W.T., 2004. Pathways and losses of fertilizer nitrogen at different scales, in: Mosier, A.R., Syers, K.J., Freney, J.R. (Eds.), *Agriculture and the Nitrogen Cycle*, The Scientific Committee on Problems of the Environment. Island Press, Covelo, California, pp. 209–219.
- Graaff, M.-A. de, Six, J., Jastrow, J.D., Schadt, C.W., Wulschleger, S.D., 2013. Variation in root architecture among switchgrass cultivars impacts root decomposition rates. *Soil Biol. Biochem.* 58, 198–206. doi:10.1016/j.soilbio.2012.11.015
- Grandy, A.S., Salam, D.S., Wickings, K., McDaniel, M.D., Culman, S.W., Snapp, S.S., 2013. Soil respiration and litter decomposition responses to nitrogen fertilization rate in no-till corn systems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 179, 35–40. doi:10.1016/j.agee.2013.04.020
- Grant, W.D., Prosser, B.A., Asher, R.A., 1990. A bacteriolytic muramidase from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *J. Gen. Microbiol.* 136, 2267–2273. doi:10.1099/00221287-136-11-2267
- Gregorich, E., Beare, M., Stoklas, U., St-Georges, P., 2003. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils. *Geoderma* 113, 237–252. doi:10.1016/S0016-7061(02)00363-4
- Gregorich, E.G., Monreal, C.M., Carter, M.R., Angers, D.A., Ellert, B.H., 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74, 367–385. doi:10.4141/cjss94-051
- Gude, A., Kandeler, E., Gleixner, G., 2012. Input related microbial carbon dynamic of soil organic matter in particle size fractions. *Soil Biol. Biochem.* 47, 209–219. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.003
- Gunina, A., Kuzyakov, Y., 2014. Pathways of litter C by formation of aggregates and SOM density fractions: Implications from <sup>13</sup>C natural abundance. *Soil Biol. Biochem.* 71, 95–104. doi:10.1016/j.soilbio.2014.01.011

- Haab, D., Hagspiel, K., Szakmary, K., Kubicek, C.P., 1990. Formation of the extracellular proteases from *Trichoderma reesei* QM 9414 involved in cellulase degradation. *J. Biotechnol.* 16, 187–198. doi:10.1016/0168-1656(90)90035-A
- Haack, S.K., Garchow, H., Odelson, D.A., Forney, L.J., Klug, M.J., 1994. Accuracy, Reproducibility, and Interpretation of Fatty Acid Methyl Ester Profiles of Model Bacterial Communities. *Appl. Envir. Microbiol.* 60, 2483–2493.
- Haichar, F. el Z., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W., 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biol. Biochem.* 77, 69–80. doi:10.1016/j.soilbio.2014.06.017
- Hamer, U., Potthast, K., Makeschin, F., 2009. Urea fertilisation affected soil organic matter dynamics and microbial community structure in pasture soils of Southern Ecuador. *Appl. Soil Ecol.* 43, 226–233. doi:10.1016/j.apsoil.2009.08.001
- Handa, I.T., Aerts, R., Berendse, F., Berg, M.P., Bruder, A., Butenschoen, O., Chauvet, E., Gessner, M.O., Jabiol, J., Makkonen, M., McKie, B.G., Malmqvist, B., Peeters, E.T.H.M., Scheu, S., Schmid, B., van Ruijven, J., Vos, V.C.A., Hättenschwiler, S., 2014. Consequences of biodiversity loss for litter decomposition across biomes. *Nature* 509, 218–221. doi:10.1038/nature13247
- Harris, R.F., 1981. Water Potential Relations in Soil Microbiology, Water Potential Relations in Soil Microbiology, SSSA Special Publication. Soil Science Society of America. doi:10.2136/sssaspecpub9.c2
- Hassink, J., 1997. The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant Soil* 191, 77–87. doi:10.1023/A:1004213929699
- Hassink, J., 1995. Density fractions of soil macroorganic matter and microbial biomass as predictors of C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 27, 1099–1108. doi:10.1016/0038-0717(95)00027-C
- Hatfield, J.L., Sauer, T.J., Prueger, J.H., 2001. Managing soils to achieve greater water use efficiency: A review. *Agron. J* 280, 271–280.
- Hattori, T., 1988. Soil aggregates as microhabitats of microorganisms, Reports of the Institute for Agricultural Research-Tohoku University (Japan).
- Haynes, R.J., 2005. Labile Organic Matter Fractions as Central Components of the Quality of Agricultural Soils: An Overview. *Adv. Agron.* 85, 221–268. doi:10.1016/S0065-2113(04)85005-3
- He, Y., Qi, Y., Dong, Y., Xiao, S., Peng, Q., Liu, X., Sun, L., 2013. Effects of Nitrogen Fertilization on Soil Microbial Biomass and Community Functional Diversity in Temperate Grassland in Inner Mongolia, China. *CLEAN – Soil, Air, Water* 41, 1216–1221. doi:10.1002/clen.201200021
- Helgason, B.L., Walley, F.L., Germida, J.J., 2010. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Appl. Soil Ecol.* 46, 390–397. doi:10.1016/j.apsoil.2010.10.002
- Henriksen, T.M., Breland, T.A., 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1121–1134. doi:10.1016/S0038-0717(99)00030-9
- Hill, P., Farrar, J., Roberts, P., Farrell, M., Grant, H., Newsham, K., Hopkins, D., Bardgett, R., Jones, D., 2011a. Vascular plant success in a warming Antarctic may be due to efficient nitrogen acquisition. *Nat. Clim. Chang.* 1, 50–53. doi:10.1038/nclimate1060
- Hill, P., Farrell, M., Roberts, P., Farrar, J., Grant, H., Newsham, K., Hopkins, D., Bardgett, R., Jones, D., 2011b. Soil- and enantiomer-specific metabolism of amino acids and their

- peptides by Antarctic soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 43, 2410–2416. doi:10.1016/j.soilbio.2011.08.006
- Hill, P., Quilliam, R., DeLuca, T., Farrar, J., Farrell, M., Roberts, P., Newsham, K., Hopkins, D., Bardgett, R., Jones, D., 2011c. Acquisition and assimilation of nitrogen as peptide-bound and D-enantiomers of amino acids by wheat. *PLoS One* 6, e19220. doi:10.1371/journal.pone.0019220
- Hill, P.W., Farrell, M., Jones, D.L., 2012. Bigger may be better in soil N cycling: Does rapid acquisition of small l-peptides by soil microbes dominate fluxes of protein-derived N in soil? *Soil Biol. Biochem.* 48, 106–112. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.023
- Högberg, P., 2007. Environmental science: nitrogen impacts on forest carbon. *Nature* 447, 781–2. doi:10.1038/447781a
- Högberg, P., Read, D.J., 2006. Towards a more plant physiological perspective on soil ecology. *Trends Ecol. Evol.* 21, 548–54. doi:10.1016/j.tree.2006.06.004
- Holland, E.A., Coleman, D.C., 1987. Litter Placement Effects on Microbial and Organic Matter Dynamics in an Agroecosystem. *Ecol. Soc. Am.* 68, 425–433.
- Indraratne, S.P., Goh, T.B., Shindo, H., 2007. Sorption of organic compounds by hydroxy-interlayered clays through chelation and humification processes. *Geoderma* 139, 314–320. doi:10.1016/j.geoderma.2007.02.009
- Jagadamma, S., Mayes, M.A., Steinweg, J.M., Schaeffer, S.M., 2014. Substrate quality alters microbial mineralization of added substrate and soil organic carbon. *Biogeosciences Discuss.* 11, 4451–4482. doi:10.5194/bgd-11-4451-2014
- Jangid, K., Williams, M., Franzluebbers, a, Sanderlin, J., Reeves, J., Jenkins, M., Endale, D., Coleman, D., Whitman, W., 2008. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2843–2853. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.030
- Janzen, H.H., 2006. The soil carbon dilemma: Shall we hoard it or use it? *Soil Biol. Biochem.* doi:10.1016/j.soilbio.2005.10.008
- Jastrow, J.D., Amonette, J.E., Bailey, V.L., 2007. Mechanisms controlling soil carbon turnover and their potential application for enhancing carbon sequestration. *Clim. Change* 80, 5–23. doi:10.1007/s10584-006-9178-3
- Jenkinson, D.S., Powlson, D.S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil—I. Fumigation with chloroform. *Soil Biol. Biochem.* 8, 167–177. doi:10.1016/0038-0717(76)90001-8
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of <sup>15</sup>N-labelled pea and barley residues. *Biol. Fertil. Soils* 24, 39–44.
- Jones, D., Kielland, K., 2002. Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost-dominated taiga forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 34, 209–219. doi:10.1016/S0038-0717(01)00175-4
- Jones, D., Willett, V., 2006. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biol. Biochem.* 38, 991–999. doi:10.1016/j.soilbio.2005.08.012
- Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F., Hodge, A., 2005. Dissolved organic nitrogen uptake by plants—an important N uptake pathway? *Soil Biol. Biochem.* 37, 413–423. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.008
- Kalbitz, K., 2003. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113, 273–291. doi:10.1016/S0016-7061(02)00365-8

- Kalbitz, K., 2001. Properties of organic matter in soil solution in a German fen area as dependent on land use and depth. *Geoderma* 104, 203–214. doi:10.1016/S0016-7061(01)00081-7
- Kalbitz, K., Schwesig, D., Schmerwitz, J., Kaiser, K., Haumaier, L., Glaser, B., Ellerbrock, R., Leinweber, P., 2003. Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. *Soil Biol. Biochem.* 35, 1129–1142. doi:10.1016/S0038-0717(03)00165-2
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Sci.* doi:10.1097/00010694-200004000-00001
- Kalisz, H., 1988. Enzyme Studies. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* doi:10.1007/BFb0047943
- Kallenbach, C., Grandy, A.S., 2011. Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: A meta-analysis. *Agric. Ecosyst. Environ.* 144, 241–252. doi:10.1016/j.agee.2011.08.020
- Kandeler, E., Luxhøi, J., Tschirko, D., Magid, J., 1999. Xylanase, invertase and protease at the soil-litter interface of a loamy sand. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1171–1179. doi:10.1016/S0038-0717(99)00035-8
- Kätterer, T., Bolinder, M.A., Andrén, O., Kirchmann, H., Menichetti, L., 2011. Roots contribute more to refractory soil organic matter than above-ground crop residues, as revealed by a long-term field experiment. *Agric. Ecosyst. Environ.* 141, 184–192. doi:10.1016/j.agee.2011.02.029
- Kaur, A.A., Chaudhary, A., Choudhary, R., Kaushik, R., 2005. Phospholipid fatty acid-A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Curr. Sci.* 89, 1103–1112.
- Kiem, R., Kögel-Knabner, I., 2003. Contribution of lignin and polysaccharides to the refractory carbon pool in C-depleted arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 35, 101–118. doi:10.1016/S0038-0717(02)00242-0
- Kirkby, C.A., Richardson, A.E., Wade, L.J., Batten, G.D., Blanchard, C., Kirkegaard, J.A., 2013. Carbon-nutrient stoichiometry to increase soil carbon sequestration. *Soil Biol. Biochem.* 60, 77–86. doi:10.1016/j.soilbio.2013.01.011
- Kirschbaum, M.U.F., Guo, L., Gifford, R.M., 2008. Observed and modelled soil carbon and nitrogen changes after planting a *Pinus radiata* stand onto former pasture. *Soil Biol. Biochem.* 40, 247–257. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.021
- Klappenbach, J. a, Dunbar, J.M., Schmidt, T.M., 2000. rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1328–33.
- Knicker, H., 2011. Soil organic N - An under-rated player for C sequestration in soils? *Soil Biol. Biochem.* doi:10.1016/j.soilbio.2011.02.020
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 34, 139–162. doi:10.1016/S0038-0717(01)00158-4
- Kong, A.Y., Six, J., 2012. Microbial community assimilation of cover crop rhizodeposition within soil microenvironments in alternative and conventional cropping systems. *Plant Soil* 356, 315–330. doi:10.1007/s11104-011-1120-4
- Kong, A.Y.Y., Scow, K.M., Córdova-Kreylos, A.L., Holmes, W.E., Six, J., 2011. Microbial community composition and carbon cycling within soil microenvironments of conventional, low-input, and organic cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 43, 20–30. doi:10.1016/j.soilbio.2010.09.005

