



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORA EN AGRONOMÍA

UTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES:
BIOTRANSFORMACIÓN, EVALUACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE
CARACTERIZACIÓN Y EFECTOS EN LA CALIDAD DEL SUELO Y EL
CULTIVO DE TRIGO

JULIANA MOISÉS

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2023

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctora 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 Laboratorio de Suelos, Plantas y Ambiente (LabSPA, CERZOS- Departamento de Agronomía, UNS) y el CERZOS-CONICET durante el período comprendido entre abril del 2017 y marzo del 2023, bajo la dirección del Dr. Juan Alberto Galantini perteneciente a la Comisión de Investigaciones Científicas (CERZOS-UNS).

Juliana Moisés



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación
Continua

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

*Dedico esta Tesis a mi
madre y a mi padre*

Agradecimientos

- ✧ A Juan Alberto Galantini, por su confianza y dirección.

- ✧ A Juan Manuel Martínez, Matías Duval y Fernando López, por su apoyo, enseñanzas, acompañamiento y respaldo.

- ✧ A Gastón Iócoli, por sus aportes y colaboración para los análisis espectrométricos.

- ✧ A Antonio Garayalde por su significativo aporte para el análisis de datos.

- ✧ A Pablo Postemsky y Marisa Gómez, por su buena predisposición cuando les solicité ayuda.

- ✧ Al Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur y al Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET) por brindarme los medios y la libertad para desarrollar mis estudios de posgrado.

- ✧ A docentes y no docentes de la Universidad Nacional del Sur.

- ✧ A mis compañeros “del cuarto piso” y de biología por el tiempo compartido.

- ✧ A todos los que de alguna forma fueron parte de este proceso que culmina en la presente tesis.

- ✧ A Sandra y Erica.

- ✧ A mis amigos.

- ✧ A mi familia, en especial a mi mamá por su apoyo constante y a mi papá, *siempre*.

Organización de la Tesis

La presente tesis fue organizada en capítulos que analizan alternativas de valorización de residuos orgánicos. Cuenta con una introducción general, hipótesis y objetivos del estudio y desarrolla diferentes enfoques relacionados, los cuales se detallan a continuación: caracterizar diferentes residuos agroindustriales y determinar que propiedades tienen mayor relevancia para su utilización como enmiendas orgánicas (**Capítulo I**); conocer la dinámica de mineralización de diferentes residuos en suelos de diferentes características (**Capítulo II**); evaluar diferentes transformaciones como formas de adecuación para utilizar residuos orgánicos como enmiendas (**Capítulo III**), evaluar la obtención de sustancias húmicas de dichos residuos como una alternativa de valorización de los mismos y su aplicación al cultivo de trigo (**Capítulo IV**). Finalmente se presentan las principales contribuciones del estudio y las consideraciones finales (**Capítulo V**).

Se comienza la tesis evaluando 17 residuos orgánicos, a partir de los cuales, se van a ir seleccionando en función de la relevancia por su magnitud de generación en la región, volumen de generación y de características de interés intrínsecas de los residuos. En el Anexo I (Tabla 23) se presenta un resumen de los residuos estudiados en cada capítulo y en cada ensayo.

RESUMEN

A nivel país conviven diferentes sistemas productivos intensivos y extensivos con actividades agroindustriales que generan gran cantidad de residuos orgánicos (RO) de diferente origen, algunos de ellos de difícil manejo, los cuales podrían utilizarse como enmiendas orgánicas (EO). La aplicación eficiente de los RO depende de muchos factores que están interrelacionados, como sus propiedades intrínsecas y las propiedades del suelo donde se aplica. Por ello, la hipótesis general fue: “la aplicación eficiente y ambientalmente segura de RO agroindustriales, requiere conocer las características particulares del producto a aplicar, las características del suelo y la dinámica de los cambios posteriores a la aplicación, así como los efectos sobre el desarrollo y la nutrición del trigo”. El objetivo general fue estudiar diferentes RO agroindustriales generados en el sudoeste bonaerense, su factibilidad de reutilización y aplicación al suelo, y su posterior efecto sobre el desarrollo y nutrición del cultivo de trigo. Para ello, se caracterizaron 17 RO con diferente grado de biotransformación, para poder utilizarlos como EO. Se pudo comprobar que la combinación de análisis químicos y espectrométricos otorgan información relevante para entender el comportamiento de los RO al ser aplicados al suelo. La dinámica de las transformaciones de las fracciones orgánicas y la disponibilidad de macronutrientes depende de las características del RO, principalmente su relación C:N y del tipo de suelo, mayormente dado por su granulometría. Las biotransformaciones fueron útiles para modificar a nivel molecular la composición del RO y así aumentar su potencialidad de uso como EO. Se observaron resultados positivos para el cultivo de trigo ante la aplicación de RO más estables, identificados principalmente por una relación C:N menor a 38:1. Como otra alternativa de aprovechamiento, se posiciona la extracción de sustancias húmicas (SH) de los RO. Su aplicación foliar en trigo como bioestimulante mejoró la producción del cultivo en un año con estrés hídrico, donde la dosis tuvo mayor relevancia que la composición de las SH aplicadas.

ABSTRACT

In the country, different intensive and extensive production systems coexist with agro-industrial activities that generate a large amount of organic residues (OR) of different origin, some of them difficult to manage, which could be used as organic amendments (OA). The efficient application of OR depends on many factors that are interrelated, such as its intrinsic properties and the properties of the soil where it is applied. Therefore, the general hypothesis was: "the efficient and environmentally safe application of agro-industrial OR requires knowing the particular characteristics of the product to be applied, the characteristics of the soil and the dynamics of the changes after the application, as well as the effects on the development and nutrition of wheat. The general objective was to study different agroindustrial OR generated in the southwestern of Buenos Aires, its feasibility of reuse and application to the soil, and its subsequent effect on the development and nutrition of the wheat crop. For this, 17 OR with different degrees of biotransformations were characterized, in order to use them as OA. It was possible to verify that the combination of chemical and spectrometric analyzes provide relevant information to determine the behavior of OR when applied to the soil. The dynamics of the transformations of the organic fractions and the availability of macronutrients depend on the characteristics of the OR, mainly its C:N ratio and the type of soil, mainly given by its granulometry. Biotransformations were useful to modify the composition of OR at the molecular level and thus increase its potential for use as OA. Positive results were observed for the wheat crop when applying more stable OR, mainly identified by a C:N ratio of less than 38:1. As another use alternative, the extraction of humic substances (HS) from the OR is positioned. Its foliar application in wheat as a biostimulant improved crop production in a year with water stress, where the dose was more relevant than the composition of the HS applied.

ÍNDICE	13
INTRODUCCIÓN GENERAL	13
Problemática planteada.....	18
Hipótesis general	18
Objetivo general	18
Objetivos específicos:	19
Capítulo I	20
INTRODUCCIÓN.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Caracterización química.....	24
Caracterización espectrométrica.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	37
Capítulo II	39
INTRODUCCIÓN.....	40
MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
Suelo y residuos utilizados.....	44
Ensayo I: Evaluación del desprendimiento de C de los residuos aplicados, a través de la respiración del suelo.....	45
Ensayo II: Incubación aeróbica de largo plazo.....	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
Ensayo I: Evaluación del desprendimiento de C a través de la respiración del suelo.....	49
Ensayo II: Incubación aeróbica de largo plazo.....	58
Variación de las fracciones orgánicas de C	58
Dinámica de mineralización de N.....	64
Potencial de mineralización de los suelos.....	64
Potencial de mineralización de los suelos con aplicación de RO.....	65

Dinámica de la disponibilidad de N inorgánico.....	70
Cambios en la reacción del suelo y las formas de Fósforo	72
CONCLUSIONES	77
Capítulo III	79
INTRODUCCIÓN.....	80
MATERIALES Y MÉTODOS.....	82
Caracterización de la CG y sus transformaciones	82
Descripción del ensayo	83
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
Caracterización química de la CG bajo diferentes transformaciones	86
Caracterización UV-vis.....	87
Efecto de los tratamientos aplicados al suelo sobre el desarrollo de trigo	90
CONCLUSIONES	95
Capítulo IV	97
INTRODUCCION.....	98
MATERIALES Y MÉTODOS.....	101
Caracterización sustancias húmicas	101
Ensayo I: Sustancias Húmicas como metodología de valorización.....	102
Ensayo II: Aplicación foliar de SH a campo y su efecto sobre el rendimiento del cultivo de trigo	103
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	105
Caracterización química y espectrométrica de las SH	105
Ensayo I: Sustancias Húmicas como metodología de valorización.....	107
Relación entre la aplicación de RO y la producción del cultivo de trigo ..	107
Efecto de la aplicación de SH sobre el crecimiento inicial del trigo	109
Ensayo II: Aplicación de Sustancias Húmicas a campo y su efecto sobre el cultivo de trigo	114

Caracterización de las SH.....	114
Evaluación de la aplicación foliar de SH y producción del trigo	115
CONCLUSIONES	119
Capítulo V _____	121
ANEXO I _____	126
BIBLIOGRAFÍA _____	127

Lista de abreviaturas

Al:	alperujo
Bg:	bagazo
Bo:	borra
C:	carbono
CA:	cascarilla de arroz
CALen:	cascarilla de arroz con <i>Lentinula edodes</i>
CAPle:	cascarilla de arroz con <i>Pleurotus ostreatus</i>
CG:	cáscara de girasol
CGcm:	cáscara de girasol compostada
CGGan:	cáscara de girasol con <i>Ganoderma lucidum</i>
CGPle:	cáscara de girasol con <i>Pleurotus ostreatus</i>
CGUr:	cáscara de girasol ureolizada
CmEC:	compost estiércol y cebolla
CO:	carbono orgánico
COM:	carbono orgánico asociado a la fracción mineral
COPf:	carbono orgánico particulado fino
COPg:	carbono orgánico particulado grueso
COT:	carbono orgánico total
EPLC:	lombricompuesto residuos sólidos urbanos
EO:	enmiendas orgánicas
FT-IR:	Espectroscopía Infrarrojo con Transformadas de Fourier
IC:	índice de cosecha
IV:	índice de verdor
<i>k</i> :	tasa de mineralización
MO:	materia orgánica
MOP:	materia orgánica particulada
MS:	materia seca
N:	nitrógeno
N ₀ :	nitrógeno potencialmente mineralizable
Ninorg.:	nitrógeno inorgánico en forma de N-nitratos
Nma:	mineralización aparente de N
Nmin:	nitrógeno mineralizado acumulado
N-NO ₃ :	índice de mineralización N de nitrato
Nt:	nitrógeno total
PA:	paja de arroz

PAGan:	paja de arroz con <i>Ganoderma lucidum</i>
PALen:	paja de arroz con <i>Lentinula edodes</i>
PAPle	paja de arroz con <i>Pleurotus ostreatus</i>
Pe:	fósforo extraíble
Po:	fósforo orgánico
Pi:	fósforo inorgánico
PT	porosidad total
pH:	potencial Hidrógeno
RO:	residuo orgánico
SEF:	fermentación en estado sólido
SH:	sustancias húmicas
SOB:	sudoeste bonaerense
US:	unidades spad

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los suelos de los agroecosistemas deben ser considerados como el núcleo de la sostenibilidad futura, de ahí el interés en mantener una buena salud y calidad de los mismos. Las acciones antrópicas irracionales han promovido la pérdida de materia orgánica (MO), reduciendo la fertilidad, alterando negativamente diferentes propiedades del suelo, y también aumentando la erosión y el CO₂ atmosférico. Es importante entender qué está pasando con un recurso natural como el suelo, cómo el manejo agrícola impacta sobre sus procesos, y al mismo tiempo, proponer alternativas de uso que mantengan tanto la calidad ambiental, como su eficiencia productiva, es decir, alternativas sostenibles a través de acciones viables y estrategias ambientalmente seguras (Reyes Sanchez *et al.*, 2022).

En Argentina la agricultura es de gran magnitud en términos económicos y extensión de áreas cultivadas (Abril *et al.*, 2005), concentrándose en la región templada de la Pampa Húmeda y extendiéndose hasta zonas más frágiles climáticamente, caracterizadas por precipitaciones escasas y una estacionalidad marcada. La región Pampeana es considerada una de las áreas de mejor aptitud en el mundo para la producción agrícola (Satorre & Slafer, 1999) y debido a esto, muchos de sus suelos fueron objeto del avance de la agriculturización. Esta intensificación ha ocasionado una disminución del nivel de MO del suelo, afectando tanto a la salud del suelo como a su biodiversidad (Sainz Rozas *et al.*, 2011; Duval *et al.*, 2020).

Dentro de la región Pampeana, el sudoeste de la provincia de Buenos Aires (SOB), comprende parte de las regiones semiárida y subhúmeda seca, con características climáticas y edáficas que lo diferencian del resto de la Pampa Húmeda, siendo el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.) la base de los sistemas productivos en un amplio sector. Sus rendimientos están influenciados por las condiciones climáticas y las propiedades edáficas, requiriendo un uso eficiente del agua y del nitrógeno (N) (Martínez, 2015; Martínez *et al.*, 2016). Esta región se caracteriza por una gran variabilidad climática y escasez de precipitaciones factores que restringen la diversidad de

cultivos y determinan un menor potencial de producción, respecto a la región pampeana central. La variabilidad climática interanual, típica del SOB, se debe principalmente a la variación de las precipitaciones, temperaturas, vientos y humedad relativa (López, 2017). Estas cualidades del SOB le confieren alta fragilidad a sus agroecosistemas, con menor resiliencia y limitada sostenibilidad de la agricultura (Schmidt y Amiotti, 2015). Bajo estas condiciones edafoclimáticas, los cambios de uso de la tierra y la aplicación de prácticas tecnológicas inadecuadas, han repercutido negativamente sobre la calidad del recurso suelo, agudizando los problemas derivados de las limitaciones climáticas (Amiotti *et al.*, 2012).

Las consecuencias ambientales y económicas de la degradación del suelo obligan a adoptar tecnologías y prácticas de manejo para reducir o revertir estos efectos nocivos. Una alternativa podría ser el uso de enmiendas orgánicas (EO) y/o residuos en los agrosistemas, ya sea solos o en combinación con fertilizantes minerales (Mandal *et al.*, 2007). Los suelos degradados necesitan estrategias para reducir la erosión y remediar los efectos de la degradación. Suelos en zonas semiáridas tienen en general baja actividad microbiana, bajos niveles de biomasa microbiana y bajo contenido de MO. Si las características de los suelos degradados se recuperan y mejoran con la aplicación de EO, el ciclo de nutrientes mejorará como así también, su calidad en general (Clark *et al.*, 2007; Moisés *et al.*, 2022b).

A su vez, las características de esta región han llevado a que se desarrollen sistemas intensivos y actividades que generan gran cantidad de residuos orgánicos (RO), con la consecuente preocupación por su destino final (Moisés *et al.*, 2022b). Muchos de estos residuos son difíciles de descomponer, lo que provoca contaminación y problemas de salud. El manejo, tratamiento, reutilización y/o disposición final deberían ser parte del costo de producción, responsabilidad social y camino común que se debe hacer para conservar el ambiente (Locoli, 2018). Es importante destacar que bajo condiciones adecuadas de manejo, los RO constituyen un recurso agronómico de alto valor como enmiendas y/o fertilizantes, además de reducir el riesgo de los efectos ambientales negativos que produce su concentración (Mazzarino, 1998). De esta manera convergen el aumento de la demanda de los consumidores por

productos originados en sistemas de producción sustentables, al mismo tiempo que se incrementa la necesidad de los productores y empresas por encontrar soluciones técnicas y económicamente viables para el buen uso y/o valorización de los residuos de sus sistemas productivos (Saval, 2012).

Entre los sistemas productivos del SOB existen más de 12000 hectáreas de cultivo de cebolla (*Allium cepa L.*) con una producción de 450000 Mg anuales, dejando 70000 a 180000 Mg de descarte. La producción pecuaria intensiva aporta 190 Mg anuales de estiércol (Moisés *et al.*, 2018). También se producen 54000 Mg anuales de cáscara de girasol (*Helianthus annuus L.*) (Martinez *et al.*, 2020) y se estima una generación de 3100 Mg de alperujo (Al) (Moisés *et al.*, 2018), residuo de la producción olivícola, donde a través de la extracción de aceite de oliva por el método de dos fases, se genera alrededor de 850 kg de Al por cada tonelada de aceituna procesada (Monetta, 2014). Dentro de estos residuos, es importante destacar, que el uso inadecuado de estiércol animal, puede generar un aumento de la salinidad, exceso de amoníaco (origen avícola), presencia de metales pesados o contaminantes emergentes derivados de antibióticos en cerdos y aumento en la presencia de patógenos (Reyes Sanchez *et al.*, 2022). Las cáscaras de girasol (CG) de la industria del aceite son difíciles de descomponer debido a su alto contenido y calidad de lignina (alta relación C:N= 72:1) (Curvetto *et al.*, 2005). El Al es un producto semisólido de textura pastosa y fuerte olor formado por restos de pulpa, piel, carozo triturado y agua de los tejidos vegetales (Alurralde *et al.*, 2021), que se caracteriza por su elevado contenido de compuestos orgánicos (principalmente compuestos fenólicos) que provocan fitotoxicidad (Morillo *et al.*, 2009). Además, presenta un contenido graso del 3 al 9%, niveles considerables de MO, potasio y micronutrientes, bajo contenido de nitrógeno (N), elevada relación C:N y elevado contenido de lignina, ácidos grasos y sustancias fenólicas (Toscano & Montemurro, 2012; Alurralde *et al.*, 2021).

Según Reyes Sanchez *et al.* (2022), una importante estrategia para suelos agrícolas degradados y con baja fertilidad, es el uso de EO, considerándolo un factor clave dentro de un manejo adecuado para aumentar la productividad y diversidad del suelo. Estas EO pueden considerarse fuentes alternativas de MO para los suelos, sin embargo, el comportamiento de las fuentes orgánicas

exógena y su capacidad para influir en la generación de MO estable en los suelos dependerá fundamentalmente de su calidad, el suelo receptor, el manejo del cultivo y el clima (Reyes Sanchez *et al.*, 2022).

La aplicación de orgánicos al suelo puede tener dos finalidades, por un lado aumentar los contenidos nutricionales del suelo (teniendo en cuenta que los nutrientes se aportan gradualmente, dependiendo de la mineralización de la MO) y, por otro lado, mejorar la salud del suelo en general, aumentando el contenido de carbono (C) y logrando mejoras consolidadas de manera más lenta, en las propiedades físicas, químicas y/o biológicas (Hernandez *et al.*, 2018). Por lo tanto, es necesario que la MO exógena que se aporta a los suelos sea de calidad. Esto significa que el material que se aplique al suelo debe estar higiénicamente sano (sin microorganismos patógenos), sin contenido problemático de metales pesados, salinidad u otros contaminantes emergentes de origen antrópico y con una aceptable estabilidad. Se deben mantener criterios de sostenibilidad, y para ello, la calidad de los materiales orgánicos utilizados como enmiendas es fundamental (Reyes Sanchez *et al.*, 2022).

La estabilidad y madurez de la EO son dos factores importantes a considerar para el éxito en la recuperación de suelos degradados. Para las EO, el término estabilidad está relacionado con la tasa de degradación de su MO, mientras que el término madurez se refiere a la descomposición de compuestos orgánicos potencialmente fitotóxicos (Larney & Angers, 2012).

Biotransformación como adecuación de residuos orgánicos para su uso como enmiendas orgánicas

Una alternativa para aprovechar los RO es la biotransformación (Rajkhowa *et al.*, 2019). Los métodos de biotransformación evaluados en esta tesis fueron el compostaje y el uso de hongos lignocelulíticos.

i. Compostaje

Según Román *et al.* (2013) es posible interpretar el compostaje como la sumatoria de procesos metabólicos complejos realizados por diferentes microorganismos que, en presencia de oxígeno, aprovechan el N y el C presentes para producir su propia biomasa. En este proceso los

microorganismos generan calor y un sustrato sólido, con menos C y N, pero más estable, denominado compost. Al descomponer el C, el N y toda la MO inicial, los microorganismos desprenden calor medible a través de las variaciones de temperatura a lo largo del tiempo. Mazzarino & Satti (2012) por su parte, definen el compostaje como un proceso bio-oxidativo controlado que involucra un sustrato orgánico heterogéneo, una etapa termofílica de reducción de patógenos y semillas de malezas, y una etapa de maduración de degradación de sustancias fitotóxicas, que finaliza en un producto inocuo, estable y maduro.

ii. Hongos lignocelulíticos

El proceso biológico de cultivo de hongos en sustratos acondicionados se conoce técnicamente como fermentación en estado sólido (FES). Este tipo de hongos, a través de su sistema enzimático compuesto principalmente por celulasas, xilanasas, ligninasas, peroxidasa, lacasas y manganeso peroxidasa (Atila, F., 2019), son capaces de degradar, hemicelulosa, celulosa y lignina, en compuestos solubles de menor peso molecular, para ser absorbidos por las hifas fúngicas (Lim *et al.*, 2013). Es un metabolismo descomponedor de tipo primario, donde el sustrato inicial se descontamina (por pasteurización por vapor de agua, inmersión en agua caliente, alcalinización o uso de desinfectantes), de manera de favorecer el desarrollo del hongo que se inocula (Ballardo Matos, 2016). Sin embargo, no se asegura la inocuidad del sustrato residual, incluso, en este tipo de sustratos provenientes de residuos agroindustriales hay que evaluar la posible persistencia de patógenos vegetales, como el hongo *Sclerotinia sclerotiorum*, presente en la cáscara de girasol (Escande *et al.*, 2002; López-Castro *et al.*, 2008). La FES es eficiente para el crecimiento de microorganismos cuando es necesario utilizar grandes cantidades de biomasa, ya que tiene la particularidad de que el sustrato es también la matriz donde crecen los microorganismos (Woiciechowski *et al.*, 2014). La calidad del sustrato inicial antes de la inoculación con hongos difiere completamente del sustrato después de la degradación. Por lo tanto, la implementación de estos hongos es útil para residuos lignocelulíticos, ya que la producción de FES y basidiomas juntos generan cambios importantes en el

sustrato, como una reducción en la densidad y los espacios intersticiales, una reducción en el contenido de lignina y carbohidratos, mientras que otros procesos biológicos como la mineralización aumentan (Postemsky y López Castro, 2016).

Problemática planteada

La pérdida de MO y el deterioro de la salud de los suelos, producto de las prácticas llevadas a cabo en las últimas décadas, sumado a la creciente generación de RO agroindustriales en la región, sin un plan de gestión acorde, requieren de un nuevo enfoque integral en la forma de producir. Para esto, es indispensable conocer la composición elemental y estructural de los residuos, así como la dinámica que establecen los mismos con la matriz de los diferentes suelos característicos del SOB al ser aplicados, y el efecto específico sobre el cultivo de trigo. De esta forma, la utilización de RO de manera eficiente, ambientalmente segura, con dosis y momentos óptimos de aplicación, permitirá cerrar los ciclos biogeoquímicos en los suelos, iniciando un camino de recuperación de la salud de los mismos, sosteniendo la capacidad del sistema productivo.

Hipótesis general

La aplicación eficiente y ambientalmente segura de RO agroindustriales, requiere conocer las características particulares del producto a aplicar, las características del suelo y la dinámica de los cambios posteriores a la aplicación, así como los efectos sobre el desarrollo y la nutrición del trigo.

Objetivo general

El objetivo general fue estudiar diferentes RO agroindustriales generados en el SOB, su factibilidad de reutilización y aplicación al suelo, y su posterior efecto sobre el desarrollo y nutrición del cultivo de trigo.

Objetivos específicos:

- Caracterizar RO de diverso origen y bajo diferentes biotransformaciones a través de metodologías químicas y espectrométricas para verificar su potencial uso como EO.
- Evaluar la variación de la dinámica del C, N y fósforo (P) en suelos representativos del SOB debido a la aplicación de diversos residuos con diferente grado de biotransformación.
- Evaluar el efecto de diferentes biotransformaciones sobre las características de la CG y cómo repercuten esos cambios en la producción de trigo utilizando propiedades químicas y espectrométricas.
- Evaluar química y espectrométricamente sustancias húmicas extraídas de diferentes residuos agroindustriales con diferentes extractantes y su impacto sobre el cultivo de trigo luego de su aplicación foliar.

Capítulo I

Caracterización química y espectrométrica de residuos agroindustriales para su potencial uso como enmiendas orgánicas

Parte de este capítulo fue publicado en la revista Ciencia del Suelo 40 (2022) 227-236. “Caracterización química y espectrométrica de residuos agroindustriales para su potencial uso como enmiendas orgánicas”.

INTRODUCCIÓN

A nivel país conviven diferentes sistemas productivos intensivos y extensivos con actividades agroindustriales que generan gran cantidad de RO de diferente origen (Moisés *et al.*, 2022b), algunos de ellos de difícil manejo, los cuales podrían utilizarse como enmiendas orgánica (EO), definiendo EO como cualquier material de origen animal o vegetal que puede ser adicionado al suelo para mejorar sus propiedades físicas y/o químicas (Abassi & Khizar, 2012). La aplicación de materiales orgánicos como enmienda a los suelos agrícolas es beneficioso para la producción de cultivos y también para mantener y/o mejorar la calidad del suelo (Van Heerden *et al.*, 2002). Las características químicas de las EO varían, principalmente por el material original, y también por el tipo y tiempo de procesamiento (Campitelli & Ceppi, 2008) y por lo tanto, las EO constituyen una combinación de un sinnúmero de compuestos con diferente complejidad y grado de asociación (Iocoli, 2018). Según Urra *et al.* (2019), el uso de EO en la agricultura constituye una práctica común y una estrategia útil para mejorar la fertilidad, sanidad y productividad edáfica de los suelos, de forma racional y de manera ambientalmente adecuada, como también favorecer su biodiversidad. Además, la reutilización de RO supone un doble efecto para el ambiente; ya que disminuye la presencia de éstos en el medio y al mismo tiempo su aplicación al suelo mejora las condiciones edáficas (Abassi & Khizar, 2012), por ejemplo incrementando el nivel de MO del suelo (Brown & Leonard, 2004; Tian *et al.*, 2009). Sin embargo, es importante considerar que la aplicación de EO puede generar también algunos efectos negativos sobre el ambiente, tales como inmovilización de N por parte de microorganismos (Bernal *et al.*, 1998), acumulación de sustancias fitotóxicas para germinación de semillas (De Bertoldi & Zucconi, 1987), eutrofización de cursos de agua, incrementos en la conductividad eléctrica (Clark *et al.*, 2007), entre otros. La gran variabilidad que presentan estos materiales, junto a la falta de información sobre sus características fisicoquímicas, plantea la necesidad de conocer en detalle cada material antes de su aplicación al suelo (Barbazán *et al.*, 2011). Caracterizar en profundidad los RO permitirá definir la potencialidad de los mismos como EO y ayudará a conseguir mayor entendimiento sobre sus

efectos sobre la calidad edáfica y ambiental (Martínez, 1996; Barbazán *et al.*, 2011).

El reciclado de nutrientes en los agroecosistemas depende de la biodegradabilidad de la MO que los conforma, siendo los carbohidratos simples y los aminoácidos los que más rápidamente se degradan, mientras que las macromoléculas requieren largos períodos de descomposición (Stevenson, 1986). Sin embargo, ninguna variable en forma aislada permite estimar la biodegradabilidad, siendo necesario conocer varios parámetros como contenido de C, N, celulosa, hemicelulosa y lignina, aminoácidos, proteínas y ácidos fenólicos (Cheng *et al.*, 2003; Iocoli, 2018). Por otro lado, varios autores han demostrado que el estudio y comprensión de la estructura de las sustancias húmicas (SH) extraídas de estos residuos a través de técnicas espectrales como la espectroscopía UV-vis (Burgess & Thomas, 2007; Iocoli *et al.*, 2017), permite entender más profundamente su calidad y estabilidad, parámetros que resultan esenciales para conocer el efecto del residuo sobre el suelo y la planta (Zambrano *et al.*, 2011). Las relaciones de absorbancia a ciertas longitudes de onda han sido consideradas como parámetros espectroscópicos de utilidad para la caracterización del material orgánico en relación al peso molecular, polaridad y grado de humificación (Waldrip *et al.*, 2014). Por su parte, la espectroscopía infrarroja puede identificar grupos funcionales, siendo una herramienta útil para estudiar la naturaleza, la reactividad y la disposición estructural de los componentes (Hou *et al.*, 2018). Se trata de una técnica muy eficaz, aunque su información es básicamente cualitativa, y ha sido exitosa en el estudio de los procesos de degradación de material orgánico y mineralización (Chafetz *et al.*, 1996).

Hipótesis

El conocimiento de las propiedades químicas y espectrométricas de los materiales orgánicos otorga información útil para predecir su biodegradabilidad y su efecto sobre la calidad del suelo, para ser utilizados como EO.

Objetivos

- i) Caracterizar RO de diverso origen y bajo diferentes biotransformaciones a través de metodologías químicas y espectrométricas;
- ii) Verificar si estos residuos, considerando su variabilidad y diversidad de origen, pueden comportarse de forma similar en base a sus propiedades para facilitar su potencial uso como EO.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron de forma química y espectrométrica varios materiales orgánicos provenientes de diversas actividades agropecuarias a nivel nacional de diferentes orígenes y grados de transformación:

- Cáscara Girasol (CG) cáscara de girasol sin modificar, proveniente de la industria aceitera de Bahía Blanca;
- Cáscara Girasol Compostada (CGCm) obtenida de un compost realizado con CG y estiércol ovino durante 5 meses;
- Cáscara Girasol con *Pleurotus* (CGPle) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*;
- Cáscara Girasol con *Ganoderma* (CGGan) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*;
- Cáscara Girasol Ureolizada (CGUr) corresponde a CG colocada en silo bolsa con agregado de urea durante 3 meses según la metodología propuesta por Postemsky *et al.* (2017a);
- Paja de Arroz (PA);
- Paja de Arroz con *Pleurotus* (PAPle) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo comestible *P. ostreatus*;
- Paja de Arroz con *Ganoderma* (PAGan) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo medicinal *G. lucidum*;
- Paja de Arroz con *Lentinula* (PALen) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo *Lentinula edodes*;
- Cascarilla de Arroz (CA);

- Cascarilla de Arroz con *Pleurotus* (CAPle) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo comestible *P. ostreatus*;
- Cascarilla de Arroz con *Lentinula* (CALen) proveniente del sustrato residual de la producción del hongo *L. edodes*;
- Bagazo (Bg) proveniente del residuo de la malta luego del proceso de maceración durante la elaboración cerveza artesanal;
- Borra (Bo) derivada del proceso de filtración de la obtención de aceite de soja;
- Alperujo (Al) estabilizado a campo, correspondiente al residuo de la obtención de aceite de oliva;
- Residuos sólidos urbanos (EPLC) biotransformados por la acción de lombrices californianas y compostaje;
- Compost de estiércol bovino y residuos de la producción de cebolla (CmEC).

Caracterización química

Para su caracterización química, todos los residuos fueron secados en estufa a 60°C por 48 horas y molidos con malla de 1 mm de diámetro. Se realizaron las siguientes determinaciones químicas: MO a través del método calcinación en mufla a 550° por 4 h (Martínez *et al.*, 2017b), C orgánico total (COT) por analizador automático Leco Truspec (Leco Corporation, St Joseph, MI), N total (Nt) mediante el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1996), pH y conductividad eléctrica (CE) por método 1+5 v/v (Bárbaro *et al.*, 2011), fósforo (P) total, mediante digestión húmeda (ácido nítrico y perclórico 2:1) con posterior determinación por espectrometría de emisión por plasma.

Caracterización espectrométrica

Se extrajeron las SH de cada residuo mediante la metodología establecida por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS) utilizando KOH 0,1M como extractante. Las SH extraídas de los materiales orgánicos se sometieron a un barrido espectroscópico a 18 longitudes de onda entre 190 y 665 nm con un espectrofotómetro UV-Visible T60 PG instruments. Las muestras se diluyeron en agua destilada desde 1:20 hasta 1:100 de acuerdo a la

concentración del tratamiento, para obtener un barrido espectroscópico completo, sin saturación de la señal. Se calcularon los coeficientes de absorción E2/E4 (Shirshova *et al.*, 2006), E2/E6 (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021) y E4/E6 (Chen *et al.*, 1977; Albrecht *et al.*, 2011), considerando una relación de absorbancia de 254 a 465 nm, 254 a 665 nm y 465 a 665 nm, respectivamente. Finalmente, se seleccionaron tres residuos para evaluar las posibles diferencias estructurales/funcionales mediante la técnica de Espectroscopía Infrarrojo con Transformadas de Fourier (FT-IR). Se realizaron espectros dentro del rango infrarrojo medio ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) con 64 escanes de barrido y 8 cm^{-1} con un espectrómetro Nicolet iS50 FT-IR Thermo Scientific. Las muestras sólidas se prepararon como pastillas de bromuro de potasio Merck Uvasol al 1% (1,8 mg de muestra seca en 180 mg de KBr).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de conglomerados para agrupar los residuos semejantes en función de sus propiedades químicas (pH, CE, MO, C:N, COT, N, P) y espectrométricas (E2/E6, E4/6, E2/E4) más relevantes para su potencial uso como enmiendas orgánicas, teniendo en cuenta la distancia de Ward. El corte del grado de agrupamiento de los sitios se realizó en el 50% de la distancia total (Balzarini *et al.*, 2008). Para determinar que variables tuvieron más relevancia en los resultados de conglomerados, se llevó a cabo un análisis multivariado de componentes principales (ACP) para agrupar las variables evaluadas en CP. En este análisis se utilizó a los diferentes residuos como variable de clasificación. Fueron retenidos todos los CP con autovalores >1 , debido a que permiten explicar la varianza de manera correcta. Luego, se analizaron las variables más importantes que afectaron los CP por el análisis de la varianza (ANAVA) para cada grupo de residuos. Los análisis estadísticos se realizaron con el software informático Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se detallan los resultados del análisis químico y espectrométrico de los RO evaluados.

Tabla 1. Caracterización química y espectrométrica de los materiales estudiados.

RESIDUO	pH	CE (dS m ⁻¹)	MO	COT		C:N	P (g kg ⁻¹)	E2/E6	E4/E6	E2/E4
				(g kg ⁻¹)						
CG	5,6±0,23	1,6±0,18	957,9	617	7,83±1,2	78,8	0,6	30,7	3,5	8,8
CG Cm	7,6±0,22	2,8±0,25	775,7	522	22,3±2,5	23,4	5,6	136,6	7,8	17,5
CG Ple	5,3±0,3	4,8±0,15	878,6	569	11,0±2,3	51,7	0,7	317,6	8,6	36,9
CG Gan	4,5±0,38	1,9±0,05	733,5	434	12,8±1,6	33,9	0,6	463,0	11,5	40,3
CG Ur	5,2±0,53	1,4±0,27	959,1	637	20,4±2,7	31,3	0,4	33,2	4,2	7,9
CA	5,9±0,75	1,3±0,35	813,4	449	12,4±5,3	36,2	1,4	48,2	4,6	10,5
CA Ple	5,4±0,3	3,0±0,25	612,4	367	11,7±2	31,4	1,3	818,0	12,5	65,4
CA Len	5,4±0,28	6,7±0,6	734,8	390	12,7±10,1	30,7	4,5	150,6	5,3	28,4
PA	8,6±0,44	0,8±0,03	711,9	381	10,8±1	35,3	0,2	65,2	5,2	12,6
PA Ple	5,7±0,27	3,6±0,38	845,6	504	12,7±3,3	39,8	3,7	544,9	8,0	68,1
PA Gan	5,2±0,45	1,7±0,23	736,1	443	11,5±1,7	38,5	1,2	254,6	7,4	34,3
PA Len	5,0±0,25	3,5±0,1	740,1	410	18,8±4,8	21,8	1,2	240,0	8,7	27,5
Al	5,4±0,25	8,7±0,2	947,3	756	11,1±2	68,4	1,9	11,5	1,8	6,3
Cm EC	8,6±0,44	4,5±0,17	318,9	177	15,8±1,4	11,2	6,1	150,6	9,8	15,4
EPLC	7,9±0,35	3,4±0,27	268,5	186	18,1±0,9	10,2	4,7	69,8	7,4	9,4
Bg	5,1±0,2	8,1±0,45	961,7	450	28,2±1,5	16,0	3,5	27,0	3,0	9,1
Bo	6,9±0,45	2,4±0,3	946,8	526	25±1,7	21,0	10,0	168,7	3,3	51,3

Cáscara girasol (CG); cáscara girasol compostada (CGCm); cáscara girasol con Pleurotus (CGPle); cáscara girasol con Ganoderma (CGGan); cáscara girasol ureolizada (CGUr); cascarilla arroz (CA); cascarilla arroz con Pleurotus (CAPle); cascarilla arroz con Lentinula (CALen); paja arroz (PA); paja arroz con Pleurotus (PA Ple); paja arroz con Ganoderma (PAGan); paja arroz con Lentinula (PALen); alperujo (Al); compost estiércol bovino con residuo de producción de cebolla (CmEC); lombricompost RSU (EPLC); bagazo (Bg); borra (Bo). Conductividad eléctrica (CE); materia orgánica (MO); carbono orgánico total (COT); nitrógeno total (Nt); fósforo total (P); E2/E6 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 665 nm; E4/E6 relación entre los valores de absorbancia a 465 y 665 nm; E2/E4 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 465 nm.

En la actualidad existen criterios estandarizados utilizados por la Unión Europea (UE) (Decisión 2001/688/EC) en los cuales se estipulan los requisitos que deben reunir los residuos o materiales orgánicos utilizados como EO, con criterio precautorio en materia ambiental. En Argentina, la Resolución 264/2011 de SENASA es la que regula las propiedades de los fertilizantes, compost y enmiendas para su registro. Sin embargo, al hablar de EO, resulta más adecuado el empleo de criterios agronómicos (Ansorena *et al.*, 2015).

