

Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno y la producción de raíces en distintos cultivos de servicios y sus efectos sobre las reservas de C y N orgánico del suelo

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Priscila Pinto

Ingeniera agrónoma - Universidad de Buenos Aires - 2012

Lugar de trabajo: IFEVA – CONICET - FAUBA



FAUBA Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Gervasio Piñeiro

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía UDELAR, Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Co-director

Gerardo Rubio

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía UBA, Argentina.

Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Gervasio Piñeiro

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía UDELAR, Uruguay.

Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

JURADO

Fernando Salvagiotti

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agropecuarias UNC, Argentina.

Master Science en Producción Vegetal, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Doctor en Ciencias del Suelo y Agua, University of Nebraska-Lincoln, USA.

JURADO

Hernán E. Echeverría

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias UNMP, Argentina.

Master Science en Producción Vegetal, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

JURADO

Daniel Buschiazzo

Ingeniero Agrónomo, Departamento de Agronomía, UNS, Argentina.

Magister en Ciencias del Suelo, Universidad Nacional del Sur, Argentina.

Doctor en Ciencias Agrarias, Universität Hohenheim, Alemania.

Fecha de defensa de la tesis: 28 de marzo de 2018

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Agradecimientos

Les quiero agradecer a todos los que me acompañaron a lo largo de estos años, sin duda fueron los mejores de mi vida. Si, aunque los haya enloquecido con mis nervios y mi estrés, en el fondo estaba muy feliz y disfrutaba de toda esa locura (perdón por disimularlo). Les agradezco muchísimo que me hicieran sentir parte de un grupo gigante y hermoso que quería que todo me salga bien, que compartía mi alegría y disfrutaba del “fin de mi tesis” como si fuera la suya.

Definitivamente al que más enloquecí y torturé todo este tiempo fue a Pablo... Gracias mol por el aguante, la música y el amor. Gracias por escucharme y calmarme, por adivinar lo que quería (e.g. chocolates, pastelitos), por todas las veces que te pusiste a trabajar a la par mía con auriculares y en silencio sólo para hacerme compañía y por la infinidad de pequeñas cosas que se te ocurrieron hacer para que me sienta bien.

También le quiero agradecer muy especialmente a Gerva por ser mucho más que el mejor director del mundo entero. Gracias por tratar de sacar lo mejor de mi guiándome con paciencia y exigiéndome con mucha sutileza para que no me estrese. Gracias por correr conmigo para cumplir con los plazos; por revisarme los proyectos, resúmenes, capítulos y papers a cualquier hora, y por resaltar siempre lo bueno, aunque haya mucho por mejorar (“está buenísimo pri, me encantó! se imprime!!” decía... y la mitad del documento estaba en rojo jaja!). Gracias también a Gerardo, mi co-director, por sus aportes a la tesis y por todos sus consejos para realizar mi doctorado y planificar mis próximos pasos a seguir.

También quiero agradecerle al maravilloso grupo con el que trabajé en INIA La Estanzuela, Uruguay. A Santi Arana, Félix Gutiérrez, Jorge Sawchik (el ruso), Juani Díaz y Rodrigo Zarza por todas las reuniones que tuvimos y por el nacimiento del concepto “service crops”. A Fernando Lattanzi porque, aunque no lo formalizamos en los papeles, siento que ocupó el lugar de consejero de estudios desde el momento que ingresó a INIA. Con un entusiasmo increíble, Fernando buscaba que nos reunamos en cada uno de mis viajes de muestreo y le agradezco enormemente las ideas, los mapas conceptuales y la lista de figuritas pendientes que me dejaba de tarea para el próximo encuentro. A Santi, por el cariño y la buena onda que siempre me transmitió; por traer la voz de los productores a la mesa y mostrarme la aplicación inmediata que podían tener mis resultados. A Félix y al grupo de pasturas por toda su ayuda con los experimentos de leguminosas. En especial a Eduardo Calistro por su gran predisposición desde el primer día; por coordinar los muestreos y hacer que quede todo prolijito y ordenado; por los mates de la mañana y el café del mediodía; por las charlas y la radio que tanta compañía me hicieron mientras escaneaba las raíces. A Fredy, Martel, Dino y Miguel por hacer los cortes, sacar las muestras de raíces y ayudarme con el lavado durante tantas jornadas (estoy segura de que sin su ayuda todavía me quedarían muestras en el freezer). A Leo Silva, Marcelo Schusselin y al ruso por toda su ayuda en la Chacra 30. Especialmente a Leo que le tocó hacerse cargo de todos mis pedidos e hizo lo imposible para que las cosas salgan bien. Supongo que al principio no quería verme ni en figuritas porque cuando llegaba, empezaban las semanas de muestreo sin parar, de renegar con el tractor y la lluvia, y de aprovechar las horas de luz a todo ritmo; pero a medida que pasaron las campañas nos hicimos grandes amigos. Aunque nunca bajamos los decibeles,

organizábamos terribles juntadas con la gurizada y compensábamos. Extraño mucho ir a muestrear con Leo y todos los que fueron pasando por la sección (Mariela, Bruno, Nico y Rocío, otra gran amiga que me dejaron los muestreos); gracias por las charlas, las risas y el rocanrol que sonaba de fondo. A todos ellos les agradezco muchísimo su ayuda en el campo y en el procesamiento de muestras. También les agradezco a José Terra y Ethel Barrios por haberme recibido en INIA Treinta y Tres y por la buena predisposición con la que siempre atendieron mis pedidos. Finalmente, quiero agradecerle a Ana por encargarse de que siempre tuviera un cuarto en donde dormir, a las chicas de la cantina por los almuerzos y las viandas; y a todos los que alegraron mis estadías en el pabellón con juntadas, juegos, películas, zapadas y paseos (Rosina, Darío, Caro, Lau, Ricardo, Lucía, Valentina, Xime, Simone, Justin, Yeni, Vicky, Juan, Seba, Chucha, Emi, Peter, Andrés, Wilfredo, Carlos, Luiz, entre tantos).

También les quiero agradecer a mis amigos por todo el aguante y el amor que me dieron. A Marina y Pablito por todas las veces que insistieron para que me calme un poquito y nos juntemos a relajar; y también por las veces que entendieron mi necesidad de decir que no. A Gastón por invitarme a lo de Marina cuando era una simple pasante y por todos los años en los que fuimos las cuatro pelotitas de trapo más manijas del mundo. También por contagiarme las ganas de investigar, por todos los consejos y las charlas inspiradoras que siempre me dejan regulando. A Cele por ser la que más mates me cebó en todos estos años y la que aguantaba mi catarsis de cada día. A Luis por insistirme tanto en que confié en mí, por todos los consejos que me dio y por invitarme a las comidas más zarpadas del mundo. A Xime y Andre por todos los momentos que compartimos en la ofi y por los ejercicios después de trabajar, que motivaba Xime. A Ludmi, por aguantar el segundo pulso de catarsis del día en el viaje de vuelta en el 80. A Flor, Pau, Sofi, Juanfi, Lucio, Vicky, Bruno, Seba y Lu C, por la buena onda y por estar cerca. Todo el tiempo me hicieron sentir que si me caía iban a estar ahí para darme una mano. A Sole, Lucho, Elen y Dani por compartir la adrenalina del último año. A Ceci, Dani, Ale, Ro, Fer, Marian, Vivi, Facu DN, Pedro, Lu S, Sergio, Mati, Meli y Juli por hacer de la oficina de becarios un lindo lugar de trabajo; por los almuerzos y meriendas compartidos. A Bel, Lu y Agus por las juntadas, por todo lo que nos reímos y nos indignamos en esas charlas increíbles que duraban hasta el amanecer.

Gracias a mi familia por apoyarme, aún sin terminar de entender para qué seguía estudiando. A mi bro por la onda, el amor y la filosofía nocturna. A mi mamá, por contagiarme su energía para hacer un millón de cosas al mismo tiempo con una sonrisa, y a mi papá, su curiosidad por lo anecdótico (el “sabías que...” de cada cosa). A mis abuelas y abuelos por sobreestimarme y quererme tanto, por esperarme con los mates y la comidita más rica, y por los mensajitos que siempre me mandan para sentirlos cerca. A mis tías y tíos por acompañarme, a Agus, Mili y Emi por las aventuras compartidas y a mis primitos por invitarme a jugar.

A los docentes de ecología por todo lo que me enseñaron. A Marina por la pasión que tiene por todo lo que hace, por ser una gran fuente de inspiración y motivación. A Martín Aguiar por el apoyo y por valorar mi trabajo (me llena de orgullo). A Pedro Gundel por las charlas y consejos que me da cada vez que nos cruzamos. A Lau por motivar el trabajo en equipo dentro de la cátedra, por invitarme a los retiros de escritura. A María, Lucía, Vicky y todos los que formaron parte de descomponólogos en algún momento.

Gracias por enseñarme a leer los papers en profundidad y por las discusiones enriquecedoras que tuvimos en cada reunión. Aprendí muchísimo con ustedes y espero haber podido reflejar algo de todo eso en el capítulo 4 de esta tesis.

A Pao, Seba M, Gonza GA, Lu C, Mechi V, Tomi DC, Danilo, Juanma, Sol, Mica, Seba V, Geor, Hernán, Pedro, Pablo, Cami, Lauti y José C por las reuniones de grupo. Me divertí y aprendí mucho con ustedes, gracias por los consejos y las discusiones de cada reunión. A Lola por estar pendiente de que todo funcione bien, por recibirme siempre con una sonrisa y simplificarme las engorrosas tareas administrativas. A Mirta por toda su ayuda en el preparado de las cápsulas, por interesarse en nuestros proyectos y por buscar continuamente la forma de hacer el trabajo más prolijo y eficiente. A Sol y a Mica por ayudarme con el fraccionamiento de las muestras y con la puesta a punto del fraccionador automático; y por ayudarnos a armar el blog de divulgación de cultivos de servicios ¡Son las mejores community managers! A Waly por las charlas en el sucio y por ayudarme a terminar de moler las muestras a tiempo. A Marisol, Lau, Meli, Robert, Juanca, Nico, Marce, Lau y Andrea por su trabajo en la cátedra y en el IFEVA y por todos los favores que me hicieron.

A los que lucharon por una educación pública, gratuita y de calidad, y a los que la defienden. A los que promovieron el desarrollo de la ciencia en el país y, entre otras cosas, posibilitaron que muchos accedamos a una beca para realizar un posgrado. A UBA, INIA y CONICET.

Finalmente, les quiero agradecer a los tres revisores de mi tesis, Fernando Salvagiotti, Daniel Buschiazzo y Lalo Echeverría. Sus correcciones y sugerencias fueron muy valiosas para mejorar la calidad de la tesis y la de los artículos que estoy escribiendo. Tanto a ellos como al personal de la Escuela para Graduados, les agradezco enormemente que hayan hecho todo lo posible para que defienda la tesis antes del 1° de abril y hoy pueda disfrutar de mi beca postdoc. Especialmente, Alicia Hirschhorn, María Laura Quiroga, Mabel Bressán, Carolina Espinoza y a los integrantes de la Comisión Académica y de Doctorado.

Índice general

1. Capítulo 1 – Introducción	1
1.1. Introducción.....	2
1.2. Cultivos de servicios: una alternativa para aumentar la provisión de servicios ecosistémicos en la Región Pampeana	4
1.2.1. Cultivos de servicios para aumentar el nitrógeno del suelo.....	5
1.2.2. Cultivos de servicios para aumentar el carbono orgánico del suelo	5
1.3. Objetivos y organización de la tesis	6
2. Capítulo 2- Cultivos de servicios de leguminosas: Entradas de nitrógeno y carbono al suelo mediante la fijación biológica y la biomasa subterránea	8
2.1. Introducción.....	9
2.2. Metodología.....	11
2.2.1. Sitio de estudio.....	11
2.2.2. Descripción del experimento.....	11
2.2.3. Biomasa aérea y subterránea.....	12
2.2.4. Estimación de la proporción de N derivada de la atmósfera (%Ndfa).....	12
2.2.5. Análisis estadísticos	12
2.3. Resultados	13
2.4. Discusión	17
2.5. Conclusiones	20
3. Capítulo 3 - Caracterización de distintos cultivos de servicios mediante rasgos relacionados con funciones ecosistémicas	21
3.1. Introducción.....	22
3.2. Materiales y Métodos	24
3.2.1. Sitio de estudio.....	24
3.2.2. Descripción del experimento.....	24
3.2.3. Estimación de la biomasa aérea y subterránea de los cultivos.....	25
3.2.4. Análisis de los rasgos en función del índice ambiental.....	25
3.2.5. Análisis estadísticos	26
3.3. Resultados	26
3.4. Discusión	32
3.5. Conclusiones	34
4. CAPÍTULO 4- Humificación y descomposición de la materia orgánica del suelo bajo diferentes cultivos de servicios	35
4.1. Introducción.....	36
4.2. Materiales y métodos.....	39
4.2.1. Sitio de estudio.....	39

4.2.2.	Descripción del experimento.....	39
4.2.3.	Producción de biomasa y aportes de C y N al suelo	40
4.2.4.	Estimación de la descomposición y humificación de la materia orgánica particulada (POM) y la asociada a los minerales (MAOM).	40
4.2.5.	Análisis estadísticos	42
4.3.	Resultados	43
4.4.	Discusión	47
4.5.	Conclusiones	50
5.	CAPÍTULO 5 – Inclusión de cultivos de servicios en las rotaciones agrícolas: Síntesis y conclusiones generales	51
5.1.	Introducción.....	52
5.2.	Oportunidades e implicancias de la adopción de cultivos de servicios en la Región Pampeana	53
5.3.	Rasgos de los cultivos de servicios y su relación con la provisión de servicios ecosistémicos.....	55
5.4.	Inclusión de cultivos de servicios en los agroecosistemas: análisis cualitativo de su provisión de servicios ecosistémicos	57
5.5.	Diversificación espacial y temporal de los servicios que brindan los agroecosistemas: el rol de las mezclas	61
5.6.	Perspectivas futuras	62
6.	Bibliografía	64

Índice de cuadros

Cuadro 2-1- Información climática de los años 2012 y 2013 y promedio histórico de Colonia, Uruguay	11
Cuadro 2-2- Resumen de los efectos de la especie, el año y de su interacción (ExA) sobre diferentes variables estudiadas (valores-p, ANOVA).....	13
Cuadro 3-1- Caracterización climática del sitio de estudio.....	24
Cuadro 3-2- Resumen de los efectos de la especie, el año y de su interacción (ExA) sobre los rasgos biomasa aérea, biomasa subterránea y partición raíz/tallo de cultivos de servicios pertenecientes a las familias de leguminosas, gramíneas y crucíferas (valores-p, ANOVA).	26
Cuadro 3-3- Coeficientes de las regresiones lineales entre la biomasa total, aérea y subterránea, y la partición raíz/tallo y el índice ambiental. Las ecuaciones muestran los coeficientes de las rectas que mejor explican las relaciones, el r^2 representa el ajuste y se indica que la pendiente es significativamente distinta de 0 con (*).	28
Cuadro 4-1- Información meteorológica desde el año 2012 hasta el 2015 y el promedio histórico en el Depto. Treinta y Tres, Uruguay*	39
Cuadro 4-2- Caracterización de las entradas de biomasa, de C y de N al suelo que recibió cada una de las rotaciones del cultivo de soja con cultivos de servicios o con presencia de barbecho invernal (testigo). Para cada rotación se muestra el promedio y el desvío estándar de los aportes de C y N durante los 3 años realizados desde la biomasa aérea o subterránea producida por los cultivos de servicios y por la soja. En el caso del testigo, la biomasa de cultivos de servicios corresponde a la de las malezas que crecieron durante el periodo de barbecho. Los aportes totales corresponden a la suma de todos los aportes de C o N que recibió el suelo durante los 3 años, su relación C/N y $\delta^{13}\text{C}$	41

Índice de figuras

Figura 2-1- Partición raíz/tallo y producción de biomasa aérea y subterránea de 10 especies de leguminosas pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* en los años 2012 y 2013. En el panel (a) las cajas y bigotes muestran las particiones raíz/tallo de las diferentes leguminosas en cada año. La caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana. En el panel (b) las columnas muestran la biomasa aérea y subterránea que produjeron en promedio las distintas leguminosas en cada año y su error standard (n=4). En ambos paneles, las leguminosas se encuentran ordenadas de mayor a menor producción de biomasa aérea en el año 2013. 14

Figura 2-2 – Proporción del N derivado de la atmósfera (%Ndfa) y cantidad de N (total, NFB y absorbido del suelo) contenidas en la biomasa aérea y subterránea de 10 especies de leguminosas pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* en los años 2012 y 2013. En el panel (a) las cajas y bigotes muestran los %NFB, la caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana. En la tabla se muestran los Kg.ha⁻¹ de N total y los provenientes de la fijación biológica contenidos en la biomasa total de cada leguminosa. En el panel (b) las columnas muestran el promedio y el error standard del NFB y el N absorbido del suelo que presenta la biomasa aérea y subterránea en las distintas leguminosas. En todos los casos, se consideraron en conjunto los datos recolectados en los dos años (n=8) debido a que el año no tuvo efecto sobre las variables evaluadas; y las leguminosas se encuentran ordenadas de mayor a menor producción de biomasa aérea en el año 2013. 15

Figura 2-3- Relación entre el %N en la biomasa subterránea y el % N en la biomasa aérea donde cada punto corresponde al promedio de una especie en el 2012 (puntos grises) o en el 2013 (puntos negros) (a). En el gráfico de barras se presenta el promedio y error estándar del %N en la biomasa aérea y subterránea de cada especie en los años 2012 y 2013. Las leguminosas se encuentran ordenadas de izquierda a derecha en función de la biomasa aérea al igual que en la Figura 2.1 (b). 16

Figura 2-4 - Relación entre la biomasa aérea (Tn.ha⁻¹) y la relación raíz/tallo (a), %N de la biomasa total (b) o %N derivado de la atmósfera (%Ndfa) (c). Cada punto corresponde al promedio de una especie en 2012 (puntos grises) o en 2013 (puntos oscuros). En (a) y (b), las líneas representan el ajuste lineal de las relaciones: (a) $y = 0.42 - 0.03x$ $r^2 = 0.43$ y (b) $y = 3.34 - 0.18x$ $r^2 = 0.39$. En (c) la pendiente no es significativamente diferente de cero. 16

Figura 2-5 - Tabla resumen de las especies ordenados en función de sus rasgos. Las diez especies se encuentran ordenadas de mayor a menor de acuerdo a su capacidad para proveer servicios ecosistémicos. En cada columna, las especies que presentaron los valores más altos en cada rasgo se representan con color gris oscuro, las intermedios con gris claro (cuatro especies) y las de los valores más bajos con blanco. 19

Figura 3-1- Partición raíz/tallo y producción de biomasa aérea y subterránea de 8 especies pertenecientes a las familias de gramíneas (*Avena* o *Lolium*), crucíferas (dos cultivares de *Raphanus*) o leguminosas (*Trifolium* o *Vicia*) en los años 2013, 2014 y 2015. En el panel superior las cajas y bigotes muestran las particiones raíz/tallo, la caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana (a). En el panel inferior las columnas muestran la biomasa aérea (en valores positivos) y la subterránea (en valores negativos) que produjeron en promedio las distintas especies en cada año y su error standard (n=4) (b). En ambos paneles, las especies se encuentran agrupadas por familia. 27

Figura 3-2- Rasgos de diferentes cultivos de servicios de leguminosas, gramíneas y crucíferas en función del índice ambiental. Los rasgos representados en los paneles son la biomasa total (a), la biomasa aérea (b), la biomasa subterránea (c) y la partición raíz/tallo (d). El índice ambiental representa el promedio de la biomasa total de todas las especies en cada año

evaluado. En todos los casos las regresiones lineales fueron construidas considerando los valores de los 4 bloques de cada año y se las ecuaciones muestran en el Cuadro 3.3. 28

Figura 3-3- Índice de plasticidad que presentaron los diferentes cultivos de servicios en la biomasa aérea y subterránea. Para ambos rasgos, se consideraron en conjunto las estimaciones de los años 2013, 2014 y 2015 y el índice de plasticidad fue estimado con la ecuación “(Máximo–Mínimo)/Máximo” de la biomasa aérea (eje x) y de la biomasa subterránea (eje y) (Valladares 2000). 30

Figura 3-4- Producción de biomasa subterránea en las profundidades 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm. Se muestra la producción de biomasa subterránea promedio para los tres años, para el 2013, para el 2014 y para el 2015. 30

Figura 4-1– Cambios iniciales observados en el contenido de C y en la $\delta^{13}\text{C}$ de las fracciones POM y MAOM luego del laboreo y la aplicación de herbicidas sobre el campo natural, de 0-5 y de 5-15 cm de profundidad. En (a) se muestra el cambio en el contenido de C que presentó el suelo en el momento inicial del experimento con respecto al campo natural, en cada una de las fracciones y profundidades. En (b) se muestra la $\delta^{13}\text{C}$ de la POM del campo natural y la del momento inicial en cada una de las profundidades. En (c) se muestra la $\delta^{13}\text{C}$ de la MAOM del campo natural y la del momento inicial en cada una de las profundidades. 43

Figura 4-2 – Caracterización de las entradas de biomasa, de C y de N al suelo que recibió cada una de las rotaciones del cultivo de soja con cultivos de servicios o con presencia de barbecho invernal (testigo). Para cada rotación se muestra el promedio y el desvío estándar de los aportes de C y N durante los 3 años realizados desde la biomasa aérea o subterránea producida por los cultivos de servicios y por la soja. En el caso del testigo, la biomasa de cultivos de servicios corresponde a la de las malezas que crecieron durante el periodo de barbecho y para estimar sus aportes de C y N se utilizaron las concentraciones promedio de *A. strigosa*, *L. multiflorum* y *R. sativus*. Para estimar los aportes de soja de C y N se utilizaron las concentraciones promedio de *T. alexandrinum* y *V. sativa*. Los aportes totales corresponden a la suma de todos los aportes de C o N que recibió el suelo durante los 3 años, su relación C/N y $\delta^{13}\text{C}$, que fue evaluada en los cultivos de servicios y estimada para las malezas y el cultivo de soja, considerando su metabolismo fotosintético. 44

Figura 4-3 – Carbono en la fracción MAOM acumulado en los primeros 15 cm de profundidad del suelo ($\text{Tn C}\cdot\text{ha}^{-1}$). Las barras lisas de color gris oscuro muestran el $\text{C-MAOM}_{\text{viejo}}$ (C formado previo a la instalación del experimento); las barras lisas de color gris claro muestran el $\text{C-MAOM}_{\text{pom}}$ (C formado a partir de la POM vieja y nueva) y las barras ralladas el $\text{C-MAOM}_{\text{nuevo}}$ (C formado a partir de los cultivos presentes en la rotación). Las letras distintas muestran diferencias significativas o marginalmente significativas en $\text{C-MAOM}_{\text{nuevo}}$ ($p=0,09$) y C-MAOM ($p=0,08$) en los contenidos de C presentes en el campo natural, en el momento inicial y en las distintas rotaciones de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (testigo) luego de 3 años. Las profundidades 0-5 y 5-15 se muestran acumuladas en la profundidad 0-15 porque reflejan las mismas tendencias. 45

Figura 4-4 – Porcentaje de descomposición y de humificación del C en las fracciones POM y MAOM bajo las distintas rotaciones de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (testigo). El % descomposición se refiere a la proporción del C presente al inicio del experimento que es descompuesto luego de 3 años de sembrar cultivos (% de C_{viejo} remanente) y el % humificación a la proporción de las entradas de biomasa totales que quedan retenidas como C_{nuevo} en las distintas fracciones. Las letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos. La descomposición del $\text{C-MAOM}_{\text{viejo}}$ en las dos leguminosas presentó valores levemente negativos, por lo tanto, se asume que no hubo una descomposición detectable del $\text{C-MAOM}_{\text{viejo}}$ en el periodo estudiado. 46

Figura 4-5– Relación C/N y contenido de N en la POM en los primeros 5 cm de suelo y en la MAOM en los primeros 15 cm. Las letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos en la C/N-POM ($p=0,04$) y marginalmente significativas en el N-POM ($p=0,07$). En la POM se muestran los resultados hasta los 5cm de profundidad porque el %N en la profundidad de 5-15 no pudo ser detectado en una gran proporción de las muestras posiblemente, debido a concentraciones de N-POM muy bajas. 47

Figura 5-1- Rendimientos del cultivo de soja con un cultivo de servicio antecesor de gramínea, crucífera o leguminosa (eje y) en función del rendimiento de soja en el testigo, luego de un barbecho invernal (eje x). Los rendimientos de soja en el testigo 2600 Kg.ha^{-1} y 2052 Kg.ha^{-1} corresponden a los experimentos realizados en INIA-Treinta y tres de las campañas 2012/2013 y 2013/2014 (Capítulo 4), respectivamente, y los rendimientos del testigo 2748 Kg.ha^{-1} , 3104 Kg.ha^{-1} y 3314 Kg.ha^{-1} a los experimentos realizados en INIA-La estanzuela de las campañas 2015/2016, 2013/2014 y 2014/2015 (Capítulo 3), respectivamente. 54

Figura 5-2- Relación entre rasgos de los cultivos de servicios y procesos relacionados con la provisión de servicios ecosistémicos, relacionados con el control de la erosión, la formación de materia orgánica del suelo y la regulación del ciclo del N. Las flechas indican que el rasgo se encuentra positivamente relacionado con el proceso, \uparrow cuando la relación es muy fuerte y \nearrow cuando la relación es más débil. En ambas flechas, cuando se utiliza un mayor tamaño y grosor, existe un mayor nivel de confianza debido a la disponibilidad de evidencias científicas. Los guiones (-) indican la ausencia de un efecto claro (un efecto neutro). 56

Figura 5-3- Descripción cualitativa de servicios que proveen diferentes ecosistemas. La provisión de los múltiples servicios ecosistémicos que brinda un ecosistema natural (a) o agroecosistemas que incluyen diferentes cultivos (b-f) se ilustra mediante gráficos de tela de araña, donde la provisión de cada servicio se encuentra normalizada. Los servicios que se consideran son la provisión de alimentos (granos); la materia orgánica particulada (POM) y la asociada a los minerales (MAOM) que están relacionadas con el secuestro de C en el suelo y con los servicios emergentes del suelo que permiten mantener la producción en el largo plazo; la retención de nutrientes que disminuye el riesgo de contaminación de las napas de agua por lixiviación; las propiedades físicas del suelo que determinan la capacidad de infiltración y retención del agua en el suelo, y como consecuencia, previenen la erosión y disminuyen el riesgo de déficit hídrico en los cultivos; la mantención de la composición atmosférica, por medio de la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y el secuestro de C en el suelo, que contribuye con la mitigación del cambio global; la reposición de N que disminuye los insumos de fertilizante nitrogenado que se necesitan para la producción; la protección de la erosión que permite evitar la pérdida del suelo; la biodiversidad de los ecosistemas y el control de malezas mediante la competencia que disminuye la probabilidad de aparición de resistencias a los herbicidas. En (c) se muestra con línea punteada, la combinación en el tiempo de un cultivo de renta (soja) y una mezcla de cultivos de servicios. En la mezcla, se combinan en el espacio especies pertenecientes a la familia de las gramíneas (d); las leguminosas (e) y las crucíferas (f). 60

Abreviaturas

C: carbono

N: nitrógeno

N₂: N de la atmósfera

COS: carbono orgánico del suelo

NOS: nitrógeno orgánico del suelo

MOS: materia orgánica del suelo

POM: materia orgánica particulada

C-POM: contenido de carbono en la POM

C-POM_{nuevo}: C-POM formado a partir de los aportes de biomasa de los cultivos

C-POM_{viejo}: C-POM formado previo a la instalación del experimento

MAOM: materia orgánica asociada a los minerales

C-MAOM: contenido de carbono en la MAOM

C-MAOM_{nuevo}: C-MAOM formado a partir de los aportes de biomasa de los cultivos

C-MAOM_{pom}: C-MAOM formado a partir de la POM nueva o vieja

C-MAOM_{viejo}: C-MAOM formado previo a la instalación del experimento

%Ndfa: porcentaje de nitrógeno proveniente de la atmósfera

NFB: nitrógeno fijado biológicamente

Tn.ha⁻¹: Toneladas por hectárea

δ¹⁵N: abundancia relativa ¹⁵N/¹⁴N

δ¹⁵N_{ref}: δ¹⁵N de plantas de referencia, no fijadoras de N

δ¹⁵N_{leg}: δ¹⁵N de las leguminosas

δ¹³C: abundancia relativa ¹³C/¹²C

δ¹³C-POM_{inicial}: δ¹³C de la POM al inicio del experimento

δ¹³C-POM_{final}: δ¹³C de la POM al final del experimento

δ¹³C-MAOM_{inicial}: δ¹³C de la MAOM al inicio del experimento

δ¹³C-MAOM_{final}: δ¹³C de la MAOM al final del experimento

δ¹³C_{aportes}: δ¹³C de los aportes de biomasa

Título: Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno y la producción de raíces en distintos cultivos de servicios y sus efectos sobre las reservas de C y N orgánico del suelo.

Resumen

Los cultivos de servicios pueden incluirse en las rotaciones agrícolas para proveer servicios ecosistémicos que se han perdido en los sistemas de agricultura continua. Estos cultivos, que se siembran en los periodos entre cultivos de renta y no se cosechan (i.e. cultivos de cobertura, abonos verdes, etc.), podrían ser sembrados en la Región Pampeana, con efectos positivos a corto y largo plazo sobre la producción de los cultivos de renta. En esta tesis, se caracterizaron especies de cultivos de servicios de gramíneas, leguminosas o crucíferas en cuanto a sus rasgos y efectos sobre el C y el N de la materia orgánica del suelo (MOS). Para ello se realizaron tres experimentos: (1) se evaluaron la biomasa aérea y subterránea y los aportes de N fijado biológicamente (NFB) en diez especies de leguminosas mediante el método de abundancia natural de ^{15}N , durante dos años; (2) se evaluó el comportamiento de 8 especies de cultivos de servicios de gramíneas, leguminosas o crucíferas caracterizando su producción de biomasa aérea y subterránea, durante tres años; y (3) se evaluó el efecto acumulado de las rotaciones agrícolas con y sin cultivos de servicios sobre la formación y descomposición de la MOS, estimada mediante el uso de isótopos de ^{13}C en la MOS particulada (POM) y la asociada a los minerales (MAOM). Los resultados de esta tesis sugieren que: a) los aportes de NFB de las leguminosas aumentan en función de la biomasa aérea, pero esta respuesta satura cuando la biomasa es muy alta debido a una dilución de la concentración de N; b) la producción de biomasa subterránea está determinada principalmente por la especie y se mantiene relativamente constante entre años en las gramíneas y las leguminosas, pero aumenta en función de la producción de biomasa aérea en las crucíferas; c) las disminuciones en la MAOM de los sistemas agrícolas se deben tanto al aumento de las pérdidas por descomposición como a la baja humificación de los aportes de biomasa en la MAOM, pero las disminuciones en la POM se deben principalmente a las pérdidas por descomposición, ya que la humificación no es sustancialmente afectada; d) las rotaciones que incluyen cultivos de servicios de gramíneas aumentan la descomposición de la MAOM pero luego forman MAOM nueva sugiriendo un aumento en la velocidad de ciclado del C y e) las leguminosas, en cambio, no estimulan la descomposición del MAOM pero sí la descomposición de la POM y presentan altas tasas de humificación de sus residuos en la MAOM, logrando una alta formación de MAOM. La variabilidad observada en los rasgos que presentan las distintas especies y su impacto en la formación de MOS, resalta la importancia de seleccionar y evaluar a los cultivos de servicios considerando aquellos rasgos que se encuentren relacionados con los servicios ecosistémicos que se quieren mejorar.

Palabras clave: intensificación ecológica; cultivos de cobertura; servicios ecosistémicos; humificación del carbono, descomposición de la materia orgánica del suelo; nitrógeno fijado biológicamente, biomasa subterránea

Title: Nitrogen biological fixation and root biomass evaluation in different service crops and their effects on soil organic C and N.

Abstract

Service crops can be included in agricultural rotations to provide ecosystem services that have been lost in continuous agricultural systems. These crops, which are sown in between cash crops periods and are not harvested (i.e. cover crops, green manure, etc.), could be sown in the Pampean Region with positive short and long-term effects on the cash crops yields. In this thesis, service crops candidates (certain grasses, legumes, and crucifers species) were characterized in terms of their traits and effects on the C and N of soil organic matter (MOS). To achieve this goal, three experiments were carried out: (1) shoot and root biomass and the N biologically fixed contributions (NFB) in ten legume species were evaluated for two years using the ^{15}N natural abundance method; (2) shoot and root biomass were evaluated in 8 genotypes of grasses, legumes or cruciferous crops for three years; and (3) the cumulative effect of agricultural rotations, with and without service crops, on the MOS formation and decomposition was estimated through ^{13}C isotopes in the particulate (POM) and in the associated with minerals (MAOM) fractions after three years. Results suggest that: a) legumes NFB contributions increase with shoot biomass, but this response saturates at high biomass values due to N concentration dilution in the tissues; b) root biomass is determined mainly by the genotype (i.e. different species) and by shoot biomass in crucifers, but for grasses and legumes root biomass remains relatively despite changes in shoot biomass; c) MAOM decreases in agricultural systems are due both to high decomposition losses and low humification in the MAOM, while POM decreases are only explained by high decomposition losses since the humification is not substantially affected; d) agricultural rotations with service crops of grasses increase the MAOM decomposition but at the same time generate new MAOM, suggesting an increase in the C turn-over; and e) legumes stimulate the POM decomposition, but not MAOM decomposition, and promote MAOM formation through their high humification rates. The variability observed in different species traits and their impact on the MOS formation highlights the importance of evaluating and selecting traits in service crops to improve the targeted ecosystem services.

Keywords: ecological intensification; cover crops; ecosystem services; carbon humification, soil organic matter decomposition; nitrogen biologically fixed, root biomass

1. Capítulo 1 – Introducción

1.1. Introducción

La actual tendencia hacia la agricultura continua con baja rotación de cultivos representa un desafío importante para la sustentabilidad de la producción agropecuaria nacional e internacional. Los sistemas tradicionales de producción agropecuaria de la Región Pampeana consistieron en rotaciones de cultivos anuales con pasturas perennes durante gran parte del siglo XX (Soriano et al., 1991; Hall et al., 1992). Sin embargo, en las últimas décadas se han ido transformando en esquemas más simplificados que cuentan con menor diversidad de cultivos y dan lugar a periodos sin cultivos (barbechos) durante gran parte del año (Rubio 2011; Baeza et al. 2014; Pinto et al. 2017). Como consecuencia han surgido problemáticas tanto a escala global (e.g. disminución de la regulación del ciclo del agua y nutrientes y del secuestro de carbono (C), Foley et al. 2005) como local (e.g. pérdidas de materia orgánica del suelo (MOS), compactación y reducción de la capacidad de almacenaje de agua en el suelo; erosión y desertificación y degradación biológica del suelo (Coutinho et al. 2015)). Es por ello que resulta crucial diseñar agroecosistemas que permitan sostener la producción agrícola en el largo plazo y la provisión de servicios ecosistémicos diversos (Foley et al., 2003; Malézieux et al., 2009; Oliver et al., 2010).

En los agroecosistemas se suele maximizar la producción agrícola a expensas de la reducción de otros servicios ecosistémicos, pero es posible plantear alternativas que disminuyan este compromiso (Power 2010). Los servicios ecosistémicos son los beneficios que le brindan los ecosistemas a la sociedad y dependen de su estructura y funcionamiento (Millenium Ecosystem Assesment, 2005). En los agroecosistemas, la mayor parte de la energía absorbida se asigna a la producción de granos y como consecuencia se destina muy poca energía a otros servicios, como el de regulación de los ciclos de la materia. Para poder destinar más energía a otros servicios ecosistémicos, es necesario disminuir la producción de granos o aumentar el ingreso de energía al ecosistema. Es por ello que diversos autores proponen aumentar la absorción de energía proveniente del sol mediante la siembra de cultivos que no sean de renta en los periodos de barbecho (Power 2010; Tittonell 2014). Mediante esta intensificación ecológica de los agroecosistemas es posible imitar el funcionamiento y la estructura que presentan los ecosistemas naturales (Jackson & Jackson 1999) para diversificar la provisión de distintos servicios ecosistémicos en el tiempo (Schipanski et al. 2014; Tittonell 2014; Gaba et al. 2015; Frasier et al. 2016; Pinto et al. 2017).