- Kong, A.Y.Y., Six, J., 2010. Tracing Root vs. Residue Carbon into Soils from Conventional and Alternative Cropping Systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 74, 1201. doi:10.2136/sssaj2009.0346
- Kramberger, B., Gselman, A., Janzekovic, M., Kaligarić, M., Bracko, B., 2009. Effects of cover crops on soil mineral nitrogen and on the yield and nitrogen content of maize. *Eur. J. Agron.* 31, 103–109. doi:10.1016/j.eja.2009.05.006
- Kramer, C., Gleixner, G., 2008. Soil organic matter in soil depth profiles: Distinct carbon preferences of microbial groups during carbon transformation. *Soil Biol. Biochem.* 40, 425–433. doi:10.1016/j.soilbio.2007.09.016
- Kramer, S., Marhan, S., Ruess, L., Armbruster, W., Butenschoen, O., Haslwimmer, H., Kuzyakov, Y., Pausch, J., Scheunemann, N., Schoene, J., Schmalwasser, A., Totsche, K.U., Walker, F., Scheu, S., Kandeler, E., 2012. Carbon flow into microbial and fungal biomass as a basis for the belowground food web of agroecosystems. *Pedobiologia (Jena)*. 55, 111–119. doi:10.1016/j.pedobi.2011.12.001
- Kruger, H., Quiroga, A., 2013. La “interfase suelo-atmósfera” y su valor estratégico en regiones semiáridas, in: Alvarez, C., Quiroga, A., Santos, D., Bodrero, M. (Eds.), *Contribuciones de Los Cultivos de Cobertura a La Sostenibilidad de Los Sistemas de Producción*. INTA, Anguil, p. 198.
- Krull, E.S., Baldock, J.A., Skjemstad, J.O., 2003. Importance of mechanisms and processes of the stabilisation of soil organic matter for modelling carbon turnover. *Funct. Plant Biol.* 30, 207. doi:10.1071/FP02085
- Kuo, S., Jellum, E.J., 1990. Influence of Winter Cover Crop and Residue Management on Soil Nitrogen Availability 501–508.
- Kušlienė, G., Rasmussen, J., Kuzyakov, Y., Eriksen, J., 2014. Medium-term response of microbial community to rhizodeposits of white clover and ryegrass and tracing of active processes induced by <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N labelled exudates. *Soil Biol. Biochem.* 76, 22–33. doi:10.1016/j.soilbio.2014.05.003
- Kuzyakov, Y., 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1363–1371. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.003
- Ladha, J.K., Pathak, H., J. Krupnik, T., Six, J., van Kessel, C., 2005. Efficiency of fertilizer nitrogen in cerea production: retrospects and prospects. *Adv. Agron.* 87, 85–156. doi:10.1016/S0065-2113(05)87003-8
- Lagomarsino, A., Grego, S., Kandeler, E., 2011. Soil organic carbon distribution drives microbial activity and functional diversity in particle and aggregate-size fractions. *Pedobiologia (Jena)*. 55, 110–101. doi:10.1016/j.pedobi.2011.12.002
- Lata, C.J., Degrange, V., Raynaud, X., Maron, P.A., Lensi, R., Abbadie, L., 2004. Grass populations control nitrification in savanna soils. *Funct. Ecol.* 18, 605–611.
- Lawrence, C.R., Neff, J.C., Schimel, J.P., 2009. Does adding microbial mechanisms of decomposition improve soil organic matter models? A comparison of four models using data from a pulsed rewetting experiment. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1923–1934. doi:10.1016/j.soilbio.2009.06.016
- Lechevalier, H., Lechevalier, M.P., 1988. Chemotaxonomic use of lipids—an overview, in: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (Eds.), *Microbial Lipids*. Academic Press, London, pp. 869–902.
- Lehman, R.M., Taheri, W.I., Osborne, S.L., Buyer, J.S., Douds, D.D., 2012. Fall cover cropping can increase arbuscular mycorrhizae in soils supporting intensive agricultural production. *Appl. Soil Ecol.* 61, 300–304. doi:10.1016/j.apsoil.2011.11.008

- Leinweber, P., Schulten, H.-R., Kalbitz, K., Meißner, R., Jancke, H., 2001. Fulvic acid composition in degraded fenlands. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164, 371. doi:10.1002/1522-2624(200108)164:4<371::AID-JPLN371>3.0.CO;2-9
- Li, A., Fahey, T.J., Pawlowska, T.E., Fisk, M.C., Burtis, J., 2015. Fine root decomposition, nutrient mobilization and fungal communities in a pine forest ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 83, 76–83. doi:10.1016/j.soilbio.2015.01.019
- Li, J., Wang, G., Allison, S.D., Mayes, M. a., Luo, Y., 2014. Soil carbon sensitivity to temperature and carbon use efficiency compared across microbial-ecosystem models of varying complexity. *Biogeochemistry* 119, 67–84. doi:10.1007/s10533-013-9948-8
- Lincoln, S.P., Fermor, T.R., Wood, D.A., 1997. Production and detection of muramidase and acetylglucosaminidase from *Agaricus bisporus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 25, 24–29. doi:10.1046/j.1472-765X.1997.00163.x
- Linn, D.M., Doran, J.W., 1984. Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils<sup>1</sup>. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1267. doi:10.2136/sssaj1984.03615995004800060013x
- Lloyd, A.B., Sheaffe, M.J., 1973. Urease activity in soils. *Plant Soil* 39, 71–80. doi:10.1007/BF00018046
- López, M.V., Arrúe, J.L., 1997. Growth, yield and water use efficiency of winter barley in response to conservation tillage in a semi-arid region of Spain. *Soil Tillage Res.* 44, 35–54. doi:10.1016/S0167-1987(97)00030-5
- Lorda, H., Roberto, Z., Bellini Saibene, Y., Sipowicz, A., Belmonte, M.L., 2008. Descripción de zonas y subzonas agroecológicas RIAP: Área de influencia de la EEA Anguil, in: *Boletín de Divulgación Técnica* Nro. 96, EEA INTA Anguil. p. 40.
- Lupwayi, N.Z., Grant, C. a., Soon, Y.K., Clayton, G.W., Bittman, S., Malhi, S.S., Zebarth, B.J., 2010. Soil microbial community response to controlled-release urea fertilizer under zero tillage and conventional tillage. *Appl. Soil Ecol.* 45, 254–261. doi:10.1016/j.apsoil.2010.04.013
- Lupwayi, N.Z., Lafond, G.P., Ziadi, N., Grant, C.A., 2012. Soil microbial response to nitrogen fertilizer and tillage in barley and corn. *Soil Tillage Res.* 118, 139–146. doi:10.1016/j.still.2011.11.006
- Lupwayi, N.Z., Rice, W.A., Clayton, G.W., 1999. Soil microbial biomass and carbon dioxide flux under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Can. J. Soil Sci.* 79, 273–280. doi:10.4141/S98-052
- Lützow, M. V., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: Mechanisms and their relevance under different soil conditions - A review. *Eur. J. Soil Sci.* doi:10.1111/j.1365-2389.2006.00809.x
- Manzoni, S., Jackson, R.B., Trofymow, J. a, Porporato, A., 2008. The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. *Science* 321, 684–6. doi:10.1126/science.1159792
- Manzoni, S., Porporato, A., Odorico, P.D., Laio, F., 2004. Soil nutrient cycles as a nonlinear dynamical system. *Nonlinear Process. Geophys.* 11, 589–598.
- Marschner, B., Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211–235. doi:10.1016/S0016-7061(02)00362-2
- Mary, B., Recous, S., Darwis, D., Robin, D., Tenggara, K., Paris, V., Ddfense, L., 1996. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant Soil* 181, 71–82.

- Mazzarino, M.J., Szott, L., Jimenez, M., 1993. Dynamics of soil total C and N, microbial biomass, and water-soluble C in tropical agroecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 25, 205–214. doi:10.1016/0038-0717(93)90028-A
- Mazzilli, S.R., Kemanian, A.R., Ernst, O.R., Jackson, R.B., Piñeiro, G., 2015. Greater humification of belowground than aboveground biomass carbon into particulate soil organic matter in no-till corn and soybean crops. *Soil Biol. Biochem.* 85, 22–30. doi:10.1016/j.soilbio.2015.02.014
- McCarty, G.W., Bremner, J.M., 1992. Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoils. *Biol. Fertil. Soils* 14, 219–222. doi:10.1007/BF00346064
- McDaniel, M.D., Grandy, A.S., Tiemann, L.K., Weintraub, M.N., 2014a. Crop rotation complexity regulates the decomposition of high and low quality residues. *Soil Biol. Biochem.* 78, 243–254. doi:10.1016/j.soilbio.2014.07.027
- McDaniel, M.D., Grandy, A.S., Tiemann, L.K., Weintraub, M.N., 2014b. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecol. Appl.* 78, 560–570. doi:10.1890/13-0616.1
- McDowell, W., 2003. Dissolved organic matter in soils—future directions and unanswered questions. *Geoderma* 113, 179–186. doi:10.1016/S0016-7061(02)00360-9
- Meriles, J.M., Vargas Gil, S., Conforto, C., Figoni, G., Lovera, E., March, G.J., Guzmán, C. a., 2009. Soil microbial communities under different soybean cropping systems: Characterization of microbial population dynamics, soil microbial activity, microbial biomass, and fatty acid profiles. *Soil Tillage Res.* 103, 271–281. doi:10.1016/j.still.2008.10.008
- Mitchell, W.H., Tell, M.R., 1977. Winter-Annual Cover Crops for No-Tillage Corn Production1. *Agron. J.* 69, 569. doi:10.2134/agronj1977.00021962006900040011x
- Molina, J.A.E., Clapp, C.E., Allmaras, R.R., Layese, M.F., 2005. Simulation of nitrogen rhizodeposition and assimilation back into corn (*Zea mays* L.) roots. *Soil Biol. Biochem.* 37, 93–100. doi:10.1016/j.soilbio.2004.06.009
- Molina, J.A.E., Hadas, A., Clapp, C.E., 1990. Computer simulation of nitrogen turnover in soil and priming effect. *Soil Biol. Biochem.* 22, 349–353. doi:10.1016/0038-0717(90)90112-D
- Moscatelli, M.C., Di Tizio, A., Marinari, S., Grego, S., 2007. Microbial indicators related to soil carbon in Mediterranean land use systems. *Soil Tillage Res.* 97, 51–59. doi:10.1016/j.still.2007.08.007
- Mueller, T., Joergensen, R.G., Meyer, B., 1992. Estimation of soil microbial biomass C in the presence of living roots by fumigation-extraction. *Soil Biol. Biochem.* 24, 179–181. doi:10.1016/0038-0717(92)90275-3
- Mulder, C., Elser, J.J., 2009. Soil acidity, ecological stoichiometry and allometric scaling in grassland food webs. *Glob. Chang. Biol.* 15, 2730–2738. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.01899.x
- Muyzer, G., de Waal, E.C., Uitterlinden, a G., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695–700.
- Myrold, D.D., 1998. Transformations of nitrogen. *Princ. Appl. soil Microbiol.* 14, 333–373.
- Noellemeyer, E., Quiroga, A., Esterlich, D., 2006. Soil quality in three range soils of the semi-arid Pampa of Argentina. *J. Arid Environ.* 65, 142–155. doi:10.1016/j.jaridenv.2005.07.007
- Nottingham, A.T., Griffiths, H., Chamberlain, P.M., Stott, A.W., Tanner, E.V.J., 2009. Soil priming by sugar and leaf-litter substrates: A link to microbial groups. *Appl. Soil Ecol.* 42, 183–190. doi:10.1016/j.apsoil.2009.03.003

