

**Los cultivos de cobertura y la fertilización nitrogenada como reguladores de los ciclos de C y N en rotaciones agrícolas: evaluación experimental y modelización a mediano y largo plazo**

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

**Silvina Beatriz Restovich**  
Ingeniera agrónoma - UNRC - 2002

Lugar de trabajo: INTA Pergamino



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



## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**Adrián E. Andriulo**

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Rosario)

MSc (Universidad Nacional del Sur)

Doctor (Institut National Agronomique Paris-Grignon)

Co-director

**Cecilia Armas-Herrera**

Lic. en Biología (Universidad de La Laguna, España)

MSc (Universidad de La Laguna, España)

Doctora (Universidad de La Laguna, España)

Consejero de Estudios

**Gervasio Piñeiro**

Ing. Agr. (Universidad de la República, Uruguay)

Doctor (Universidad de Buenos Aires)

## JURADO DE TESIS

JURADO

**Helena Rimnky Korsakov**

Ing. Agr. (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Cs. Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

**Fernando Salvagiotti**

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Córdoba)

Mag. en Producción Vegetal (Universidad de Buenos Aires)

Doctor (Universidad de Nebraska-Lincoln)

JURADO

**Gonzalo Berhongaray**

Ing. Agr. (Universidad Nacional de la Pampa)

Mag. en Cs. del Suelo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor (Universidad de Amberes)

Fecha de defensa de la tesis: 6 de julio de 2021

## AGRADECIMIENTOS

Finalicé una etapa colmada de enseñanzas y aprendizajes, que no podría haber concluido sin aquellas personas que, directa o indirectamente, estuvieron a mi lado día tras día. ¡Muchas gracias a todos!

En primer lugar, quiero agradecer muy afectuosamente a Adrián, mi director, por haberme transmitido su gran experiencia y conocimiento. Por guiarme, por acompañarme, por dedicarme tanto tiempo y por depositar confianza en mí. Por el intercambio sobre temas científicos (y no científicos) que fueron construyendo nuevos conocimientos y nuevas ideas; por su gran amabilidad y generosidad y también por su gran ayuda para que pueda viajar a Francia para aprender sobre el modelo de simulación STICS. ¡Muchas gracias por todo Adrián! También quiero agradecer a Cecilia, quien aceptó rápidamente ser mi co-directora. Con ella, entré al mundo de los modelos de simulación. Muchas gracias por acompañarme, por enseñarme, por el tiempo dedicado, la buena voluntad, por la fuerza para seguir y por la amistad! Además, quiero agradecer enormemente a Gervasio, mi consejero de estudio, por sus sugerencias y aportes y especialmente por dedicar su tiempo en la corrección de la tesis.

Los integrantes del Grupo de Gestión Ambiental de INTA Pergamino fueron clave en el desarrollo de mi tesis, sin la ayuda de todos ellos nada podría haber realizado. Gracias infinitas para Sil Portela. Por sus valiosos aportes, por su tiempo, por su bondad, por su empuje, por sus palabras de aliento y por su ayuda constante. Millones de gracias Sil!...Para llevar adelante los muestreos en el campo conté con la colaboración de Diego y Fabio, la mejor ayuda del mundo me atrevo a decir! Gracias chicos! Por tantos días al aire libre compartidos, por las tomas de muestras, el manejo de los ensayos, por la buena predisposición... y por las charlas, que hacían los días muy divertidos! Por distintas dudas o consultas (técnicas o administrativas) que fueron surgiendo, al comienzo o hacia el final de mi tesis, siempre estaban ellos dispuestos a ayudarme: Muchas Gracias Alicia, Luis, Fernando, Ana Paula y Ana Clara! Después de la recolección de las muestras de campo, llegaba el turno de que ingresen al laboratorio, y ahí las esperaban firmes Leticia, Jimena, Leandro y Lila para hacer las determinaciones poniéndole mucha onda, responsabilidad y buena predisposición! Muchas pero muchas gracias a todos!