Recientemente, estos cultivos que se siembran en los periodos de barbechos y no se cosechan, comenzaron a ser denominados “cultivos de servicios”, pero esta práctica fue desarrollada con mucha anterioridad (Piñeiro et al. 2014; Pinto et al. 2017). La siembra de abonos verdes para aumentar la MOS y el nitrógeno (N) de suelo remonta desde 300 años a.c. (Pieters 1938). Desde principios del siglo XX, se siembran cultivos de cobertura para evitar la erosión del suelo y la lixiviación de los nutrientes. En sus inicios eran incorporados al suelo como abonos verdes (Pieters 1938) pero a partir de la adopción de la siembra directa, se comenzaron a utilizar herbicidas para interrumpir su ciclo (Mitchell & Tell 1976; Kemper & Derpsch 1980). Debido a que el término cultivos de cobertura sólo hace referencia a mantener el suelo cubierto para disminuir la erosión, en las últimas décadas se propusieron otras denominaciones para resaltar los diferentes beneficios que brindan: “cultivos trampa”, porque pueden disminuir las pérdidas de nutrientes por lixiviación, volatilización o desnitrificación (Thorup-Kristensen 1994); o “cultivos multipropósitos” debido a los diversos objetivos por los que pueden ser sembrados (Weil et al. 2009). Sin embargo, el uso de estas denominaciones es menos

frecuente y en la comunidad se reconoce la multifuncionalidad de los cultivos de cobertura, más allá de lo que su nombre sugiere.

En cambio, existe un interés creciente en adoptar el término “cultivos de servicios” porque más allá de resaltar la multifuncionalidad, proporciona un marco ecológico que puede ayudar a mejorar el manejo de los agroecosistemas. Por ejemplo, en varias reuniones y congresos organizadas por AAPRESID y AACREA, diferentes oradores comenzaron a discutir sus resultados dentro de este marco (Cosci et al. 2017; Díaz et al. 2017; Divito 2017). Los cultivos de servicios pueden restaurar la provisión de algunos servicios ecosistémicos que se pierden bajo agricultura continua y tienen impacto a distintas escalas. Por un lado, pueden reducir el impacto a escala global mediante el secuestro de C en la MOS (Liu et al., 2005; Ding et al., 2006; Olson et al., 2010) o la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero que ocurren durante los periodos de barbecho (i.e. óxido nitroso) (Wagner-Riddle & Thurtell 1998); o a escala regional por mantener el nivel de las napas (Nosetto et al. 2012) o evitar su contaminación reduciendo la lixiviación de nutrientes (Rosecrance et al. 2000; Kramer et al. 2002; Venkateswarlu et al. 2007; Bergkvist et al. 2011; Restovich et al. 2012). Por otro lado, pueden tener impactos a escala local, que a diferencia de los anteriores son directamente percibidos por los productores y pueden estimular su adopción.

En la escala local, los servicios ecosistémicos pueden ser percibidos en el largo plazo, como los que dependen del C orgánico del suelo (COS), o en el corto plazo, cuando permiten la reducción de subsidios de energía (i.e. insumos agrícolas). En el largo plazo, estos cultivos pueden aumentar la provisión de los servicios que emergen del suelo, por medio del aumento de la MOS y la mejora de las propiedades físicas del suelo (Dominati et al. 2010; Robinson et al. 2012; Banwart et al. 2016;). La MOS es un reservorio de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes para las plantas (Banwart et al., 2015) y está positivamente relacionada con la macroporosidad, el tamaño y estabilidad de los agregados y la densidad aparente (Bronick & Lal 2005). De estas propiedades físicas, emergen los servicios de infiltración y retención del agua en el suelo, que previenen la erosión y disminuyen el riesgo de déficit hídrico en el cultivo (Banwart et al. 2015). La mantención de estos servicios ecosistémicos resulta fundamental para el sostenimiento de la producción en el largo plazo. Sin embargo, en la Región Pampeana, gran parte de la producción se hace bajo arrendamiento y se prioriza obtener ganancias máximas en el corto plazo (Piñeiro & Villarreal 1999; Carolan 2005; Bert et al. 2011).

En cambio, el impacto que pueden tener los cultivos de servicios en el corto plazo mediante la reducción de subsidios puede motivar su adopción en la Región Pampeana. En general, el concepto de servicios ecosistémicos fue utilizado para comparar los servicios que se pierden cuando un ecosistema natural es transformado en un sistema productivo (Foley et al. 2005). Sin embargo, la agricultura continua conlleva el aumento de subsidios de energía, que es la energía que se agrega al agroecosistema con el fin de canalizar la energía del sol hacia la producción de granos (e.g. fertilizantes, herbicidas o insecticidas). Estos también pueden ser entendidos como servicios que brindan los agroecosistemas cuando no se encuentran deteriorados y que, al perderlos, requieren de la incorporación de energía externa para sostener la producción. En este sentido, la disminución de los subsidios mediante cultivos de servicios, puede ser percibida por los productores en el corto plazo e incentivar su adopción. Los cultivos de servicios permiten absorber una gran parte de la radiación del sol que generalmente se pierde durante los periodos de barbechos (Caviglia 2004). Por ejemplo, cuando el cultivo de servicios es una leguminosa permite disminuir el subsidio de la fertilización nitrogenada que aumenta la

proporción de la radiación incidente que es transformada en productividad primaria neta. Esto se considera un subsidio porque para que el N de la atmósfera (N_2) pase a estar disponible en el suelo y pueda ser absorbido por las plantas, se requiere energía: es necesario sintetizar el fertilizante en condiciones de alta temperatura y presión para romper el triple enlace del N_2 (método de Haber-Bosch) y además transportar y distribuir el fertilizante en el suelo. Pero el N_2 también puede pasar a estar disponible en el suelo a partir de la energía del sol mediante cultivos de servicios de leguminosas asociadas a bacterias fijadoras de N. Por medio de la fotosíntesis, éstas pueden transformar la energía lumínica en energía química, que puede ser utilizada por las bacterias fijadoras para romper los enlaces del N_2 (Kramer et al. 2002; Bergkvist et al. 2011).

1.2. Cultivos de servicios: una alternativa para aumentar la provisión de servicios ecosistémicos en la Región Pampeana

En la Región Pampeana la posibilidad de sembrar cultivos de servicios sin afectar los rendimientos de los cultivos de renta representa una oportunidad para la intensificación ecológica (Alvarez et al. 2017; Pinto et al. 2017). Los planteos de doble cultivo generalmente exponen al segundo cultivo a condiciones ambientales desfavorables que repercuten en el rendimiento (Calviño et al. 2003; Monzon et al. 2007). En cambio, los cultivos de servicios pueden ser interrumpidos en forma temprana de modo de disminuir la probabilidad de afectar negativamente al cultivo de renta. En este sentido, resulta fundamental garantizar un buen desarrollo del cultivo de servicio por medio de fechas de siembra tempranas, que incluso pueden ser previas a la cosecha del cultivo de renta anterior (Vos & van der Putten 1997; Barrios et al. 2015). De este modo se aprovechan las condiciones favorables del otoño (i.e. temperaturas y precipitaciones) y es posible exponer al cultivo de renta siguiente a mejores condiciones ambientales (Pinto et al. 2017).

A partir de la posibilidad de sembrar cultivos de servicios, surge la necesidad de caracterizarlos por medio de rasgos que se encuentren relacionados con funciones específicas. Por ejemplo, la biomasa aérea se encuentra relacionada con el control de la erosión; la biomasa subterránea, con la MOS y las propiedades físicas del suelo; y el N fijado biológicamente por las leguminosas, con los aportes de N al suelo (Herridge et al. 2008; Álvarez 2013; Jackson et al. 2017). Sin embargo, esta caracterización requiere mucho esfuerzo porque la comparación de los genotipos debe repetirse en diferentes sitios y años para diferenciar los efectos del genotipo (G), del ambiente (A) y de la interacción entre ambos (GxA) (Kang 1998). La interacción GxA ocurre cuando los genotipos responden diferente a la variación ambiental y dificulta la selección de los genotipos porque el ranking varía en los distintos ambientes. Es por ello, que durante el mejoramiento de los cultivos se busca combinar una alta producción de biomasa aérea con una baja interacción GxA para que sea estable entre años (Acikgoz et al. 2009; Loi et al. 2015).

A lo largo de esta tesis, se estudiaron diferentes especies de cultivos de servicios considerando algunos rasgos y funciones que hasta el momento han sido poco exploradas. Específicamente, los rasgos que se consideran son la producción de biomasa aérea y subterránea, y la capacidad de fijar N biológicamente; y las funciones relacionadas con la formación y descomposición de la MOS. En el diseño de los experimentos sólo se contempla la variación del ambiente generada por la fecha de siembra o las condiciones ambientales que varían entre años en un mismo sitio (e.g. temperatura, precipitación y duración del ciclo del cultivo). Es decir que el efecto del ambiente se estudia en forma

parcial porque no se consideran las variaciones entre el tipo de suelo o la disponibilidad de nutrientes que difieren entre sitios. Sin embargo, dado que la biomasa aérea es un rasgo muy plástico que responde a las variaciones interanuales del ambiente, permite comparar cómo responden otros rasgos al aumento de la biomasa aérea en diferentes cultivos de servicios.

1.2.1. Cultivos de servicios para aumentar el nitrógeno del suelo

La siembra de cultivos de servicios de especies leguminosas podría aumentar los contenidos de N en la MOS. En la Región Pampeana, los contenidos de N disminuyen debido a que la fertilización de los cultivos no compensa la exportación de N por medio de la cosecha de granos (Austin et al. 2006; Salvagiotti et al. 2009; García & González Sanjuan 2013). En este sentido, la siembra de cultivos de servicios puede mejorar los balances de N mediante los aportes de NFB los cuales dependen del %N derivado de la atmósfera (%Ndfa), del %N y de la biomasa producida.

En la Región Pampeana existen pocos trabajos que evalúen los aportes de NFB en cultivos de servicios y a su vez, estos consisten en mediciones indirectas como el contenido de nitratos en el suelo al final de su ciclo o por las diferencias en el contenido de N del cultivo siguiente (Diez et al. 2012; Rinaudo et al. 2012; Rillo et al. 2012). En este sentido, una medición más directa consiste en estimar los aportes de NFB a partir de la producción de biomasa, el % N y el %Ndfa. Para conocer el %Ndfa es posible usar el método de abundancia natural propuesto por Högberg (1997) y utilizado por diversos autores (Unkovich & Pate 2000; Robinson 2001; Hauggaard-Nielsen et al. 2012; Nebiyu et al., 2013). Este método consiste en comparar la abundancia relativa de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) en una planta fijadora que obtiene N tanto de la atmósfera como del suelo con el $\delta^{15}\text{N}$ de una planta no fijadora que obtiene todo su N del mismo suelo.

1.2.2. Cultivos de servicios para aumentar el carbono orgánico del suelo

La inclusión de cultivos de servicios en las rotaciones puede aumentar el carbono orgánico del suelo (COS) por medio del aumento de las entradas de C al suelo o la disminución de las salidas. En sistemas de cultivos anuales, las disminuciones en los contenidos de COS, generalmente se deben a los egresos o pérdidas de C del suelo por erosión, ocasionados por la baja cobertura presente en el barbecho (Sawchik et al. 2012), pero también a los bajos aportes de residuos vegetales de los cultivos. Los cultivos de servicios pueden incidir sobre ambos flujos en simultáneo: cubren el suelo y reducen las salidas por erosión y a la vez, aumentan las entradas de C al suelo mediante sus aportes de biomasa. En este sentido tanto la productividad de los cultivos de servicios como la composición química y la proporción de la biomasa total que es destinada a raíces finas y gruesas tienen influencia en la cantidad de C que ingresa al suelo y su humificación (Janzen et al. 1998; Baisden & Amundson 2003; Bolinder et al. 2007; Kong & Six 2010; Mazzilli et al. 2015).

Los cultivos de servicios de especies pertenecientes a las familias de las gramíneas, crucíferas y leguminosas han sido sembrados en la Región Pampeana con diversos objetivos (e.g. mejorar las propiedades físicas del suelo, mejorar el balance hídrico, proveer N) (Villamil et al. 2006; Varela et al. 2011; Diez et al. 2012; Restovich et al. 2012; Sawchik et al. 2012). Pero debido a que presentan rasgos muy distintos (e.g. producción de raíces, partición en raíces finas y gruesas, composición de la biomasa), resulta interesante evaluar su contribución en la formación de COS.

Generalmente, los efectos sobre los contenidos de COS no son consistentes y posiblemente esto se deba a que la comparación de los contenidos totales no es suficiente para abordar su heterogeneidad y complejidad. Para ello es posible utilizar una aproximación experimental que combine el uso de isótopos estables de ^{13}C con el fraccionamiento físico de la MOS para poder estudiar la descomposición y la humificación (i.e. formación de MOS) del COS en cada fracción (Piñeiro et al. 2012). La MOS puede separarse en dos fracciones en función del tamaño de partícula, las cuales se distinguen en su estructura, funcionamiento y tiempo de residencia del COS: materia orgánica particulada (POM > 50 μm) y materia orgánica asociada a los minerales (MAOM < 50 μm) (Bernoux et al. 1998; Cambardella & Elliot 1992; Christensen 2001). La POM está compuesta por restos vegetales y presenta una bioquímica muy similar a la broza, ya que únicamente las diferencia el tamaño de partícula (broza > 2 mm > POM). Por lo tanto, al igual que en la broza, la descomposición de la POM se encuentra limitada por la presencia de compuestos recalcitrantes (i.e. altos contenidos de lignina y relación C/N) y podría ser estimulada por el aumento en el N disponible (Knorr et al. 2005). En cambio, la MAOM está compuesta por productos derivados de los microorganismos que presentan bajo peso molecular y relación C/N. Estos compuestos presentan una protección física a la descomposición porque se encuentran adsorbidos a las arcillas y limos, ocluidos dentro de los agregados o asociados a metales del suelo y por lo tanto los microorganismos requieren mucha energía para descomponerlos (Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003).

Cambios tanto en las entradas, dadas por la humificación de los aportes de biomasa, como en las salidas, dadas por la descomposición del COS, pueden ser estimados con el método de dilución isotópica que se basa en las diferentes relaciones isotópicas ($\delta^{13}\text{C} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) que presentan las plantas con metabolismo fotosintético C_3 y C_4 . De este modo, cuando un campo natural con presencia de especies C_4 es transformado en un agroecosistema en donde sólo se siembran especies C_3 , es posible distinguir el C_{viejo} , que estaba presente en el campo natural, del C_{nuevo} que fue formado a partir de los cultivos C_3 (Balesdent & Balabane 1992; Desjardins et al. 1994; Angers et al. 1995). A su vez, las características de los cultivos de servicios que influyen en la descomposición y en la humificación del C de cada fracción de la MOS son muy diferentes (Janzen et al. 1998; Baisden & Amundson 2003; Bolinder et al. 2007; Kong & Six 2010). Los aportes de biomasa que más contribuyen a la formación de C en la POM (C-POM) son los que presentan un mayor tiempo de residencia en esta fracción debido a su difícil descomposición (i.e. biomasa subterránea y biomasa con alta relación C/N o contenido de lignina) (Melillo et al., 1982; Taylor et al., 1989; Enriquez & Duarte 1993). Mientras que en la MAOM la humificación de los aportes es mayor cuando presentan una estequiometría similar a la de los microorganismos descomponedores, es decir una menor relación C/N (Baisden & Amundson 2003; Manzoni et al. 2010; Cotrufo et al. 2013; Kirkby et al. 2013). En cambio, los residuos de mayor relación C/N, además de presentar una menor humificación pueden estimular la descomposición del C_{viejo} de la MAOM (efecto *priming* por energía) (Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003; Guenet et al. 2012; Mazzilli et al. 2014).

1.3. Objetivos y organización de la tesis

El objetivo general de esta tesis es caracterizar especies de cultivos de servicios pertenecientes a las familias de las gramíneas, leguminosas o crucíferas en cuanto a sus rasgos y efectos sobre el C y el N de la MOS. En el primer capítulo, se introduce el concepto de cultivos de servicios y el rol que podrían cumplir en los agroecosistemas

pampeanos. En el segundo capítulo, se caracterizan 10 especies de leguminosas de los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia*, y sus efectos potenciales sobre el C y el N de la MOS. Para ello se consideró la producción de biomasa aérea y subterránea y el contenido de N y de NFB, estimado a partir del método de abundancia natural de ^{15}N . En el tercer capítulo, se muestra la respuesta de la biomasa aérea y subterránea en función del ambiente en cultivos de servicios pertenecientes a las familias de las gramíneas, leguminosas o crucíferas. En el cuarto capítulo, se analizan los impactos que tienen distintas especies de cultivos de servicios sobre la formación y la descomposición en las fracciones POM y MAOM de la MOS. El último capítulo corresponde a la discusión general de la tesis, donde se discuten los principales mensajes de la tesis, sus implicancias y las proyecciones a futuro. Los objetivos específicos de cada capítulo son los siguientes:

Capítulo 2: El objetivo de este capítulo es estudiar en diez especies de leguminosas anuales invernales pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* durante dos años: (1.1) los efectos de la especie, del ambiente (distintos años) y de la interacción ExA sobre la producción de biomasa aérea y subterránea, el %N, el %Nd_{fa} y el NFB; (1.2) la relación de la partición R/T, el %N total y el %Nd_{fa} y la producción de biomasa aérea y; (1.3) realizar una caracterización de las 10 especies en función de su potencial capacidad para aumentar la provisión de servicios ecosistémicos relacionados con el ciclo del N y la formación de MOS en los agroecosistemas.

Capítulo 3: Los objetivos de este capítulo son: (2.1) comparar la producción de biomasa aérea, la partición raíz/tallo y la producción de biomasa subterránea a distintas profundidades en ocho cultivos de servicios de gramíneas, leguminosas o crucíferas, en 3 años diferentes; (2.2) estudiar la respuesta de estos rasgos para cada cultivo en función de un índice ambiental que caracteriza la productividad media del año y (2.3) comparar la plasticidad de la biomasa aérea y subterránea que presentan estas especies pertenecientes a distintas familias.

Capítulo 4: El objetivo de este capítulo es estudiar cómo afectan la descomposición y la humificación del C y los contenidos de N de la POM y la MAOM, cultivos de servicios de gramíneas, leguminosas o crucíferas, los cuales presentan diferentes características morfológicas (e.g. producción de raíces, partición en raíces finas y gruesas, calidad y composición química de la biomasa).

2. Capítulo 2- Cultivos de servicios de leguminosas: Entradas de nitrógeno y carbono al suelo mediante la fijación biológica y la biomasa subterránea

2.1. Introducción

Uno de los mayores desafíos para sostener la producción agrícola en el largo plazo es diseñar agroecosistemas que permitan mantener los contenidos de carbono (C) y nitrógeno (N) de la materia orgánica del suelo (MOS) (Power 2010; Tiftonell 2014; Banwart et al. 2015). Cuando los ecosistemas naturales son transformados en agroecosistemas, el C de la MOS disminuye entre un 20 a un 70% debido a las pérdidas por erosión o descomposición de la MOS, y a la disminución de las entradas, por la cosecha de granos y la baja producción subterránea que presentan los cultivos (Kell 2011; Bolinder et al. 2012; Crews & Rumsey 2017). En la Región Pampeana, a su vez, disminuye el N de la MOS porque la fertilización de los cultivos no compensa la exportación de N en la cosecha de los granos (Austin et al. 2006; Salvagiotti et al. 2009; García & González Sanjuan 2013). En este sentido, la posibilidad de sembrar cultivos de servicios durante los periodos de barbechos sin reducir el agua disponible a la siembra de los cultivos de renta, representa una oportunidad para aumentar el C y el N de la MOS en los agroecosistemas pampeanos (Alvarez et al. 2017; Pinto et al. 2017).

Los cultivos de servicios de leguminosas pueden aumentar tanto el N como el C de la MOS y, por lo tanto, es necesario caracterizarlos mediante rasgos que se encuentren relacionados con estos servicios. La expresión de un determinado rasgo depende del genotipo o de la especie (E), del ambiente en el cual se desarrolla (A) y de la interacción entre ambos (ExA) (Kang 1998). Esta interacción ExA ocurre cuando las especies responden diferente a la variación ambiental, que para un mismo sitio puede estar dada por la variación interanual de la temperatura y la precipitación o por la duración del ciclo del cultivo, entre otros. La existencia de interacción ExA puede dificultar la elección de las leguminosas porque hace que el ranking de las especies resulte variable entre años para una misma localidad. Es por ello que cuando los cultivos agrícolas son mejorados para aumentar su producción de granos o de biomasa, se busca que la interacción con el ambiente sea baja para que la producción sea alta y estable entre años (Acikgoz et al. 2009; Loi et al. 2015). En este sentido, son escasos los trabajos que evalúan su efecto sobre la biomasa subterránea o la fijación biológica de N, que son los rasgos que se encuentran más relacionados con el aumento del C y N en la MOS (Ehdaie et al. 2010; Duc et al. 2014; Moghaddam et al. 2015).

Los cultivos de servicios de leguminosas, al asociarse con bacterias específicas, pueden aumentar las entradas de N al ecosistema por medio de la fijación biológica, aumentando la disponibilidad de N para los cultivos siguientes y para la formación de MOS (Büchi et al. 2015). De este modo, la inclusión de leguminosas en los periodos de barbechos podría permitir reducir las dosis de fertilizante nitrogenado ya que en algunas leguminosas anuales se han observado aportes de $\approx 100 \text{ Kg de N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ fijado biológicamente de la atmósfera (NFB) (Schipanski & Drinkwater 2011; McCauley et al. 2012; Büchi et al. 2015). En general, los aportes aumentan linealmente en función de biomasa aérea que producen las leguminosas (Köpke & Nemecek 2010; Denton et al. 2013; Anglade et al. 2015; Collino et al. 2015). Sin embargo, esta relación podría ser débil si la concentración de N y de la proporción de N derivado de la atmósfera (%Ndfa) no se mantienen constantes, cuando se consideran diferentes especies de leguminosas con distinta producción de biomasa aérea. Por un lado, porque la concentración de N disminuye en función de la biomasa aérea producida (Jarrell & Beverly 1981; Gastal & Lemaire 2002). Por otro lado, porque las leguminosas pueden presentar diferencias en proporción de N derivado de la atmósfera (%Ndfa).

En este sentido, medir el %Ndfa en distintas especies de leguminosas anuales permitiría mejorar las estimaciones de los aportes de NFB, las cuales generalmente se basan en mediciones indirectas como el contenido de nitratos en el suelo al final de su ciclo o en las diferencias en el contenido de N del cultivo siguiente (Diez et al. 2012; Rinaudo et al. 2012; Rillo et al. 2012; Vanzolini & Galantini 2013). Para ello es posible utilizar el método de abundancia natural de ^{15}N (Unkovich and Pate, 2000). Este método compara la abundancia relativa de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) en una planta fijadora que obtiene N tanto de la atmósfera como del suelo, con el $\delta^{15}\text{N}$ de una planta no fijadora que obtiene todo su N del mismo suelo (Högberg 1997; Unkovich & Pate 2000; Robinson 2001; Nebiyu et al. 2013).

Las leguminosas también pueden aumentar el C de la MOS, principalmente a partir de su producción de biomasa subterránea. Este rasgo, si bien es clave para aumentar la formación de MOS, es muy poco evaluado en condiciones de campo, probablemente por ser muy laborioso (Frasier et al. 2016). La producción de biomasa subterránea suele ser muy baja en los cultivos anuales, ya que generalmente presentan una partición menor a 0,2 (Sainju et al. 2005; Ramamoorthy et al. 2017). Sin embargo, por distintos mecanismos la humificación de la biomasa subterránea puede llegar a ser hasta 40 veces más alta que la de la biomasa aérea (Balesdent & Balabane 1996; Kong & Six 2010; Mazzilli et al. 2015; Jackson et al. 2017). Por un lado, la composición química de las raíces determina mayores tiempos de residencia del C en el suelo debido a que su recalcitrancia las protege de la descomposición (Fernandez et al. 2003). A su vez, las raíces producen compuestos alifáticos que son adsorbidos fácilmente a las superficies minerales y también exudados radicales, que promueven el crecimiento microbiano y la estabilización del C en el suelo asociado a los minerales (Kuznyakov et al. 2001; Manzoni et al. 2012). Por otro lado, la proximidad del suelo juega un papel importante dado que tras su muerte, las raíces interactúan inmediatamente con los minerales del suelo y los microorganismos (Rasse et al. 2005). Por ello, para aumentar el C en la MOS resulta crucial seleccionar cultivos de servicios que presenten una alta producción de biomasa subterránea (Kell 2011; Bardgett et al. 2014).

Diversas especies de leguminosas anuales invernales han sido propuestas para sembrarse como cultivos de servicios en distintas regiones agrícolas del mundo (Dakora & Keya 1997; Rosecrance et al. 2000; Köpke & Nemecek 2010). Sin embargo, son escasos los estudios que comparan las características y aportes de estas especies en ambientes o años distintos. Los objetivos de este capítulo fueron: (1.1) estudiar los efectos de la especie, del ambiente (distintos años) y de la interacción ExA sobre la producción de biomasa aérea y subterránea, el %N, el %Ndfa y el NFB; (1.2) estudiar la relación entre la partición R/T, el %N total, el %Ndfa y los aportes de NFB, y la producción de biomasa aérea y; (1.3) realizar una caracterización en función de su potencial capacidad para aumentar la provisión de servicios ecosistémicos relacionados con el ciclo del N y la formación de MOS en los agroecosistemas. Para ello se evaluaron 10 especies de leguminosas anuales invernales pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* durante dos años. Las hipótesis asociadas son las siguientes:

Hipótesis 1.1: La producción de biomasa subterránea no se encuentra positivamente correlacionada con la biomasa aérea porque la partición raíz/tallo varía entre las especies y en función de su producción de biomasa aérea

Hipótesis 1.2: Cuando se consideran diferentes especies de leguminosas con distinta producción de biomasa aérea, los aportes de NFB no aumentan linealmente en

función de la producción de biomasa aérea debido a las variaciones en el %N y el %NFB que pueden presentar las diferentes especies.

2.2. Metodología

2.2.1. Sitio de estudio

Los experimentos fueron realizados en el Campo Experimental N°1 de Pasturas y Forrajes de INIA La Estanzuela ubicado en Colonia, Uruguay (34,2° de latitud sur, 57,1° de longitud oeste, 81 m de altitud sobre el nivel del mar). El suelo es un Argiudol Típico de la unidad Ecilda Paullier-Las Brujas, con textura franco-arcillo-limosa y con de 2 a 4% de pendiente (Castaño et al., 2011); pH de 5,3; 2,18 % de carbono orgánico; 12,5 $\mu\text{g N-NO}_3 \text{ g}^{-1}$; 28,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ de P (Bray) y 0,56 meq 100g⁻¹ de K (acetato de amonio). Las condiciones de temperatura y precipitaciones del período bajo estudio se muestran en el cuadro 2.1.

Cuadro 2-1- Información climática de los años 2012 y 2013 y promedio histórico de Colonia, Uruguay*.

	Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Anual
Temperatura promedio (°C)														
2012		24	23	20	16	16	11	8	13	14	17	21	23	17
2013		23	22	18	17	13	11	10	10	13	16	19	25	17
Promedio (1974 - 2013)		23	22	20	17	14	11	10	12	13	16	19	22	17
Precipitación mensual (mm)														
2012		38	180	133	53	65	20	26	154	166	219	77	257	1387
2013		48	89	63	65	88	3	40	43	212	32	99	11	790
Promedio (1966 - 2013)		98	116	129	83	84	70	68	74	81	114	100	102	1117

*Información extraída de <http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico>

2.2.2. Descripción del experimento

Se evaluaron diez especies de leguminosas invernales pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* candidatas a ser empleadas como cultivos de servicios. El diseño del experimento fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones, repetido en dos años (2012 y 2013). Las 10 especies sembradas fueron *Medicago scutellata* sava cv. Fertiprado, *Trifolium alexandrinum* cv. INIA Calipso, *Trifolium incarnatum* cv. Traiguén, *Trifolium vesiculosum* cv. Sagit, *Trifolium michelanum* cv. Taipán, *Trifolium pratense* cv. LE - 116, *Trifolium resupinatum* cv. LE 9033, *Trifolium subterraneum* cv. Bindoon, *Vicia sativa* cv. Barril Fertiprado y *Vicia villosa* cv. Amoreiras Fertiprado. Las leguminosas se sembraron en línea en parcelas de 1,25 x 5m² y los inoculantes utilizados fueron los específicos para cada especie provistos por la empresa CALISTER. La fecha de siembra en el 2012 fue entre el 12/4 y el 19/4 y en el 2013 entre el 19/3 y el 5/4. En ambos experimentos el muestreo de biomasa se realizó entre el 17/10 y el 18/10. Además, en todos los bloques se sembraron cultivos no fijadores de N para utilizar de referencia: *Festuca arundinancia* en los dos años y *Brassica rapa*, sólo en el primero.

2.2.3. Biomasa aérea y subterránea

Para estimar la biomasa aérea se cosechó toda la biomasa en húmedo mediante una segadora rotativa autopropulsada con bolsa recolectora. Luego se estimó la biomasa seca a partir de submuestras que fueron secadas para estimar su % de humedad. Para estimar la biomasa subterránea, se tomó una muestra de suelo de 18 cm de ancho (correspondiente a la distancia entre hileras), 15 cm de largo (para incluir al menos 3 plantas) y 20 cm de profundidad. Las raíces se lavaron manualmente sobre un tamiz de 1mm. La biomasa fue secada en estufa a 60° y se molieron a polvo para ser analizadas en un espectrómetro de masa Finnigan MAT Delta Plus XL, acoplado a un autoanalizador Elemental Analyzer (CarloErba Instruments Inc.) en la universidad de Duke en USA, para determinar los contenidos de C, N y ¹⁵N en la biomasa aérea y subterránea.

2.2.4. Estimación de la proporción de N derivada de la atmósfera (%Ndfa)

El %Ndfa se determinó mediante el método de abundancia natural de ¹⁵N siguiendo la Ecuación 1 propuesta por Högberg (1997),

$$\%Ndfa = (\delta^{15}N_{ref} - \delta^{15}N_{leg}) / (\delta^{15}N_{ref} - B) * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde $\delta^{15}N_{ref}$ es la $\delta^{15}N$ del cultivo de referencia (%Ndfa=0), $\delta^{15}N_{leg}$ es la $\delta^{15}N$ de la leguminosa a evaluar y B es la $\delta^{15}N$ de dicha leguminosa creciendo en un medio libre de N (%Ndfa=100). Los valores de $\delta^{15}N_{ref}$ utilizados fueron el promedio de 18 mediciones realizadas en cada año en las plantas de *F. arundinacia* (4,4‰ en el 2012 y 4,12‰ en el 2013). Los valores de $\delta^{15}N$ de los cultivos de referencias recolectados en los distintos bloques fueron promediados ya que los valores de $\delta^{15}N$ no variaron espacialmente dentro del experimento. A su vez, tampoco existieron diferencias significativas entre los dos cultivos de referencia considerados en el primer año (*F. arundinacia* y *B. rapa*) y es por eso que en el 2013 sólo se sembró *F. Arundinacia* como cultivos de referencia. El valor de $\delta^{15}N_{leg}$ corresponde al promedio de $\delta^{15}N$ en el total de la planta, que surge de ponderar la $\delta^{15}N$ de la biomasa aérea y subterránea por las cantidades de N presente en cada una. Con respecto al valor B, se utilizó un valor constante para todas las especies y se asumió que era igual al del aire (0‰). Este valor suele ser menor a 0‰ cuando la $\delta^{15}N_{leg}$ proviene únicamente de la biomasa aérea y puede conducir a una sobreestimación del %Ndfa cuando la fijación es mayor al 50% (Unkovich et al. 1994). Sin embargo, cuando el $\delta^{15}N_{leg}$ corresponde al promedio de $\delta^{15}N$ en el total de la planta generalmente el valor B es $\approx 0\%$ porque se contempla la translocación diferencial del ¹⁴N y ¹⁵N que ocurre dentro de las plantas (Unkovich & Pate 2000; Gathumbi et al. 2002; Huss-Danell & Chaia 2005). El %Ndfa estimado para las leguminosas evaluadas en cada año, permitió estimar los aportes de NFB a partir de la siguiente ecuación:

$$NFB \text{ (Kg.ha}^{-1}\text{)} = \text{Biomasa} * \%N * Ndfa / 1000 \quad (\text{Ecuación 2})$$

2.2.5. Análisis estadísticos

Los efectos de la especie, del ambiente (año) y la interacción ExA se evaluaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2003). Los bloques se incluyeron en el análisis como un efecto aleatorio. El método de comparación para detectar diferencias significativas entre los tratamientos fue LSD Fisher, con nivel de significación $\leq 0,05$. Los análisis de correlación se realizaron con los valores promedios de cada especie en cada año, utilizando los coeficientes de Pearson.

2.3. Resultados

La producción de biomasa subterránea varió significativamente entre las especies estudiadas, pero fue similar entre los dos años evaluados (no hubo un efecto significativo del año, ni de la interacción ExA) (Cuadro 2.2). En promedio para todas las especies la biomasa subterránea fue de $1,0 \pm 0,2$ Tn.ha⁻¹ (el 16% de la biomasa total) y la máxima diferencia entre dos especies fue de $0,4$ Tn.ha⁻¹. El ranking de las especies ordenadas en función de su biomasa subterránea fue distinto al obtenido en base a la biomasa aérea. La biomasa aérea fue más variable entre las especies estudiadas (entre $4,1$ y $9,1$ Tn.ha⁻¹) que la subterránea y además presentó un efecto del año y de la interacción ExA (Cuadro 2.2). En el año 2013 las leguminosas produjeron en promedio $6,5$ Tn.ha⁻¹ (50% más que en el 2012) y la interacción ExA fue significativa debido a que las dos especies de vicias casi no variaron su producción entre años (Cuadro 2.2, Figura 2.1). La biomasa total fue un 40% mayor en el 2013 y la partición raíz/tallo disminuyó un 30% con respecto al 2012, debido a que la biomasa subterránea se mantuvo relativamente constante entre años (Figura 2.1).

Cuadro 2-2- Resumen de los efectos de la especie, el año y de su interacción (ExA) sobre diferentes variables estudiadas (valores-p, ANOVA).

	Especie	Año	Especie*Año
Biomasa aérea	<0,001	<0,001	0,002
Biomasa subterránea	0,043	0,412	0,472
Biomasa total	<0,001	<0,001	0,002
Relación raíz/tallo	0,004	<0,001	0,461
%N Biomasa aérea	<0,001	<0,001	0,327
%N Biomasa subterránea	<0,001	<0,001	0,537
%Ndfa	0,018	0,248	0,926
N total	<0,001	0,221	0,134
N fijado biológicamente	<0,001	0,568	0,751
N absorbido del suelo	0,355	0,100	0,750

La cantidad de NFB y el %Ndfa variaron significativamente entre las especies estudiadas, pero también fueron similares entre los dos años evaluados (al igual que para la biomasa subterránea no hubo un efecto significativo del año, ni de la interacción ExA) (Cuadro 2.2). Las especies aportaron entre 54 y 138 Kg de NFB.ha⁻¹, aunque el %Ndfa fue relativamente similar entre especies con una máxima diferencia de solamente un 30% (Figura 2.2). El promedio del %Ndfa de todas las especies fue de $60 \pm 10\%$ y no varió entre años (Figura 2.2, Cuadro 2.2). Las leguminosas que más NFB aportaron fueron *T. pratense* y *T. alexandrinum* (138 y 118 kg NFB.ha⁻¹) debido a una alta producción de biomasa ($6,3$ y 6 Tn.ha⁻¹) y un alto valor de %Ndfa (70% y 67%). Las cantidades totales de N presentes en la biomasa total (suma de lo absorbido del suelo y lo fijado biológicamente), variaron entre 111 y 198 kg N.ha⁻¹ (Figura 2.2), pero la absorción de N del suelo fue relativamente similar entre especies (64 ± 12 Kg N.ha⁻¹) y tampoco presentó diferencias significativas entre años (Cuadro 2.2).