- O'leary, W.M., Wilkinson, S.G., 1988. Gram-positive bacteria, in: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (Eds.), *Microbial Lipids*. Academic Press, London, pp. 117–201.
- Oelbermann, M., Echarte, L., 2011. Evaluating soil carbon and nitrogen dynamics in recently established maize-soyabean inter-cropping systems. *Eur. J. Soil Sci.* 62, 35–41. doi:10.1111/j.1365-2389.2010.01317.x
- Olson, J.S., 1963. Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems. *Ecol. Soc. Am.* 44, 322–331.
- Ozpinar, S., Baytekin, H., 2006. Effects of tillage on biomass, roots, N-accumulation of vetch (*Vicia sativa* L.) on a clay loam soil in semi-arid conditions. *F. Crop. Res.* 96, 235–242. doi:10.1016/j.fcr.2005.07.005
- Parton, W., Schimel, D., Cole, C., Ojima, D.S., 1987. Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains grasslands. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 1173–1179.
- Paul, E.A., Clark, F.E., 1996. Ammonification and nitrification, *Soil microbiology and biochemistry*. Academic, San Diego.
- Paustian, K., Parton, W.J., Persson, J., 1992. Modeling Soil Organic Matter in Organic-Amended and Nitrogen-Fertilized Long-Term Plots. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 476. doi:10.2136/sssaj1992.03615995005600020023x
- Peoples, M.B., Freney, J.R., Mosier, A.R., Bacon, P.E., 1995. Minimizing gaseous losses of nitrogen., in: Bacon, P.E. (Ed.), *Nitrogen Fertilization in the Environment*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 565–602.
- Pérez Harguindeguy, N., Blundo, C.M., Gurvich, D.E., Díaz, S., Cuevas, E., 2008. More than the sum of its parts? Assessing litter heterogeneity effects on the decomposition of litter mixtures through leaf chemistry. *Plant Soil* 303, 151–159. doi:10.1007/s11104-007-9495-y
- Phiri, S., Barrios, E., Rao, I.M., Singh, B.R., 2001. Changes in soil organic matter and phosphorus fractions under planted fallows and a crop rotation system on a Colombian volcanic-ash soil. *Plant Soil* 231, 211–223. doi:10.1023/A:1010310300067
- Plassart, P., Akpa Vincelas, M., Gangneux, C., Mercier, A., Barray, S., Laval, K., 2008. Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agric. Ecosyst. Environ.* 127, 286–293. doi:10.1016/j.agee.2008.04.008
- Poeplau, C., Don, A., 2015. Agriculture , Ecosystems and Environment Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops – A meta-analysis. *"Agriculture, Ecosyst. Environ.* 200, 33–41. doi:10.1016/j.agee.2014.10.024
- Poll, C., Marhan, S., Ingwersen, J., Kandeler, E., 2008. Dynamics of litter carbon turnover and microbial abundance in a rye detritusphere. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1306–1321. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.002
- Porporato, A., D'Odorico, P., D'Odorico, P., Laio, F., Rodriguez-Iturbe, I., 2003. Hydrologic controls on soil carbon and nitrogen cycles. I. Modeling scheme. *Adv. Water Resour.* 26, 45–58. doi:10.1016/S0309-1708(02)00094-5
- Powlson, D.S., Barraclough, D., 1993. Mineralization and assimilation in soil-plant systems, in: Knowles, R., Blackburn, T.H. (Eds.), *Nitrogen Isotope Techniques*. San Fransisco, pp. 209–242.
- Pratt, M.R., Tyner, W.E., Muth, D.J., Kladvik, E.J., 2014. Synergies between cover crops and corn stover removal. *Agric. Syst.* 130, 67–76. doi:10.1016/j.agsy.2014.06.008
- Pronk, G.J., Heister, K., Kögel-Knabner, I., 2013. Is turnover and development of organic matter controlled by mineral composition? *Soil Biol. Biochem.* 67, 235–244. doi:10.1016/j.soilbio.2013.09.006

- Puget, P., Drinkwater, L.E., 2001a. Short-term dynamics of root- and shoot derived carbon from a leguminous green manure. *Soil Sci. Soc. Am. J* 65, 771–779.
- Puget, P., Drinkwater, L.E.E., 2001b. Short-Term Dynamics of Root- and Shoot-Derived Carbon from a Leguminous Green Manure. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 771. doi:10.2136/sssaj2001.653771x
- Puget, P., Drinkwater, L.E.E., 2001c. Short-term dynamics of root- and shoot-derived carbon from a Leguminous Green Manure. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 771–779. doi:10.2136/sssaj2001.653771x
- Qualls, R.G., 2000. Comparison of the behavior of soluble organic and inorganic nutrients in forest soils. *For. Ecol. Manage.* 138, 29–50. doi:10.1016/S0378-1127(00)00410-2
- Qualls, R.G., Bridgham, S.D., 2005. Mineralization rate of <sup>14</sup>C-labelled dissolved organic matter from leaf litter in soils of a weathering chronosequence. *Soil Biol. Biochem.* 37, 905–916. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.029
- Quiroga, A., Funaro, D., Noellemeyer, E., Peinemann, N., 2006. Barley yield response to soil organic matter and texture in the Pampas of Argentina. *Soil Tillage Res.* 90, 63–68. doi:10.1016/j.still.2005.08.019
- Quiroga, A.R., Buschiazzi, D., Peinemann, N., 1996. Soil organic matter particle size fractions in soils of the semiarid Argentinian pampas. *Soil Sci.* 161, 104–108.
- Quiroga, A.R., Studdert, G.A., 2015. Manejo del suelo e intensificación agrícola: agua y materia orgánica, in: Echeverría, H.E., Garcia, F.O. (Eds.), *Fertilidad de Suelos Y Fertilización de Cultivos*. INTA-IPNI, pp. 53–89.
- Raiesi, F., Beheshti, A., 2014. Soil C turnover, microbial biomass and respiration, and enzymatic activities following rangeland conversion to wheat–alfalfa cropping in a semi-arid climate. *Environ. Earth Sci.* 5073–5088. doi:10.1007/s12665-014-3376-5
- Ranells, N.N., Waggoner, M.G., 1997. Winter annual grass-legume bicultures for efficient nitrogen management in no-till corn. *Agric. Ecosyst. Environ.* 65, 23–32. doi:10.1016/S0167-8809(97)00054-6
- Ranells, N.N., Waggoner, M.G., 1996. (1996) Nitrogen Release from Grass and Legume Cover Crop Monocultures and Bicultures (AJ). *North* 782, 777–782.
- Ranells, N.N., Waggoner, M.G., 1994. Grass-Legume Bicultures as Winter Annual Cover Crops. *Spring* 89, 659–665.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G., 1988. An Overview of Microbial Lipids, in: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (Eds.), *Microbial Lipids*. Academic Press, London, pp. 3–22.
- Redin, M., Guénon, R., Recous, S., Schmatz, R., de Freitas, L., Aita, C., Giacomini, S., 2014. Carbon mineralization in soil of roots from twenty crop species, as affected by their chemical composition and botanical family. *Plant Soil* 378, 205–214. doi:10.1007/s11104-013-2021-5
- Restovich, R., Andriulo, A., 2013. Cultivos de cobertura en la rotación con soja-maíz: biomasa aérea, captura de nitrógeno, consumo de agua y efecto sobre el rendimiento de grano, in: Alvarez, C., Quiroga, A., Santos, D., Bodrero, M. (Eds.), *Contribuciones de Los Cultivos de Cobertura a La Sostenibilidad de Los Sistemas de Producción*. Anguil, p. 195.
- Restovich, S.B., Andriulo, A.E., Portela, S.I., 2012. Introduction of cover crops in a maize–soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics. *F. Crop. Res.* 128, 62–70. doi:10.1016/j.fcr.2011.12.012
- Robertson, G.P., Groffman, P.M., 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Elsevier. doi:10.1016/B978-0-08-047514-1.50017-2

- Ros, G.H., Hanegraaf, M.C., Hoffland, E., van Riemsdijk, W.H., 2011. Predicting soil N mineralization: Relevance of organic matter fractions and soil properties. *Soil Biol. Biochem.* 43, 1714–1722. doi:10.1016/j.soilbio.2011.04.017
- Ros, G.H., Hoffland, E., Temminghoff, E.J.M., 2010. Dynamics of dissolved and extractable organic nitrogen upon soil amendment with crop residues. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2094–2101. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.004
- Ros, G.H., Hoffland, E., van Kessel, C., Temminghoff, E.J.M., 2009. Extractable and dissolved soil organic nitrogen - A quantitative assessment. *Soil Biol. Biochem.* doi:10.1016/j.soilbio.2009.01.011
- Rosenfeld, C.E., McCormack, M.L., Martínez, C.E., 2014. A novel approach to study composition of in situ produced root-derived dissolved organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 76, 1–4. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.026
- Sainju, U., Whitehead, W., Singh, B., Wang, S., 2006. Tillage, cover crops, and nitrogen fertilization effects on soil nitrogen and cotton and sorghum yields. *Eur. J. Agron.* 25, 372–382. doi:10.1016/j.eja.2006.07.005
- Sainju, U.M., Senwo, Z.N., Nyakatawa, E.Z., Tazisong, I. a., Reddy, K.C., 2008. Soil carbon and nitrogen sequestration as affected by long-term tillage, cropping systems, and nitrogen fertilizer sources. *Agric. Ecosyst. Environ.* 127, 234–240. doi:10.1016/j.agee.2008.04.006
- Sainju, U.M., Whitehead, W.F., Singh, B.P., 2005. Biculture Legume–Cereal Cover Crops for Enhanced Biomass Yield and Carbon and Nitrogen. *Agron. J.* 97, 1403–1412. doi:10.2134/agronj2004.0274
- Sainju, U.M., Whitehead, W.F., Singh, B.P., 2003. Cover crops and nitrogen fertilization effects on soil aggregation and carbon and nitrogen pools.
- Saks, M., Zalba, P., Quiroga, A., Fernández, R., Gili, A., 2014. Incidencia de la napa de agua en la productividad de maíz. XXIV Congr. la Cienc. del suelo.
- Salas, A.M., Elliott, E.T., Westfall, D.G., Coled, C.V., Six, J., 2003. The role of particulate organic matter in phosphorus cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 181–189.
- Sanauallah, M., Chabbi, A., Leifeld, J., Bardoux, G., Billou, D., Rumpel, C., 2011. Decomposition and stabilization of root litter in top- and subsoil horizons: what is the difference? *Plant Soil* 338, 127–141. doi:10.1007/s11104-010-0554-4
- Sanderman, J., Maddern, T., Baldock, J., 2014. Similar composition but differential stability of mineral retained organic matter across four classes of clay minerals. *Biogeochemistry* 121, 409–424. doi:10.1007/s10533-014-0009-8
- Santos, N.Z. Dos, Dieckow, J., Bayer, C., Molin, R., Favaretto, N., Pauletti, V., Piva, J.T., 2011. Forages, cover crops and related shoot and root additions in no-till rotations to C sequestration in a subtropical Ferralsol. *Soil Tillage Res.* 111, 208–218. doi:10.1016/j.still.2010.10.006
- Schimel, J.P., Bennett, J., 2004. Nitrogen mineralization: Challenges of changing paradigm. *Ecol. Soc. Am.* 85, 591–602.
- Schimel, J.P., Schaeffer, S.M., 2012. Microbial control over carbon cycling in soil. *Front. Microbiol.* 3, 348. doi:10.3389/fmicb.2012.00348
- Schimel, J.P., Weintraub, M.N., 2003. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biol. Biochem.* 35, 549–563. doi:10.1016/S0038-0717(03)00015-4
- Schmidt, E.L., 1982. Nitrogen in Agricultural Soils, Nitrogen in Agricultural Soils, Agronomy Monograph. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. doi:10.2134/agronmonogr22.c7