Tengo que destacar la inmensa colaboración y gran disponibilidad de Bruno Mary, Nicolás Beaudoin y Fabien Ferchaud de Laon Agro Impact Research Unit (INRA-Laon-Mons, Francia) para enseñarme sobre el modelo de simulación suelo-cultivo STICS y poderlo aplicar en mi tesis de doctorado. Gracias por todos sus aportes, siempre precisos e interesantes, y por la buena predisposición para ayudarme. Acá me detengo para destacar la ayuda de Fabien, siempre respondió a todas mis consultas y mis dudas (que fueron muchísimas y a veces varias en un día!!) y ayudarme con tanto entusiasmo con el funcionamiento del modelo. *Merci beaucoup de tout!*

Quiero agradecer al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por su aporte económico para el desarrollo de los objetivos de esta tesis a partir de diferentes proyectos de investigación. Además, a tantas personas que me ayudaron directa e indirectamente con sus palabras, sus aportes y su buena onda, desde el inicio o hacia el final de mi tesis: Pablo García Parisi, Horacio Acciaresi, María José Beribe, Abel Farroni, Marina Omacini, Gabriela Posse, Sebastian Vangelli, Patricia Araujo, María Cerón, entre otros. También a mi querida profesora de francés, Mónica, *et mes copines*, Susana, Julia y Lucila, por acompañarme siempre, por festejar mis logros y por contagiarme la pasión por el arte y la literatura! Personas geniales si las hay!!

A mis amigas (desde hace tantos años y las que se fueron sumando con el tiempo): Nati, Paula, Sole, Sonia, Marina, Luciana, Nadia, Mariela, Mari, Rosita, Sabi, la Colo, Mariel, Vane, Luciana, Marce, Pato, Lu, Sil, Cris, Dani...gracias por tantos lindos momentos, por las palabras de aliento y por alegrarse, como si fuera algo propio, por finalizar etapas en mi trabajo.

Quiero agradecer infinitamente el apoyo incondicional y con tanto amor de mi querida familia, especialmente a mi abuela, mi mamá y mi hermano. Sus palabras y compañía siempre me dieron fuerza y aliento para seguir desde que comencé con el estudio. Nada podría haber hecho sin ustedes. Siempre a mi lado.

A Roberto por su amor, por acompañarme y por su infinita paciencia. Nada de lo que se me ocurre hacer lo podría llevar adelante sin su apoyo incondicional (muchas gracias amor!)... A Nicolás e Ignacio, mis niños! gracias chicos por su alegría, por su empuje, por su tiempo cedido, por entender, por llenar de felicidad mi vida... son realmente maravillosos e increíbles! (ya saben lo que siempre les dice mamá...). A Lalo y a Milo por su alegría y por ser los mejores perritos del mundo, y a Dios por estar presente en todo...

## PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

1. Restovich SB, Andriulo AE, Armas-Herrera CM, Beribe MJ, Portela SI (2019) Combining cover crops and low nitrogen fertilization improves soil supporting functions *Plant and Soil* [442 401-417 10.1007/s11104-019-04205-8](https://doi.org/10.1007/s11104-019-04205-8)

## INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS .....	iii
PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS .....	v
INDICE GENERAL .....	vi
INDICE DE CUADROS .....	vii
INDICE DE FIGURAS .....	viii
ABREVIATURAS.....	xi
Resumen .....	xii
Abstract .....	xiv
1. CAPÍTULO 1: Introducción general.....	1
1.2 Objetivos e Hipótesis.....	11
2. CAPÍTULO 2: Combinación de cultivos de cobertura y bajas dosis de fertilizantes nitrogenados: efecto sobre las funciones de soporte del suelo .....	14
2.1 Introducción.....	15
2.2 Materiales y Métodos .....	17
2.3 Resultados .....	25
2.4 Discusión.....	38
2.5 Conclusiones .....	46
3. CAPÍTULO 3: Efecto del uso de mezclas de cultivos de cobertura sobre diferentes propiedades edáficas y productivas en secuencias agrícolas simplificadas .....	47
3.1 Introducción .....	48
3.2 Materiales y métodos.....	50
3.3 Resultados .....	56
3.4 Discusión.....	67
3.5 Conclusiones .....	77
4. CAPÍTULO 4: Construcción de escenarios agronómicos ambientalmente sustentables con cultivos de cobertura y dosis variables de fertilización con N utilizando el modelo STICS.....	79
4.1 Introducción .....	80
4.2 Materiales y métodos.....	82
4.3 Resultados .....	92
4.4 Discusión.....	111
4.5 Conclusiones .....	120
5. CAPÍTULO 5: Discusión general y conclusiones .....	122
6. BIBLIOGRAFÍA .....	135
7. ANEXOS .....	161