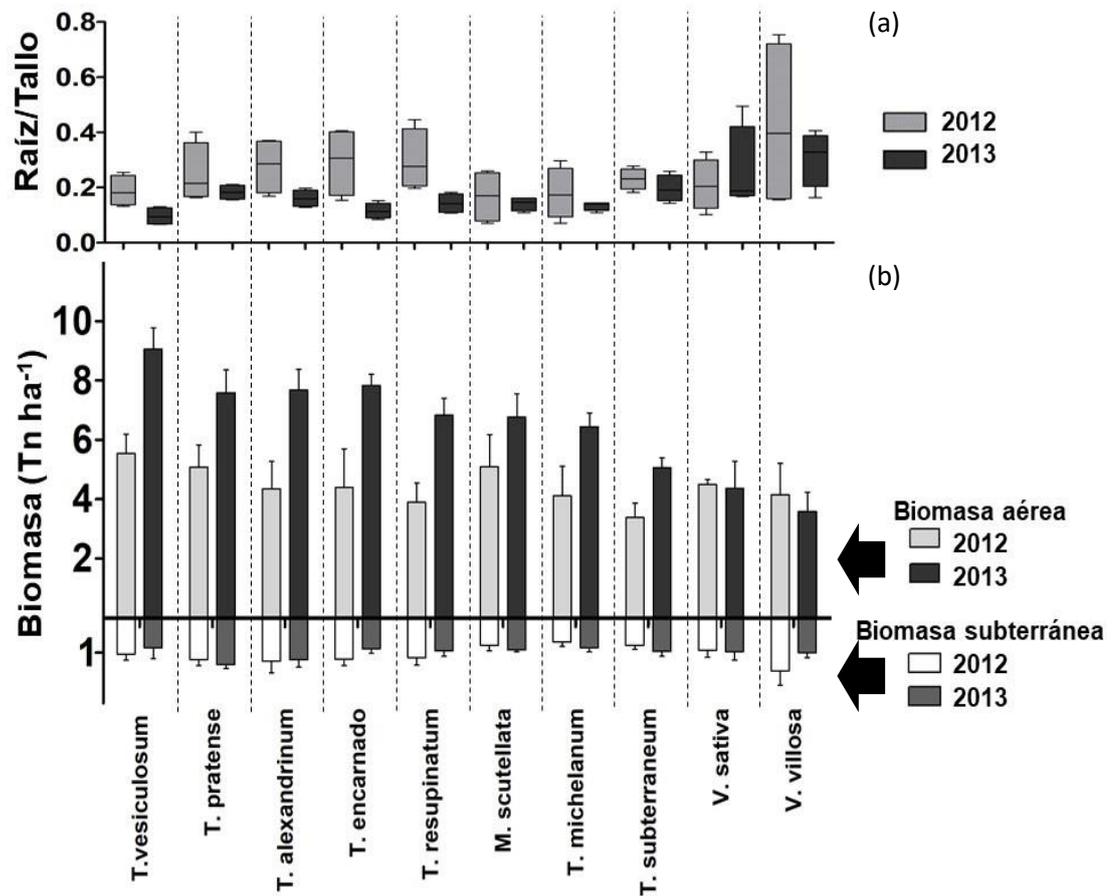


Figura 2-1- Partición raíz/tallo y producción de biomasa aérea y subterránea de 10 especies de leguminosas pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* en los años 2012 y 2013. En el panel (a) las cajas y bigotes muestran las particiones raíz/tallo de las diferentes leguminosas en cada año. La caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana. En el panel (b) las columnas muestran la biomasa aérea y subterránea que produjeron en promedio las distintas leguminosas en cada año y su error standard (n=4). En ambos paneles, las leguminosas se encuentran ordenadas de mayor a menor producción de biomasa aérea en el año 2013.

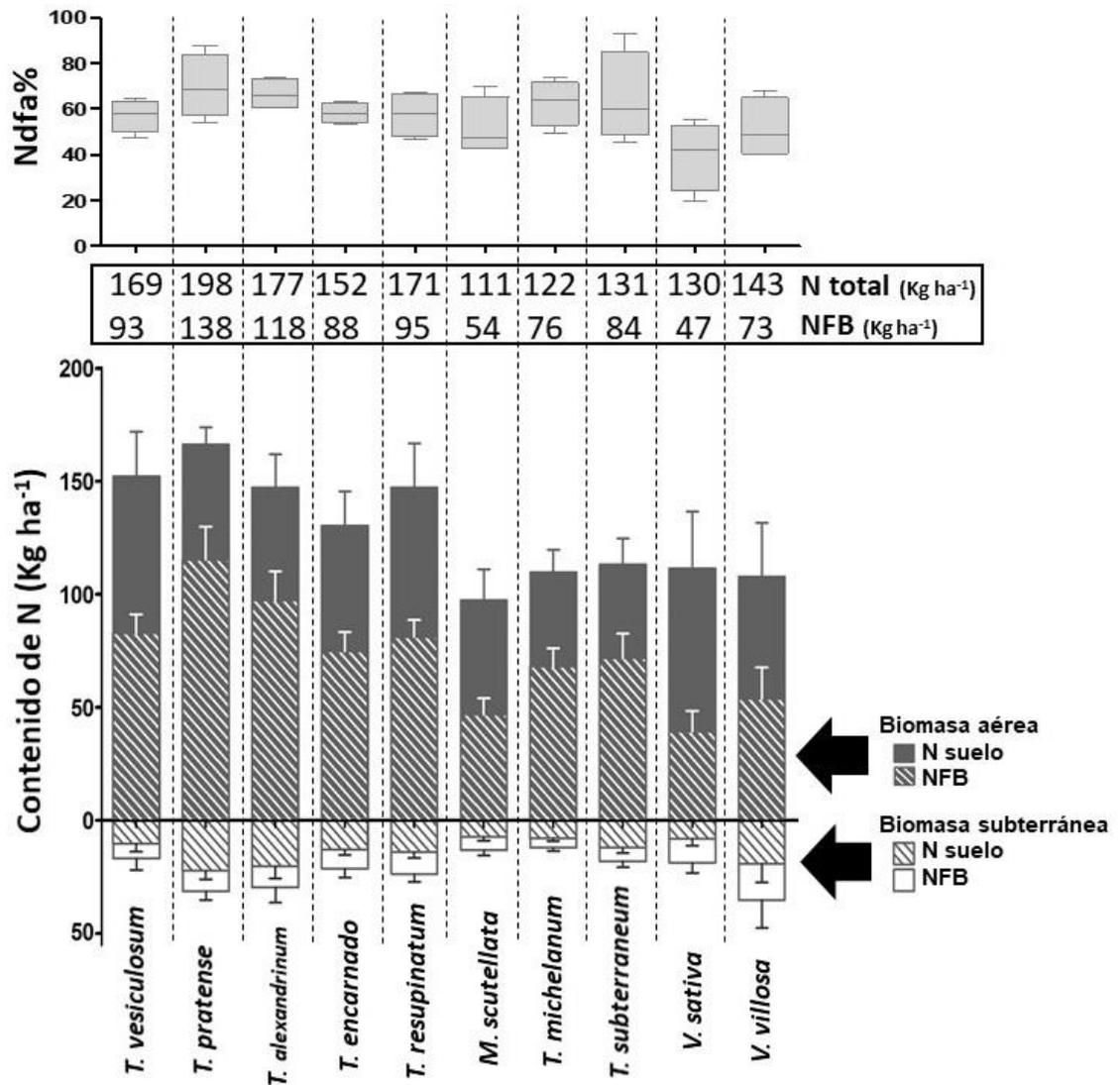


Figura 2-2 – Proporción del N derivado de la atmósfera (%Ndfa) y cantidad de N (total, NFB y absorbido del suelo) contenidas en la biomasa aérea y subterránea de 10 especies de leguminosas pertenecientes a los géneros *Medicago*, *Trifolium* y *Vicia* en los años 2012 y 2013. En el panel (a) las cajas y bigotes muestran los %NFB, la caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana. En la tabla se muestran los Kg.ha⁻¹ de N total y los provenientes de la fijación biológica contenidos en la biomasa total de cada leguminosa. En el panel (b) las columnas muestran el promedio y el error standard del NFB y el N absorbido del suelo que presenta la biomasa aérea y subterránea en las distintas leguminosas. En todos los casos, se consideraron en conjunto los datos recolectados en los dos años (n=8) debido a que el año no tuvo efecto sobre las variables evaluadas; y las leguminosas se encuentran ordenadas de mayor a menor producción de biomasa aérea en el año 2013.

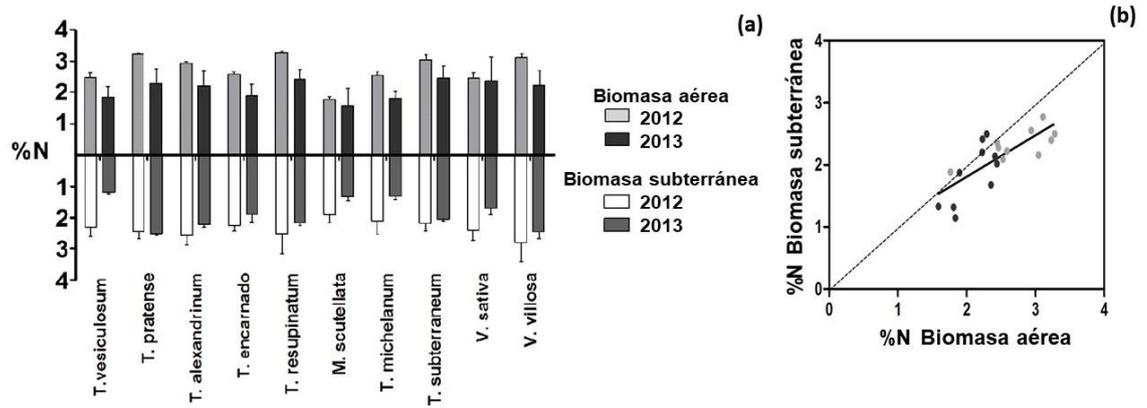


Figura 2-3- Relación entre el %N en la biomasa subterránea y el %N en la biomasa aérea donde cada punto corresponde al promedio de una especie en el 2012 (puntos grises) o en el 2013 (puntos negros) (a). En el gráfico de barras se presenta el promedio y error estándar del %N en la biomasa aérea y subterránea de cada especie en los años 2012 y 2013. Las leguminosas se encuentran ordenadas de izquierda a derecha en función de la biomasa aérea al igual que en la Figura 1 (b).

Considerando todas las leguminosas y años en conjunto la producción de biomasa aérea estuvo correlacionada negativamente con la partición R/T y con el %N de la biomasa total, pero no con el %Ndfa (Figura 2.4). La producción de biomasa aérea fue más variable entre años que entre especies y por eso los puntos de cada año se agruparon en los extremos del rango (Figura 2.4). La partición R/T disminuyó en función de la biomasa aérea debido a que la producción de biomasa subterránea de cada especie fue similar en los dos años (Figura 2.4a, Figura 2.1). El %N presentó la misma relación, pero con mayor dispersión (Figura 2.4b). Todas las especies de leguminosas presentaron una menor concentración de N en el 2013, año en que la mayoría aumentó su producción de biomasa aérea (Cuadro 2.2, Figura 2.3b). En cambio, el %Ndfa no estuvo correlacionado con la producción de biomasa, ya que se mantuvo relativamente constante en todo el rango de biomasa aérea. Es decir que la variabilidad que presentó el %Ndfa estuvo dada por las diferencias entre las especies, pero en ninguno de los años se encontró relacionada con su producción de biomasa (Figura 2.4c).

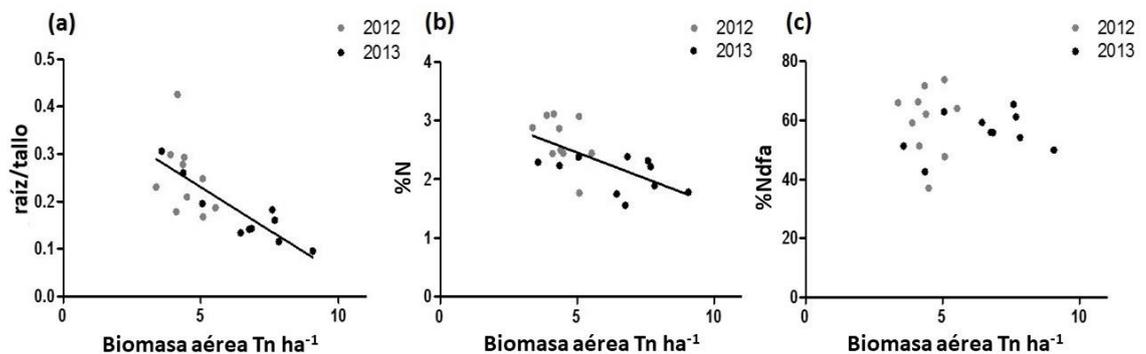


Figura 2-4 - Relación entre la biomasa aérea (Tn.ha⁻¹) y la relación raíz/tallo (a), %N de la biomasa total (b) o %N derivado de la atmósfera (%Ndfa) (c). Cada punto corresponde al promedio de una especie en 2012 (puntos grises) o en 2013 (puntos oscuros). En (a) y (b), las líneas representan el ajuste lineal de las relaciones: (a) $y = 0.42 - 0.03x$ $r^2 = 0.43$ y (b) $y = 3.34 - 0.18x$ $r^2 = 0.39$. En (c) la pendiente no es significativamente diferente de cero.

2.4. Discusión

Los resultados obtenidos en este capítulo sugieren que la producción de biomasa subterránea está determinada principalmente por la especie y en menor medida por el ambiente, al igual que lo observado por Kell (2012). A su vez, los resultados obtenidos apoyan la hipótesis 1.1 ya que las diferencias en la partición raíz/tallo que presentaron las especies conduce a que el ranking en función de la biomasa aérea no coincida con el de la biomasa subterránea. El ranking de las especies en función de su producción de biomasa subterránea no difirió entre años. En este sentido, si bien el rango de biomasa subterránea explorado por las leguminosas fue relativamente estrecho (de 0,8 a 1,3 Tn.ha⁻¹), estas variaciones pueden generar diferencias importantes en la estabilización de C en el suelo porque la biomasa de las raíces tiene tasas de humificación más altas que la biomasa aérea (57% vs. 5,5%, respectivamente, Jackson et al. 2017). Por ejemplo, considerando dichos coeficientes reportados por Jackson et al. (2017), *V. villosa*, que acumuló 3,0 Tn.ha⁻¹ menos de biomasa aérea que *M. scutellata* y *T. Michelanum*, pero 0,4 Tn.ha⁻¹ más de biomasa subterránea, podría presentar una contribución similar a la humificación del C en la MOS a pesar de su menor producción de biomasa aérea (381 y 344 Kg C potencialmente humificado.ha⁻¹, respectivamente).

Con respecto a los aportes de NFB, sólo dos de las especies evaluadas (*T. pratense* y *T. alexandrinum*) lograron aportar más de 100 Kg de NFB.ha⁻¹ como sugieren otros trabajos (Schipanski & Drinkwater 2011; McCauley et al. 2012; Büchi et al. 2015). En promedio estas aportaron 128 Kg de NFB.ha⁻¹, los cuales se mantuvieron relativamente constantes entre años a pesar de sus variaciones en la biomasa aérea. En este sentido, en el primer año en donde en promedio produjeron 4,7 Tn.ha⁻¹ de biomasa aérea, dichas leguminosas aportaron ≈27 Kg NFB.Tn biomasa⁻¹.ha⁻¹. Este coeficiente es similar al que proponen para *Vicia sp.* en la Región Pampeana, donde se asume un aporte de 36 Kg N.Tn biomasa⁻¹.ha⁻¹ con un 75-90%Ndfa (Dughetti et al. 2013). Sin embargo, en el segundo año cuando los aportes de NFB fueron similares a pesar de la mayor producción de biomasa aérea, este coeficiente resultó ser bastante menor (17 Kg NFB.Tn biomasa⁻¹.ha⁻¹).

Los %Ndfa de las leguminosas evaluadas variaron entre el 40 y 70% pero podrían estar siendo sobreestimados debido a la utilización de un valor B igual al $\delta^{15}\text{N}$ del aire (0‰) (Unkovich et al. 1994). Cuando el %Ndfa se estima a partir de la $\delta^{15}\text{N}$ que presenta la biomasa aérea los valores B pueden ser de hasta -2‰. Sin embargo, cuando se considera la $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas enteras este valor suele ser muy cercano a 0‰ porque se incluyen las raíces que se encuentran enriquecidas en ¹⁵N (Unkovich & Pate 2000; Gathumbi et al. 2002; Huss-Danell & Chaia 2005). En este sentido nuestros resultados muestran que la inclusión de las raíces equivale a considerar valores B de hasta -1,5‰. Para evaluar esto se despejó el valor B de la ecuación 1 ($B = \delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - (\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{leg}}) / \% \text{Ndfa} / 100$), considerando el %Ndfa estimado a partir de la $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas enteras y la $\delta^{15}\text{N}_{\text{leg}}$ de la biomasa aérea de las leguminosas. Dado que esto resultó en valores B variables para las distintas especies y cercanos a los reportados en la bibliografía es posible asumir que los %Ndfa no están siendo sobreestimados en nuestra evaluación.

En nuestro trabajo, no se observó la relación lineal y positiva que muestran otros autores entre la cantidad de NFB y la producción de biomasa (e.g. Köpke and Nemecek 2010; Unkovich et al. 2010; Collino et al. 2015). Este resultado apoya la hipótesis 1.2 que plantea que cuando se consideran diferentes especies de leguminosas con distinta

producción de biomasa aérea, los aportes de NFB no aumentan linealmente en función de la producción de biomasa aérea debido a las variaciones en el %N y el %NFB que pueden presentar las diferentes especies. Los aportes de NFB tendieron a ser mayores en las especies que produjeron más biomasa (Figura 2.2), pero no aumentaron con la mayor producción del segundo año evaluado porque el N se encontró con una menor concentración en los tejidos (efecto dilución). Este efecto de dilución del N a medida que aumenta la producción de biomasa (Figura 2.3b) fue observado en varias especies, incluso de distintos grupos funcionales (Gastal & Lemaire 2002). Esta dilución condujo a que los aportes de NFB de cada leguminosa no aumentaran ni disminuyeran en el año de mayor producción de biomasa, dado que presentaron aportes de N similares en los dos años y los %Ndfa no variaron en función de la producción de biomasa (Cuadro 2.2, Figura 2.3c). Al igual que en otros trabajos, esto sugiere que si las leguminosas acumulan mucha biomasa en forma temprana, su ciclo podría acortarse sin afectar sustancialmente los aportes totales de NFB (e.g. McCauley et al. 2012). Explorar esta hipótesis en el futuro, es de gran importancia para el manejo de los cultivos de servicios, ya que la duración de su ciclo se encuentra limitada por el posible impacto negativo sobre el rendimiento del cultivo de renta siguiente (Pinto et al. 2017).

Es importante considerar que el efecto del ambiente sobre la producción de biomasa subterránea y los aportes de NFB, contempla solo la variación entre años para un solo sitio. Por lo tanto, algunas variables ambientales que influyen sobre estos rasgos y que varían entre sitios o distintas regiones, no han sido exploradas en esta tesis. En este sentido, en otros trabajos se han observado diferencias en la biomasa subterránea debidos a la presencia de impedancias físicas en el suelo (Bengough & Mullins 1990; Bengough et al. 2011), a la escasez de agua (Ramamoorthy et al. 2017) y a la escases de nutrientes poco móviles como el fósforo (Reynolds & D'Antonio 1996; Kong & Six 2010; Rubio et al. 2003). A su vez, los aportes de NFB pueden variar por la concentración de nitratos (Streeter 1988), de fósforo, potasio y azufre en el suelo (Divito & Sadras 2014), la humedad del suelo (Purcell et al. 2004), el pH del suelo (Parker & Harris 1977) o la temperatura (Soares Novo et al. 1999). Sin embargo, a pesar de esta limitante, la variación entre años fue suficiente para generar diferencias importantes en la biomasa aérea de cada especie (Cuadro 2.2 y Figura 2.1). Por lo tanto, fue posible comparar la producción de biomasa subterránea y los aportes de NFB de las distintas leguminosas y su variación en relación con la biomasa producida en cada año.

Para que la siembra de leguminosas tenga un efecto neto positivo sobre la acumulación de N en la MOS, es importante evitar las pérdidas de N, ya sea por lixiviación, volatilización o por desnitrificación. Las leguminosas evaluadas aportaron entre 50 y 140 Kg.ha⁻¹ de NFB al suelo. Estos aportes son más eficientes para la formación de MOS que los realizados mediante fertilizantes debido a que el N es liberado gradualmente y las pérdidas por lixiviación podrían ser menores (Tonitto et al. 2006). De todos modos, para reducir las pérdidas por lixiviación, volatilización o desnitrificación, es necesario sincronizar la liberación del N durante la descomposición de los residuos de las leguminosas con la absorción del N del cultivo siguiente (Robertson 1997). Por ello, la fecha de siembra del cultivo de renta siguiente o de supresión de los cultivos de servicios es un elemento clave de la rotación y debería apuntar a la sincronización de la descomposición y absorción de nutrientes por parte de los cultivos de cosecha (Varela et al. 2014; Plaza-Bonilla et al. 2015). De este modo permitiría copiar la dinámica de los sistemas naturales y minimizar las pérdidas de nutrientes en el año (Restovich et al. 2012; Crews & Rumsey 2017).

La producción de biomasa subterránea y los aportes de NFB son rasgos que pueden relacionarse a la provisión de servicios ecosistémicos dada su potencialidad para aumentar la MOS y las entradas de N al suelo (Balesdent & Balabane 1996; Köpke & Nemecek 2010). En los resultados de este capítulo, no se observaron correlaciones negativas entre la biomasa subterránea y el NFB y, por lo tanto, fue posible hacer un ranking de especies con ambos objetivos en simultáneo. En este sentido, los mejores candidatos para aumentar las entradas de N y C a la MOS fueron *T. pratense* y *T. alexandrinum* (Figura 2.5). Con respecto al N, estas especies coincidieron con las leguminosas históricamente más sembradas en Uruguay. Por lo tanto, es probable que, estas leguminosas cuenten con un mayor desarrollo de cepas específicas y eficientes que las utilizadas para la inoculación de las otras especies.

Además de los beneficios relacionados con el C y N de la MOS, la inclusión de leguminosas invernales en las rotaciones agrícolas puede aumentar la provisión de otros servicios ecosistémicos. Por ejemplo, la disminución de la erosión y el control de malezas, son dos servicios que dependen en gran medida de la producción de biomasa aérea y son actualmente los más buscados por los productores de la región (Vrignon-Brenas et al. 2016). En distintas regiones agrícolas del mundo existen periodos de barbechos que podrían utilizarse para diversificar la provisión de servicios en el tiempo sin afectar los rendimientos de los cultivos de renta (Siebert et al. 2010; Schipanski et al. 2014; Pinto et al. 2017). La inclusión de cultivos de servicios permite aumentar la captura de recursos y energía en los ecosistemas y puede reducir los impactos negativos de la agricultura para mantener la producción en el largo plazo (Doré et al. 2011; Bommarco et al. 2013; Schipanski et al. 2014; Tittonell 2014). Es por ello que el gran desafío de las investigaciones agrícolas en los próximos años es transformar los agroecosistemas para que sean multifuncionales y diversos (Tilman et al. 2002; Dale & Polasky 2007; Petersen & Snapp 2015; Tittonell 2014). En este sentido, los cultivos de servicios de leguminosas podrían ser sembradas tanto en forma pura como en mezcla con otras especies, y diversificar la provisión de servicios ecosistémicos en los ecosistemas agrícolas.

	Biomasa total	Biomasa aérea	Biomasa subterránea	NFB kg ha ⁻¹
<i>T. pratense</i>				
<i>T. alexandrinum</i>				
<i>T. resupinatum</i>				
<i>T. vesiculosum</i>				
<i>T. incarnatum</i>				
<i>V. villosa</i>				
<i>T. michelanum</i>				
<i>T. subterraneum</i>				
<i>M. scutellata</i>				
<i>V. sativa</i>				

Figura 2-5 - Tabla resumen de las especies ordenadas en función de sus rasgos. Las diez especies se encuentran ordenadas de mayor a menor de acuerdo a su capacidad para proveer C por medio de raíces y NFB al suelo. En cada columna, las leguminosas que presentaron los valores más altos en cada rasgo se representan con color gris oscuro, las intermedias con gris claro (cuatro especies) y las de los valores más bajos con blanco.

2.5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este capítulo mostraron que la producción de biomasa aérea y subterránea y los aportes de NFB varían entre las 10 leguminosas evaluadas. Por el contrario, el ambiente afectó solamente la producción de biomasa aérea, pero estos aumentos, impulsados principalmente por una mayor duración del ciclo de crecimiento, no fueron acompañados por aumentos en la biomasa de las raíces o la NFB. La clasificación de especies mostró que las mejores candidatas para incrementar los aportes de C y N al suelo fueron *T. pratense* y *T. alexandrinum*. Estos resultados sugieren que la elección de la especie adecuada tendría un efecto significativo en la provisión de servicios ecosistémicos relacionados con los aportes de C y N a la MOS. A su vez, resaltan la importancia de empezar a considerar, dentro de los programas de mejoramiento genético de los cultivos, rasgos distintos a la producción de biomasa aérea o rendimiento que se encuentren asociados con algún servicio ecosistémico.

3. Capítulo 3 - Caracterización de distintos cultivos de servicios mediante rasgos relacionados con funciones ecosistémicas

3.1. Introducción

Uno de los mayores desafíos para sostener la producción agrícola en el largo plazo es diseñar agroecosistemas que permitan mantener la materia orgánica del suelo (MOS) (Power 2010; Tiftonell 2014; Banwart et al. 2015). Cuando los pastizales naturales son transformados en agroecosistemas, la MOS disminuye entre un 20 a un 70%, debido a cambios tanto en las entradas como en las salidas de carbono (C) del suelo (Crews & Rumsey 2017). Los sistemas de cultivos anuales tienen mayores salidas de C del suelo debido a las labranzas que favorecen la descomposición de la MOS (Alvarez 2001) y a la baja cobertura del suelo durante los periodos de barbecho que favorece la erosión del suelo (Sawchik et al. 2012). Pero a la vez, en muchos casos también son menores las entradas de C al suelo debido a la extracción de biomasa por medio de la cosecha de granos y a la menor producción de biomasa subterránea de los cultivos (Kell 2011; Bolinder et al. 2012). De hecho, esta disminución en las entradas es la que permite explicar que los contenidos de MOS no aumenten cuando se reducen las salidas de C del suelo mediante la implementación de la siembra directa (Blanco-Canqui & Lal 2008).

La cantidad y calidad de la biomasa subterránea producida por los cultivos ha sido generalmente ignorada en los planes de mejoramiento genético y en la investigación agronómica en general, probablemente debido a lo tedioso de su estimación (Kell 2012; Kong et al. 2014; Frasier et al. 2016). Sin embargo, diversas evidencias muestran el rol clave que tiene la biomasa subterránea sobre distintos aspectos del funcionamiento de los ecosistemas y por lo tanto para la provisión de servicios ecosistémicos (Kell 2012; Bardgett et al. 2014; Jackson et al. 2017). Algunos trabajos sugieren que la producción de raíces está fuertemente determinada por el genotipo, pero otros muestran una gran variación ambiental o plasticidad fenotípica para este carácter (i.e. capacidad que tienen los genotipos de presentar variaciones en la producción de raíces frente a cambios en el ambiente) (Chapman et al. 2012; Grossman & Rice 2012; Bardgett et al. 2014). Sin embargo, pocos trabajos han evaluado la producción de raíces y los compromisos o sinergias con la producción de biomasa aérea en condiciones de campo y para diversas especies al mismo tiempo.

Los cultivos agrícolas presentan, por lo general, una baja producción de biomasa subterránea y una menor plasticidad fenotípica para este carácter con respecto a las especies silvestres (Grossman & Rice 2012). Debido a que los costos metabólicos del crecimiento y el mantenimiento de las raíces son relativamente altos, mediante la selección de cultivos se buscó garantizar la absorción de nutrientes con una baja producción de raíces para maximizar los rendimientos (Nielsen et al. 1998; Lynch 2013). Pero también, inadvertidamente, se perdió plasticidad fenotípica en la producción de biomasa subterránea debido a que el mejoramiento se realiza en ambientes fertilizados que resultan más homogéneos que los ambientes naturales (Reynolds & D'Antonio 1996; Grossman & Rice 2012). Sin embargo, en algunos cultivos en donde se cosecha la biomasa subterránea (e.g. papas, zanahoria, nabos), es posible que exista plasticidad fenotípica para la producción de biomasa subterránea, ya que este fue el objetivo de la selección genética (Iwata et al. 2004). Por otra parte, si bien en los cultivos de renta la posibilidad de aumentar la biomasa subterránea es limitada, ésta podría ser considerada en la selección de los cultivos de servicios (Kell 2011). En este sentido, es probable que los cultivos que se utilizan como cultivos de servicio, pero fueron mejorados considerando la biomasa subterránea (e.g. *Raphanus sp.*) presenten mayor plasticidad en

este rasgo que en los que fueron mejorados genéticamente considerando la biomasa aérea (e.g. *Lolium sp.* y *Trifolium sp.*).

La cantidad de biomasa subterránea producida por los cultivos de servicios es un rasgo clave en aquellos cultivos sembrados con el objetivo de aumentar la formación de MOS. Por distintos mecanismos cuando los aportes provienen de la biomasa subterránea resultan más eficientes en formar MOS (i.e. mayor humificación) (Balesdent & Balabane 1996; Kong & Six 2010; Mazzilli et al. 2015; Jackson et al. 2017). Por un lado, la composición química de las raíces determina mayores tiempos de residencia en el suelo debido a que su recalcitrancia las protege de la descomposición (Fernandez et al. 2003). A su vez, las raíces producen compuestos alifáticos que son adsorbidos fácilmente a las superficies minerales y también exudados radicales, que promueven el crecimiento microbiano y la estabilización del carbono en el suelo asociado a los minerales (Kuzyakov et al. 2001; Manzoni et al. 2012). Por otro lado, la proximidad del suelo también juega un papel importante dado que tras su muerte, las raíces interactúan inmediatamente con los minerales del suelo y los microorganismos (Rasse et al. 2005). Por ello, para aumentar la MOS resulta crucial seleccionar cultivos de servicios que presenten una alta producción de biomasa subterránea y exploren el suelo en profundidad (Kell 2011; Bardgett et al. 2014).

Además de aumentar la materia orgánica del suelo, la producción de biomasa subterránea de los cultivos de servicios puede mejorar las propiedades físicas del suelo (Bardgett et al. 2014). En este sentido, los cultivos de servicios con sistemas radicales más finos pueden aumentar la agregación del suelo, lo cual determina la tasa de infiltración del agua en el suelo y en la porosidad total (Villamil et al. 2006; Álvarez 2013). Estas propiedades son muy importantes en los agroecosistemas porque evitan el anegamiento y determinan la capacidad de almacenaje del agua en el suelo (Banwart et al. 2015). Por otra parte, cuando el suelo presenta impedancias mecánicas que dificultan la penetración y exploración del suelo por las raíces, la siembra de cultivos de servicios con raíces más gruesas puede reducir la resistencia a la penetración. Las raíces de mayor diámetro logran atravesar las capas endurecidas del suelo y crean bioporos por los que pueden atravesar el suelo las raíces de los cultivos de renta que los siguen en la rotación (Clark et al. 2003; Chen & Weil 2010).

Por lo anterior, resulta prioritario caracterizar y evaluar la producción de raíces de los cultivos de servicio sembrados con el objetivo de aumentar la MOS o mejorar las propiedades físicas del suelo. Generalmente, los cultivos de cobertura o los abonos verdes (cultivos de servicios con objetivos diferentes) son caracterizados sólo a partir de su producción de biomasa aérea, pero sería importante que sean evaluados o seleccionados para aumentar su producción de biomasa subterránea, si son sembrados con el objetivo de mejorar el suelo. Caracterizar a los cultivos exclusivamente en función de su producción de biomasa aérea no permite predecir la producción de biomasa subterránea dado que la partición raíz/tallo varía entre genotipos y en función del ambiente (Bloom et al. 1985; Reynolds & D'Antonio 1996; McConaughay & Coleman 1999; Rubio et al. 2013). Por ello es necesario evaluar la producción de biomasa subterránea de distintas especies utilizadas como cultivos de servicios creciendo en diferentes ambientes (Kang 1998; Kell 2011). En este sentido, para un mismo sitio, la variación en el ambiente puede estar dada por la fecha de siembra y por la variación interanual de las condiciones ambientales (e.g. temperatura y precipitación).

Aumentar la producción de biomasa subterránea de los cultivos de servicios podría disminuir la producción de biomasa aérea, debido a un compromiso en la asignación de recursos. Como la biomasa aérea es clave para la interceptación de radiación fotosintética y además se encuentra relacionada con la provisión de otros servicios ecosistémicos como ser la reducción de la erosión o la lixiviación de nutrientes, también es importante mantener una producción razonable de biomasa aérea. Sin embargo, es importante considerar que algunos trabajos muestran una respuesta de saturación de la biomasa aérea con la reducción de la erosión o la lixiviación de nutrientes (Thorup-Kristensen 1994; Quinton et al. 1997; Bodner et al. 2010). Por lo tanto, es necesario caracterizar la producción de biomasa subterránea y aérea, así como la partición tallo raíz de distintas especies potencialmente utilizables como cultivos de servicios y entender las sinergias o compromisos entre éstas.

En este capítulo se plantean los siguientes objetivos: 2.1) comparar la producción de biomasa aérea, la partición raíz/tallo y la producción de biomasa subterránea a distintas profundidades en ocho cultivos de servicios de gramíneas, leguminosas o crucíferas, en 3 años diferentes; 2.2) estudiar la respuesta de estos rasgos para cada cultivo en función de un índice ambiental que caracteriza la productividad media del año y 2.3) comparar la plasticidad de la biomasa aérea y subterránea que presentan estas especies pertenecientes a distintas familias. Los resultados obtenidos en este capítulo permiten poner a prueba las siguientes hipótesis:

Hipótesis 2.1: La producción de biomasa subterránea no se encuentra positivamente correlacionada con la biomasa aérea porque la partición raíz/tallo varía entre las especies y en función de su producción de biomasa aérea

Hipótesis 2.2: Las especies mejoradas a partir de la biomasa aérea presentan una menor plasticidad en la biomasa subterránea que los que fueron mejorados genéticamente considerando su producción de biomasa subterránea.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Sitio de estudio

El experimento fue realizado en INIA-La Estanzuela (Colonia, 34,2° S - 57,1° O, 81 m de altitud sobre el nivel del mar) en los años 2013, 2014 y 2015. El suelo es un Argiudol Típico de la unidad Ecilda Paullier-Las Brujas, con textura franco-arcillo-limosa, con 2,92% de carbono orgánico, 4,4 µg/g de N-NO₃, 27,3 µg g⁻¹ de P (Bray) y 0,48 meq/100g de K (acetato de amonio). Las condiciones de temperatura y precipitaciones del período bajo estudio se muestran en el cuadro 3.1.

3.2.2. Descripción del experimento

Se evaluaron ocho especies candidatas a ser empleadas como cultivos de servicios pertenecientes a las familias de leguminosas, gramíneas o crucíferas. El diseño del experimento fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones, repetido en 3 años (2013, 2014 y 2015). El tamaño de las parcelas fue de 5 x 12 m². Las especies sembradas fueron *Vicia villosa* Roth cv. Amoreiras, *Trifolium alexandrinum* cv. INIA calipso, *Trifolium vesiculosum* cv. Sagit, *Trifolium resupinatum* cv. Sirius, *Raphanus sativus* cv.

Cuadro 3-1- Caracterización climática del sitio de estudio.

	Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Anual
Temperatura media														
	(°C)													
2013		23	22	18	17	13	11	10	10	13	16	19	25	17
2014		24	21	19	17	13	11	11	13	15	19	19	22	17
2015		22	23	21	19	16	12	11	14	12	14	18	22	17
Promedio (1974 - 2014)		23	22	20	17	14	11	10	12	13	16	19	22	17
Precipitación mensual														
	(mm)													
2013		48	89	63	65	88	3	40	43	212	32	99	11	790
2014		196	301	142	76	94	45	157	11	206	383	221	99	1931
2015		150	25	26	48	16	41	39	242	32	84	113	84	899
Promedio (1966 - 2015)		101	118	127	82	83	68	69	76	82	119	102	102	1129

*Información extraída de <http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico>

IPR 116, *Raphanus sativus* cv. CCS 779, *Avena sativa* L. cv. LE 1095a y *Lolium multiflorum* cv. INIA Camaro. En el caso de *Raphanus sativus*, se sembraron dos variedades que presentan características distintas en cuanto a la profundidad y tipo de raíz que forman. La siembra de las especies fue al voleo, sobre el cultivo de soja en pie. Las fechas de siembra fueron 18/04/2013, 28/4/2014 y 10/04/2015. La evaluación de la biomasa producida se realizó en las fechas 16/10/2013, 14/10/2014 y 14/9/2015. En todos los años, luego de la evaluación de biomasa se aplicaron herbicidas para terminar el ciclo de los cultivos de servicios y sembrar la soja siguiente.

3.2.3. Estimación de la biomasa aérea y subterránea de los cultivos

La estimación de la biomasa aérea se realizó a partir de 2 cortes por parcela en marcos de 50 x 90 cm². Para estimar la biomasa subterránea, se tomaron 4 muestras de suelo por parcela con un barreno de 10,5 cm de diámetro acoplado al hidráulico de un tractor. Dentro de las parcelas, las muestras fueron tomadas al azar a excepción de las parcelas con *Raphanus*. En estas parcelas se tomaron dos muestras sobre las plantas y dos sobre suelo desnudo y se ponderaron de acuerdo al número de plantas/m² (20% sobre las plantas y 80% sobre suelo desnudo). Las muestras fueron fraccionadas en 4 profundidades (0-5; 5-10; 10-20 y 20-30) y la biomasa subterránea se separó del suelo mediante el lavado manual sobre un tamiz de 1mm. A partir de los valores máximos y mínimos que presentaron las especies en la biomasa aérea y subterránea se estimó el índice de plasticidad. Para ello se consideraron los 3 años en conjunto y se utilizó la siguiente ecuación: (Máximo – Mínimo)/Máximo, a partir de los valores máximos y mínimos de la biomasa aérea y de la biomasa subterránea (Valladares et al. 2000).