- Schutter, M.E., Dick, R.P., 2002. Microbial Community Profiles and Activities among Aggregates of Winter Fallow and Cover-Cropped Soil 66, 142–153.
- Scian, B., 2002. Variabilidad de las condiciones hídricas en la región semiárida pampeana, Argentina. *Geoacta* 27, 30–52.
- Shahzad, T., Chenu, C., Genet, P., Barot, S., Perveen, N., Mougin, C., Fontaine, S., 2015. Contribution of exudates, arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. *Soil Biol. Biochem.* 80, 146–155. doi:10.1016/j.soilbio.2014.09.023
- Shannon, C., Weaver, W., 1949. *The mathematical theory of communication*. Univ. Illinois Press. Urbana-USA.
- Sheehy, J., Regina, K., Alakukku, L., Six, J., 2015. Impact of no-till and reduced tillage on aggregation and aggregate-associated carbon in Northern European agroecosystems. *Soil Tillage Res.* 150, 107–113. doi:10.1016/j.still.2015.01.015
- Silva, A.P., Babujia, L.C., Franchini, J.C., Souza, R.A., Hungria, M., 2010. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. *F. Crop. Res.* 119, 20–26. doi:10.1016/j.fcr.2010.06.012
- Silva, A.P. da, Babujia, L.C., Franchini, J.C., Ralisch, R., Hungria, M., Guimarães, M. de F., 2014. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. *Soil Tillage Res.* 142, 42–53. doi:10.1016/j.still.2014.04.006
- Singh, J.S., Gupta, S.R., 1977. Plant Decomposition and Soil Respiration in Terrestrial Ecosystems. *Bot. Rev.* 43, 449–528.
- Singh, J.S., Yadava, P.S., 1974. Seasonal Variation in Composition, Plant Biomass, and Net Primary Productivity of a Tropical Grassland at Kurukshetra, India. *Ecol. Monogr.* 44, 351–376.
- Sisti, C., 2004. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil Tillage Res.* 76, 39–58. doi:10.1016/j.still.2003.08.007
- Six, J., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics\*1. *Soil Tillage Res.* 79, 7–31. doi:10.1016/j.still.2004.03.008
- Six, J., Elliott, E., Paustian, K., 2000a. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biochem.* 32, 2099–2103. doi:10.1016/S0038-0717(00)00179-6
- Six, J., Frey, S.D., Thiet, R.K., Batten, K.M., 2006. Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70, 555. doi:10.2136/sssaj2004.0347
- Six, J., Paustian, K., Elliott, E.T., Combrink, C., 2000b. Soil Structure and Organic Matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 681. doi:10.2136/sssaj2000.642681x
- Six, J.S., Eller, C.F., Enef, K.D., Gle, S.M.O., 2002. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – Effects of no-tillage. *Agronomie* 22, 755–775. doi:10.1051/agro
- Six, J.S., Paustian, K., Elliott, E.T., Combrink, C., Carbon, A., 1999. Soil Structure and Organic Matter: I. Distribution of Aggregate-Size Classes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 681–689.
- Smith, C.J., Osborn, a M., 2009. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 67, 6–20. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00629.x
- Smith, J.L., Paul, E.A., 1990. The significance of soil microbial biomass estimations, in: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), *Soil Biochemistry* Vol. 6. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 357–396.

- Soane, B.D., Ball, B.C., Arvidsson, J., Basch, G., Moreno, F., Roger-Estrade, J., 2012. No-till in northern, western and south-western Europe: A review of problems and opportunities for crop production and the environment. *Soil Tillage Res.* 118, 66–87. doi:10.1016/j.still.2011.10.015
- Sørensen, L.H., 1972. Role of amino acid metabolites in the formation of soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 4, 245–255. doi:10.1016/0038-0717(72)90017-X
- Spedding, T. a. a., Hamel, C., Mehuys, G.R.R., Madramootoo, C. a. a., 2004. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biol. Biochem.* 36, 499–512. doi:10.1016/j.soilbio.2003.10.026
- Sposito, G., Skipper, N.T., Sutton, R., Park, S. -h., Soper, A.K., Greathouse, J.A., 1999. Surface geochemistry of the clay minerals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 3358–3364. doi:10.1073/pnas.96.7.3358
- Sradnick, A., Murugan, R., Oltmanns, M., Raupp, J., Joergensen, R.G., 2013. Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer. *Appl. Soil Ecol.* 63, 23–28. doi:10.1016/j.apsoil.2012.09.011
- Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Calderón, F.J., Stromberg, M.R., Scow, K.M., 2003. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland ecosystems of coastal California. *Soil Biol. Biochem.* 35, 489–500. doi:10.1016/S0038-0717(03)00028-2
- Stone, L.R., Goodrum, D.E., Jaafar, M.N., Khan, a. H., 2001. Rooting front and water depletion depths in grain sorghum and sunflower. *Agron. J.* 93, 1105–1110. doi:10.2134/agronj2001.9351105x
- Strickland, M.S., Rousk, J., 2010. Considering fungal:bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1385–1395. doi:10.1016/j.soilbio.2010.05.007
- Subbarao, G. V., Rondon, M., Ito, O., Ishikawa, T., Rao, I.M., Nakahara, K., Lascano, C., Berry, W.L., 2007. Biological nitrification inhibition (BNI) - Is it a widespread phenomenon? *Plant Soil* 294, 5–18. doi:10.1007/s11104-006-9159-3
- Thiet, R.K., Frey, S.D., Six, J., 2006. Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal:bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biol. Biochem.* 38, 837–844. doi:10.1016/j.soilbio.2005.07.010
- Tiedje, J.M., Asuming-Brempong, S., Nüsslein, K., Marsh, T.L., Flynn, S.J., 1999. Opening the black box of soil microbial diversity. *Appl. Soil Ecol.* 13, 109–122. doi:10.1016/S0929-1393(99)00026-8
- Tisdall, J., Oades, J., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. soil Sci.* 33, 141–163. doi:10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x
- Tonitto, C., David, M., Drinkwater, L., 2006. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: A meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112, 58–72. doi:10.1016/j.agee.2005.07.003
- Tornquist, C.G., Mielniczuk, J., Cerri, C.E.P., 2009. Modeling soil organic carbon dynamics in Oxisols of Ibirubá (Brazil) with the Century Model. *Soil Tillage Res.* 105, 33–43. doi:10.1016/j.still.2009.05.005
- Tosti, G., Benincasa, P., Farneselli, M., Pace, R., Tei, F., Guiducci, M., Thorup-Kristensen, K., 2012. Green manuring effect of pure and mixed barley - hairy vetch winter cover crops on maize and processing tomato N nutrition. *Eur. J. Agron.* 43, 136–146. doi:10.1016/j.eja.2012.06.004

- Urbanek, E., Smucker, A.J.M., Horn, R., 2011. Total and fresh organic carbon distribution in aggregate size classes and single aggregate regions using natural  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  tracer. *Geoderma* 164, 172–180. doi:10.1016/j.geoderma.2011.05.020
- Urquiaga, S., Sisti, C.P.J., Santos, H.D., Kochhann, R., Alves, B.J.R., Boddey, R.M., 2002. Influence of crop rotation and soil tillage system in the organic C balance in a Oxisol (Typic Haplorthox), in: XVII World Congress of Soil Science. Bangkok (Thailand), pp. 14–21.
- Van Hees, P.A.W., Jones, D.L., Finlay, R., Godbold, D.L., Lundström, U.S., 2005. The carbon we do not see—the impact of low molecular weight compounds on carbon dynamics and respiration in forest soils: a review. *Soil Biol. Biochem.* 37, 1–13. doi:10.1016/j.soilbio.2004.06.010
- Van Veen, J.A., Ladd, J.N., Frissel, M.J., 1984. Modelling C and N turnover through the microbial biomass in soil. *Plant Soil* 76, 257–274. doi:10.1007/BF02205585
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19, 703–707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Verchot, L. V., Dutaur, L., Shepherd, K.D., Albrecht, A., 2011. Organic matter stabilization in soil aggregates: Understanding the biogeochemical mechanisms that determine the fate of carbon inputs in soils. *Geoderma* 161, 182–193. doi:10.1016/j.geoderma.2010.12.017
- Voroney, R.P.P., Brookes, P.C., Beyaert, R.P., 2007. Soil microbial biomass C, N, P, and S, in: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (Eds.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadian Society of Soil Science. CRC Press, pp. 637–651.
- Vos, V.C.A., van Ruijven, J., Berg, M.P., Peeters, E.T.H.M., Berendse, F., 2013. Leaf litter quality drives litter mixing effects through complementary resource use among detritivores. *Oecologia* 173, 269–280. doi:10.1007/s00442-012-2588-1
- Wagai, R., Brye, K.R., Gower, S.T., Norman, J.M., Bundy, L.G., 1998. Effects of land use and environmental factors on soil surface  $\text{CO}_2$  flux for natural and managed ecosystems in south central Wisconsin. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1501–1509.
- Waldrop, M.P., Firestone, M.K., 2004. Microbial community utilization of recalcitrant and simple carbon compounds: impact of oak-woodland plant communities. *Oecologia* 138, 275–84. doi:10.1007/s00442-003-1419-9
- Wander, M., 2004. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function, in: Magdoff, F., Weil, R. (Eds.), *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*, *Advances in Agroecology*. CRC Press, Inc, pp. 67–102. doi:10.1201/9780203496374
- Wander, M.M., Yang, X., 2000. Influence of tillage on the dynamics of loose- and occluded-particulate and humified organic matter fractions. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1151–1160. doi:10.1016/S0038-0717(00)00031-6
- Wang, G., Post, W.M., 2012. A theoretical reassessment of microbial maintenance and implications for microbial ecology modeling. *FEMS Microbiol. Ecol.* 81, 610–7. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01389.x
- Wang, Q., Wang, Y., Wang, Q., Liu, J., 2014. Impacts of 9 years of a new conservational agricultural management on soil organic carbon fractions. *Soil Tillage Res.* 143, 1–6. doi:10.1016/j.still.2014.05.004
- Wang, X., Dai, K., Wang, Y., Zhang, X., Zhao, Q., Wu, X., Cai, D., Hoogmoed, W.B., Oenema, O., 2010. Nutrient management adaptation for dryland maize yields and water use efficiency to long-term rainfall variability in China. *Agric. Water Manag.* 97, 1344–1350. doi:10.1016/j.agwat.2010.03.016

- Wang, X., Jia, Y., Li, X., Long, R., Ma, Q., Li, F., Song, Y., 2009. Geoderma Effects of land use on soil total and light fraction organic , and microbial biomass C and N in a semi-arid ecosystem of northwest China. *Geoderma* 153, 285–290. doi:10.1016/j.geoderma.2009.08.020
- Wardle, D.A., 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biol. Rev.* 67, 321–358.
- Weintraub, M.N., Schimel, J.P., 2005. Nitrogen Cycling and the Spread of Shrubs Control Changes in the Carbon Balance of Arctic Tundra Ecosystems. *Bioscience* 55, 408. doi:10.1641/0006-3568(2005)055[0408:NCATSO]2.0.CO;2
- Wellington, E., Marsh, P., Joy, E., Watts, M., Burden, J., 1997. Indirect approaches for studying soil microorganisms based on cell extraction and culturing, in: van Elsas, J.D., Trevors, J.T., Wellington, E. (Eds.), *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 311–329.
- Werth, M., Kuzyakov, Y., 2008. Root-derived carbon in soil respiration and microbial biomass determined by <sup>14</sup>C and <sup>13</sup>C. *Soil Biol. Biochem.* 40, 625–637. doi:10.1016/j.soilbio.2007.09.022
- Wieder, W.R., Grandy, a. S., Kallenbach, C.M., Bonan, G.B., 2014. Integrating microbial physiology and physiochemical principles in soils with the Mlicrobial-MIneral Carbon Stabilization (MIMICS) model. *Biogeosciences Discuss.* 11, 1147–1185. doi:10.5194/bgd-11-1147-2014
- Wright, a, 2008. Microbial activity and soil C sequestration for reduced and conventional tillage cotton. *Appl. Soil Ecol.* 38, 168–173. doi:10.1016/j.apsoil.2007.10.006
- Wu, J., Joergensen, R.G., Pommerening, B., Chaussod, R., Brookes, P.C., 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure. *Soil Biol. Biochem.* 22, 1167–1169. doi:10.1016/0038-0717(90)90046-3
- Xu, X., Schimel, J.P., Thornton, P.E., Song, X., Yuan, F., Goswami, S., 2014. Substrate and environmental controls on microbial assimilation of soil organic carbon: a framework for Earth system models. *Ecol. Lett.* 17, 547–55. doi:10.1111/ele.12254
- Yin, C., Jones, K.L., Peterson, D.E., Garrett, K. a., Hulbert, S.H., Paulitz, T.C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2111–2118. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.006
- Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C., Zasoski, R.J., 2002. Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. *Biogeochemistry* 61, 173–198. doi:10.1023/A:1020221528515
- Zantua, M.I., Bremner, J.M., 1977. Stability of urease in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9, 135–140. doi:10.1016/0038-0717(77)90050-5
- Zantua, M.I., Bremner, J.M., 1976. Production and persistence of urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 8, 369–374. doi:10.1016/0038-0717(76)90035-3
- Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: A review. *Biol. Fertil. Soils* 29, 111–129. doi:10.1007/s003740050533
- Zelles, L., Bai, Q.Y., Beck, T., Beese, F., 1992. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 24, 317–323. doi:10.1016/0038-0717(92)90191-Y
- Zhou, W.-J., Sha, L.-Q., Schaefer, D.A., Zhang, Y.-P., Song, Q.-H., Tan, Z.-H., Deng, Y., Deng, X.-B., Guan, H.-L., 2015. Direct effects of litter decomposition on soil dissolved organic carbon and nitrogen in a tropical rainforest. *Soil Biol. Biochem.* 81, 255–258. doi:10.1016/j.soilbio.2014.11.019

- Zhu, B., Gutknecht, J.L.M., Herman, D.J., Keck, D.C., Firestone, M.K., Cheng, W., 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 76, 183–192. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.033
- Zotarelli, L., Avila, L., Scholberg, J.M.S., Alves, B.J.R., 2009. Benefits of Vetch and Rye Cover Crops to Sweet Corn under No-Tillage. *Agron. J.* 101, 252. doi:10.2134/agronj2008.0033x
- Zsolnay, A., 2003. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113, 187–209. doi:10.1016/S0016-7061(02)00361-0
- Zsolnay, A., 1996. Dissolved humus in soil waters, in: Piccolo, A. (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier B.V., pp. 171–223. doi:10.1016/B978-044481516-3/50005-0

9. Anexo

Este anexo contiene información complementaria de los resultados presentados en el cuerpo de la tesis que le permiten al lector obtener un mayor grado de detalle sobre las variables medidas durante la experiencia y las diferencias significativas entre tratamientos y entre fechas de muestreo.