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 2.1.</b> Calendario del manejo de cultivos y precipitaciones del ensayo de Cultivos de Cobertura de INTA Pergamino .....	20
<b>Cuadro 2.2.</b> Estabilidad de agregados del suelo (%) al comienzo del experimento y luego de 6 años de rotación soja-maíz con y sin CC a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre CC y profundidad. ....	27
<b>Cuadro 2.3.</b> Valores promedio de COS, NOS, COP y CAM ( $\text{g kg}^{-1}$ ) después de 6 años de rotación soja-maíz con y sin (control) cultivos de cobertura a 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de profundidad.....	31
<b>Cuadro 2.4.</b> Componentes del balance de N ( $\text{kg N ha}^{-1}$ ) y cambios en el almacenaje de NOS ( $\text{kg N ha}^{-1}$ ) después de 6 años de rotación soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y en ausencia o presencia de fertilización con N. ....	37
<b>Cuadro 3.1.</b> Calendario de manejo de cultivos y precipitaciones del ensayo de mezclas de cultivos de cobertura de INTA Pergamino.....	53
<b>Cuadro 3.2.</b> Concentración de fracciones orgánicas del suelo, estabilidad de agregados y distribución de poros luego de cinco años de rotación (soja-maíz y soja-soja) con y sin (control) cultivos de cobertura a 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de espesor de suelo. ....	58
<b>Cuadro 3.3.</b> Producción de biomasa aérea, cantidad y concentración de N y relación C/N de dos mezclas de cultivos de cobertura al momento del secado y lluvia acumulada durante cada estación de crecimiento de los cultivo de cobertura en el período de estudio. ....	61
<b>Cuadro 4.1.</b> Parámetros de entrada utilizados en el modelo STICS.....	85
<b>Cuadro 4.2.</b> Evaluación estadística del modelo STICS para las reservas orgánicas y las variables de planta. ....	95
<b>Cuadro 4.3.</b> Evaluación estadística del modelo STICS para el contenido de agua y $\text{N-NO}_3$ del suelo .....	99
<b>Cuadro 4.4.</b> Evaluación estadística del modelo STICS para drenaje y lixiviación de nitrógeno.....	102
<b>Cuadro 4.5.</b> Aporte anual (promedio de 30 años) de C y N de la biomasa total (biomasa aérea + biomasa de raíces) de las secuencia soja-maíz con y sin CC para los diferentes escenarios de manejo. F: fertilización con N al maíz; NF: sin fertilización con N al maíz.....	105
<b>Cuadro 4.6.</b> Mineralización anual (promedio de 30 años) de C y N a partir del humus del suelo y de la biomasa aérea de los residuos aportados bajo los diferentes escenarios de manejo. F: fertilización con N al maíz; NF: sin fertilización con N al maíz. ....	107

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Ensayo de Cultivos de Cobertura de la EEA Pergamino .....	18
<b>Figura 2.2.</b> Porcentaje de macroporos entre 60-300 $\mu\text{m}$ a 0-5 y 5-10 cm de profundidad después de 6 años de la rotación soja-maíz con y sin CC. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos con CC y el control sin CC. A+V: avena+vicia. ....	26
<b>Figura 2.3.</b> Relación entre la concentración de glomalinas en el suelo y la estabilidad de agregados a 0-5 cm de profundidad en: a) tratamientos fertilizados ( $r=0,14$ ; $p < 0,74$ ), b) tratamientos no fertilizados ( $r=0,84$ ; $p < 0,01$ ).....	28
<b>Figura 2.4.</b> Relación entre el COP y la producción de biomasa aérea de los cultivos de cobertura a 0-5 cm de profundidad ( $r=0,72$ ; $p < 0,01$ ). En Anexo 2 se presenta la producción de biomasa aérea de los CC.....	32
<b>Figura 2.5.</b> Cambios en las reservas de (a) COS y (b) NOS a 2200 Mg suelo $\text{ha}^{-1}$ después de 6 años de soja-maíz con y sin CC y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente). Uno y dos asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ y $p < 0,10$ , respectivamente) comparando el inicio con el final del experimento: reservas de COS y NOS inicial fueron de 34,9 y 3,38 Mg $\text{ha}^{-1}$ , respectivamente. A+V: avena+vicia.....	33
<b>Figura 2.6.</b> Relación entre los ingresos de C de la biomasa aérea producida por los cultivos de soja y maíz para cada tratamiento (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo $\text{ha}^{-1}$ (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $R^2=0,01$ ; $p < 0,65$ ). ....	34
<b>Figura 2.7.</b> Relación entre los ingresos de C de la biomasa aérea producida por los CC (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo $\text{ha}^{-1}$ (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $y=0,24x$ ; $R^2=0,40$ ; $p < 0,01$ ). La biomasa aérea producida por los CC está disponible en Anexo 2.....	35
<b>Figura 2.8.</b> Relación entre los ingresos de N de la biomasa aérea producida por los CC (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo $\text{ha}^{-1}$ (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $R^2=0,25$ ; $p < 0,03$ ). La biomasa aérea producida por los CC está disponible en Anexo 2.....	35
<b>Figura 2.9.</b> Cambios en el almacenaje de N (barras) entre la situación inicial y luego de 6 años de rotación y su relación con el balance de N (líneas negras) y el rendimiento en grano (línea gris) para la rotación soja-maíz con y sin CC y con (a) y sin (b) fertilización con N al maíz. Los compartimentos de almacenaje de N son: N- $\text{NO}_3$ en suelo a 0-20 y 20-100 cm de profundidad, reservas de NOS a 2200 Mg suelo $\text{ha}^{-1}$ , y el contenido de N en la biomasa de	