3.2.4. Análisis de los rasgos en función del índice ambiental

La variación del ambiente sobre la biomasa total, aérea y subterránea y la partición raíz/tallo de las ocho especies se estudió a través del índice ambiental. Este índice permite utilizar los rendimientos de los cultivos en lugar de los datos climáticos (Finlay & Wilkinson 1963; Calderini & Slafer 1998). En cada año, el índice ambiental fue estimado como el promedio de la biomasa total de todas las especies de ese año. De este modo, un año “ambientalmente” pobre resulta en un índice ambiental bajo (porque en promedio las especies presentan una producción de biomasa baja) y lo inverso ocurre con un año “ambientalmente” rico. Las especies más estables se reconocen por presentar rendimientos mayores al promedio en los años pobres (Finlay y Wilkinson 1963). Los

autores utilizan la pendiente de la regresión como indicador de la estabilidad y la adaptabilidad de las variedades a los distintos ambientes.

3.2.5. Análisis estadísticos

Los efectos del ambiente (dado por el año), la especie y su interacción se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2003). La comparación post hoc de las medias se realizó mediante la prueba LSD de Fisher ($\alpha=0,05$). Los diferentes rasgos se evaluaron en función del índice ambiental que fue estimado en cada año a partir de la producción de biomasa total promedio de todas las especies. Para cada una de las especies se ajustaron regresiones lineales y se compararon los parámetros de las líneas de mejor ajuste.

3.3. Resultados

La producción de biomasa subterránea varió significativamente entre las especies y entre los años evaluados, y la interacción ExA fue marginalmente significativa ($p=0,088$; Cuadro 3.2). Las especies que más biomasa subterránea produjeron fueron *L. multiflorum* ($1,8\pm 0,3$ Tn.ha⁻¹) y los dos cultivares de *R. sativus* ($1,3\pm 0,5$ cv. IPR y $1,2\pm 0,7$ cv. CCS) (Figura 3.1 b). En promedio, la mayor producción de biomasa subterránea fue en el 2013 ($1,2$ Tn.ha⁻¹) y la menor en el 2015 ($0,8$ Tn.ha⁻¹). Las leguminosas y *A. sativa* presentaron una producción de biomasa subterránea similar entre años, mientras que las dos crucíferas y *L. multiflorum* variaron de manera importante su producción de raíces entre años de $0,5$ a $0,9$ Tn.ha⁻¹.

El ranking de especies ordenadas en función de su biomasa subterránea fue distinto al obtenido en base a la biomasa aérea. La biomasa aérea fue más variable que la subterránea tanto entre las distintas especies estudiadas ($2,3$ y $1,1$ Tn.ha⁻¹ de diferencia en la biomasa aérea y subterránea, respectivamente) como entre años ($2,2$ y $0,4$ Tn.ha⁻¹ de diferencia en la biomasa aérea y subterránea, respectivamente) (Figura 3.1). Por otro lado, la partición raíz/tallo varió significativamente entre especies y entre años y también fue significativa la interacción ExA (Cuadro 3.2). Las dos variedades de *R. sativus* mantuvieron una partición raíz/tallo promedio de $0,32$ que se mantuvo relativamente constante entre años. En cambio, en el resto de las especies la partición disminuyó en el año de mayor biomasa aérea (Figura 3.1 a). Entre las especies la partición raíz/tallo varió entre $0,27$ (*V. villosa*) y $0,7$ (*L. multiflorum*) y entre años varió entre $0,3$ (2013) y $0,45$ (2015) (Figura 3.1 a).

Cuadro 3-2- Resumen de los efectos de la especie, el ambiente (dado por el año) y de su interacción (ExA) sobre los rasgos biomasa aérea, biomasa subterránea y partición raíz/tallo de cultivos de servicios pertenecientes a las familias de leguminosas, gramíneas y crucíferas (valores-p, ANOVA).

	Especie	Año	E*A
Biomasa aérea	<0,001	<0,001	0,014
Biomasa subterránea	<0,001	<0,001	0,088
Raíz/Tallo	<0,001	<0,001	0,001

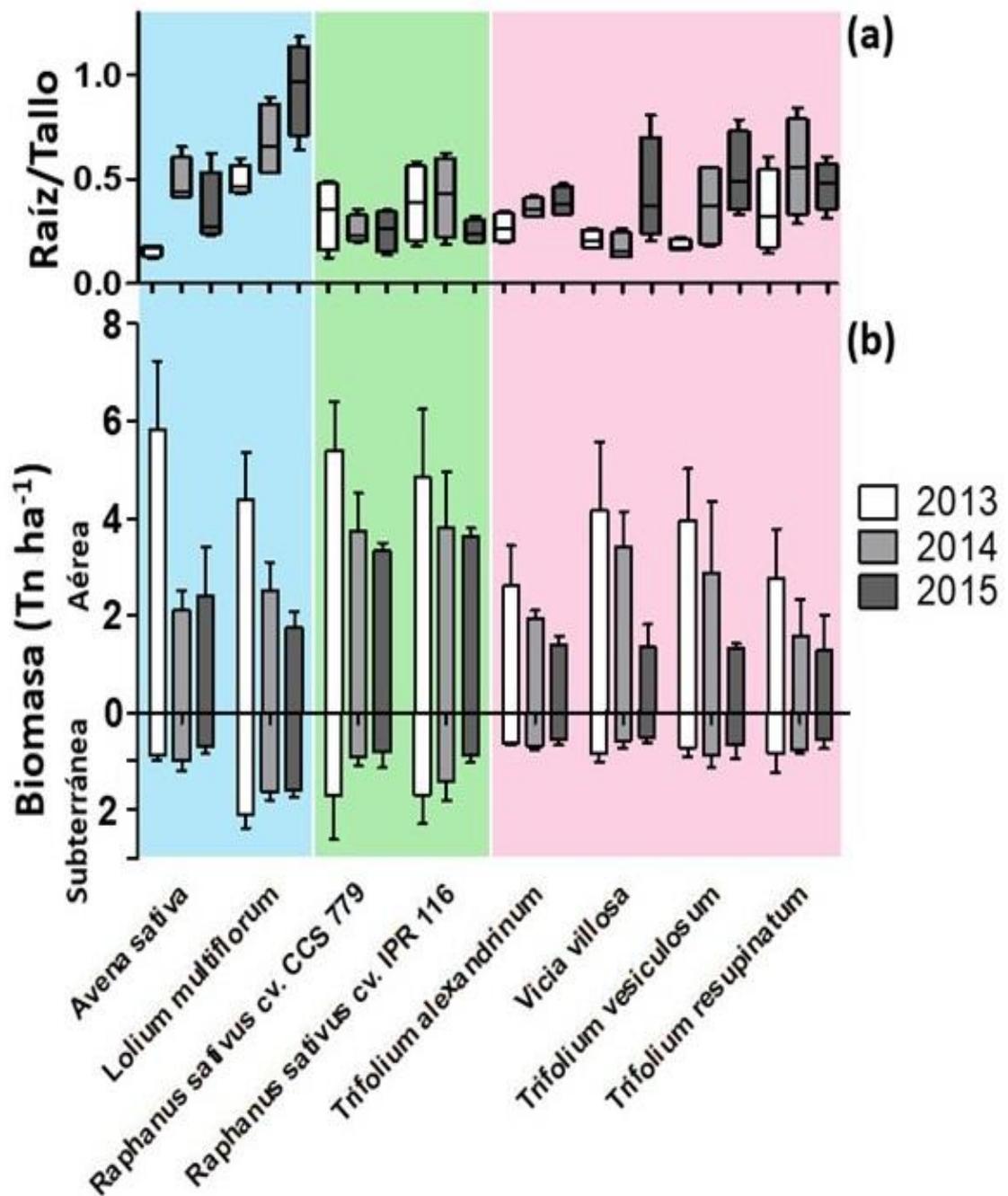


Figura 3-1- Partición raíz/tallo y producción de biomasa aérea y subterránea de 8 especies pertenecientes a las familias de gramíneas (*Avena* o *Lolium*), crucíferas (*Raphanus*) o leguminosas (*Trifolium* o *Vicia*) en los años 2013, 2014 y 2015. En el panel superior las cajas y bigotes muestran las particiones raíz/tallo, la caja contiene al 50% de los datos y la línea indica el valor de la mediana (a). En el panel inferior las columnas muestran la biomasa aérea (en valores positivos) y la subterránea (en valores negativos) que produjeron en promedio las distintas especies en cada año y su error standard (n=4) (b). En ambos paneles, las especies se encuentran agrupadas por familia.

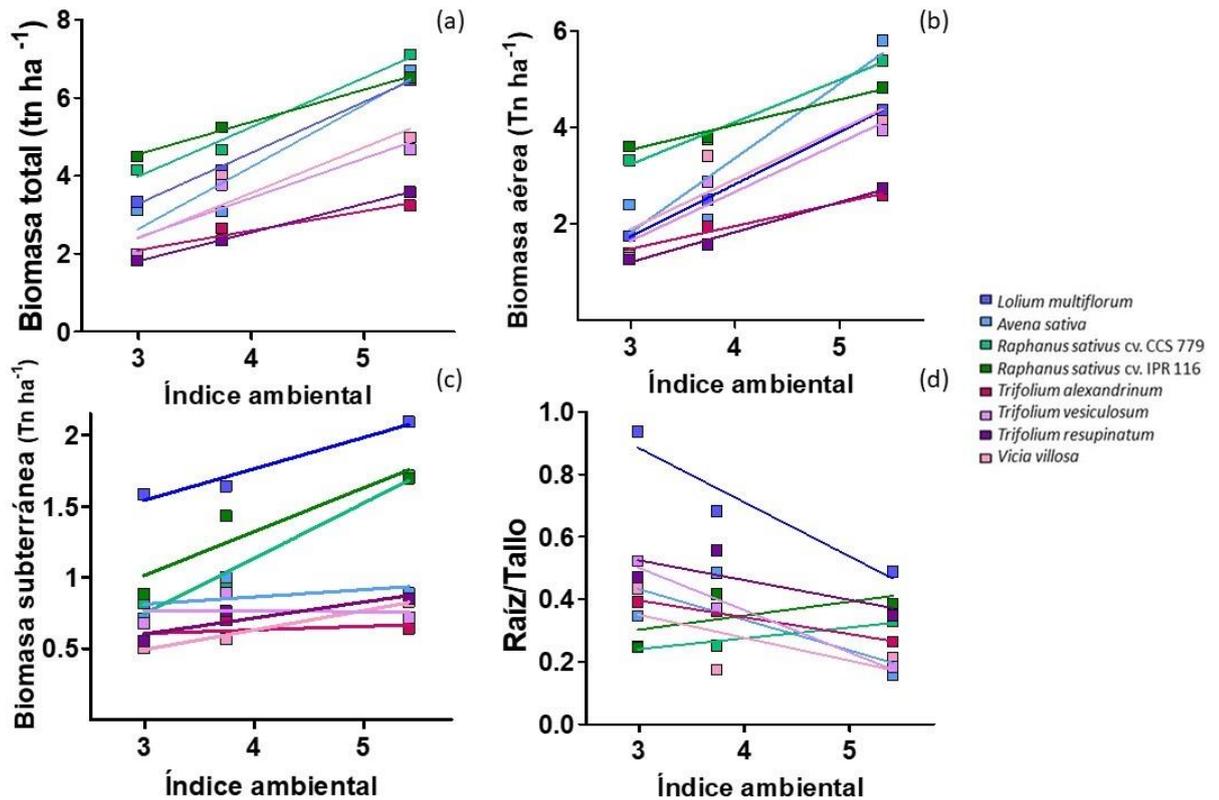


Figura 3-2- Rasgos de diferentes cultivos de servicios de leguminosas, gramíneas y crucíferas en función del índice ambiental. Los rasgos representados en los paneles son la biomasa total (a), la biomasa aérea (b), la biomasa subterránea (c) y la partición raíz/tallo (d). El índice ambiental representa el promedio de la biomasa total de todas las especies en cada año evaluado. En todos los casos las regresiones lineales fueron construidas considerando los valores de los 4 bloques de cada año y se las ecuaciones muestran en el Cuadro 3.3.

Cuadro 3-3- Coeficientes de las regresiones lineales entre la biomasa total, aérea y subterránea, y la partición raíz/tallo y el índice ambiental. Las ecuaciones muestran los coeficientes de las rectas que mejor explican las relaciones, el r^2 representa el ajuste y se indica que la pendiente es significativamente distinta de 0 con (*).

Especie	Biomasa total	Biomasa aérea	Biomasa subterránea	raíz/tallo
<i>L. multiflorum</i>	$y=1,3\pm 0,2x-0,6$ $r^2=0,79^*$	$y=1,1\pm 0,2x-1,5$ $r^2=0,78^*$	$y=0,2\pm 0,1x-0,9$ $r^2=0,59^*$	$y= -0,2\pm 0,0x+1,4$ $r^2=0,55^*$
<i>A. sativa</i>	$y=1,6\pm 0,3x-2,1$ $r^2=0,69^*$	$y=1,5\pm 0,3x-2,8$ $r^2=0,67^*$	$y=0,1\pm 0,1x-0,7$ $r^2=0,01$	$y= -0,1\pm 0,0x+0,7$ $r^2=0,33$
<i>R. sativus</i> cv. CCS 779	$y=1,3\pm 0,2x+0,2$ $r^2=0,73^*$	$y=0,9\pm 0,2x+0,6$ $r^2=0,66^*$	$y=0,4\pm 0,2x-0,4$ $r^2=0,39^*$	$y= 0,0\pm 0,0x+0,1$ $r^2=0,1$
<i>R. sativus</i> cv. IPR 116	$y=0,8\pm 0,3x+2,1$ $r^2=0,50^*$	$y=0,5\pm 0,3x+2,0$ $r^2=0,25$	$y=0,3\pm 0,1x+0,0$ $r^2=0,39^*$	$y= 0,0\pm 0,0x+0,2$ $r^2=0,08$
<i>T. alexandrinum</i>	$y=0,5\pm 0,1x+0,6$ $r^2=0,53^*$	$y=0,5\pm 0,3x+0,0$ $r^2=0,55^*$	$y=0,0\pm 0,0x+0,5$ $r^2=0,07$	$y= -0,1\pm 0,0x+0,6$ $r^2=0,48^*$
<i>T. vesiculosum</i>	$y=1,0\pm 0,3x-0,6$ $r^2=0,48^*$	$y=1,0\pm 0,3x-1,4$ $r^2=0,53^*$	$y=0,0\pm 0,1x+0,8$ $r^2=0,0$	$y= -0,1\pm 0,0x+0,9$ $r^2=0,47^*$
<i>T. resupinatum</i>	$y=0,7\pm 0,2x-0,4$ $r^2=0,50^*$	$y=0,6\pm 0,2x-0,6$ $r^2=0,42^*$	$y=0,1\pm 0,1x-0,3$ $r^2=0,20$	$y= -0,1\pm 0,1x+0,7$ $r^2=0,12$
<i>V. villosa</i>	$y=1,2\pm 0,3x-1,1$ $r^2=0,57^*$	$y=1,0\pm 0,3x-1,2$ $r^2=0,52^*$	$y=0,1\pm 0,0x+0,0$ $r^2=0,52^*$	$y= -0,1\pm 0,0x+0,6$ $r^2=0,17$

Las especies respondieron al aumento del índice ambiental con diferencias significativas en la pendiente sólo en la biomasa subterránea y en la partición raíz/tallo y

no en la biomasa aérea, ya que esta última aumentó en todos de forma similar (Cuadro 3.3). En las crucíferas, la biomasa subterránea aumentó con una pendiente mayor a 0,3 con el aumento del índice ambiental y el *L. multiflorum* con una pendiente de 0,22. En cambio, en el resto de las especies la biomasa subterránea no respondió de forma significativa al aumento del índice ambiental (Figura 3.2, Cuadro 3.3). Tanto en leguminosas como en gramíneas la partición raíz/tallo disminuyó en el ambiente de mayor índice ambiental, pero en las crucíferas aumentó un 37% en *R. sativus* cv. CCS y un 57% en el cv. IPR (Figura 3.2). Por su parte, la biomasa total y aérea aumentaron en función del índice ambiental en todas las especies (Figura 3.2). La ausencia de diferencias significativas en la pendiente permitió comparar las ordenadas al origen, que representa la biomasa producida cuando el índice ambiental es 0. La mayor ordenada al origen fue la de *R. sativus* cv. IPR ($2,1 \pm 1,1$) que no presentó diferencias significativas con las ordenadas de *R. sativus* cv. CCS y *T. alexandrinum*. El resto de las especies presentaron ordenadas al origen más bajas que variaron entre -2,1 (*A. sativa*) y -0,6 (*T. vesiculosum* y *L. multiflorum*) (Cuadro 3.3).

Las dos crucíferas evaluadas presentaron mayor plasticidad en la biomasa subterránea que en la aérea, pero las gramíneas y las leguminosas, presentaron el patrón inverso (Figura 3.3). El índice de plasticidad de la biomasa subterránea de las crucíferas fue 0,5 mientras que el de la biomasa aérea fue sólo 0,3. En cambio, en el resto de las especies el índice de plasticidad de la biomasa aérea varió entre 0,7 (*T. vesiculosum* y *V. villosa*) y 0,5 (*T. alexandrinum*). Tanto las gramíneas como las leguminosas presentaron mayor plasticidad en la biomasa aérea que en la subterránea, la cual además fue menos variable (entre 0,2 y 0,4). Las gramíneas evaluadas fueron muy similares en cuanto a su plasticidad tanto en la biomasa aérea ($\approx 0,6$) como en la biomasa subterránea ($\approx 0,3$). En las crucíferas la plasticidad de la biomasa subterránea fue mayor y similar entre los dos cultivares ($\approx 0,5$) pero la de la biomasa aérea varió según el cultivar entre 0,25 (cv. IPR) y 0,38 (cv. CCS). En cambio, en las leguminosas la plasticidad resultó muy variable entre especies, desde 0,46 (*T. alexandrinum*) a 0,67 (*V. villosa*) en la biomasa aérea y entre 0,21 (*T. alexandrinum*) y 0,38 (*V. villosa*) en la biomasa subterránea.

Las distintas especies presentaron diferencias significativas en la producción de biomasa subterránea hasta los 20 cm de profundidad (Figura 3.4; Cuadro 3.4). En las primeras profundidades, 0-5 y 5-10, la interacción de especie*año fue significativa, siendo los dos cultivares de *R. sativus* y *L. multiflorum* las especies que más biomasa subterránea acumularon en el año 2013 (Cuadro 3.4). Estas presentaron más del 60% de su producción de biomasa subterránea total concentrada en los primeros 5 cm. En el 2013 estas especies acumularon en los primeros 30 cm de profundidad un total de $1,6 \pm 0,1$ Tn.ha⁻¹ y en el 2015 $0,7 \pm 0,2$ Tn.ha⁻¹. El resto de las especies presentaron entre el 51 y el 44% de su biomasa subterránea en los primeros 5 cm del suelo, y por lo tanto presentaron una mayor proporción de sus raíces en profundidad, aunque no superaron en estas profundidades la producción total de biomasa subterránea de las crucíferas o la de *L. multiflorum* en ninguno de los años. En la profundidad 10-20, *L. multiflorum* y *R. sativus* cv. IPR fueron las especies que presentaron mayor biomasa subterránea ($0,2 \pm 0,09$ Tn.ha⁻¹) y las leguminosas las que produjeron las menores cantidades ($0,1 \pm 0,009$ Tn.ha⁻¹). En promedio la biomasa subterránea en la profundidad 20-30 fue relativamente pequeña ($96,4$ kg.ha⁻¹) y no presentó diferencias entre las especies. Sin embargo, varió desde $123,7$ kg.ha⁻¹ en el 2013 a $63,5$ kg.ha⁻¹ en el 2015.

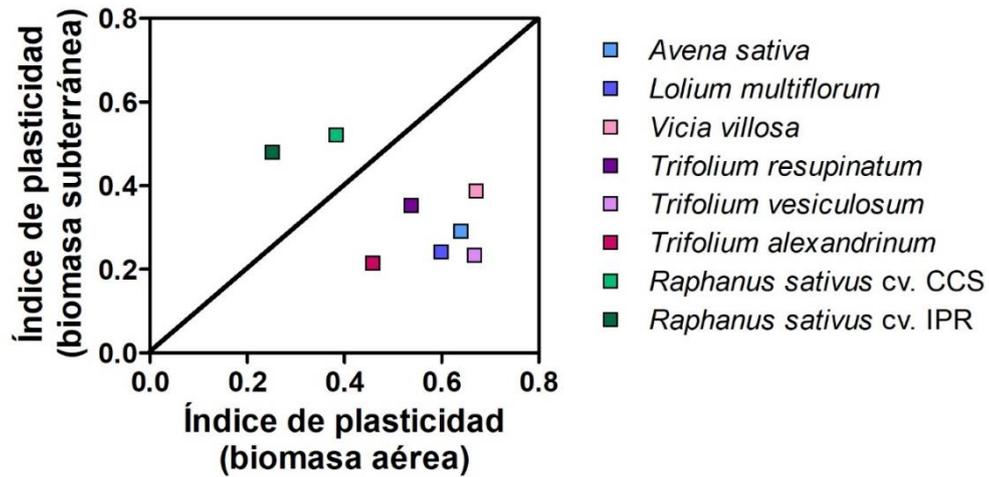


Figura 3-3- Índice de plasticidad que presentaron los diferentes cultivos de servicios en la biomasa aérea y subterránea. Para ambos rasgos, se consideraron en conjunto las estimaciones de los años 2013, 2014 y 2015 y el índice de plasticidad fue estimado con la ecuación “(Máximo–Mínimo)/Máximo” de la biomasa aérea (eje x) y de la biomasa subterránea (eje y) (Valladares 2000).

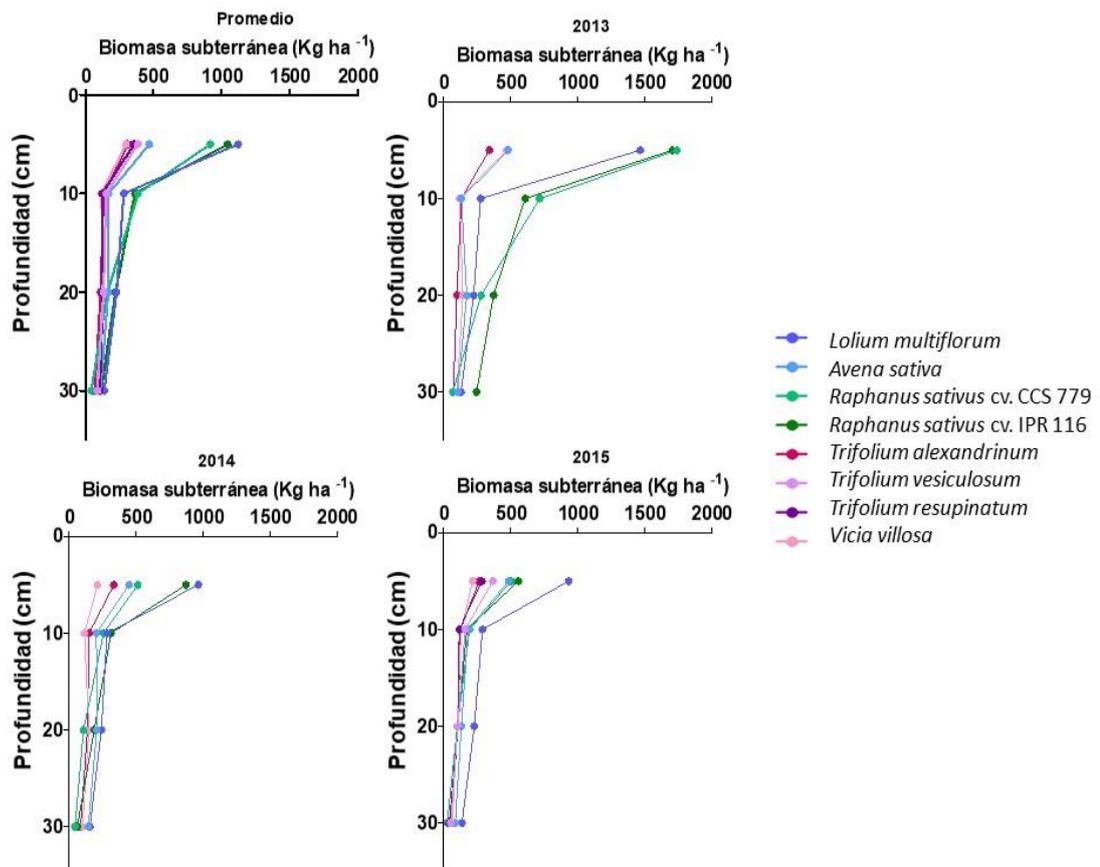


Figura 3-4- Producción de biomasa subterránea en las profundidades 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm. Se muestra la producción de biomasa subterránea promedio para los tres años, para el 2013, para el 2014 y para el 2015.

Cuadro 3-4- Producción de biomasa subterránea de las diferentes especies en las profundidades 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30. En las profundidades 0-5 y 5-10 la interacción especie*año fue significativa ($p<0,01$) y las diferencias significativas se muestran con letras distintas en cada profundidad. En la profundidad 10-20 la interacción especie*año no fue significativa ($p=0,08$) y letras diferentes muestran las diferencias significativas que presentaron las especies. En la profundidad 20-30 la producción subterránea no presentó diferencias significativas entre especies ($p=0,21$).

Profundidad	Biomasa subterránea (Kg.ha ⁻¹)			
	Año 2013	Año 2014	Año 2015	
0-5				
<i>A. sativa</i>	480,47 cd	446,84 d	484,52 cd	
<i>L. multiflorum</i>	1466,8 a	963,86 b	933,68 b	
<i>R. sativus</i> cv. CCS 779	1741,33 a	511,54 cd	502,78 cd	
<i>R. sativus</i> cv. IPR 116	1708,36 a	871,8 bc	557,08 bcd	
<i>T. alexandrinum</i>	340,56 d	333,29 d	264,03 d	
<i>V. villosa</i>	468,95 cd	211,05 d	216,73 d	
<i>T. vesiculosum</i>	370,25 d	421,05 d	367,62 d	
<i>T. resupinatum</i>	465,58 cd	324,01 d	284,06 d	
5-10				
<i>A. sativa</i>	131,78 b	203,16 b	182,58 b	
<i>L. multiflorum</i>	275,32 b	282,39 b	288,98 b	
<i>R. sativus</i> cv. CCS 779	717,42 a	256,34 b	191,74 b	
<i>R. sativus</i> cv. IPR 116	608,44 a	312,35 b	172,05 b	
<i>T. alexandrinum</i>	131,22 b	148,03 b	125,37 b	
<i>V. villosa</i>	118,87 b	113,44 b	128,56 b	
<i>T. vesiculosum</i>	118,66 b	182,85 b	159,1 b	
<i>T. resupinatum</i>	111,66 b	142,99 b	116,37 b	
10-20				
<i>A. sativa</i>	ab	171,95	206,14	131,35
<i>L. multiflorum</i>	a	223,83	239,74	228,57
<i>R. sativus</i> cv. CCS 779	ab	278,28	107,36	102,23
<i>R. sativus</i> cv. IPR 116	a	372,18	187,27	105,59
<i>T. alexandrinum</i>	b	98,39	136,44	106,38
<i>V. villosa</i>	b	142,61	147,09	100,98
<i>T. vesiculosum</i>	b	122,81	175,57	104,57
<i>T. resupinatum</i>	b	109,96	173,81	107,48
20-30				
<i>A. sativa</i>		104,39	142,39	86,85
<i>L. multiflorum</i>		128,78	155,13	135,3
<i>R. sativus</i> cv. CCS 779		67,75	42,88	26,26
<i>R. sativus</i> cv. IPR 116		245,89	60,22	47,57
<i>T. alexandrinum</i>		72,27	85,16	56,18
<i>V. villosa</i>		100,99	98,28	62,69
<i>T. vesiculosum</i>		107,89	110,7	51,55
<i>T. resupinatum</i>		161,85	121,02	41,43

3.4. Discusión

Los cultivos de servicios generalmente son caracterizados por su biomasa aérea aunque también deberían ser caracterizados por su producción de biomasa subterránea cuando se siembran para aumentar la MOS o mejorar las propiedades físicas del suelo (Sasal & Andriulo 2005; Jackson et al. 2017). Los resultados de este capítulo apoyan la hipótesis 2.1 ya que muestran que la variación en la partición raíz/tallo entre las especies no permite elegir a los cultivos de servicios de mayor biomasa subterránea a partir de su biomasa aérea (Figura 3.1). En general, la partición hacia la raíz fue mayor en las crucíferas y en *L. multiflorum*, y sólo en las crucíferas la partición fue relativamente constante en todos los años (Figura 3.1). En cambio, en las leguminosas y en las gramíneas la partición disminuyó en función del índice ambiental, debido a que la plasticidad de la biomasa subterránea fue menor a la de la biomasa aérea (Figura 3.2 y 3.3). Este resultado apoya la hipótesis 2.2 planteada en este capítulo que sostiene que “Las especies mejoradas a partir de la biomasa aérea presentan una menor plasticidad en la biomasa subterránea que los que fueron mejorados genéticamente considerando su producción de biomasa subterránea”. Probablemente, el mejoramiento genético de las leguminosas y las gramíneas a favor del aumento en la biomasa aérea haya conducido a una baja plasticidad en la biomasa subterránea (Grossman & Rice 2012). En cambio, la mayor plasticidad en la producción de biomasa subterránea de *R. sativus* podría deberse a que este rasgo fue considerado durante su mejoramiento genético (Iwata et al. 2004).

En general, la producción de biomasa subterránea que presentaron los cultivos de servicios evaluados fue menor a la reportada en otros trabajos (Oderiz et al. 2017; Liu et al. 2015; Frasier et al. 2012). La mayor producción de biomasa subterránea fue de 1,8 Tn.ha⁻¹ en *L. multiflorum*. Esta producción de raíces es menos de la mitad de lo que fue reportado para otras gramíneas como el centeno (4,5 Tn.ha⁻¹) e incluso bastante menor a la biomasa subterránea de una leguminosa evaluada por los mismos autores (3,2 Tn.ha⁻¹) (Oderiz et al. 2017; Frasier et al. 2012). Cabe destacar que en estos trabajos los muestreos se realizaron con barrenos de menor diámetro y que la ponderación utilizada para las muestras tomadas sobre el surco y sobre el entresurco puede sobreestimar la producción de biomasa subterránea.ha⁻¹ (Frasier et al. 2016; Mazzilli et al. 2010). En cambio, las particiones raíz/tallo en general se encontraron dentro del rango reportado para especies anuales (0,3-0,6) (Liu et al. 2013). Sólo en el año de menor producción de biomasa aérea *L. multiflorum* presentó una partición raíz/tallo alta y semejante a la reportada para vicia por Oderiz et al. (2017). Por otra parte, la distribución de las raíces disminuyó en profundidad como es esperable. Generalmente en los primeros cm de profundidad de suelo se encuentra entre el 40 y 60% de las raíces (Oderiz et al. 2017). Nuestros resultados muestran que *L. multiflorum* y los dos *R. sativus* presentaron el 61% de sus raíces en los primeros 5 cm, mientras que el resto de las especies esta proporción fue significativamente menor (49%).

Es importante considerar que tanto la plasticidad como la variación en el índice ambiental contemplan solo la variación entre años para un solo sitio. Por lo tanto, algunas variables ambientales que influyen en la producción de biomasa subterránea y que varían entre sitios o distintas regiones, no han sido exploradas en esta tesis. En este sentido, en otros trabajos se han observado diferencias en la biomasa subterránea debidos a la presencia de impedancias físicas en el suelo (Bengough & Mullins 1990; Bengough et al. 2011), a la escasez de agua (Ramamoorthy et al. 2017) y a la escasez de nutrientes poco móviles como el fósforo (Reynolds & D’Antonio 1996; Kong & Six 2010; Rubio et al. 2003). Sin embargo, a pesar de esta limitante, la variación entre años fue suficiente para

generar diferencias importantes en la biomasa aérea de cada especie (Cuadro 3.2 y Figura 3.1). Como consecuencia, fue posible comparar la partición raíz/tallo de las distintas especies y su variación en relación con la biomasa producida en cada año.

Las diferencias en biomasa subterránea observadas entre las especies comparadas sugieren que sus impactos en la MOS y en las propiedades físicas del suelo pueden ser distintos. Las especies que presentaron la mayor producción de biomasa subterránea fueron *L. multiflorum* y los dos cultivares de *R. sativus*, aunque desarrollan sistemas radicales muy distintos. *R. sativus* presenta una raíz pivotante de ≈ 5 cm de diámetro, que es capaz de atravesar capas endurecidas del suelo y mejorar su estructura (Chen & Weil 2010). En ausencia de dicho impedimento, tanto las raíces gruesas como las más finas favorecen la formación de bioporos y aumentan la estabilidad de agregados (Obi 1999; Kabir & Koide 2000; Williams & Weil 2004; Abiven et al. 2009; Blanco-Canqui et al. 2013). Por otra parte, con respecto a la formación de MOS es probable que las raíces de *L. multiflorum* presenten una mayor humificación que las de los *R. sativus*. Esto se basa en que la MOS formada a partir de las raíces de menor diámetro permanece en el suelo por más tiempo porque su descomposición se ve restringida (Six et al. 2002; Rasse et al. 2005).

Además de la cantidad de biomasa subterránea (y total) producida, su calidad también afecta la formación de MOS. Por ejemplo, las leguminosas presentan una menor relación C/N que las gramíneas o crucíferas y es probable que esto afecte la formación de MOS asociada a los minerales (MAOM). Esta fracción está compuesta por productos derivados de los microorganismos que presentan un bajo peso molecular y se encuentran adsorbidos a los minerales (Bernoux et al. 1998; Christensen 2001). La biomasa subterránea de gramíneas o crucíferas, al presentar una mayor C/N, posiblemente estimule la descomposición de la MAOM preexistente en mayor medida que la de las leguminosas, tal como fue observado en otros trabajos y definido como efecto *priming* (Fontaine et al. 2003; Mazzilli et al. 2014). Al mismo tiempo, la formación de MOS a partir de esos residuos es más ineficiente que la de las leguminosas, porque una mayor proporción es respirada por los microorganismos. En este sentido, sobre todo en aquellos suelos que posean un bajo contenido de MAOM, es probable que el aumento en la MOS sea mayor cuando los aportes de residuos sean de leguminosas que cuando sean de gramíneas o crucíferas (Castellano et al. 2012).

Por otra parte, como las especies no presentaron diferencias significativas en la biomasa subterránea por debajo de los 20 cm es posible que el impacto en la formación de MOS en las capas profundas del suelo no presente diferencias entre especies. No ocurriría lo mismo para funciones de las raíces asociadas a la captación de agua o nutrientes (Figura 3.4). La biomasa subterránea en la profundidad de 20-30 cm representó un porcentaje muy bajo de la producción total de raíces con lo cual, es probable que el espectro de análisis de los primeros 30 cm haya podido cuantificar la mayor parte de los aportes de C de toda la biomasa subterránea producida por las distintas especies. Sin embargo, esta evaluación no permite caracterizar a los cultivos de servicios en cuanto a su capacidad para absorber agua y nutrientes en profundidad. Esto último se encuentra muy relacionado con la posibilidad de evitar la lixiviación de los nutrientes del suelo y para ello es necesario conocer la profundidad máxima de exploración radical (Ehdaie et al. 2010; Restovich et al. 2012; Thorup-Kristensen et al. 2012).

La inclusión de cultivos de servicios permite aumentar la captura de recursos y energía en los ecosistemas y puede reducir los impactos negativos de la agricultura para mantener la producción en el largo plazo (Doré et al. 2011; Bommarco et al. 2013;

Schipanski et al. 2014; Tiftonell 2014). Sin embargo, como los recursos suelen ser limitados (e.g. agua del suelo) es necesario maximizar los beneficios que los cultivos de servicios pueden brindar. En otras palabras, es necesario elegirlos considerando rasgos que estén estrechamente relacionados con el beneficio que se desea obtener. Si bien es necesario complementar los resultados obtenidos en este capítulo con la composición bioquímica y descripción morfológica de las raíces, es probable que los *R. sativus* y *L. multiflorum* mejoren las propiedades físicas del suelo y a la vez, *L. multiflorum* junto con las leguminosas *T. vesiculosum* y *V. villosa* provoquen mayores aumentos en la MOS. Sin embargo, a futuro es necesario realizar experimentos que cuantifiquen la relación de estos rasgos de las distintas especies utilizadas como cultivos de servicios (e.g. producción de biomasa subterránea o aérea, su composición química, profundidad de raíces, etc.), con los distintos servicios u objetivos para los cuales son sembradas (e.g. formación de MOS, descompactación, protección contra la erosión, etc.). Futuros trabajos que evalúen estas relaciones podrán basarse en el concepto de grupos funcionales de plantas, las cuales agrupan rasgos fenotípicos comunes, facilitando la conceptualización de los mecanismos involucrados en la provisión de los distintos servicios ecosistémicos.