La CE es uno de los parámetros químicos más importantes como indicador de calidad de EO. Según Lasaridi (2006), el nivel considerado tolerable por plantas de sensibilidad media es de $2,5 \text{ dS m}^{-1}$. Según la normativa de SENASA, el valor crítico de CE como producto es 4 dS m^{-1} . Los residuos CGGan, CAPle, PAPle, PALen, EPLC mostraron valores entre $2,5$ y 4 dS m^{-1} (Tabla 1). Por fuera de los rangos de SENASA, quedaron CGPle, CALen, AI, CmEC y Bg, mientras que el resto de los materiales no tendrían limitaciones. Por su parte, los valores de pH fueron en su mayoría levemente ácidos, hallándose por debajo del rango de $6,0-8,5$ recomendado para el crecimiento de las plantas (Hogg *et al.*, 2002). Solo los residuos CG, EPLC y Bo estuvieron dentro del rango óptimo, mientras que los valores de PA y CmEC fueron levemente superiores ($\text{pH}=8,6$). Si tomamos la normativa del SENASA, que presenta como límite inferior 5, solo la CGGan quedaría por debajo del valor de referencia. En cuanto al nivel de MO, todos los residuos analizados quedan dentro de los parámetros recomendados por la UE (mayor a 25%). Se observaron contenidos elevados de COT (entre 177 g kg^{-1} y 756 g kg^{-1}), conforme el criterio utilizado por la UE, según el cual los residuos utilizados deberían tener valores mayores a $200 \text{ g COT kg}^{-1}$, todos presentaron valores superiores, salvo por el CmEC (177 g kg^{-1}) y EPLC (186 g kg^{-1}). Por su parte, el Nt presentó gran variabilidad, con valores situados dentro del rango de referencia ($10-20 \text{ g kg}^{-1}$) sugerido por Alexander (1994), salvo por la CG ($7,8 \text{ g kg}^{-1}$) que fue inferior al rango, y por encima del límite superior, Bg ($28,2 \text{ g kg}^{-1}$), Bo (25 g kg^{-1}), CGUr ($20,4 \text{ g kg}^{-1}$) y CGCm ($22,3 \text{ g kg}^{-1}$). La relación C:N, vinculada con la tasa de descomposición de los RO (Heal *et al.*, 1997) también presentó gran variabilidad, encontrándose valores entre 10 y 79 de acuerdo al

tipo de residuo y principalmente de transformación, donde los valores más altos corresponden a residuos sin modificar y los más bajos, a los compost.

Por otra parte, la relación E2/E4 evidencia la interacción entre la estructura hidrocarbonada de dobles enlaces conjugados y los grupos auxocromos (Iocoli *et al.*, 2017). Si se halla en el rango de 2,1 y 14,5, indica que hay una alta densidad de CO con alto grado de conjugación, y un menor contenido en oxígeno y N (Chen *et al.*, 2002). Los residuos que se encontraron dentro de ese rango fueron CG, CGUr, CA, PA, AL, EPLC y Bg, el resto todos por encima del límite superior. La relación E4/E6 indica la presencia de estructuras altamente conjugadas, capaces de absorción incluso en la región visible del espectro electromagnético (He *et al.*, 2009). Los valores más altos de esta relación podrían atribuirse a una disminución en la absorción dentro del rango de frecuencia entre 500 y 800 nm de longitud de onda. Esto se produce por la presencia de moléculas en las que no existe una conjugación extensa (Iocoli *et al.*, 2017). Valores menores en la relación E4/E6 infieren un aumento del tamaño molecular y una disminución en la proporción de ácidos carboxílicos (Heymann *et al.*, 2005). En los residuos estudiados, los menores valores se observaron en los que no han sido sometidos a un proceso de biotransformación que modifique sus estructuras moleculares, a moléculas de mayor peso molecular o a mayor presencia de moléculas aromáticas (Waldrip *et al.*, 2014; Tan, 2003), como son CG, CGUr, CA, Al, Bg, Bo. Por su parte, valores altos de la relación E2/E6 podrían indicar la presencia de una alta proporción de estructuras de lignina sin transformación y probablemente compuestos aromáticos del micelio de hongos, como ergosteroles, donde los mayores índices se encontraron en los residuos biotransformados por hongos, CAPle (818), CGPle (317), CGGan (463), PAPle (545), PAGan (255) y PALen (240); mientras que valores menores podrían indicar un mayor grado de sustitución de enlaces múltiples (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021).

La alta variabilidad entre los materiales (Tabla 1) hace necesario determinar la forma más eficiente de realizar una caracterización del material a utilizar previo a su aplicación, de manera de poder estimar el comportamiento del mismo en el suelo y su efecto sobre el cultivo. El análisis de conglomerados mediante las propiedades evaluadas permitió identificar cuatro grupos de residuos (Figura

1). El grupo A, o no transformados, conformado por CG y AI, dos materiales que no han tenido un proceso de biotransformación, donde se destaca en ambos la elevada relación C:N (>68). El grupo B o semitransformados, conformado por cuatro materiales que han sido sometidos a procesos de transformación incompletos, tales como Bo y Bg, ambos con modificaciones producto del proceso industrializado del cual provienen, pero sin cambios en sus propiedades originales. El caso particular de CGUr, su caracterización espectrométrica permite inferir que no sucedieron transformaciones importantes en su composición molecular durante la ureólisis, siendo la modificación en la relación C:N netamente efecto del agregado de N del fertilizante de síntesis industrial (urea). Por su parte, la caracterización de la CGCm, habla de un proceso de compostaje que no fue completo, es decir, de un compost inmaduro. El grupo C o biotransformados por hongos, reúne la mayor cantidad de materiales (9) donde se encuentran todos los que tuvieron biotransformaciones mediadas por hongos, además de la PA y CA, ambos sin transformar, vinculadas a dicho grupo por sus relaciones C:N (35,3 y 36,2 respectivamente). Por último, el grupo D o maduros, donde se encuentran CmEC y EPLC que por sus características, principalmente su relación C:N, COT y los índices espectrométricos, se consideran maduros o estabilizados.

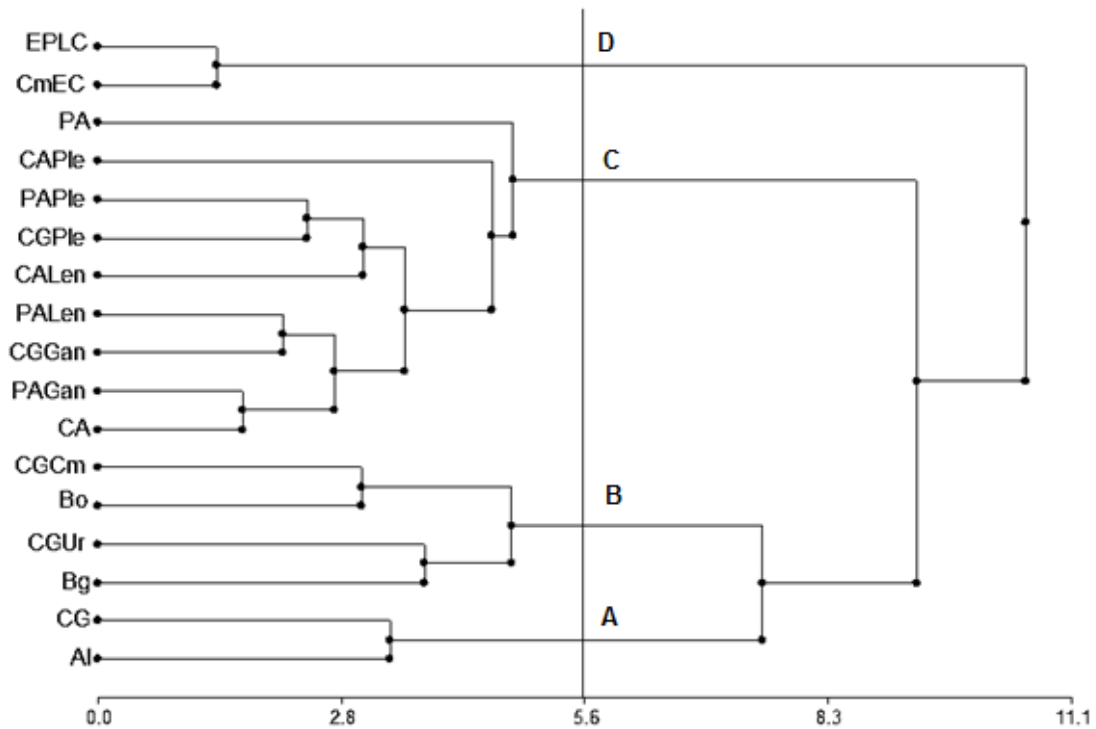


Figura 1. Dendrograma de similitud de los residuos según propiedades químicas y espectrométricas evaluadas mediante distancia de Ward. Cáscara girasol (CG); cáscara girasol compostada (CGCm); cáscara girasol con Pleurotus (CGPle); cáscara girasol con Ganoderma (CGGan); cáscara girasol ureolizada (CGUr); cascarilla arroz (CA); cascarilla arroz con Pleurotus (CAPle); cascarilla arroz con Lentinula (CALen); paja arroz (PA); paja arroz con Pleurotus (PA Ple); paja arroz con Ganoderma (PAGan); paja arroz con Lentinula (PALen); alperujo (Al); compost estiércol bovino con residuo de producción de cebolla (CmEC); lombricompost RSU (EPLC); bagazo (Bg); borra (Bo).

Para conocer en detalle qué propiedades tuvieron mayor relevancia en el agrupamiento, se realizó un ACP, donde se determinó que las variables más relevantes fueron COT, MO, C:N, Nt, E2/E6 y E2/E4 (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis componentes principales.

	CP1	CP2	CP3
Autovalores	3,46	2,80	1,63
Proporción de Varianza	0,35	0,28	0,16
Varianza acumulada	0,35	0,63	0,79
Variables	Autovectores		
CE (mS cm ⁻¹)	0,10	-0,17	0,32
MO (%)	0,46	0,01	0,30
COT (g kg ⁻¹)	0,49	0,03	0,17
Nt (g kg ⁻¹)	-0,12	-0,39	0,46
C:N	0,44	0,21	-0,21
pH	-0,30	-0,29	-0,30
E2/E6	-0,19	0,51	0,27
E4/E6	-0,36	0,40	-0,04
E2/E4	-0,15	0,41	0,44
P (g kg ⁻¹)	-0,24	-0,31	0,39

Conductividad eléctrica (CE); materia orgánica (MO); carbono orgánico total (COT); nitrógeno total (Nt); fósforo (P); E2/E6 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 665 nm; E4/E6 relación entre los valores de absorbancia a 465 y 665 nm; E2/E4 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 465 nm. Remarcadas se encuentran las propiedades más correlacionadas al CP construido.

Al analizar las variables químicas y espectrométricas, tal como se vio en el ACP, entre los grupos de residuos se observó que el COT fue la variable con mayor peso (Tabla 2) y la única que presentó diferencias significativas entre todos los grupos de residuos (valores medios por grupo A= 687; B= 534; C= 439 y D= 181 g kg⁻¹) (Figura 2a). En el caso de la MO, los grupos de los no transformados (grupo A, 953 g kg⁻¹) y semitransformados (grupo B, 911 g kg⁻¹), fueron los grupos que presentaron valores de MO significativamente superiores al resto de los grupos, sin diferencias entre ellos. Los materiales maduros (grupo D) presentaron valores significativamente inferiores al resto de los grupos (valor medio 294 g kg⁻¹), mientras que el grupo de los hongos (grupo C) presentó valores intermedios (valor medio 756 g kg⁻¹) (Figura 2b). La relación C:N presentó valores significativamente mayores en los residuos sin

transformar (grupo A C:N= 74), seguido por el grupo de los hongos (C:N= 36), mientras que los grupos de los semitransformados (C:N=23) y los maduros (C:N=11) presentaron valores significativamente menores sin diferencias entre ellos (Figura 2c). En cuanto al contenido de Nt, se observaron valores significativamente superiores en el grupo de los materiales semitransformados (24 g kg^{-1}). Luego, se encontraron los materiales maduros (17 g kg^{-1}), sin diferenciarse estadísticamente del grupo de los hongos (13 g kg^{-1}), mientras que los menores valores se encontraron en el grupo de los residuos sin transformar ($9,5 \text{ g kg}^{-1}$) (Figura 2d). En el caso de las variables espectrométricas, tal como se observa en el ACP (Tabla 2), aporta información útil como análisis complementario, colaborando al entendimiento en el grado de transformación y complejidad estructural de los materiales orgánicos (Waldrip *et al.*, 2014). Sin embargo, si bien pueden apreciarse diferencias visuales entre los valores, siendo el grupo de los hongos el que presenta los valores más altos en ambos índices, dado el alto coeficiente de variación, no fue posible encontrar diferencias significativas entre los grupos (Figura 2e y 2f).

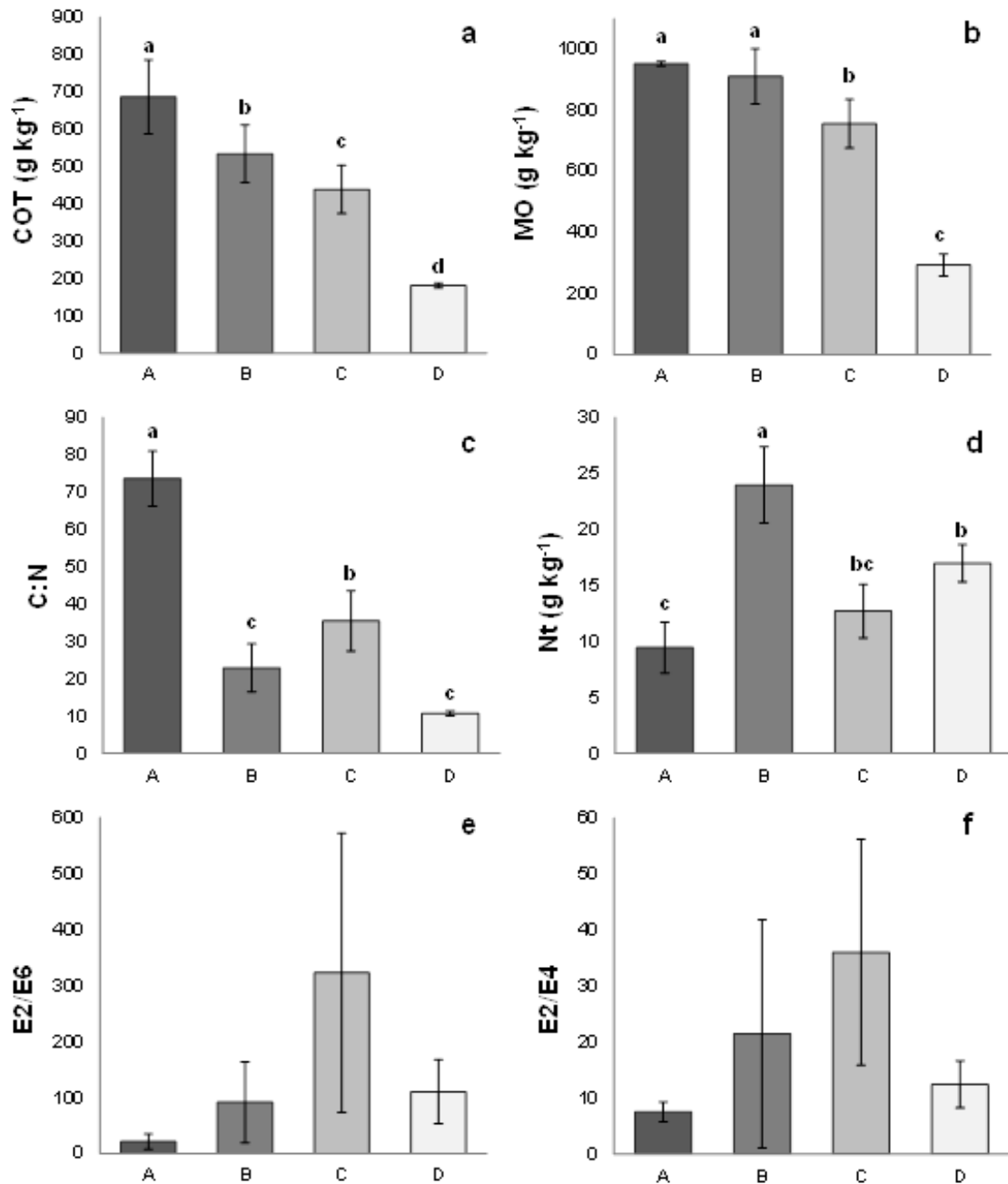


Figura 2. Comparación entre los grupos, de las propiedades más relevantes de los materiales. a) Carbono orgánico total (COT); b) materia orgánica (MO); c) relación C:N; d) nitrógeno total (Nt); e) relación entre los valores de absorbancia a 254 y 665 nm (E2/E6); f) relación entre los valores de absorbancia a 254 y 465 nm (E2/E4). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Ver abreviaturas de las propiedades en Tabla 2.

El análisis combinado de propiedades químicas y espectrométricas podría colaborar a un mejor entendimiento del nivel de complejidad estructural de los materiales, otorgando información relevante al momento de definir sus aptitudes de uso como EO (Barbazán *et al.*, 2011). En ese sentido, se procedió a comparar tres de estos residuos, mediante la técnica FT-IR. Para la selección, se consideró que sean de grupos diferentes del dendograma obtenido, siendo AI (grupo A), CGPle (grupo C) y EPLC (grupo D).

Los espectros IR de los tres residuos muestran zonas de absorción similar (Tabla 3) pero con diferentes intensidades (Figura 3). Las bandas observadas alrededor de $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ podrían asignarse al grupo alifático C-H (Kapoor & Viraraghavan, 1997; Uddin *et al.*, 2009). En la longitud de onda 1733 cm^{-1} se observa un hombro que puede deberse al estiramiento del carbonilo del carboxilo. La intensidad de la banda a 1648 cm^{-1} (C=C; C=O) junto con la banda pequeña en 1515 cm^{-1} (lignina) nos permite inferir una alta proporción de compuestos aromáticos y también, que probablemente parte de la lignina se fragmentó en compuestos aromáticos de menor peso molecular. En el caso de la CGPle se observó un pico cercano a 1315 cm^{-1} , asociado con carbonatos, posiblemente debido a que cantidades importantes de sulfato de calcio (CaSO_4) y/o carbonato de calcio (CaCO_3) se incorporan con fines nutricionales, amortiguación de pH, floculación coloidal e inducción de frutos durante la preparación del sustrato para el cultivo de cualquier especie de hongo (Postemsky y López Castro, 2016). La gran intensidad de las bandas entre $1250\text{ y }1000\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C; C-O), junto con la banda entre $3600\text{ y }3100\text{ cm}^{-1}$ (OH), sugieren la presencia de polisacáridos, probablemente asociados al contenido de celulosa, hemicelulosa y cadenas alifáticas, derivadas de la degradación parcial de la lignina. En el espectro correspondiente al AI, la presencia e intensidad de la banda de 3006 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento del enlace C-H en compuestos no saturados (=CH-); la banda de $2930\text{ y }2857\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones simétricas y asimétricas del enlace C-H de metilo y metileno; la banda de 1745 cm^{-1} , correspondiente a la vibración asimétrica del doble enlace C=O del carbonilo grupo de ésteres; la banda de 1465 cm^{-1} , debido a la flexión del enlace C-H de los grupos metileno; la pequeña banda a 1412 cm^{-1} , asociado con el estiramiento C-H en ácidos

grasos insaturados; y la banda de 1238 cm^{-1} asociada con el alargamiento del enlace C-O, permiten inferir un alto contenido de ácidos grasos remanentes del proceso de extracción del aceite de oliva. Las bandas superpuestas entre 1650 y 1600 cm^{-1} (C=C), junto con el 1515 cm^{-1} banda cm^{-1} , asociada a la presencia de orto y para anillos aromáticos sustituidos, confirman la presencia de lignina (Niemeyer *et al.*, 1992; Zambrano *et al.*, 2011). La banda a 1745 cm^{-1} , junto con las bandas entre 1650 y 1600 cm^{-1} (C=O), las bandas en 1238 y 1165 cm^{-1} (C-OH), y la baja intensidad de la banda entre 3100 - 3600 cm^{-1} (OH), permiten inferir la presencia de compuestos fenólicos de alto peso molecular condensados (polifenoles y taninos). Esto es probablemente debido al hecho de que la mayoría de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular se extraen con el aceite (Servili & Montedoro, 2002). Además, los polifenoles se pueden asociar con la estructura de la lignina (Panettieri *et al.*, 2022).

En el espectro EPLC, la mayor intensidad relativa de la banda centrada en 1642 cm^{-1} , y las bandas de menor intensidad en 1550 y 1515 cm^{-1} , nos llevan a suponer una alta proporción de compuestos aromáticos condensados. Las bandas a 870 , 800 y 782 cm^{-1} pueden indicar sustituciones en los compuestos aromáticos. La banda entre 1250 y 900 cm^{-1} , con picos en 1088 y 1041 cm^{-1} , pueden corresponder a los C-O-C y C-O enlaces de polisacáridos, ésteres y compuestos hidroxilados, que pueden constituir cadenas alifáticas de compuestos aromáticos. En esta misma región, se observa estiramiento del enlace C-H en los aromáticos y superposición de bandas de los sustituyentes aromáticos que, aunque suelen ser de baja intensidad, se ven incrementadas por la presencia de grupos polares. Además, las bandas entre 3600 y 3100 cm^{-1} , la zona de 1600 cm^{-1} superpuesta por la banda a 1642 cm^{-1} , la banda a 1550 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace N-H, la banda en 1384 cm^{-1} (N-O), y la banda a 800 cm^{-1} (N-O y NH_2) indican una mayor proporción de compuestos de nitrógeno, que en AI y CGPIe. Estas observaciones podrían ser evidencia del proceso de transformación y humificación del EPLC (Moisés *et al.*, 2022c).

Tabla 3. Ubicación de las principales bandas y asignación a grupos funcionales.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Vibración	Grupo Funcional
		Grupos hidroxilo enlazados y no enlazados.
3100 - 3600	estiramiento O-H	Fenoles, alcoholes y ácidos carboxílicos
	estiramiento N-H	Amidas y aminas primarias y secundarias
		Estructuras de hidrocarburos alifáticos y grupos
2920, 2850	estiramiento C-H	sustitutos de alquilo
1740-1720	C=O	Aldehído, cetona, ácidos carboxílicos y ésteres
1640	C=O	Amida I, carboxilatos
	C=C	Esqueleto aromático
1600	N-H en plano	Aminas
1600-1590	C=C	Esqueleto aromático
1570-1540	N-H en plano	Amidas II
		Compuestos aromáticos y olefínicos de mayor
1515-1505		peso e hidrófobos; Lignina
1460	C-H en plano	Grupos alifáticos
1425	estiramiento COO ⁻	Ácidos carboxílicos
	estiramiento N-O	Nitratos y nitritos
1400-1384	NH ₄	Amonio libre
	C-H en plano	Metilos y metilenos
1270-1220	estiramiento C-O	Ácidos carboxílicos, esterres, fenoles y alcoholes
	estiramiento C-N	Amidas III
		Polisacáridos, fenoles, esterres y compuestos
1250-900	C-O-C; C-O	hidroxi
	C-O-P	Fosfodiesterasas
	C-H en plano	Aromáticos y alquenos
875	C-O fuera de plano	Carbonatos
	NH ₂ fuera de plano	Grupo amino primario
850-750	estiramiento N-O	Nitratos y nitritos
	C-H fuera de plano	Sistemas aromáticos sustituidos y condensados
750-700	N-H	Grupos amino secundarios

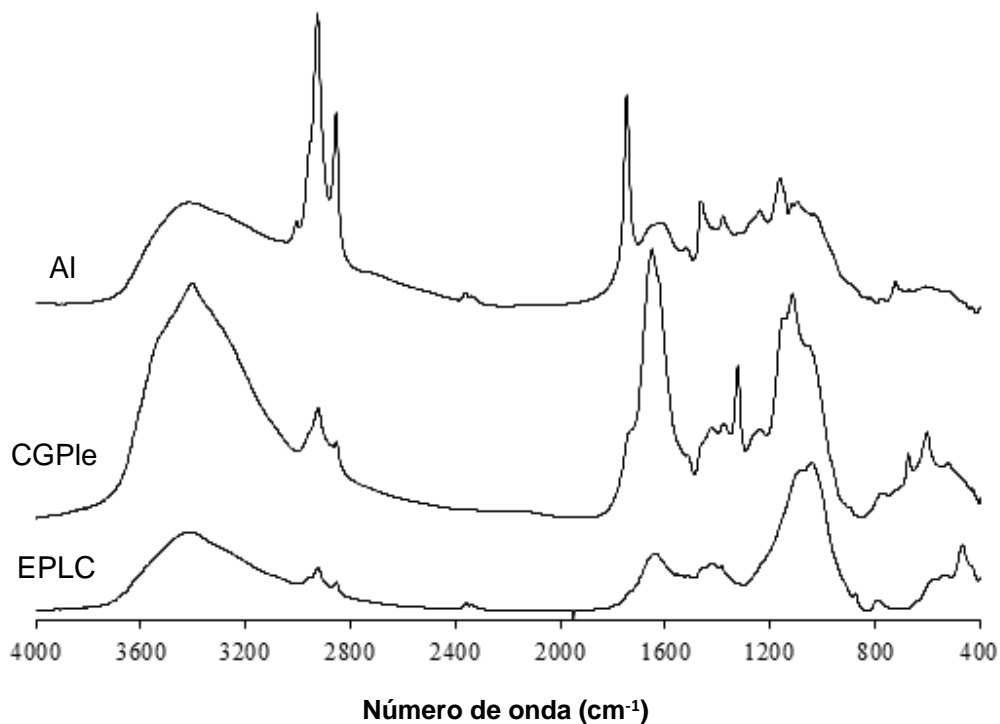


Figura 3. Espectros IR residuos sólidos CG Ple (cáscara de girasol biotransformada por hongo *P. ostreatus*), Al (alperujo sin biotransformar) y EPLC (lombricompost residuos sólidos urbanos).

CONCLUSIONES

Las normativas existentes otorgan un marco de referencia necesario para la gestión de los residuos agroindustriales. Sin embargo, es importante profundizar en el estudio de estos materiales, para lograr así su mejor aprovechamiento posible.

A partir del conocimiento de los materiales, el análisis de conglomerado permite agrupar por propiedades relevantes afines residuos de diferente origen, con diferentes tipos y grados de biotransformación.

Los residuos evaluados cumplen mayormente con los requisitos mínimos para su utilización como EO. En el caso de la relación C:N, solo Bg, CmEC y EPLC cumplen con lo recomendado. Por su parte, el Bg y el Al, no cumplen por su elevada CE y el CmEC por su elevado pH, CE y bajo COT.

Los espectros IR de AI, CGPle y EPLC evidenciaron las diferencias estructurales entre los residuos, asociadas principalmente a su origen y a la biotransformación sometida como tratamiento.

El análisis combinado de propiedades químicas y espectrométricas colabora a un mejor entendimiento del nivel de complejidad estructural de los materiales, otorgando información relevante al momento de definir sus aptitudes de uso como EO. La importancia de este mayor conocimiento radica en darle el mejor uso posible con el fin de mejorar la calidad del suelo considerando sus propiedades específicas.

Capítulo II

Dinámica de las fracciones orgánicas y disponibilidad de macronutrientes en el suelo con la aplicación de residuos orgánicos

INTRODUCCIÓN

La aplicación de materiales orgánicos influye directamente sobre la calidad del suelo y el desarrollo vegetal, tanto en forma directa por acción de los nutrientes contenidos (efecto fertilizante), como en forma indirecta (efecto enmienda) mejorando las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Abassi & Khizar, 2012). Además, puede generar cambios en el ciclo de la MO del suelo (Blagodatsky *et al.*, 2010), lo que está ligado a la productividad por influir en la disponibilidad de nutrientes para los cultivos (Galantini & Suñer, 2008). En general, la mayor parte del contenido de N y de nutrientes de los residuos se encuentra en forma orgánica (Thomas *et al.*, 2015), por lo cual debe mineralizarse a formas inorgánicas para poder ser utilizado por las plantas. La capacidad de mineralización de un material hace referencia a la potencialidad para descomponer compuestos orgánicos de C en CO₂, de transformar el N orgánico en NH₄⁺ y luego en convertirlo en NO₃⁻, o de transformar P orgánico en inorgánico (He & Zhang, 2014). Por lo tanto, cuando se desean aplicar RO como enmiendas, es importante conocer tanto la dinámica del C como así también la de los principales nutrientes (N y P), ya que pueden contribuir como gases de efecto invernadero y/o como potenciales contaminantes al suelo y cursos de agua si la aplicación no se ajusta a una correcta dinámica en el suelo. En este sentido, los ensayos de mineralización son una herramienta indispensable para entender los cambios en la disponibilidad de nutrientes asociados al uso enmiendas (Honeycutt *et al.*, 2005, Mubarak *et al.*, 2010). Además, como se evidenció en el Capítulo 1, las características químicas de las enmiendas varían en función del material inicial y del tipo y duración del proceso de biotransformación (Laos *et al.*, 2000; Campitelli & Ceppi, 2008) repercutiendo sobre los procesos de mineralización de los nutrientes cuando se aplican en el suelo (Zhang *et al.*, 2013). El carbono orgánico del suelo (COS) juega un papel clave en los procesos del suelo, ya que está estrechamente asociado con una amplia variedad de propiedades químicas, físicas y biológicas (Smith *et al.*, 1992). El CO se compone de varias fracciones, las cuales presentan diferente labilidad (Mandal *et al.*, 2007, Duval *et al.*, 2013) e incluyen una gran cantidad de compuestos orgánicos que pueden agruparse según su labilidad. La fracción lábil comprende principalmente el C de la

biomasa microbiana, mientras que la fracción intermedia incluye restos de plantas y animales en diversas etapas de descomposición y humificación. La fracción estable es un material complejo resistente a la descomposición, a menudo llamado humus, y está asociado con la arcilla en el suelo. Muchas de estas fracciones, principalmente las lábiles, han sido utilizadas en lugar del CO como indicadores sensibles de los cambios en la calidad del suelo (Bayer *et al.*, 2002; Eiza *et al.*, 2005; Duval *et al.*, 2020).

En las últimas décadas, varias técnicas se han refinado para separar las diferentes fracciones, tratando de identificar las fracciones lábiles y estables, y su ubicación en la estructura del suelo (Galantini & Suñer, 2008). El fraccionamiento físico por tamaño de partícula, permite la separación de fracciones orgánicas lábiles, que se caracterizan por ser un material fácilmente disponible para la descomposición microbiana (Duxbury *et al.*, 1989), de aquellas asociadas a la fracción mineral del suelo (estable) (Cambardella & Elliott, 1992). La fracción orgánica de mayor tamaño (>53 μm) está constituida principalmente por restos orgánicos que aún no han sido totalmente procesados por los microorganismos. Esta es la fracción que se denomina carbono orgánico particulado (COP), y es la que se ve más afectada ante cambios en el manejo de los suelos (Fabrizzini *et al.*, 2003; Ciarlo *et al.*, 2004; Romaniuk & Guifreé, 2008; Duval *et al.*, 2020). Para una mejor comprensión de los flujos de C, Galantini & Rosell (1997) han propuesto un fraccionamiento más intensivo, incorporando un tamiz de 105 μm . De esta manera el COP puede ser dividido en el COP grueso (COPg) (105 y 2000 μm) y el COP fino (COPf) (53 y 105 μm). El COPg representa la fracción más activa del COT (Duval *et al.*, 2014) y consiste en la biomasa microbiana y materiales orgánicos parcialmente humificados con una tasa de retorno de uno a cinco años (Anderson & Ingram, 1989). El COPf corresponde a la fracción más estable dentro del COP, con una vida media de 10 a 20 años (Galantini & Suñer, 2008). Numerosos investigadores han propuesto al COP como un indicador del estado o calidad del suelo y de su capacidad para proveer nutrientes (Murage *et al.*, 2007; Beltrán *et al.*, 2016).

Entender los patrones de liberación de N y la descomposición de los RO, permite optimizar la eficiencia en sistemas de producción agrícola (Zarabi &

Jalai, 2012). El buen manejo del N debe estar basado en las tasas de mineralización y en la correcta sincronización entre la aplicación y las necesidades del cultivo (Preusch *et al.*, 2002; Cardoso Prieto, 2016). Los procesos de mineralización-inmovilización del material orgánico agregado al suelo contribuyen fuertemente a la disponibilidad de N para el cultivo y su crecimiento (Abassi & Khizar, 2012). La inmovilización microbiana es una forma de retener nutrientes y disminuir pérdidas si las plantas no los requieren en ese momento (Satti, 2007) pero, si el cultivo los está demandando, puede resultar en un periodo de carencia (Cardoso Prieto, 2016). En ese sentido, es necesario mejorar la comprensión de los procesos involucrados en la transformación de N luego de la aplicación de RO, con el fin de lograr una mejor sincronía entre la liberación de N y la absorción por parte de las plantas. Además, la cantidad de N mineralizada a partir de materiales orgánicos es una variable importante a considerar al recomendar la dosis adecuada para satisfacer las necesidades de N para una producción óptima de cultivos sin riesgos para el ambiente (Abbasi *et al.*, 2007). La mayoría de las estimaciones de la contribución de N proveniente de la mineralización del suelo se basan en incubaciones aeróbicas de largo plazo (Stanford & Smith, 1972), que determinan la fracción de N del suelo que se puede convertir en formas minerales (N potencialmente mineralizable, N_0).

El criterio de dosificación de los abonos orgánicos comúnmente se realiza basado en las necesidades de N de los cultivos ya que se trata del principal nutriente limitante de la producción vegetal (Moore *et al.*, 2010). Sin embargo, esto puede resultar en desequilibrios de otros nutrientes como el P (Pierzynski, 1994), lo que constituye un riesgo de contaminación por pérdida de posibles excesos de P y puede generar la eutrofización de aguas superficiales y sub-superficiales (Sharpley *et al.*, 2003). Por su parte, la mineralización del pool orgánico de P, tiene un comportamiento similar a lo expuesto para el N orgánico, porque los procesos involucrados en su mineralización son similares a los que afectan al N (Hirzel *et al.*, 2010). Sin embargo, el P está también fuertemente influenciado por factores como la adsorción y la disolución, que pueden controlar la transferencia de P entre las reservas minerales y las formas solubles (Siddique & Robinson, 2003). Los fosfatos liberados por la

mineralización de P orgánico o por la disolución de minerales primarios y secundarios, interactúan rápidamente con la fase sólida y son retenidos tanto en coloides minerales como en la MO (Leconte, 2010). La absorción microbiana de P y su posterior liberación y redistribución afectan significativamente la disponibilidad de P a las plantas, especialmente después de la adición de EO (Oberson & Joner, 2005).

Por todo lo expuesto, es necesario conocer la dinámica de las fracciones orgánicas del suelo junto a la variación en la disponibilidad de los principales nutrientes en las condiciones locales y de diferentes RO utilizados como enmiendas, para establecer estrategias de manejo que maximicen el aprovechamiento y minimicen el impacto ambiental.

Hipótesis

La dinámica de las transformaciones de las fracciones orgánicas y la disponibilidad de N y P será dependiente de las características del residuo aplicado y del tipo de suelo.

Objetivo general

Evaluar la variación de las fracciones de C, mineralización de N y P de RO con diferente grado de biotransformación en suelos representativos del SOB.

Objetivos específicos

- i) Evaluar la degradabilidad de diferentes RO biotransformados asociado a diferentes suelos a partir del desprendimiento de C.
- ii) Evaluar el uso de propiedades químicas y espectrométricas para predecir la degradabilidad de diferentes RO biotransformados.
- iii) Evaluar el impacto del uso de RO sobre las fracciones orgánicas y disponibilidad de nutrientes (N y P) en diferentes suelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevaron a cabo dos ensayos de incubación, con el objetivo de: evaluar la dinámica del C de los RO aplicados al suelo, a través del desprendimiento de C

por la actividad biológica y los cambios en las fracciones orgánicas del suelo y evaluar la dinámica de la mineralización de N y disponibilidad de P.

Suelo y residuos utilizados

Para ambos ensayos se seleccionaron tres suelos representativos del SOB, donde predominan las texturas medias a gruesas (Schmidt y Amiotti, 2015; López *et al.*, 2016) (Tabla 4). En muestras compuestas de 0-20 cm de profundidad, secas al aire y tamizadas por 2 mm se determinaron las siguientes propiedades químicas: MO total a través del método de calcinación en mufla (Martínez *et al.*, 2017a), textura por el método de la pipeta (Gee & Bauder, 1986). Además, con el contenido de MO y la textura se determinó el índice de materia orgánica (IMO, MO/A+L). Según Quiroga *et al.*, (2006), en suelos de la región semiárida pampeana, se considera un umbral de 5 de IMO, donde valores inferiores pueden condicionar el rendimiento de los cultivos, la respuesta a la fertilización y la eficiencia de uso del agua. Los datos analíticos de los suelos se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Características de los suelos (0-20 cm) utilizados en las incubaciones.

Suelo	MO	Arcilla	Limo	Arena	Textura	IMO
g kg ⁻¹						
S1	26,1	170,7	320,2	509,1	Franco	5,30
S2	31,4	201,3	447,8	350,9	Franco	4,78
S3	13,2	66,1	107,2	826,7	Arenoso-franco	7,51

MO: materia orgánica; IMO: índice de materia orgánica.

De los RO presentados en el Capítulo 1, se seleccionaron los que tienen mayor predominancia para la zona del SOB, principalmente por su volumen de generación y potencialidad de impacto ambiental. En función de esto, para los ensayos se evaluó la cáscara de girasol (CG) sin modificar y bajo diferentes biotransformaciones, compostada (CGcm) y por el hongo *Pleurotus ostratus*, (CGPle), y para el caso del segundo ensayo, además se utilizó CG modificada por el hongo *Ganoderma lucidum* (CGGan); alperujo (Al) y compost de estiércol

bovino junto a restos de la producción de cebolla (CmEC). La caracterización de los RO utilizados se detalló en el Capítulo 1.

Ensayo I: Evaluación del desprendimiento de C de los residuos aplicados, a través de la respiración del suelo

El desprendimiento de C de los residuos se evaluó a través de la respiración del suelo por el método de absorción estática (Zibilske, 1994; Iocoli, 2018). El CO₂ producido por la actividad biológica del suelo es capturado en una solución de hidróxido de sodio formando Na₂CO₃. En cada tiempo, se precipitan los carbonatos incorporando BaCl₂ (precipitan como BaCO₃) y los OH⁻ no consumidos son titulados con HCl utilizando solución de fenolftaleína como indicador. Se utilizaron frascos de 750 mL y viales de plástico de 30 mL. Muestras de 100 g de suelo se distribuyeron en los frascos, se humedecieron hasta el 50% del porcentaje de saturación (PS) y se pre incubaron una semana en estufa a 25 °C. Teniendo en cuenta que el rendimiento objetivo del SOB es de 2800 a 3000 kg ha⁻¹ (Dillchneider *et al.*, 2019; Krüger *et al.*, 2021) se aplicaron los tratamientos a razón de 150 kg ha⁻¹ de N equivalente y se humedecieron con agua destilada hasta alcanzar una humedad del 60% del PS; se colocó un vial plástico por frasco con 30 mL de NaOH (0,5 N) y se incubaron en estufa a 25° C. En los días 1, 2, 3, 4, 7, 11, 14, 21, 28, 42, 54 y 60 se tomaron muestras y se determinó el CO₂ desprendido por titulación. Los tratamientos fueron CG, CGPle, CGGan, CGcm, Al y CmEC. Se agregaron además tres blancos sin suelo, y tres testigos por suelo, sin residuos.