Tabla A1: Precipitación diaria, mensual y acumulada (mm) para cada año de la experiencia.

2010																																		
mes/ días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	Total mes	Acumulado	
Enero					5	0			7	84																						99	99	
Febrero	2	2			10	3			16		3			8				111		4	33	7			2						201	300		
Marzo								355								42	1	7	3	10									1	7	426	726		
Abril											1	11																				11	737	
Mayo														1										2								3	739	
Junio												1				2		11														14	753	
Julio		1	1	1	4	1																										8	761	
Agosto																						1										1	762	
Septiembre		23	32						26		1															18	35	19				152	914	
Octubre						2																	1				5	43				50	964	
Noviembre							2					10							4	10					11							37	1002	
Diciembre	1										8													23				10	7			48	1050	
2011																																		
Enero			64	14	28	22	1						21	46			14															218	218	
Febrero		5																				10										15	233	
Marzo						12	1			29	8	16										12			25							101	334	
Abril																2												58	65	15		140	474	
Mayo												15												4								19	493	
Junio																		2				4										8	501	
Julio												2						24						1	1							28	529	
Agosto	1																10	1														11	540	
Septiembre																							3									3	543	
Octubre				2	1	10	7	6		5	26	3												6			1	1				68	611	
Noviembre			43			25	16	1											10	2	13						9	15				132	743	
Diciembre			16	1							9																		5			39	782	
2012																																		
Enero											3	1					4															85	85	
Febrero							16						3	22	12	20	5	5						3	20		12	11				127	212	
Marzo				21						12	1															14	3					93	306	
Abril												26		22																		76	381	
Mayo								0	1								8	5														14	395	
Junio					3																											3	398	
Julio																																0	398	
Agosto							17	27						15	18	20																96	494	
Septiembre	0	26	3																													29	523	
Octubre					3	4	14							40	54				13	4		24	23			3		2	11		193	716		
Noviembre		33						4										9												46		101	816	
Diciembre																																	0	816
2013																																		
Enero				2		2											3														5		15	15
Febrero											14		2				3	15												15			48	63
Marzo	57	3						15				2																		21	16		113	176
Abril	7	2	1	1	1						10	4																2	5				31	206
Mayo		0																	5														5	211
Junio												1																					1	212

Tabla A2: Humedad edáfica (mm) al metro de profundidad de suelo a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. Las letras indican diferencias entre tratamientos y fechas de muestreo ( $p=0.05$ ).

Tratamiento	Fecha	AT (mm)	
Ce	21-May-10	190	JKLMNOPQR
Ce+N	21-May-10	194	IJKLMNOP
T	21-May-10	201	GHIJ
V	21-May-10	195	HIJKLMNO
VCe	21-May-10	187	KLMNOPQRS
Ce	22-Jun-10	188	KLMNOPQRS
Ce+N	22-Jun-10	180	QRSTUVWXYZ
T	22-Jun-10	197	HIJKLMN
V	22-Jun-10	184	MNOPQRST
VCe	22-Jun-10	173	TUWXYZ
Ce	22-Jul-10	158	abcde
Ce+N	22-Jul-10	168	WXYZa
T	22-Jul-10	183	NOPQRSTU
V	22-Jul-10	167	XYZa
VCe	22-Jul-10	158	abcde
Ce	31-Aug-10	136	jk
Ce+N	31-Aug-10	138	jk
T	31-Aug-10	170	UWXYZa
V	31-Aug-10	144	ghij
VCe	31-Aug-10	130	k
Ce	4-Oct-10	173	TUWXYZ
Ce+N	4-Oct-10	177	RSTUWX
T	4-Oct-10	231	E
V	4-Oct-10	183	OPQRSTU
VCe	4-Oct-10	161	Zabcd
Ce	25-Nov-10	199	HIJKL
Ce+N	25-Nov-10	182	PQRSTU
T	25-Nov-10	224	EF
V	25-Nov-10	203	GHI
VCe	25-Nov-10	175	STUVWXY
Ce	21-Dic-10	168	WXYZa
Ce+N	21-Dic-10	152	cdefghi
T	21-Dic-10	152	cdefghi
V	21-Dic-10	158	abcde
VCe	21-Dic-10	146	efghij
Ce	25-ene-11	203	GHI
Ce+N	25-ene-11	212	FG
T	25-ene-11	169	WXYZa
V	25-ene-11	202	GHIJ
VCe	25-ene-11	208	GH
Ce	27-abr-11	143	hij
Ce+N	27-abr-11	144	ghij
T	27-abr-11	145	fghij
V	27-abr-11	139	ijk
VCe	27-abr-11	140	ijk
Ce	20-Oct-11	176	STUVWXY
Ce+N	20-Oct-11	157	abcdef
T	20-Oct-11	226	E
V	20-Oct-11	163	Yzabc
VCe	20-Oct-11	166	XYZab
Ce	16-Dic-11	200	GHIJK
Ce+N	16-Dic-11	195	HIJKLMNOP
T	16-Dic-11	192	IJKLMNOPQ
V	16-Dic-11	187	KLMNOPQRS
VCe	16-Dic-11	192	IJKLMNOPQ
Ce	14-May-12	163	Zabc
Ce+N	14-May-12	161	Zabc
T	14-May-12	155	bcdefg
V	14-May-12	152	cdefgh
VCe	14-May-12	152	defghi
Ce	5-Nov-12	304	A
Ce+N	5-Nov-12	299	A
T	5-Nov-12	296	AB
V	5-Nov-12	275	D
VCe	5-Nov-12	283	BCD
Ce	21-dic-12	295	ABC
Ce+N	21-dic-12	292	ABC
T	21-dic-12	276	D
V	21-dic-12	282	CD
VCe	21-dic-12	283	BCD
Ce	3-Jun-13	197	HIJKLM
Ce+N	3-Jun-13	185	MNOPQRST
T	3-Jun-13	186	LMNOPQRST
V	3-Jun-13	164	XYZabc
VCe	3-Jun-13	168	WXYZa

Tabla A3: Humedad edáfica (mm) a 0-20 cm de profundidad de suelo a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. *Las letras indican diferencias entre tratamientos y fechas de muestreo ( $\alpha=0.05$ ).*

Tratamiento	Fecha	Medias	
Ce	21-May-10	33	U W X Y Z a
Ce+N	21-May-10	34	S T U W X Y
T	21-May-10	36	Q R S T U
V	21-May-10	33	U W X Y Z a
VCe	21-May-10	31	X Y Z a b c
Ce	22-Jun-10	37	Q R S T
Ce+N	22-Jun-10	35	R S T U W
T	22-Jun-10	38	P Q R
V	22-Jun-10	33	S T U W X Y
VCe	22-Jun-10	35	R S T U W
Ce	22-Jul-10	30	Y Z a b c d
Ce+N	22-Jul-10	33	W X Y Z a
T	22-Jul-10	33	U W X Y Z
V	22-Jul-10	30	Z a b c d
VCe	22-Jul-10	30	a b c d
Ce	31-Aug-10	24	f g
Ce+N	31-Aug-10	24	f g
T	31-Aug-10	29	b c d e
V	31-Aug-10	26	e f
VCe	31-Aug-10	24	f g
Ce	4-Oct-10	45	K L M N
Ce+N	4-Oct-10	48	I J K L M
T	4-Oct-10	49	G H I J K
V	4-Oct-10	48	I J K L
VCe	4-Oct-10	46	J K L M N
Ce	25-Nov-10	53	F G H
Ce+N	25-Nov-10	51	G H I
T	25-Nov-10	49	G H I J K
V	25-Nov-10	53	F G
VCe	25-Nov-10	53	F G H
Ce	21-Dic-10	31	Y Z a b c d
Ce+N	21-Dic-10	28	c d e f
T	21-Dic-10	23	g
V	21-Dic-10	27	d e f
VCe	21-Dic-10	29	b c d e
Ce	25-ene-11	36	R S T U
Ce+N	25-ene-11	38	P Q R
T	25-ene-11	33	T U W X Y
V	25-ene-11	37	P Q R
VCe	25-ene-11	37	P Q R
Ce	27-abr-2011	34	S T U W X Y
Ce+N	27-abr-2011	35	R S T U W
T	27-abr-2011	32	W X Y Z a b
V	27-abr-2011	33	T U W X Y Z
VCe	27-abr-2011	32	W X Y Z a b
Ce	20-Oct-11	49	H I J K
Ce+N	20-Oct-11	47	I J K L M
T	20-Oct-11	50	G H I J
V	20-Oct-11	43	M N O
VCe	20-Oct-11	44	L M N O
Ce	16-Dic-11	37	P Q R S
Ce+N	16-Dic-11	41	O P
T	16-Dic-11	33	U W X Y Z a
V	16-Dic-11	35	R S T U W X
VCe	16-Dic-11	37	P Q R
Ce	14-May-12	49	G H I J
Ce+N	14-May-12	49	H I J K
T	14-May-12	47	I J K L M
V	14-May-12	48	I J K L
VCe	14-May-12	48	I J K L
Ce	5-Nov-12	61	A B C
Ce+N	5-Nov-12	65	A
T	5-Nov-12	60	B C D
V	5-Nov-12	59	B C D
VCe	5-Nov-12	62	A B
Ce	21-dic-12	59	C D
Ce+N	21-dic-12	61	B C
T	21-dic-12	57	D E
V	21-dic-12	56	E F
VCe	21-dic-12	57	D E
Ce	3-Jun-13	44	L M N O
Ce+N	3-Jun-13	44	L M N
T	3-Jun-13	43	N O
V	3-Jun-13	38	P Q R
VCe	3-Jun-13	39	P Q

Tabla A4: Contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ppm) a 0-20 y 20-60 cm de profundidad del suelo a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. *Las letras indican diferencias entre tratamientos y fechas de muestreo (p<0,0001).*