3.5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este capítulo mostraron que tanto la producción de biomasa subterránea como su relación con la biomasa aérea fue variable entre las distintas especies, incluso dentro de la misma familia. Las mayores producciones de biomasa subterránea las presentaron *L. multiflorum* y los dos cultivares de *R. sativus* (entre 1,3 y 1,8 Tn.ha⁻¹). La biomasa subterránea de las distintas especies de leguminosas y gramíneas fue variable, pero en todas ellas se mantuvo relativamente constante entre años resultando en una disminución en la partición raíz/tallo en los años de mayor producción de biomasa aérea. En cambio, los dos cultivares de crucíferas (*R. Sativus*) presentaron una partición estable entre años y, por lo tanto, la biomasa aérea y la subterránea aumentaron en los años buenos. Las diferencias que presentaron las especies de las diferentes familias probablemente se deban a los rasgos que fueron considerados durante su mejoramiento genético, la biomasa aérea en las gramíneas y leguminosas, y la biomasa subterránea en las especies de crucíferas evaluadas.

4. CAPÍTULO 4- Humificación y descomposición de la materia orgánica del suelo bajo diferentes cultivos de servicios

4.1. Introducción

Uno de los mayores desafíos para sostener la producción agrícola en el largo plazo es diseñar agroecosistemas que permitan mantener la materia orgánica del suelo (MOS) (Power 2010; Tifton 2014; Banwart et al. 2015). Por un lado, la MOS determina la productividad de los agroecosistemas porque se encuentra muy relacionada con la fertilidad, la estructura física, la infiltración y la retención de agua para los cultivos (Bauer & Black 1994; Lal 1997; Reeves 1997; Saxton & Rawls 2006). Pero a su vez, el almacenaje de carbono (C) en la MOS permite reducir la concentración de C en la atmósfera y mitigar el cambio climático (Lal 2004; Bernoux et al. 2009). Por lo tanto, resulta crucial el planteo de alternativas que permitan mejorar el balance de C en los agroecosistemas, modificando los ingresos o las salidas de C orgánico del suelo (COS), de modo lograr contenidos similares de COS a los de los ecosistemas naturales (Crews & Rumsey 2017).

La siembra de cultivos de servicios en los periodos de barbecho puede aumentar la MOS mediante el aumento de los ingresos o la reducción de las salidas de C al suelo. En sistemas de cultivos anuales, la MOS disminuye debido a las pérdidas por erosión ocasionadas por la baja cobertura presente en el barbecho (Sawchik et al. 2012), pero también debido a que los aportes de biomasa son menores por cosecha de granos y la baja producción subterránea de los cultivos de renta (Kell 2011; Bolinder et al. 2012). Los cultivos de servicios pueden incidir sobre ambos flujos en simultáneo porque cubren el suelo reduciendo la erosión y aumentan los aportes de biomasa al suelo. Sin embargo, tras la inclusión de estos cultivos no siempre se observan aumentos en la MOS (Poeplau & Don 2015; Alvarez et al. 2017). En este sentido, para lograr un mayor entendimiento de los cambios que ocurren en la MOS, es importante considerar que tanto la productividad de los cultivos de servicios como la composición química y la biomasa de raíces finas y gruesas, pueden influir en los flujos determinan el balance de COS (i.e. descomposición y formación del COS) (Janzen et al. 1998; Baisden & Amundson 2003; Bolinder et al. 2007; Kong & Six 2010).

Probablemente la ausencia de efectos consistentes de los cultivos de servicios sobre la MOS se deba a que las comparaciones usualmente se realizan analizando los contenidos totales de MOS, lo cual no es suficiente para abordar su heterogeneidad y complejidad estructural y a su vez, por ser un compartimento tan grande, es difícil la detección de sus cambios en tiempo relativamente cortos (Poeplau & Don 2015; Alvarez et al. 2017). Para ello es posible utilizar una aproximación experimental que combine el uso de isótopos estables de ^{13}C con el fraccionamiento físico de la MOS para poder estudiar la descomposición y la humificación en cada fracción en el tiempo (Piñeiro et al. 2012). La MOS puede separarse en dos fracciones en función del tamaño de partícula, las cuales se distinguen en su estructura, funcionamiento y tiempo de residencia del C en el suelo: materia orgánica particulada (POM > 50 μm) y materia orgánica asociada a los minerales (MAOM < 50 μm) (Cambardella & Elliot 1992; Bernoux et al. 1998; Christensen 2001). La POM está compuesta por restos vegetales y presenta una bioquímica muy similar a la broza, ya que únicamente las diferencia el tamaño de partícula (broza > 2 mm > POM). Por lo tanto, al igual que en la broza, la descomposición de la POM se encuentra limitada por la presencia de compuestos recalcitrantes (i.e. altos contenidos de lignina y relación C/N) y podría ser estimulada por el aumento en el N disponible (Knorr et al. 2005). En cambio, la MAOM está compuesta por productos derivados de los microorganismos que presentan bajo peso molecular y relación C/N. Estos compuestos presentan una protección física a la descomposición porque se

encuentran adsorbidos a las arcillas y limos, ocluidos dentro de los agregados o asociados a metales del suelo y por lo tanto los microorganismos requieren mucha energía para descomponerlos (Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003).

Recientemente, fue demostrado que la persistencia de la MAOM en el suelo no está dada por su composición química, sino que depende de procesos que ocurren a nivel ecosistémico (Schmidt et al. 2011). Durante décadas, se asumió que la fracción más grande y más estable de la MOS estaba formada por macromoléculas complejas, como los ácidos húmicos y fúlvicos. Estas “sustancias húmicas” pueden ser extraídas del suelo mediante métodos químicos y parecen ser sustancias muy recalcitrantes que presentan una muy baja tasa de descomposición (Stevenson 1994). Sin embargo, mediante observaciones de la MOS *in situ*, se demostró que en el suelo sólo se encuentran estructuras moleculares pequeñas y simples y que, las sustancias húmicas eran el resultado de una interpretación incorrecta de las extracciones realizadas en el laboratorio. Es por ello que actualmente, se sostiene que la persistencia de la MOS es el resultado de interacciones complejas con el ambiente (Schmidt et al. 2011). Por un lado, la textura del suelo define el límite de saturación del suelo, es decir los sitios en los que las sustancias simples pueden ser adsorbidas (Six et al. 2002; Stewart et al. 2009; Castellano et al. 2012). Por el otro, los aportes de biomasa que reciba el suelo junto con su calidad repercuten tanto en la formación como en la descomposición de la MOS (Castellano et al. 2012; Cotrufo et al. 2013).

Cambios tanto en las entradas, dadas por la humificación de los aportes de biomasa, como en las salidas, dadas por la descomposición del COS, pueden ser estimados con el método de dilución isotópica basado en las abundancias naturales (relación de $\delta^{13}\text{C} = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$) que presentan las plantas con metabolismo fotosintético C_3 y C_4 . Las plantas C_3 fijan el CO_2 con la enzima rubisco (ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa) que discrimina al isótopo de ^{13}C y resulta en $\delta^{13}\text{C}$ muy bajas (entre -30 y -24‰). En cambio, las plantas C_4 tienen un paso inicial en la fijación donde el fosfoenol piruvato (PEP) aporta más carbono a la rubisco para la fijación de CO_2 . Dado que la PEP discrimina menos al ^{13}C que la rubisco, las plantas C_4 quedan con una $\delta^{13}\text{C}$ enriquecida (entre -16 y -10‰). Esto permite que, cuando un campo natural con presencia de especies C_4 es transformado en un campo de cultivos en donde sólo se siembran especies C_3 , sea posible distinguir el C_{viejo} , que estaba presente en el campo natural, del C_{nuevo} que fue formado a partir de los cultivos C_3 (Balesdent & Balabane 1992; Desjardins et al. 1994; Angers et al. 1995). Para ello, es necesario considerar tanto el cambio inicial que ocurre luego de la aplicación de herbicidas y el laboreo del campo natural, como el que ocurre luego de sembrar los cultivos anuales (Mazzilli 2015). Esto permite estimar el porcentaje de descomposición, a partir de la diferencia entre el C_{viejo} y el contenido de C en el momento inicial, y el porcentaje de humificación considerando la proporción de los aportes de C de los cultivos que forman C_{nuevo} .

Las características de los cultivos de servicios que influyen en la descomposición y en la humificación del C de cada fracción de la MOS son muy diferentes (Janzen et al. 1998; Baisden & Amundson 2003; Bolinder et al. 2007; Kong & Six 2010). Los aportes de biomasa que más contribuyen a la formación de C en la POM (C-POM) son los que presentan un mayor tiempo de residencia en esta fracción debido a su difícil descomposición (Melillo et al. 1982; Taylor et al. 1989; Enriquez & Duarte 1993). Por esta razón los aportes son más recalcitrantes (i.e. alta C/N y contenido de lignina) y los provenientes de la biomasa subterránea son los que más se humifican en la POM (Six et al. 2002; Mazzilli et al. 2015; Jackson et al. 2017). La biomasa subterránea además de ser

químicamente más recalcitrante que la aérea, presenta una mayor asociación con el suelo y menor contacto con el oxígeno debido a su ubicación en el suelo. Especialmente las raíces de menor diámetro son las que más se humifican en la POM, porque quedan atrapadas en poros de menor diámetro que dificultan el acceso a los microorganismos descomponedores y en los que prevalecen las condiciones de anoxia (Six et al. 2002; Rasse et al. 2005). Por otra parte, los aportes con baja C/N además de presentar tasas de descomposición más altas, podrían acelerar la descomposición de la POM_{vieja} de manera similar a lo que sucede con la descomposición de la broza broza, efecto conocido como *priming* y que llamaremos *priming* por nitrógeno (Knorr et al. 2005; Schimel & Hättenschwiler 2007; Janssens et al. 2010). Finalmente, dado que la POM puede aumentar indefinidamente, el contenido de POM depende del balance entre la humificación de los aportes y la descomposición de los restos vegetales que la conforman.

En la MAOM es importante considerar que la humificación de los aportes disminuye a medida que el contenido de COS se encuentra más cerca del límite de saturación del suelo (Six et al. 2002; Stewart et al. 2009; Castellano et al. 2012). Cuando la MAOM se encuentra asociada a las partículas de limo o arcilla, u ocluida dentro de los agregados, los microorganismos descomponedores necesitan mucha energía de activación para descomponerla (Balesdent et al. 2000; Six et al. 2002; Davidson & Janssens 2006; Castellano et al. 2012). Sin embargo, si no se encuentra asociada porque el suelo se encuentra saturado o si los microorganismos cuentan con energía suficiente, es posible que se descomponga parte del C asociado a la MAOM (C-MAOM). Es por ello, que cuando los aportes de biomasa de alta relación C/N aumentan la disponibilidad de energía para los descomponedores, pueden estimular la descomposición del C-MAOM (efecto que lo llamaremos *priming* por energía) (Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003; Guenet et al. 2012; Mazzilli et al. 2014). De todos modos, cuando se descompone parte del C-MAOM, el suelo comienza a estar menos saturado y aumenta la disponibilidad de sitios que pueden retener fuertemente a la MAOM. En este sentido, es probable que la humificación de los aportes sea mayor cuando éstos presentan una estequiometría similar a la de los microorganismos descomponedores. Si presentan una estequiometría distinta (i.e. residuos vegetales con alta relación C/N), la eficiencia en el uso del C disminuye porque los nutrientes limitantes condicionan la formación de MAOM (Baisden & Amundson 2003; Manzoni et al. 2010; Cotrufo et al. 2013; Kirkby et al. 2013).

En la región pampeana se recomienda la siembra de cultivos de servicios de especies de gramíneas, crucíferas y leguminosas con diversos objetivos (e.g. mejorar las propiedades físicas del suelo, proveer N por medio de la fijación biológica) que podrían aumentar las reservas de COS y de N orgánico del suelo (NOS) (Villamil et al. 2006; Varela et al. 2011; Diez et al. 2012; Restovich et al. 2012; Sawchik et al. 2012). Dado que las especies que pertenecen a estas familias presentan un amplio gradiente en cuanto a sus características morfológicas (e.g. producción de raíces, partición en raíces finas y gruesas, calidad y composición química de la biomasa), en este capítulo se estudiará cómo distintas especies afectan la descomposición y la humificación del C y los contenidos de N de la POM y la MAOM, cuando se reemplaza un campo natural por cultivos anuales. Las hipótesis asociadas a este objetivo son las siguientes:

Hipótesis 3.1: La inclusión de cultivos de servicios de gramíneas en las rotaciones conlleva una mayor humificación de C en la POM que los de leguminosas, debido a que sus aportes contienen una relación C/N más alta que la de las leguminosas y por lo tanto forman mayores cantidades de POM con un mayor tiempo de residencia en el suelo.

Hipótesis 3.2: La inclusión de cultivos de servicios de leguminosas en las rotaciones disminuye la cantidad de POM, ya que al tener una relación C/N baja aumenta la descomposición de la POM_{vieja} (efecto “priming” por N) y disminuye la formación de POM_{nueva}.

Hipótesis 3.3: La inclusión de cultivos de servicios de gramíneas en las rotaciones estimula la descomposición del C de la MAOM_{vieja} porque los aportes de alta relación C/N aumentan la disponibilidad de energía para los microorganismos descomponedores del suelo y logran acceder a la MAOM que se encuentra adsorbida a las partículas del suelo (efecto “priming” por energía).

Hipótesis 3.4: La inclusión de cultivos de servicios de leguminosas permite una mayor humificación de C en la MAOM porque los aportes presentan una estequiometría más parecida a la de los microorganismos descomponedores (C/N baja y más cercana a 10) y aumentan su eficiencia para la formación de MAOM.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Sitio de estudio

El experimento fue instalado sobre un campo natural ubicado en la Unidad Experimental Palo a Pique de INIA Treinta y Tres, Uruguay (33,25° de latitud sur, 54,48° de longitud oeste, 47,0 m de altitud sobre el nivel del mar). El suelo dominante en el área de estudio es un Argisol Subéutrico Lúvico y pertenece a la Unidad de Suelo José Pedro Varela. Previo a la instalación del experimento el suelo presentaba 8ppm de P (método de ácido cítrico), 10ppm de N-NO₃, 1,9 meq de Mg 100g⁻¹ y 0,3 meq de K 100g⁻¹. Las condiciones de temperatura y precipitaciones del período bajo estudio se muestran en el Cuadro 4.1.

Cuadro 4-1- Información meteorológica desde el año 2012 hasta el 2015 y el promedio histórico en el Depto. Treinta y Tres, Uruguay*

	Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Anual
Temperatura promedio (°C)														
2013		22	22	19	17	14	11	11	10	15	17	20	23	17
2014		24	23	20	17	14	11	12	13	16	19	20	22	17
2015		23	23	22	18	15	12	11	16	14	16	19	22	17
Promedio (1972 – 2015)		23	22	20	17	14	11	11	12	14	16	19	21	17
Precipitación mensual (mm)														
2013		64,6	150,84	56,6	133,3	128	45,5	109,8	88,7	288,1	70,6	151	47	1334
2014		207	147	139	121	40	81	135	39	194	232	160	218	1712
2015		144	30	30	4	71	19	43	313	109	139	41	128	1068
Promedio (1966 – 2015)		103	141	128	123	149	120	86	126	129	114	85	108	1412

* Información extraída de <http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico>

4.2.2. Descripción del experimento

En septiembre del 2011 se aplicó glifosato sobre el campo natural y se sembró el cultivo de soja mediante un laboreo reducido. En abril del 2012 se fertilizó con 100 kg. ha⁻¹ de Hyperfos (14/29% P₂O₅ + 4S + 27 Ca) y se iniciaron las rotaciones con la siembra al voleo de los cultivos para servicios sobre el cultivo de soja en pie. El diseño del experimento fue de bloques completos al azar con 3 repeticiones. Con el fin de acumular

los efectos de las rotaciones, durante 3 años (2012-2015) cada parcela recibió la misma rotación de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (Testigo). Los cultivos de servicios sembrados fueron *Trifolium alexandrinum* cv. INIA Calipso, *Vicia sativa* cv. Barril, *Raphanus sativus* cv. Brutus, *Lolium multiflorum* cv. INIA Cetus y *Avena strigosa* cv. Calprose Azabache. La siembra de los cultivos de servicios fue durante la primera quincena de abril y la aplicación de herbicida para interrumpir su ciclo, entre fines de septiembre y principios de octubre. El cultivo de soja se sembró en diciembre, mediante siembra directa a 32cm de distancia entre hileras.

4.2.3. Producción de biomasa y aportes de C y N al suelo

La producción de biomasa aérea de los cultivos para servicios, y por lo tanto sus aportes de C y N al suelo, se evaluó todos los años en primavera previo a la aplicación del herbicida por medio de 2 cortes por parcela en marcos de 50 cm x 90 cm. La producción subterránea se estimó a partir de la partición R/T de cada cultivo de servicio que fue evaluada en el experimento, en el año 2014. Todos los años se determinó el rendimiento del cultivo de soja y fueron utilizados para estimar la biomasa aérea y la subterránea considerando un índice de cosecha de 0,45 (Cárcova et al. 2008) y una partición raíz/tallo de 0,1, estimada a partir de mediciones en los cultivos de soja del experimento presentado en el capítulo 3. Todas las muestras de biomasa se secaron en estufa a 60°C y fueron analizadas con un espectrómetro de masa acoplado a un autoanalizador Elemental Analyzer en la universidad de DUKE en USA para estimar los contenidos de C, N y $\delta^{13}\text{C}$. Estas mediciones permitieron caracterizar las entradas de biomasa al suelo que se detallan en el Cuadro 4.2.

4.2.4. Estimación de la descomposición y humificación de la materia orgánica particulada (POM) y la asociada a los minerales (MAOM).

Para evaluar el cambio que genera cada rotación en la señal isotópica del C en la POM y en la MAOM se realizaron muestreos de suelo correspondientes a 3 momentos: 1) sobre el campo natural sin disturbar (en abril del 2012 alrededor de los 3 bloques); 2) en el momento inicial, donde siete meses antes se había realizado un laboreo reducido y la aplicación de herbicidas sobre el campo natural (en abril del 2012, dentro de los 3 bloques); y 3) en el momento final luego de las rotaciones de 3 años de duración (en febrero del 2015, 5 meses después de la última supresión de los cultivos para servicios sembrados del 2014). En cada parcela, se tomaron 8 muestras con un barreno de 2,2 cm de diámetro en las profundidades de 0-5 y 5-15. Las muestras fueron agrupadas en pares para estimar densidad aparente (resultando en 4 datos de densidad aparente por parcela). Posteriormente se realizó el fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo siguiendo el método descrito por Cambardella & Elliot (1992). En las fracciones POM y MAOM se midió el %C y %N y la abundancia relativa de ^{13}C con un espectrómetro de masa Finnigan MAT Delta Plus XL, acoplado a un autoanalizador Elemental Analyzer (Carlo Erba Instruments Inc.) en la universidad de DUKE en USA.

Para estimar los flujos de entrada y de salida del COS en las distintas rotaciones se utilizó el método de dilución isotópica (Farquhar et al. 1989; Eleki et al. 2005). Debido a que todos los cultivos sembrados en las rotaciones y las malezas presentes en los periodos de barbecho fueron especies con metabolismo fotosintético C_3 , el valor de $\delta^{13}\text{C}$ del campo natural tiende a disminuir a medida que ingresa C de los cultivos. Este cambio

Cuadro 4-2- Caracterización de las entradas de biomasa, de C y de N al suelo que recibió cada una de las rotaciones del cultivo de soja con cultivos de servicios o con presencia de barbecho invernal (testigo). Para cada rotación se muestra el promedio y el desvío estándar de los aportes de C y N durante los 3 años realizados desde la biomasa aérea o subterránea producida por los cultivos de servicios y por la soja. En el caso del testigo, la biomasa de cultivos de servicios corresponde a la de las malezas que crecieron durante el periodo de barbecho y para estimar sus aportes de C y N se utilizaron las concentraciones promedio de *A. strigosa*, *L. multiflorum* y *R. sativus*. Para estimar los aportes de soja de C y N se utilizaron las concentraciones promedio de *T. alexandrinum* y *V. sativa*. Los aportes totales corresponden a la suma de todos los aportes de C o N que recibió el suelo durante los 3 años, su relación C/N y $\delta^{13}\text{C}$, que fue evaluada en los cultivos de servicios y estimada para las malezas y el cultivo de soja, considerando su metabolismo fotosintético.

	<i>A. strigosa</i>	<i>L. multiflorum</i>	<i>R. sativus</i>	<i>T. alexandrinum</i>	<i>V. sativa</i>	Testigo
Cultivos de servicios						
Biomasa aérea						
Tn biomasa.ha ⁻¹ .año ⁻¹	6,37±3,58	4,66±1,46	5,34±3,11	3,30±0,66	3,16±0,30	2,17±0,43
Tn C.ha ⁻¹ .año ⁻¹	2,98±1,67	1,88±0,59	2,40±1,40	1,55±0,31	1,40±0,13	0,96±0,19
	63,11±35,4					
Kg N.ha ⁻¹ .año ⁻¹	5	54,49±17,01	61,85±35,99	101,28±20,37	123,42±11,63	24,01±4,72
C/N	47,2	34,51	38,83	15,31	11,32	39,81
Biomasa subterránea						
Tn biomasa.ha ⁻¹ .año ⁻¹	0,91±0,51	0,59±0,19	1,11±0,64	0,53±0,11	0,51±0,05	0,37±0,07
Tn C.ha ⁻¹ .año ⁻¹	0,44±0,24	0,27±0,08	0,50±0,29	0,20±0,04	0,23±0,02	0,17±0,03
Kg N.ha ⁻¹ .año ⁻¹	8,30±4,66	7,09±2,21	11,89±6,92	15,17±3,05	11,16±1,05	3,92±0,77
C/N	52,44	37,78	41,82	13,2	20,81	43,35
Cultivo de soja						
Rendimiento						
Tn.ha ⁻¹ .año ⁻¹	2,48±0,31	2,62±0,29	2,34±0,44	2,46±0,51	2,56±0,34	2,20±0,55
Aportes Totales						
	15,77 ±					
Tn C.ha ⁻¹	3,56	12,21 ± 0,70	14,12 ± 2,07	11,23 ± 1,06	10,16 ± 0,30	8,08 ± 0,86
C/N	25,29	19,79	22,90	14,15	12,75	18,14
$\delta^{13}\text{C}$	-28,27	-28,59	-28,28	-28,52	-28,25	-27,90

que se genera en la $\delta^{13}\text{C}$ del C de la POM y de la MAOM permite estimar el %C_{nuevo}POM y %MAOM_{nueva} (i.e. que fueron formados a partir de los aportes de la rotación), el %MAOM_{pom} (i.e. que fue formado a partir de la POM_{nueva} o de la POM_{vieja}) y %POM_{vieja} y %MAOM_{vieja} (i.e. que fue formado previo a la instalación del experimento, a partir de los aportes del campo natural) a partir de las siguientes ecuaciones:

1) Estimación del C-POM_{nuevo} y C-POM_{viejo}

$$1a) \%C\text{-POM}_{\text{nuevo}} = (\delta^{13}\text{C-POM}_{\text{final}} - \delta^{13}\text{C-POM}_{\text{inicial}}) / (\delta^{13}\text{C}_{\text{aportes}} - \delta^{13}\text{C-POM}_{\text{inicial}}) * 100$$

$$1b) C\text{-POM}_{\text{nuevo}} (\text{Tn.ha}^{-1}) = C\text{-POM} * \%C\text{-POM}_{\text{nuevo}} / 100$$

$$1c) C\text{-POM}_{\text{viejo}} (\text{Tn.ha}^{-1}) = C\text{-POM} - C\text{-POM}_{\text{nueva}}$$

2) Estimación del C-MAOM_{nuevo}, C-MAOM_{pom} y C-MAOM_{viejo}

$$2a) \%C\text{-MOS}_{\text{nuevo}} = (\delta^{13}\text{C-MOS}_{\text{final}} - \delta^{13}\text{C-MOS}_{\text{inicial}}) / (\delta^{13}\text{C}_{\text{aportes}} - \delta^{13}\text{C-MOS}_{\text{inicial}}) * 100$$

$$2b) C\text{-MAOM}_{\text{nuevo}} (\text{Tn.ha}^{-1}) = C\text{-MOS} * \%C\text{-MOS}_{\text{nuevo}} / 100 - C\text{-POM}_{\text{nuevo}}$$

$$2c) \%C\text{-MAOM}_{\text{nuevo}} = C\text{-MAOM}_{\text{nuevo}} / C\text{-MAOM}_{\text{final}} * 100$$

$$2d) \%C\text{-MAOM}_{\text{viejo}} = 100 - \%C\text{-MAOM}_{\text{nuevo}}$$

$$2e) C\text{-MAOM}_{\text{pom}} (\text{Tn.ha}^{-1}) = [C\text{-MAOM}_{\text{nuevo}} * (\delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{inicial}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{aportes}}) + C\text{-MAOM}_{\text{final}} * (\delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{final}} - \delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{inicial}})] / (\delta^{13}\text{C-POM} - \delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{inicial}})$$

3) Estimación de la descomposición y la humificación del C de la POM

$$3a) \% \text{Descomposición del C-POM} = (C\text{-POM}_{\text{inicial}} - C\text{-POM}_{\text{viejo}}) / C\text{-POM}_{\text{inicial}} * 100$$

$$3b) \% \text{Humificación del C en la POM} = C\text{-POM}_{\text{nuevo}} / \text{Aportes de C} * 100$$

4) Estimación de la descomposición y la humificación del C de la MAOM

$$4a) \% \text{Descomposición del C-MAOM} = (C\text{-MAOM}_{\text{inicial}} - C\text{-MAOM}_{\text{viejo}}) / C\text{-MAOM}_{\text{inicial}} * 100$$

$$4b) \% \text{Humificación del C en la MAOM} = C\text{-MAOM}_{\text{nueva}} / \text{Aportes de C} * 100$$

donde $\delta^{13}\text{C-MOS}_{\text{inicial}}$, $\delta^{13}\text{C-POM}_{\text{inicial}}$ y $\delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{inicial}}$ corresponden a la $\delta^{13}\text{C}$ que presentaba el C-MOS, C-POM y C-MAOM en el momento inicial del experimento; $\delta^{13}\text{C-MOS}_{\text{final}}$, $\delta^{13}\text{C-POM}_{\text{final}}$ y $\delta^{13}\text{C-MAOM}_{\text{final}}$ corresponden a la $\delta^{13}\text{C}$ que presentaban al final del experimento (luego de las rotaciones de 3 años de duración) y $\delta^{13}\text{C}_{\text{aportes}}$ corresponde a la $\delta^{13}\text{C}$ de los aportes totales de biomasa que recibió el suelo en cada rotación (Cuadro 4.2) (Balesdent 1987; Piñeiro et al. 2012).

Los valores de COS y NOS estimados mediante estas ecuaciones deben ser expresados en masa equivalente para evitar sobreestimar los contenidos en los suelos compactados (Davidson & Ackerman 1993). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la densidad aparente de los distintos tratamientos ($p=0,99$). Considerando estos resultados, los contenidos de C en cada una de las fracciones se estimaron utilizando la misma densidad aparente ($1,32 \text{ g cm}^{-3}$ y $1,40 \text{ g cm}^{-3}$ en las profundidades 0-5 y 5-15, respectivamente).

4.2.5. Análisis estadísticos

Los efectos de las distintas rotaciones en los contenidos de C y N en la POM y en la MAOM se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2003). La comparación post hoc de las medias se realizó mediante la prueba LSD de Fisher ($\alpha=0,05$). Por un lado, se compararon los contenidos totales de C y N en la POM y la MAOM que presentaron el campo natural, el momento inicial previo a la siembra de los cultivos y luego para cada rotación en el momento final, en las profundidades 0-5 y 5-15 y ambas acumuladas. Por otro lado, se realizó una comparación en los contenidos de C-POM_{nuevo}, C-POM_{viejo}, C-MAOM_{nuevo},

C-MAOM_{pom} y C-MAOM_{viejo} que presentó cada rotación al final del experimento en cada profundidad, y en la humificación y la descomposición del C en cada fracción de la MOS.

4.3. Resultados

El laboreo inicial del campo natural y la aplicación de herbicidas previos a la siembra del experimento provocaron una disminución de los contenidos de MOS y un aumento de la $\delta^{13}\text{C}$, en comparación al campo natural original. Por lo tanto, si bien se presentan como referencia los contenidos de MOS en el campo natural original, utilizaremos a los contenidos de COS y NOS en el momento inicial del experimento para realizar las comparaciones y los cálculos de humificación y descomposición de los distintos cultivos de servicios. En este sentido la disminución en el C de la MAOM fue mayor al 20% en los primeros 5 cm de profundidad y $\approx 15\%$ en la profundidad de 5-15. En cambio, en la POM la disminución en del C en los primeros 5 cm fue mucho menor e incluso tendió a aumentar en la profundidad de 5-15 (Figura 4.1a). Tanto en la POM como en la MAOM ocurrieron pequeños cambios en la $\delta^{13}\text{C}$. En la POM la $\delta^{13}\text{C}$ tendió a enriquecerse con un cambio de 0,22 y 0,71 en las profundidades de 0,5 y 5-15, respectivamente, sugiriendo una rápida incorporación de C proveniente de especies C_4 , abundantes en el campo natural, que probablemente ayudaron a mantener los contenidos de POM a pesar del laboreo (Figura 4.1b). En la MAOM la $\delta^{13}\text{C}$ se enriqueció en la profundidad de 0-5 con un cambio de 0,4, pero en la profundidad de 5-15 la $\delta^{13}\text{C}$ se empobreció con un cambio de 0,12 (Figura 4.1c).

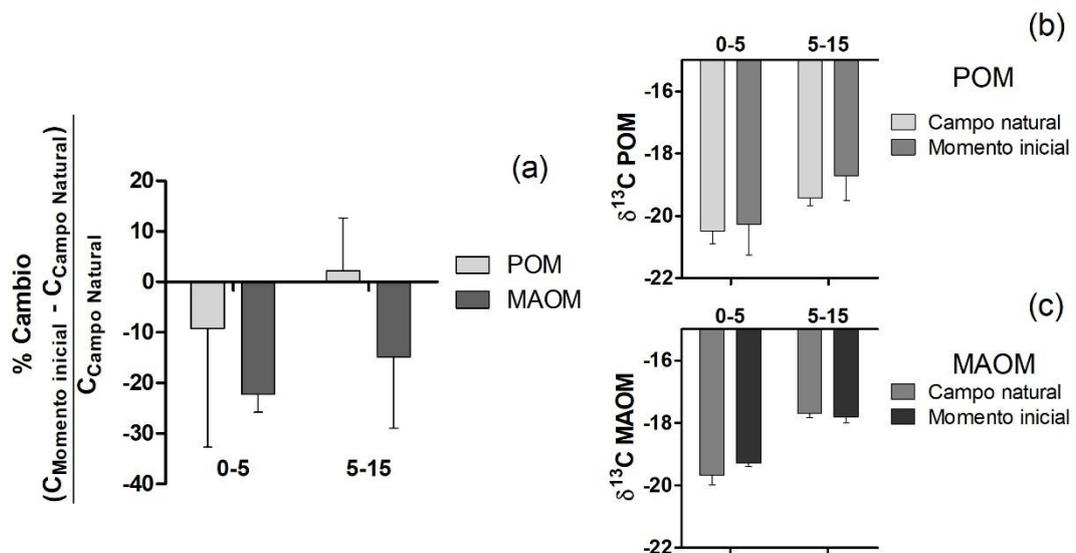


Figura 4-1– Cambios iniciales observados en el contenido de C y en la $\delta^{13}\text{C}$ de las fracciones POM y MAOM luego del laboreo y la aplicación de herbicidas sobre el campo natural, de 0-5 y de 5-15 cm de profundidad. En (a) se muestra el cambio en el contenido de C que presentó el suelo en el momento inicial del experimento con respecto al campo natural, en cada una de las fracciones y profundidades. En (b) se muestra la $\delta^{13}\text{C}$ de la POM del campo natural y la del momento inicial en cada una de las profundidades. En (c) se muestra la $\delta^{13}\text{C}$ de la MAOM del campo natural y la del momento inicial en cada una de las profundidades.

Luego de tres años de sembrar los distintos cultivos de servicios los contenidos de C-POM en los primeros 15 cm de profundidad disminuyeron en todas las rotaciones, en comparación al campo natural o al momento inicial del experimento (Figura 4.2). En el tratamiento testigo el contenido de C-POM fue menor que en el resto de las rotaciones

($2,75 \pm 0,14$ Tn C-POM.ha⁻¹ en la profundidad 0-15), pero presentó diferencias significativas sólo con *A. strigosa* ($3,93 \pm 0,58$ Tn C-POM.ha⁻¹ en la profundidad 0-15) (Figura 4.2). Las diferencias en el C-POM estuvieron dadas principalmente por las diferencias en el C-POM_{viejo} ya que las diferencias en el C-POM_{nuevo} no fueron significativas ($p=0,41$). En este sentido, las distintas rotaciones formaron en promedio $1,11 \pm 0,28$ Tn C-POM_{nuevo}.ha⁻¹. En cambio, el C-POM_{viejo} en los primeros 15 cm fue mayor en la rotación de *A. strigosa* ($2,55 \pm 0,37$ Tn.ha⁻¹) y presentó diferencias significativas con el C-POM_{viejo} presente en el testigo y *T. alexandrinum* ($1,63 \pm 0,1$ y $1,85 \pm 0,1$ tn C-POM_{viejo}.ha⁻¹ en la profundidad 0-15, respectivamente) (Figura 4.2).

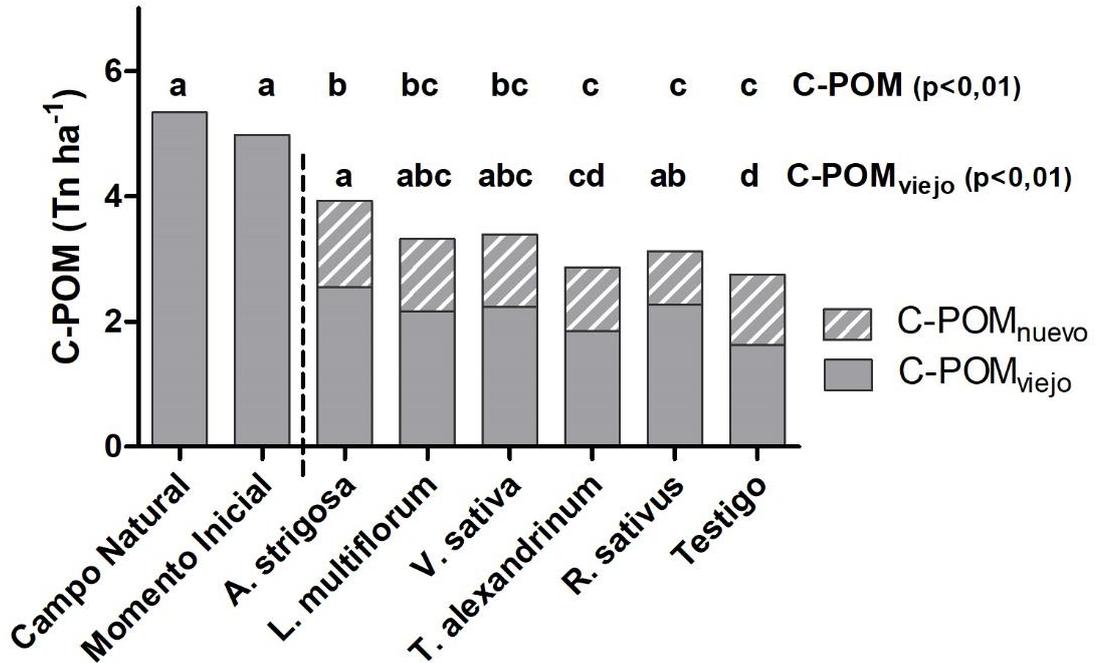


Figura 4-2 – Carbono en la fracción POM acumulado en los primeros 15 cm de profundidad del suelo (Tn C.ha⁻¹). Las barras lisas muestran el C-POM_{viejo} (C formado previo a la instalación del experimento) y las barras ralladas el C-POM_{nuevo} (C formado a partir de los cultivos presentes en la rotación). Las letras distintas muestran diferencias significativas en los contenidos de C presentes en el campo natural, en el momento inicial y en las distintas rotaciones de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (testigo) luego de 3 años. Las profundidades 0-5 y 5-15 se muestran acumuladas en la profundidad 0-15 porque reflejan las mismas tendencias. No se encontraron diferencias significativas para la C-POM_{nuevo}.