Como se mencionó, la dosis de aplicación fue definida en función de su contenido de N total, por lo que los aportes de C son diferentes entre los RO. Se propuso entonces evaluar la relación entre el C-CO₂ respirado y el C aportado por los RO como una forma de estimar su degradabilidad (coeficiente de degradabilidad):

$$\text{Coeficiente de degradabilidad} = \frac{C \text{ Respirado}}{C \text{ Aportado}} \times 100$$

Ensayo II: Incubación aeróbica de largo plazo

Se realizó una incubación aeróbica de largo plazo siguiendo el protocolo de Honeycutt *et al.*, (2005). El procedimiento consistió en pesar 400 g de masa de suelo seco al aire, que fueron colocados en frascos de vidrio de 1 L. A su vez, a cada frasco se le agregó la dosis de RO equivalente a 0 (suelo sin aplicación), 100 (D1), 200 (D2) y 400 (D3) kg N ha⁻¹, con base en su composición de N orgánico (Tabla 1). Se utilizaron tres RO seleccionados en función de los mayores volúmenes producidos en la región y al impacto potencial que pueden generar sobre el ambiente si no son manejados adecuadamente: alperujo crudo (AI) y dos alternativas de cascara de girasol contrastantes en cuanto a su biotransformación (CG cruda y CG compostada). Inicialmente, se estimó la porosidad total (PT) de los suelos muestreados secos al aire con el objetivo de ajustar la humedad de los suelos en los frascos al 60% de la PT y luego incubar durante cinco ciclos de humedecimiento y secado a una temperatura de 25°C. Para ello, se realizó diariamente el pesaje de las muestras hasta el momento en que la humedad llegaba al 30% de la PT, estimada por diferencias de masa. Luego se rehidrataban las muestras distribuyendo el riego en forma homogénea hasta 60% calculado por masa de suelo, se dejaba estabilizar unas horas y luego se procedía a muestrear una alícuota para la determinación de N inorgánico (N-NO₃⁻ +N-NH₄⁺). Además, al final de la incubación, se tomaron alícuotas para determinar: Pe, P orgánico y P inorgánico; pH y fracciones orgánicas del suelo.

La duración aproximada de la incubación superó ampliamente la propuesta por Wang *et al.*, (2003), quienes concluyeron que ésta debía de ser de por lo menos de 24 semanas para obtener datos fiables en ensayos para evaluar el potencial de mineralización. En este estudio, el periodo de incubación aeróbica fue de 259 días (37 semanas).

Variación de las fracciones orgánicas de C

De cada muestra, luego de 5 ciclos de humedecimiento y secado (259 días), se tomaron 50 g de suelo para determinar diferentes fracciones orgánicas lábiles del suelo a través del fraccionamiento físico por tamaño de partículas (Duval *et al.*, 2013). El tamizado se realizó mediante dos tamices de 53 µm y 105 µm

obteniéndose tres fracciones: fracción gruesa (FG, 105-2000 μm) en la que se encuentra MO particulada gruesa y las arenas medias y gruesas; fracción media (FM, 53-105 μm) constituida por MO particulada más transformada y las arenas muy finas, y la fracción fina (FF, < 53 μm) la cual contiene la MO asociada a la fracción mineral más limo y arcilla. Al final de la incubación, el C en el suelo entero (COT) y en las diferentes fracciones (FG y FM) fueron determinados por combustión seca (LECO, St. Joseph, MI):

$$\text{COPg (\%)} = (\%C \text{ fracción gruesa} * \% \text{fracción gruesa}) / 100,$$

$$\text{COPf (\%)} = (\%C \text{ fracción fina} * \% \text{fracción media}) / 100$$

Por último, por diferencia entre las tres determinaciones, se calculó el C orgánico asociado a la fracción mineral (COM).

Dinámica de la mineralización y disponibilidad del N

La determinación de N inorgánico ($\text{N-NO}_3^- + \text{N-NH}_4^+$) se realizó mediante destilación por arrastre de vapor (Mulvaney, 1996). Para el cálculo del N inorgánico acumulado no se tuvo en cuenta el valor de N inorgánico obtenido luego del rehidratado a los 10 días (Martinez, 2015).

Luego de finalizado el periodo de incubación se determinó el N potencialmente mineralizable (N_0) (mg kg^{-1}) y la tasa de mineralización (k) (semana^{-1}), utilizando regresiones no lineales por el método iterativo a través del modelo (Ecuación 1) propuesto por Stanford & Smith (1972):

$$N_{min} = N_0 (1 - e^{-kt}) \quad \text{[Ecuación 1]}$$

N_{min} es el N mineralizado acumulado en el tiempo t , N_0 es el N potencialmente mineralizable, k es la tasa constante de mineralización y t son ciclos de humedecimiento y secado.

Disponibilidad de fósforo y efecto sobre el pH

La determinación del pH y del P, se realizó para la dosis más alta de residuos aplicada (400 kg N ha^{-1}) al final de la incubación (261 días). Sobre las muestras secas al aire y tamizada por 2 mm se determinó el pH por el método

potenciométrico (relación suelo agua 1:2,5) y diferentes formas de P: extraíble (Pe) (Bray & Kurtz, 1954), orgánico (Po) e inorgánico (Pi) (Saunders & Willians, 1955).

Análisis estadístico

i) Ensayo I:

Para comparar las tasas de desprendimiento de C, se realizó el análisis de la varianza (ANAVA) en cada fecha de muestreo por separado, para comparar las tasas de desprendimiento de C en diferentes momentos y el C total emitido de los diferentes RO en los tres suelos. La comparación de medias se realizó por el test de diferencias mínimas significativas de Fisher ($p < 0,05$). Se realizaron correlaciones de Pearson para evaluar la relación entre el desprendimiento de C y las propiedades químicas y espectrométricas de los RO y las propiedades de los suelos. Además, se realizaron regresiones lineales simples para evaluar la asociación entre el coeficiente de degradabilidad y desprendimiento de C y diferentes características de los RO y suelos. Con estas mismas propiedades y con el objetivo de explicar la degradabilidad de los RO mediante la integración de diversas variables, se realizó un análisis de regresión múltiple mediante el modelo Stepwise con p de entrada y salida de 0,05. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el software estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

ii) Ensayo II:

La variación de las fracciones orgánicas se evaluó mediante ANAVA doble comparando el efecto del residuo y la dosis como factores fijos sobre las fracciones orgánicas. Se realizaron correlaciones simples para evaluar el efecto de la calidad y cantidad de los diferentes residuos sobre las fracciones orgánicas analizadas. Para evaluar la mineralización de N, se utilizó el modelo de Stanford & Smith mencionado y se realizó el ANAVA comparando el N_0 y k para los suelos contrastantes. Luego, se realizó el ANAVA doble comparando el efecto de los suelos (factor principal) y aportes de RO (factor secundario) sobre el N_0 y k . Para evaluar la disponibilidad de P, se realizó el ANAVA comparando disponibilidad de las diferentes formas de P según los residuos aplicados, para cada suelo. Se realizó una correlación simple entre las formas

de Pe y Pi. La comparación de medias de todos los ANAVA se realizaron por el método de diferencias mínimas significativas de Fisher ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo I: Evaluación del desprendimiento de C a través de la respiración del suelo

La respiración basal de los suelos evaluados mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el suelo arenoso (S3) y los de textura más fina (S1 y S2), con menor valor en S3. Los microorganismos viven principalmente sobre la superficie de las partículas del suelo, fundamentalmente arcilla y del humus, por lo que suelos de texturas finas (arcillosos) soportan mayor cantidad de biomasa microbiana (Lacasta *et al.*, 2006).

El desprendimiento de C de los RO al final de la incubación presentó interacción significativa ($p = 0,03$) entre el tipo de suelo y el residuo evaluado, lo que coincide con Helgason *et al.*, (2005), que encontraron una interacción significativa en la mineralización del C entre los compost utilizados y el tipo de suelo y señalaron que la textura del suelo y el grado de estabilidad del compost afectaron la mineralización del C. En la Figura 4, se puede observar que la mayor acumulación de C-CO₂ de cada residuo, respecto a su propio contenido inicial de C, se da en residuos con menor grado de transformación. Antil *et al.* (2011) consideraron los RO como materiales heterogéneos formados por dos o tres componentes descomponiéndose a diferentes velocidades: un grupo soluble, que se descompone muy rápidamente, y uno o dos grupos insolubles que lo hace lentamente, asociados a la celulosa y la lignina. En el caso de los RO compostados (CGCm y CmEC), se observaron las menores acumulaciones de C-CO₂, mostrando una mayor estabilidad, dado que el grupo más rápidamente degradable, fue mineralizado durante el mismo proceso de compostaje.

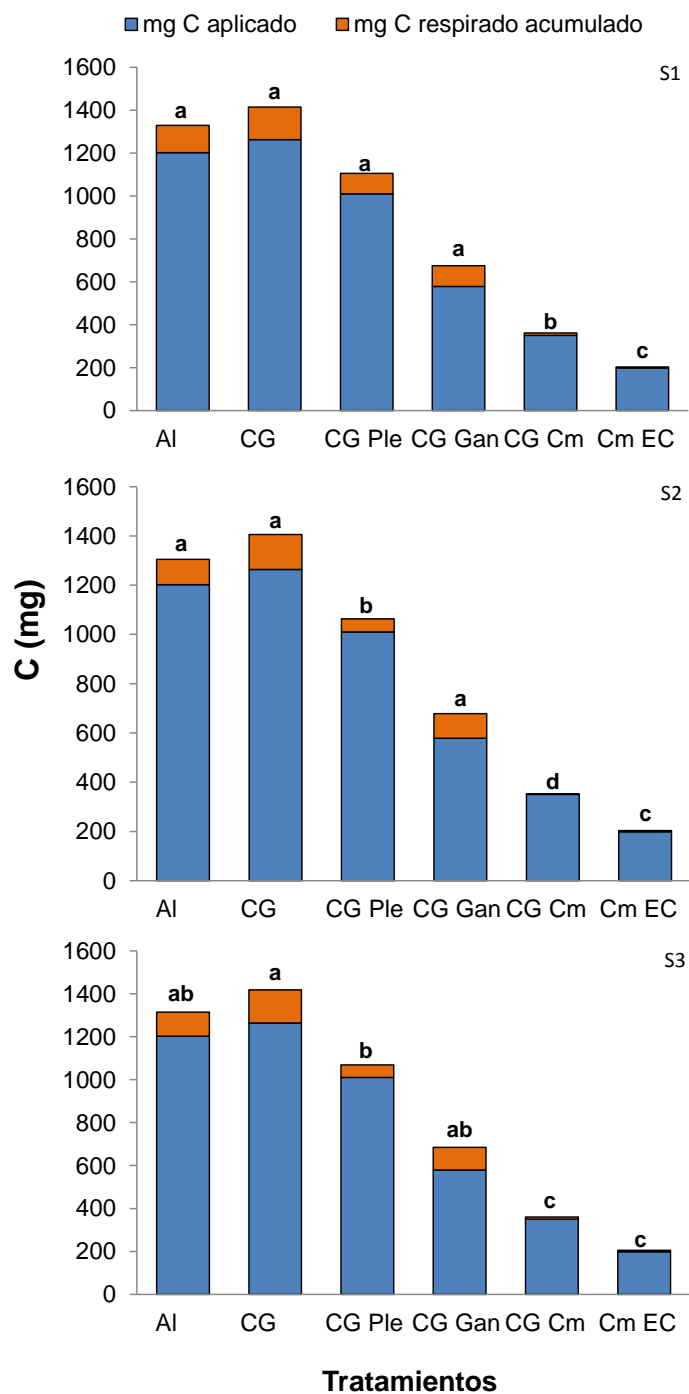


Figura 4. Desprendimiento de C acumulado, en relación al aporte de C de cada residuo, para el suelo 1 (S1), suelo 2 (S2) y suelo 3 (S3). Alperujo (AI), Cáscara de girasol sin modificar (CG), cáscara de girasol biotransformada con hongo *P. ostreatus* (CGPle), con hongo *G. lucidum* (CGGan) y compostada junto a estiércol ovino (CGCm), y compost de estiércol bovino y residuos de la producción de cebolla (CmEC). Para cada suelo, letras diferentes indican diferencias significativas entre el C-CO₂ acumulado de cada tratamiento (barra naranja) (p < 0,05).

El coeficiente de degradabilidad fue independiente del suelo considerado. En la Figura 5 se detalla el valor promedio de cada residuo para todos los suelos, debido a la interacción no significativa ($p=0,37$). El CGGan fue el que presentó el mayor desprendimiento de C diferenciándose significativamente del resto de los RO. Esta mayor degradabilidad estaría asociada a una mayor proporción de compuestos orgánicos lábiles y una relación C:N cercana al valor de 35, que favorece la actividad de microorganismos (Tabla 1).

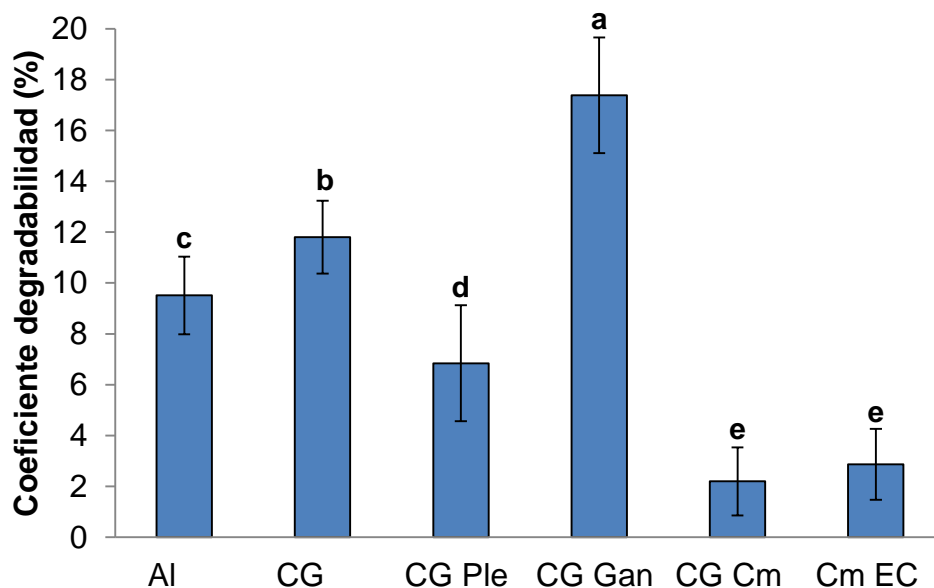


Figura 5 Coeficiente de degradabilidad (%) de cada residuo. Alperujo (Al), Cáscara de girasol sin modificar (CG), cáscara de girasol biotransformada con hongo *P. ostreatus* (CGPle), con hongo *G. lucidum* (CGGan) y compostada junto a estiércol ovino (CGCm), y compost de estiércol bovino y residuos de la producción de cebolla (CmEC). Letras diferentes indican diferencias significativas entre residuos ($p < 0,05$). Barras verticales indican desvío estándar.

Al evaluar la tasa diaria de desprendimiento de C de los RO en los diferentes suelos, se observó interacción significativa entre suelo y residuo ($p < 0,05$). Sin embargo, en la Figura 6 se puede observar que el comportamiento de los residuos mantiene una tendencia similar en todos los suelos. Además, se observó que la máxima tasa de desprendimiento de C para todos los suelos ocurre durante los primeros días de la incubación, encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos hasta el día 11 (Figura 7). A partir del día

12, los valores de desprendimiento de C se estabilizaron y no presentaron diferencias significativas hasta que finalizó la incubación. Esto coincide con los resultados presentados por Guerrero-Ortiz *et al.*, (2012), quienes identificaron la mayor tasa de desprendimiento de C en los primeros 10 días luego de la incorporación de abonos orgánicos. Esto podría estar relacionado a la degradación inmediata de las fracciones orgánicas lábiles de los materiales, con la consecuente producción de energía para el crecimiento de los microorganismos (Rivero & Hernández, 2001). A medida que transcurre la incubación, los sistemas comienzan a entrar en la etapa de estabilidad donde el material de fácil degradación comienza a agotarse y, por lo tanto, el número de microorganismos disminuye al igual que el desprendimiento de CO₂ (Guerrero-Ortiz *et al.*, 2012).

El pico que se observa al comienzo de la incubación, entre los días 1 y 4, podría responder al reservorio de C más lábil, cuya tasa depende principalmente de la concentración del residuo, y de la biomasa microbiana del suelo que está en un estado de metabolismo basal, para rápidamente responder a sustratos lábiles (De Nobili *et al.*, 2001). De esta forma se observan dos fracciones de C orgánico con distinto grado de estabilidad para la evolución del C-CO₂ en los materiales orgánicos utilizados, una primera de transformación biológica más rápida de C orgánico lábil, seguida por una segunda fase más lenta de C orgánico más resistente (Antil *et al.*, 2011; Orden, 2018).

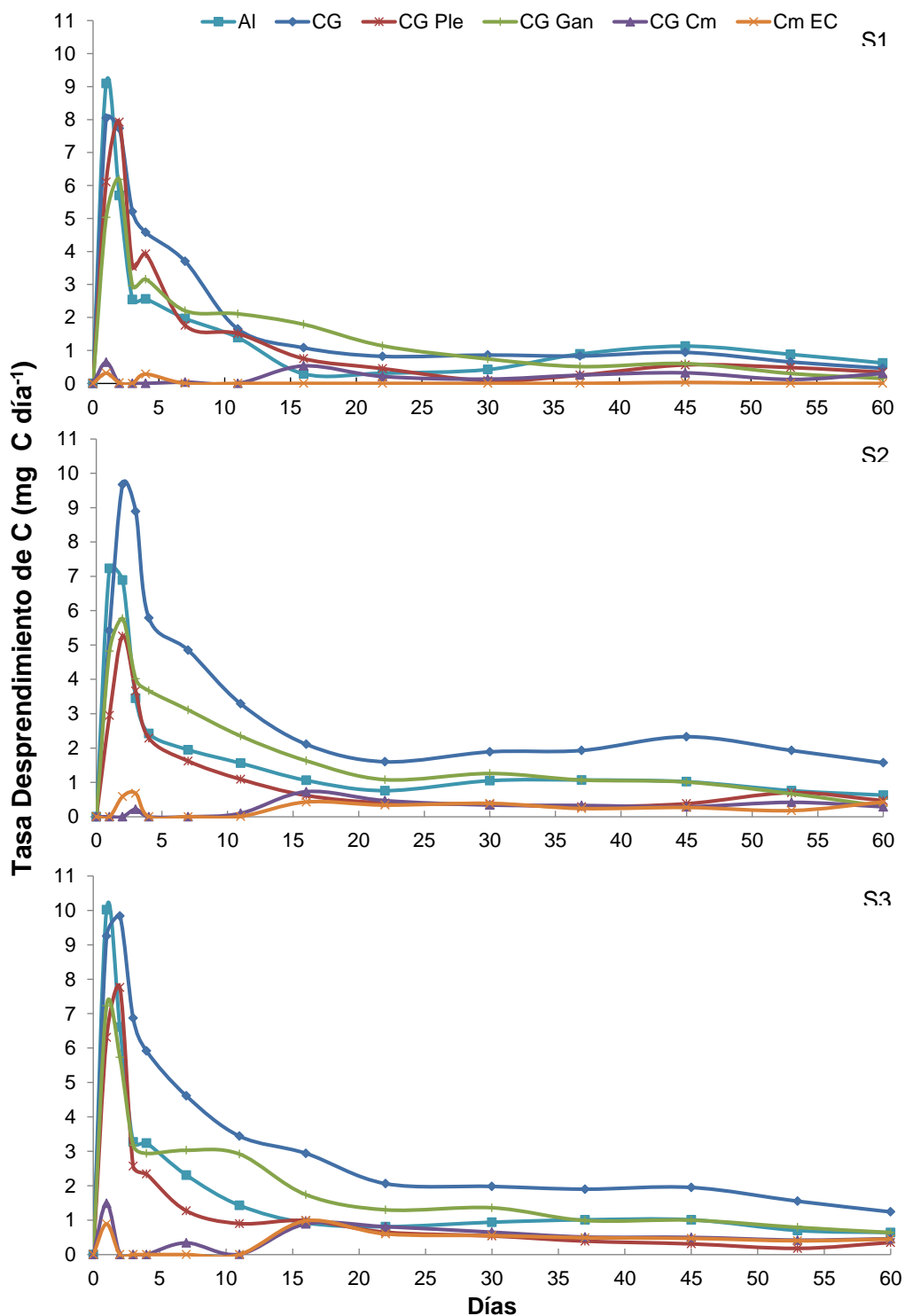


Figura 6. Tasa de desprendimiento de C de los RO por día de incubación en 60 días, para el suelo 1 (S1), suelo 2 (S2) y suelo 3 (S3). Alperujo (AI), cáscara de girasol sin modificar (CG), cáscara de girasol biotransformada con hongo *P. ostreatus* (CGPle), con hongo *G. lucidum* (CGGan) y compostada junto a estiércol ovino (CGCm) y compost de estiércol bovino y residuos de la producción de cebolla (CmEC).

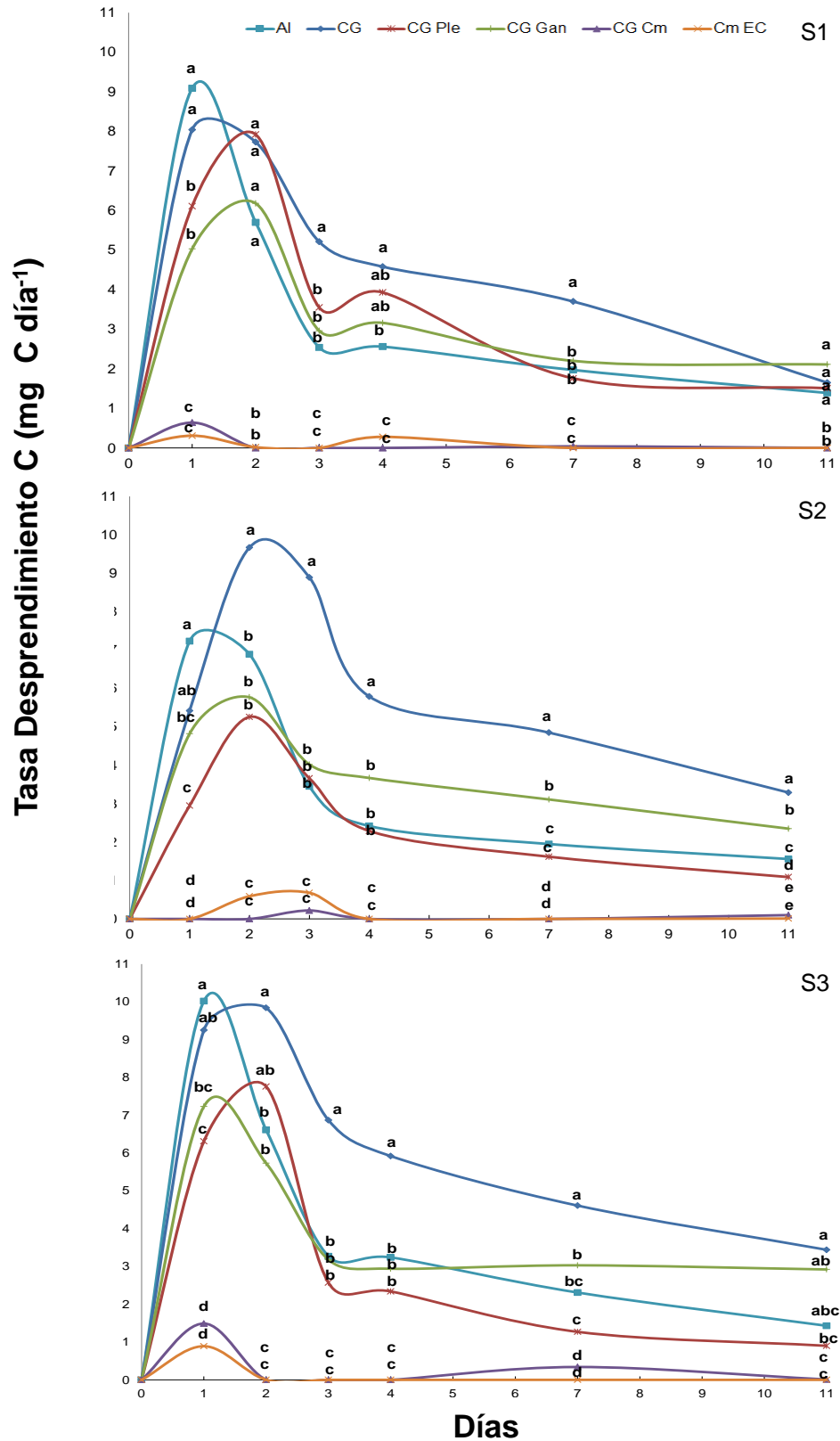


Figura 7. Tasa de desprendimiento de C de los residuos por día de incubación, para el suelo 1 (S1), suelo 2 (S2) y suelo 3 (S3) en los primeros 11 días. Ver abreviaturas en Figura 6. Letras diferentes indican diferencias significativas entre residuos en cada fecha para cada suelo ($p < 0,05$).

El pico de desprendimiento de C del día 1 observado en todos los suelos, podría explicarse por la relación C:N de los RO ($p < 0,05$), con valores de R^2 para S1=0,88, para S2= 0,64 y S3= 0,80 (Figura 8).

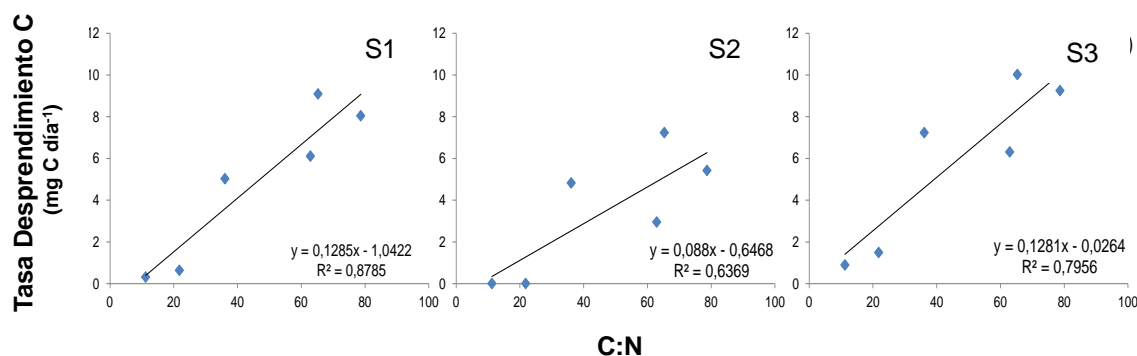


Figura 8. Tasa de desprendimiento de C (mg C día^{-1}) en función de la relación C:N de los residuos, para el día 1, para a) suelo 1 (S1); b) suelo 2 (S2); c) suelo 3 (S3).

Según Antil *et al.*, (2011) la diferencia en la tasa de liberación de C-CO₂ responde a la diferencia en la estabilidad de los RO incubados. De igual forma que lo observado para el C acumulado a los 60 días de incubación, las diferencias observadas en las tasas de desprendimiento de C, se explican por el grado de transformación o estabilidad de los RO, asociado a su relación C:N (). Ayuso *et al.*, (1996), también indicaron que mientras más estable es la MO, la emisión de CO₂ y la actividad microbiana son menores ya que existe menos material de fácil descomposición disminuyendo la degradación por parte de los microorganismos.

Se evaluó si es posible predecir la degradabilidad de los RO a partir de las propiedades detalladas en el Capítulo 1, para lo que se realizó un análisis de correlación entre las diferentes variables edáficas y las propiedades de los RO y el desprendimiento de C (% respirado) (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de correlación entre las diferentes variables evaluadas y la actividad de los microorganismos.

Variable	r (Pearson)	p-valor
pH residuo	-0,84	<0,0001
Arcilla	-0,05	0,8345
Limo	-0,07	0,7839
Arena	0,06	0,798
MOS	0,07	0,7828
IMO	0,09	0,7159
Pe	0,11	0,6689
CE	-0,23	0,3503
COT	0,28	0,254
Nt	-0,62	0,0061
P	-0,8	0,0001
E2/E6	0,4	0,0968
E4/E6	-2,20E-03	0,9931
E2/E4	0,34	0,1668
MO	0,4	0,0988
C:N	0,46	0,0571

En negrita se indican las correlaciones significativas ($p < 0,05$). r: coeficiente de correlación de Pearson. ***, ** y * indican asociaciones significativas al 0,001; 0,01 y 0,05, respectivamente.

La relación altamente significativa entre pH del RO y la degradabilidad del mismo, probablemente se asocie a que aquellos RO con menor degradabilidad presentaban los mayores valores de pH y P (residuos compostados, más estables).

Dada la estrecha relación entre C:N y desprendimiento de C para el día 1 de incubación (Figura 7) y con la degradabilidad de los RO (Tabla 5), se procedió al análisis de regresión lineal simple entre C:N y coeficiente de degradabilidad (Figura 9). La relación C:N explicó gran parte del C del % del residuo que se desprendió por la acción de microorganismos ($R^2 = 0,87$, $p < 0,05$). Sin embargo, hay casos donde la biotransformación de los RO provoca cambios que favorecen a un mayor desprendimiento de C del RO como el caso del CGGan (Figura 5). En estos casos, la biotransformación no solo modifica las propiedades del RO (e.g. relación C:N), sino que además, podría aumentar su degradabilidad (Figura 9).

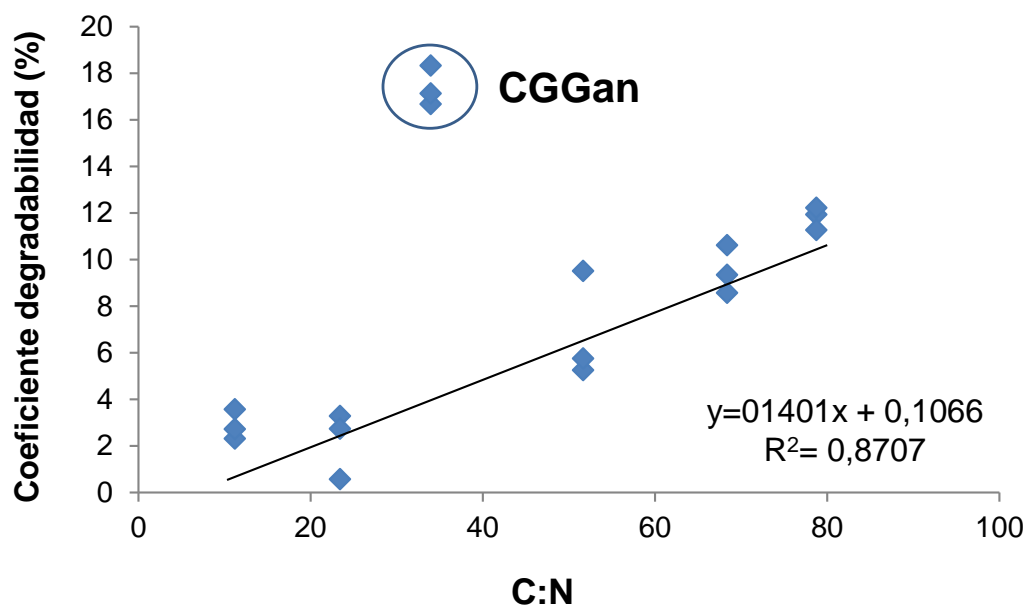


Figura 9. Análisis de regresión lineal entre la relación C:N del residuo y el coeficiente de degradabilidad. CGGan: cáscara de girasol biotransformada por el hongo *Ganoderma lucidum*.

Como se mencionó anteriormente, esta mayor degradabilidad del CGGan podría deberse a la presencia de compuestos fácilmente degradables producto de la biotransformación y a una relación C:N favorable para los microorganismos del suelo, como se observa en la Figura 9, donde este residuo se comporta de manera diferente.

Finalmente, considerando que siendo la CGGan el RO de mayor degradabilidad y que muestra un comportamiento diferente en base a la relación C:N, se procedió a la evaluación de que parámetros del suelo y del RO podrían permitir explicar la degradabilidad de los RO mediante la integración de diversas variables por el análisis de regresión múltiple con todas las propiedades de la Tabla 5. En los RO evaluados en este estudio, la degradabilidad estaría explicada en un 96% ($R^2_{\text{ajus}} = 0,96$) por el pH del RO y las variables espectrométricas E2/E4 y E4/E6 (Ecuación 2):

$$\text{Degradabilidad} = 47,3 - 6,9(\text{pH residuo}) - 0,74(\text{E2/E4}) + 2,72(\text{E4/E6}) \quad [\text{Ecuación 2}]$$

A partir del modelo generado, se puede ver que los parámetros seleccionados que explicaron la variación en la degradabilidad de los RO estarían más asociados con la estabilidad y el grado de modificación de sus moléculas. Como se mencionó anteriormente, se observó que valores más altos de pH se relacionan a residuos compostados y a su vez, que las relaciones de absorbancia permiten inferir el grado de modificación y el tamaño molecular, siendo la CGGan el residuo que mayores índices presentó para E2/E4 y E4/E6, dentro de los estudiados en este ensayo.

Ensayo II: Incubación aeróbica de largo plazo

Variación de las fracciones orgánicas de C

En la Tabla 6 se presenta la variación porcentual de las diferentes fracciones orgánicas analizadas al final de la incubación (259 días), respecto al comienzo (100%), para los suelos sin aplicación de RO (testigos). Para el COT se observaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre los suelos, 1 y 2, con pérdidas de 11,7% y 14,9% en relación al S3, el cual presentó las mayores pérdidas (35%). Las disminuciones de COT estarían asociadas principalmente a las pérdidas ocurridas en la fracción COM, donde nuevamente los suelos 1 y 2 se diferenciaron del S3, con pérdidas del 13,7%, 20,7% y 40,2% respectivamente. Estas diferencias, responden principalmente a las características edáficas de los suelos asociadas a la protección física de dichas fracciones orgánicas (Six *et al.*, 2002). Para las fracciones COPg y COPf no se encontraron diferencias significativas entre suelos, dichas fracciones presentaron valores similares a los medidos al comienzo del periodo de incubación, según Bayer *et al.*, (2004), estas fracciones presentan mayor sensibilidad ante cambios de manejo.

Tabla 6. Variación relativa de las fracciones orgánicas luego del periodo de incubación.

Suelos		COT	COPg	COPf	COM
		%			
S1	Media	88,3 a	117,7	108,9	86,3 a
	DE	7,04	10,4	11,9	12,4
S2	Media	85,07 a	133,5	130,0	79,3 a
	DE	2,34	24,2	22,5	4,14
S3	Media	65,0 b	102,8	96,4	59,8 b
	DE	1,96	16,9	40,4	0,79

COT: Carbono orgánico total; COPg: Carbono orgánico particulado grueso (105-2000 μm); COPf: Carbono orgánico particulado fino (53-105 μm); COM: Carbono orgánico asociado a la fracción mineral. Para cada fracción orgánica, letras diferentes indican diferencias significativas entre suelos ($p < 0,05$).

Al evaluar los efectos del agregado de los RO en los diferentes suelos, se encontró interacción significativa ($p < 0,01$), por lo que se procedió a evaluar el efecto de aplicación de RO en cada suelo individualmente. En los tres suelos, las fracciones más lábiles (COPg y COPf) evidenciaron efectos significativos asociados a la cantidad de residuo aplicado (dosis), mientras que el efecto residuo, asociado a su calidad, presentó efectos significativos solamente en S1 (COPg y COPf) y S2 (COPf) (Tabla 7). En S3, no se observaron efectos significativos del tipo de residuo aplicado en ninguna de las fracciones analizadas, contrario a lo que sucede con la dosis aplicada.

Tabla 7. Análisis de la varianza doble de las fracciones orgánicas considerando al residuo y dosis como factores fijos al final de la incubación (259 días).

Suelo	Factor	COT	COPg	COPf	COM
Suelo 1	Residuo (R)	<i>ns</i>	**	**	*
	Dosis (D)	***	***	***	*
	RxD	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Suelo 2	Residuo (R)	***	<i>ns</i>	**	<i>ns</i>
	Dosis (D)	***	***	*	<i>ns</i>
	RxD	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Suelo 3	Residuo (R)	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	Dosis (D)	***	***	**	***
	RxD	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

COT: Carbono orgánico total; COPg: Carbono orgánico particulado grueso (105-2000 μm); COPf: Carbono orgánico particulado fino (53-105 μm); COM carbono orgánico asociado a la fracción mineral; ***, **, * y *ns* indican efectos significativos al 0,001; 0,01; 0,05; no significativo, respectivamente.

Luego de los 259 días de incubación, los RO aumentaron los niveles de COT y sus respectivas fracciones (Figura 10). Los mayores niveles de COT se observaron cuando los suelos fueron tratados con la dosis más alta (D3), a su vez, el efecto fue más evidente en el suelo más arenoso (S3), donde para los tres residuos, todas las dosis evidenciaron diferencias significativas ($p < 0,001$) respecto al testigo. Para D3, los residuos CG, CGcm y Al aumentaron los niveles de COT en un 64,6 %, 61,6%, y 53,1%, respectivamente. Al igual que para el COT, los niveles de COPg aumentaron significativamente ($p < 0,05$) en todos los suelos con la dosis más alta para todos los RO. Mientras que, D1 y D2 no evidenciaron un aumento sobre el COPg. Ghosh *et al.* (2010) atribuyeron el aumento inconsistente de las fracciones de CO lábil a bajas dosis de EO. Para la dosis más alta, los aumentos en el COPg fueron del 69,4%, 48,9 y 70,0% para CG, CGcm y Al, respectivamente.