Tratamiento	Fecha	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 0-20 cm (ppm)		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 20-60 cm (ppm)	
Ce	2010_Siembra	9,38	fghi	7,03	cdef
Ce+N	2010_Siembra	7,67	ijkl	7,3	cde
T	2010_Siembra	8,2	ghijk	6,69	defg
V	2010_Siembra	7,57	ijkl	6,62	defg
VCe	2010_Siembra	9,02	fghij	6,58	defg
Ce	2010_Julio	3,24	opqr	1,01	nop
Ce+N	2010_Julio	5,78	lmn	1,56	lmn
T	2010_Julio	10,56	ef	7,42	cd
V	2010_Julio	8,01	hijkl	3,24	jk
VCe	2010_Julio	4	nopq	1,29	mno
Ce	2010_Fin CC	2,85	pqr	1,07	mnop
Ce+N	2010_Fin CC	2,71	qr	1,12	mnop
T	2010_Fin CC	5,61	mn	10,1	b
V	2010_Fin CC	2,26	qr	1,05	mnop
VCe	2010_Fin CC	2,29	qr	0,99	nop
Ce	2010_Diciembre	16,81	bc	3,44	ijk
Ce+N	2010_Diciembre	18,88	ab	8,9	bc
T	2010_Diciembre	23,12	a	12,31	a
V	2010_Diciembre	22,06	a	6,26	defgh
VCe	2010_Diciembre	16,31	bc	4,69	ghij
Ce	2011_Siembra	2,4	qr	1,15	mno
Ce+N	2011_Siembra	3,19	opqr	1,77	klmn
T	2011_Siembra	3,77	opq	1,9	klm
V	2011_Siembra	3,06	opqr	1,44	mn
VCe	2011_Siembra	3,14	opkr	1,39	mn
Ce	2011_Fin CC	1,83	r	0,58	p
Ce+N	2011_Fin CC	1,81	r	1	nop
T	2011_Fin CC	4,19	nop	3,01	jk
V	2011_Fin CC	1,73	r	0,55	p
VCe	2011_Fin CC	1,61	r	0,65	op
Ce	2011_Diciembre	7,8	hijkl	3,17	jk
Ce+N	2011_Diciembre	11,64	de	4,06	ij
T	2011_Diciembre	6,33	klmn	4,6	hij
V	2011_Diciembre	13,72	cd	6,52	defg
VCe	2011_Diciembre	10,43	efg	4,32	hij
Ce	2012_Siembra	2,62	qr	1,37	mn
Ce+N	2012_Siembra	2,43	qr	1,53	mn
T	2012_Siembra	3	pqr	1,78	klmn
V	2012_Siembra	3,74	opq	1,67	klmn
VCe	2012_Siembra	2,34	qr	1,53	mn
Ce	2012_Fin CC	4,28	nop	1,94	klm
Ce+N	2012_Fin CC	3,78	opq	1,88	klmn
T	2012_Fin CC	3,58	opq	2,28	kl
V	2012_Fin CC	9,72	efgh	4,8	ghi
VCe	2012_Fin CC	6,15	lmn	3,11	jk
Ce	2012_Diciembre	4,31	nop	5,48	fghi
Ce+N	2012_Diciembre	6,12	lmn	5,94	efgh
T	2012_Diciembre	2,09	qr	3,87	ij
V	2012_Diciembre	6,92	klm	10,34	ab
VCe	2012_Diciembre	7,16	jkl	7,32	cde
Ce	2013_Cosecha Sorgo	3,02	opqr	1,82	klmn
Ce+N	2013_Cosecha Sorgo	4,26	nop	1,43	mn
T	2013_Cosecha Sorgo	4,21	nop	1,54	mn
V	2013_Cosecha Sorgo	6,05	lmn	2,07	kl
VCe	2013_Cosecha Sorgo	4,4	no	1,53	mn

Tabla A5: Temperatura del suelo (°C) a 0-5 y 5-10 cm de profundidad a lo largo de toda la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe) para los 3 años evaluados. *Las letras indican diferencias entre tratamientos y fechas de muestreo ( $p=0.05$ ).*

Tratamiento	Fecha	T 0-5 cm (°C)	p<0,0001	T 5-10 cm (°C)	
Ce	21-abr-10	19,7	NO	17,65	STUW
Ce+N	21-abr-10	19,6	NO	17,09	UW
T	21-abr-10	19,1	O	17,12	UW
V	21-abr-10	20,2	MNO	17,78	STU
VCe	21-abr-10	19,6	NO	17,38	TUW
Ce	26-May-10	15,7	QRST	14,14	a
Ce+N	26-May-10	15,7	QRST	14,34	a
T	26-May-10	15,9	QRS	14,23	a
V	26-May-10	16,3	QR	14,14	a
VCe	26-May-10	15,5	RST	14,38	a
Ce	23-Jun-10	13,4	Yza	12,18	bcde
Ce+N	23-Jun-10	13,4	Za	11,91	cdef
T	23-Jun-10	14,4	UWX	12,35	bcd
V	23-Jun-10	14,3	WX	12,61	b
VCe	23-Jun-10	13,7	XYZ	12,24	bcde
Ce	27-Jul-10	13,8	XYZ	11,49	fgh
Ce+N	27-Jul-10	14,2	WXY	11,71	defgh
T	27-Jul-10	15,2	STU	12,48	bc
V	27-Jul-10	14,8	TUW	11,91	cdefg
VCe	27-Jul-10	13,1	Zab	10,75	ij
Ce	2-Sep-10	12,4	bod	11,53	fgh
Ce+N	2-Sep-10	12,5	bc	11,69	efgh
T	2-Sep-10	13,6	YZ	12,23	bcde
V	2-Sep-10	11,8	D	11,12	hi
VCe	2-Sep-10	12,8	ab	11,73	defg
Ce	5-Oct-10	22,8	KL	20,51	O
Ce+N	5-Oct-10	20,9	M	19,29	PQ
T	5-Oct-10	27,0	F	23,45	IJK
V	5-Oct-10	20,5	MN	18,56	QR
VCe	5-Oct-10	22,1	L	19,7	P
Ce	24-Nov-10	25,9	GH	24,83	G
Ce+N	24-Nov-10	25,5	H	24,25	GH
T	24-Nov-10	33,5	C	29,58	D
V	24-Nov-10	26,2	FGH	24,61	GH
VCe	24-Nov-10	25,8	GH	24,37	GH
Ce	3-ene-11	35,4	B	32,59	C
Ce+N	3-ene-11	36,2	B	33,43	BC
T	3-ene-11	41,5	A	34,82	A
V	3-ene-11	40,5	A	34,48	AB
VCe	3-ene-11	36,6	B	32,84	C
Ce	31-ene-11	24,2	IJ	22,93	KL
Ce+N	31-ene-11	24,1	IJ	22,98	JKL
T	31-ene-11	24,2	IJ	22,55	LM
V	31-ene-11	24,6	I	23,48	IJ
VCe	31-ene-11	23,8	J	23,02	JKL
Ce	2-May-11	10,2	hij	10,05	kl
Ce+N	2-May-11	10,3	ghi	10,26	JKL
T	2-May-11	10,1	ij	10,01	kl
V	2-May-11	10,1	ij	10,06	kl
VCe	2-May-11	10,0	j	9,92	LM
Ce	15-Oct-11	20,3	MN	18,23	RS
Ce+N	15-Oct-11	19,8	NO	17,81	ST
T	15-Oct-11	20,3	MN	17,37	UW
V	15-Oct-11	19,3	O	17,08	W
VCe	15-Oct-11	19,5	O	17,89	ST
Ce	26-dic-11	28,4	E	24,75	GH
Ce+N	26-dic-11	26,8	FG	23,91	HI
T	26-dic-11	30,8	D	26,13	E
V	26-dic-11	29,3	E	25,74	EF
VCe	26-dic-11	28,6	E	25,01	FG
Ce	15-mayo-12	12,1	cd	11,61	fgh
Ce+N	15-mayo-12	12,1	cd	11,58	fgh
T	15-mayo-12	12,5	bc	11,64	fgh
V	15-mayo-12	12,5	bc	11,63	fgh
VCe	15-mayo-12	12,2	cd	11,49	gh
Ce	9-Oct-12	17,6	P	16,09	X
Ce+N	9-Oct-12	18,0	P	16,1	X
T	9-Oct-12	16,4	Q	15,13	YZ
V	9-Oct-12	15,8	QRS	14,86	Z
VCe	9-Oct-12	16,0	QR	15,26	Y
Ce	4-Dic-12	22,9	K	21,99	N
Ce+N	4-Dic-12	23,0	K	22,26	M
T	4-Dic-12	23,0	K	22,02	N
V	4-Dic-12	23,0	K	22,02	N
VCe	4-Dic-12	22,9	K	22,03	N
Ce	16-Jul-13	10,9	ef	9,44	m
Ce+N	16-Jul-13	10,5	fg	9,17	n
T	16-Jul-13	10,5	fgh	9,23	mn
V	16-Jul-13	11,1	E	9,29	mn
VCe	16-Jul-13	10,6	fg	9,26	mn

Tabla A6: Productividad aérea de los CC en términos de materia seca (g MS m<sup>-2</sup>), carbono (g C m<sup>-2</sup>) y nitrógeno (g N m<sup>-2</sup>). Concentración de C y N (%) de la biomasa aérea y la relación C/N. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Tratamiento	g MS m <sup>-2</sup>	C (%)	N (%)	g C m <sup>-2</sup>	g N m <sup>-2</sup>	C/N						
2010												
Ce	712	a	42,2	cde	1,4	g	300	a	9,6	cd	32	c
Ce+N	707	a	42,1	cde	1,5	fg	298	a	10,6	bc	29	cd
V	494	bc	39,6	g	2,5	d	195	b	12,6	ab	16	f
VCe	671	a	42,2	cde	2,0	e	283	a	13,6	a	21	e
2011												
Ce	357	ef	42,4	cd	1,1	h	151	cd	3,8	g	41	ab
Ce+N	690	a	43,0	c	1,0	h	297	a	6,5	e	47	a
V	313	fg	41,4	def	3,5	b	130	e	11,0	bc	12	g
VCe	511	b	42,5	cd	1,6	f	218	b	8,3	d	27	d
2012												
Ce	237	h	45,2	ab	1,6	f	107	f	3,9	g	41	b
Ce+N	372	de	45,8	a	1,5	fg	170	c	5,4	f	47	a
V	291	g	45,1	b	4,2	a	131	de	12,0	ab	12	g
VCe	430	cd	45,2	ab	2,9	c	194	b	12,2	ab	16	f

Tabla A7: Contribución de la vicia (V) y centeno (Ce) a la consociación (VCe) en términos de producción de materia seca (g MS m<sup>-2</sup>), carbono (g C m<sup>-2</sup>) y nitrógeno (g N m<sup>-2</sup>) y su relación C/N para los tres años de la experiencia. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos y entre años ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Especie	g MS m <sup>-2</sup>	C (%)	g C m <sup>-2</sup>	N (%)	g N m <sup>-2</sup>	C/N						
2010												
Ce	483	a	42,7	c	206	a	1,8	d	9,2	a	24	c
V	191	b	41,3	d	79	c	2,4	c	4,7	b	17	d
2011												
Ce	382	a	43,1	c	165	a	1,2	e	4,6	b	36	a
V	129	c	40,6	e	52	d	2,8	b	3,9	b	14	e
2012												
Ce	230	b	45,6	a	105	b	1,7	d	3,9	b	28	b
V	200	b	44,7	b	89	bc	4,2	a	8,4	a	11	f

Tabla A8: Usos consuntivos (mm) y eficiencia de uso del agua en términos de materia seca (g MS m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup>, EUA<sub>B</sub>) y de carbono (g C m<sup>-2</sup> mm<sup>-1</sup>, EUA<sub>C</sub>) de los CC para los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Tratamiento	UC (mm)	EUA <sub>B</sub> (g MS m <sup>-2</sup> mm <sup>-1</sup> )	EUA <sub>C</sub> (g C m <sup>-2</sup> mm <sup>-1</sup> )			
2010						
Ce	252	ab	2,8	a	1,2	ab
Ce+N	249	abc	2,9	a	1,2	ab
V	243	bc	2,0	d	0,8	ef
VCe	265	a	2,5	ab	1,1	bc
2011						
Ce	235	c	1,5	e	0,6	g
Ce+N	255	ab	2,7	ab	1,2	ab
V	246	bc	1,3	f	0,5	h
VCe	243	bc	2,1	cd	0,9	de
2012						
Ce	151	de	1,6	e	0,7	fg
Ce+N	155	d	2,4	bc	1,1	abc
V	140	e	2,1	cd	0,9	cd
VCe	149	de	2,9	a	1,3	a