los CC. Los rendimientos de soja y maíz se presentan en Anexo 4. La flecha indica que el almacenaje de N cambió de compartimientos inorgánicos más lábiles a formas orgánicas más estables (NOS y biomasa de CC) después de la introducción de CC. ....	45
<b>Figura 3.1.</b> Ensayo de mezclas de cultivos de cobertura en la secuencia soja-soja y soja-maíz de la EEA Pergamino .....	52
<b>Figura 3.2.</b> Cambios en las reservas de COS (símbolos) y NOS (barras) en 2300 Mg suelo ha <sup>-1</sup> luego de 5 años de agricultura en ausencia (control) y presencia de mezclas de cultivos de cobertura (CC1 y CC2). Los asteriscos indican diferencias significativas (p<0,01) comparado con el inicio del experimento para NOS en soja-soja. CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+nabo forrajero+vicia. ....	59
<b>Figura 3.3.</b> Rendimiento de cultivos (barras) para la rotación soja-maíz (a) y soja-soja (b), y precipitaciones (símbolos) durante cada estación de crecimiento de los cultivos de cosecha. Los rendimientos están expresados al 14,5% y 13,5% de humedad, para maíz y soja, respectivamente. CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+nabo forrajero+vicia; control sin CC. El año representa el momento de cosecha de los cultivos de soja y maíz.....	63
<b>Figura 3.4.</b> Análisis integral de servicios ecosistémicos en las secuencias soja-maíz y soja-soja con mezclas de CC. Valores normalizados para 12-13 variables de suelo y de producción a través de 5 años de rotación de cultivos de cosecha con y sin mezcla de cultivos de cobertura: a) rotación soja-maíz, b) soja-soja. CC1: avena + nabo forrajero; CC2: avena+ nabo forrajero + vicia. (*) Diferencias significativas, (**) diferencias significativas encontradas algunos años.....	66
<b>Figura 4.1.</b> Módulos principales del modelo de simulación suelo-cultivo STICS_.....	84
<b>Figura 4.2.</b> Compartimientos de C y N del suelo y flujos entrantes y salientes de C y N en el modelo STICS. Las flechas rojas representan los flujos C, las flechas azules los flujos de N y las flechas negras los flujos de materia orgánica (C+N) (Adaptado de Autret et al. 2020). ....	87
<b>Figura 4.3.</b> Evolución del stock de COS (en 2200 Mg ha <sup>-1</sup> suelo) simulado para tratamientos fertilizados (F) (línea sólida) y no fertilizados (NF) (línea punteada) y los valores observados (puntos).....	94
<b>Figura 4.4.</b> Dinámica del contenido de agua simulada (línea negra) y observada (triángulos celestes) para cada uno de los tratamientos evaluados.....	97
<b>Figura 4.5.</b> Dinámica del contenido de N-NO <sub>3</sub> simulado (línea negra) y observado (círculos naranjas: control, círculos verdes: cultivos de cobertura) para cada uno de los tratamientos evaluados en la profundidad 0-100cm. ....	98
<b>Figura 4.6.</b> Datos simulados y observados de drenaje (a) y lixiviación de N (b) acumulados anualmente. Como referencia, se incluyen las precipitaciones del período de evaluación (c). Los datos observados de drenaje y lixiviación se obtuvieron de los lisímetros ubicados en la EEA Pergamino .....	101
<b>Figura 4.7.</b> Evolución de los stock de COS y NOS durante 30 años en diferentes escenarios de manejo. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin	