Todas las rotaciones lograron mantener contenidos similares de C-MAOM en los primeros 15 cm de profundidad con respecto al momento inicial, e incluso en las rotaciones con leguminosas los contenidos de C-MAOM aumentaron, llegando a valores similares a los del campo natural (Figura 4.3). El tratamiento testigo presentó el menor contenido de C-MAOM ($27,17 \pm 1,52$ Tn.ha⁻¹), principalmente debido a su menor contenido de C-MAOM_{viejo}. Las dos leguminosas en cambio fueron las especies que presentaron los valores más altos de C-MAOM, debido a sus altos valores de C-MAOM_{viejo} (en promedio $27,2 \pm 2,53$ Tn.ha⁻¹ de C-MAOM_{viejo}), que fueron significativamente mayores al testigo ($23,63 \pm 1,58$ Tn C-MAOM_{viejo}.ha⁻¹), generando una diferencia de casi 4 toneladas de C-MAOM_{viejo} entre estos tratamientos. A su vez, el C-MAOM_{pom} también fue mayor en las leguminosas ($1,69 \pm 0,55$ Tn C-MAOM_{pom}.ha⁻¹ en

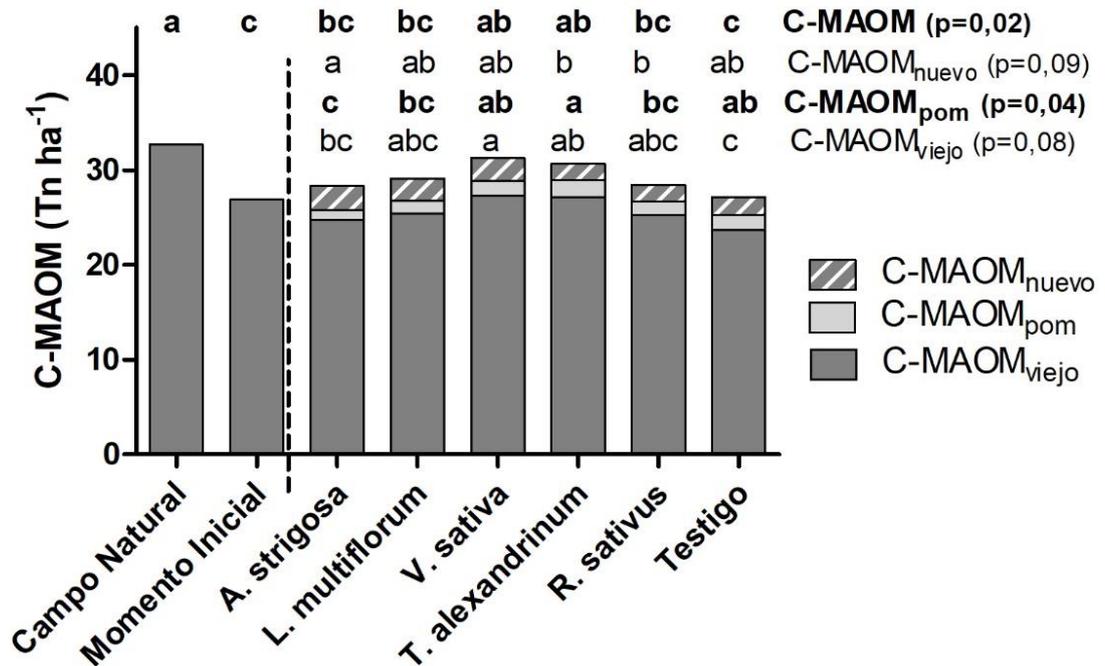


Figura 4-3 – Carbono en la fracción MAOM acumulado en los primeros 15 cm de profundidad del suelo (Tn C.ha⁻¹). Las barras lisas de color gris oscuro muestran el C-MAOM_{viejo} (C formado previo a la instalación del experimento); las barras lisas de color gris claro muestran el C-MAOM_{pom} (C formado a partir de la POM vieja y nueva) y las barras ralladas el C-MAOM_{nuevo} (C formado a partir de los cultivos presentes en la rotación). Las letras distintas muestran diferencias significativas o marginalmente significativas en C-MAOM_{nuevo} (p=0,09) y C-MAOM_{viejo} (p=0,08) en los contenidos de C presentes en el campo natural, en el momento inicial y en las distintas rotaciones de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (testigo) luego de 3 años. Las profundidades 0-5 y 5-15 se muestran acumuladas en la profundidad 0-15 porque reflejan las mismas tendencias.

promedio), sugiriendo un mayor pasaje de C desde la POM hacia la MAOM. Las gramíneas en cambio, presentaron los menores valores de C-MAOM_{pom}. En *A. strigosa*, el C-MAOM_{pom} fue $1,08 \pm 0,14$ Tn C-MAOM_{pom}.ha⁻¹, un 37% menor al que presentaron las leguminosas. Por otro lado, el contenido de C-MAOM_{nuevo} tendió a ser mayor en las gramíneas, especialmente en *A. strigosa* ($2,53 \pm 0,23$ Tn C-MAOM_{nuevo}.ha⁻¹) que resultó ser significativamente mayor al de *T. alexandrinum* y *R. sativus* ($1,78 \pm 0,79$ y $1,80 \pm 0,21$ Tn C-MAOM_{nuevo}.ha⁻¹, respectivamente). Los cambios en la MOS entre los distintos cultivos y en las distintas fracciones descriptos anteriormente, se debieron principalmente a cambios a la descomposición de la POM (salidas de C) y a cambios en la descomposición y humificación de la MAOM (entradas y salidas de C) (Figura 4.4a). El % descomposición de C-POM en el testigo (67%) fue significativamente mayor al del resto de las rotaciones, aunque no presentó diferencias significativas con *T. alexandrinum* (63%). En cambio, en la fracción POM, la humificación fue similar entre todos los tratamientos, aunque tendió a ser menor en *R. Sativus*. Por otra parte, el % de descomposición en la C-MAOM_{viejo} fue despreciable en las leguminosas (en donde no hubo una descomposición detectable) y entre un 5 y 11% mayor en los tratamientos con gramíneas y en el testigo (Figura 4.4a). La humificación del C en la MAOM fue mayor en las dos gramíneas y *V. Sativa* ($\approx 21\%$) y menor en *R. Sativus*, en *T. alexandrinum* y en el tratamiento testigo sin cultivo de servicio ($\approx 17\%$), aunque las diferencias significativas ocurrieron solo entre *A. strigosa* (22%) y *R. sativus* y *T. alexandrinum* ($\approx 16\%$) (Figura

4.4b). Sin embargo, sólo las leguminosas presentaron un balance positivo de C-MAOM y como consecuencia en el C-total (Figura 4.4c).

Finalmente, respecto a los contenidos de N, sólo se encontraron diferencias en la POM en la profundidad 0-5 y no en la MAOM, aunque las leguminosas tendieron a aumentar los contenidos de N-MAOM en la profundidad de 0-15 (Figura 4.5). En el momento inicial se observó una mayor relación C/N en la POM ($C/N\text{-POM}=18,5$), probablemente debida a los altos ingresos de C de especies C_4 luego del laboreo inicial. Sin embargo, no resultó ser significativamente mayor a la C/N del campo natural o de los tratamientos con gramíneas como cultivos de servicios, ya que todos estos tratamientos presentaron valores relativamente altos de C/N-POM (Figura 4.5a). La menor relación C/N-POM fue observada en la rotación con *V. sativa* ($C/N\text{-POM}=13,1$), la cual presentó los mayores contenidos de N-POM ($0,18 \text{ Tn.ha}^{-1}$, Figura 4.5c). En el resto de los tratamientos, los contenidos de N-POM tendieron a ser menores, especialmente en el tratamiento testigo donde el contenido de N-POM fue el más pequeño ($0,13 \text{ Tn.ha}^{-1}$,

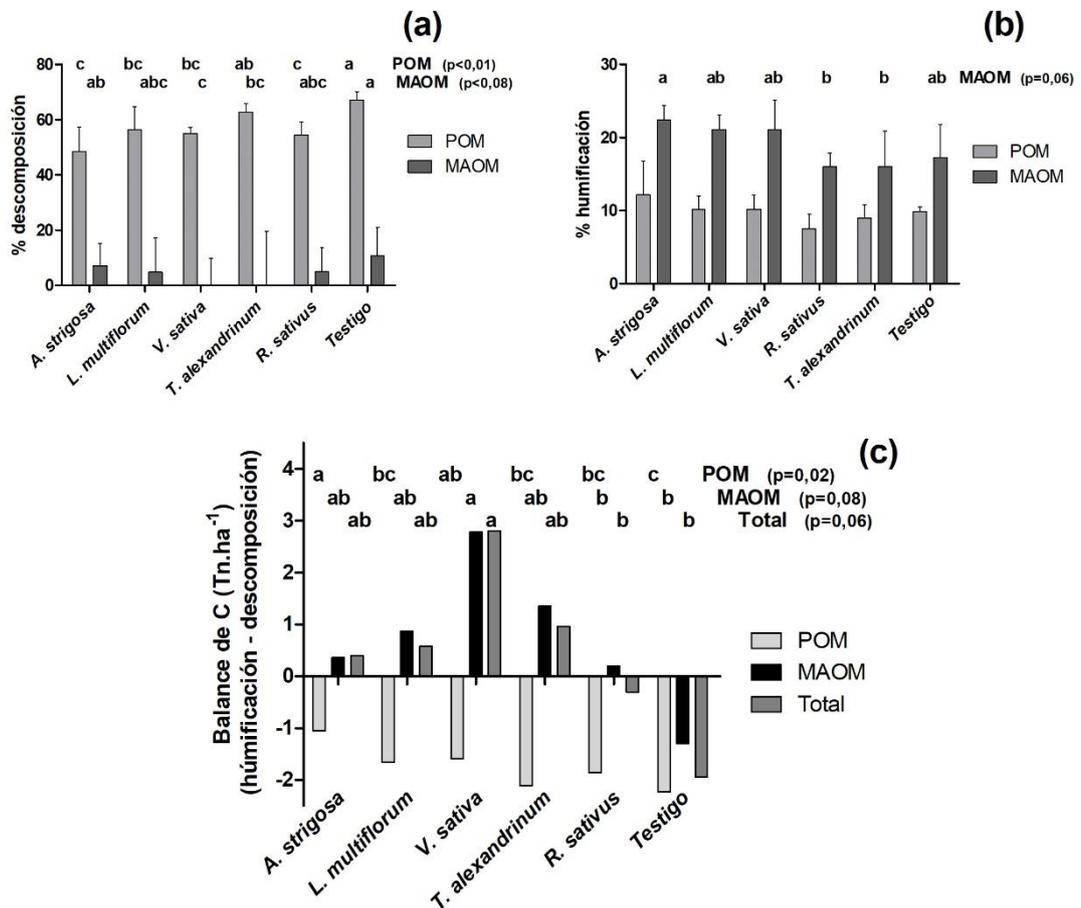


Figura 4-4 – Porcentaje de descomposición y de humificación del C en las fracciones POM y MAOM bajo las distintas rotaciones de soja con cultivos de servicios o barbecho invernal (testigo). El % descomposición se refiere a la proporción del C presente al inicio del experimento que es descompuesto luego de 3 años de sembrar cultivos (% de C_{viejo} remanente) y el % humificación a la proporción de las entradas de biomasa totales que quedan retenidas como C_{nuevo} en las distintas fracciones. Las letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos. La descomposición del $C\text{-MAOM}_{\text{viejo}}$ en las dos leguminosas presentó valores levemente negativos, por lo tanto, se asume que no hubo una descomposición detectable del $C\text{-MAOM}_{\text{viejo}}$ en el periodo estudiado.

Figura 4.5c). Por el contrario, las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas en la fracción MAOM. Sólo los tratamientos con leguminosas tendieron a mantener los contenidos de N-MAOM altos y similares al campo natural (3,19; 3,14 y 3,16 Tn.ha⁻¹ en la profundidad de 0-15, en *V. sativa*, *T. alexandrinum* y el campo natural, respectivamente) ya que en el resto el N-MAOM en promedio fue de 2,87 Tn.ha⁻¹ (Figura 4.5d). La relación C/N-MAOM promedio fue 9,85, en la profundidad de 0-15, y no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 4.5b), aunque tendió a ser algo mayor en el campo natural (C/N = 10,51).

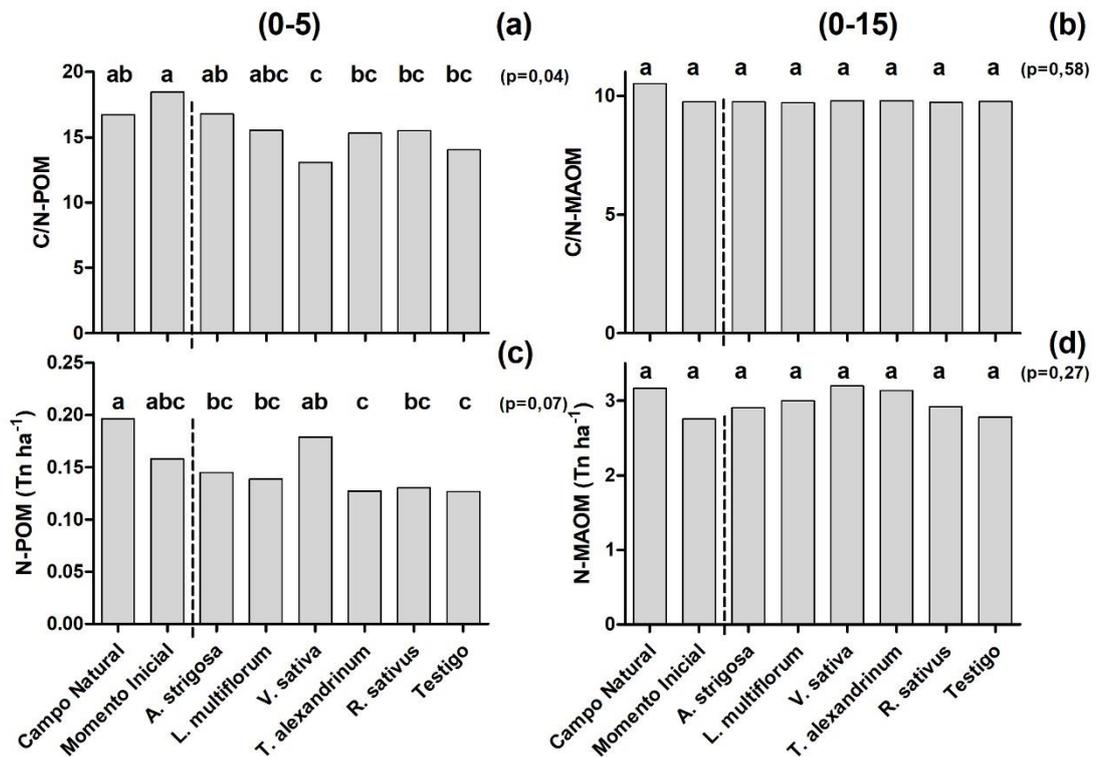


Figura 4-5– Relación C/N y contenido de N en la POM en los primeros 5 cm de suelo y en la MAOM en los primeros 15 cm. Las letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos en la C/N-POM ($p=0,04$) y marginalmente significativas en el N-POM ($p=0,07$). En la POM se muestran los resultados hasta los 5cm de profundidad porque el %N en la profundidad de 5-15 no pudo ser detectado en una gran proporción de las muestras posiblemente, debido a concentraciones de N-POM muy bajas.

4.4. Discusión

Si bien se esperaban aumentos del COS al momento inicial del experimento, debido a la posible entrada de grandes cantidades de biomasa muerta del campo natural, el COS disminuyó. Sin embargo, también ocurrieron cambios en la C/N y en el contenido de N que sugieren una entrada importante de biomasa de especies C₄ (alta relación C/N y mayor $\delta^{13}\text{C}$), pero que debió estar acompañada de una alta descomposición (posiblemente asociada al laboreo) para disminuir los contenidos de COS. Es decir que los aportes dados por la muerte de la vegetación del campo natural con alta proporción de especies C₄, tras la aplicación de herbicidas y el laboreo, no lograron mantener los niveles de COS (Figura 4.1a). Por un lado, la disminución del C-MAOM indica una consistente estimulación de la descomposición en las dos profundidades. Esto posiblemente se deba a que la alta cantidad de energía provista por los aportes del campo natural, pero que es escasa en N,

provoca un aumento en la actividad microbiana del suelo que descompone la MAOM para obtener el N necesario, ya que esta fracción es rica en N (*priming* por energía) (Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003; Guenet et al. 2012; Mazzilli et al. 2014). Por otro lado, en la POM se observaron cambios variables (Figura 4.1a), sugiriendo que la humificación de los aportes del campo natural en la POM en algunos casos pudo compensar la descomposición de la POM manteniendo sus contenidos constantes. En este sentido, posiblemente la humificación de los aportes del campo natural en la POM se deba tanto a la presencia de compuestos recalcitrantes en su biomasa como a la alta producción de biomasa subterránea que presentan las especies perennes (Taylor et al. 1989; Mazzilli et al. 2015; Jackson et al. 2017). Esto a su vez, concuerda con que el contenido de N-POM en el momento inicial del experimento tendió a ser menor al del campo natural, resultando en una menor relación C/N-POM.

Las diferencias en los contenidos de POM que presentaron las distintas rotaciones de cultivos de servicios estuvieron dadas principalmente por los cambios en la descomposición (salidas de C) ya que, a pesar de las diferencias en los aportes de biomasa, las diferencias en la formación de C-POM_{nuevo} no fueron significativas. Por un lado, el mayor % de descomposición se encontró en el testigo que presenta en simultáneo la menor cantidad de aportes y una baja relación C/N. Si bien no es posible separar ambos mecanismos, los contenidos de C-POM_{viejo} en las rotaciones de leguminosas y el testigo (con aportes de biomasa fundamentalmente de soja) tendieron a ser más bajos (Figura 4.2) y por lo tanto la descomposición de la POM podría haber sido estimulada por el aumento en la disponibilidad de N aportado por las leguminosas (*priming* por N, hipótesis 3.2) (Figura 4.4) (Kuzyakov et al. 2000). Si bien este efecto ha sido descrito para la broza pero no para la POM, es muy esperable que ocurra un patrón similar si se considera la similitud bioquímica que presenta la POM con la broza (Knorr et al. 2005; Schimel & Hättenschwiler 2007; Janssens et al. 2010). Por otro lado, si bien los contenidos de C-POM_{nuevo} no presentaron diferencias significativas, la humificación de los aportes de las gramíneas en esta fracción fue ligeramente más alta que la del resto de las rotaciones. Por lo tanto, los resultados obtenidos luego de un periodo de 3 años de duración no apoyan de manera consistente las hipótesis 3.1 y 3.2 planteadas en este capítulo. Con respecto a la hipótesis 3.1, no se encontraron diferencias significativas ni en el % de humificación en la POM ni en las cantidades de C-POM_{nuevo} que presentaron las diferentes especies. Si bien, ambas tendieron a ser mayores en *A. strigosa* y menores en *T. alexandrinum*, fueron muy similares en *L. multiflorum* y *V. sativa*. Por otro lado, la hipótesis 3.2 que sostiene que la descomposición de la POM_{vieja} es mayor en las leguminosas debido a un efecto de “*priming* por N”, se cumple sólo en el caso de *T. alexandrinum*, ya que la descomposición de la POM_{vieja} en *V. sativa* fue similar a la de las gramíneas. De todos modos, los resultados encontrados en *A. strigosa* sugieren que el aporte de una gran cantidad de residuos con una baja relación C/N podría conducir a una mayor acumulación de POM si las rotaciones se mantienen por un periodo de tiempo más largo (Six et al. 2002; Mazzilli et al. 2015; Jackson et al. 2017).

En contraposición a lo encontrado en la POM, tanto la humificación de los residuos de los cultivos, como la descomposición del C-MAOM_{viejo} explicaron los cambios en los contenidos de MAOM (Figura 4.3). Una hipótesis que permite explicar estos patrones es que el aumento en la disponibilidad de energía dada por los aportes de las gramíneas estimula la descomposición de la MAOM (hipótesis 3.3) y aleja el contenido de C de la MAOM del nivel de saturación del suelo y como consecuencia, aumenta la humificación de sus aportes (Six et al. 2002; Stewart et al. 2009; Castellano et al. 2012). Esto explicaría que las gramíneas, a pesar de su alta relación C/N, presenten

una humificación similar a las leguminosas (21,5%). Por lo tanto, la hipótesis 3.3 se cumple porque las gramíneas presentan una descomposición del 7% mientras que en las leguminosas es despreciable; pero aparece un aspecto novedoso al verse también estimulada la humificación del C, que permite recuperar pérdidas de C-MAOM y provoca una mayor velocidad de ciclado del C en las gramíneas (fenómeno reportado recientemente por Mazzilli et al 2014). A su vez, posiblemente haya ocurrido un patrón similar en el reemplazo del campo natural (que también tiene una alta C/N de especies C₄ gramíneas) por cultivos anuales (*priming* por energía). En cambio las leguminosas, al igual que en otros trabajos (Fornara & Tilman 2008; Mazzilli et al. 2015), aumentaron la formación y estabilización de la MAOM debido a la humificación de sus aportes y a que prácticamente no ocurrió descomposición de la MAOM (hipótesis 3.3 y 3.4). Estos aumentos representaron más de 4 Tn.ha⁻¹ de C-MAOM que en el momento inicial y por lo tanto ≈450kg de N-MAOM, en los tres años de estudio.

Es importante remarcar que, al considerar la medición realizada sobre el campo natural como referencia, se asume que éste ha permanecido inalterado a lo largo del período de estudio. Sin embargo, pueden ocurrir cambios en la composición del suelo del campo natural incluso en períodos relativamente cortos de tiempo (Iturri et al. 2016). Por ejemplo, estos cambios pueden ser producto de la erosión cuando partículas de minerales y de MOS son trasladadas por el viento desde las zonas susceptibles a la erosión hacia el suelo que se considera de referencia. Dado que estos cambios conducen a cambios en la textura (Iturri et al. 2016), se compararon las proporciones de las fracciones POM y MAOM que al tener diferente tamaño de partícula, se encuentran relacionadas con la textura del suelo (Plante et al. 2006). Este análisis mostró que las proporciones de cada fracción no fueron significativamente distintas entre los tratamientos. Esto permite inferir que la pérdida de suelo por erosión es despreciable ya que, si hubiera ocurrido un desplazamiento importante de las partículas de menor tamaño, se hubiera observado un aumento en la proporción de POM.

El uso de información que considera tanto los cambios en los contenidos de C como en los flujos de entrada y salida de cada fracción, ha mejorado nuestra comprensión sobre los efectos que generan los cultivos de servicios sobre la MOS y podría también explicar algunos de los resultados contradictorios reportados en la bibliografía sobre el efecto de los cultivos de servicios sobre la MOS. En general, las revisiones muestran que los cultivos de servicios aumentan la MOS en el largo plazo y sugieren que la ausencia de efecto o la pérdida de MOS se debe a que los experimentos se necesitan continuar por más tiempo (Poeplau & Don 2015; Alvarez et al. 2017). Sin embargo, es importante considerar que para que el efecto sobre la MOS sea positivo es necesario garantizar que las entradas dadas por la humificación superen a la descomposición de la MOS. En nuestro experimento, esto sólo ocurrió con cultivos de servicios de leguminosas. Pero, dado que las características de los cultivos de servicios que influyen en la descomposición y en la humificación del C de cada fracción de la MOS son muy diferentes, resulta fundamental conocer cuál es la fracción de la MOS (POM o MAOM) que se pretende aumentar para sembrar cultivos de servicios específicos (Janzen et al. 1998; Baisden & Amundson 2003; Bolinder et al. 2007; Kong & Six 2010). Por ejemplo, Plaza-Bonilla et al. (2016) encontraron que la siembra de cultivos de servicios de leguminosas disminuyó la MOS. Posiblemente esa disminución haya ocurrido en la POM debido a que los residuos con baja C/N estimulan su descomposición (Knorr et al. 2005; Schimel & Hättenschwiler 2007; Janssens et al. 2010). En estos casos donde posiblemente los cambios en la MOS sean explicados por los cambios en la POM, los aportes con mayor relación C/N permiten el aumento de la MOS (Mathew et al. 2017). Sin embargo, es

probable que los cambios en la POM sólo gobiernen los cambios en la MOS cuando la MAOM se encuentre saturada o la POM represente una fracción grande de la MOS, lo cual solo ocurre en suelo arenosos. Esto permitiría explicar las diferencias con los resultados encontrados por Ladoni et al. (2016). En este caso, los aportes con baja C/N aumentaron la MOS porque podrían estar reflejando los cambios en la MAOM. Bajo el supuesto de que la MAOM se encuentra lejos del estado de saturación, la estequiometría de los aportes de las leguminosas permitiría aumentar la eficiencia de los microorganismos del suelo y aumentar la humificación en la MAOM (Cotrufo et al. 2013; Castellano et al. 2012).

4.5. Conclusiones

En este capítulo, se estudiaron los cambios que generan distintas especies que podrían utilizarse como cultivos de servicios, sobre los contenidos de C y N de las fracciones POM y MAOM de la MOS. El uso de una aproximación experimental que considera tanto los cambios en los contenidos de C, como en los flujos de cada fracción, dio lugar al planteo de nuevas hipótesis que podrían explicar los resultados contrastantes que han sido observados en otros trabajos. Principalmente, es importante considerar que las características de los cultivos de servicios que influyen en la descomposición y en la humificación del C de cada fracción de la MOS son muy diferentes, y que la POM puede aumentar indefinidamente mientras que la MAOM presenta un límite de saturación.

Luego de tres años de sembrar los distintos cultivos de servicios los contenidos de C-POM disminuyeron en todas las rotaciones, en comparación al campo natural o al momento inicial del experimento y el tratamiento testigo tuvo el menor contenido de C-POM. Entre las rotaciones evaluadas, las que presentaron los mayores contenidos de C-POM fueron *A. strigosa*, *L. multiflorum* y *V. sativa*; y la relación C/N-POM de *V. sativa* fue significativamente menor a la que presentaba el campo natural. Los cambios en el C-POM estuvieron explicados por disminuciones en el C-POM_{viejo} (aumento en las salidas de C por descomposición). El tratamiento testigo fue el que presentó los menores contenidos y, por lo tanto, los mayores porcentajes de descomposición del C-POM_{viejo}.

Por otra parte, en los primeros 15cm de profundidad evaluados, todas las rotaciones mantuvieron contenidos similares de C-MAOM con respecto al momento inicial, y las rotaciones con leguminosas aumentaron la C-MAOM, llegando a valores similares a los del campo natural. Estos cambios en la MAOM se debieron tanto a cambios en la descomposición como en la humificación de la MAOM (entradas y salidas de C). Nuestros resultados siguieron que las gramíneas aumentan la descomposición de la MAOM, pero también su humificación (i.e. aumentan su velocidad de ciclado), mientras que las leguminosas disminuyen la descomposición y aumentan la humificación de la MAOM en los rangos estudiados. Estos cambios provocaron aumentos de $\approx 1,4$ Tn.ha⁻¹.año⁻¹ toneladas de C-MAOM y por lo tanto más de 140 kg.ha⁻¹.año⁻¹ de N-MAOM, bajo vicia en comparación con el tratamiento testigo.

5. CAPÍTULO 5 – Inclusión de cultivos de servicios en las rotaciones agrícolas: Síntesis y conclusiones generales

5.1. Introducción

En este último capítulo, se discuten los principales hallazgos de la tesis, sus implicancias y las proyecciones a futuro. A lo largo de esta tesis se estudiaron diferentes especies de cultivos de servicios que podrían ser sembradas en los periodos de barbecho de los agroecosistemas de la Región Pampeana y en agroecosistemas similares de otras regiones del mundo. Específicamente, en el capítulo 2 se cuantificó durante dos años la producción de biomasa aérea y subterránea y la cantidad de nitrógeno fijado biológicamente (NFB) por distintas especies de leguminosas anuales potencialmente utilizables como cultivos de servicios. En el capítulo 3, se comparó durante tres años consecutivos la producción de biomasa aérea y subterránea de distintas especies de cultivos de servicios, pertenecientes a tres grupos funcionales (leguminosas, gramíneas y crucíferas). A su vez, en ambos capítulos se resaltó la importancia de evaluar distintos rasgos que se encuentren estrechamente relacionados con los servicios que se quieren mejorar. En el capítulo 4, se relacionaron estos rasgos con la formación y la descomposición de la materia orgánica del suelo (MOS), para los distintos tipos funcionales de especies evaluadas anteriormente. Para ello, en este último capítulo, se utilizó una aproximación experimental que permite estimar los flujos de C hacia y entre dos fracciones de la MOS que presentan características muy distintas. Los aportes más significativos de esta tesis al conocimiento actual, en el marco de la sustentabilidad de los agroecosistemas pampeanos, son los siguientes:

*En cultivos de servicios de leguminosas, los aportes de NFB aumentan con la producción de biomasa de los cultivos, pero cuando la acumulación de biomasa aérea es muy alta, la respuesta satura debido a una dilución de la concentración de N en los tejidos. Esto sugiere, que cuando sea posible acumular suficiente biomasa de manera temprana que garantice un buen aporte de N al sistema por NFB, la supresión del cultivo de servicio podría adelantarse para contar con un mayor contenido de agua para el cultivo de renta siguiente (Capítulo 2).

*La biomasa subterránea de las distintas especies de leguminosas y gramíneas fue variable, pero en todas ellas se mantuvo relativamente constante entre años resultando en una disminución en la partición raíz/tallo en los años de mayor producción de biomasa aérea. En cambio, los dos cultivares de crucíferas evaluados (nabos forrajeros, *R. Sativus*) presentaron una partición estable entre años y, por lo tanto, la biomasa aérea y la subterránea aumentaron en los años buenos. Las diferencias que presentaron las especies de las diferentes familias probablemente se deban a los rasgos que fueron considerados durante su mejoramiento genético, la biomasa aérea en las gramíneas y leguminosas, y la biomasa subterránea en las especies de crucíferas evaluadas (Capítulo 3).

*La producción de biomasa subterránea y la capacidad de aportar NFB, dos rasgos que potencialmente se asocian a la provisión de servicios ecosistémicos relacionados con la regulación del ciclo del nitrógeno y la formación de materia orgánica, varían sustancialmente entre distintas especies de cultivos de servicios, incluso entre especies pertenecientes a la misma familia. Por lo tanto, la selección de las especies y también de las variedades, resulta importante a la hora de maximizar los rasgos deseados (Capítulos 2 y 3). Es necesario seguir evaluando nuevas especies y variedades en distintas regiones para caracterizar estos rasgos en distintos ambientes y años.

*Entre los cultivos de servicios evaluados, las leguminosas que más NFB aportaron fueron *T. alexandrinum* y *T. pratense* ($\approx 140\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) y los que más biomasa

subterránea produjeron fueron *L. multiflorum* y los dos cultivares de *R. sativus* (entre 1,8 y 1,3 Tn.ha⁻¹) (Capítulos 2 y 3).

*El uso de una aproximación experimental que considera tanto los cambios en los contenidos de C, como los flujos de C hacia y entre distintas fracciones de la MOS, mostró que las disminuciones que presentan las rotaciones agrícolas respecto al campo natural se deben tanto al aumento de las pérdidas por descomposición del C-MAOM_{viejo} como a la baja formación de C-MAOM_{nuevo}, pero solamente a la pérdida por descomposición del C-POM_{viejo} (Capítulo 4).

*El contenido de C-POM tendió a ser más alto en las rotaciones con cultivos de servicios y más bajo en el testigo sin cultivos de servicios. La rotación con *A. strigosa*, fue el cultivo de servicio que presentó los mayores aportes de biomasa, sin embargo, ninguna de las rotaciones logró mantener los contenidos de C-POM que presentaba originalmente el campo natural (Capítulo 4).

*Las rotaciones con leguminosas como cultivo de servicio presentaron mayores contenidos de C-MAOM que, al momento inicial del experimento, llegando a valores similares a los del campo natural. Sin embargo, el resto de las rotaciones, incluyendo el testigo, mantuvieron los contenidos de C-MAOM que presentaba el suelo en el momento inicial. Los mayores contenidos C-MAOM en las leguminosas se deben principalmente a que la descomposición del C-MAOM_{viejo} fue muy baja, pero también a que forman más C-MAOM_{pom} probablemente porque estimulan la descomposición de la POM por efecto *priming* por N; y a que la formación de C-MAOM_{nuevo} es relativamente similar al del resto de las rotaciones (Capítulo 4).

*Las rotaciones con gramíneas como cultivo de servicio presentaron aumentos en la descomposición de la C-MAOM_{viejo} pero también aumentos en la formación de C-MAOM_{nuevo}, comparadas con el testigo, sugiriendo aumento en la velocidad de ciclado del carbono (e.g. disminuciones en el tiempo de residencia del carbono). Esto parece deberse a que el mayor aporte de residuos de baja calidad estimula la descomposición del C-MAOM_{viejo} (*priming* por energía) pero que, al aportar grandes cantidades de residuos, estos vuelven a formar C-MAOM y logran igualmente aumentar los contenidos de C-MAOM (Capítulo 4).

*Entre todos los cultivos de servicio dentro de secuencias de soja evaluados, los que presentaron los mayores contenidos de C-POM fueron *A. strigosa*, *L. multiflorum* y *V. sativa* y los mayores contenidos de C-MAOM *V. sativa* y *T. alexandrinum* (Capítulo 4).

5.2. Oportunidades e implicancias de la adopción de cultivos de servicios en la Región Pampeana

En la Región Pampeana la inclusión de cultivos de servicios en las rotaciones permite aumentar el uso de los recursos disponibles. Actualmente, cerca del 89% del área agrícola de la Región Pampeana, presenta un solo cultivo al año (principalmente de verano) (Pinto et al. 2017). En este sentido, Caviglia (2004), a partir de la información reportada por Abbate et al. (1995), Valentinuz (1996) y Della-Maggiora et al. (2000), calculó que los cultivos anuales de trigo, maíz y soja, capturan sólo entre el 20 y 36 % de la radiación fotosintéticamente activa incidente anual, por más que durante la estación de crecimiento logren absorber el 60% de la radiación. Esto denota que una gran parte de la baja eficiencia en la captura de la radiación se debe a la ausencia de cultivos durante una

gran parte del año. A la vez, la evapotranspiración potencial durante la estación de crecimiento de dichos cultivos es de 400 - 600mm y corresponde al 44 - 71% de la precipitación anual (Caviglia 2004). Es por ello, que la inclusión de cultivos de servicios es una alternativa para aumentar la captura y eficiencia en el uso de los recursos, que permitiría reducir las pérdidas de energía, agua y nutrientes en los agroecosistemas (Caviglia 2004; Andrade & Satorre 2015).

A su vez es probable que la siembra de cultivos de servicios en la Región Pampeana no provoque una disminución en los rendimientos de los cultivos de renta (Pinto et al. 2017; Alvarez et al. 2017). Los planteos de doble cultivo generalmente exponen al segundo cultivo a condiciones ambientales desfavorables que repercuten en el rendimiento (Calviño et al. 2003; Monzon et al. 2007). En cambio, los cultivos de servicios pueden ser interrumpidos en forma temprana de modo de disminuir la probabilidad de afectar negativamente al cultivo de renta (Pinto et al. 2017). En este sentido, nuestros experimentos muestran que los rendimientos del cultivo de soja luego de un cultivo de servicio tienden a ser mayores que los rendimientos de soja en el testigo, luego de un periodo de barbecho invernal (Figura 5.1). Esto sobre todo ocurre cuando los cultivos de servicios son leguminosas o crucíferas y en los años en los que el rendimiento del testigo es mayor. En cambio, luego de una gramínea en uno de los cinco “ambientes” evaluados, se encontró una disminución en el rendimiento de soja lo cual sugiere que el consumo de agua por especies de esta familia puede ser mayor y por lo tanto es clave la elección de la fecha de supresión de las gramíneas (Figura 5.1). Por otro lado, un

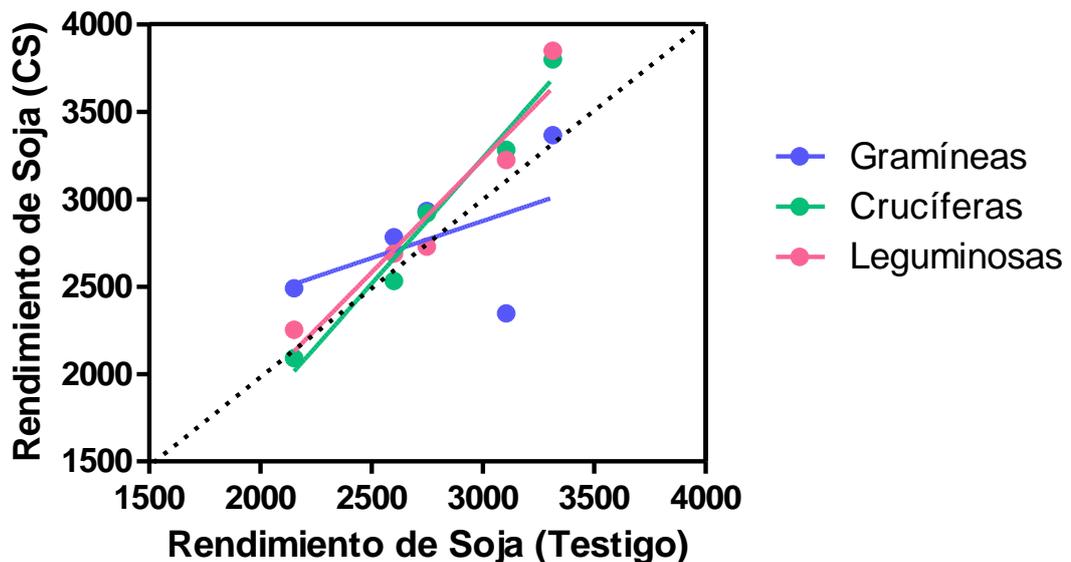


Figura 5-1- Rendimientos del cultivo de soja con un cultivo de servicio antecesor de gramínea, crucífera o leguminosa (eje y) en función del rendimiento de soja en el testigo, luego de un barbecho invernal (eje x). Los rendimientos de soja en el testigo 2600 Kg.ha⁻¹ y 2052 Kg.ha⁻¹ corresponden a los experimentos realizados en INIA-Treinta y de las campañas 2012/2013 y 2013/2014 (Capítulo 4), respectivamente, y los rendimientos del testigo 2748 Kg.ha⁻¹, 3104 Kg.ha⁻¹ y 3314 Kg.ha⁻¹ a los experimentos realizados en INIA-La estanzuela de las campañas 2015/2016, 2013/2014 y 2014/2015 (Capítulo 3), respectivamente.

metaanálisis realizado a partir de 67 experimentos distribuidos en la Región Pampeana, muestra que los cultivos de servicios disminuyen entre un 15% y 30% el contenido de agua disponible en profundidad al momento de la siembra (entre 1 y 2,5 m de profundidad). Sin embargo, el agua almacenada en el primer metro de profundidad no se ve afectada por la presencia de cultivos de servicios en los periodos de barbechos y por lo tanto la probabilidad de que afecten negativamente el rendimiento del cultivo de renta posterior es baja (Alvarez et al. 2017). Algunos trabajos incluso muestran aumentos del agua disponible a la siembra de los cultivos de cosecha cuando se realizan cultivos de servicio, que por su efecto “mulch”, disminuyen la evaporación del suelo y la escorrentía superficial, conservando mejor el agua en el suelo (Fernandez et al. 2008).