Tabla A9: Biomasa de raíces en el entresurco (ES, g MS m<sup>-2</sup>) y en la línea de siembra (LS, g MS m<sup>-2</sup>) y total (BRT) para las profundidades 0-6, 6-12 y 0-12 cm de suelo de los CC centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Tratamiento	Prof.	BR (ES) (g MS m <sup>-2</sup> )		BR (LS) g m <sup>-2</sup>		BRT (g m <sup>-2</sup> )	
2010							
Ce		91,5	de	249,7	c	341,2	e
Ce+N		85,1	e	237,8	c	322,9	ef
T	0-6	43,1	f			43,1	h
V		89,2	e	111,0	e	200,2	g
VCe		101,4	cde	399,6	b	501,1	d
Ce		43,9	cd	23,1	e	67,0	de
Ce+N		46,6	cd	21,0	e	67,6	de
T	6-12	28,2	d			28,2	f
V		52,5	c	39,5	d	92,0	d
VCe		44,9	cd	20,1	e	65,0	de
Ce		135,4	e	272,8	d	408,2	g
Ce+N		116,1	e	230,9	d	345,9	g
T	0-12	71,4	f			71,4	i
V		141,7	de	150,5	e	292,2	g
VCe		146,4	de	419,7	c	566,1	f
2011							
Ce		106,9	cde	404,1	b	510,4	d
Ce+N		130,2	c	519,0	a	649,3	bc
T	0-6	94,7	cde			94,7	h
V		119,4	c	121,3	de	240,7	fg
VCe		117,1	cd	443,2	ab	560,3	cd
Ce		66,7	bc	49,7	bcd	116,4	bc
Ce+N		80,9	b	49,4	bcd	130,4	abc
T	6-12	52,1	c			52,1	ef
V		72,9	b	43,8	cd	116,7	bc
VCe		73,6	b	67,6	ab	141,1	abc
Ce		174,4	cd	452,0	bc	627,7	ef
Ce+N		206,6	c	533,4	ab	738,8	cd
T	0-12	146,9	de			146,9	hi
V		190,3	c	144,9	e	336,2	g
VCe		190,7	c	510,8	ab	701,4	de
2012							
Ce		282,7	a	421,7	b	704,4	b
Ce+N		306,9	a	441,0	ab	747,9	ab
T	0-6	176,8	bc			176,8	gh
V		267,8	ab	203,2	cd	471,6	d
VCe		308,4	a	507,2	a	815,7	a
Ce		78,1	b	57,8	abc	135,8	abc
Ce+N		99,3	ab	45,3	cd	144,6	ab
T	6-12	99,4	ab			99,4	cd
V		67,4	bc	69,2	a	136,5	abc
VCe		109,7	a	41,4	d	151,0	a
Ce		358,0	ab	484,9	abc	842,9	bc
Ce+N		417,5	a	487,3	abc	904,9	ab
T	0-12	276,2	bc			276,2	gh
V		371,9	ab	280,3	d	652,2	def
VCe		418,1	a	548,6	a	966,7	a

Tabla A10: Concentración de C y N (%), contenidos de carbono y nitrógeno ( $\text{g m}^{-2}$ ) y la relación C/N de raíces de los CC a 0-6, 6-12 y 0-12 cm de profundidad de suelo determinadas al finalizar su ciclo. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años para cada profundidad de muestreo ( $\alpha < 0,05$ ).

Tratamiento	Prof.	C (%)	N (%)	C-BRT ( $\text{g m}^{-2}$ )	N-BRT ( $\text{g m}^{-2}$ )	C/N
2010						
Ce		32,1 def	0,9 d	110,9 e	3,2 e	34,9 bcd
Ce+N		32,0 def	0,9 d	106,8 e	3,1 e	36,5 bc
T	0-6 cm	35,7 bcde	1,0 cd	15,4 g	0,4 f	38,6 abc
V		29,8 f	1,6 b	60,5 fg	3,3 e	18,6 g
VCe		32,8 def	0,9 d	164,3 d	4,2 de	40,0 ab
Ce		26,3 fg	1,4 bcd	17,6 d	0,9 e	19,9 ef
Ce+N		24,6 g	1,2 def	16,2 d	0,8 e	22,5 de
T	6-12 cm	32,1 bcde	0,9 f	8,8 e	0,3 f	36,3 a
V		27,4 efg	1,6 ab	25,3 d	1,4 cd	17,7 f
VCe		26,3 fg	1,4 bcd	16,8 d	0,9 e	20,2 ef
Ce				128,5 f	4,1 d	31,5 bc
Ce+N				108,4 fg	3,2 d	34,4 b
T	0-12 cm			24,3 i	0,7 e	37,7 ab
V				85,8 gh	4,8 d	18,2 e
VCe				181,1 e	5,1 cd	36,5 ab
2011						
Ce		35,0 cde	0,9 d	180,5 d	4,5 cde	40,7 ab
Ce+N		38,3 ab	0,9 d	245,4 b	5,5 c	45,0 a
T	0-6 cm	40,3 a	1,0 cd	38,2 g	1,0 f	39,4 abc
V		36,6 abc	2,1 a	88,9 ef	4,9 cd	18,3 g
VCe		35,5 bcde	0,8 d	199,0 cd	4,5 cde	44,3 a
Ce		32,5 bcd	1,3 bcd	37,9 bc	1,5 bcd	25,8 cd
Ce+N		33,0 bcd	1,4 bcd	43,5 abc	1,7 abc	26,0 cd
T	6-12 cm	37,3 a	1,2 def	19,4 d	0,6 ef	32,2 ab
V		32,1 bcd	1,6 a	37,1 bc	1,9 ab	20,0 ef
VCe		29,8 def	1,4 abcd	41,9 abc	2,0 a	22,5 def
Ce				218,7 d	6,0 bc	36,5 ab
Ce+N				276,1 bc	6,8 b	40,9 a
T	0-12 cm			57,5 hi	1,6 e	36,2 ab
V				115,7 fg	6,6 b	17,7 e
VCe				240,9 cd	6,5 b	37,1 ab
2012						
Ce		32,5 def	1,2 c	231,5 bc	8,5 ab	28,1 e
Ce+N		31,3 ef	1,2 c	234,6 bc	9,1 ab	26,3 ef
T	0-6 cm	36,2 abcd	1,1 cd	63,2 efg	1,9 ef	32,7 cde
V		34,1 cde	1,6 b	160,9 d	7,6 b	23,0 fg
VCe		35,6 bcde	1,3 c	292,1 a	10,2 a	29,8 de
Ce		32,0 cde	1,0 ef	43,8 abc	1,4 cd	32,9 a
Ce+N		36,3 ab	1,3 cde	52,2 a	1,8 abc	30,2 abc
T	6-12 cm	28,5 defg	0,9 ef	28,3 cd	0,9 de	30,2 abc
V		33,9 abc	1,5 abc	47,0 ab	2,1 a	23,3 cde
VCe		31,1 cde	1,2 def	46,1 ab	1,8 abc	27,1 bcd
Ce				275,9 bc	9,8 a	28,9 c
Ce+N				291,7 ab	11,0 a	26,8 cd
T	0-12 cm			91,5 fgh	2,9 de	31,6 bc
V				222,4 d	10,3 a	23,3 d
VCe				338,3 a	12,0 a	28,9 c

Tabla A11: Productividad total de los CC en términos de materia seca, C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) en las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Tratamiento	g MS $\text{m}^{-2}$		g C $\text{m}^{-2}$		g N $\text{m}^{-2}$		C/N
2010							
Ce	1119	cd	428	cde	13,7	e	31,5 c
Ce+N	1038	de	399	def	13,8	e	29,9 cd
V	782	f	280	g	17,2	cd	16,5 g
VCe	1236	b	464	bc	18,7	bc	25,1 ef
2011							
Ce	1033	de	388	ef	10,1	f	38,5 b
Ce+N	1516	a	609	a	14,0	e	43,8 a
V	671	g	257	g	17,8	bc	14,5 h
VCe	1212	bc	460	bc	14,8	de	31,2 c
2012							
Ce	1083	cde	387	ef	13,7	e	28,6 cde
Ce+N	1232	bc	454	bcd	18,0	bc	26,6 def
V	970	e	362	f	20,8	ab	18,0 g
VCe	1358	ab	506	b	22,8	a	22,5 f

Tabla A12: Productividad aérea del cultivo de sorgo expresada en términos de materia verde ( $\text{Mg MV m}^{-2}$ ) y materia seca ( $\text{g MS m}^{-2}$ ); concentración de C y N (%) de los tejidos; contenidos de C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) y su relación C/N durante las tres campañas evaluadas. Los tratamientos corresponden al cultivo antecesor: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin antecesor ó barbecho (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0001$ ).

Tratamiento	Mg MV $\text{m}^{-2}$		g MS $\text{m}^{-2}$		C (%)	N (%)	g C $\text{m}^{-2}$		g N $\text{m}^{-2}$		C/N			
2010-2011														
Ce	4,6	cd	1522	cd	40,0	f	0,5	gh	608	d	8,2	d	76	ab
Ce+N	5,1	bc	1732	bc	40,6	ef	0,6	fg	705	bc	11,0	bc	64	bc
T	5,8	b	1987	ab	40,6	ef	0,5	h	808	ab	9,2	cd	89	a
V	6,7	a	2153	a	40,0	f	0,5	h	862	a	11,0	bc	84	a
VCe	5,4	b	1790	b	40,2	f	0,5	gh	719	b	8,8	cd	84	a
2011-2012														
Ce	3,3	e	1146	ef	44,6	b	0,8	e	511	de	9,6	cd	55	cd
Ce+N	3,1	e	1153	ef	44,3	b	0,8	e	509	de	9,0	cd	58	cd
T	4,1	d	1436	de	43,1	cd	0,9	de	618	cd	12,1	b	52	de
V	5,4	b	1786	bc	41,6	e	1,1	b	746	ab	19,3	a	39	g
VCe	5,3	bc	1889	ab	43,1	cd	1,0	cd	813	ab	18,0	a	46	ef
2012-2013														
Ce	1,6	g	744	h	44,9	b	0,8	e	331	g	5,9	e	58	c
Ce+N	1,8	fg	968	fgh	45,2	a	0,8	e	436	ef	8,1	d	55	cd
T	1,0	h	483	i	43,1	d	0,7	f	209	h	3,5	f	61	c
V	1,8	fg	900	gh	41,4	e	1,3	a	375	fg	11,7	bc	32	h
VCe	2,2	f	1140	efg	43,5	c	1,0	c	501	def	11,3	bc	44	f

Tabla A13: Usos consuntivos (mm), eficiencias de uso del agua ( $\text{g m}^{-2} \text{mm}^{-1}$ ) en términos de materia seca ( $\text{EUA}_B$ ) y carbono ( $\text{EUA}_C$ ) del cultivo de sorgo para las tres campañas evaluadas. Los tratamientos fueron antecesor centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V), vicia-centeno (VCe) y sin antecesor CC (T). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $p < 0,0001$ ).