fertilización del maíz ( $32 \text{ kg N ha}^{-1}$ ); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  en los escenarios E1 y E2 y con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz. F: fertilizado, NF: no fertilizado..... 104

**Figura 4.8.** Pérdidas acumuladas de agua por drenaje y N por lixiviación en diferentes escenarios de manejos. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz ( $32 \text{ kg N ha}^{-1}$ ); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  en los escenarios E1 y E2 y con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz ..... 109

**Figura 4.9.** Concentración de  $\text{NO}_3$  en el agua de drenaje para los diferentes escenarios de manejo. El drenaje graficado corresponde a un promedio de los tres escenarios. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz ( $32 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) (F violeta, NF naranja); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC (verde); E3: rotación soja-maíz con CC y  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  aplicada al cultivo de maíz (rojo). Se incluye soja-maíz sin CC, combinado con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  en los escenarios E1 y E2 y con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz. Línea negra punteada: máximo nivel de  $\text{NO}_3$  permitido para consumo humano ( $45 \text{ mg L}^{-1}$ )..... 111

**Figura 4.10.** Partición del N de un sistema agrícola simplificado con y sin CC y asociado a bajas y altas dosis de fertilización con N y el excedente de N. El excedente de N fue calculado como los ingresos de la FBN + fertilizante menos los egresos a partir de N exportado en el grano y el N lixiviado en un periodo de 30 años. S-M: soja-maíz, S-c-M: soja-cebada-maíz, S-v-M: soja-vicia-maíz. .... 119

**Figura 5.1.** Modelo conceptual de los principales flujos de C y N en sistemas agrícolas simplificados, en suelos de mediana a baja fertilidad, comparando secuencias con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  como fertilizante inorgánico al maíz sin CC (A), con gramíneas o crucíferas como CC (B), con leguminosas como CC (C), con mezcla de leguminosas y gramíneas (y crucíferas) como CC (D). Las líneas llenas representan los flujos con el agregado de  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  como fertilizante al maíz y las líneas punteadas con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$ ..... 132

## ABREVIATURAS

C: carbono

N: nitrógeno

COS: carbono orgánico del suelo

NOS: nitrógeno orgánico del suelo

COP: carbono orgánico particulado

CC: cultivos de cobertura

STICS: Simulateur multIdisciplinaire pour les Cultures Standard (modelos de simulación suelo-cultivo)

HMA: hongos micorrícicos arbusculares

SD: siembra directa

N-NO<sub>3</sub>: nitrógeno de nitrato

NO<sub>3</sub>: nitrato

N<sub>2</sub>O: óxido nitroso

**Título:** Los cultivos de cobertura y la fertilización nitrogenada como reguladores de los ciclos de C y N en rotaciones agrícolas: evaluación experimental y modelización a mediano y largo plazo