5.3. Rasgos de los cultivos de servicios y su relación con la provisión de servicios ecosistémicos

Dado que los cultivos de servicios pueden sembrarse con diferentes objetivos, resulta fundamental caracterizarlos en función de rasgos que se encuentren estrechamente relacionados con los servicios ecosistémicos que se pretenden favorecer. Generalmente, los cultivos de servicios se evalúan a partir de su producción de biomasa aérea. Este rasgo se encuentra muy relacionado con la generación de cobertura del suelo y con la absorción de nutrientes. Por lo tanto, resulta útil para caracterizar a los cultivos de servicios en cuanto a su capacidad de reducir las pérdidas de suelo por erosión o las pérdidas de nutrientes por lixiviación o emisiones de óxido nitroso (Figura 5.2; Thorup-Kristensen 1994; Quinton et al. 1997; Bodner et al. 2010). Sin embargo, es necesario considerar tanto la calidad de la biomasa (relación C/N) como la producción de raíces finas, gruesas y profundas cuando se busca aumentar los contenidos de C y N de la MOS (Figura 5.2).

En los planes de mejoramiento y en la descripción de los cultivos la producción de biomasa subterránea generalmente no es tomada en cuenta, probablemente debido a que su estimación requiere de un arduo trabajo (Kell 2012; Kong et al. 2014; Frasier et al. 2016). Sin embargo, una gran proporción de los servicios que brindan los ecosistemas se encuentran relacionados con las diversas funciones que cumplen las raíces en los suelos (Bardgett et al. 2014; Jackson et al. 2017; Kell 2012). Por un lado, las raíces finas presentan altos porcentajes de humificación en la POM, porque quedan atrapadas en poros de menor diámetro que dificultan el acceso a los microorganismos descomponedores y en los que prevalecen las condiciones de anoxia (Figura 5.2; Six et al. 2002; Rasse et al. 2005). A su vez cuando la relación C/N es alta, este mecanismo es más fuerte porque la descomposición también se encuentra limitada por su recalcitrancia bioquímica (Rasse et al. 2005). Por otro lado, independientemente de la calidad, la humificación de las raíces profundas es alta debido a que la actividad de los microorganismos descomponedores disminuye en función de la profundidad del suelo (Figura 5.2; Kell 2011).

Cuando los cultivos de servicios se siembran para aumentar la MOS, es fundamental considerar en simultáneo la calidad y cantidad de la biomasa aportada y la fracción de MOS en la que son esperables los cambios. Por un lado, cuando la biomasa presenta una baja relación C/N, su similitud con la estequiometría de los microorganismos descomponedores conduce a una mayor humificación en la MAOM (Figura 5.2; Baisden and Amundson 2003; Manzoni et al. 2010; Cotrufo et al. 2013; Kirkby et al. 2013). Pero al mismo tiempo, dichos aportes de biomasa pueden ejercer un efecto *priming* por N sobre la descomposición de la POM de manera similar a lo que sucede con la descomposición de la broza (Knorr et al. 2005; Schimel & Hättenschwiler 2007; Janssens et al. 2010). En cambio, una alta relación C/N puede conducir a una mayor humificación en la POM

(Figura 5.2; Six et al. 2002; Rasse et al. 2005) pero estimular la descomposición de la MAOM. Esto sucede porque los aportes de biomasa de alta relación C/N aumentan la disponibilidad de energía para los microorganismos descomponedores y logran descomponer el C-MAOM que se encuentra fuertemente adsorbido a los minerales del suelo, efecto *priming* por energía (Davidson & Janssens 2006; Kuzyakov et al. 2000; Fontaine et al. 2003; Guenet et al. 2012; Mazzilli et al. 2014).

Los cultivos de servicios pueden influir en el contenido de N de la MOS, mediante el aumento de las entradas por fijación biológica de N, o por la disminución de las pérdidas por lixiviación, la volatilización de amonio o las emisiones de óxido nitroso (Wagner-Riddle & Thurtell 1998; Rosecrance et al. 2000; Venkateswarlu et al. 2007). En este sentido, para lograr reducir las pérdidas es importante aumentar la inmovilización del N mediante la absorción por el cultivo de servicio y es por ello que existe una relación entre la captura de nutrientes y la producción de biomasa aérea de especies de gramíneas o crucíferas cuya relación C/N es alta (Figura 5.2). En cambio, para aumentar las entradas de N mediante cultivos de servicios es necesario incluir en las rotaciones especies de leguminosas capaces de asociarse con bacterias fijadoras y aportar NFB (Figura 5.2; Köpke & Nemecek 2010; Denton et al. 2013; Anglade et al. 2015; Collino et al. 2015). Es interesante recalcar entonces que los cultivos de servicios de distintos tipos funcionales están contribuyendo de distintas maneras a la regulación del ciclo del N (Figura 5.2).

Rasgos	Suelo	C-MOS				N-MOS		
	Control de la erosión	Humificación POM	Descomposición POM	Humificación MAOM	Descomposición MAOM	Entradas	Reducción de las pérdidas	
↑C/N	Biomasa aérea	↑	↗	–	↗	↑	–	↑
	Biomasa raíces finas	–	↑	–	↗	↑	–	↑
	Biomasa raíces gruesas	–	↗	–	↗	↑	–	↑
	Biomasa raíces profundas	–	↑	–	↑	–	–	↑
↓C/N	Biomasa aérea	↗	–	↑	↗	–	↑	–
	Biomasa raíces	–	↗	↗	↑	–	↑	–
	Biomasa raíces profundas	–	↑	–	↑	–	–	↗

Figura 5-2- Relación entre rasgos de los cultivos de servicios y procesos relacionados con la provisión de servicios ecosistémicos, relacionados con el control de la erosión, la formación de materia orgánica del suelo y la regulación del ciclo del N. Las flechas indican que el rasgo se encuentra positivamente relacionado con el proceso, ↑ cuando la relación es muy fuerte y ↗ cuando la relación es más débil. En ambas flechas, cuando se utiliza un mayor tamaño y grosor, existe un mayor nivel de confianza debido a la disponibilidad de evidencias científicas obtenidas en esta tesis o a partir de otros trabajos (e.g. Quinton et al. (1997) para erosión y Wagner-Riddle & Thurtell (1998) para la reducción de las pérdidas de N de los ecosistemas). Los guiones (-) indican la ausencia de un efecto claro (un efecto neutro).

Si bien, en esta sección específicamente se discuten las relaciones que presentan los rasgos con servicios ecosistémicos que tienen un impacto a escala local, algunos de ellos afectan en el mismo sentido servicios ecosistémicos a otras escalas. Por ejemplo, la

reducción de la lixiviación de nutrientes o el consumo de agua que dependen de la producción de biomasa y de la profundidad de las raíces, se relacionan con la disminución del riesgo de contaminación de las napas, un servicio que ocurre a escala regional (Rosecrance et al. 2000; Kramer et al. 2002; Nosoetto et al. 2012). A la vez, tanto el secuestro de C en la MOS (Liu et al. 2005; Ding et al. 2006; Olson et al. 2010) como la disminución de las emisiones óxido nitroso (Wagner-Riddle & Thurtell 1998) permiten regular la composición de gases en la atmósfera y contribuyen con la mitigación del cambio global, un servicio ecosistémico que impacta a escala global.

Por otra parte, en la Región Pampeana existe un creciente interés por incluir cultivos de servicios que permitan controlar malezas (Cosci et al. 2017). La adopción masiva de la siembra directa y cultivares de soja resistentes al glifosato resulta en agroecosistemas biológicamente más propensos a la evolución de la resistencia al glifosato (Vila-Aiub et al. 2008). Esto condujo a un incremento sustancial en las dosis de herbicidas las cuales actualmente representan un elevado costo de producción (Cosci et al. 2017). En este sentido los cultivos de servicios podrían reducir la dependencia al glifosato, porque controlan el crecimiento de las malezas en los barbechos por competencia, permitiendo reducir la cantidad de aplicaciones o de productos distintos necesarios para su control (Cosci et al. 2017). En este sentido, cambiar el mecanismo de control sobre las malezas resulta muy prometedor porque las plantas resistentes presentan alteraciones metabólicas y fisiológicas que reducen su aptitud ecológica (Vila-Aiub et al. 2005).

5.4. Inclusión de cultivos de servicios en los agroecosistemas: análisis cualitativo de su provisión de servicios ecosistémicos

El aumento de la biodiversidad en los agroecosistemas es una herramienta esencial para diversificar su provisión de servicios ecosistémicos (Isbell et al. 2017). En los agroecosistemas se maximiza la producción de alimentos pero se reduce la provisión de otros servicios que brindan los ecosistemas naturales, principalmente los servicios de regulación y soporte (Foley et al. 2005). Por ello uno de los mayores desafíos actuales es diseñar agroecosistemas más diversos que permitan, principalmente, restaurar los servicios ecosistémicos relacionados con la materia orgánica del suelo que son fundamentales para sostener la producción agrícola en el largo plazo (Power 2010; Tiltonell 2014; Banwart et al. 2015). En este sentido, en la mayoría de los sistemas agrícolas, las principales diferencias se deben a que los ecosistemas naturales previos presentan mayor diversidad de especies, vegetación durante todo el año y mayor producción de biomasa subterránea (Bolinder et al. 2007). Los agroecosistemas, en cambio, presentan baja diversidad de cultivos, dan lugar a periodos de barbechos (i.e. periodos sin cultivos) durante gran parte del año, tienen una baja producción de raíces y requieren altas dosis de insumos agrícolas (Frasier et al. 2016; Pinto et al. 2017). El aumento de la diversidad de cultivos en el espacio (i.e. intersembrado) fue escasamente adoptado porque la cosecha suele ser muy dificultosa (Malézieux et al. 2009). Esto condujo a que, en el mejor de los casos la diversidad de cultivos ocurra en el tiempo. A su vez, la producción subterránea de los cultivos de renta fue progresivamente disminuyendo en el tiempo debido al mejoramiento genético (Kell 2011).

La estructura y el funcionamiento de los ecosistemas determinan su capacidad para proveer distintos servicios ecosistémicos (Bardgett & Gibson 2017). Es por ello que mientras que un ecosistema natural provee diferentes servicios en simultáneo, los agroecosistemas permiten maximizar la provisión de alimentos, pero pierden la capacidad

de mantener la provisión de otros servicios, generalmente de regulación y soporte (Figura 5.3a y 5.3b). En este sentido si bien los ecosistemas naturales proveen servicios que no son directamente percibidos por los productores (e.g. regulación de la composición de la atmósfera mediante el secuestro de C y la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero), también proveen servicios que impactan en la propia producción a mediano y largo plazo. Generalmente estos últimos corresponden a los servicios ecosistémicos emergentes del suelo como los relacionados con la MOS y las propiedades físicas del suelo (Banwart et al. 2016; Robinson et al. 2012; Dominati et al. 2010). Pero también podríamos mencionar en este grupo a la reposición de N y el control de las malezas, ya que cuando se pierden aumentan los insumos necesarios para mantener la producción.

La inclusión de cultivos de servicios en los periodos de barbechos permite aumentar la provisión de algunos de los servicios que se ven reducidos en los agroecosistemas (Power 2010; Tiftonell 2014). Dada la estrecha relación entre los rasgos de los cultivos con los servicios que proveen, se observan diferencias entre especies pertenecientes a distintos grupos funcionales o familias (Figura 5.3). Por ejemplo, las gramíneas cubren rápidamente el suelo y es por ello que permiten controlar de la erosión en forma más temprana que las leguminosas y las crucíferas (Figura 5.3d; 5.3e; 5.3f). Debido a este rasgo, las gramíneas junto con algunas crucíferas, que producen sustancias que inhiben la germinación de otras especies, permiten controlar la presencia de malezas (Finney & Kaye 2017). Las leguminosas, en cambio, presentan un crecimiento lento luego de la emergencia y dan lugar a la emergencia y crecimiento de malezas durante el otoño (Schipanski et al. 2014; Figura 5.3d; 5.3e; 5.3f). Algo similar sucede con la retención de nutrientes, que se encuentra relacionada con la disminución de la lixiviación de nutrientes y de las emisiones de óxido nitroso. Debido a sus mayores tasas de crecimiento, tanto las gramíneas como las crucíferas, presentan una mayor absorción de nutrientes y absorben más N del suelo que las leguminosas (Figura 5.3d; 5.3e; 5.3f). Sin embargo, en cuanto a la reposición de N, las leguminosas son las únicas que permiten aumentar las entradas debido a que son capaces de asociarse con bacterias fijadoras de N y aportar NFB (Figura 5.3e).

En cuanto a la MOS, las especies pertenecientes a las distintas familias afectan en distinto sentido las fracciones POM y MAOM, de acuerdo a sus rasgos característicos (Figura 5.2). Generalmente las pérdidas de MOS en los agroecosistemas se observan en la POM, pero de acuerdo a su nivel de deterioro también pueden presentar menores contenidos de MAOM que los ecosistemas naturales. En este sentido las gramíneas dan lugar a mayores aumentos en la POM respecto a las leguminosas y crucíferas, debido a su mayor producción de biomasa de raíces finas y a su bioquímica recalcitrante (Figura 5.3d; 5.3e; 5.3f). Las leguminosas, sobre todo cuando el contenido de C se encuentra alejado del nivel de saturación del suelo, contribuyen más a la formación de MAOM, debido a la similitud con la estequiometría de los microorganismos descomponedores del suelo (Figura 5.3d; 5.3e; 5.3f; Baisden and Amundson 2003; Manzoni et al. 2010; Cotrufo et al. 2013; Kirkby et al. 2013).

En cuanto a las propiedades físicas del suelo, el efecto de los cultivos de servicios también depende del nivel de deterioro que presentan los agroecosistemas. En este sentido, las gramíneas debido a sus sistemas radicales más finos pueden aumentar la agregación del suelo, que determina la tasa de infiltración del agua en el suelo y la porosidad total (Figura 5.3d; Villamil et al. 2006; Álvarez 2013). Pero, cuando el suelo presenta impedancias mecánicas que dificultan la penetración y exploración del suelo por las raíces, la siembra de crucíferas tales como *R. sativus* que producen raíces más gruesas,

pueden reducir la resistencia a la penetración y finalmente lograr descompactar el suelo (Figura 5.3f; Clark et al., 2003; Chen & Weil 2010).

La siembra conjunta de mezclas de cultivos de servicios que combinen especies pertenecientes a distintos tipos funcionales contribuye a una provisión de servicios ecosistémicos más diversa y, por lo tanto, parecida a la de los ecosistemas naturales (Figura 5.3a y 5.3c). La principal diferencia es que, si bien la biodiversidad es mayor a la que presentan los cultivos anuales, continúa siendo muy baja en relación a un ecosistema natural (Figura 5.3a y 5.3c). Actualmente, la diversidad de los agroecosistemas se obtiene con la inclusión en el tiempo (rotación) de distintas especies de cultivos de cosecha (trigo, ecosistema natural Figura 5.3a y 5.3c) y resulta muy baja. Como se mencionó anteriormente la intersemeadura de cultivos ha sido escasamente adoptada en la producción extensiva nacional y global, pero los cultivos de servicios permiten la posibilidad de ser sembrados en mezclas, generando policultivos que aumenten la diversidad funcional no solo temporalmente. En este sentido, se ha documentado que la inclusión de una mezcla de cultivos de servicios de diferentes especies, permite la provisión de múltiples servicios ecosistémicos que se encuentran estrechamente relacionados con la sustentabilidad de los agroecosistemas (Miyazawa et al. 2010; Power 2010; Tittonell 2014; Isbell et al. 2017). Principalmente, reduce la cantidad de insumos agrícolas que se requieren para mantener los niveles productivos de los lotes comerciales, los cuales tienden a aumentar el uso de insumos en el tiempo (e.g. dosis de fertilizantes y herbicidas) (Isbell et al. 2017). De este modo, también se diversifica la producción de granos y la de otros servicios ecosistémicos que tienen impacto a diferentes escalas (Schipanski et al. 2014; Tittonell 2014; Gaba et al. 2015; Frasier et al. 2016; Pinto et al. 2017).

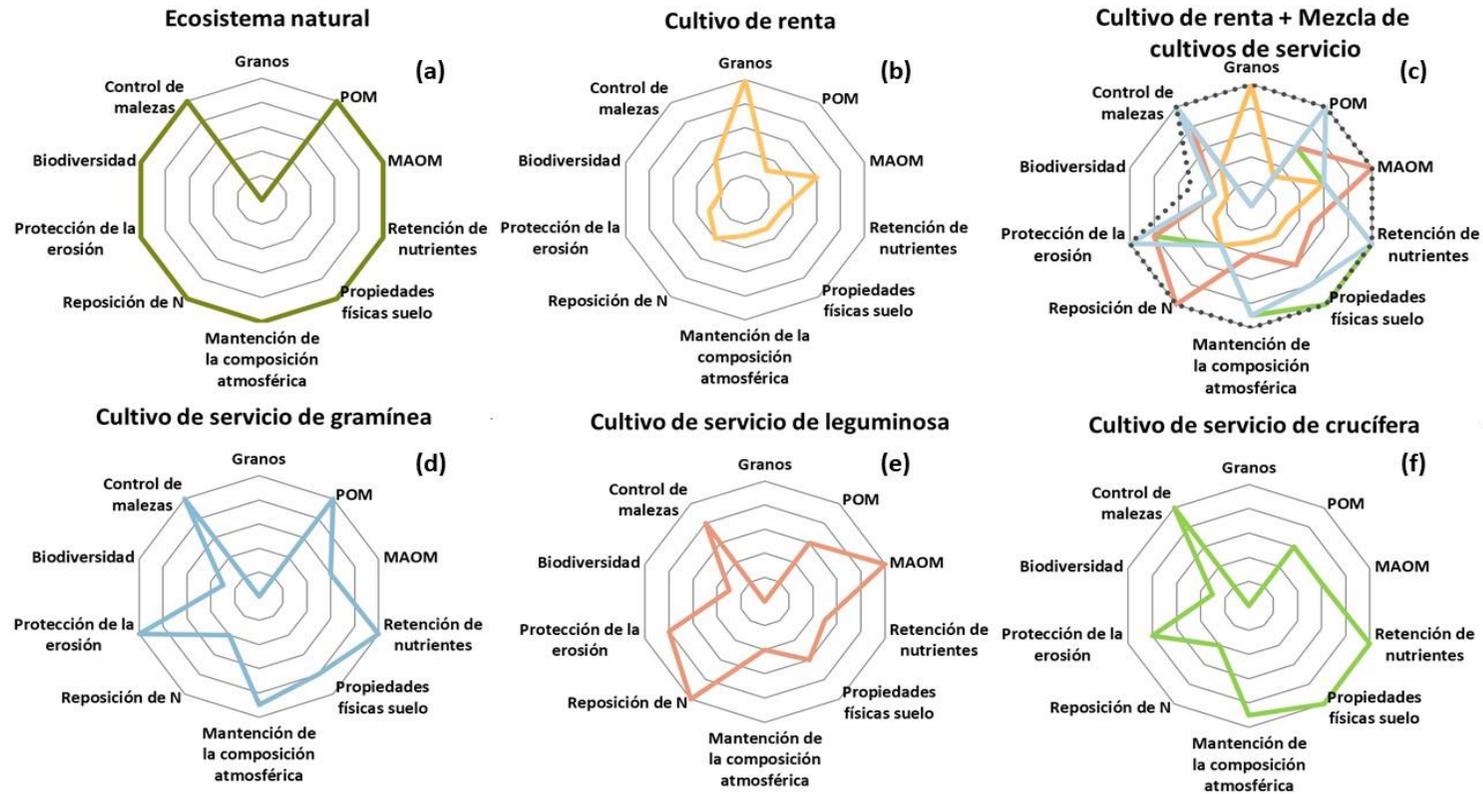


Figura 5-3- Descripción cualitativa de servicios que proveen diferentes ecosistemas. La provisión de los múltiples servicios ecosistémicos que brinda un ecosistema natural (a) o agroecosistemas que incluyen diferentes cultivos (b-f) se ilustra mediante gráficos de tela de araña, donde la provisión de cada servicio se encuentra normalizada. En este modelo teórico, se incluyen tanto las variables estimadas en esta tesis (POM, MAOM y reposición de N) como otras estimadas a partir de otros trabajos. Los servicios que se consideran son la provisión de alimentos (granos); la materia orgánica particulada (POM) y la asociada a los minerales (MAOM) que están relacionadas con el secuestro de C en el suelo y con los servicios emergentes del suelo que permiten mantener la producción en el largo plazo; la retención de nutrientes que disminuye el riesgo de contaminación de las napas de agua por lixiviación; las propiedades físicas del suelo que determinan la capacidad de infiltración y retención del agua en el suelo, y como consecuencia, previenen la erosión y disminuyen el riesgo de déficit hídrico en los cultivos; la mantención de la composición atmosférica, por medio de la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y el secuestro de C en el suelo, que contribuye con la mitigación del cambio global; la reposición de N que disminuye los insumos de fertilizante nitrogenado que se necesitan para la producción; la protección de la erosión que permite evitar la pérdida del suelo; la biodiversidad de los ecosistemas y el control de malezas mediante la competencia que disminuye la probabilidad de aparición de resistencias a los herbicidas. En (c) se muestra con línea punteada, la combinación en el tiempo de un cultivo de renta (soja) y una mezcla de cultivos de servicios. En la mezcla, se combinan en el espacio especies pertenecientes a la familia de las gramíneas (d); las leguminosas (e) y las crucíferas (f).

5.5. Diversificación espacial y temporal de los servicios que brindan los agroecosistemas: el rol de las mezclas

Dado que ciertos rasgos de los cultivos (e.g. biomasa aérea o subterránea) promueven servicios ecosistémicos específicos, la multifuncionalidad de los ecosistemas naturales se encuentra relacionada con su biodiversidad (Bardgett & Gibson 2017). Por un lado, porque coexisten especies con rasgos diversos y por otro, porque la expresión de algunos rasgos puede incrementarse con las mezclas o los policultivos. Por ejemplo, la biomasa aérea puede aumentar con la biodiversidad, porque aumenta la probabilidad de contar con las especies de mayor producción de biomasa o por la complementariedad de nichos entre las distintas especies (Tilman et al. 2014). Considerar estas teorías ecológicas en el diseño de mezclas de cultivos para aumentar la producción de biomasa aérea en los periodos de barbechos permitiría, por ejemplo, disminuir el riesgo de lixiviación (debido a la mayor absorción de nutrientes) y reducir las poblaciones de malezas (Finney & Kaye 2017). Sin embargo, en mezclas de cultivos, prácticamente no han sido estudiadas las respuestas de otros rasgos como la biomasa subterránea y la fijación biológica de N que son claves para aumentar los reservorios de C y N en el suelo.

Los cultivos de servicios puros o en mezclas que incluyan leguminosas aumentarán las entradas de N al suelo por medio de la fijación biológica. Las leguminosas asociadas con bacterias fijadoras pueden aportar más de 100 Kg de NFB.ha⁻¹ y reemplazar parte de la fertilización nitrogenada que requieren los cultivos de renta (Capítulo 2; Büchi et al. 2015; Coombs et al. 2017). En general, estos aportes aumentan con la producción de biomasa aérea de las leguminosas (Köpke & Nemecek 2010; Denton et al. 2013; Anglade et al. 2015; Collino et al. 2015). Sin embargo, si se mantiene una cierta cantidad de biomasa de leguminosas mínima, las mezclas de leguminosas con otras especies podrían tener aportes similares a los de las leguminosas puras. Esto se debe a que el consumo de N del suelo de las especies no fijadoras de la mezcla provoca que las leguminosas aumenten la proporción de NFB (Schipanski & Drinkwater 2011). Esto representa una gran oportunidad en el diseño de las mezclas porque se pueden diversificar los servicios ecosistémicos con especies que presenten rasgos relacionados con otros servicios, sin disminuir los aportes de NFB.

En este sentido la inclusión de especies de distintas familias en la mezcla podría mejorar la formación y estabilización de la MOS por al menos dos mecanismos. Por un lado, las mezclas podrían formar más MOS que las especies por separado debido al aumento de la producción subterránea. Las mezclas suelen explorar un mayor volumen de suelo porque se combinan especies con diferente arquitectura radical y también porque algunas, cambian su distribución cuando crecen junto a otras especies (Wilson 1988; Miyazawa et al. 2010). Esto podría permitir una mayor formación de MOS debido a que la humificación de las raíces es muy alta (Jackson et al. 2017; Mazzilli et al. 2015). Por otro lado, las mezclas que combinen especies con diferente relación C/N podrían aumentar tanto la POM como la MAOM. En ambas fracciones, los aportes pueden estimular su descomposición según la C/N que presenten: en la POM cuando presentan una baja relación C/N y en la MAOM cuando aportan mucha energía por su mayor C/N (Capítulo 4; Fontaine et al. 2003; Kuzyakov et al. 2000; Castellano et al. 2012; Cotrufo et al. 2013; Mazzilli et al. 2014). Si en cambio los aportes provienen de una mezcla con distintas calidades, la humificación de los aportes con mayor C/N en la POM y de los de menor C/N en la MAOM, podría resultar en un balance positivo que conduzca a una mayor acumulación de MOS que la resultante en rotaciones de cultivos de servicios puros

(Figura 5.1 y 5.2). Todas estas hipótesis deberían ser puestas a prueba con experimentaciones a campo que permitan evaluar el efecto real de las mezclas sobre la acumulación de MOS. Esto permitiría diseñar mezclas de cultivos de servicios que brinden una “dieta” balanceada para los organismos descomponedores del suelo, que maximice la formación de MOS. Esto debería ser validado con experimentaciones a campo que permitan evaluar el efecto real de las mezclas sobre la acumulación de MOS.

5.6 Perspectivas futuras

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis es posible plantear nuevas preguntas que guíen investigaciones futuras. Por un lado, están aquellas orientadas a mejorar el entendimiento de procesos ecológicos que permiten vincular los rasgos de las especies con servicios ecosistémicos (1). Pero también surgen preguntas tecnológicas, cuya exploración es indispensable para que los cultivos de servicios se implementen en forma masiva en la Región Pampeana (2):

(1a) Los cultivos de servicios generalmente son caracterizados a partir de la biomasa aérea, pero se deben comenzar a evaluar rasgos que se encuentren más relacionados con los servicios ecosistémicos que se deseen promover. En este sentido es necesario evaluar diferentes especies y cultivares creciendo en diferentes sitios y años, para estimar el efecto del ambiente y de la interacción ExA sobre los rasgos que presenten las especies.

(1b) Dada la importancia de conocer cuáles son los efectos sobre la formación y la descomposición de la MOS con distintas rotaciones con cultivos de servicios y las nuevas hipótesis que pueden plantearse a partir de los resultados del capítulo 4; resulta interesante evaluar los cambios que ocurren en cada fracción sobre distintos suelos, por ejemplo, suelos que haya perdido mucho C-MAOM y por lo tanto se encuentren lejos del nivel de saturación.

(2a) Los cultivos de servicios también deben ser caracterizados considerando los rasgos que determinan la posibilidad de adopción en los agroecosistemas actuales. Algunos de ellos pueden ser: lograr una buena implantación que se observe de manera consistente en diferentes años; que el costo de la semilla y de la siembra sea bajo, con lo cual resultan más atractivos aquellos cultivos que se pueden sembrar al voleo sobre el cultivo de renta en pie, con avión o con una sembradora autopropulsada; que presenten una tasa de crecimiento alta luego de la cosecha del cultivo de renta antecesor para aprovechar las precipitaciones que ocurren en el otoño y competir con las malezas; que su ciclo se pueda interrumpir fácilmente con una baja combinación de herbicidas; y que el riesgo de que se convierta en maleza sea bajo. En este sentido, para estudiar la mayor cantidad de las especies y cultivares de cultivos de servicios que se encuentran disponibles en nuestro país, y en las diferentes zonas agrícolas distribuidas desde el noroeste argentino hasta el sudeste bonaerense, es fundamental el trabajo en conjunto de asociaciones de productores (AAPRESID, AACREA, etc.). De este modo, los cultivos pueden ser probados en varios sitios en simultáneo con un protocolo común y los resultados pueden ser rápidamente difundidos en jornadas incentivando su adopción.

(2b) A su vez los cultivos de servicios podrían ser fomentados por organismos gubernamentales que promuevan su adopción. Por un lado, la rotación de cultivos que recibe cada suelo podría ser supervisada de modo de garantizar la ausencia de deterioro

en el recurso suelo. Por ejemplo, en Uruguay mediante los “Planes de uso y manejo responsable de suelos” los productores se ven obligados a incluir cultivos de servicios en la mayoría de los años con el fin de evitar la pérdida de suelo por erosión. Por otro lado, puede existir un interés en aumentar los servicios a escala regional, los cuales pueden ser incentivados por las provincias o los partidos. Por ejemplo, se podría subsidiar la inclusión de cultivos de servicios con el fin de disminuir el nivel de la napa en algunas regiones para reducir los riesgos de inundación, o reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, contribuyendo a la sustentabilidad global.

6. Bibliografía

- Abbate, P.E., Andrade, F.H. & Culot, J.F. 1995. The effects of radiation and nitrogen on number of grains in wheat. *Journal of Agricultural Science*. 124, 351– 360.
- Abiven, S., Menasseri, S. & Chenu, C., 2009. The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability - A literature analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, pp.1–12.
- Acikgoz, E., Ustun, I., Gul, E., Anlarsal, A. S., Tekeli, I., Nizam, R., Avcioglu, H., Geren, S., Cakmakci, B., Aydinoglu, C., Yucel, M., Avci, Z., Acar, I., Ayan, A., Uzun, U., Bilgili, M., Sincik and M. Yavuz I., 2009. Genotype \times environment interaction and stability analysis for dry matter and seed yield in field pea (*Pisum sativum* L.). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7, pp.96–106.
- Alvarez, R., 2001. Estimation of carbon losses by cultivation from soils of the Argentine Pampa using the Century Model. *Soil Use and Management*, 17, pp.62–66.
- Alvarez, C.R., 2013. Condición física de los suelos limosos bajo siembra directa: Caracterización, génesis y manejo. *IAH*, 10, pp.2–9.
- Alvarez, R., Steinbach, H.S. & De Paepe, J.L., 2017. Cover crop effects on soils and subsequent crops in the pampas: A meta-analysis. 170, pp.53–65.
- Andrade, J.F. & Satorre, E.H., 2015. Single and double crop systems in the Argentine Pampas: Environmental determinants of annual grain yield. *Field Crops Research*, 177, pp.137–147.
- Angers, D.A., Voroney, R.P. & Cote, D., 1995. Dynamics of soil organic matter and corn residues affected by tillage practices. *Soil Science Society of America Journal*, 59(5), pp.1311–1315.
- Anglade, J., Billen, G. & Garnier, J., 2015. Relationships for estimating N₂ fixation in legumes: incidence for N balance of legume-based cropping systems in Europe. *Ecosphere*, 6, pp.1–24.
- Austin, A.T., Piñeiro, G. & Gonzalez-Polo, M., 2006. More is less: agricultural impacts on the N cycle in Argentina. *Biogeochemistry*, 79, pp.45–60.
- Baeza, S. et al., 2014. Caracterización del uso / cobertura del suelo en Uruguay a partir de series temporales de imágenes MODIS Land Use / Land Cover Classification in Uruguay Using Time Series of MODIS Images. *Agrociencia Uruguay*, 18, pp.95–105.
- Baisden, W.T. & Amundson, R., 2003. An analytical approach to ecosystem biogeochemistry modeling. *Ecological applications*, 13, pp.649–663.
- Balesdent, J., 1987. The turnover of soil organic fractions estimated by radiocarbon dating. *The Science of the total environment*, 62, pp.405–408.
- Balesdent, J. & Balabane, M., 1992. Maize root-derived soil organic carbon estimated by natural ¹⁵C abundance. *Soil Biology and Biochemistry*, 24, pp.97–101.

- Balesdent, J. & Balabane, M., 1996. Major contribution of roots to soil carbon storage inferred from maize cultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, pp.1261–1263.
- Balesdent, J., Chenu, C. & Balabane, M., 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil & Tillage Research*, 53, pp.215–230.
- Banwart, S.A., Black, H., Cai, Z. C., Gicheru, P. T., Joosten, H., Victoria, R L., Milne, E., Noellemeyer, E., Pascual, U., 2015. The Global Challenge for Soil Carbon. *Soil Carbon: Science, Management and Policy for Multiple Benefits*, 71, pp.1–9.
- Banwart, S.A., Noellemeyer, E. & Milne, E. eds., 2016. *Soil Carbon - Science, Management and Policy for Multiple Benefits SCOPE Series Volume 71* CABI., Wallingford, UK.
- Bardgett, R.D., Mommer, L. & De Vries, F.T., 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution*, 29, pp.692–699.
- Bardgett, R.D. & Gibson, D.J., 2017. Plant ecological solutions to global food security. *Journal of Ecology*, 105, pp.859–864.
- Barrios, E., Ayala, W., Macedo, I., Terra, J., 2015. ¿Qué opciones de cultivos de cobertura se disponen para integrar a los esquemas agrícolas en la Región Este? *Actividades de difusión INIA Treinta y tres*, 748, pp.13–16.
- Bauer, A. & L. Black, 1994. Quantification of the Effect of Soil Organic Matter Content on Soil Productivity. *Soil Science Society of America Journal*, 58, pp.185–193.
- Bengough, A.G., McKenzie, B. M., Hallett, P. D., Valentine, T. A., 2011. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. *Journal of experimental botany*, 62, pp.59–68.
- Bengough, A.G. & Mullins, C.E., 1990. Mechanical impedance to root growth: a review of experimental techniques and root growth responses. *Journal of Soil Science*, 41, pp.341–358.
- Bergkvist, G. Stenberg, M., Wetterlind, J., Båth, B., Elfstrand, S., 2011. Clover cover crops under-sown in winter wheat increase yield of subsequent spring barley—Effect of N dose and companion grass. *Field Crops Research*, 120, pp.292–298.
- Bernoux, M., Cerri, C. C., Neill, C., de Moraes, J. F.L., 1998. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. *Geoderma*, 82, pp.43–58.
- Bernoux, M., Cerri, C., Cerri, C. E., Neto, M., S., Metay, A., Perrin, A., Scopel, E., Tantely, R., Blavet, D., de Piccolo, M. C., Pavei, M., Milne, E., 2009. Cropping Systems, Carbon Sequestration and Erosion in Brazil: A Review *BT - Sustainable Agriculture*. In E. Lichtfouse et al., eds. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 75–85.
- Bert, F.E., Podestá, G. P., Rovere, S. L., Menéndez, A. N., North, M., Tatara, E., Laciana, C. E., Weber, E., Toranzo Ruiz, F., 2011. An agent-based model to simulate structural and land use changes in agricultural systems of the Argentine pampas. *Ecological Modelling*, 222, pp.3486–3499.