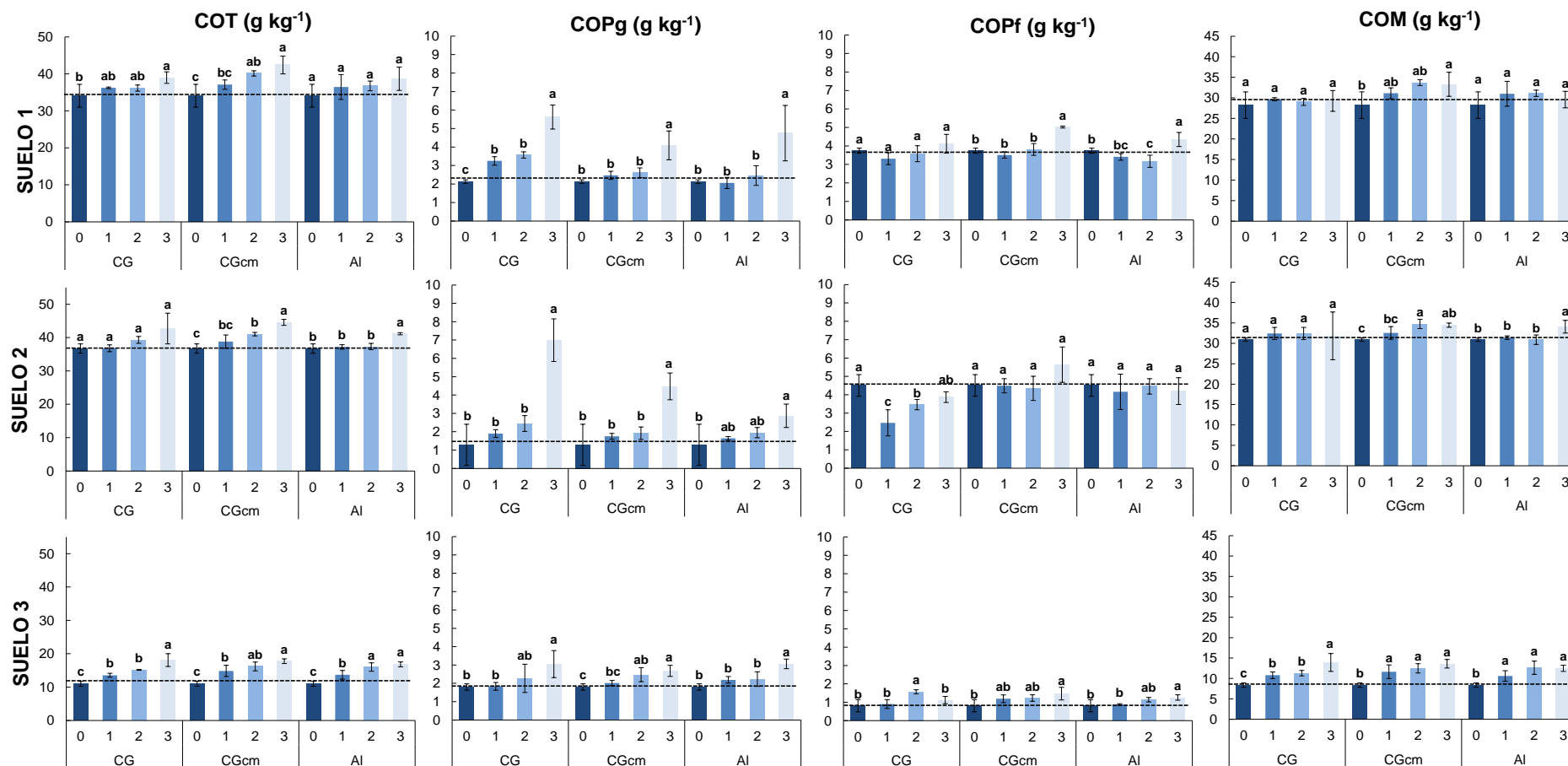


Figura 10. Efecto de los residuos sobre el COT y sus fracciones en suelos 1, 2 y 3 (S1; S2; S3) en: i) carbono orgánico total (COT), ii) carbono orgánico particulado grueso (COPg), carbono orgánico particulado fino (COPf) y carbono orgánico mineral (COM). D0, D1, D2, D3: 0, 100, 200 y 400 kg N ha⁻¹. Línea punteada indica los valores al inicio de la incubación. Para cada residuo, letras diferentes indican diferencias significativas entre dosis. Barras verticales indican el desvío estándar.

El COP es un indicador del componente lábil de la MO, donde aumentos de dicha fracción mejora la calidad general del suelo (Herrick & Wander 1997; Duval *et al.*, 2020).

En el caso del COPf, los suelos tratados con la dosis más alta de CGcm y Al aumentaron significativamente dicha fracción en S1 y S3 (Figura 10). En CGcm se registraron aumentos entre 34,2% y 81,5%, mientras que, en Al, los aumentos fueron entre 16,3% y 55,6%, en S1 y S3, respectivamente. En S2, el único residuo donde se observaron diferencias significativas fue para CG, con valores menores al testigo para las dosis más bajas (D1 y D2). Por último, en general, el COM presentó cambios similares al COPf donde los suelos tratados con CGcm y Al aumentaron significativamente el COM con la dosis mayor, mientras que la CG solo lo hizo en el S3 (Figura 10).

Para evaluar el efecto de la aplicación de los RO sobre las diferentes fracciones orgánicas al final de la incubación, se analizó su correlación con el aporte de C y la relación C:N de los RO (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de correlación entre las fracciones orgánicas y aporte de C y relación C:N de los residuos.

Suelos	Fracciones	Aporte C		C:N residuo	
		R ²	p-valor	R ²	p-valor
S1	COT	0,32	0,0022	0,24	0,009
	COPg	0,50	<0,001		0,1734
	COPf	0,59	<0,001		0,0838
	COM		0,8442	0,38	<0,001
S2	COT	0,20	0,0189		0,1026
	COPg	0,21	0,0151		0,5703
	COPf		0,6342	0,34	0,0015
	COM		0,4914		0,2209
S3	COT	0,57	<0,001		0,3714
	COPg	0,49	<0,001		0,8814
	COPf		0,0584		0,2368
	COM	0,34	0,0015		0,3654

Suelos 1, 2 y 3 (S1; S2; S3); carbono orgánico total (COT), carbono orgánico particulado grueso (COPg), carbono orgánico particulado fino (COPf) y carbono orgánico mineral (COM).

Para todos los suelos evaluados, se observó una correlación significativa ($p < 0,05$) entre el COT y el aporte de C por la aplicación de los RO, con mayor porcentaje de explicación para el suelo con mayor contenido de arena (S3: $R^2 = 0,57$), que en los suelos de textura más fina $R^2 = 0,32$ (S1) y $R^2 = 0,20$ (S2). El aumento relativo en los contenidos de COT depende de la entrada de C mediada por el cultivo, el aporte exógeno de MO y el contenido inicial de C orgánico del suelo (Manna *et al.*, 2005; Nieder & Benbi 2008; Malhi *et al.*, 2011). Los RO y los residuos de cultivos proporcionan una fuente de MO y, cuando se devuelven al suelo, aumentan el C orgánico en el suelo (Banger *et al.*, 2010; Benbi & Senapati, 2010). El COPg también presentó una correlación significativa ($p < 0,05$) para todos los suelos evaluados. El COP, tal como se mide en este ensayo, corresponde a RO de reciente incorporación o semitransformados que no se encuentran asociados a la fracción mineral del suelo (Quiroga *et al.*, 1996). Mientras que el COPf solo se correlacionó significativamente ($p < 0,001$) en el S1, según Duval (2015), el COPf, es una fracción más sensible que el C orgánico asociado a la fracción mineral y menos variable a los cambios de manejo que el COPg. Esto puede explicarse por el hecho que aplicaciones de estos tipos de residuos aumentan en gran medida la cantidad de sustratos para los microorganismos del suelo y también alteran la actividad microbiana del suelo, acelerando posteriormente la descomposición del C orgánico del suelo (Cheng *et al.*, 2003). Por lo tanto, las pérdidas de COPf asociado al aumento de las emisiones de CO_2 de los tratamientos con residuos en este estudio puede atribuirse en parte al efecto de cebado positivo (*priming effect*) de las entradas de sustrato en comparación con el testigo. Por último, el COM solo se correlacionó significativamente ($p < 0,05$) en el S3, según Quiroga *et al.* (1996), en texturas más gruesas, el aporte de C tiene mayor influencia sobre los contenidos de C del suelo.

En cuanto a la relación C:N de los residuos, solo se correlacionó significativamente ($p < 0,01$) para COT y COM del S1 y con COPf del S2 ($R^2 = 0,34$; $p = 0,0015$). Según Duval *et al.*, (2022), cambios en la fracción COPf se atribuyen más a la calidad del residuo que a la cantidad de residuo aportada, con aumentos de dicha fracción cuando se utilizan residuos de menor relación C:N.

Dinámica de mineralización de N

Potencial de mineralización de los suelos

En la evaluación de los suelos, se hallaron diferencias significativas ($p=0,0015$) en N_0 , con valores que siguieron el orden $S1>S2>S3$ (Figura 11). Además, se hallaron diferencias significativas ($p=0,01$) en la tasa de mineralización (k) entre S1 y S3 con S2, con mayor k para este último. Para S1 y S3, la tasa k promedio arrojó un valor de $0,0036 \text{ semana}^{-1}$, mientras que para S2, el k fue de $0,0056 \text{ semana}^{-1}$, siendo similar al valor propuesto por Stanford & Smith (1972) de $0,0054 \text{ semana}^{-1}$. Otros autores (Ros *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2017a; 2018b) han hallado una relación estrecha del N_0 con las fracciones orgánicas. Según Martínez *et al.*, (2018b), las diferencias en las fracciones granulométricas de los suelos podrían desencadenar variabilidad en la tasa de mineralización, siendo superior en suelos con mayor contenido de arenas por la menor protección física de la MO por parte de las arcillas. Sin embargo, en este estudio se halló la mayor tasa en S2, el cual tiene el mayor contenido de arcilla (Tabla 4).

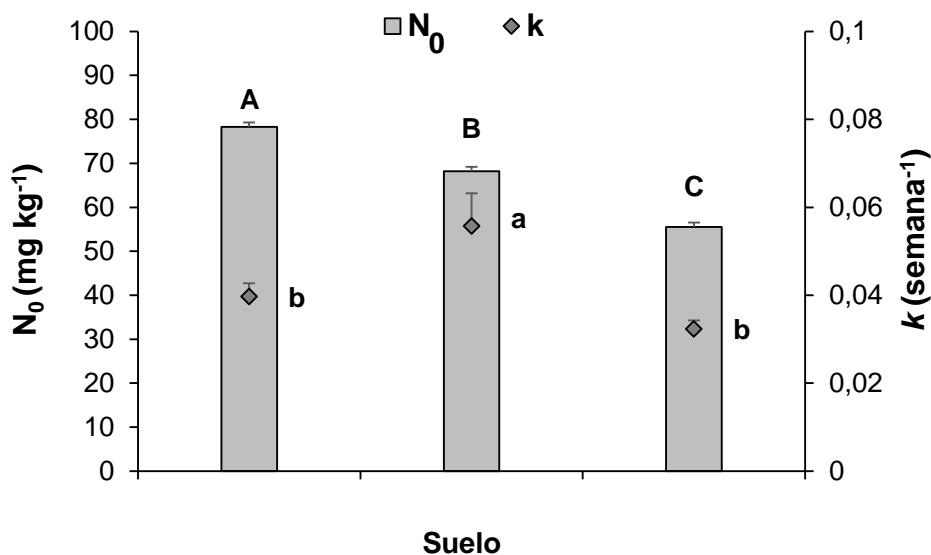


Figura 11. Nitrógeno potencialmente mineralizable (N_0) y tasa de mineralización (k) para cada suelo -sin agregado de residuos- al final de la incubación. Letras diferentes mayúsculas y minúsculas indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre suelos para N_0 y k , respectivamente. Barras verticales indican el desvío estándar.

Potencial de mineralización de los suelos con aplicación de RO

El ANOVA doble demostró una interacción significativa ($p < 0,0001$) entre los suelos y aportes de los RO con respecto al N_0 y k , y entre los tratamientos y las dosis de los RO (Tabla 9), por lo que se procedió a analizar cada tratamiento, para cada suelo.

Tabla 9. Análisis de la varianza de la tasa mineralización y del nitrógeno potencialmente mineralizable e interacciones entre los factores al final de la incubación (261 días).

Suelo	Factor	N_0			$k \text{ sem}^{-1}$		
		CG	CGcm	AI	CG	CGcm	AI
S1	Residuo (R)	**	ns	ns	ns	**	***
	Dosis (D)	**	ns	ns	ns	**	***
	RxD	***	***	***	***	***	***
S2	Residuo (R)	ns	***	***	**	***	ns
	Dosis (D)	ns	***	***	**	***	ns
	RxD	***	***	***	***	***	***
S3	Residuo (R)	***	*	***	**	***	***
	Dosis (D)	***	*	***	**	***	***
	RxD	***	***	***	***	***	***

Nitrógeno potencialmente mineralizable (N_0) y tasa de mineralización (k). Alperujo (AI), Cáscara de girasol sin modificar (CG), cáscara de girasol compostada junto a estiércol ovino (CG_{cm}). ***, **, * y ns indican efectos significativos al 0,001; 0,01; 0,05 y no significativo, respectivamente.

Cuando se evaluó el aporte de diferentes niveles de CG a los suelos (Tabla 10) para N_0 , se observó una respuesta positiva sobre S3 con D1 y D2, con D3 no hubo diferencias respecto al testigo. Contrariamente, para S1 y S2, la aplicación de CG no aumentó el N_0 , y solo lo disminuyó con respecto al suelo sin aplicación para la D2 del S1, lo que podría explicarse considerando que CG es un residuo con elevada relación C:N (Curvetto *et al.*, 2005). Varios autores (Corbeels *et al.*, 2000; De Neve *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 2008) reportaron que la incorporación de residuos con elevada C:N favorece la inmovilización de N durante las etapas iniciales de descomposición, para luego de un tiempo de proceso, comenzar con la liberación de N inorgánico. Estos resultados permiten inferir que el aporte de CG podría incrementar el potencial de mineralización de N del suelo, mejorando la fertilidad. Sin embargo, no es una tendencia general

en los suelos testeados. Para este estudio, el aumento evidente en el N_0 se observó en el caso del suelo con textura gruesa (arenoso-franco) y con el menor nivel de COT, lo que podría estar ligado a la menor protección física por parte de las arcillas (Martínez *et al.*, 2023). Es importante destacar que, si bien en S1 y S2 no se observaron incrementos en el N_0 , el agregado del RO con elevado CO en su composición, podría incrementar los niveles de MO del suelo, aumentando la calidad edáfica, tal como se observó en la Figura 10.

Para el caso de la CGcm, en el S1 no se observaron diferencias significativas para ninguna de las dosis respecto al testigo. En el caso de S2 y S3, la D2 fue la única dosis en aumentar el N_0 respecto al testigo. Mazzarino *et al.*, (2004), encontraron una mayor tendencia a la inmovilización ante la aplicación de compost, al duplicar las dosis (20 a 40 g kg⁻¹), asociado a la cantidad de material estructurante alto en lignina que puede aportarse como parte del compost. Sin embargo, estos autores señalan que el aporte de N disponible para las plantas fue considerable, incluso en el caso de los composts que presentaron inmovilización, es decir, que sólo una parte del N aportado fue inmovilizado. El aporte principal de N disponible con los composts, y consecuentemente los rendimientos, están más relacionados con el contenido de N inorgánico disponible y en menor medida con el N orgánico que se mineralizará (Mazzarino *et al.*, 2004).

Con respecto al Al, el S1 no mostró diferencias significativas respecto al testigo (Tabla 10). Por su parte, el S2, mostró efectos positivos en N_0 con la D1 y sin efecto en las D2 y D3. En el caso del S3, la D2 fue la única en diferenciarse del testigo. Esto podría estar ligado a las diferencias edáficas entre los suelos (Tabla 4). Vale remarcar, que otros autores han hallado una relación estrecha del N_0 con la fracción lábil de la MO (Martínez *et al.*, 2017; 2018b). Para las condiciones de este ensayo, el N_0 se correlacionó significativamente para la fracción COPf ($p=0,0014$). Saviozzi *et al.*, (2001) señalaron que al aplicar Al, su mineralización dependía en gran medida del tipo de suelo receptor. El hecho de que los efectos positivos se hayan manifestado en las D1 y D2, podría estar asociado a los efectos sobre la microfauna del suelo. Por su parte, Gonzalez Mateu *et al.*, (2013), señalaron que la dosis de 45 Mg ha⁻¹ de Al incorporado al suelo, podría tener un efecto tóxico sobre la microfauna edáfica afectando a la

mineralización de N. Existen algunos reportes de efectos no deseados ocasionados por la aplicación de residuos olivícolas en forma no controlada, entre los que se destacan incrementos de la salinidad del suelo y efectos fitotóxicos sobre cultivos anuales asociados al incremento en el nivel de compuestos fenólicos presentes en el suelo (Della Greca *et al.*, 2001). En cuanto a la aplicación del Al sería necesario ajustar su dosis para que no tenga un efecto no deseado en el suelo. La utilización de Al como enmienda ha sido reglamentada en los principales países productores de aceite de oliva (Real Decreto 04/2011, España; Ley 574/96, Italia). En ambos casos se regulan aspectos críticos como: tipo de suelo, profundidad de agua subterránea, composición del residuo a aplicar, dosis, forma y frecuencia de aplicación, monitoreo posterior del suelo y responsabilidades respecto a los efectos que pudieran ocasionarse (INTA, 2017). De esta forma, a partir de estos estudios de mineralización es posible una aproximación a la dosis recomendable de Al en base al tipo de suelo. En términos generales, se observaron mejores efectos sobre el N_0 incluso con residuos de elevada C:N (CG =78,8 y Al=68,4) y a dosis menores (D1 y D2).

Lo que respecta al k (Tabla 10), en el caso de la CG, el S1 no mostró diferencias respecto al testigo. Por su parte, en S2 y S3, se observaron comportamientos opuestos, para S2, el k disminuye al aumentar la dosis y en S3, las dosis D2 y D3 no se diferencian del testigo, siendo la D1 significativamente menor al mismo. La cantidad de lignina y C recalcitrante ha sido usualmente referenciada como una causante de la reducción en la tasa de mineralización, debido a la resistencia de la mayoría de estas formas al ataque microbiano (Benedicto Valdés *et al.*, 2019).

Para el caso de la CGcm, los S1 y S2, ambos de textura franca, mostraron el mismo efecto, siendo la D3 la única en mostrar un mayor k respecto al testigo. Para el S3, de textura arenosa, todas las dosis mostraron un k significativamente mayor que el testigo.

Por último, al aplicar Al, en el S2, de mayor contenido de arcilla, no se observaron diferencias significativas respecto al testigo para ninguna dosis. Por su parte, para el S1, las D1 y D2 fueron significativamente superiores en comparación al testigo y a la D3, que no presentaron diferencias entre sí. En

cuanto al S3, el k mostró diferencias significativas para la D1 y D2, y mayores aún para D3. Los comportamientos observados con AI, podrían entenderse por la incidencia de los compuestos fenólicos sobre la microbiota del suelo, donde por menores contenidos de MO ($13,1 \text{ g kg}^{-1}$ S3, vs $26,2 \text{ g kg}^{-1}$ S1 y $31,4 \text{ g kg}^{-1}$ S2, Tabla 4), es esperable una menor actividad de microorganismos inherentes al suelo, por lo tanto, un efecto negativo de menor magnitud al aplicar este residuo.

El conocimiento de la tasa de mineralización aporta información importante para diagramar la estrategia de fertilización, ya que es un dato necesario para lograr la sincronización entre el momento de aplicación y requerimientos por parte del cultivo. Considerando el N_0 , podemos afirmar que la dosis óptima de aplicación, varía según las propiedades del RO a aplicar y del suelo.

Tabla 10. Nitrógeno potencialmente mineralizable y tasa de mineralización, según suelo y dosis de cada tratamiento.

Suelo	Factor	Tratamiento												
		CG				CGcm				AI				
		D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3	
S1	N ₀	Media	78,3 a	70,8 a	54,99 b	67,09 a	78,3 a	72,65 a	76,81 a	78,16 a	78,3 a	73,92 a	71,56 a	72,37 a
		DE	0,2	4,95	4,88	8,39	0,2	18,62	7,58	3,95	0,2	4,48	5,08	12,5
	k	Media	0,02 a	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,02 b	0,08 b	0,07 b	0,32 a	0,02 b	0,46 a	0,45 a	0,03 b
		DE	0,02	0,01	0,01	0,002	0,02	0,05	0,01	0,2	0,02	0,07	0,11	0,03
S2	N ₀	Media	68,19 a	67,2 a	76,48 a	78,42 a	68,19 b	95,68 b	162,01 a	82,31 b	68,19 b	100,8 a	76,36 b	75,5 b
		DE	5,06	4,12	9,19	5,08	5,06	10,49	39,38	8,38	5,06	9,07	5,77	6,64
	k	Media	0,06 a	0,05 ab	0,04 bc	0,03 c	0,06 b	0,04 b	0,01 b	0,43 a	0,06 a	0,02 a	0,11 a	0,05 a
		DE	0,01	0,002	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,004	0,17	0,01
S3	N ₀	Media	55,55 c	68,58 b	85,68 a	54,82 c	55,55 b	59,99 b	73,88 a	67,22 ab	55,55 b	57,12 b	81,09 a	54,11 b
		DE	4,57	8,2	7,77	1,22	4,57	6,05	9,26	11,61	4,57	3,89	2,21	2,54
	k	Media	0,03 ab	0,02 c	0,03 bc	0,03 a	0,03 c	0,43 a	0,34 ab	0,28 b	0,03 c	0,25 b	0,08 b	0,56 a
		DE	0,002	0,01	0,005	0,001	0,002	0,05	0,06	0,14	0,002	0,29	0,02	0,02

Nitrógeno potencialmente mineralizable (N₀); tasa de mineralización (k); cáscara de girasol sin modificar (CG), cáscara de girasol compostada junto a estiércol ovino (CGCm); Alperujo (AI); desvío estándar (DE). Letras diferentes indican diferencias significativas de N₀ y k para cada suelo y cada tratamiento.

Dinámica de la disponibilidad de N inorgánico

Al agregar RO, la dinámica de la mineralización de N acumulada mostró efectos diferentes con respecto al tipo de suelo y al tipo de RO (Figura 12). En general, las dinámicas mostraron variaciones entre los tiempos (259 días) de incubación, como ha sido reportado por Lazicki *et al.*, (2020).

Para la CG en el S1, las aplicaciones durante el primer tiempo de incubado mostraron menores cantidades de N inorgánico liberado con respecto al suelo sin aplicación, revirtiéndose parcialmente esta situación a partir de los siguientes tiempos de incubado. Esto podría deberse a la gran demanda de N por parte de la biomasa microbiana cuando se incorpora un residuo con elevada C:N (Kirchmann & Lundvall, 1993). Para el S2, durante los primeros tiempos de incubación el N inorgánico liberado es mayor en el suelo sin RO, mientras que en etapas finales todas las dosis empleadas de CG mostraron un aumento en la disponibilidad de N. Según Zibilske *et al.*, (2000) cuando se agregan residuos con elevada C:N al suelo como la CG, se necesita un mayor periodo de tiempo para evidenciar su efecto sobre las propiedades del suelo. El S3 presentó marcadas fluctuaciones en el N inorgánico liberado para cada ciclo de la incubación.

En el caso de la CGcm, se observó que tuvo la mayor magnitud de liberación de N para todos los suelos, en comparación a la CG y del AI. Contrariamente a lo que ocurrió con la CG, ante el agregado de residuo, el pico de la liberación de N se dio en las primeras fechas de la incubación para los S1 y S3. Para el S2, las dosis mostraron respuestas marcadamente diferentes, la D1 y D2 mostraron la mayor liberación hacia el final de la incubación, mientras que la D3, al comienzo.

Para el AI, se observó que la D1 generó la mayor liberación de N en los suelos de textura más fina, por su parte, en el suelo arenoso, la mayor liberación se dio con la D2. Como se mencionó anteriormente, la aplicación de AI puede afectar los microorganismos presentes en el suelo, por la presencia de compuestos fenólicos. Con suelos con mayor actividad microbiana, las dosis mayores de AI muestran una disminución en liberación de N respecto al suelo sin aplicar. En el suelo de textura arenosa (S3), la D2 mostró un pico mayor de liberación de N, lo que podría deberse a un efecto detrimental de la

mineralización de N, en relación a una menor actividad de microorganismos asociada a la textura, es decir, que suelos arenosos podrían suministrarse con dosis mayores de AI, respecto a suelos de texturas más finas.

Considerando que las regresiones no lineales para calcular el N_0 podrían enmascarar los procesos de inmovilización, a pesar de haber observado comportamientos que podrían estar asociados a transformaciones de N de este tipo, para las condiciones particulares de este estudio no podemos afirmar que la menor liberación de N inorgánico observada con la aplicación de RO respecto al suelo solo en determinados momentos de la incubación, se deban exclusivamente a procesos de inmovilización.

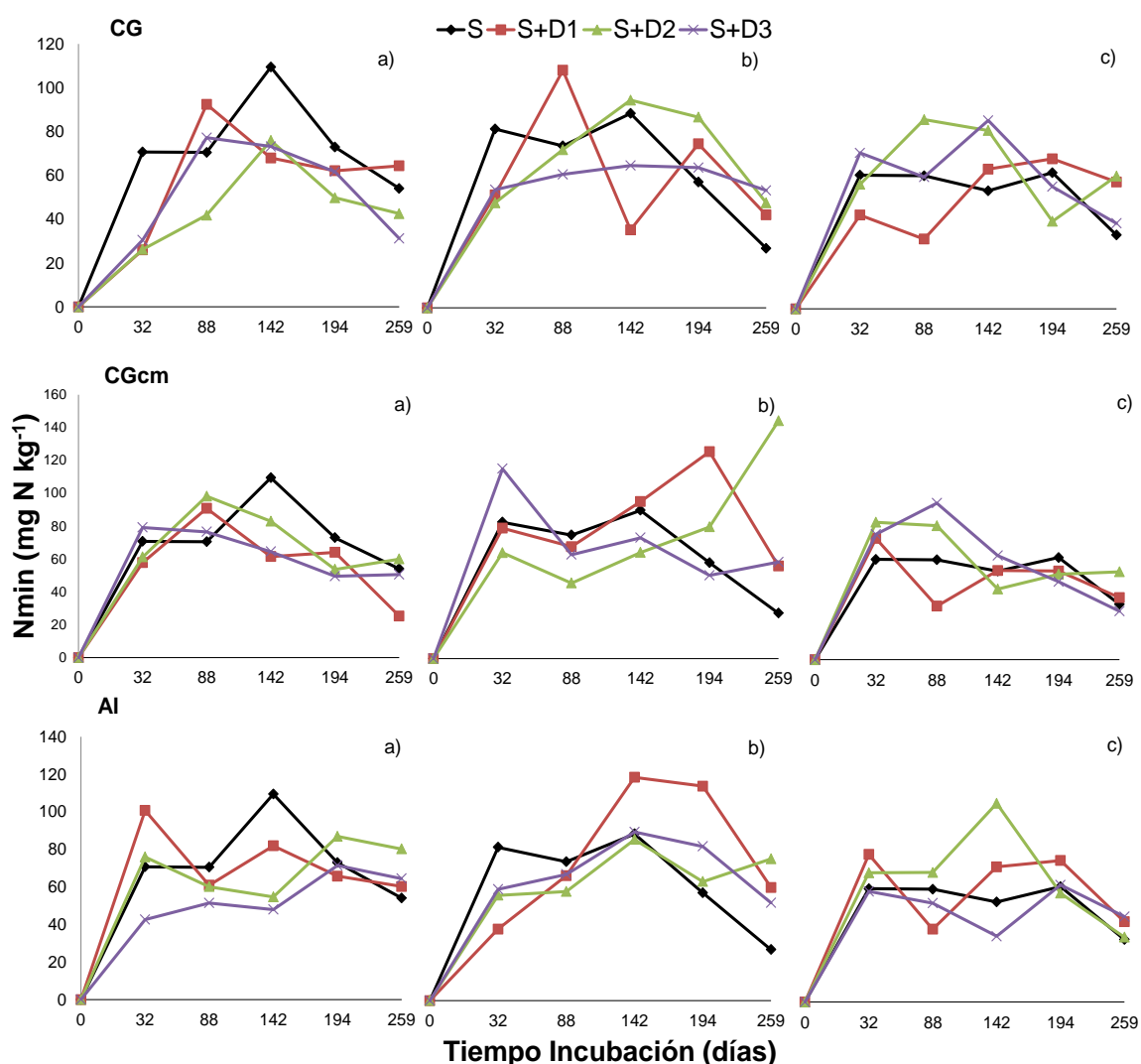


Figura 12. Dinámica de mineralización de N acumulada (Nmin) para suelo 1 (a), suelo 2 (b) y suelo 3 (c) con el agregado de cáscara de girasol (CG), CG compostada (CGcm) y alperujo (AI), en diferentes dosis, D1; D2 y D3.

En términos generales para las condiciones de este estudio, para suelos arenosos la dosis óptima de aplicación que maximiza el potencial de mineralización y disponibilidad de N sería de 200 kg N ha⁻¹, independientemente del residuo que se aplique. En suelos de textura franca, el tipo de residuo toma mayor relevancia, en el caso de la CG y el AI, la dosis óptima sería de 100 kg N ha⁻¹, mientras que para el CGcm, sería la de 200 kg N ha⁻¹.

Cambios en la reacción del suelo y las formas de Fósforo

Para evaluar la disponibilidad de P, primero se evaluó el pH de los tratamientos al final de la incubación, donde se encontró interacción altamente significativa entre el RO aplicado y el suelo ($p < 0,001$).

Todos los tratamientos mostraron un pH levemente ácido al final de la incubación (259 días), encontrándose dentro del rango de 5,4 y 6,4 (Figura 13).

El AI mostró el pH más elevado en los tres suelos, sin diferencias significativas ($p > 0,05$) respecto al testigo en el S1, mientras que el CGcm presentó los valores más bajos, diferenciándose estadísticamente del AI y la CG en S2 y S3, y únicamente del AI en S1. Será necesario profundizar en los motivos de dichas variaciones, dado que acorde a lo presentado en el Capítulo 1, los tratamientos presentaron los siguientes valores de pH: AI=5,4; CG=5,6 y CGcm=7,6. En cuanto al efecto de la dosis, en general se observa un aumento de pH conforme aumenta la dosis de residuo aplicada para todos los suelos, observándose diferencias significativas con el testigo principalmente con las dosis D2 y D3.

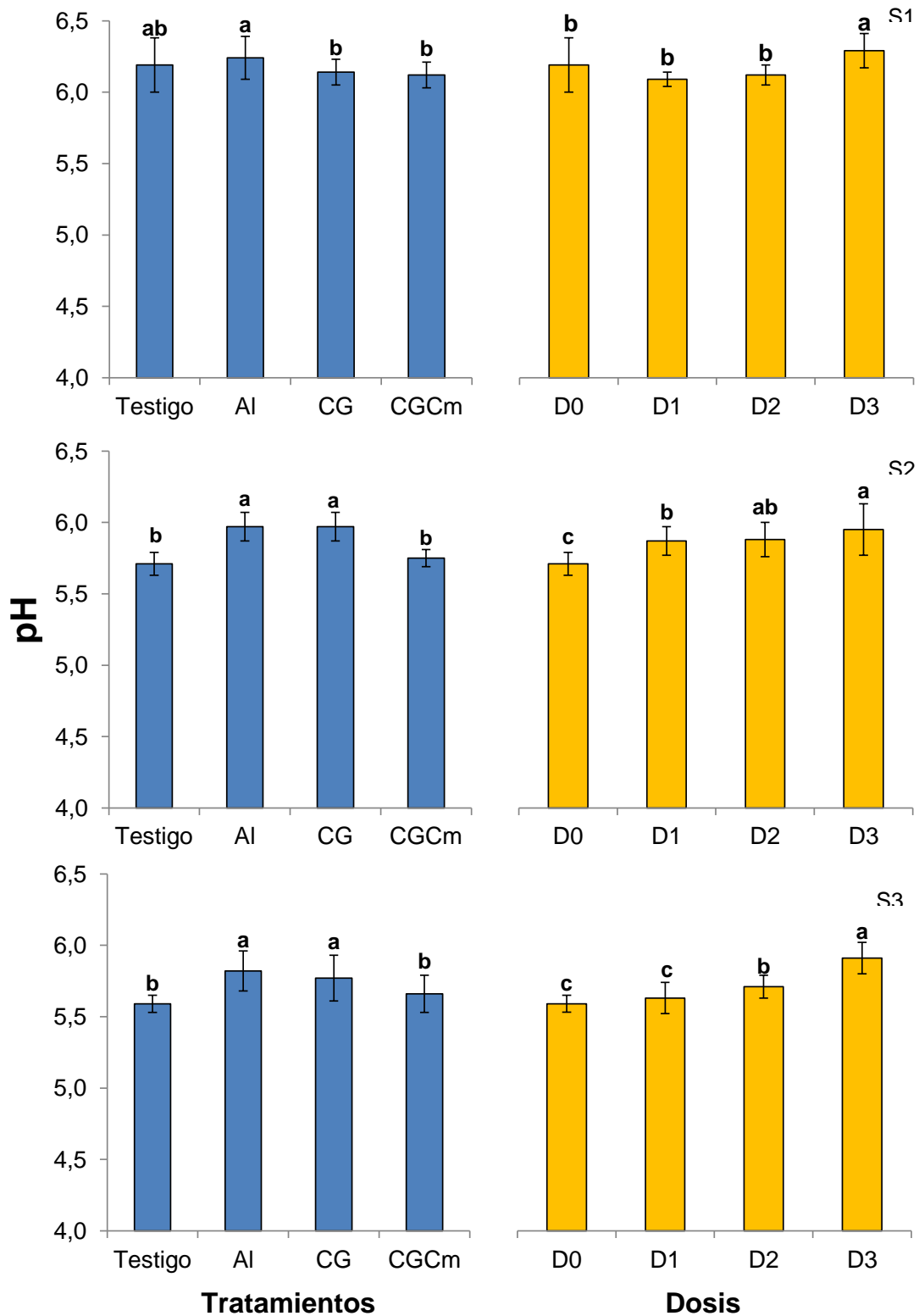


Figura 13. Variación de pH según tratamiento y dosis para: suelo 1 (S1); suelo 2 (S2); suelo 3 (S3). D0, D1, D2 y D3, representan dosis equivalentes a 0, 100, 200, 400 kg N ha⁻¹ respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativas entre dosis y entre tratamientos para cada suelo ($p < 0,05$). Barras verticales indican el desvío estándar.

Al evaluar las formas de P (Pe, Pi y Po) en los diferentes suelos luego del período de incubación para las dosis máximas (400 kg N ha^{-1}), se encontró una interacción significativa entre suelo y RO ($p < 0,001$).

Para el Pe, los tres suelos mostraron la misma respuesta ante la aplicación de CGcm con valores superiores a 30 mg kg^{-1} , siendo significativamente superior al testigo y a los otros RO. Para el S1, la CG ($22,9 \text{ mg kg}^{-1}$) mostró diferencias respecto al AI ($19,6 \text{ mg kg}^{-1}$) y a su vez, ambos se diferenciaron también del testigo. Para el S2, no se diferenciaron entre ambos ni con el testigo. Mientras que para S3, se diferenciaron del tratamiento sin aplicación sin diferencias entre sí (Figura 14a).

El Pe está asociado principalmente a la fracción inorgánica de fósforo lábil, por lo tanto, los aumentos del Pe en los suelos evaluados pueden atribuirse a los aumentos del Pi, evidenciado por la estrecha correlación ($R^2=0,97$, $p < 0,01$).

Como se observa en la Figura 14b, la aplicación de CGcm, aumentó de manera significativa los valores de Pi para los tres suelos. Por su parte, el AI mostró diferencias respecto al testigo y a la CG solo en el S3. Mientras que la CG, se diferenció del testigo en S1 y S3.

En general, aquellos residuos que no sufrieron un proceso de biotransformación (CG y AI) presentaron niveles de Po superiores al testigo, aunque con diferencias significativas únicamente entre testigo y AI para el S2 y S3 (Figura 14c).

El tipo y grado de biotransformación de los RO utilizados en esta experiencia influyeron sobre la forma de P disponible (Pe). Este efecto puede vincularse a la cantidad de N aplicado con los RO (400 kg N ha^{-1}) que favorecería la actividad biológica, estimulando la transformación del Po a formas inorgánicas (Duval *et al.*, 2021). Los microorganismos incorporan una pequeña proporción del P de los compuestos orgánicos fosforados (Spohn & Kuzyakov, 2013). Esto generaría un incremento del nivel de P disponible durante su degradación (Orden, 2018).

La aplicación agronómica de las EO, utilizando como criterio la dosis de N para cubrir las necesidades de los cultivos, puede conducir a una aplicación en exceso de P (Moral Herrero y Muro Herreguerena, 2008). Pöthig *et al.*, (2010) estudiaron la relación entre la saturación de P y el P soluble en agua, relación

que sería independiente del tipo de suelo para estimar valores ambientalmente seguros. A partir de eso, Zamuner *et al.*, (2015) evaluaron la correlación para métodos agronómicos de estimación de Pe, proponiendo un valor de Pe límite de $39,4 \text{ mg kg}^{-1}$ por encima del cual existiría riesgo de contaminación por exceso. Como se observa en la Figura 14a representado el valor crítico con una línea puntuada, para las condiciones de estudio, todos los tratamientos se encontraron por debajo de este valor límite, sin embargo, dados los valores del CGcm, sería importante comprobar a campo su comportamiento.