## **Resumen**

En esta tesis se evaluaron los cultivos de cobertura (CC) como una alternativa en sistemas agrícolas simplificados para proveer beneficios agrícolas y ambientales, sin descuidar lo productivo. El objetivo fue evaluar el uso de CC con bajas o nulas dosis de fertilización con nitrógeno (N) aplicado al maíz y analizar los cambios en los ciclos de carbono (C) y N y la funcionalidad edáfica a distintas escalas temporales. Se utilizaron ensayos de campo y el modelo de simulación suelo-cultivo STICS para analizar el mediano y largo plazo, respectivamente. Los ensayos de campo presentaron dos secuencias (soja-maíz y soja-soja) con y sin CC monoespecíficos (avena, cebada, cebadilla, raigrás, colza, nabo forrajero y vicia) y en mezclas (avena/vicia, avena/vicia/nabo y avena/nabo) bajo SD, y con 32 kg N ha<sup>-1</sup> como fertilizante aplicado al maíz. A mediano plazo, el uso de CC, particularmente con vicia sola o en mezclas, y la inclusión de maíz, con bajas o nulas dosis de fertilizante nitrogenado, restauraron diversas funciones del suelo (porosidad edáfica, estabilidad de agregados, stocks de C y N, fracción de C lábil) manteniendo o incrementando la producción en comparación con la secuencia sin CC. Estos cambios positivos estuvieron asociados al mayor aporte de residuos de CC, mayor reciclado de N en el suelo-planta y mayor ingreso de N a partir de la fijación biológica, al incluir una leguminosa como CC. Los CC en la rotación soja-maíz, aumentaron el secuestro de C a una tasa promedio de  $0,36 \pm 0,23$  Mg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. En ausencia de fertilización con N la estabilidad de agregados estuvo asociada al contenido de glomalina. Luego de 30 años, utilizando STICS, se observó que soja-maíz

sin CC y con 32 o 96 kg N ha<sup>-1</sup> de fertilizante aplicado al maíz mantuvieron las reservas de C y N del suelo con respecto al inicio (34,5 y 3,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente), y con cebada o vicia como CC se incrementaron en 40,7/50,0 Mg C ha<sup>-1</sup> y 4,0/4,9 Mg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. El uso de vicia y el aumento en la fertilización nitrogenada produjo mayores pérdidas de N por lixiviación. El legado de los CC y la baja o nula fertilización con N sobre las reservas orgánicas y el funcionamiento del suelo, representa una alternativa ecológica para lograr una menor dependencia de insumos, sin afectar la productividad, y con el compromiso de disminuir el impacto ambiental en el largo plazo.

**Palabras claves:** Intensificación ecológica-Carbono y nitrógeno orgánico del suelo-lixiviación de N-Estructura del suelo-Glomalina-Servicios ecosistémicos-Modelado

**Title:** Cover crops and nitrogen fertilization as regulators of C and N cycles in agricultural rotations: experimental evaluation and modeling in the medium and long term

### **Abstract**

This theses evaluates the use of cover crops as an alternative to simplified crop rotations to enhance agricultural and environmental benefits, without neglecting production. The objective was to evaluate the effect of cover crops, with or without nitrogen (N) fertilization applied to maize, on changes in carbon (C) and N cycles and soil functionality at different time scales. We used a field experiment and the soil-crop model STICS for medium and long-term analysis, respectively. The field experiments included two sequences (soybean-maize and soybean-soybean) with and without cover crops alone (oats, barley, rescuegrass, ryegrass, rapeseed, forage radish and vetch) and in mixtures (oats/vetch, oats/vetch/forage radish and oats/forage radish) under no tillage, applying 32 kg N ha<sup>-1</sup> as a fertilizer to maize. In the medium term, the use of cover crops, particularly vetch alone or in mixtures, and the inclusion of maize, with or without N fertilizer, restored soil functions (soil porosity, aggregate stability, soil C and N stocks, fraction of C labile) while maintaining harvest crop yields similar or higher than to those of the control without cover crops. These changes were associated with increased residues input, reduced N leaching (higher recycling of N in the soil-plant system) and increased biological fixation of N in the case of legumes. The inclusion of cover crops in the soybean-maize rotation increased C sequestration at an average rate of  $0.36 \pm 0.23$  Mg C ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>. The effect of glomalin as aggregation agent was observed in the absence of N fertilization. After 30 years of simulations using STICS, it was observed that the soybean-maize sequence without cover crops and with 32 or 96

kg N ha<sup>-1</sup> applied to maize maintained initial soil C and N stocks (34,5 and 3,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectively), and that the inclusion of barley or vetch increased stocks in 40,7/50,0 Mg C ha<sup>-1</sup> and 4,0/4,9 Mg N ha<sup>-1</sup>, respectively. The use of vetch was associated with increased N leaching compared to barley and the control without cover crops. The increase in N fertilization of maize always increased N loss by leaching. The legacy of cover crops and the low or null N fertilization on organic reserves and associated soil functioning, represents an ecological alternative to achieve less dependence on inputs, without affecting crop production and, with the compromise of reducing negative environmental impact in the long term.