- Blanco-Canqui, H. & Lal, R., 2008. No-Tillage and Soil-Profile Carbon Sequestration: An On-Farm Assessment. *Soil Science Society of America Journal*, 72, p.693.
- Blanco-Canqui, H., Holman, J. D., Schlegel, A. J., Tatarko, J., Shaver, T. M., 2013. Replacing Fallow with Cover Crops in a Semiarid Soil: Effects on Soil Properties. *Soil Science Society of America Journal*, 77, p.1026.
- Bloom, A.J., Chapin, F.S. & Mooney, H.A., 1985. Resource Limitation in Plants--An Economic Analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, pp.363–392.
- Bodner, G., Himmelbauer, M., Loiskandl, W., Kaul, H.P., 2010. Improved evaluation of cover crop species by growth and root factors. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, pp.455–464.
- Bolinder, M. A., Janzen, H.H., Gregorich, E.G., Angers, D.A., VandenBygaart, A.J., 2007. An approach for estimating net primary productivity and annual carbon inputs to soil for common agricultural crops in Canada. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 118, pp.29–42.
- Bolinder, M.A., Kätterer, T., Andrén, O., Parent, L. E., 2012. Estimating carbon inputs to soil in forage-based crop rotations and modeling the effects on soil carbon dynamics in a Swedish long-term field experiment. *Canadian Journal of Soil Science*, 92, pp.821–833.
- Bommarco, R., Kleijn, D. & Potts, S.G., 2013. Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology and Evolution*, 28, pp.230–238.
- Bronick, C.J. & Lal, R., 2005. Soil structure and management: A review. *Geoderma*, 124, pp.3–22.
- Büchi, L., Gebhard, C. A., Liebisch, F., Sinaj, S., Ramseier, H., Charles, R., 2015. Accumulation of biologically fixed nitrogen by legumes cultivated as cover crops in Switzerland. *Plant and Soil*, 393, pp.163–175.
- Calderini, D.F. & Slafer, G., 1998. Changes in yield and yield stability in wheat during the 20th century. *Field Crops Research*, 57, pp.335–347.
- Calviño, P.A., Sadras, V.O. & Andrade, F.H., 2003. Development, growth and yield of late-sown soybean in the southern Pampas. *Agronomy Journal*, 19, pp.265–275.
- Cambardella, C.A. & Elliot, E.T., 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Science Society of America Journal*, 56, pp.777–783.
- Cárcova, J., Abeledo, L.G. & Pereira, M.L., 2008. Análisis de la generación del rendimiento: crecimiento, partición y componentes. In A. J. Pascale, ed. *Producción de granos - Bases funcionales para su manejo*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Facultad de Agronomía, p. 783.
- Carolan, M., 2005. Barriers to the Adoption of Sustainable Agriculture on Rented Land: An Examination of Contesting Social Fields. *Rural Sociology*, 70, pp.387–413.

- Castaño, J.P. Giménez, A., Ceroni, M., Furest, J., Aunchayna, R., 2011. Caracterización agroclimática del Uruguay 1980-2009. Serie técnica INIA, 193, pp.1–23.
- Castellano, M.J., Kaye, J. P., Lin, H., Schmidt, J. P., 2012. Linking Carbon Saturation Concepts to Nitrogen Saturation and Retention. *Ecosystems*, 15, pp.175–187.
- Caviglia, O., 2004. Intensification of agriculture in the south-eastern Pampas I. Capture and efficiency in the use of water and radiation in double-cropped wheat–soybean. *Field Crops Research*, 87, pp.117–129.
- Chapman, N., Miller, A. J., Lindsey, K., Whalley, W. R., 2012. Roots, water, and nutrient acquisition: Let’s get physical. *Trends in Plant Science*, 17, pp.701–710.
- Chen, G. & Weil, R.R., 2010. Penetration of cover crop roots through compacted soils. *Plant and Soil*, 331, pp.31–43.
- Christensen, B.T., 2001. Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science*, 52, pp.345–353.
- Clark, L.J., Whalley, W.R. & Barraclough, P.B., 2003. How do roots penetrate strong soil? *Plant and Soil*, 255, pp.93–104.
- Collino, D.J., Salvagiotti, F., Peticari, A., Piccinetti, C., Ovando, G., Urquiaga, S., Racca, R. W., 2015. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors. *Plant and Soil*, 392, pp.239–252.
- Coombs, C., Lauzon, J. D., Deen, B., & Van Eerd L.L., 2017. Legume Cover Crop Management on Nitrogen Dynamics and Yield in Grain Corn Systems. *Field Crops Research* 201, pp. 75–85.
- Cosci, F., Piñeiro, G. & Singla, S., 2017. Hacia sistemas más diversos para disminuir el problema de malezas II. In 25 Congreso Aapresid “Kairós: El tiempo de los nativos sustentables.” Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Cotrufo, M.F., Wallenstein, M. D., Boot, C. M., Deneff, K., Paul, E., 2013. The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: Do labile plant inputs form stable soil organic matter? *Global Change Biology*, 19, pp.988–995.
- Coutinho, H.L., Noellemeier, E., Balieiro, F., Piñeiro, G., Fidalgo, E. C., Martius, C., Silva, C. F., 2015. Impacts of Land Use Change on Carbon Stocks and Dynamics in Central-Southern South American Biomes: Cerrado, Atlantic Forest and Southern Grasslands. *Land Use Change and Carbon Dynamics in South America. In Soil Carbon: Science, Management and Policy for Multiple Benefits.* pp. 224–234.
- Crews, T. & Rumsey, B., 2017. What Agriculture Can Learn from Native Ecosystems in Building Soil Organic Matter: A Review. *Sustainability*, 9, pp.578–596.
- Dakora, F.D. & Keya, S.O., 1997. Contribution of legume nitrogen fixation to sustainable agriculture in sub-saharan Africa. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, pp.809–817.

- Dale, V.H. & Polasky, S., 2007. Measures of the effects of agricultural practices on ecosystem services. *Ecological Economics*, 64, pp.286–296.
- Davidson, E. & Ackerman, I., 1993. Changes in soil carbon inventories following cultivation of previously untilled soils. *Biogeochemistry*, 20, pp.161–193.
- Davidson, E.A. & Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440, pp.165–173.
- Denton, M.D., Pearce, D.J. & Peoples, M.B., 2013. Nitrogen contributions from fababean (*Vicia faba* L.) reliant on soil rhizobia or inoculation. *Plant and Soil*, 365, pp.363–374.
- Desjardins, T., Andreux, F., Volkoff, B., Cerri, C. C., 1994. Organic carbon and ¹³C contents in soils and soil size-fractions, and their changes due to deforestation and pasture installation in eastern Amazonia. *Geoderma*, 61, pp.103–118.
- Díaz, J.E., Calegari, A. & Piñeiro, G., 2017. Integrando los cultivos de cobertura a los sistemas de producción. In 25 Congreso Aapresid “Kairós: El tiempo de los nativos sustentables.” Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Diez, S.N., Domínguez, G.F. & Studdert, G.A., 2012. Uso de una leguminosa como alternativa de provisión de nitrógeno para un cultivo de maíz (*Zea mays* L). In XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo: Latinoamérica unida protegiendo sus suelos. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina: Ciencia del Suelo, pp. 1–5.
- Ding, G., Liu, X., Herbert, S., Novak, J., Amarasiriwardena, D., Xing, B., 2006. Effect of cover crop management on soil organic matter. *Geoderma*, 130, pp.229–239.
- Divito, G., 2017. Cultivos de servicio para el sudeste bonaerense. *La Nación*.
- Divito, G.A. & Sadras, V.O., 2014. How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis. *Field Crops Research*, 156, pp.161–171.
- Dominati, E., Patterson, M. & Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics*, 69, pp.1858–1868.
- Doré, T. et al., 2011. Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: Revisiting methods, concepts and knowledge. *European Journal of Agronomy*, 34, pp.197–210.
- Duc, G., Agrama, H., Bao, S., Berger, J., Bourion, V., De Ron, A., Gowda, C.L., Mikic, A., Millot, D., Singh, K. B., Tullu, A., Vandenberg, A., Vaz Patto, M. C., Warkentin, T. D., Zong, X., 2014. Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, pp.381–411.
- Dughetti, A.C., Iurman, D., Marinissen, J., Galantini, J. A., Vanzolini, J. I., Renzi, J. P., Fernández, L., Vigna, M., Cantamutto, M. A., Kiehr, M., Baffoni, P., Gigón, R., López, R., Delhey, R., Nadal, S., Frayssinet, S., 2013. Vicias: Bases agronómicas para el manejo en la Región Pampeana

- Ehdaie, B., Merhaut, D. J., Ahmadian, S., Hoops, A. C., Khuong, T., Layne, A. P., Waines, J. G., 2010. Root System Size Influences Water-Nutrient Uptake and Nitrate Leaching Potential in Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196, pp.455–466.
- Enriquez, S. & Duarte, C.M., 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecología*, 94, pp.457–471.
- Fernandez, I., Mahieu, N. & Cadisch, G., 2003. Carbon isotopic fractionation during decomposition of plant materials of different quality. *Global biogeochemical cycles*, 17, pp.1–12.
- Fernandez, R., Quiroga, A., Noellemeyer, E., Funaro, D., Montoya, J., Hitzmann, B., Peinemann, N., 2008. A study of the effect of the interaction between site-specific conditions, residue cover and weed control on water storage during fallow. *Agricultural Water Management*, 95, pp.1028–1040.
- Finlay, K.W. & Wilkinson, G.N., 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Crop and Pasture Science*, 14, pp.742–754.
- Finney, D.M. & Kaye, J.P., 2017. Functional diversity in cover crop polycultures increases multifunctionality of an agricultural system. *Journal of Applied Ecology*, 54, pp.509–517.
- Foley, J.A., Defries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Chapin, F. S., Coe, M. T., Daily, G. C., Gibbs, H. K., Helkowski, J. H., Holloway, T., Howard, E. A., Kucharik, C. J., Monfreda, C., Patz, J. A., Prentice, I. C., Ramankutty, N., Snyder, P. K., 2005. Global Consequences of Land Use. *Science*, 570, pp.570–574.
- Foley, J.A., Costa, M. H., Delire, C., Ramankutty, N., Snyder, P., 2003. Green surprise? How terrestrial ecosystems could affect earth's climate. *The ecological society of America*, 1, pp.38–44.
- Fontaine, S., Mariotti, A. & Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*, 35, pp.837–843.
- Fornara, D.A. & Tilman, D., 2008. Plant functional composition influences rates of soil carbon and nitrogen accumulation. *Journal of Ecology*, 96, pp.314–322.
- Frasier, I., Riestra, D., Noellemeyer, E., Quiroga, A., 2012. Aporte de C y N de raíces de cultivos de cobertura. In XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo: Latinoamérica unida protegiendo sus suelos. *Ciencia del Suelo*.
- Frasier, I., Quiroga, A. & Noellemeyer, E., 2016. Effect of different cover crops on C and N cycling in sorghum NT systems. *Science of the Total Environment*, 562, pp.628–639.
- Gaba, S., Lescourret, F., Boudsocq, S., Enjalbert, J., Hinsinger, P., Journet, E., Navas, M. L., Wery, J., Louarn, G., Malézieux, E., Pelzer, E., Prudent, M., Ozier-Lafontaine, H., 2015. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services : from concepts to design. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, pp.607–623.

- García, F.O. & González Sanjuan, M., 2013. La nutrición de suelos y cultivos y el balance de nutrientes : ¿Cómo estamos? IAH, pp.2–7.
- Gastal, F. & Lemaire, G., 2002. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, 53, pp.789–799.
- Gathumbi, S.M., Cadisch, G. & Giller, K.E., 2002. ^{15}N natural abundance as a tool for assessing N_2 -fixation of herbaceous, shrub and tree legumes in improved fallows. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, pp.1059–1071.
- Grossman, J.D. & Rice, K.J., 2012. Evolution of root plasticity responses to variation in soil nutrient distribution and concentration. *Evolutionary Applications*, 5, pp.850–857.
- Guenet, B., Juarez, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Chenu, C., 2012. Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 52, pp.43–48.
- Hall, A.J., Rebella, C. M., Ghersa, C. M., Culot, J., 1992. Field-Crop systems of the Pampas. In Elsevier, ed. *Ecosystems of the World*. pp. 413–450.
- Hauggaard-Nielsen, H., Mundus, S. & Jensen, E.S., 2012. Grass-clover undersowing affects nitrogen dynamics in a grain legume-cereal arable cropping system. *Field Crops Research*, 136, pp.23–31.
- Herridge, D.F., Peoples, M.B. & Boddey, R.M., 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant and Soil*, 311, pp.1–18.
- Högberg, P., 1997. Tansley Review N°. 95 ^{15}N natural abundance in soil – plant systems. *New Phytology*, 137, pp.179–203.
- Huss-Danell, K. & Chaia, E., 2005. Use of different plant parts to study N_2 fixation with ^{15}N techniques in field-grown red clover (*Trifolium pratense*). *Physiologia Plantarum*, 125, pp.21–30.
- Isbell, F., Adler, P. R., Eisenhauer, N., Fornara, D., Kimmel, K., Kremen, C., Letourneau, D. K., Liebman, M., Polley, H. W., Quijas, S., Scherer-Lorenzen, M., 2017. Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. *Journal of Ecology*, 105, pp.871–879.
- Iturri, L.A., AVECILLA, F., Hevia, G.G. & Buschiazzo, D.E., 2016. Comparing Adjacent Cultivated And ‘virgin’ soils in Wind Erosion Affected Environments Can Lead to Errors in Measuring Soil Degradation. *Geoderma* 264: 42–53.
- Iwata, H., Niikura, S, Matsuura, S., Takano, Y., Ukai, Y., 2004. Genetic control of root shape at different growth stages in radish (*Raphanus sativus* L.). *Breeding science*, 54, pp.117–124.
- Iwata, H., Niikura, S. Matsuura, S., Takano, Y., Ukai, Y., 2004. Interaction between Genetic Effects and Soil Type in Diallel Analysis of Root Shape and Size of Japanese Radish (*Raphanus sativus* L.). *Breeding Science*, 54, pp.313–318.

- Jackson, W. & Jackson, L.L., 1999. Developing high seed yielding perennial polycultures as a mimic of mid-grass prairie. In E. C. Lefroy et al., eds. *Agriculture as a Mimic of Natural Ecosystems. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, vol. 37. Dordrecht (NLD): Kluwer Academic Publishing, pp. 1–38.
- Jackson, R.B., Lajtha, K., Crow, S. E., Hugelius, G., Kramer, M. G., Piñeiro, G., 2017. The Ecology of Soil Carbon: Pools, Vulnerabilities, and Biotic and Abiotic Controls. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 48, pp.419–445.
- Janssens, I.A., Dieleman, W., Luyssaert, S., Subke, J-A., Reichstein, M., Ceulemans, R., Ciais, P., Dolman, A. J., Grace, J., Matteucci, G., Papale, D., Piao, S. L., Schulze, E-D., Tang, J., Law, B.E., 2010. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature Geoscience*, 3, pp.315–322.
- Janzen, H.H., Campbell, C.A., Gregorich, E.G., Ellert, B.H., 1998. Soil carbon dynamics in Canadian agroecosystems. In Rattan Lal et al., eds. *Soil processes and the carbon cycle*. Boca Raton, Boston, New York, Washington, London: CRC Press, pp. 57–80.
- Jarrell, W.M. & Beverly, R.B., 1981. The Dilution Effect in Plant Nutrition Studies. *Advances in Agronomy*, 34, pp.197–224.
- Kabir, Z. & Koide, R.T., 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 78, pp.167–174.
- Kang, M.S., 1998. Using Genotype-by-Environment Interaction for Crop Cultivar Development. *Advances in Agronomy*, 62, pp.199–252.
- Kell, D.B., 2011. Breeding crop plants with deep roots: Their role in sustainable carbon, nutrient and water sequestration. *Annals of Botany*, 108(3), pp.407–418.
- Kell, D.B., 2012. Large-scale sequestration of atmospheric carbon via plant roots in natural and agricultural ecosystems: why and how. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367, pp.1589–1597.
- Kemper & R.Derpsch, 1980. Results of studies made in 1978 and 1979 to control erosion by cover crops and no-tillage techniques in Paraña, Brazil. *Soil & Tillage Research*, 1, pp.253–267.
- Kirkby, C.A., Richardson, A. E., Wade, L. J., Batten, G. D., Blanchard, C., Kirkegaard, J. A., 2013. Carbon-nutrient stoichiometry to increase soil carbon sequestration. *Soil Biology and Biochemistry*, 60, pp.77–86.
- Knorr, M., Frey, S.D. & Curtis, P.S., 2005. Nitrogen additions and litter decomposition: A meta analysis. *Ecology*, 86, pp.3252–3257.
- Kong, A.Y.Y. & Six, J., 2010. Tracing root vs. residue carbon into soils from conventional and alternative cropping systems. *Soil Science Society of America Journal*, 74, pp.1201–1210.
- Kong, X., Zhang, M., Smet, I. D., Ding, Z., 2014. Designer crops: Optimal root system architecture for nutrient acquisition. *Trends in Biotechnology*, 32, pp.597–598.

- Köpke, U. & Nemecek, T., 2010. Ecological services of faba bean. *Field Crops Research*, 115, pp.217–233.
- Kramer, A.W., Doane, T. A., Horwath, W. R., Kessel, C. V., 2002. Combining fertilizer and organic inputs to synchronize N supply in alternative cropping systems in California. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 91, pp.233–243.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K. & Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, pp.1485–1498.
- Kuzyakov, Y., Ehrensberger, H. & Stahr, K., 2001. Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, pp.61–74.
- Ladoni, M., Basir, A., Robertson, P. G., Kravchenko, A. N., 2016. Scaling-up: cover crops differentially influence soil carbon in agricultural fields with diverse topography. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 225, pp.93–103.
- Lal, R., 1997. Residue management, conservation tillage and soil restoration for mitigating greenhouse effect by CO₂-enrichment. *Soil and Tillage Research*, 43, pp.81–107.
- Lal, R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123(1–2), pp.1–22.
- Liu, A., Ma, B.L. & Bomke, A.A., 2005. Effects of Cover Crops on Soil Aggregate Stability, Total Organic Carbon, and Polysaccharides. *Soil Science Society of America Journal*, 69(6), p.2041.
- Liu, J., Khalaf, R., Ulén, B., Bergkvist, G., 2013. Potential phosphorus release from catch crop shoots and roots after freezing-thawing. *Plant and Soil*, 371, pp.543–557.
- Liu, J., Bergkvist, G. & Ulén, B., 2015. Biomass production and phosphorus retention by catch crops on clayey soils in southern and central Sweden. *Field Crops Research*, 171, pp.130–137.
- Loi, A., Franca, A., Nutt, B. J., Yates, R. J., D'Antuono, M. F., Howieson, J. G., 2015. Important ecological traits for selecting *Biserrula pelecinus* L. (*biserrula*) genotypes for their potential introduction into agricultural systems. *Grass and Forage Science*, 70, pp.519–529.
- Lynch, J.P., 2013. Steep, cheap and deep: An ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Annals of Botany*, 112, pp.347–57.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., De Tourdonnet, S., Valantin-Morison, M., 2009. Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy Journal*, 29, pp.43–62.
- Manzoni, S., Piñeiro, G., Jackson, R. B., Jobbágy, E. G., Kim, J. H., Porporato, A., 2012. Soil Biology & Biochemistry Analytical models of soil and litter decomposition: Solutions

- for mass loss and time-dependent decay rates. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, pp.66–76.
- Manzoni, S., Trofymow, J. A., Jackson, R. B., Porporato, A., 2010. Stoichiometric controls on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in decomposing litter. *Ecological Monographs*, 80, pp.89–106.
- Mathew, I., Shimelis, H., Mutema, M., Chaplot, V., 2017. What crop type for atmospheric carbon sequestration: Results from a global data analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 243, pp.34–46.
- Mazzilli, S., Piñeiro, G. & García-Accinelli, G., 2010. Estimación de la biomasa de raíces de cultivos anuales sembrados en hileras a partir de la consideración de su distribución espacial y diámetro de la muestra. In *Workshop: Soil properties dynamics under different land uses*. SUCS- ISTRO. Colonia, Uruguay.
- Mazzilli, S.R., Kemanian, A. R., Ernst, O. R., Jackson, R. B., Piñeiro, G., 2014. Priming of soil organic carbon decomposition induced by corn compared to soybean crops. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, pp.273–281.
- Mazzilli, S.R., 2015. Dinámica del carbono en sistemas agrícolas bajo siembra directa: nuevas evidencias obtenidas mediante el uso de ^{13}C sobre la importancia de las raíces, la calidad de los residuos y el laboreo. Escuela para graduados “Alberto Soriano” Universidad de Buenos Aires.
- Mazzilli, S.R., Kemanian, A. R., Ernst, O. R., Jackson, R. B., Piñeiro, G., 2015. Greater humification of belowground than aboveground biomass carbon into particulate soil organic matter in no-till corn and soybean crops. *Soil Biology and Biochemistry*, 85, pp.22–30.
- McCauley, A.M., Jones, C. A., Miller, P. R., Burgess, M. H., Zabinski, C. A., 2012. Nitrogen fixation by pea and lentil green manures in a semi-arid agroecoregion: Effect of planting and termination timing. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 92, pp.305–314.
- McConnaughay, K.D.M. & Coleman, J.S., 1999. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology*, 80, pp.2581–2593.
- Melillo, J.M., Aber, J.D. & Muratore, J.F., 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology*, 63, pp.621–626.
- Mitchell, W.H. & Tell, M.R., 1976. Winter-Annual Cover Crops for No-Tillage Corn Production. *American Society of Agronomy*, 69, pp.569–573.
- Miyazawa, K. et al., 2010. Intercropping green manure crops—effects on rooting patterns. *Plant and Soil*, 331, pp.231–239.
- Moghaddam, A., Raza, A., Vollmann, J., Ardakani, M. R., Wanek, W., Gollner, G., Friedel, J. K., 2015. Biological nitrogen fixation and biomass production stability in alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes under organic management conditions. *Biological Agriculture & Horticulture*, 3, pp.177–192.

- Monzon, J.P., Sadras, V.O., Abbate, P. A., Caviglia, O.P., 2007. Modelling management strategies for wheat–soybean double crops in the south-eastern Pampas. *Field Crops Research*, 101, pp.44–52.
- Nebiyu, A., Huygens, D., Upadhyay, H. R., Diels, J., Boeckx, P., 2013. Importance of correct B value determination to quantify biological N₂ fixation and N balances of faba beans (*Vicia faba* L.) via ¹⁵N natural abundance. *Biology and Fertility of Soils*, 50, pp.517–525.
- Nielsen, K., Bouma, T., Lynch, J., Eissenstat, D., 1998. Effects of phosphorus availability and vesicular – arbuscular mycorrhizas on the carbon budget of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *New Phytologist*, pp.647–656.
- Nosetto, M.D., Jobbágy, E.G., Brizuela, A.B., Jackson, R.B., 2012. The hydrologic consequences of land cover change in central Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 154, pp.2–11.
- Obi, M.E., 1999. The physical and chemical responses of a degraded sandy clay loam soil to cover crops in southern Nigeria. *Plant and Soil*, 211, pp.165–172.
- Oderiz, J.A., Uhaldegaray, M. G., Frasier, I., Quiroga, A. R., Amiotti, N., Zalba, P., 2017. Raíces de cultivos de cobertura. Cantidad, distribución e influencia sobre el N mineral. *Ciencia del Suelo*, 35, pp.249–258.
- Oliver, Y.M., Robertson, M.J. & Weeks, C., 2010. A new look at an old practice: Benefits from soil water accumulation in long fallows under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management*, 98(2), pp.291–300.
- Olson, K.R., Ebelhar, S. A. & Lang, J.M., 2010. Cover Crop Effects on Crop Yields and Soil Organic Carbon Content. *Soil Science*, 175, pp.89–98.
- Parker, M.B. & Harris, H.B., 1977. Yield and Leaf Nitrogen of Nodulating and Nonnodulating Soybeans as Affected by Nitrogen and Molybdenum¹. 69, pp.551–554.
- Paruelo, J.M. & Guerschman, J.P., 2005. Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia Hoy*, 15, pp.14–23.
- Petersen, B. & Snapp, S., 2015. What is sustainable intensification? Views from experts. *Land Use Policy*, 46, pp.1–10.
- Pinto, P., Fernández-Long, M.E. & Piñeiro, G., 2017. Including Cover Crops during fallow periods for increasing ecosystem services: is it possible in croplands of Southern South America? *Agriculture Ecosystems and Environment*, 248, pp.48–57.
- Piñeiro, G., Pinto, P., Arana, S., Sawchik, J., Díaz, J. E., Gutiérrez, F., Zarza, R., 2014. Cultivos de servicio: integrando la ecología con la producción agrícola. In XXVI Reunión Argentina de Ecología. Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.
- Piñeiro, G., Mazzilli, S., Ecclesia, P., Jobbágy, E. G., Rizzoto, M.G., Jackson, R. B., 2012. Estimating carbon fluxes simultaneously in two soil fractions using ¹³C changes after vegetation replacements. In 8th International Conference on Applications of Stable Isotopes Techniques to Ecological Studies (ISOECOL). Brest.

- Piñeiro, M. & Villarreal, F., 1999. Modernización agrícola y nuevos actores sociales. *Ciencia hoy*, pp.32–36.
- Plante, A.F., Conant, R. T., Stewart, C. E., Paustian, K., Six, J., 2006. Impact of Soil Texture on the Distribution of Soil Organic Matter in Physical and Chemical Fractions. *Soil Science Society of America Journal*, 70, p.287.
- Plaza-Bonilla, D., Nolot, J. M., Raffaillac, D., Justes, E., 2015. Cover crops mitigate nitrate leaching in cropping systems including grain legumes: Field evidence and model simulations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 212, pp.1–12.
- Plaza-Bonilla, D., Nolot, J., Passot, S., Raffaillac, D., Justes, E., 2016. Grain legume-based rotations managed under conventional tillage need cover crops to mitigate soil organic matter losses. *Soil and Tillage Research*, 156, pp.33–43.
- Poepflau, C. & Don, A., 2015. Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops – A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 200, pp.33–41.
- Power, A.G., 2010. Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical transactions of the Royal Society B*, 365, pp.2959–2971.
- Purcell, L.C., Serraj, R., Sinclair, T. R., De, A., 2004. Soybean N₂ fixation estimates, ureide concentration, and yield responses to drought. *Crop Science*, 44, pp.484–492.
- Quinton, J.N., Edwards, G.M. & Morgan, R.P.C., 1997. Soil erosion and redistribution on cultivated and uncultivated land near las bardenas in the central Ebro river Basin, Spain. *Soil Use and Management*, 13, pp.143–148.
- Quiroga, A., Funaro, D. O., Fernandez, R., Noellemeyer, E., 2005. Factores edáficos y de manejo que condicionan la eficiencia del barbecho en la región pampeana. *Ciencia del suelo*, 23, pp.79–86.
- Ramamoorthy, P., Krishnamurthy, L., Upadhyaya, H. D., Vadez, V., Varshney, R., K., 2017. Root traits confer grain yield advantages under terminal drought in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 201, pp.146–161.
- Rasse, D.P., Rumpel, C. & Dignac, M.-F., 2005. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant and Soil*, 269(1–2), pp.341–356.
- Reeves, D.W., 1997. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil Till. Res.*, 43, pp.131–167.
- Restovich, S.B., Andriulo, A.E. & Portela, S.I., 2012. Introduction of cover crops in a maize–soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics. *Field Crops Research*, 128, pp.62–70.
- Reynolds, H.L. & D’Antonio, C., 1996. The ecological significance of plasticity in root weight ratio in response to nitrogen: Opinion. *Plant and Soil*, 185, pp.75–97.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., Robledo, C. W., 2003. Infostat statistical software. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Rillo, S., Álvarez, C., Bagnato, R., Noellemeyer, E., 2012. Efecto de vicia como cultivo de cobertura sobre la disponibilidad de nitrógeno en maíz. In XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo: Latinoamérica unida protegiendo sus suelos. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, pp. 1–5.
- Rinaudo, D., Baigorria, T., Cazorla, C.R., Bocolini, M.F., 2012. Efecto de *Vicia villosa* (Roth) en el desarrollo y rendimiento de Maíz. In XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo: Latinoamérica unida protegiendo sus suelos. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina: Ciencia del Suelo.
- Robertson, G.P., 1997. Nitrogen Use Efficiency in Row-Crop Agriculture : Crop Nitrogen Use and Soil Nitrogen Loss, Woodhead Publishing Limited.
- Robinson, D., 2001. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, pp.153–162.
- Robinson, D.A., Hockley, N., Dominati, E., Lebron, I., Scow, K.M., Reynolds, B., Emmett, B., Keith, A.M., de Jonge, L.W., Schjonning, P., Moldrup, P., Jones, S.B., Tuller, M., Schjonning, P., Moldrup, P., Jones, S.B., Tuller, M. et al., 2012. Natural Capital, Ecosystem Services, and Soil Change: Why Soil Science Must Embrace an Ecosystems Approach. *Vadose Zone Journal*, 11, pp.4–11.
- Rosecrance, R.C., Mccarty, G. W., Shelton, D. R., Teasdale, J. R., 2000. Denitrification and N mineralization from hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) and rye (*Secale cereale* L.) cover crop monocultures and bicultures. *Plant and Soil*, 227, pp.283–290.
- Rubio, G., Zhu, J. & Lynch, J.P., 2003. A critical test of the prevailing theories of plant response to nutrient availability. *American Journal of Botany*, 90, pp.143–152.
- Rubio, G., 2011. Los sistemas de producción actuales en la Región Pampeana. Una visión científica. Simposio Fertilizar 2011. IPNI Fertilizar., pp.143–149.
- Rubio, G., Gutierrez Boem, F.H. & Fernández, M.C., 2013. Severe Phosphorus Stress Affects Sunflower and Maize but Not Soybean Root to Shoot Allometry. *Agronomy Journal*, 105(5), p.1283.
- Sainju, U.M., Whitehead, W.F. & Singh, B.P., 2005. Biculture legume–cereal cover crops for enhanced biomass yield and carbon and nitrogen. *Agronomy Journal*, 97, p.1403.
- Salviaggiotti, F. et al., 2009. Growth and nitrogen fixation in high-yielding soybean: Impact of nitrogen fertilization. *Agronomy Journal*, 101(4), pp.958–970.
- Sasal, M. & Andriulo, A.E., 2005. Cambios en la porosidad edáfica bajo siembra directa por la introducción de *Raphanus sativus* L. (Nabo forrajero). *Revista de investigaciones agropecuarias*, 34, pp.131–150.
- Sawchik, J., Pérez-bidegain, M. & García, C., 2012. Impact of Winter Cover Crops on Soil Properties Under Soybean Cropping Systems. *Agrociencia Uruguay*, 16, pp.288–293.
- Saxton, K. & Rawls, W., 2006. Soil Water Characteristic Estimates by Texture and Organic Matter for Hydrologic Solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 70, pp.1569–1578.

- Schimel, J.P. & Hättenschwiler, S., 2007. Nitrogen transfer between decomposing leaves of different N status. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, pp.1428–1436.
- Schipanski, M.E. & Drinkwater, L.E., 2011. Nitrogen fixation of red clover interseeded with winter cereals across a management-induced fertility gradient. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 90, pp.105–119.
- Schipanski, M.E., Barbercheck, M., Douglas, M. R., Finney, D. M., Haider, K., Kaye, J. P., Kemanian, A. R., Mortensen, D. A., Ryan, M. R., Tooker, J., White, C., 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, 125, pp.12–22.
- Schmidt, M.W.I., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. A. C., Nannipieri, P., Rasse, D. P., Weiner, S., Trumbore, S. E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, pp.49–56.
- Siebert, S., Portmann, F.T. & Döll, P., 2010. Global patterns of cropland use intensity. *Remote Sensing*, 2(7), pp.1625–1643.
- Six, J., Conant, R. T., Paul, E. A., Paustian, K., 2002. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturatin of soils. *Plant and Soil*, 241, pp.155–176.
- Soares Novo, M. do C. de S., Tanaka, R. T., Mascarenhas, H. A. A., Bortoletto, N., Gallo, P. B., Novo, J. C. V., Pereira, A., Vargas, A., Teixeira, A., 1999. Nitrogênio e potássio na fixação simbiótica de N₂ por soja cultivada no inverno. *Scientia Agricola*, 56(1), pp.143–156.
- Soriano, A., León, R. J. C., Sala, O. E., Lavado, R. S., Deregibus, V. A., Cauhépe, M. A., Scaglia, O. A., Velázquez, C. A., Lemcoff, J. H., 1991. Río de la Plata Grasslands. In Elsevier, ed. *Ecosystems of the World*. Amsterdam, pp. 367–407.
- Stevenson, F.J., 1994. *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions.*, New York: John Wiley.
- Stewart, C.E., Paustian, K., Conant, R. T., Plante, A. F., Six, J., 2009. Soil carbon saturation: Implications for measurable carbon pool dynamics in long-term incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, pp.357–366.
- Streeter, J., 1988. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 7, pp.1–23.
- Taylor, B.R., Parkinson, D. & Parsons, W.F. J., 1989. Nitrogen and Lignin Content as Predictors of Litter Decay Rates: A Microcosm Test. *Ecological Society of America*, 70(1), pp.97–104.
- Thorup-Kristensen, K., 1994. The effect of nitrogen catch crop species on the nitrogen nutrition of succeeding crops. *Fertilizer research*, 37, pp.227–234.
- Thorup-Kristensen, K., Dresbøll, D.B. & Kristensen, H.L., 2012. Crop yield, root growth, and nutrient dynamics in a conventional and three organic cropping systems with different

- levels of external inputs and N re-cycling through fertility building crops. *European Journal of Agronomy*, 37, pp.66–82.
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, pp.671–7.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M., 2014. Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45, pp.471–493.
- Tittonell, P., 2014. Ecological intensification of agriculture-sustainable by nature. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 8, pp.53–61.
- Tonitto, C., David, M.B. & Drinkwater, L.E., 2006. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: A meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112, pp.58–72.
- Unkovich, M.J., Pate, J. S., Sanford, P., Armstrong, E. L., 1994. Potential precision of the $\delta^{15}\text{N}$ natural abundance method in field estimates of nitrogen fixation by crop and pasture legumes in south-west Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45, pp.119–132.
- Unkovich, M.J. & Pate, J.S., 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N_2 fixation by annual legumes. *Field Crops Research*, 65, pp.211–228.
- Unkovich, M.J., Baldock, J. & Peoples, M.B., 2010. Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N_2 fixation by crop and pasture legumes. *Plant and Soil*, 329(1), pp.75–89.
- Valladares, F., Wright, S. J., Lasso, E., Kitajima, K., Pearcy, R. W., 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest. *Ecology*, 81, pp.1925–1936.
- Vanzolini, J.I. & Galantini, J.A., 2013. Cultivos de Cobertura. In J. P. Renzi & M. Á. Cantamutto, eds. *Vicias: Bases agronómicas para el manejo en la Región Pampeana*. pp. 233–246.
- Varela, M.F. et al., 2014. Cover crop effects on soybean residue decomposition and P release in no-tillage systems of Argentina. *Soil and Tillage Research*, 143, pp.59–66.
- Venkateswarlu, B., Srinivasarao, C., Ramesh, G., Venkateswarlu, S., Katyal, J. C., 2007. Effects of long-term legume cover crop incorporation on soil organic carbon, microbial biomass, nutrient build-up and grain yields of sorghum/sunflower under rain-fed conditions. *Soil Use and Management*, 23, pp.100–107.
- Vila-Aiub, M., Vidal, R. A., Balbi, M. C., Gundel, P., Trucco, F., Ghersa, C. M., 2008. Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: An overview. *Pest Management Science*, 64, pp.366–371.
- Vila-Aiub, M.M., Neve, P. & Powles, S.B., 2005. Fitness Costs of Evolved Herbicide Resistance. *Encyclopedia of Pest Management*.

- Villamil, M.B., Bollero, G. A., Darmody, R. G., Simmons, F. W., Bullock, D. G., 2006. No-Till Corn/Soybean Systems Including Winter Cover Crops. *Soil Science Society of America Journal*, 70, p.1936.
- Vos, J. & van der Putten, P.E.L., 1997. Field observations on nitrogen catch crops. I. Potential and actual growth and nitrogen accumulation in relation to sowing date and crop species. *Plant and Soil*, 195, pp.299–309.
- Vrignon-Brenas, S., Celette, F., Piquet-Pissaloux, A., Jeuffroy, M. H., David, C., 2016. Early assessment of ecological services provided by forage legumes in relay intercropping. *European Journal of Agronomy*, 75, pp.89–98.
- Wagner-Riddle, C. & Thurtell, G.W., 1998. Nitrous oxide emissions from agricultural fields during winter and spring thaw as affected by management practices. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 52, pp.151–163.
- Weil, R., White, C. & Lawley, Y., 2009. Forage radish: A new multi-purpose cover crop for the Mid-Atlantic. *Fact Sheet*, 824, pp.1–8.
- Williams, S.M. & Weil, R.R., 2004. Crop cover root channels may alleviate soil compaction effects on soybean crop. *Soil Science Society of America Journal*, 68, p.1403.
- Wilson, J.B., 1988. Shoot Competition and Root Competition. *Journal of Applied Ecology*, 25, pp.279–296.