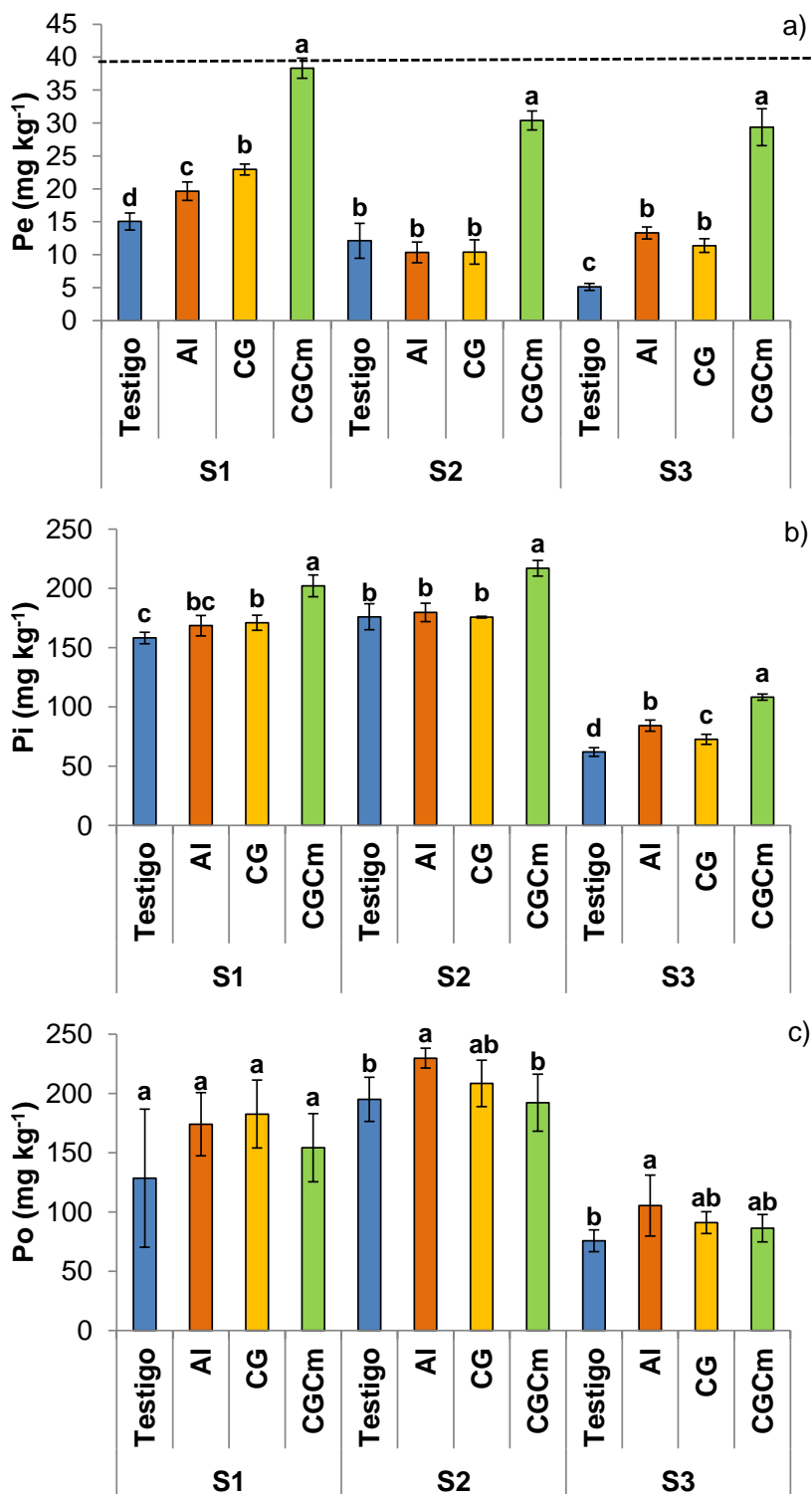


Figura 14. Concentración de fracciones del P por la aplicación de RO en suelos del SOB en a) fósforo extraíble (Pe), b) inorgánico (Pi) y c) orgánico (Po). Para cada suelo, letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). Barras verticales indican el desvío estándar. La línea punteada representa el valor límite de riesgo ambiental de pérdida de P (Zamuner *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

El desprendimiento de C con la aplicación de RO al suelo y su degradabilidad depende principalmente del grado de estabilidad del residuo. Esta degradabilidad con diferente grado de biotransformación estaría determinada mayormente por sus propiedades particulares (e. g. relación C:N) y serían independiente del tipo de suelo evaluado. Las variables espectrométricas serían relevantes para la predicción del grado de degradabilidad de los RO.

La evaluación de las fracciones del CO permitió observar cambios asociados a las propiedades de los RO aplicados. Las dosis mayores de aplicación de diferentes RO aportarían a un aumento del COT de los suelos, principalmente en suelos de texturas más gruesas. La aplicación de RO más estables, con menor relación C:N, tendrían mayor eficiencia en la incorporación de C a los suelos.

En cuanto al potencial de mineralización de N, en el suelo con más contenido de arena tuvo mayor relevancia la dosis que el residuo aplicado, siendo la más recomendable la dosis intermedia (200 kg N ha⁻¹). En suelos de textura más fina, el tipo de residuo tomo mayor relevancia, donde RO con relaciones C:N más altas son recomendables con dosis menores, y una relación C:N más baja (20:1) permite mayores dosis de aplicación de los residuos. En las condiciones particulares del estudio la máxima disponibilidad de N inorgánico se observa en general entre los días 30 y 190, será necesario correlacionar a campo con las condiciones del sitio, el mejor momento de aplicación del RO, con el objetivo de sincronizar la disponibilidad del N con el requerimiento del cultivo. Si bien la aplicación de RO modificó el pH de los suelos, en ningún caso fue por fuera del rango recomendable agronómicamente, ni se evidenciaron riesgos de contaminación por exceso de P, incluso en las dosis más altas. Sin embargo, es necesario comprobar a campo estos resultados, especialmente con los compost a dosis altas y/o aplicaciones sucesivas.

Teniendo en cuenta todas las variables evaluadas, dado el aumento del COT y N₀, para residuos con mayor relación C:N como el AI y la CG, se recomienda la

menor dosis empleada (100 kg N ha^{-1}) para suelos de textura franca, mientras que en suelos de textura arenosa, la dosis recomendada incrementa a 200 kg N ha^{-1} . Esto sería de mayor relevancia en suelos donde se busque revertir un proceso de degradación y aumentar los contenidos de C del mismo. Por otro lado, residuos de menor relación C:N como la CGCm, tanto en suelos de textura franca, como de textura arenosa, la dosis recomendada es la de 200 kg N ha^{-1} .

Como se mencionó en el Capítulo 1, las normativas otorgan un marco necesario de referencia para evaluar calidad de RO para su aplicación como EO al suelo. Sin embargo, queda en evidencia que es posible utilizar con criterio agronómico RO que queden por fuera de esas recomendaciones, para lo que será necesario conocer en profundidad las propiedades del residuo y las del suelo donde será aplicado, con objetivos claros y una mirada holística del sistema.

Capítulo III

Transformaciones de residuos orgánicos para su uso como enmiendas orgánicas: Cáscara de girasol con diferentes transformaciones y su efecto en el cultivo de trigo

Este capítulo fue publicado en la revista Ciencia del Suelo 40 (2022) 257-267.

“Utilización de cascaras de girasol con diferentes transformaciones como
potenciales enmiendas orgánicas en trigo pan”.

INTRODUCCIÓN

Como se mencionó anteriormente, la utilización e integración de tecnologías como el uso de EO son consideradas una alternativa para la recuperación de suelos degradados mejorando los contenidos de MO (Brown & Leonard, 2004; Tian *et al.*, 2009). Debido a que el N es el principal nutriente limitante de la producción vegetal, es comúnmente utilizado como criterio de dosificación cuando se aplican enmiendas (Salazar Sosa *et al.*, 2003). Sin embargo, todavía no se conoce con exactitud la capacidad de los RO para liberar N para la producción de cultivos, particularmente en trigo bajo ambientes semiáridos que es el cultivo más preponderante en el SOB (Martínez *et al.*, 2018a). La eficiencia de uso del N de los abonos orgánicos depende principalmente de la naturaleza de la MO y de las condiciones edafoclimáticas en las cuales los mismos se aplican (Webb *et al.*, 2013). La liberación de N en el corto plazo puede variar mucho, por tal motivo deben realizarse experimentos en condiciones locales para determinar la cinética de liberación real de cada enmienda (Cardoso Prieto, 2016).

Las características particulares del SOB han llevado a que se desarrollen sistemas intensivos y actividades que generan gran cantidad de RO, con la consecuente preocupación por su destino final. La CG se genera como producto secundario del procesamiento de las semillas de girasol en la industria aceitera y representa el 18% del peso de los granos procesados (Postemsky *et al.*, 2017a). Este residuo es de difícil degradación por su alto contenido de lignina, elevada relación C:N, donde los compuestos estructurales representan más del 40% de su CO (Curvetto *et al.*, 2005). Estas características pueden afectar la dinámica del N disponible para las plantas, debido a la inmovilización que ocurre bajo elevadas relaciones C:N (Iglesias Jiménez *et al.*, 2008). Una de las alternativas que surge para aprovechar estos materiales, es la biotransformación (Rajkhowa *et al.*, 2019).

En la actualidad, existen diferentes procesos de transformación de la CG para modificar sus propiedades, con el propósito de poder aplicarlas al suelo y mejorar la productividad de los cultivos (Moisés *et al.*, 2022a). Una de las opciones es usarla como sustrato para la producción de hongos, ya que sustrato residual degradado por la acción del hongo, es un material apto para

ser usado, con ciertos recaudos, en horticultura; esta es una de las fases finales en la cadena de reciclaje de residuos agroindustriales. Por su uso, la degradación utilizando hongos estaría considerada dentro de las tecnologías sustentables, amigables con el medio ambiente y tendientes a la emisión cero (Postemsky y Lopez Castro, 2016).

La ureólisis es la producción de amoníaco por microorganismos nativos en una reacción catalizada por la enzima ureasa que ocurre después de agregar urea al sustrato hidratado (Postemsky *et al.*, 2017). A concentraciones elevadas, el amoníaco disocia la matriz lignocelulósica, aumenta el contenido de N y actúa como agente descontaminante (Misra *et al.*, 2006).

Otra opción a considerar es el compostaje que, como se mencionó previamente, es un proceso bio-oxidativo controlado que involucra un sustrato orgánico heterogéneo, una etapa termofílica de reducción de patógenos y semillas de malezas, y una etapa de maduración de degradación de sustancias fitotóxicas, que finaliza en un producto inocuo, estable y maduro conocido como compost (Mazzarino & Satti, 2012).

En el Capítulo 1 se corroboró que la espectroscopía UV-vis permite inferir información estructural de las SH extraídas de suelos y materiales orgánicos (Burgess & Thomas, 2007; Iocoli *et al.*, 2017). Si bien no puede utilizarse para identificar los grupos funcionales presentes, el espectro obtenido constituye la absorción promedio de las moléculas que componen la muestra (Miller, 1994), pudiendo utilizarse para estimar el grado de aromaticidad del material orgánico. Esta caracterización espectrométrica permitiría comprender con mayor detalle el efecto del residuo sobre el suelo y la productividad (Zambrano *et al.*, 2011), así como el efecto de la biotransformación sobre los materiales orgánicos (Moisés *et al.*, 2022a). Senesi *et al.* (1989) señalaron que la maduración y estabilización de las EO implican la descomposición parcial de alifáticos, polipeptídicos, y componentes similares a polisacáridos, así como aumentos en policondensación y polimerización de anillos aromáticos. Senesi *et al.*, (2007) mostró que las SH que se encuentran en las EO tienen una mayor heterogeneidad molecular, carácter alifático, y concentraciones de compuestos que contienen N y estructuras similares a los polisacáridos que se encuentran en las SH de los suelos. La aromaticidad, la hidrofobicidad y las características

poli electrolíticas dependen de la composición de cada material (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). Las relaciones de absorbancia a ciertas longitudes de onda han sido consideradas como parámetros espectroscópicos de utilidad para la caracterización del material orgánico en relación al peso molecular, polaridad y grado de humificación (Waldrip *et al.*, 2014).

Hipótesis

La biotransformación genera cambios diferenciales respecto al material original, mejorando su calidad para la nutrición del trigo.

Objetivos

- i) Caracterizar de forma química la CG sometida a diferentes procesos de transformación;
- ii) Extraer sus sustancias húmicas y evaluarlas mediante la técnica espectrométrica UV-Visible;
- iii) Evaluar el efecto sobre la producción del trigo cuando la CG con diferentes transformaciones es aplicada al suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización de la CG y sus transformaciones

Las diferentes transformaciones realizadas a la cáscara de girasol se llevaron a cabo en las dependencias de CERZOS-CONICET Bahía Blanca. Fueron utilizados cinco tratamientos principales: Cáscara Girasol (CG) sin modificar, proveniente de la industria aceitera de Bahía Blanca; Cáscara Girasol Compostada (CGCm) corresponde a un compost realizado con CG y estiércol ovino durante 5 meses (por una parte de CG 2,5 de estiércol ovino en volumen); Cáscara Girasol con *Pleurotus* (CGPle) corresponde al sustrato residual de la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*; Cáscara Girasol con *Ganoderma* (CGGan) corresponde al sustrato residual de la producción del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*; Cáscara Girasol Ureolizada (CGUr) corresponde a CG colocada en silo bolsa con agregado de urea (3%) durante 3 meses, siguiendo la metodología propuesta por Postemsky *et al.*, (2017a). Los materiales utilizados como tratamientos fueron secados en

estufa a 60°C por 48 horas, molidos con malla de 1 mm de diámetro para su análisis químico. Se realizaron las siguientes determinaciones: MO a través del método calcinación en mufla a 550° por 4 h (Martínez *et al.*, 2017b), CO por analizador automático Leco Truspec (Leco Corporation, St Joseph, MI), N orgánico total (Nt) mediante el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1996), pH y CE en una dilución 1:5 (muestra:agua) (Bárbaro *et al.*, 2011). Adicionalmente, se extrajeron las SH de las CG transformadas mediante la metodología establecida por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS) utilizando KOH 0,1M como solución extractiva.

Las SH extraídas de los tratamientos se sometieron a un barrido espectroscópico UV-Visible a 18 longitudes de onda entre 190 y 665 nm con un espectrofotómetro UV-Visible T60 PG instruments. Las muestras se diluyeron en agua destilada desde 1:20 hasta 1:100 de acuerdo a la concentración del tratamiento, para obtener un barrido espectroscópico completo, sin saturación de la señal. Se calcularon los coeficientes de absorción E2/E4 (Shirshova *et al.*, 2006), E2/E6 (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021) y E4/E6 (Chen *et al.*, 1977; Albrecht *et al.*, 2011), considerando una relación de absorbancia de 254 a 465 nm, 254 a 665 nm y 465 a 665 nm, respectivamente.

Descripción del ensayo

En 2017, se llevó a cabo un ensayo en macetas bajo condiciones controladas en el Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Buenos Aires, Argentina. El suelo utilizado en este experimento se recolectó del sector del campus a una profundidad de 0-20 cm. El suelo se clasifica como Haplustol petrocálcico (Soil Survey Staff 2010), con una textura franco arenosa. El suelo se secó al aire, se tamizó y se homogeneizó, mediante tamizado con una malla de 2 mm de diámetro, y se determinaron las siguientes propiedades químicas: MO total a través del método de calcinación en mufla, y luego se estimó el CO total (COT) utilizando un factor de conversión de 2,2 (Martínez *et al.*, 2017a). El nitrógeno total (Nt), se determinó mediante el método Kjeldahl (Bremner, 1996), fósforo total (Pt) (Sommers & Nelson, 1972), fósforo extraíble (Pe) (Olsen *et al.*, 1954), potasio (K) asimilable mediante la extracción con acetato de amonio, pH en suspensión suelo: agua 1:2,5; y CE en pasta saturada. Además, se

cuantificó el N inorgánico (nitrato, N-NO₃) mediante destilación por arrastre de vapor (Mulvaney, 1996), Se supuso que el N orgánico es igual al Nt, porque en suelos con texturas gruesas el N inorgánico generalmente es muy bajo (Bono & Alvarez, 2013). La caracterización del suelo se presenta en la

Tabla 11

Tabla 11. Propiedades edáficas del suelo utilizado.

Prof. (cm)	pH	CE	MO	COT	Nt	N-NO ₃	Pt	Pe	K	Textura
		dS m ⁻¹							asim	
		g kg ⁻¹			mg kg ⁻¹					
0-20	8,2	0,54	41	19	2,3	32	250	21	773	Franco arenosa

Conductividad eléctrica (CE), material orgánica (MO), carbón orgánico total (COT), nitrógeno total (Nt), nitrógeno inorgánico (N-NO₃), fósforo total (Pt), fósforo extraíble (Pe), potasio asimilable (K asim).

Cada maceta, de 972 cm³ de volumen, se completó con 300 g de suelo y luego se sembró con el cultivar de trigo ACA 303. En cada maceta se colocaron ocho semillas para ralea una vez germinadas, dejando cuatro plantas por maceta. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Al momento de la siembra, se incorporó cada uno de los residuos molidos con malla de 1 mm de diámetro al suelo, utilizando como criterio de dosificación cuatro niveles de N: testigo sin aplicación de residuo (N0) y las cantidades equivalentes de 50 (N1), 100 (N2) y 150 (N3) kg N ha⁻¹ (Tabla 12). Las tasas de los residuos se calcularon como la cantidad equivalente de N considerando su composición de Nt. Luego de 55 días, se procedió a cosechar el total de biomasa aérea de trigo. Se colocaron las muestras en estufa a 60°C hasta lograr obtener masa constante y posterior cálculo de materia seca (MS) del cultivo.

Tabla 12. Cantidad de residuo aportado según tratamiento y nivel de aporte de N.

Residuo	N1	N2	N3
	Aporte (kg ha ⁻¹)		
CG	6376	12753	19130
CGCm	2090	4180	6271
CGPle	5525	11050	16575
CGGan	4155	8309	12464
CGUr	2638	5277	7915

Cáscara de girasol (CG), cáscara de girasol compostada (CGCm), cáscara de girasol con *Pleurotus* (CGPle), cáscara de girasol con *Ganoderma* (CGGan), cáscara de girasol ureolizada (CGUr). N1, N2; N3: niveles de aplicación de los diferentes tratamientos.

Análisis estadístico

Se realizó análisis de la varianza (ANAVA) doble utilizando como factores fijos las transformaciones de la CG y el nivel de aporte de N. Por su parte, la comparación de medias se realizó por el test de diferencias mínimas significativas de Fisher ($p < 0,05$). Se realizaron correlaciones de Pearson entre la producción de MS de trigo y los parámetros químicos evaluados en CG con diferentes transformaciones. Luego, se realizó el análisis multivariado exploratorio ACP para observar la influencia global de los parámetros químicos utilizando a la producción de MS de trigo como variable de clasificación. Dentro de cada componente principal (CP), se seleccionaron las variables que recibieron valores de carga ponderados dentro del 10 % de la carga ponderada más alta para cada CP (Martínez *et al.*, 2018b). Se utilizaron regresiones lineales simples para evaluar el efecto de la calidad (relación C:N) de los diferentes residuos sobre la producción de MS del trigo en rendimiento relativo (RR), considerando al tratamiento testigo como 100% de RR. Los niveles críticos de la variable relación C:N de las CG con diferentes transformaciones y nivel de N aplicado, fueron determinadas mediante el método gráfico de Cate & Nelson (1971) fijándose un RR crítico de 90%. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el software estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química de la CG bajo diferentes transformaciones

En la

Tabla 13 se detallan los resultados del análisis químico de las CG bajo diferentes transformaciones. Tal como se mencionó en el Capítulo 1, en la actualidad existen criterios estandarizados utilizados por la Unión Europea (UE) (Decisión 2001/688/EC) en los cuales se estipulan los requisitos que deben reunir los residuos o productos utilizados como enmiendas para que su uso o aplicación no afecte la salud humana y ambiental.

Tabla 13. Caracterización química de las CG sometidas a diferentes transformaciones.

Residuo	pH	CE	MO	CO	Nt	C:N
		(dS m ⁻¹)		(g kg ⁻¹)		
CG	5,6	1,62	958	617	7,8	79
CGCm	7,6	2,75	776	522	23,9	22
CGPle	5,3	4,47	879	569	9,0	63
CGGan	4,5	1,94	734	434	12,0	36
CGUr	5,2	1,37	959	637	19,0	34

Cáscara de girasol (CG), cáscara de girasol compostada (CG_{Cm}), cáscara de girasol con *Pleurotus* (CG_{Ple}), cáscara de girasol con *Ganoderma* (CG_{Gan}), cáscara de girasol ureolizada (CG_{Ur}). Conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), carbono orgánico (CO), nitrógeno total (Nt).

La CE es uno de los parámetros más importantes como indicador para EO, sobre todo cuando estas son utilizadas como sustratos para la germinación de semillas. Dicho parámetro presentó valores inferiores a 2,5 dS m⁻¹, nivel considerado tolerable por plantas de sensibilidad media (Lasaridi *et al.*, 2006), excepto el CG_{Cm} (2,75 dS m⁻¹) que se encuentra levemente por encima y la CG_{Ple} (4,47 dS m⁻¹) que supera el límite recomendado (4 dS m⁻¹). Según Postemsky y López Castro (2016) en sustratos residuales de hongos los valores de conductividad elevados son comunes y se deben, principalmente, a que durante la preparación del sustrato para el cultivo de casi cualquier especie de hongo se incorporan cantidades importantes de sulfato (CaSO₄) y/o

carbonato de calcio, (CaCO_3) con fines nutricionales, amortiguación del pH, floculación de coloides e inducción de la fructificación. Sin embargo, es llamativa la diferencia entre la CGPle (4,47) y la CGGan (1,94), al respecto, Postemsky y López Castro (2016) mencionan que el sustrato residual está influenciado por la formulación del sustrato y también por el metabolismo particular del hongo cultivado, lo que podría explicar esta diferencia. Por su parte, los valores de pH fueron levemente ácidos, excepto por CGCm, hallándose por debajo del rango de 6,0-8,5 recomendado para el crecimiento de las plantas (Hogg *et al.*, 2002). Se observaron contenidos elevados de CO conforme el criterio utilizado por la UE, según el cual los residuos utilizados como enmiendas deberían tener valores mayores a 200 g CO kg^{-1} . Por su parte, el Nt presentó gran variabilidad, con valores en general situados en el rango de referencia ($10\text{-}20 \text{ g kg}^{-1}$) sugerido por Alexander (1994). La relación C:N, vinculada con la tasa de descomposición de los RO (Heal *et al.*, 1997) presentó valores entre 22 y 79 de acuerdo al tipo de transformación de la CG.

Caracterización UV-vis

Los espectros UV-vis de las SH extraídas de los tratamientos, se caracterizaron por la ausencia de máximos definidos, por lo que la absorción decrece continuamente a medida que aumenta la longitud de onda (Figura 15), lo que coincide con lo reportado por otros autores (Chen *et al.*, 2002; Domeizel *et al.*, 2004; Albrecht *et al.*, 2011; locoli *et al.*, 2017).

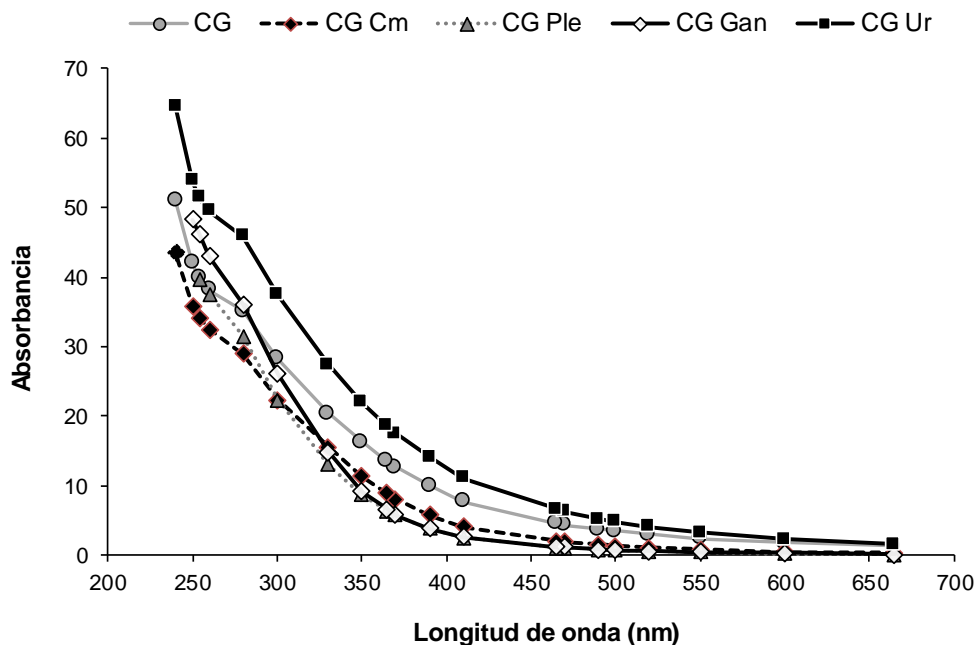


Figura 15. Variación de absorbancia por SH extraídas de los tratamientos: Cáscara de girasol (CG), cáscara de girasol compostada (CGCm), cáscara de girasol con *Pleurotus* (CGPle), cáscara de girasol con *Ganoderma* (CGGan), cáscara de girasol ureolizada (CGUr).

En la región entre 240 y 280 nm ocurre la transición electrónica para compuestos fenólicos, ácidos benzoicos, derivados de anilina, polienos e hidrocarburos aromáticos policíclicos con dos o más anillos (Peuravuori & Pihlaja, 1997). Específicamente, la absorbancia de SH en residuos, en esta región podría deberse a fracciones de lignina y quinona, asociado al material al principio de la transformación (Zbytniewski & Buszewski, 2005). El valor más bajo de la CGCm en comparación al resto de los tratamientos (Tabla 14), podría deberse a un mayor grado de avance en la transformación de la MO. La absorbancia a 465 nm indica la proporción de SH alifático de bajo peso molecular con un bajo grado de transformación, mientras que la absorbancia a 665 nm muestra la proporción de SH macromoleculares o condensados (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). Para ambas regiones de absorción, la CG y la CGUr mostraron los valores más altos (Tabla 14), en relación al resto de los tratamientos, posiblemente debido a un menor grado de transformación del material original.

La relación E2/E4 da idea de la interacción entre la estructura hidrocarbonada de dobles enlaces conjugados y los grupos auxocromos (Iocoli *et al.*, 2017). Si se halla dentro del rango, entre 2,1 y 14,5, indica que hay una alta densidad de CO con alto grado de conjugación, y un menor contenido en oxígeno y N (Chen *et al.*, 2002). En el caso de CG y CGUr, la relación E2/E4 fue menor respecto al resto de los tratamientos, en gran medida, por el mayor valor de absorbancia en 465 nm, lo que estaría asociado a moléculas con menor grado de transformación.

La relación E4/E6 indica la presencia de estructuras altamente conjugadas, capaces de absorción incluso en la región visible del espectro electromagnético (He *et al.*, 2009). Los valores más altos de esta relación podrían atribuirse a una disminución en la absorción dentro del rango de frecuencia entre 500 y 800 nm de longitud de onda. Esta disminución se produce por la presencia de moléculas en las que no existe una conjugación extensa (Iocoli *et al.*, 2017). La reducción de la relación E4/E6 supone un aumento del tamaño molecular y una menor proporción de ácidos carboxílicos (Heymann *et al.*, 2005). En este caso, los tratamientos CG y CGUr también fueron inferiores respecto al resto, nuevamente asociado a moléculas de mayor peso molecular o mayor presencia de moléculas aromáticas (Waldrup *et al.*, 2014; Tan, 2003). Los altos coeficientes E2/E6 de CGPle (318) y de CGGan (463) podrían indicar la presencia de una alta proporción de estructuras de lignina sin transformación y probablemente compuestos aromáticos del micelio de hongos, *e.g.* ergosteroles; mientras que valores menores de esta relación podrían indicar un mayor grado de sustitución de enlaces múltiples (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). Los valores de absorbancia similares entre la CG y la CGUr permiten inferir que no hubo transformaciones importantes durante la ureólisis, siendo la modificación en la relación C:N netamente efecto del agregado de N sintético.

Tabla 14. Valores de absorbancia y relaciones de absorbancia para los diferentes tratamientos.

Tratamiento	254	260	280	465	665	E2/E4	E4/E6	E2/E6
CG	39,80	38,11	35,11	4,54	1,30	8,8	3,5	30,7
CGCm	34,13	32,44	28,94	1,95	0,25	17,5	7,8	136,6
CGPle	39,67	37,55	31,53	1,07	0,12	36,9	8,6	317,6
CGGan	46,22	43,02	36,09	1,15	0,10	40,3	11,5	463,0
CGUr	51,43	49,53	45,89	6,54	1,55	7,9	4,2	33,2

Cáscara de girasol (CG), cáscara de girasol compostada (CGCm), cáscara de girasol con *Pleurotus* (CGPle), cáscara de girasol con *Ganoderma* (CGGan), cáscara de girasol ureolizada (CGUr). E2/E4 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 465 nm; E4/E6 relación entre los valores de absorbancia a 465 y 665 nm; E2/E6 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 665 nm.

Efecto de los tratamientos aplicados al suelo sobre el desarrollo de trigo

En general, se observó una mayor producción de MS de trigo con la aplicación de CGCm (3370 kg MS ha⁻¹) en relación al resto de los tratamientos, mientras que se hallaron efectos negativos con CG sin tratar (1629 kg MS ha⁻¹). Valores intermedios se observaron en CGUr (2625 kg MS ha⁻¹), CGGan (2555 kg MS ha⁻¹) y CGPle (2119 kg MS ha⁻¹). Sin embargo, se encontró interacción significativa entre los tratamientos y las dosis aplicadas ($p < 0,001$), por lo tanto, se realizó el ANAVA de los diferentes aportes para cada tratamiento (Figura 16). La CGCm fue el único tratamiento que incrementó la producción de MS de trigo, diferenciándose del testigo en las dosis de 100 y 150 kg N ha⁻¹ (Figura 16b). Para todas las dosis, CG generó una reducción en la MS respecto al testigo (Figura 16a), mientras que CGPle redujo la producción de MS solo en la dosis más elevada (Figura 16c). Por su parte, los tratamientos CGGan y CGUr no se diferenciaron del testigo para ninguna dosis (Figura 16d y 16e). La aplicación de CG biotransformada por hongos lignocelulíticos (CGPle y CGGan), no provocó cambios en la producción de MS, a excepción de CGPle donde se observó una menor producción de MS para la dosis más elevada. Según Postemsky *et al.*, (2017b), el metabolismo de los hongos genera una modificación física y química del sustrato inicial, la composición de minerales cambia por la absorción y translocación que produce el micelio, hay menos cantidad de lignina, mientras que la cantidad de celulosa, hemicelulosa y

componentes celulares aumenta. Sería conveniente evaluar, si el agregado de N sintético a estos tratamientos, que mostraron una modificación de sus moléculas, o su combinación con otras EO permitiría favorecer la mineralización mejorando la producción. La composición elemental no nos brinda información de cómo los distintos átomos se conectan entre sí. Es decir, podemos tener distintas moléculas con idéntica composición elemental pero distinta estructura. Por lo tanto, es necesario conocer tanto la composición como la estructura de los diferentes residuos para determinar su labilidad o estabilidad, su interacción con otras moléculas, partículas minerales y orgánicas del suelo, metales y microorganismos con el objetivo de predecir su comportamiento ambiental (Locoli, 2018). Hay que considerar que, dependiendo del sustrato, parte del C puede estar contenido en moléculas recalcitrantes y, de este modo, no disponible para la degradación microbiana. En tal caso, relaciones C:N mayores a 30 podrían ser adecuadas también, sin que se produzca una inmovilización de N (Postemsky y Lopez Castro, 2016), lo que permitiría explicar que en el caso de la CGPle (C:N=63), solo a dosis altas se vea afectada la producción de MS de trigo.

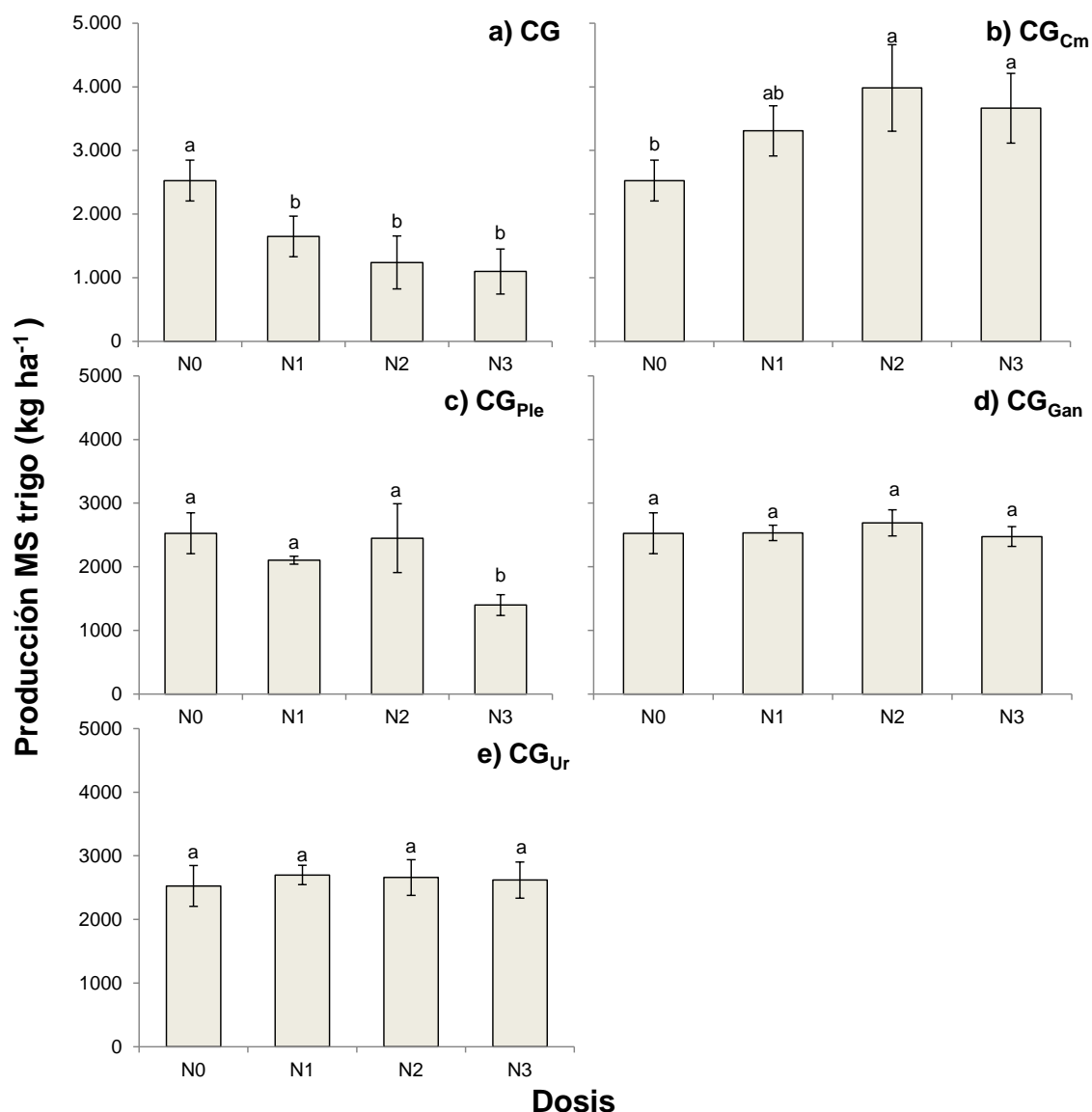


Figura 16. Producción de materia seca de trigo según tratamientos y aportes. a) Cáscara de girasol (CG), b) cáscara de girasol compostada (CG_{Cm}), c) cáscara de girasol con *Pleurotus* (CG_{Plē}), d) cáscara de girasol con *Ganoderma* (CG_{Gan}), e) cáscara de girasol ureolizada (CG_{Ur}). N0, N1, N2 y N3: dosis de N aplicado, 0, 50, 100 y 150 kg N ha⁻¹ respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05). Barras verticales indican desvío estándar.

La mayoría de los parámetros químicos utilizados para caracterizar la CG bajo sus diferentes transformaciones presentaron correlaciones significativas (p < 0,05) con la producción de MS, siendo la relación C:N la variable con mayor correlación (Tabla 15).

Tabla 15. Correlaciones de Pearson entre producción de materia seca (MS) de trigo con los parámetros químicos evaluados en los tratamientos.

Producción de		CE	pH	MO	COT	Nt	C:N
trigo	n	Coeficiente de correlación (r)					
MS	36	0,08	0,56	-0,72	-0,52	0,83	-0,87

En negrita y en cursiva se hallan las correlaciones significativas ($p < 0,05$). Conductividad eléctrica (CE); materia orgánica (MO); carbono orgánico total (COT); nitrógeno total (Nt), Relación carbono-nitrógeno (C:N).

Cuando se analizó de forma global todos estos parámetros químicos en función de la producción de MS de trigo mediante el ACP (Figura 17), se obtuvo una explicación total del 74,7% (CP1+CP2). Además, la relación C:N se estableció como el parámetro de mayor relevancia, ya que presentó el mayor valor dentro del CP 1 (Tabla 16), el cual explica mayormente la varianza en los datos. La relación C:N en los materiales orgánicos regula la ocurrencia de procesos de mineralización o inmovilización de N disponible durante su descomposición.

Tabla 16. Resultados de Análisis de Componentes Principales para la producción de MS de trigo.

	MS trigo	
	CP1	CP2
Autovalores	2,79	1,69
Proporción de Varianza	0,47	0,28
Varianza acumulada	0,47	0,75
Variables	Autovectores	
CE (dS m^{-1})	-0,03	-0,31
MO (%)	0,49	0,42
COT (g kg^{-1})	0,40	0,55
Nt (g kg^{-1})	-0,46	0,48
C:N	0,54	-0,18
pH	-0,30	0,41

Materia orgánica (MO); carbono orgánico (CO); nitrógeno total (Nt); conductividad eléctrica (CE), relación C:N (C:N); componente principal (CP). Resaltadas se encuentran las propiedades más correlacionadas al CP construido.

Según Allison (1966) cuando la relación C:N se encuentra entre 25 y 30, existe un equilibrio entre mineralización e inmovilización. Sin embargo, a mayores relaciones C:N puede ocurrir un efecto de bloqueo biológico del N asimilable del suelo por las poblaciones de microorganismos, lo cual genera deficiencias de N para la planta en detrimento de su rendimiento (Iglesias Jiménez *et al.*, 2008). Las diferencias encontradas en la producción de MS halladas en este estudio, podrían inferir una mayor relevancia de la calidad de cada residuo, atribuido principalmente a su relación C:N, prevaleciendo por sobre la cantidad aplicada (Tabla 12).

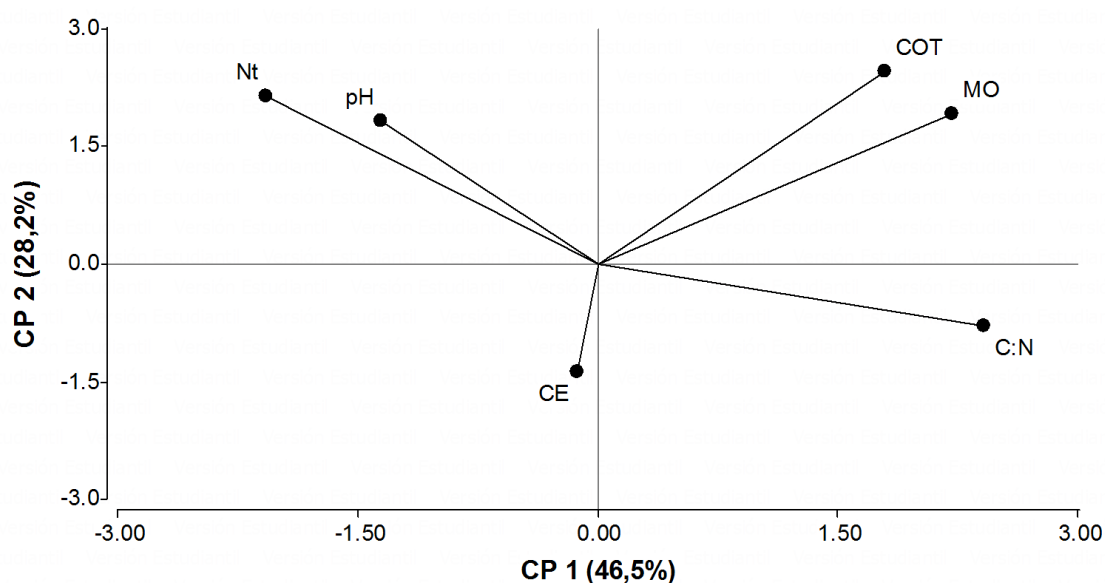


Figura 17. Biplot generado a partir del ACP utilizando los parámetros químicos de las CG con diferentes transformaciones con la producción de MS de trigo como variable de clasificación.