**Keywords:** Ecological intensification-Soil organic carbon and nitrogen- N leaching - Soil structure-Glomalin-Ecosystem services-Modeling

## **1. CAPÍTULO 1: Introducción general**



El aumento vertiginoso de la población mundial en los últimos 100 años y el consecuente crecimiento de la actividad agrícola e industrial ocasionaron alteraciones significativas en el ciclo del carbono (C) y del nitrógeno (N), principalmente a partir del aumento en la cantidad de N introducido a la biosfera en formas biológicamente disponibles (N reactivo) (Galloway y Cowling 2002, Drinkwater y Snapp 2007, Recous et al. 2019). El incremento en la producción de alimentos y fibras a nivel mundial se caracterizó, en primer lugar, por un aumento en la superficie destinada a actividades agrícolas, reemplazando la vegetación nativa y, en segundo lugar, por la intensificación de la agricultura en las tierras ya cultivadas.

Los sistemas agrícolas de producción de grano están diseñados para maximizar la extracción de energía y N en forma de proteínas para consumo humano o animal. Adicionalmente, poseen mayores pérdidas de N que los ecosistemas naturales, debido a su alta frecuencia de disturbios. Esto produjo que los sistemas agrícolas dependan del agregado de altas dosis de fertilización nitrogenada proveniente de fuentes inorgánicas (Vitousek et al. 2002) llevando, actualmente, a una ineficiencia en el uso del N en estos sistemas y a un aumento en la contaminación y degradación de la calidad del agua (Dobermann y Cassman 2004, Vitousek et al. 2009). Además, las rotaciones agrícolas se volvieron menos diversificadas con periodos largos de barbecho y menor cobertura vegetal viva, provocando una disminución en la fijación del C, aumento de la erosión del suelo, disminución de las reservas de la materia orgánica del suelo, falta de sincronía entre el suministro de nutrientes y la demanda de las plantas y mayor susceptibilidad de los agroecosistemas a la pérdida de nutrientes (Tonitto et al. 2006, Drinkwater y Snapp 2007, Recous et al. 2019).

Los ciclos del C y del N están acoplados biológicamente, desde una escala molecular a una global, a través de diferentes procesos como la fotosíntesis, la fijación atmosférica

de N y la posterior mineralización microbiana (Delgado-Baquerizo et al. 2013). La intensificación de la agricultura alteró los procesos que suministran esos elementos provocando el desacoplamiento entre los ciclos (Recous et al. 2019). Por ello, se necesitan nuevas aproximaciones en la oferta y manejo de los nutrientes que busquen evaluar el potencial intrínseco de los procesos agroecosistémicos para mejorar la eficiencia del uso y el balance de nutrientes, manteniendo la productividad (Drinkwater y Snapp 2007). Los sistemas de producción orientados hacia el incremento de la materia orgánica y reservas de nutrientes asociados con ella (a través de labranzas conservacionistas), la disminución del uso de fertilizantes sintéticos y la diversificación de cultivos, permiten una agricultura más resiliente y sustentable (Drinkwater 2004; Recous et al. 2019).

En las últimas tres décadas, en Argentina, los sistemas agrícolas pampeanos han experimentado un proceso de intensificación continuo dentro de una matriz tecnológica moderna enmarcada por cultivos transgénicos, siembra directa (SD) y mayor uso de fertilizantes y plaguicidas (Viglizzo et al. 2011). Estos sistemas avanzaron hacia rotaciones simplificadas con predominio de cultivos de verano (principalmente soja y, en segundo lugar, maíz) y largos períodos de barbecho otoño-invernal o, a veces, incluyendo trigo como antecesor del cultivo de soja (Wingeyer et al. 2015). Este cambio tecnológico permitió un aumento sostenido de la producción, particularmente de maíz, pero también alteró los flujos de energía, provocando una apertura de los ciclos de C y N (y otros elementos) en los agroecosistemas (Viglizzo et al. 2011).