Tratamiento	UC (mm)		$\text{EUA}_B$ ( $\text{g MS m}^{-2} \text{mm}^{-1}$ )		$\text{EUA}_C$ ( $\text{g C m}^{-2} \text{mm}^{-1}$ )	
2010-2011						
Ce	417	bc	3,7	c	1,5	de
Ce+N	395	def	4,4	b	1,8	c
T	437	a	4,5	b	1,8	bc
V	420	ab	5,1	a	2,0	a
VCe	393	ef	4,5	b	1,8	bc
2011-2012						
Ce	405	cde	2,8	e	1,3	def
Ce+N	407	bcde	2,8	e	1,2	ef
T	405	cde	3,6	cd	1,5	d
V	403	cde	4,4	b	1,9	abc
VCe	409	bcd	4,7	ab	2,0	ab
2012-2013						
Ce	366	gh	2,3	e	1,0	f
Ce+N	371	gh	2,5	e	1,1	f
T	360	h	1,4	f	0,6	g
V	382	fg	2,4	e	1,0	f
VCe	379	fg	2,9	de	1,3	def

Tabla A14: Concentración de C y N (%), contenidos de carbono y nitrógeno ( $\text{g m}^{-2}$ ) y la relación C/N de raíces de sorgo a 0-6, 6-12 y 0-12 cm de profundidad de suelo. Los antecesores fueron: centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), sin CC (T), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años para cada profundidad de muestreo ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Tratamiento	Prof.	C (%)	N (%)	C-BRT ( $\text{g m}^{-2}$ )	N-BRT ( $\text{g m}^{-2}$ )	C/N rz					
2010											
Ce		42,4	a	0,7	b	203,3	b	3,2	b	64,1	a
Ce+N		42,2	a	0,6	b	232,9	b	3,5	b	68,7	a
T	0-6 cm	41,3	a	0,7	b	231,2	b	3,8	b	61,4	a
V		42,1	a	0,8	b	217,3	b	3,9	b	59,4	a
VCe		42,0	a	0,7	b	222,1	b	3,6	b	64,8	a
Ce		34,6	b	1,1	ab	29,5	b	1,0	ab	32,1	bc
Ce+N		34,1	b	1,1	abc	37,7	ab	1,1	ab	33,0	abc
T	6-12 cm	30,3	c	1,0	c	30,3	b	0,9	b	33,2	abc
V		35,1	b	1,0	abc	35,1	ab	1,0	ab	34,5	abc
VCe		34,6	b	1,2	a	39,8	b	1,3	ab	30,6	c
Ce						232,8	a	4,2	b	56,5	a
Ce+N						270,6	a	4,6	b	59,8	a
T	0-12 cm					261,1	a	4,8	b	55,2	a
V						252,4	a	4,9	b	53,5	a
VCe						247,3	a	4,7	b	54,0	a
2011											
Ce		35,9	b	1,0	a	255,5	a	7,2	a	37,8	b
Ce+N		34,4	b	0,9	a	228,6	ab	6,2	a	38,6	b
T	0-6 cm	38,5	b	1,1	a	240,3	ab	6,7	a	37,5	b
V		35,3	b	1,1	a	256,8	ab	8,2	a	32,7	b
VCe		38,0	b	1,0	a	228,3	ab	6,2	a	38,7	b
Ce		36,1	ab	1,0	bc	38,7	a	1,0	a	38,6	a
Ce+N		37,1	ab	1,0	abc	43,2	a	1,2	a	38,3	ab
T	6-12 cm	40,1	a	1,2	a	49,3	a	1,4	a	36,0	abc
V		35,2	b	1,1	abc	48,1	a	1,4	a	35,3	abc
VCe		36,3	ab	1,0	bc	52,2	a	1,4	a	38,5	a
Ce						301,4	b	8,6	a	37,2	b
Ce+N						276,0	a	7,5	a	38,0	b
T	0-12 cm					296,6	a	8,3	a	36,1	b
V						305,6	a	9,5	a	33,2	b
VCe						280,6	a	7,6	a	38,4	b

Tabla A155: Cantidad de materia seca, C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, concentración de C y N (%) y la relación C/N de los mismos durante los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	Fecha	g MS $\text{m}^{-2}$		C (%)		N (%)		g C $\text{m}^{-2}$		g N $\text{m}^{-2}$		C/N	
Ce	Abril-2010	383	g					128	f	3	f		
Ce+N	Abril-2010	390	g					129	f	3	f		
T	Abril-2010	323	gh	34 <sup>(*)</sup>		0,9 <sup>(*)</sup>		109	fg	3	f	38	
V	Abril-2010	359	g					123	f	3	f		
VCe	Abril-2010	288	gh					97	fg	3	f		
Ce	Dic-2010	733	ef	41	a	1,0	def	301	de	8	bcd	43	b
Ce+N	Dic-2010	637	f	41	a	0,9	efg	261	de	6	de	45	b
T	Dic-2010	214	h	35	bcd	1,2	bc	74	g	2	f	30	c
V	Dic-2010	693	f	37	b	1,5	a	257	de	11	a	25	cd
VCe	Dic-2010	675	f	39	a	1,0	cde	266	de	7	cde	40	b
Ce	Dic-2011	1268	a	40	a	0,7	hi	507	a	9	ab	56	a
Ce+N	Dic-2011	1193	a	40	a	0,7	i	467	ab	8	bcd	61	a
T	Dic-2011	790	cdef	40	a	0,7	i	314	cd	5	e	61	a
V	Dic-2011	981	bc	40	a	1,1	cd	393	bc	10	a	38	b
VCe	Dic-2011	1111	ab	40	a	1,0	def	440	ab	11	a	41	b
Ce	Dic-2012	917	bcd	34	cd	0,9	efg	310	d	8	bc	38	b
Ce+N	Dic-2012	869	cde	36	bc	0,9	gh	307	d	7	cd	42	b
T	Dic-2012	403	g	35	bcd	0,8	gh	137	f	3	f	40	b
V	Dic-2012	748	def	32	d	1,5	a	242	e	11	a	22	d
VCe	Dic-2012	912	cd	33	cd	1,2	b	301	de	11	a	28	c

(\*) Los valores de C y N (%) de la fecha Abril-2010 corresponden al promedio de los bloques del ensayo (línea de base).

Tabla A 16: Pérdida de materia seca, carbono y nitrógeno ( $\text{g m}^{-2}$ ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, concentración de C y N (%) y la relación C/N de los mismos durante los tres años de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y entre años ( $p < 0,0375$ ).

Tratamiento	Pérdida ( $\text{g MS m}^{-2}$ )	
2010		
Ce	350,3	ef
Ce+N	398,6	def
T	88,4	g
V	231,2	f
VCe	305,4	f
2011		
Ce	802,1	abc
Ce+N	1110,6	a
T	349,4	ef
V	962,2	ab
VCe	1079,1	a
2012		
Ce	596,9	cde
Ce+N	730,2	bc
T	392,9	def
V	550,1	cde
VCe	628,5	cd

Tabla A17: Contenidos de C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) de la biomasa microbiana del suelo en los primeros 0-12 cm de suelo y su relación C/N a lo largo de los tres años de la experiencia para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos y años ( $\alpha < 0,05$ ).

Tratamiento	CBM ( $\text{g m}^{-2}$ )		NBM ( $\text{g m}^{-2}$ )		C/N
2010					
Ce	31	ef	3,3	b	10 e
Ce+N	27	f	2,7	cd	11 cde
T	21	g	1,6	e	14 a
V	31	ef	3,2	b	10 e
VCe	31	ef	3,0	bcd	11 cde
2011					
Ce	35	cde	3,2	bc	11 bcde
Ce+N	44	a	4,4	a	10 de
T	31	ef	2,4	d	13 ab
V	40	abc	4,2	a	10 e
VCe	40	ab	4,1	a	10 de
2012					
Ce	36	cd	3,0	bc	12 bcd
Ce+N	36	bcd	3,4	b	11 cde
T	34	de	3,1	bc	11 cde
V	39	abc	3,2	bc	13 abc
VCe	41	a	3,4	b	13 abc

Tabla A18: Relación C/N de la materia orgánica soluble en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm para los tratamientos testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Las letras indican diferencias entre tratamientos dentro de cada año ( $\alpha < 0,05$ ).

Tratamiento	C/N 0-6 cm		C/N 6-12 cm	
	2010			
Ce	8,4	a	11,1	a
Ce+N	15,9	a	12,4	a
T	14,6	a	8,9	a
V	14,1	a	10,1	a
VCe	12,9	a	9,0	a
2011				
Ce	7,3	a	5,3	a
Ce+N	7,1	a	5,5	a
T	7,7	a	6,2	a
V	8,3	a	3,1	a
VCe	7,4	a	5,7	a
2012				
Ce	9,5	a	7,0	a
Ce+N	13,1	a	8,3	a
T	9,2	a	7,8	a
V	8,5	a	6,4	a
VCe	7,5	a	7,6	a

Tabla A19: Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia de genes 16S y 18S (nro copias g suelo<sup>-1</sup>) y la relación entre hongos y bacterias (H/B) para cada año de la experiencia. Los tratamientos fueron: testigo sin CC (T), centeno (Ce), centeno + 40N (Ce+N), vicia (V) y vicia-centeno (VCe). Los valores indican el nivel de significancia (valor p) de las diferencias entre profundidades de suelo. Ns: no significativo ( $p < 0,05$ ).

Tratamiento	Bacterias		Hongos		H/B	
	2010	2012	2010	2012	2010	2012
Ce	0,0004	ns	0,001	ns	0,0001	ns
Ce+N	0,0259	0,0014	0,0002	0,0005	ns	0,0006
T	ns	ns	ns	ns	ns	ns
V	ns	ns	0,0001	ns	0,0028	ns
VCe	ns	0,0087	ns	ns	ns	ns

## 10. Índice de Tablas del anexo

Tabla A1: Precipitación diaria, mensual y acumulada (mm) .....	167
Tabla A2: Humedad edáfica (mm) al metro de profundidad de suelo. ....	168
Tabla A3: Humedad edáfica (mm) a 0-20 cm de profundidad de suelo .....	169
Tabla A4: Contenido de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm) a 0-20 y 20-60 cm de profundidad .....	170
Tabla A5: Temperatura del suelo (°C) a 5 y 10 cm de profundidad .....	171
Tabla A6: Productividad aérea de los CC en términos de materia seca (g MS m <sup>-2</sup> ), carbono (g C m <sup>-2</sup> ) y nitrógeno (g N m <sup>-2</sup> ). Concentración de C y N (%) de la biomasa aérea y la relación C/N .....	172
Tabla A7: Contribución de la vicia (V) y centeno (Ce) a la consociación (VCe) en términos de producción de materia seca (g MS m <sup>-2</sup> ), carbono (g C m <sup>-2</sup> ) y nitrógeno (g N m <sup>-2</sup> ) y su relación C/N para los tres años de la experiencia.....	172
Tabla A8: Usos consuntivos (mm) y eficiencia de uso del agua en términos de materia seca (g MS m <sup>-2</sup> mm <sup>-1</sup> , EUA <sub>B</sub> ) y de carbono (g C m <sup>-2</sup> mm <sup>-1</sup> , EUA <sub>C</sub> ) de los CC para los tres años de la experiencia.....	172
Tabla A9: Biomasa de raíces en el entresurco (ES, g MS m <sup>-2</sup> ) y en la línea de siembra (LS, g MS m <sup>-2</sup> ) y total (BRT) para las profundidades 0-6, 6-12 y 0-12 cm de suelo.....	173
Tabla A10: Concentración de C y N (%), contenidos de carbono y nitrógeno (g m <sup>-2</sup> ) y la relación C/N de raíces de los CC a 0-6, 6-12 y 0-12 cm de profundidad de suelo determinadas al finalizar su ciclo.....	174
Tabla A11: Productividad total de los CC en términos de materia seca, C y N (g m <sup>-2</sup> ) en las tres campañas evaluadas .....	175
Tabla A12: Productividad aérea del cultivo de sorgo expresada en términos de materia verde (Mg MV m <sup>-2</sup> ) y materia seca (g MS m <sup>-2</sup> ); concentración de C y N (%) de los tejidos; contenidos de C y N (g m <sup>-2</sup> ) y su relación C/N durante las tres campañas evaluadas .....	175
Tabla A13: Usos consuntivos (mm), eficiencias de uso del agua (g m <sup>-2</sup> mm <sup>-1</sup> ) del cultivo de sorgo para las tres campañas evaluadas .....	176
Tabla A14: Concentración de C y N (%), contenidos de carbono y nitrógeno (g m <sup>-2</sup> ) y la relación C/N de raíces de sorgo a 0-6, 6-12 y 0-12 cm de profundidad de suelo .....	177
Tabla A15: Cantidad de materia seca, C y N (g m <sup>-2</sup> ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, concentración de C y N (%) y la relación C/N de los mismos durante los tres años de la experiencia .....	178
Tabla A 16: Pérdida de materia seca, carbono y nitrógeno (g m <sup>-2</sup> ) de los residuos acumulados sobre la superficie del suelo, concentración de C y N (%) y la relación C/N de los mismos durante los tres años de la experiencia .....	179

Tabla A17: Contenidos de C y N ( $\text{g m}^{-2}$ ) de la biomasa microbiana del suelo en los primeros 0-12 cm de suelo y su relación C/N.....	179
Tabla A18: Relación C/N de la materia orgánica soluble en las profundidades de 0-6 y 6-12 cm.....	180
Tabla A19: Efecto de la profundidad de suelo sobre la abundancia de genes 16S y 18S (nro copias $\text{g suelo}^{-1}$ ) y la relación entre hongos y bacterias (H/B) para cada año de la experiencia .....	180