En la Figura 18 se observa una relación lineal significativa entre la producción de MS de trigo y la relación C:N de los materiales orgánicos evaluados ($R^2=0,83$, $p<0,01$). A partir de la calibración de Cate & Nelson (1971), se establece un nivel crítico de relación C:N de 38, por el cual se favorece la producción de MS o se restringe con la aplicación de residuos (Figura 18). Se observó que cuanto mayor es la relación C:N, a mayor dosis aplicada del material orgánico según su contenido de N equivalente, mayor es el efecto negativo sobre el crecimiento del cultivo. Esto se debe a que los elevados aportes de C sin transformar, con altos valores de lignina, favorecen la

inmovilización microbiana generando menores niveles de N disponible (Iglesias Jiménez *et al.*, 2008). La cantidad de lignina y C recalcitrante ha sido usualmente referenciada como una causante de la reducción en la tasa de mineralización, debido a la resistencia de la mayoría de estas formas al ataque microbiano (Vigil & Kissel, 1995; Benedicto Valdés *et al.*, 2019).

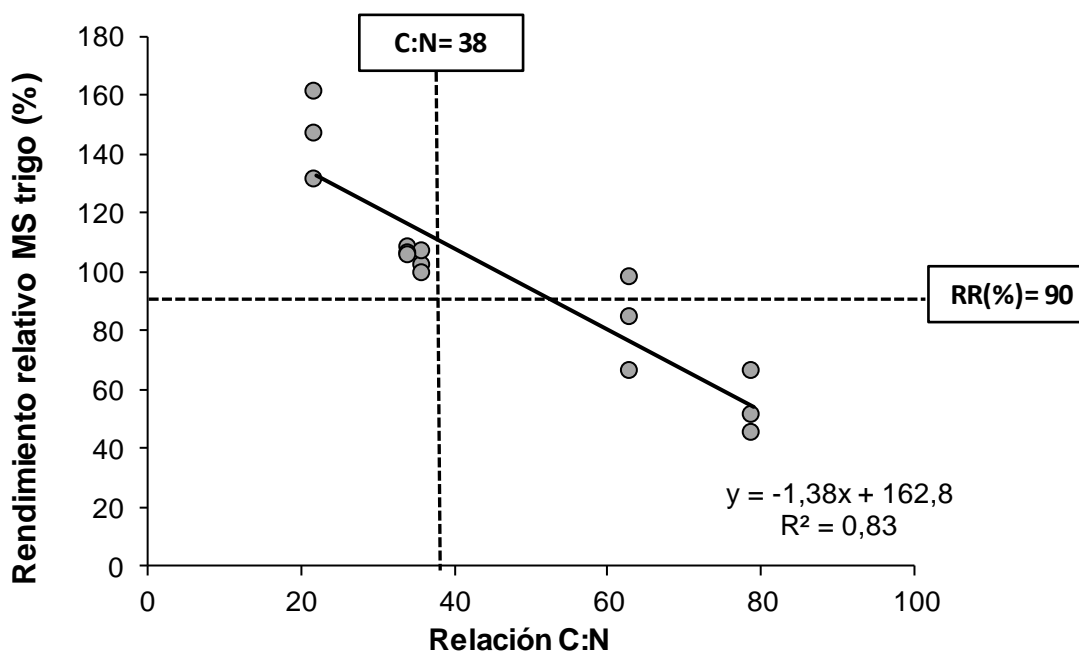


Figura 18. Rendimiento relativo (RR) de MS de trigo en relación al tratamiento testigo (RR=100) en función de la relación C:N de los tratamientos de CG con diferentes transformaciones y nivel de N aplicado.

CONCLUSIONES

El efecto de las diferentes transformaciones de la CG sobre la producción de materia seca de trigo se explicó principalmente por su calidad asociada a la relación C:N, siendo 38:1 el valor crítico, por lo que materiales con menores valores favorecerían los procesos de mineralización de N.

La biotransformación modificó las propiedades químicas del material original, reduciendo la relación C:N e incrementando las relaciones E2/E4, E4/E6 y E2/E6. El proceso de ureolizado no modificó las características de la CG, generando un material con menor relación C:N por aporte de N sintético, lo que

evidencia que la calidad del material orgánico esta dada también, por la estructura de sus moléculas.

Los materiales residuales del cultivo de hongo deberían ser sometidos a otro tratamiento para poder utilizarse como EO. El compostaje demostró ser un tratamiento adecuado, lo que se vio reflejado en la mayor producción de MS del trigo y en este caso solo se debería ajustar la CE, lo que podría lograrse ajustando la cantidad de estiércol a incorporar.

La técnica de UV Vis aportó información complementaria sobre la calidad estructural de estos materiales, profundizando el entendimiento sobre su potencial uso como EO.

Capítulo IV

Sustancias Húmicas como metodología de valorización de residuos agroindustriales y su aplicación foliar sobre cultivo de trigo

Parte de este capítulo fue publicado en *Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2022. "Spectrometric evaluation of biotransformed agro-industrial residues and their humic substances by UV–visible and infrared spectroscopy and their effect on winter wheat productivity".

INTRODUCCION

La promoción del crecimiento de las plantas, utilizando sustancias húmicas (SH) como bioestimulantes ha sido profundamente estudiada (Nardi *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2002; Nardi *et al.*, 2009; Canellas & Olivares, 2014; Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022). Los bioestimulantes se definen como materiales que contienen una o más sustancias y/o microorganismos capaces de estimular la absorción de nutrientes y la eficiencia de uso por las plantas, aumentar la tolerancia de las plantas al estrés biótico y abiótico y mejorar la calidad del cultivo cuando se aplica en pequeñas cantidades (Vasconcelos *et al.*, 2009; Calvo *et al.*, 2014). El uso de bioestimulantes para promover el crecimiento de los cultivos, ha aumentado en los últimos años como una alternativa más sostenible y amigable con el ambiente (Nardi *et al.*, 2016). Los bioestimulantes también pueden potenciar la actividad de los microorganismos de la rizosfera y las enzimas del suelo (Nardi *et al.*, 2016).

Entre los efectos bioestimulantes de las SH sobre las plantas, se encuentran mejoras sobre incrementos en la longitud del tallo, raíz, hojas, biomasa, tamaño y calidad de los frutos y aumento de los rendimientos (Veobides Amador *et al.*, 2018). Las SH aumentan la retención de agua en las hojas, el metabolismo fotosintético, aumentan la longitud de la raíz y el índice de área foliar de varios cultivos (Qin & Leskovar 2020), mejora el crecimiento y la tolerancia al estrés (Tan, 2003) sin impactar negativamente sobre la calidad ambiental (Senn, 1991).

Los productos a base de SH pueden proporcionar una tecnología potencial para integrar diferentes enfoques biotecnológicos relacionados tanto con la promoción del crecimiento vegetal como con la adaptación de las plantas a nuevas formas de producción (Veobides Amador *et al.*, 2018). Para ello, es importante comprender cómo actúan las SH en el metabolismo de la planta, ya que la respuesta dependerá en gran medida de la especie y estado ontogénico de la planta, modo y tasa de aplicación, condiciones ambientales y de manejo existentes (Trevisan *et al.*, 2010), como así también la composición del material original y del protocolo de extracción (Shirshova *et al.*, 2005). Además, el extractante utilizado durante la extracción de las SH también puede variar, siendo el más utilizado el hidróxido de sodio NaOH (UISS) y una alterativa el

hidróxido de potasio KOH. Actualmente, la aplicación foliar de SH se está realizando como una alternativa entre las diferentes estrategias de fertilización (Rose *et al.*, 2014; Bettoni *et al.*, 2016; Balmori *et al.*, 2019).

La mayoría de las SH usadas en la agricultura son actualmente derivadas de fuentes no renovables, siendo necesario el desarrollo de productos a partir de fuentes renovables (Canellas *et al.*, 2015). Se ha demostrado que se pueden obtener SH de los residuos sólidos (Espinosa-Loréns *et al.*, 2012). Por ejemplo, se ha encontrado que las respuestas fisiológicas de las plantas a las SH aisladas de lignito o leonardita, son menores que las observadas en respuesta a la adición de SH obtenido de turba, compost o vermicompost (Canellas & Olivares, 2014). El uso de SH aislados de vermicompost mejoró el crecimiento de plántulas de tomate en condiciones de invernadero y su efecto representó una ventaja para el crecimiento y desarrollo inicial de plántulas de tomate trasplantadas para producción a campo (Olivares *et al.*, 2015). Canellas *et al.*, (2012), evaluaron la aplicación de SH de vermicompost en plántulas de maíz, donde observaron un estímulo tanto en la elongación como en la proliferación de raíces secundarias, lo que resultó en un aumento del área superficial y longitud radical total. La estimulación del crecimiento de las plántulas también puede volverse importante para las plantas que muestran problemas de germinación (Cavalcante *et al.*, 2013).

Como se mencionó anteriormente, las características de las SH varían por muchos factores, por lo tanto, para poder hacer un uso eficiente como bioestimulantes, es necesario conocer en detalle sus propiedades y se hace necesario complementar distintos tipos de análisis, ya que ninguna variable en forma aislada brinda toda la información.

Existen técnicas analíticas rápidas y de bajo costo que infieren la composición estructural de diferentes materiales, facilitando la interpretación de su efecto sobre las plantas y el suelo (Iocoli *et al.*, 2017). El desarrollo de diferentes técnicas espectrales, como la espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis) y la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), entre otras, ha permitido evaluar y comprender la estructura química de las SH (Mosquera *et al.*, 2007). Aunque la espectroscopia UV-vis no se puede utilizar para identificar grupos funcionales en las muestras, analizar el espectro obtenido permite

estimar el grado de aromaticidad de los materiales orgánicos (Wang *et al.*, 2018), y las relaciones de absorbancia a ciertas longitudes de onda son parámetros de utilidad para la caracterización de las SH (Waldrip *et al.*, 2014). Por otro lado, la espectroscopia infrarroja puede identificar grupos funcionales y se ha convertido en una herramienta muy útil para estudiar la naturaleza, reactividad y disposición estructural de los componentes (Hou *et al.*, 2018). Si bien aporta información básicamente cualitativa, es una técnica efectiva, rápida y económica, que aporta información útil en el estudio de los procesos de degradación de la MO (Chefetz *et al.*, 1996).

Como se mencionó al comienzo de la tesis, el cultivo de trigo es la base de los sistemas productivos en un amplio sector SOB, región caracterizada por un clima semiárido. Los rendimientos del trigo están influenciados por las condiciones climáticas y las propiedades edáficas, requiriendo un uso eficiente del agua y N (Martínez *et al.*, 2015). Ante este contexto, siendo que la información nutricional de las SH y sus efectos en cultivos de la región es escasa, y considerando sus potenciales efectos bioestimulantes, resulta necesario entonces, conocer la composición de las SH obtenidas de los residuos para verificar su potencial de mejora sobre el desarrollo del cultivo de trigo en una zona semiárida (Moisés *et al.*, 2022d).

Hipótesis

- i) La aplicación de SH extraídas de RO biotransformados tendrá efectos positivos sobre el cultivo de trigo principalmente en un ambiente semiárido, consolidándose como una alternativa de valorización para los residuos de la región.
- ii) El extractante utilizado para la obtención de las sustancias húmicas tendrá características diferentes. El KOH tendrá mejores efectos sobre el cultivo de trigo respecto al NaOH, por el aporte de un nutriente esencial como es el K.
- iii) Las SH obtenidas de los residuos agroindustriales biotransformados aplicados al cultivo de trigo, tendrán efectos significativos sobre el desarrollo inicial, el balance de nutrientes y/o a la eficiencia en el uso del agua del suelo.

Objetivos

- i) Caracterizar química y espectrométricamente las SH obtenidas de diferentes residuos agroindustriales biotransformados, con diferentes extractantes;
- ii) Evaluar el efecto de la aplicación de SH extraídas de diferentes residuos orgánicos sobre el desarrollo en estadios tempranos del cultivo de trigo;
- iii) Evaluar el uso de KOH y NaOH como diferentes extractantes para la obtención de SH de los residuos y sus efectos sobre el cultivo de trigo;
- iv) Evaluar los efectos de la aplicación foliar de SH extraídas de residuos agroindustriales biotransformados sobre la producción de trigo pan en un ambiente semiárido del SOB.

MATERIALES Y MÉTODOS

De los residuos presentados en el Capítulo 1, se seleccionaron AI, CG, CGcm, CGPle, CmEC y EPLC, para evaluar sus SH extraídas con diferentes extractantes: NaOH y KOH, siguiendo la metodología establecida por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS).

Posteriormente, de esas SH se seleccionaron cuatro para realizar dos ensayos: el primero utilizando CGPle, AI y EPLC. Para la selección de los residuos se consideró que sus propiedades químicas sean contrastantes (Capítulo 1) y la relevancia ambiental en la zona del SOB. Para el segundo ensayo, se decidió trabajar con SH de CmEC y CGPle, con la intención de profundizar la evaluación de la CGPle, siendo la alternativa de biotransformación que mostró menor rendimiento en el Capítulo 3, y compararla con un compost de diferente origen, para estudiar su aplicación foliar de SH a campo.

Caracterización sustancias húmicas

Para la caracterización química de las SH se analizaron los siguientes parámetros: N total mediante el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1996), C total por analizador automático Leco Truspec (Leco Corporation, St Joseph, MI)

y potasio (K), fósforo (P) y azufre (S) por espectrometría de emisión por plasma.

Se realizó un análisis espectrométrico de UV-Visible, donde las SH se sometieron a un barrido espectroscópico a 18 longitudes de onda entre 190 y 665 nm con un espectrofotómetro UV-Visible T60 PG instruments. Las muestras se diluyeron en agua destilada desde 1:20 hasta 1:100 de acuerdo a la concentración del tratamiento, para obtener un barrido espectroscópico completo, sin saturación de la señal. Se calcularon los coeficientes de absorción E2/E4 (Shirshova *et al.*, 2006), E2/E6 (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021) y E4/E6 (Locoli *et al.*, 2017), considerando una relación de absorbancia de 254 a 465 nm, 254 a 665 nm y 465 a 665 nm.

Ensayo I: Sustancias Húmicas como metodología de valorización

En 2017, se llevó a cabo un ensayo experimental en macetas bajo condiciones controladas en el Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Buenos Aires, Argentina. El suelo utilizado en este experimento es el mismo que se utilizó en el Capítulo 3 (

Tabla 11).

Cada maceta, de 972 cm³ de volumen, se completó con 300 g de suelo y luego se sembró con el cultivar de trigo ACA 303. En cada maceta se colocaron ocho semillas, para ralea una vez germinadas dejando cuatro plantas por maceta. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Los residuos utilizados fueron CGPle, Al y EPLC, los cuales fueron previamente caracterizados en el Capítulo 1. Al momento de la siembra del cultivo, se incorporó cada uno de los residuos molidos con malla de 1 mm de diámetro al suelo, utilizando como criterio de dosificación cuatro niveles de N: testigo sin aplicación de residuo (N0) y las cantidades equivalentes de 50 (N1), 100 (N2) y 150 (N3) kg N ha⁻¹. Las tasas de los residuos se calcularon como la cantidad equivalente de N considerando su composición de N (Tabla 1). Luego de 55 días, se procedió a cosechar el total de biomasa aérea de trigo. Se colocaron las muestras en estufa a 60°C hasta lograr obtener masa constante, y se procedió con la determinación del contenido de materia seca (MS) del

cultivo. Adicionalmente, con las SH extraídas de los residuos, se llevó a cabo un ensayo en cámara de incubación. Se procedió a embeber las semillas de trigo previamente desinfectadas con lavandina 1:3 durante dos minutos y posteriormente lavadas, en soluciones de SH por 12 h, bajo dos concentraciones, 1:10 y 1:20. Por cada tratamiento se realizaron tres repeticiones. Se colocaron 10 semillas por caja de Petri y se incubaron bajo condiciones de oscuridad, humedad controlada y temperatura constante a 25°C, durante 7 días. Luego del tiempo estipulado, se recolectó el total de biomasa de trigo. Se colocaron las muestras en estufa a 60°C hasta lograr masa constante, y se procedió con la determinación de materia seca (MS) aérea (MSA) y materia seca radicular (MSR).

Ensayo II: Aplicación foliar de SH a campo y su efecto sobre el rendimiento del cultivo de trigo

En 2019, se realizó un ensayo en el Campo Experimental Napostá (convenio UNS y MDA-PBA), partido de Bahía Blanca (Buenos Aires). La precipitación promedio anual en la zona es de 561 mm (serie 1980-2019), concentradas en otoño y primavera. El suelo es un Paleustol petrocálcico, franco grueso térmico (USDA, 2017). Se seleccionó un lote con historia agrícola continua desde el año 2008 con cultivos de invierno.

La extracción de SH se realizó con KOH, a partir de dos RO i) cáscara de girasol biotransformado con el hongo *Pleurotus ostreatus* (SH_{CGPie}) y ii) compost realizado con restos de la producción de cebolla y estiércol bovino (SH_{CmEC}). Se equilibró el pH de las SH extraídas a 6,5-7,0 para armar el formulado a aplicar de forma foliar. Se consideró las SH obtenidas como principio activo y se procedió a realizar el preparado a aplicar según productos comerciales al 15,2%.

El diseño del ensayo fue de tres bloques completos aleatorizados donde se establecieron parcelas de 1 m² y se definieron dos dosis de aplicación foliar de SH, baja (B) 15 L ha⁻¹ y alta (A) 45 L ha⁻¹. La dosificación fue seleccionada a partir de las recomendaciones provistas en las SH comerciales. La variedad de trigo fue ACA 356 y se sembró con una densidad de 250 plantas m⁻² a mediados de junio de ese año. La aplicación foliar de las SH se llevó a cabo en

estadio vegetativo (Z16) (Zadoks *et al.*, 1974) del trigo. En estadio de hoja bandera (Z60) se determinó el índice de verdor (IV) con un medidor de clorofila Minolta SPAD 502®. Este dispositivo permite evaluar el estado nutricional nitrogenado de las plantas de forma rápida en cualquier momento del ciclo y de forma no destructiva. El IV se mide en unidades Spad (US) y cuanto más elevado es el valor, se atribuye un mejor estado nitrogenado de la planta. Las lecturas se efectuaron en el tercio superior de la última hoja totalmente expandida, en el centro de la misma entre el margen y la nervadura central, evitando dicha nervadura como así también zonas cloróticas o dañadas si las hubiese (recomendaciones detalladas en el instructivo del equipo). Al momento de madurez fisiológica (Z95) se evaluó la producción de MS, rendimiento y los componentes del mismo: espigas m^{-2} , granos m^{-2} , granos espiga $^{-1}$, peso de mil granos (P1000) e índice de cosecha (IC).

Análisis estadístico

i) Ensayo I:

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar el efecto de diferentes tratamientos (residuos y dosis) sobre la producción de MS de trigo, y para evaluar el efecto de las SH sobre MSA y MSR. Las medias de los efectos se compararon utilizando la prueba de diferencia mínima significativa cuando las diferencias entre las medias de los tratamientos eran significativas ($p < 0,05$). Se realizó un análisis de correlación de Pearson para evaluar la relación entre las propiedades químicas de los residuos y la producción de MS. Se realizó un ACP con el objetivo de analizar todas las variables correlacionadas entre sí y las relaciones entre ellas y cómo afectaban la producción de trigo. Además, este análisis se empleó como una herramienta de reducción de datos para seleccionar los factores más apropiados, a través de los cuales se podría reducir el número de variables independientes (Li *et al.*, 2013). Dentro de cada componente principal (CP), se seleccionaron las variables que recibieron valores de carga ponderados dentro del 10 % de la carga ponderada más alta para cada CP (Martínez *et al.*, 2018b). El análisis estadístico se realizó con el software informático Infostat (Di Rienzo *et al.* 2018).

ii) Ensayo II:

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar el efecto de dos extractantes sobre la composición química (K, S, P, C, N) de las SH de los tratamientos. Al evaluar las variables de producción, no se encontró interacción ($p=0,16$) entre el extractante y los residuos, por lo que se evaluó en forma conjunta con ANOVA. Las medias de los efectos se compararon utilizando la prueba de diferencia mínima significativa cuando las diferencias entre las medias de los tratamientos eran significativas ($p<0,05$). Se utilizó el Software estadístico INFOSTAT (Di Renzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química y espectrométrica de las SH

En la Tabla 17, se presentan las relaciones de absorbancia para los mismos residuos. En la Tabla 18, se detallan los resultados del análisis químico de las SH obtenidas con dos extractantes diferentes (KOH y NaOH), para los seis residuos seleccionados.

Tabla 17. Relaciones de absorbancia de las SH extraídas de los residuos.

Tratamiento	E2/E6	E4/E6	E2/E4
Al	11,51	1,83	6,30
CG	30,65	3,50	8,76
CGPle	317,60	8,60	36,93
CGCm	136,60	7,80	17,51
CmEC	150,60	9,80	15,37
EPLC	69,77	7,38	9,45

E2/E6 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 665 nm; E4/E6 relación entre los valores de absorbancia a 465 y 665 nm; E2/E4 relación entre los valores de absorbancia a 254 y 465 nm. Alperujo (Al); cáscara girasol (CG); cáscara girasol con *Pleurotus* (CGPle); cáscara girasol compostada (CGCm); compost estiércol bovino con residuo de producción de cebolla (CmEC); lombricompost RSU (EPLC).

Tabla 18. Caracterización química sustancias húmicas de residuos.

Extractante	Tratamiento		K	S	P	C	N	
								(mg L ⁻¹)
NaOH	Al	Media	2084,4	42,6	185,5	11,23	0,2	
		DE	17,8	2,9	12,4	1,36	0,01	
	CG	Media	1352,5	1393,9	4,9	2,39	0,15	
		DE	53,5	55,9	3,1	0,08	0,07	
	CGPle	Media	1962	701,4	21,9	3,09	0,3	
		DE	110,7	270,5	0,85	0,28	0,01	
	CGCm	Media	512,1	824,5	23,0	2,15	0,23	
		DE	2,8	23,8	5,04	0,29	0,1	
	CmEC	Media	839,7	208,6	44,7	1,59	0,29	
		DE	19,3	8,3	2,19	0,14	0,01	
	EPLC	Media	206,21	129,5	28,2	2,79	0,39	
		DE	7,14	0,1	0,41	0,09	0,1	
	KOH	Al	Media	2070,5	66	247	10,59	0,15
			DE	207,9	9,9	1,41	0,71	0,21
CG		Media	967,0	1124,5	-2	1,54	0,11	
		DE	149,9	243,9	4,24	0,71	0,01	
CGPle		Media	674,5	751,5	9,8	2,83	0,27	
		DE	40,1	47,2	0,99	0,14	0,01	
CGCm		Media	480,0	573,5	11	1,51	0,14	
		DE	50,9	43,1	2,83	0,71	0,02	
CmEC		Media	90,5	189,5	30,3	0,85	0,19	
		DE	7,6	2,12	0,02	0,07	0,01	
EPLC		Media	-507,5	123	12,5	1,75	0,23	
		DE	9,2	2,8	3,54	0,01	0,02	

Cáscara girasol (CG); cáscara girasol compostada (CG_{Cm}); cáscara girasol con Pleurotus (CG_{Ple}); alperujo (Al); compost estiércol con residuo de producción de cebolla (CmEC); lombricompost RSU (EPLC). Potasio (P); azufre (S); nitrógeno (N); fósforo (P); carbono (C). DE: desvío estándar.

Ensayo I: Sustancias Húmicas como metodología de valorización

Relación entre la aplicación de RO y la producción del cultivo de trigo

La aplicación de CGPle no generó diferencias significativas en la producción de biomasa a las dosis más bajas (N1 y N2) ($p>0,05$). A diferencia de N3, que produjo una disminución en la biomasa de trigo ($p<0,05$) (Figura 19). En el caso de AI, la MS de trigo disminuyó significativamente en los tres niveles de N ($p<0,05$). Por su parte, con el agregado de EPLC, no se encontraron diferencias significativas para los diferentes niveles de N respecto al control y si hubieron diferencias entre N1 y N3 ($p>0,05$).

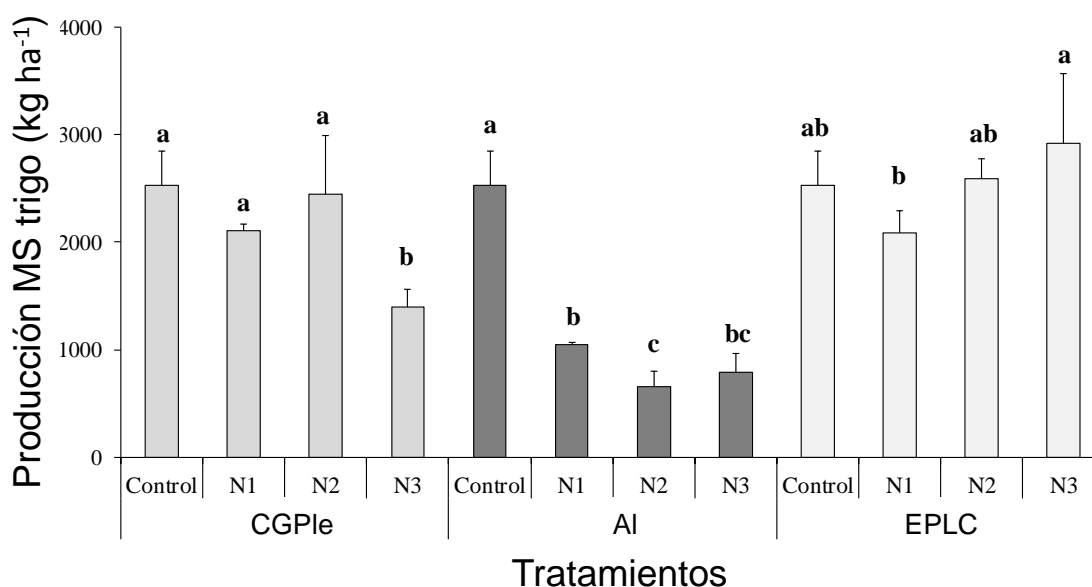


Figura 19. Producción de MS de trigo para cada tratamiento y dosis: cáscara de girasol con *Pleurotus* (CGPle); Alperujo (AI) y Lombricompost de RSU (EPLC). Dosis 50, 100 y 150 kg N ha⁻¹ (N1, N2, N3). Para cada tratamiento, letras diferentes indican diferencias significativas entre dosis, ($p<0,05$). Barras verticales indican desvío estándar.

Con base en las correlaciones de Pearson (Tabla 19), se encontraron relaciones débiles aunque significativas ($p<0,05$) entre la MS de trigo y las propiedades químicas individuales de los residuos. Se detectó una relación positiva significativa con el pH ($p=0,04$), mientras que se detectaron correlaciones negativas significativas con CE ($p=0,01$), MO ($p=0,02$), CO ($p=0,2$) y la relación C:N ($p=0,03$). Estos resultados sugieren que la

productividad puede estar controlada por diferentes factores (Turner *et al.*, 1997).

Tabla 19. Correlaciones de Pearson (r) entre producción de MS del trigo y características químicas de los residuos.

r	pH	CE	MO	CO	Nt	C:N	P	S	K
MS trigo	0,65	-0,74	-0,71	-0,73	0,24	-0,69	0,27	0,13	0,25

En negrita las correlaciones significativas, $p < 0,01$. Coeficiente de correlación (r).

Comprender la función de cada propiedad química y sus interrelaciones con otras propiedades puede mejorar nuestra capacidad para predecir la producción de cultivos de trigo. El ACP mostró valores de autovector > 1 para las dos primeros CP, lo que representó el 89 % de la varianza. CP1 y CP2 aportan el 62% y el 27% de la varianza, respectivamente (Tabla 20). El CP1 demostró una elevada correlación positiva con MO, CO y la relación C:N, y negativa con pH, similar a los observado en la correlaciones de Pearson (Tabla 19). Mientras que el CP2 tuvo correlación positiva para Nt. Estos resultados pueden indicar que son varios los factores que explican la producción del cultivo de trigo (MO, CO, relación C:N, pH y Nt), todos ellos relacionados principalmente con la calidad orgánica del residuo.

Tabla 20. Resultados de Análisis de Componentes Principales para la producción de MS de trigo.

	MS trigo	
	CP1	CP2
Autovector	5,60	2,44
Proporción de la varianza	0,62	0,27
Varianza total	0,62	0,89
Variable	Autovectores	
MO	0,40	-0,19
CO	0,40	-0,06
Nt	-0,05	0,63
C:N	0,40	-0,18
pH	-0,40	0,17
CE	0,35	0,15
P	-0,28	-0,46
K	-0,27	-0,48
S	0,20	-0,19

Materia orgánica (MO); carbono orgánico (CO); nitrógeno total (Nt); conductividad eléctrica (CE); fósforo total (P); potasio (K); azufre (S); componente principal (CP). Resaltadas se encuentran las propiedades más correlacionadas al CP construido.

Efecto de la aplicación de SH sobre el crecimiento inicial del trigo

Al analizar los resultados de las SH (Figura 20) no se observó internación entre la dosis y el residuo ($p=0,81$), por lo que se analizaron los tratamientos en conjunto.

La aplicación de SH derivadas de AI modificó la relación biomasa aérea:raíz durante el crecimiento inicial del trigo con respecto a los demás tratamientos y al testigo ($p<0,01$) (AI= 1,32; CGPle =1,09; EPLC= 1,19; T= 1,15).

No se observaron cambios en la producción de biomasa radical entre tratamientos ($p>0,05$). Por el contrario, la MSA mostró diferencias significativas entre residuos, donde los valores más altos fueron con SH extraídas del AI diferenciándose del resto de los tratamientos, también con EPLC se observó mayor producción de MSA que el testigo. Este resultado coincide con los

encontrados por Ayuso *et al.*, (1996), quienes observaron efectos similares al evaluar SH de residuos urbanos sin procesar y compostados sobre el crecimiento del cultivo de cebada, los cuales estimularon el desarrollo de la parte aérea.

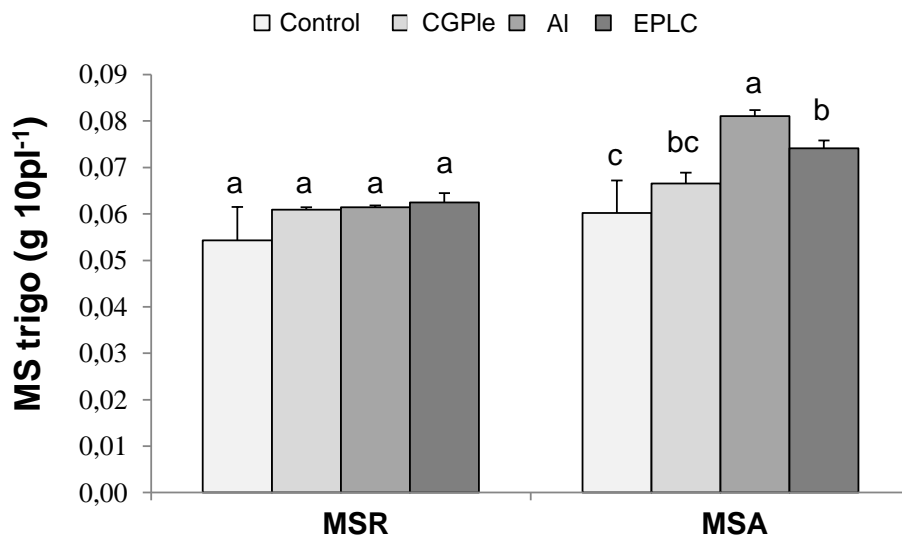


Figura 20. Materia seca radicular (MSR) y materia seca aérea (MSA) de trigo, según los tratamientos: control, cáscara de girasol con *P. Ostreatus* (CGPle), Alperujo (AI) y lombricompost de RSU (EPLC). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). Barras verticales indican desvío estándar.

Las diferencias observadas en el efecto del AI y su SH, junto con el análisis de los espectros IR (Figura 21), podrían atribuirse a que no se captaron compuestos fenólicos del residuo durante el proceso de extracción de la SH o que existe una modificación en la estructura molecular por el extractante durante el proceso de extracción, que posiblemente disminuya el efecto negativo del AI sobre el crecimiento de la planta. Además, el mayor peso molecular observado en las SH con respecto a AI sugiere la presencia de una mayor proporción de estructuras bioestimulantes, como ácido indolacético, (Nardi *et al.*, 2021) y auxina (Ferro *et al.*, 2006). Al respecto, Mora *et al.*, (2010) demostraron que la SH extraída de leonardita incrementó el desarrollo de la parte aérea como resultado de una mayor actividad de la enzima H^+ -ATPasa en la raíz, lo que modificó la distribución del N, siendo mayor en la parte aérea y menor en las raíces. Según Albuquerque *et al.*, (2004) el 13% de la MO en AI

está compuesta por contenido de ácidos grasos. Piccolo *et al.* (2002) indicaron que los componentes húmicos hidrofóbicos derivados de la degradación de las plantas y la actividad microbiana son capaces de incorporar más moléculas polares al azar, aumentando así la protección contra la degradación. Spaccini *et al.* (2002) demostraron que los compuestos orgánicos lábiles se incorporan en los dominios hidrofóbicos de la MO y que este mecanismo de protección hidrofóbica evita la rápida degradación microbiana. El proceso de atrapamiento molecular en el dominio hidrofóbico de los compuestos húmicos sugiere que, a mayor hidrofobicidad de las SH, mayor potencial para incorporar moléculas hidrofílicas (Canellas *et al.*, 2012). Sin embargo, los mecanismos por los que actúan las SH no se entienden claramente. La diferencia en el efecto observado en la aplicación de SH obtenido a partir de diferentes residuos podría deberse entonces a un mayor tamaño molecular o a un mayor contenido de moléculas hidrofóbicas. Además, la aplicación de AI en el suelo podría generar la inmovilización del N, debido a los principales ácidos grasos en su composición (Meneses & Cerda, 2016).

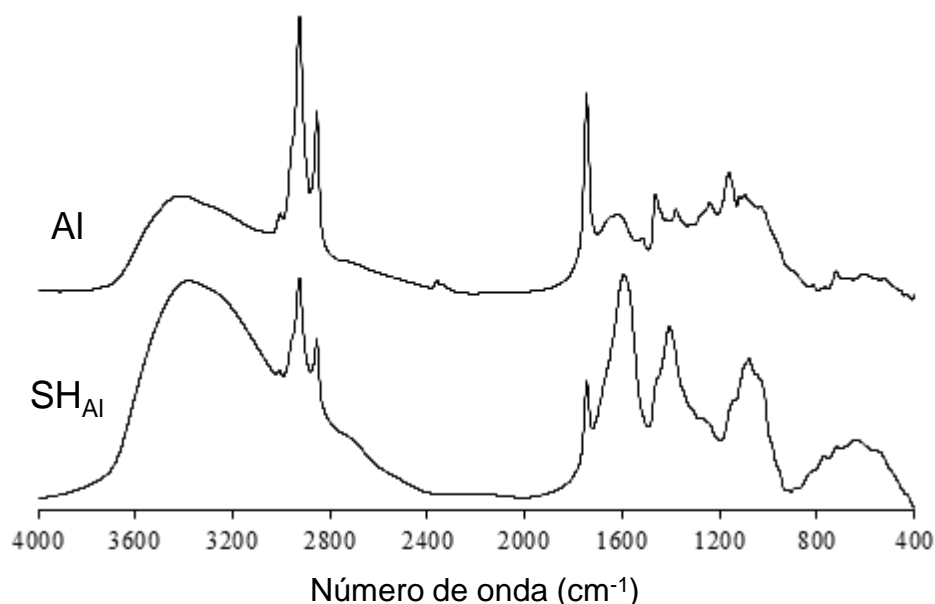


Figura 21. Espectros IR de alperujo (AI) y sus sustancias húmicas (SH_{AI}).

Los espectros UV-vis de SH, independientemente de su origen (CGPIe, AI y EPLC), se caracterizaron por la ausencia de máximos definidos, por lo que la

absorción decrece continuamente a medida que aumenta la longitud de onda (Figura 22), lo que coincide con lo informado por varios autores (Chen *et al.*, 2002; Domeizel *et al.*, 2004; Albrecht *et al.*, 2011; Iocoli *et al.*, 2017). En la región entre 240 y 280 nm ocurre la transición electrónica para compuestos fenólicos, ácidos benzoicos, derivados de anilina, polienos e hidrocarburos aromáticos policíclicos con dos o más anillos (Hansima *et al.*, 2022). Específicamente, en SH de los residuos o del suelo, la absorbancia en esta región podría deberse a los restos de lignina y quinona (Zbytniewski & Buszewski, 2005). El valor más alto de CGPLe en comparación con EPLC podría indicar el comienzo de la transformación de la materia orgánica (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). En AI, la absorbancia en esta región podría estar asociada a compuestos fenólicos. La absorbancia a 465 nm indica la proporción de SH alifáticas de bajo peso molecular con un bajo grado de transformación, mientras que la absorbancia a 665 nm muestra la proporción de SH macromoleculares o condensadas, es decir, material fuertemente humificado (Ganguly & Chakraborty, 2009).

La relación E2/E4 indica la estructura hidrocarbonada de los dobles enlaces conjugados y los grupos auxocrómicos. Esta relación en CGPLe presentó el valor más alto (36,9) en comparación con AI y EPLC (6,3 y 9,4, respectivamente) y podría estar relacionada con un alto grado de aromaticidad de la materia orgánica soluble y con la intensidad de la absorción de UV de grupos funcionales en esta fracción orgánica (Tabla 17).

La relación E4/E6 de AI (1,8) fue inferior a CGPLe (8,6) y EPLC (7,4). Esta relación indica la presencia de estructuras altamente conjugadas, capaces de absorción incluso en la región visible del espectro electromagnético (He *et al.*, 2009). Los valores más altos de esta relación podrían atribuirse a una disminución en la absorción dentro del rango de frecuencia entre 500 y 800 nm de longitud de onda. Esta disminución se produce por la presencia de moléculas en las que no existe una conjugación extensa (Iocoli *et al.*, 2017). La reducción de la relación E4/E6 supone un aumento del tamaño molecular y una menor proporción de ácidos carboxílicos (Heymann *et al.*, 2005). Finalmente, el parámetro E4/E6 indica el grado de humificación (descomposición de la materia orgánica) de las SH en el suelo, mientras que la humificación progresiva se

indica mediante proporciones E4/E6 decrecientes. Sin embargo, estas SH extraídas de CGPle y AI no son comparables con las SH del suelo, porque son sustancias diferentes. En el caso de EPLC este coeficiente indica un bajo grado de humificación en relación a las SH del suelo con alta proporción de ácidos fúlvicos (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). La alta relación E2/E6 (317,6) de CGPle podría indicar la presencia de una alta proporción de estructuras de lignina sin transformación y probablemente compuestos aromáticos del micelio de hongos, por ejemplo, ergosteroles. En el caso de AI, el bajo valor E2/E6 probablemente sea consecuencia del alto contenido de compuestos fenólicos de alto peso molecular capaces de ser absorbidos en la zona visible (665 nm). En el caso de EPLC la relación E2/E6 (69,8) podría indicar una alta proporción de ácidos fúlvicos (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021).

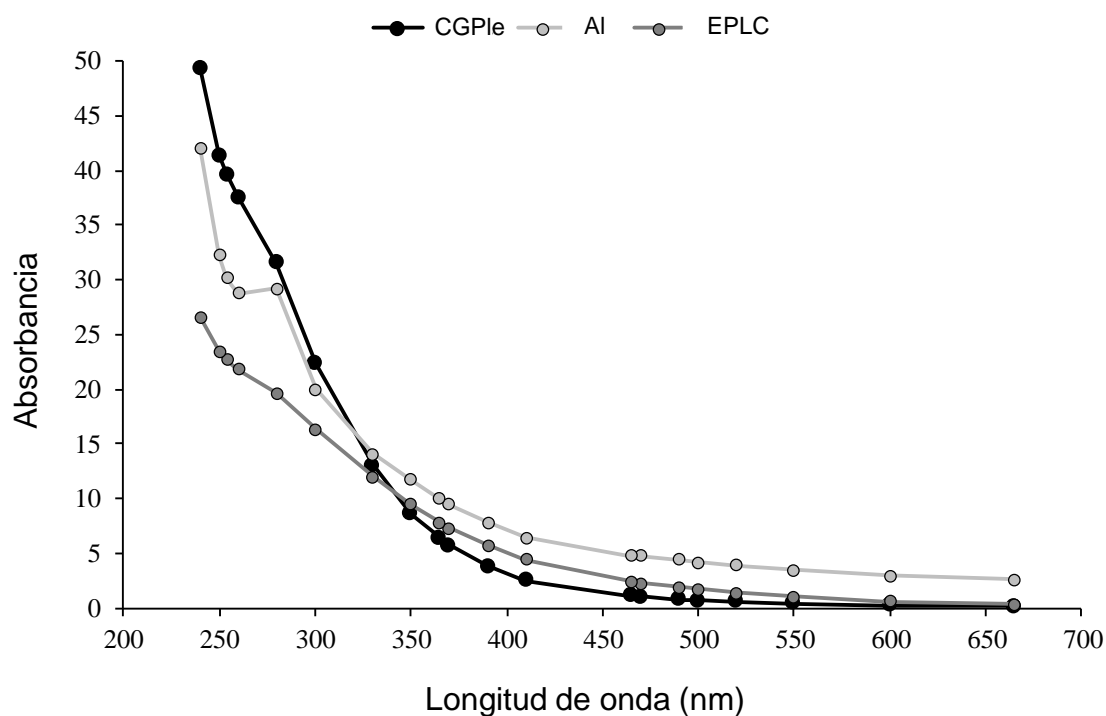


Figura 22. Variación de absorbancia de las SH extraídas de los residuos biotransformados: cáscaras de girasol con *Pleurotus ostreatus* (CGPle), alperujo (AI) y lombricompostado RSU (EPLC).

Ensayo II: Aplicación de Sustancias Húmicas a campo y su efecto sobre el cultivo de trigo

Caracterización de las SH

La caracterización química de las SH, evidenciaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre residuos para K, S, P y C; y entre extractantes, para K, P y C (Tabla 21). Las SH_{CGPle} se destacan principalmente por su alto contenido de K (mg L^{-1}) (1262 vs 840 NaOH; 674 vs 91 KOH) y S (mg L^{-1}) (701 vs 209 NaOH vs 674 vs 91 KOH), además de un mayor contenido de C (mg L^{-1}) (3,1 vs 1,6 NaOH; 2,8 vs 0,85 KOH) y un menor contenido de P (mg L^{-1}) (21,9 vs 44,65 NaOH; 9,8 vs 30,3 KOH), respecto a las SH_{CmEC}. Al comparar entre extractantes, se destaca principalmente el K (1262 vs 674 SH_{CGPle}; 840 vs 91 SH_{CmEC}) y en menor medida, el P (21,9 vs 9,8 SH_{CGPle}; 44,65 vs 30,3 SH_{CmEC}) y el C (3,1 vs 2,8 SH_{CGPle}; 1,6 vs 0,85 SH_{CmEC}).

Tabla 21. Propiedades químicas de las SH aplicadas.

Extractante	Tratamiento		K	S	P	C	N	
			(mg L ⁻¹)					
NaOH	SH _{CGPle}	Media	1262 Aa	701 Aa	21,9 Ba	3,1 Aa	0,3 Aa	
		DE	110,7	270,5	0,85	0,28	0,01	
	SH _{CmEC}	Media	840 Ba	209 Ba	44,65 Aa	1,6 Ba	0,3 Aa	
		DE	19,3	8,3	2,19	0,14	0,01	
	KOH	SH _{CGPle}	Media	674 Ab	752 Aa	9,8 Bb	2,8 Ab	0,3 Aa
			DE	40,1	47,2	0,99	0,14	0,01
SH _{CmEC}		Media	91 Bb	189 Ba	30,3 Ab	0,85 Bb	0,2 Aa	
		DE	7,6	2,1	0,02	0,07	0,01	

SH_{CGPle} SH de cáscara de girasol con *Pleurotus*; SH_{CmEC} SH de compso de estiércol y restos de cebolla.; K potasio; S azufre; P fósforo; C: Carbono; N: Nitrógeno. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre residuos, mientras que letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre extractantes ($p < 0,05$).

En cuanto a las relaciones de absorbancia, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre extractantes, por lo que se procede a la descripción por residuo de origen.

Como se mencionó en el apartado anterior, valores altos de la relación E2/E6 como los observados para SH_{CGPIe} podrían indicar la presencia de una alta proporción de estructuras de lignina sin transformación y probablemente compuestos aromáticos del micelio de hongos, lo cual podría asociarse al mayor nivel de C en las SH de este residuo; mientras que valores menores, SH_{CmEC} (151), podrían indicar un mayor grado de sustitución de enlaces múltiples (Ukalska Jaruga *et al.*, 2021). La relación E2/E4 evidencia la interacción entre la estructura hidrocarbonada de dobles enlaces conjugados y los grupos auxocromos (Locoli *et al.*, 2017). Si se halla en el rango de 2,1 y 14,5, indica que hay una alta densidad de carbono orgánico con alto grado de conjugación, y un menor contenido en oxígeno y N (Chen *et al.*, 2002). Ambas SH quedan por fuera de ese rango, con valores de 36,9 y 15,4 para SH_{CGPIe} y SH_{CmEC}, respectivamente. Sin embargo, al observar la caracterización química de las SH, se confirma un menor contenido de N en SH_{CmEC} (0,2 mg L⁻¹) respecto a las SH_{CGPIe} (0,3 mg L⁻¹), posiblemente asociado al mayor contenido de lignina en las SH_{CGPIe}. Según Huang (2005), un aumento relativo de N podría deberse a la condensación de lignina con proteínas o debido a la formación de complejos del N con la lignina.

La relación E4/E6 indica la presencia de estructuras altamente conjugadas. Valores menores en la relación E4/E6 infieren un aumento del tamaño molecular y una disminución en la proporción de ácidos carboxílicos (Heymann *et al.*, 2005). En este caso, los valores son similares entre ambas SH (SH_{CGPIe}= 8,6 y SH_{CmEC} = 9,8).

Evaluación de la aplicación foliar de SH y producción del trigo

Las precipitaciones anuales en 2019 fueron 505 mm (Figura 23), ubicándose por debajo de la media histórica del sitio (561 mm, serie 1980-2019). Teniendo en cuenta la necesidad teórica (NC) del trigo (Paoloni & Vázquez, 1985), el año en estudio se caracterizó por déficits hídricos durante todo el ciclo del cultivo. Esta situación se acentuó durante los meses de primavera, en los cuales la deficiencia fue muy marcada y cuyas precipitaciones son indispensables para la definición de la producción de trigo en esta región (Martínez, 2015).

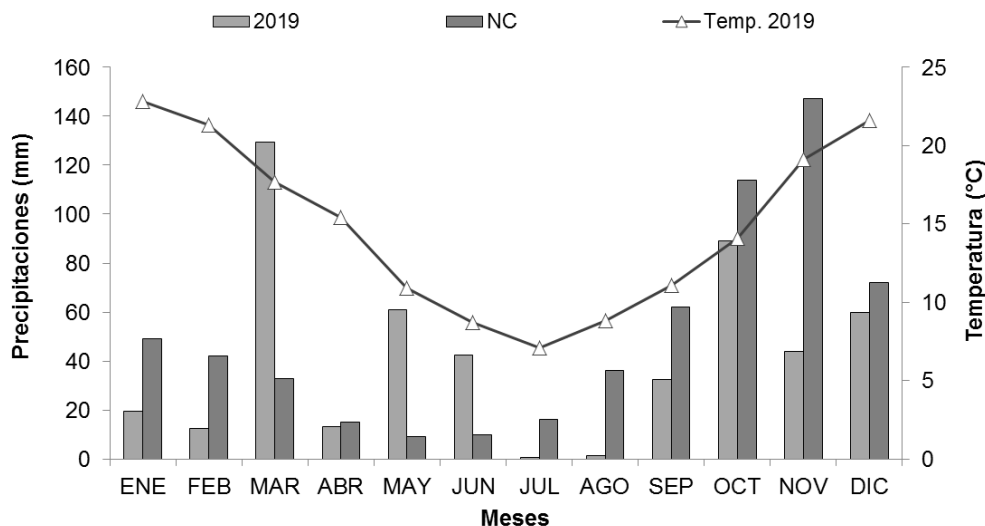


Figura 23. Precipitación mensual y temperaturas medias mensuales registradas durante 2019, precipitaciones históricas (1980-2019) y necesidad teórica del cultivo (NC).

Entre el extractante y los residuos no se encontró interacción ($p=0,16$), por lo que se evaluó en forma conjunta. Se observó una mejor respuesta del índice de verdor para las dosis altas de las SH aplicadas, sin diferencias entre ambos residuos empleados. La dosis baja de SH_{CmEC} también tuvo diferencias significativas respecto al testigo, siendo la dosis baja de SH_{CGPle} la única que no se diferenció estadísticamente ($p>0,05$) (Tabla 22). Los resultados se encuentran en coincidencia con lo reportado por Rodríguez Torres *et al.* (2010) quien observó que los efectos de la aplicación de SH sobre el trigo se debieron a la concentración. Por su parte, Kabeel *et al.*, (2008) encontraron que, la aplicación foliar de SH aumenta la síntesis de clorofila. También se han encontrado aumentos en la cantidad de nitrato en hoja de lechuga (Hernandez *et al.*, 2015). En general, con la aplicación foliar de SH, se favoreció la nutrición nitrogenada del trigo. El medidor de clorofila es una herramienta útil para monitorear el estado nitrogenado, debido a que la intensidad de color verde se relaciona con la concentración de clorofila y el N en la hoja (Martinez *et al.*, 2015).

Tabla 22. Índice de verdor (media \pm desvío estándar) según tratamiento y dosis.

Residuo	Nomenclatura	Dosis	IV	
Testigo		-	38,70 \pm 2,14	b
CGPle	SH _{CGPle}	B	38,67 \pm 1,45	b
CGPle		A	41,93 \pm 2,24	a
CmEC	SH _{CmEC}	B	41,67 \pm 1,73	a
CmEC		A	41,03 \pm 1,07	a

SH: sustancias húmicas; CGPle: cáscara de girasol con Pleurotus; CmEC: compost estiércol bovino y cebolla. A: dosis alta; B: dosis baja. IV: índice de verdor.

La producción de MS mostró un efecto positivo y significativo para todos los tratamientos en comparación al testigo ($p < 0,05$). Se observó una mayor producción de MS con la dosis alta, siendo el SH_{CGPle} el que presentó mayor respuesta (Figura 24a). Numerosos estudios hacen referencia al efecto bioestimulante de las SH, mostrando efectos positivos sobre el crecimiento y la fisiología de la planta (Nardi *et al.*, 1988; Schiavon *et al.*, 2008; Pizzeghello *et al.*, 2013, Canellas & Olivares, 2014; Nardi *et al.*, 2016). Huelva *et al.*, (2002) también reportaron efectos positivos de la aplicación foliar de diluciones de SH a partir de vermicompost, lo que verifica su efecto bioestimulante al igual que los resultados hallados en el presente estudio.

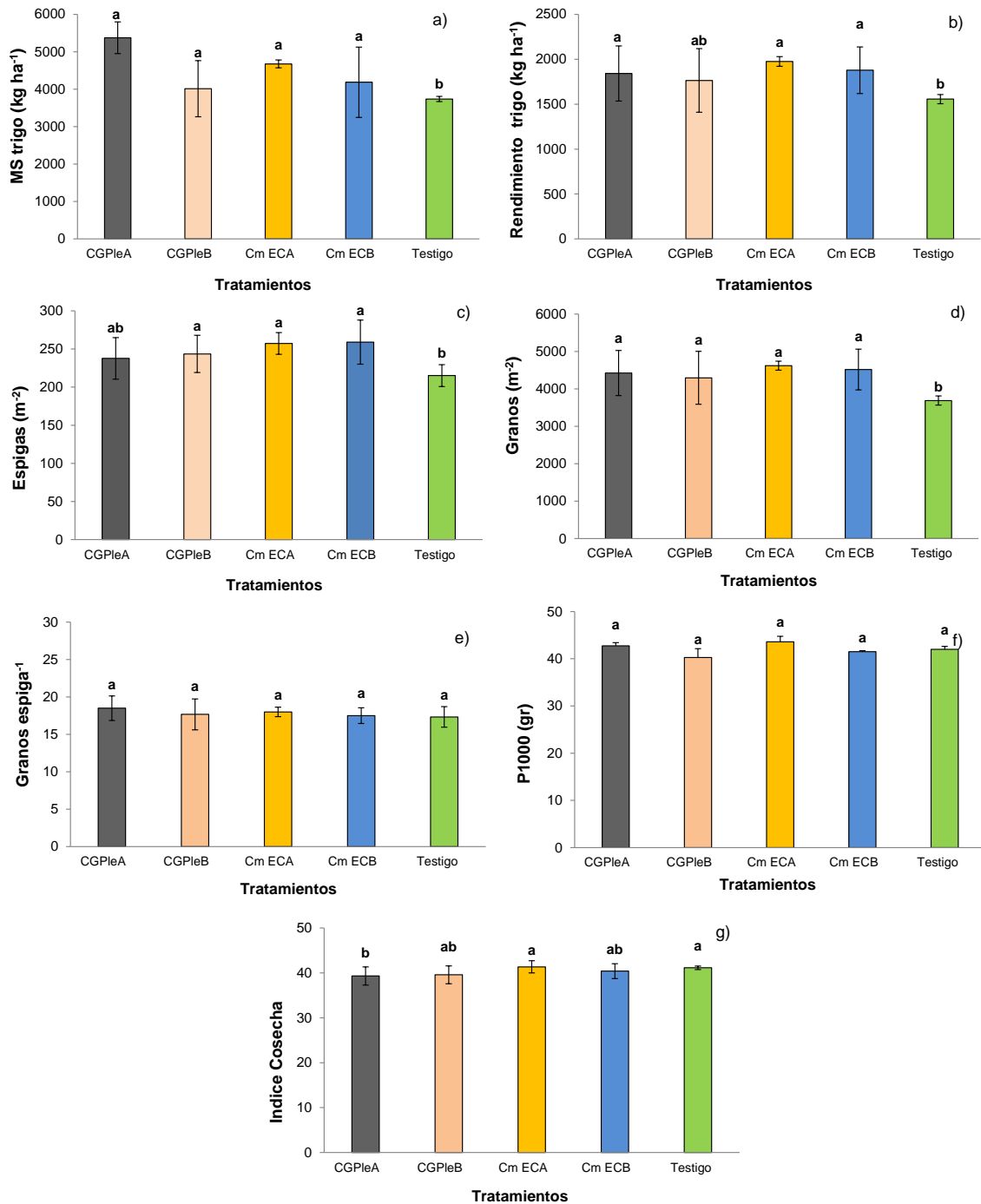


Figura 24. a) Producción de materia seca (MS); b) rendimiento; c) espigas por m⁻²; d) granos por m⁻²; e) granos por espiga⁻¹; f) peso de mil granos (P1000); g) índice de cosecha, según los tratamientos. Letras diferentes indican diferencias significativas para cada uno de los parámetros evaluados. Barras verticales indican el desvío estándar.

En cuanto al rendimiento en grano del trigo, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para casi todos los tratamientos con respecto al testigo,

a excepción de la dosis baja de las SH_{CGPIe} (Figura 24b). Como puede observarse en la Figura 24c en el número de espigas m⁻² se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para todos los tratamientos en relación al testigo salvo por la dosis alta de CGPIe, para el caso de los granos m⁻² (Figura 24d), todos los tratamientos mostraron un efecto positivo, diferenciándose del testigo ($p < 0,05$). En el Índice de Cosecha (IC), solo la dosis alta de SH_{CGPIe} se diferenció del testigo (Figura 24g). En el caso de las variables granos espiga⁻¹ y P1000 (Figura 24e, 24f), no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$). La etapa reproductiva del trigo es la más importante en términos de generación de componentes del rendimiento. Durante esta etapa queda definido el número de espigas m⁻² y el número de granos espiga⁻¹, ambos componentes centrales del número de granos por unidad de área, así las condiciones ambientales que se presentan durante este período crítico incidirían de manera importante en el número final de granos establecidos (Miralles, 2004). Sin embargo, a pesar del estrés hídrico sufrido por el cultivo durante todo su ciclo (Figura 23), la aplicación foliar de SH mostró efectos positivos para MS, rendimiento, espiga m⁻² y granos espiga⁻¹, por lo que podría ser una estrategia de manejo para el trigo en esta región. Según Kellós *et al.*, (2008), se ha demostrado la importancia de los sistemas de defensa antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos durante el estrés por sequía. Azevedo & Lea (2011) señalan que las plantas sometidas a estrés por sequía mostraron capacidad de ajuste osmótico al mantener la absorción de agua y la turgencia celular en respuesta a la adición de SH.

CONCLUSIONES

La aplicación de RO sin una transformación adecuada que ofrezca propiedades consideradas positivas para su utilización como EO puede generar efectos contrarios a los deseados, como una disminución en la producción, independientemente del residuo y la tasa de aplicación. La producción de trigo parece estar relacionada principalmente con el componente orgánico de los residuos, es decir, MO, CO, relación C:N, pH y Nt. Sin embargo, las SH extraídas de tales residuos aplicadas en semilla, favoreció el desarrollo del trigo en estadios tempranos.

Las técnicas espectrométricas, como UV-Visible y FT-IR, son útiles para una mejor comprensión de la caracterización de RO y verificar el efecto potencial de su aplicación directa o de sus SH- como bioestimulantes del crecimiento vegetal.

Las propiedades químicas de las SH obtenidas varían según el tipo de extractante utilizado (NaOH o KOH), sin embargo, estas diferencias no se reflejaron en el UV-vis y ni en la productividad del cultivo de trigo.

La aplicación foliar de SH extraídas de residuos agroindustriales biotransformados sobre trigo, también tuvo efectos positivos sobre el IV, producción de MS, rendimiento, espigas m^{-2} y granos m^{-2} , revistiendo mayor influencia la dosis de SH utilizada que su composición.

En zonas semiáridas, donde existen déficits hídricos debido a la erraticidad en las precipitaciones, la aplicación foliar de SH podría considerarse una alternativa para mejorar la productividad debido a sus efectos bioestimulantes y a una mayor tolerancia al estrés hídrico.

La obtención de SH a partir de RO sería una alternativa promisoría con una importante implicancia ambiental positiva. Se posiciona como una alternativa de valorización de los residuos agroindustriales, con la consecuente disminución del riesgo ambiental que implican su uso y/o disposición incorrectos.

Capítulo V

Conclusiones y consideraciones finales

Los resultados obtenidos en esta investigación, permitieron conocer y proponer pautas para utilizar de manera más eficiente y ambientalmente responsable los principales RO generados en la región del SOB. Los diferentes estudios realizados abordaron, diferentes aspectos a considerar para la correcta utilización de RO en los sistemas agrícolas de la región. Los resultados obtenidos tanto a campo como en el laboratorio, junto a la bibliografía consultada, permitieron aceptar o rechazar las hipótesis planteadas, que se detallan a continuación:

Hipótesis 1: *El conocimiento de las propiedades químicas y espectrométricas de los materiales orgánicos otorga información útil para predecir su biodegradabilidad y su efecto sobre la calidad del suelo, para ser utilizados como EO.*

Se pudo comprobar que el análisis combinado de propiedades químicas y espectrométricas mejora el entendimiento del nivel de complejidad estructural de los materiales, otorgando información relevante al momento de definir sus aptitudes de uso como EO. La importancia de este mayor conocimiento radica en darle el uso más eficiente posible con el fin de mejorar la calidad del suelo considerando sus propiedades específicas. Además, a través de la integración de los análisis de caracterización propuestos, fue posible diferenciar los efectos de las transformaciones a las que los residuos fueron sometidos para adecuarlos y así utilizarlos como EO.

Hipótesis 2: *La dinámica de las transformaciones de las fracciones orgánicas y la disponibilidad de nutrientes será dependiente de las características propias del residuo aplicado y del tipo de suelo.*

Se verificó que tanto la calidad y la dosis del residuo utilizado, como la granulometría del suelo donde son aplicados, influyen en la dinámica de transformación de las fracciones orgánicas y la disponibilidad de nutrientes. Quedó en evidencia la complejidad de las interacciones entre los factores evaluados, por lo que para lograr el uso más eficiente y ambientalmente

responsable de los residuos, resulta necesario realizar estudios que permitan evaluar dichos procesos de manera integral.

Hipótesis 3: *La biotransformación genera cambios diferenciales respecto al material original, mejorando su calidad para la nutrición del trigo.*

Se evidenciaron los beneficios de las diferentes biotransformaciones sobre un residuo complejo como es la cáscara de girasol, principalmente por su elevada relación C:N y elevado contenido de lignina. Para que los procesos de biotransformación tengan el efecto deseado, de adecuar al RO para su uso como EO, será recomendable lograr una modificación a nivel de la composición molecular del residuo, que logre además, una relación C:N por debajo del umbral determinado en 38:1. Además, a través de la evaluación del cultivo de trigo, se confirmaron los efectos esperados por los resultados de los Capítulos 1 y 2.

Hipótesis 4: *La aplicación de SH extraídas de RO biotransformados tendrá efectos positivos sobre el cultivo de trigo principalmente en un ambiente semiárido, consolidándose como una alternativa de valorización para los residuos de la región.*

Se comprobó la viabilidad de obtención de SH a partir de RO y los efectos positivos sobre el cultivo de trigo en diferentes estadios de desarrollo. La utilización de SH obtenidas a partir de RO constituye una alternativa de valorización de dichos residuos con un doble efecto ambiental positivo, por un lado el aprovechamiento directo del residuo, por otro, la posibilidad de obtener SH a partir de fuentes renovables.

Hipótesis 5: *El extractante utilizado para la obtención de las SH tendrá características diferentes. El KOH tendrá mejores efectos sobre el cultivo de trigo respecto al NaOH, por el aporte de un nutriente esencial como es el K.*

Se pudo comprobar que las SH extraídas con NaOH tienen diferencias en sus propiedades con respecto a las extraídas con KOH para los mismos residuos. Sin embargo, esto no se tradujo en efectos diferenciales sobre el cultivo de trigo, donde no se encontraron diferencias entre los tratamientos, a pesar del aporte de K al utilizar KOH como extractante.

Hipótesis 6: *Las SH obtenidas de los residuos agroindustriales biotransformados aplicados al cultivo de trigo, tendrán efectos significativos sobre el desarrollo inicial, el balance de nutrientes y/o a la eficiencia en el uso del agua del suelo.*

A partir de la aplicación foliar de las SH en un cultivo de trigo, se pudo comprobar su efecto positivo sobre la mayoría de las variables evaluadas (IV, producción de MS, rendimiento, espigas m^{-2} y granos m^{-2}) que influyen directamente sobre la producción del cultivo. Al considerar las bajas precipitaciones del año del ensayo, se pudo comprobar sus efectos bioestimulantes, donde la dosis tendría mayor relevancia que la composición de las SH aplicadas. En zonas semiáridas, el efecto positivo en años con estrés hídrico, le otorga aun mayor relevancia.

A partir de lo visto a lo largo de la Tesis, queda en evidencia que para considerar la utilización de cualquier RO, hay que conocer sus características particulares, ya que su calidad va a definir su uso más eficiente. Igual importancia, tendrá conocer las propiedades del suelo al cuál será aplicado, así se podrán definir formas, dosis y momentos de aplicación más adecuados, acordes al objetivo de manejo.

Queda además expuesta la necesidad de abordar la actividad agropecuaria de una manera más holística, identificando que la solución a problemas existentes, puede estar dentro del mismo sistema productivo. De esta manera sería posible aprovechar los RO generados en la región para desarrollar productos de valor, a partir de su incorporación como nuevos insumos de la cadena productiva, así como aprovechar los RO como parte de las estrategias de

manejo de nutrición de cultivos, combinado con otras fuentes, naturales o sintéticas, que compensen posibles desbalances característicos de los RO y a su vez, colaboren a la recuperación y mantenimiento de la calidad y salud de los suelos en general. Cada vez más, es imprescindible una visión global del sistema como forma de recuperar los suelos degradados y abogar por una sostenibilidad productiva y ambiental.

ANEXO I

Tabla 23. Resumen de los residuos orgánicos utilizados para cada ensayo en cada capítulo de la tesis.

Capítulo I	Capítulo II		Capítulo III	Capítulo IV		
Caracterización	Ensayo I	Ensayo II	Ensayo I	Caracterización	Ensayo I	Ensayo II
17 RO	6 RO	3 RO	5 RO	6 RO	3 RO	2 RO
CG	CG	CG	CG	CG	CGPle	CGPle
CGPle	CGPle	CGCm	CGPle	CGPle	Al	CmEC
CGGan	CGGan	Al	CGGan	CGCm	EPLC	
CGUr	CGCm		CGUr	Al		
CGCm	Al		CGCm	EPLC		
CA	CmEC			CmEC		
CAPle						
CALen						
PA						
PAPle						
PAGan						
PALen						
Al						
CmEC						
EPLC						
Bg						
Bo						

Residuo orgánico (RO); sustancias húmicas (SH); cáscara girasol (CG); cáscara girasol con Pleurotus (CGPle); cáscara girasol con Ganoderma (CGGan); cáscara girasol ureolizada (CGUr); cáscara girasol compostada (CGCm); cascarilla arroz (CA); cascarilla arroz con Pleurotus (CAPle); cascarilla arroz con Lentinula (CALen); paja arroz (PA); paja arroz con Pleurotus (PA Ple); paja arroz con Ganoderma (PAGan); paja arroz con Lentinula (PALen); alperujo (Al); compost estiércol bovino con residuo de producción de cebolla (CmEC); lombricompost RSU (EPLC); bagazo (Bg); borra (Bo).

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, M.K. & Khizar, A. (2012). Microbial biomass carbon and nitrogen transformations in a loam soil amended with organic–inorganic N sources and their effect on growth and N-uptake in maize. *Ecological Engineering*, 39, 123-132.
- Abbasi, M.K., Hina, M., Khaliq, A., & Razaq Khan, S. (2007). Mineralization of three organic manures used as nitrogen source in a soil incubated under laboratory conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38(13-14), 1691-1711.
- Abril, A., Salas, P., Lovera, E., Kopp, S. & Casado-Murillo, N. (2005). Efecto acumulativo de la siembra directa sobre algunas características del suelo en la región semiárida central de Argentina. *Ciencia del suelo*, 23(2), 179-188.
- Albrecht, R., Petit, J. L., Terrom, G. & Périsol, C. (2011). Comparison between UV spectroscopy and nirs to assess humification process during sewage sludge and green wastes co-composting. *Bioresour Technol*, 102, 4495-4500.
- Albuquerque, J.A., González, J., García, D. & Cegarra, J. (2004). Agrochemical characterization of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour Technol* 91(2): 195-200.
- Alexander, R.A. (1994). Standards and guidelines for compost use. *Biocycle*, 35(12), 37-41.
- Allison, F.E. (1966). The fate of nitrogen applied to soils. *Advances in Agronomy*, 18:219-258.
- Alurralde, A. L., Imhoff, S., Gariglio, N. & Albers, A. B. (2021). Caracterización de abonos sólidos y líquidos derivados del compostaje de alperujo y restos de poda de olivares. *Ciencia del suelo*, 39(1), 94-111.
- Amiotti, N.M., Villamil, M.B. & Darmony, R.G. (2012). Agronomic and taxonomic consequences of agricultural use of marginal soils in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76 (2), 558-568.
- Anderson, J.E. & Ingram, J. (1989). *The tropical soil biology and fertility programme*, TSBF, C.A.B. Intern. (ed), Wallingford, UK. 171 pp
- Ansorena, J., Batalla, E. & Merino, D. (2015). Evaluación de la calidad y usos del compost como componente de sustratos, enmiendas y abonos orgánicos. Laboratorio Agroambiental Fraisoro. Fraisoro Etxaldea. 20159 Zizurkil Gipuzkoa.
- Antil, R.S., Bar-Tal, A., Fine, P. & Hadas, A. (2011) Predicting Nitrogen and Carbon Mineralization of Composted Manure and Sewage Sludge in Soil, *Compost Science & Utilization*, 19:1, 33-43,
- Atila, F. (2019). Lignocellulosic and proximate based compositional changes in substrates during cultivation of *Herichium erinaceus* mushroom. *Scientia Horticulturae*, 258, 108779.

- Ayuso, M., Hernandez, T., Garcia, C., & Pascual, J. A. (1996). Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. *Bioresource Technol*, 57 (3), 251-257.
- Azevedo, R. A. D., & Lea, P. J. (2011). Research on abiotic and biotic stress—what next. *Annals of Applied Biology*, 159 (3), 317-319.
- Ballardo Matos, C. V., 2016. Valorización de residuos sólidos orgánicos como sustrato para el crecimiento de *Bacillus thuringiensis* mediante fermentación en estado sólido: Aplicación a la Fracción Orgánica de Residuos Municipales para la producción de compost con efecto biopesticida. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- Balmori, D. M., Domínguez, C. Y. A., Carreras, C. R., Rebatos, S. M., Farías, L. B. P., Izquierdo, F. G. & García, A. C. (2019). Foliar application of humic liquid extract from vermicompost improves garlic (*Allium sativum* L.) production and fruit quality. *Int J. Recycl Org Waste Agric*, 8, 103-112.
- Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J. A. & Robledo, C. W. (2008). *Infostat: Manual del Usuario*. Córdoba. Editorial Brujas.
- Banger, K., Toor, G.S., Biswas, A., Sidhu, S.S. & Sudhir, K. (2010). Soil organic carbon fractions after 16-years of applications of fertilizers and organic manure in a Typic Rhodalfs in semiarid tropics. *Nutr Cycl Agroecosys* 86:391–399
- Bárbaro, L. A., Karlanian, M. A., Imhoff, S. & Morisigue, D. E. (2011). Caracterización de la turba subtropical del departamento Islas de Ibicuy (Entre Ríos, Argentina). *Agriscientia*, 28(2), 137-145.
- Barbazán, M., Del Pino, A., Moltini, C., Hernández, J. & Rodríguez, J. (2011). Caracterización de materiales orgánicos aplicados en sistemas agrícolas intensivos de Uruguay. *Agrociencia Uruguay*, 15(1), 82-92
- Bayer, C., Mielniczuk, J., Martin-Neto, L. & Ernani, P.R. (2002). Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. *Plant Soil* 238, 133– 140.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J. & Pavinato, A. (2004). Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(7), 677-683.
- Beltran, M. J., Brutti, L., Romaniuk, R., Bacigaluppo, S., Salvagiotti, F., Sainz-Rozas, H., & Galantini, J. A. (2016). Calidad de la materia orgánica y disponibilidad de macro y micronutrientes por la inclusión de trigo como cultivo de cobertura. *Ciencia del suelo*, 34(1), 67-79.
- Benbi, D.K. & Senapati, N. (2010). Soil aggregation and carbon and nitrogen stabilization in relation to residue and manure application in rice-wheat systems in northwest India. *Nutr Cycl Agroecosys* 87:233–247
- Benedicto Valdés, G.S., Montoya García, C.O., Vicente Hernández, Z., Ramírez Ayala, C. & Salvador Escalante Estrada, J.A. (2019). Incorporación de abonos orgánicos y liberación de C-CO₂ como indicador de la mineralización del carbono. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(18):513-522.

- Bernal, M. P., Navarro, A. F., Sanchez-Monedero, M. A., Roig, A. & Cegarra, J. (1998). Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biol Biochem*, 30(3), 305-313.
- Bettoni, M. M., Mógor, Á. F., Kogerastki, J. F., & Pauletti, V. (2016). Onion (*Allium cepa* L.) seedling growth using humic substances. *Idesia*, 34(2), 57-62.
- Blagodatsky, S., Blagodatskaya, E., Yuyukina, T. & Kuzyakov, Y. (2010). Model of apparent and real priming effects: linking microbial activity with soil organic matter decomposition. *Soil Biol Biochem*, 42, 1275-1283.
- Bono, A., & Alvarez, R. (2013). Nitrogen mineralization in a coarse soil of the semi-arid Pampas of Argentina. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59(2), 259-272
- Bray, R.H. & Kurtz, L.T. (1945). Determination of total, organic and available forms of phosphate in soils. *Soil Sci*. 59, 39-45.
- Bremner, J. M. (1996). Nitrogen – Total. En: Sparks, D.L. *Methods of Soil Analysis*, part 3. Ed. Chemical Methods, 1085-1123.
- Brown, S. & Leonard, P. (2004). Building carbon credits with biosolids recycling: Part II. *Biocycle*, September: 25-29.
- Burgess, C. & Thomas, O. (2007). *UV-visible Spectrophotometry of Water and Wastewater*, 1st ed. Elsevier Science, Boston.
- Calvo, P.; Nelson, L. & Kloepper, J.W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383: 3-41
- Cambardella, C.A. & Elliott, E.T. (1992). Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 777-783.
- Campitelli, P. & Ceppi, S. (2008). Chemical, physical and biological compost and vermicompost characterization: A chemometric study. *ChemometrIntell. Lab* 90: 64-71.
- Canellas, L. P., Dobbss, L. B., Oliveira, A. L., Chagas, J. G., Aguiar, N. O., Rumjanek, V. M. & Piccolo, A. (2012). Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. *Eur J Soil Sci*, 63(3), 315-324.
- Canellas, L. P., & Olivares, F. L. (2014). Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chem Biol Technol Agric*, 1(1), 1-11.
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., Aguiar, N.O., Jones, D.L., Nebbioso, A. & Mazzei, P. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticultrae*;196:15-27.
- Cardoso Prieto, E. C., (2016). Evaluación de abonos orgánicos en el cultivo biológico de la cebolla (*Allium cepa* L.) en el sur de la provincia de Buenos Aires (Argentina). Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- Cate, R.B.J. & Nelson, L.A. (1971). A simple statistical procedure for partitioning soil test correlation data into two classes. *Soil Sci Soc Am J* 35: 658-660.

- Cavalcante, I.H.L., Silva-Matos, R.R.S., Albano, F.G.A., da Silva Jr., G.B., da Silva, A.M. & Costa, L.S. (2013). Foliar spray of humic substances on seedling production of yellow passion fruit. *J. Food Agric. Environ.* 11, 301–304.
- Chefetz, B., Hatcher, P.G., Hadar, Y. & Chen, Y. (1996) Chemical and biological characterization of organic matter during com-posting of municipal solid waste. *J Environ Qual* 25: 776-785.
- Chen, Y., Gu, B., Leboeuf, E. J., Pan, H. & Dai, S. (2002). Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, 48, 59-68.
- Chen, Y., Senesi, N. & Schnitzer, M. (1977). Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Sci Soc Am J*, 41, 2352-358.
- Cheng, W.X., Johnson, D.W. & Fu, S.L. (2003). Rhizosphere effects on decomposition: controls of plant species, phenology, and fertilization *Soil Sci Soc Am J*, 67, pp. 1418-1427.
- Ciarlo, E., Cosentino, D., Heredia, O. & Conti, M.E. (2004). Efecto del uso del suelo sobre fracciones de la materia orgánica y cantidad de agregados estables. *Revista Científica Agropecuaria* 8(2): 15-23
- Clark, G. J., Dodgshun, N., Sale, P. W. G. & Tang, C. (2007). Changes in chemical and biological properties of a sodic clay subsoil with addition of organic amendments. *Soil Biol Biochem*, 39,112806-2817.
- Corbeels, M., Hofman, G. & Cleemput, O.V. (2000). Nitrogen cycling associated with the decomposition of sunflower stalks and wheat straw in a Vertisol. *Plant Soil*, 218, 71–324.
- Curvetto, N.R., Figlas, D., Gonzales, R.M. & Delmastro, S. (2005). Mushroom Growers' Handbook 2: Shiitake Cultivation, published by MushWorld, Seoul, Korea. 127-133.
- Dillchneider, A., Frasier, I., Funaro, D., Fernández, R., & Quiroga, A. (2019). Estrategias de fertilización nitrogenada para incrementar el rendimiento y proteína de trigo en la región semiárida pampeana. *Semiárida*, 29(1), 53-62.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. (2018). InfoStat versión (2018). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- De Bertoldi, M., Ferranti, M. P., L'hermite, P. & Zucconi, F. (1987). Compost: production, quality and use. Elsevier Applied Science. London,(41145), 853.
- De Neve, S., Gaona-Sàez, S., Daguiar, B.C., Sleutel, S. & Hofman, G. (2004). Manipulating N 328 mineralization from high N crop residues using on- and off-farm organic materials. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 127–134.
- De Nobili, M., Contin, M., Mondini, C. & Brookes, P.C. (2001). Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biol. Biochem.*, 33: 1163-1170.

- Della Greca, M., Monaco, P., Pinto, G., Pollio, A., Previtiera, L. & Temussi, F. (2001). Phytotoxicity of low-molecular-weight phenols from olive mill waste waters. *B. Environ. Contam. Tox.* 67: 352–359.
- Domeizel, M., Khaill, A. & Prudent, P. (2004). UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresour Technol* 94: 177-184.
- Duval, M., Galantini J.A., Iglesias, J.O., Canelo, S.; Martínez J.M. & Wall, L. (2013). Analysis of organic fractions as indicators of soil quality under natural and cultivated systems. *Soil Till Res.* 131: 11-19
- Duval, M., Sa Pereira, E.; Iglesias, J. & Galantini, J.A. (2014). Efecto de uso y manejo del suelo sobre las fracciones de carbono orgánico en un Argiudol. *Ciencia del Suelo* 32(1): 105-115
- Duval, M.E., (2015). Contenido, calidad y dinámica de las fracciones orgánicas como indicadores de calidad de suelos bajo diferentes manejos en siembra directa. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- Duval, M. E., Martínez, J. M., & Galantini, J. A. (2020). Assessing soil quality indices based on soil organic carbon fractions in different long-term wheat systems under semiarid conditions. *Soil Use Manag*, 36 (1), 71-82
- Duval, M.E., Moisés, J., García, R.J., Martínez, J.M.& Galantini, J.A. (2021). Cambios en las formas de fósforo en suelos enmendados con residuos agroindustriales. XI Congreso sobre Uso y Manejo del Suelo. Bahía Blanca- Argentina.
- Duval, M.E., Moisés, J., Martínez J.M; Garcia, R.J, & Galantini J.A. (2022). Dinámica de las fracciones orgánicas en suelos enmendados con residuos agroindustriales. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelos, Buenos Aires, Argentina.
- Duxbury, J.M., Smith, M.S. & Doran, J.W. (1989). Soil organic matter as a source and sink of plant nutrients. In: Coleman, DC; JM Oades & G Uehara. (Eds.), *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*. Honolulu, University of Hawaii Press. 2, 33-67.
- Eiza, M.J., Fioriti, N., Studdert, G.A. & Echeverría, H.E. (2005). Fracciones de carbono orgánico en la capa arable: efecto de los sistemas de cultivo y de la fertilización nitrogenada. *Ciencia del Suelo* 23: 59-68
- Escande, A.R.; Pereyra, V.R.; Pedraza, M.V.; Troglia C. & Quiroz F. (2002). Sclerotinia en girasol. *Revista Idia XXI (INTA)* 3:140-143
- Espinosa-Loréns, D. M. C., Fernández, D. A., López, D. M., Ramos, M. C. Y., Correa, O. & Álvarez, C. (2012). Determinación de sustancias húmicas en lixiviados de vertederos de residuos sólidos urbanos. *Revista Cubana de Química*, XXIV: 175–180.
- Fabrizzi, K.P., Morón, A. & García, F.O. (2003). Soil carbon and nitrogen organic fractions in degraded vs. Nondegraded Mollisols in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1831-1841.

- Ferro, N., Gallegos, A., Bultinck, P., Jacobsen, H.J., Carbo-Dorca, R. & Reinard, T. (2006) Coulomb and overlap self-similarities: A comparative selectivity analysis of structure–function relationships for auxin-like molecules. *J Chem Inf Model* 46:1751–1762.
- Galantini, J.A. & Rosell, R.A. (1997). Organic fractions, N, P, and S changes in a semiarid Haplustoll of Argentine under different crop sequences. *Soil Till. Res.* 42, 221-228
- Galantini, J.A. & Suñer, L. (2008). Soil organic matter fractions: analysis of Argentine soils. *337 Agriscientia*, XXV (1), 41-55.
- Ganguly, R.K. & Chakraborty, S.K. (2009) Assessment of qualitative enrichment of organic paper mill wastes through vermicomposting: humification factor and time of maturity. *Heliyon* 5(5): e01638
- Gee, G.W. & Bauder, J.W. (1986). Particle size analysis. En: Klute, A (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Agron. Monograph No. 9.* 2nd ed. ASA, Madison WI, 337–382.
- Ghosh, S., Lockwood, P., Daniel, H. King K., Hulugalle, N. & Kristiansen, P. (2010). Short-term effects of organic amendments on properties of a Vertisol. *Waste Manag Res*, 28(12), 1087-1095.
- Gonzalez Mateu, M., Sydorenko, O., Monetta, P., Parodi, E., Vázquez, F., & Correa, O. S. (2013). Conferencia: Aplicación de alperujo en suelos bajo producción de olivos en San Juan-Argentina: Su efecto sobre las comunidades microbianas edáficas.
- Guerrero-Ortiz, P.L., Quintero-Lizaola, R., Espinoza-Hernández, V., Benedicto-Valdés, G.S. & Sánchez-Colín, M.J. (2012). Respiration of CO₂ as an Indicator of Microbial Activity in Organic Fertilizers of Lupinus. *Terra Latinoamericana* 30: 355-362.
- Hansima, M.A.C.K., Jayaweera, A.T., Ketharani, J., Ritigala, T., Zheng, L., Samarajeewa, D.R., Nanayakkara, K.G.N., Ajith, C., Herath, Madhubhashini Makehelwala, K.B.S.N., Jinadasa, S.K., Weragoda Yuansong, W. & Weerasooriya, R. (2022) Characterization of humic substances isolated from a tropical zone and their role in membrane fouling. *J Environ Chem Eng* 10(3):107456.
- He, Z., Mao, J., Honeycutt, C. W., Ohno, T., Hunt, J. F. & Cade Menun, B. J. (2009). Characterization of plant-derived water extractable organic matter by multiple spectroscopic techniques. *Biol Fertil Soils*, 45, 609-616.
- He, Z. & H. Zhang (eds.). 2014. *Applied manure and nutrient chemistry for sustainable agriculture and environment.* Springer, New York, USA. Doi: 10.1007/978-94-017-8807-6
- Heal, O. W., Anderson, J. M. & Swift, M. J. (1997). Plant Litter Quality and Decomposition: An Historical Overview. In: Cadish, G. y Killer, K.E. (Eds.). *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition.*
- Helgason, B.L., Larney, F.J. & Janzen, H.H. (2005). Estimating carbon retention in soils amended with composted beef cattle manure. *Can. J. Soil Sci.* 85: 39-43.

- Hernandez, O.L., Garcia, A.C., Huelva, R., Martínez-Balmori, D., Guridi, F., Aguiar, N.O., Olivares, F.L. & Canellas, L.P., (2015). Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 225–232.
- Hernandez, T., Chocano, C., Coll, M. D. & Garcia, C. (2018). Composts as alternative to inorganic fertilization for cereal crops. *Environmental Science and Pollution Research* 26: 35340-35352.
- Herrick J.E. & Wander M.M. (1997). Relationships between soil organic carbon and soil quality in cropped and rangeland soils: The importance of distribution, composition, and soil biological activity. In: Lal R.; Kimbley J.M.; Follett R.F.; Stewart B.A. (eds.). *Advances in Soil Science: Soil Processes and the Carbon Cycle*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 405–425.
- Heymann, K., Mashayekhi, H. & Xing, B. (2005). Spectroscopy analysis of sequentially extracted humic acid from compost. *Spectros Lett*, 38, 293-302.
- Hirzel, J., Undurraga P. & Walter, I. (2010). Nitrogen mineralization and released nutrients in a volcanic soil amended with poultry litter. *Chilean J. Agr. Res.*, 70(1): 113-121.
- Hogg, D., Favoino, E., Centemero, M., Caimi, V., Amlinger, F., Devliegher, W., Brinton, W. & Antler, S. (2002). Comparison of compost standards within the EU, North America and Australia. *The Waste and Resources Action Programme (WRAP)*, Oxon, ISBN 1-84405-004-1.
- Honeycutt, C.W., Griffin, T.S., Weinhold, B.J., Eghball, B., Albrecht, S.L., Powell, J.M., Woodbury, B.L., Sistani, K.R., Hubbard, R.K., Torbert, H.A., Eigenberg, R.A., Wright, R.J. & Jawson, M.D. (2005). Protocols for nationally coordinated laboratory and field research on manure nitrogen mineralization. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 36, 2807-2822.
- Hou, X., Lv, S., Chen, Z. & Xiao, F. (2018) Applications of Fourier transform infrared spectroscopy technologies on asphalt materials. *Measurement* 121: 304-316
- Huang, G.F., Wu, Q.T., Wong J.W.C. & Nagar B.B. (2005). Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology* 97 (2006) 1834–1842.
- Huelva, R., Ruiz, E., Guridi, F., Garcés, N., Ramos, A., & León, P. (2002). Evaluación de la bioactividad del humus líquido obtenido a partir de vermicompost en el cultivo de la soya. *Encuentro Provincial de Agricultura Orgánica, ACTAF*.
- Iglesias Jiménez, E., Barral, M. T. & Marhuenda, F.C. (2008). Indicadores de la estabilidad y madurez del compost. En: Moreno, J & R Moral (Eds.). *Compostaje*. pp. 243-283. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- INTA, (2017) Reutilización de residuos sólidos y semisólidos del proceso de extracción de aceite de oliva como enmienda orgánica de suelos. *Ministerio de Agroindustria de la Nación, Argentina*.
- locoli, G. A., Pieroni, O. I., Gómez, M. A., Alvarez, M. B. & Galantini, J. A. (2017). Rapid characterisation of agro-industrial effluents for environmental fate by UV-visible and infrared spectroscopy from fractions obtained by centrifugation. *International J Environ Anal Chem*, 97(8), 756-767.

- locoli, G. A. (2018). Estudio integrado sobre la reutilización de residuos agropecuarios: caracterización, mineralización y capacidad fertilizante en suelos frágiles. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- locoli, G.A., Zabaloy, M.C., Pasdevicelli, G. & Gómez, M.A. (2019) Use of biogas digestates obtained by anaerobic digestion and co-digestion as fertilizers: Characterization, soil bio-logical activity and growth dynamic of *Lactuca sativa* L. *Sci Total Environ* 647:11-19.
- Kapoor A. & Viraraghavan, T. (1997). Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*, *Bioresour Technol* 61:221–227.
- Kellős, T., Tímár, I., Szilágyi, V., Szalai, G., Galiba, G., & Kocsy, G. (2008). Stress hormones and abiotic stresses have different effects on antioxidants in maize lines with different sensitivity. *Plant Biology*, 10(5), 563-572.
- Kirchmann, H. & Lundvall, A. (1993) Relationship between nitrogen immobilization and volatile fatty acids in soil after application of pig and cattle slurry. *Biol Fert Soils*, 15, 161–164.
- Krüger, H. R., Zilio, J. P., Frolla, F. D., & Pérez, E. A. T. (2021). Clima, rendimiento y contenido proteico del grano de trigo en la región semiárida Argentina. *Ciencia del suelo*, 39(1), 168-182.
- Lacasta, C., Benítez, M., Maire, N. & Meco, R. (2006). Efecto de la textura del suelo sobre diferentes parámetros bioquímicos. In VII Congreso SEAE: Agricultura y Alimentación Ecológica. Toledo, España.
- Laos, F., Satti, P., Walter, I., Mazzarino, M.J. & Moyano S. (2000). Nutrient availability of composted and non-composted residues in a Patagonian Xeric Mollisol. *Biol. Fertil. Soils*, 31: 462-469.
- Larney, F. J. & Angers, D. A. (2012). The role of organic amendments in soil reclamation: A review. *Canadian J Soil Sci* 92: 19-38
- Lasaridi, K. E. (1998). Compost Stability: A Comparative Evaluation of Respirometric Techniques. [PhD Thesis] Department of Civil Engineering, University of Leeds, Leeds, UK.
- Lasaridi, K., Protopapa, I., Kotsou, M., Pilidis, G., Manios, T. & Kyriacou, A. (2006). Quality assessment of composts in the Greek market: the need for standards and quality assurance. *Journal of Environmental Management*, 80(1), 58-65.
- Lazicki, P., Geisseler, D. & Lloyd, M. (2020). Nitrogen mineralization from organic amendments is variable but predictable. *J Environ Qual*, 49, 483-495.
- Leconte, M.C. (2010). Efecto del agregado de estiércol de gallina en el compostaje de aserrín y cascarilla de arroz. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Nordeste. Corrientes, Argentina.
- Li, Z., Ren, W., Liu, X., & Xie, L. (2013). Distributed consensus of linear multi-agent systems with adaptive dynamic protocols. *Automatica*, 49(7), 1986-1995.

- Lim, S.H., Lee Y.H. & Kang, H.W. (2013). Efficient Recovery of Lignocellulolytic Enzymes of Spent Mushroom Compost from Oyster Mushrooms, *Pleurotus* spp., and Potential Use in Dye Decolorization, *Mycobiology*, 41:4, 214-220, DOI: 10.5941/MYCO.2013.41.4.214
- López, F. M. (2017). Dinámica de la cobertura de residuos en suelos bajo siembra directa: relación con la humedad del suelo y la transformación de las fracciones orgánicas lábiles. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- López, F. M., Duval, M. E., Martínez, J. M., & Galantini, J. A. (2016). Porosidad de ustoles bajo siembra directa en el sudoeste bonaerense. *Ciencia del suelo*, 34(2), 137-184.
- López-Castro, R.I.; Delmastro, S. & Curvetto, N.R. (2008). Spent oyster mushroom substrate in a mix with organic soil for plant pot cultivation. *Micologia Aplicada International* 20(1):17-26.
- Malhi, S.S., Nyborg, M., Solberg, E.D., McConkey, B., Dyck, M. & Puurveen, D. (2011). Long-term straw management and N fertilizer rate effects on quantity and quality of organic C and N and some chemical properties in two contrasting soils in Western Canada. *Biol Fertil Soils*. doi:10.1007/s00374-011-0587-8
- Mandal, A., Patra, A.K., Singh, D., Swarup, A. & Masto, R.E. (2007). Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresour Technol* 98:3585–3592.
- Manna, M.C., Swarup, A., Wanjari, R.H., Ravankar, H.N., Mishra, B., Saha, M.N., Singh, Y.V., Sahi, D.K. & Sarap, P.A. (2005). Long-term effect of fertilizer and manure application on soil organic carbon storage, soil quality and yield sustainability under sub-humid and semi-arid tropical India. *Field Crops Res* 93:264–280
- Martínez, C. (1996). Potencial de la lombricultura: elementos básicos para su desarrollo. Carballo, A. y Bravo, S. (eds). Texcoco, MX. 140 p.
- Martínez, J.M. (2015). Eficiencia de uso y balance de nitrógeno en sistemas con trigo del sur bonaerense: dinámica en el suelo y nutrición del cultivo. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.
- Martínez, J.M., Galantini, J.A. y Landriscini, M.R. (2015). Eficiencia en el uso del nitrógeno del trigo en la región semiárida de Buenos Aires (Argentina): efectos de la dosis y momento de aplicación. *Agriscientia* XXXII: 15-27.
- Martínez J.M., Galantini J.A., Landriscini M.R., López F.M. & Duval, M.E. (2016). Fertilización nitrogenada en trigo de la región subhúmeda: eficiencia del uso del agua y nitrógeno. *Ciencia del Suelo* 34 (1): 81-93.
- Martínez, J. M., Galantini, J. A., Duval, M. E. & López, F. M. (2017a). Tillage effects on labile pools of soil organic nitrogen and relationships with wheat crop in a semi-humid climate: A long-term field study. *Soil Tillage Res*, 169: 71-80.

- Martínez, J. M., Galantini, J. A., Duval, M. E., López, F. M. & Iglesias, J. O. (2017b) Ajustes en la estimación de carbono orgánico por el método de calcinación en Molisoles del sudoeste bonaerense. *Ciencia del Suelo*, 35, 181-187.
- Martínez, J.M., Galantini, J.A., Duval, M.E.; Landriscini, M.R., García, R.J. & López, F.M. (2018a). Nitrogen mineralization indicators under semi-arid and semi-humid conditions: influence on wheat yield and nitrogen uptake. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(15): 1907-1921
- Martínez, J.M., Galantini, J.A. & Duval, M.E. (2018b). Contribution of nitrogen mineralization indices, labile organic matter and soil properties in predicting nitrogen mineralization. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18(1), 73-89.
- Martínez J.M., Duval, M.E., Moisés, J., García, R.J., Ruiz, M. & Galantini, J.A. (2020). Dinámica de fracciones orgánicas de nitrógeno con el agregado de residuos orgánicos biotransformados en suelos contrastantes. XXVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Corrientes, Argentina.
- Martínez J.M., Moisés, J., Duval, M.E., García, R.J., Postemsky, P. & Galantini, J.A. (2023). Potencial de mineralización de nitrógeno en suelos con 1 aplicación de cascara de semilla de girasol. *Revista FAVE*, en prensa.
- Martínez-Gutiérrez, A., Zamudio-González, B., Tadeo-Robledo, M., Espinosa-Calderón, A., Cardoso-Galvão, J. C., & Vázquez-Carrillo, M. G. (2022). Rendimiento de híbridos de maíz en respuesta a la fertilización foliar con bioestimulantes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(2), 289-301.
- Mazzarino, M.J. (1998). Ventajas y limitaciones del uso agrícola de residuos orgánicos con énfasis en biosólidos. *Actas XVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Córdoba.
- Mazzarino, M.J., Satti, P., Moyano, S. & Laos F. (2004). Compost de Biosólidos: efecto del tamizado sobre la inmovilización de nitrógeno del suelo. *Ciencia del Suelo (Arg.)*, 22(1): 19-26.
- Mazzarino, M.J & Satti, P. (2012). *Compostaje en Argentina: Producción, Calidad y Uso*. UNRN y Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires.
- Meneses, R. & Cerda, G. (2016) Utilización de Alperujo en la Alimentación Caprina. 34 p. Boletín INIA N°327. Centro Experimental Huasco, Centro Regional de Investigación Intihuasi. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Vallenar, Chile
- Miller, W. L. (1994). Chapter 7: Recent Advances in the Photochemistry of Natural Dissolved Organic Matter. Pag. 111-12. En Helz G R, Zepp R G, Crosby D G, (Eds) *Aquatic and Surface Photochemistry*. Lewis Publishers, Boca Raton, 552 pag.
- Miravalles, D. (2004). Consideraciones sobre ecofisiología y manejo de Trigo. *Información técnica de trigo*. Campaña, 1-7.
- Misra, A. K., Mehra, U. R., & Dass, R. S. (2006). Assessment of feeding urea ammoniated wheat straw on growth performance, feed intake and nutrient utilization in crossbred calves reared under stall-fed or grazing condition. *Cellulose*, 46(48.28): 22- 77.

- Moisés, J., Gómez, M. & Galantini, J.A., (2018) Residuos agroindustriales biotransformados: un residuo hecho fertilizante, un problema convertido en solución. En: Siembra directa en el SO Bonaerense (Ed. J.A. Galantini) págs. 151-156. Archivo Digital ISBN 978-987-778-272-1
- Moisés, J., Martínez, J. M., Duval, M. E., Iocoli, G. A., & Galantini, J. A. (2022a). Utilización de cascaras de girasol con diferentes transformaciones como potenciales enmiendas orgánicas en trigo pan. *Ciencia del Suelo*, 40(2).
- Moisés, J., Martínez, J. M., Duval, M. E. & Galantini, J. A. (2022b). Caracterización química y espectrométrica de residuos agroindustriales para su potencial uso como enmiendas orgánicas. *Ciencia del Suelo*, 40(2).
- Moisés, J., Martínez, J. M., Iocoli, G. A., Duval, M. E., & Galantini, J. A. (2022c). Spectrometric evaluation of biotransformed agro-industrial residues and their humic substances by UV-visible and infrared spectroscopy and their effect on winter wheat productivity. *International journal of recycling organic waste in agriculture*.
- Moisés, J., Martínez, J. M., Duval, M. E., F.M., López & Galantini, J. A. (2022d). Aplicación foliar de sustancias húmicas de residuos orgánicos biotransformados sobre trigo en un ambiente semiárido. XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Buenos Aires.
- Monetta, P. (2014). Situación de los residuos olivícolas en la provincia de San Juan. Experiencia piloto de co-compostaje de Alperujo con residuos agroindustriales local. Estación Experimental Agropecuaria del INTA San Juan. Curso y seminario "Aprovechamiento agrícola de residuos de la industria olivícola" San Juan 11 y 12 de marzo de 2014, En Orden, 2018.
- Moore, A. D., Alva, A. K., Collins, H. P. & Boydston, R. A. (2010). Mineralization of nitrogen from biofuel by-products and animal manures amended to a sandy soil. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 41(11), 1315-1326.
- Mora, V., Bacaicoa Zamarreño, A.M., Aguirre, E., Garnica, M., Fuentes, M. & García-Mina, J.M. (2010). Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. *J Plant Physiol* 167: 633-642.
- Moral Herrero, R. & Muro Erreguerena, J. (2008). En: Moreno Casco, J. y R. Moral Herrero (Eds.). *Compostaje*. Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp.: 353-378.
- Morillo, J.A., Antizar-Ladislao, B., Monteoliva-Sánchez, M., Ramos-Cormenzana, A. & Russell, N.J. (2009). Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Appl Microbiol Biotechnol* 82(1):25-39.
- Mosquera, C.S., Bravo, I. & Hansen, E.W. (2007). Comportamiento estructural de los ácidos húmicos obtenidos de un suelo andisol del departamento de Cauca. *Rev Colombiana Quím* 36(1):31-41
- Mubarak, A.R., Gali, E.A.M., Mohamed, A.G., Steffens, D. & Awadelkarim, A.H. (2010). Nitrogen mineralization from five manures as influenced by chemical composition and soil type. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 41, 1903-1920. Doi: 10.1080/00103624.2010.495802

- Mulvaney, R.L. (1996). Nitrogen-Inorganic forms. In: D.L. Sparks (Ed.), Methods of soil 385 analysis. Part 3. Chemical Methods (pp. 1123-1184). ASA, SSSA, CSSA, Madison WI.
- Murage, E. W., Voroney, P. R., Kay, B. D., Deen, B., & Beyaert, R. P. (2007). Dynamics and turnover of soil organic matter as affected by tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 71(4), 1363-1370.
- Nardi, S., Arnoldi, G. & Dell'Agnola, G. (1988). Release of the hormone-like activities from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. *Can J Soil Sci* 68: 563-567
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol Biochem* 34: 1527-1536
- Nardi, S., Carletti, P., Pizzeghello, D. & Muscolo, A. (2009). Biological activities of humic substances, in biophysicochemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems. In: Senesi, N.; Xing, B.; Huang, P.M., eds. Part I. Fundamentals and impact of mineral-organicbiota interactions on the formation, transformation, turnover, and storage of natural nonliving organic matter (NOM). John Wiley, Hoboken, NJ, USA
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73, 18-23.
- Nardi, S., Schiavon, M. & Francioso, O. (2021). Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. *Molecules* 26(8):2256
- Nieder, R. & Benbi, D.K. (2008). Carbon and nitrogen in the terrestrial environment. Springer, Heidelberg, 430p
- Niemeyer, J., Chen, Y. & Bollag, J.M. (1992). Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Sci Soc Am J* 56(1):135-140
- Oberson, A. & Joner, E.J. (2005). Microbial turnover of phosphorus in soil. En: Turner B L, Frossard E, Baldwin D S (Eds). Organic phosphorus in the environment. CABI, Wallingford, pag. 133-164 (432 pag).
- Olivares, F.L., Aguiar, N.O., Rosa, R.C.C. & Canellas, L.P. (2015). Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. *Sci. Hortic.* 183, 100–108.
- Olsen, S. R., Cole, C., Watanabe, F.S. & Dean, L. A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, U.S. Dep. of Agric. Circ. 939.
- Orden, L., (2018). Evaluación del proceso de compostaje de residuos sólidos orgánicos. Respuesta agronómica de su utilización en un cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.). Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.

- Panettieri, M., Moreno, B., de Sosa, L.L., Benítez, E. & Madejón, E. (2022). Soil management and compost amendment are the main drivers of carbon sequestration in rainfed olive trees agroecosystems: An evaluation of chemical and biological markers. *CATENA*, 214, 106258
- Paoloni, J.D. & Vázquez, R. (1985). Necesidades teóricas de los cereales de invierno y probabilidad de ocurrencia de las precipitaciones como base para el balance hídrico. *Anales de Edafología y Agrobiología*, XLIV: 1545-1556.
- Peuravuori, J. & Pihlaja, K. (1997). Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Anal Chim Acta* 337: 133-149
- Piccolo, A., Pellegrino, C., Trivellone, E., Van Lagen, B. & Buurman, P. (2002). Reduced heterogeneity of a lignite humic acid by preparative HPSEC following interaction with an organic acid. Characterization of Size-Separates by Pyr-GC-MS and ¹H-NMR Spectroscopy. *Environ Sci Technol* 36:76-84.
- Pierzynski, G. M. (1994). Plant nutrient aspects of sewage sludge. *Sewage sludge: Land utilization and the environment*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, 21-25
- Pizzeghello, D., Francioso, O., Ertani, A., Muscolo, A. & Nardi, S. (2013). Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of four humic substances. *J Geochem Explor* 129: 70-75
- Postemsky, P.D. & López-Castro, R.I. (2016) Aplicaciones de sustrato residual del cultivo de hongos en la producción hor-tícola. *Horticultura Argentina* 35(86): 44-63
- Postemsky, P. D., Lucaioli, V. S., Devalis, R., González Matute, R., Figlas, N. D., Kiehr, M., Cubitto M. A., Marinangeli, P.A. & Curvetto, N.R. (2017a). Pretratamientos de la cáscara de semilla de girasol para su utilización como sustrato de plantas. IV Congreso Internacional Científico y Tecnológico-CONCYT 2017.
- Postemsky, P. D., Bidegain, M.A., González-Matute, R., Figlas, N.D. & Cubitto, M.A. (2017b). Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. *Bioresour Technol* 231 (2017) 85–93.
- Pöthig, R., Behrendt, H., Opitz, D. & Furrer, G. (2010). A universal method to assess the potential of phosphorus loss from soil to aquatic ecosystems. *Environ Sci Pollut Res* 17: 497-504.
- Preusch, P. L., Adler, P. R., Sikora, L. J. & Tworkoski, T. J. (2002). Nitrogen and phosphorus availability in composted and uncomposted poultry litter. *J Environ Qual*, 31(6), 2051-2057.
- Qin, K. & Leskovar, D. I. (2020). Humic substances improve vegetable seedling quality and post-transplant yield performance under stress conditions. *Agriculture*, 10(7), 254.
- Quiroga, A.R., Buschiazzo, D.E. & Peinemann, N. (1996). Soil organic matter particle size fractions in soils of the semiarid Argentinean Pampas. *Soil Sci.* 161: 104-108.

- 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.
- Rajkhowa, D. J., Sarma, A. K., Bhattacharyya, P. N. & Mahanta, K. (2019). Bioconversion of agricultural waste and its efficient utilization in the hilly ecosystem of Northeast India. *Int J. Recycl Org Waste Agric*, 8, 11–20.
- Reddy, K.C., Reddy, S.S., Malik, R.K., Lemunyon, J.L. & Reeves, D.W. (2008). Effect of five-391 year continuous poultry litter use in cotton production on soil major nutrients. *Agronomy* 392 Journal, 100, 1047–1055.
- Reyes Sanchez, L. B., Horn, R. & Costantini, E.A.C. (Ed.), (2022). Sustainable soil management as a key to preserve soil biodiversity and stop its degradation. International Union of Soil Sciences [IUSS] Vienna, Austria
- Rivero, C. & Hernández, E. (2001). Efecto de la aplicación de dos tipos de compost en la evolución de CO₂ y la actividad de fosfatasa en un suelo inceptisol. *Venezuelos* 9: 24-32.
- Rodríguez Torres, M.D., Venegas González, J., Angoa, P.M.V. & Montañez Soto, J. (2010). Extracción secuencial y caracterización fisicoquímica de ácidos húmicos en diferentes compost y el efecto sobre trigo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1; 2, pp. 132-146, México
- Román, P., Martínez, M. M. & Pantoja, A., (2013). Manual de Compostaje del Agricultor, experiencias en América Latina, FAO.
- Romaniuk, R. & Giuffré, L. (2008). Influencia del sistema de manejo y los años de agricultura sobre distintas formas de carbono en un Argiudol vértico bajo producción hortícola. *Las fronteras de la física química y ambiental en Iberoamérica*. Pag. 169-173.
- Ros, G.H., Temminghoff, E.J.M. & Hoffland, E. (2011). Nitrogen mineralization: a review and 394 meta-analysis of the predictive value of soil tests. *Eur J Soil Sci* 62(1), 395 162-173.
- Rose, M.T., Patti, A.F., Little, K.R., Brown, A.L., Jackson, W.R. & Cavagnaro, T.R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Adv Agron* 124: 37-89.
- Sainz Rozas, H., Echeverría, H. E. & Angelini, H. (2011). Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de la región pampeana y extrapampeana argentina. *Ciencia del Suelo*, 29: 29-37.
- Salazar Sosa, E., Beltrán Morales, A., Fortis-Hernández, M., Leos Rodríguez, J. A., Cueto-Wong, J. A., Vázquez Vázquez, C. & Peña Cabriales, J.J. (2003). Mineralización de nitrógeno en el suelo y producción de maíz forrajero con tres sistemas de labranza. *Terra Latinoamericana*, 21(4), 569-575.
- Satorre, E.H. & Slafer, G.A. (1999). Wheat production systems of the Pampas. En: Satorre, EM *et al.* (eds.). *Wheat. Ecology and Physiology of Yield Determination*. Pp. 333-348. Editorial The Haworth Press Inc., New York, Estados Unidos

- Saunders, W. M. H. & Williams, E. G. (1955). Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. *J Soil Sci*, 6(2), 254-267.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. *BioTecnología*, 16(2): 14-46.
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., Biasci, A. & Riffaldi, R. (2001). Suitability of moist olive pomace as soil amendment. *Water Air Soil Pollut*, 128, 13-22.
- Satti, P. S. (2007). Biodisponibilidad de nitrógeno y fósforo en suelos volcánicos bajo bosque nativo, disturbados y enmendados. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Comahue, Argentina.
- Schiavon, M., Ertani, A. & Nardi, S. (2008). Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of TCA cycle and N metabolism in *Zea mays L.* *J Agric Food Chem* 56: 11800-11808
- Schmidt, E.S. & Amioti, N.M. (2015). Propiedades edáficas superficiales en sistemas de agricultura de conservación en la región pampeana semiárida sur. *Ciencia del Suelo* 33 (1), 79-88.
- Senn, T.L. (1991). Humates in Agriculture, Acres USA. Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS). IHSS.com: 2009
- Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R. & Brunetti, G. (1989). Spectroscopic and compositional comparative characterization of I.H.S.S. reference and standard fulvic and humic acids of various origin. *Sci Total Environ* 81–82: 143-156.
- Senesi, N., Plaza, C., Brunetti, G. & Polo, A. (2007). A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendments and effects on native soil humic substances. *Soil Biol Biochem*, 39(6), 1244-1262.
- Servili, M. & Montedoro, G. (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *Eur J Lipid Sci Tech* 104(9-10), 602-613
- Sharpley, A.N., Daniel, T., Sims, T., Lemunyon, J., Stevens, R. & Parry, R. (2003). Agricultural phosphorus and eutrophication. (2nd Edition). U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, ARS 149.44 pp.
- Shirshova, L.T., Ghabbour, E.A. & Davies, G. (2005) Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures. *Elsevier, Geoderma* 133; 204– 216.
- Siddique, M.T. & Robinson, J.S. (2003). Phosphorus sorption and availability in soils amended with animal manures and sewage sludge. *J Environ Qual*, 32: 1114-1121.
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A. & Paustian, K. (2002). Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant Soil*. 241(2), 155-176.
- Smith, S.R., Hall, J.E. & Hadley P. (1992). Composting sewage sludge wastes in relation to their suitability for uses as fertilizer materials for vegetable crop production. *Acta Hort.*, 302: 203-215

- Soil Survey Staff (2010). Keys to Soil Taxonomy, 11th ed. USDA-Natural Resources 22. Conservation Service, Washington, DC.
- Sommers, L.E. & Nelson, D.D.W. (1972). Determination of total phosphorus in soil. Soil Science Society of American Proceeding 36:902-904.
- Spaccini R., Piccolo, A., Conte, P., Haberhauer, G. & Gerzabek, M. H. (2002). Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. Soil Biol Biochem 34(12): 1839-1851.
- Spohn, M. & Kuzyakov, Y. (2013). Phosphorus mineralization can be driven by microbial need for carbon. Soil Biol. Biochem., 61: 69-75.
- Stanford, G. & Smith, S. (1972). Nitrogen mineralization potentials of soils. Soil Sci Soc Am J. 36, 465-472.
- Stevenson, F.J. (1986). Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley & Sons, 380 pag.
- Tan, K.H. (2003). Humic Matter in Soil and Environment, Principles and Controversies, Marcel Dekker, Inc. 270 Madi-son Avenue, New York.
- Thomas, B.W., Sharifi, M., Whalen, J.K. & Chantigny, M.H. (2015). Mineralizable nitrogen 406 responds differently to manure type in contrasting soil textures. Soil Sci Soc Am J., 79, 1396-1405.
- Tian, G., Granato, T. C., Cox, A. E., Pietz, R. I., Carlson, C. R. & Abedin, Jr. Z. (2009). Soil carbon sequestration resulting from long-term application of biosolids for land reclamation. J. Environ. Qual., 38:61-74.
- Toscano, P. & Montemurro, F. (2012). Olive mill by-products management. Olive germplasm—the olive cultivation, table olive and olive oil industry in Italy, 173-200.
- Trevisan, S., Pizzeghello, D., Ruperti, B., Francioso, O., Sassi, A., Palme, K., Quaggiotti, S. & Nardi, S. (2010). Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in Arabidopsis. Plant Biology 12: 604-614.
- Turner, C.L., Blair, J.M., Scharz, R.J. & Neel, J.C. (1997). Soil N and plant responses to fire, topography, and supplemental N in tallgrass prairie. Ecol 78:1832-1843
- Unión Europea (Decisión 2001/688/EC) Diario Oficial de las Comunidades Europeas L 242/17.
- Uddin, M.T., Islam, M.A., Mahmud, S. & Rukanuzzaman, M. (2009). Adsorptive removal of methylene blue by tea waste. J Hazard Mat 164(1):53-60.
- Ukalska Jaruga, A., Bejger, R., Debaene, G. & Smreczak, B. (2021). Characterization of Soil Organic Matter Individual Fractions (Fulvic Acids, Humic Acids, and Humins) by Spectroscopic and Electrochemical Techniques in Agricultural Soils. Agronomy, 11, 1067.

- Urrea, A., Wadham, J., Hawkings, J. R., Telling, J., Hatton, J. E., Yde, J. C., Hasholt, B., van As, D., Bhatia, M. P. & Nienow, P. (2019). Weathering dynamics under contrasting Greenland ice sheet catchments. *Front. Earth Sci.* 7: Article 299.
- Van Heerden, I., Cronjé, C., Swart, S.H. & Kotzé, J.M. (2002). Microbial, chemical and physical aspects of citrus waste composting. *Bioresour. Technol.*, 81: 71-76.
- Vasconcelos, A. C. F. D., Zhang, X., Ervin, E. H. & Kiehl, J. D. C. (2009). Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. *Scientia Agricola*, 66, 395-402.
- Veobides Amador, H., Guridi-Izquierdo, F. & Vázquez-Padrón, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos tropicales*, 39(4), 102-109.
- Vigil, M. F. & Kissel, D. E. (1995). Rate of nitrogen mineralized from incorporated crop residues as influenced by temperature. *Soil Sci Soc Am J.* 59: 1636- 1644. En: Moreno, J. y Moral, R. (Eds.). *Compostaje*. pp.359. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid
- Waldrip, M. H., He, Z., Todd, R. W., Hunt, J.F., Rhoades, M. B. & Cole, N. A. (2014). Characterization of Organic Matter in Beef Feedyard Manure by Ultraviolet-Visible and Fourier Transform Infrared Spectroscopies. *J Environ Qual*, 43, 690-700.
- Wang, W.J., Smith, C.J. & Chen, D. (2003). Towards a standardised procedure for determining the potentially mineralisable nitrogen of soil. *Biol Fertil Soils* 37, 362-374.
- Wang, Q., Awasthi, M.K., Zhao, J., Ren, X., Wang, M., Li, R. & Zhang, Z. (2018). Utilization of medical stone to improve the composition and quality of dissolved organic matter in composted pig manure. *J Cleaner Production* 197: 472-478
- Webb, J., Sørensen, P., Velthof, G., Amon, B., Pinto, M., Rodhe, L., & Reid, J. (2013). An assessment of the variation of manure nitrogen efficiency throughout Europe and an appraisal of means to increase manure-N efficiency. *Advances in agronomy*, 119, 371-442.
- Woiciechowski, A.L., Karp, S.G., Sobral, K., Carvalho, J.C., Letti, L.A.J, Soccol, V.T. & Soccol, C.R. (2014). Pretreatments strategies to enhance value addition of agroindustrial wastes. In: *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals*. (Brar, S.K.; Dhillon, G.S. & Soccol, C.R., eds.). Springer, New York. Pp. 29-49.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. & Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14: 415-421.
- Zambrano, A.J., Contreras, F.A., Paolini, J.E. & Rivero C (2011) Caracterización espectroscópica de enmiendas orgánicas. *Av Invest Agrop* 15(3): 67-85
- Zamuner, E. C., Lloveras, J. & Echeverria, H. (2015). Metodos agronómicos y ambientales de determinacion de fosforo para predecir riesgos ambientales en argiudoles. *Ciencia del Suelo*, 33(1), 55-64.
- Zarabi, M. & Jalai, M. (2012). Rate of nitrate and ammonium release from organic residues. *Compost Sci Util* , 20(4), 222-229.

- Zbytniewski, R. & Buszewski, B. (2005). Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. *Bioresour Technol* 96: 471–478.
- Zhang, X., Xi, B.D., Zhao, Y., Wei, Z.M., Li, Y. & Zhao, X.Y. (2013). Characteristics of organic nitrogen mineralization in organic waste compost-amended soil. *Huan Jing Ke Xue*, 34(6): 2448-55.
- Zibilske, L.M. (1994). Carbon Mineralization. En: Weaver, R.W.; S., Angle y P., Bottomley (Eds). *Methods of soil analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties*. Soil Sci. Soc. Am. Inc., Wisconsin, EEUU. Pp. 835-863.
- Zibilske, L.M., Clapham, W.M. & Rourke, R.V. (2000). Multiple applications of paper mill 426 sludge in an agricultural system: Soil effects. *J Environ Qual*, 29, 1975-427 1981.