Estos sistemas de cultivo son poco eficientes en la captura anual de precipitación y radiación solar (Caviglia et al. 2004); además, presentan balances nitrogenados negativos, particularmente en zonas de alto rendimiento y clima húmedo, asociados a bajas dosis de fertilizantes nitrogenados (Austin et al. 2006, Alvarez et al. 2014) y a la

lixiviación de N en años húmedos (Andriulo et al. 1999, Portela et al. 2006, Portela et al. 2009). A su vez, las rotaciones con predominio de soja disminuyen el pH del suelo debido a productos derivados de la fijación biológica de N que favorecen la actividad microbiana y, posiblemente, estimulan la descomposición de la materia orgánica del suelo (Huggins et al. 2007). En este sentido, varios trabajos han mostrado que el monocultivo de soja disminuye el carbono orgánico del suelo (COS) y la macroagregación (Caride et al. 2012, Milesi Delaye et al. 2013), reduce la infiltración (Sasal et al. 2006) y expone al suelo a mayor erosión durante el barbecho (Sasal et al. 2010). Por el contrario, la inclusión de maíz en rotaciones agrícolas presenta un balance de C más favorable que el monocultivo de soja (Alvarez et al. 2014, Mazzilli et al. 2015).

En este contexto, es importante rehabilitar los agroecosistemas degradados mediante la mejora en el reciclaje interno de C y N en el suelo para volver a restaurar las funciones o servicios ecosistémicos perdidos (Hartmann 2006, Drinkwater et al. 2017). Actualmente, se busca que los sistemas agrícolas posean una capacidad inherente para recuperarse de los disturbios provocados por los cultivos y las cosechas y que retroalimenten los diferentes compartimentos del suelo (Zhu et al. 2012). Además, se busca reducir las pérdidas de nutrientes a través de la gestión de los procesos intrínsecos en los agroecosistemas (Drinkwater y Snapp 2007). Por otro lado, los agroecosistemas tendrán que hacer frente a nuevas y erráticas condiciones climáticas asociadas al calentamiento global (sequías, inundaciones, temperaturas extremas, mayor intensidad de lluvia, etc.). Por lo tanto, es importante que, a través del manejo del suelo, se estimule su capacidad de recuperación bajo situaciones climáticas variables (Hartmann 2006).

La intensificación ecológica de las rotaciones agrícolas podría ayudar a restaurar la fertilidad y el funcionamiento del suelo a través de una mejora en el ciclado de nutrientes y en la conservación de C y N. Una forma de intensificación ecológica es a través de la inclusión de cultivos de cobertura (CC), de ciclo otoño-invernal, en las rotaciones, combinada con la reducción en las dosis de fertilizante nitrogenado (Tonitto et al. 2006, Drinkwater y Snapp 2007). Los CC se siembran entre dos cultivos comerciales, no son cosechados, ni pastoreados, ni incorporados al suelo y su ciclo se interrumpe químicamente o por rolado. La experiencia ha demostrado que la inclusión de distintas especies de ciclo otoño-invernal como CC reduce el N potencialmente lixiviable a través de su absorción, inmovilización (en los CC y en la materia orgánica lábil) y posterior suministro a los cultivos de renta, aumentando su retención y recirculación dentro del sistema suelo-planta (Thorup-Kristensen et al. 2003, Constantin et al. 2010, Restovich et al. 2012, Rimski-Korsakov et al. 2015, Portela et al. 2016). Además, se ha observado, en el corto plazo, que la inclusión de CC incrementa el COS y que aumenta transitoriamente la macroporosidad y la estabilidad estructural del suelo, en asociación con los momentos de mayor aporte de C, efectos que pueden desaparecer en el corto plazo durante períodos de lluvias intensas (de Rouw et al. 2010, Dube et al. 2012, Restovich et al. 2011, Rimski-Korsakov et al. 2015, Duval et al. 2016).

Por otro lado, el uso de CC genera incertidumbre sobre sus posibles impactos a diferentes escalas temporales debido, particularmente, a que el contenido de N orgánico en el suelo podría ser elevado luego de un largo tiempo de uso y, por lo tanto, también lo será la cantidad de N mineralizable (Olesen et al. 2004). Por ejemplo, algunas secuencias de cultivo que utilizan vicia como CC, pueden conducir a un aumento importante del nitrógeno orgánico del suelo (NOS) que, en algunas circunstancias, pueden traducirse en un aumento del N residual, sujeto a perderse por lixiviación.

Constantin et al. (2012) demostraron en diferentes regiones de Francia que, en el largo plazo, la presencia de CC estimula la lixiviación a partir de la mineralización del N orgánico acumulado y que la interrupción de su uso potencia las pérdidas. En concordancia, Hansen et al. (2000b) citado por Olesen et al. (2004) observaron que después de 24 años de usar CC se incrementó la lixiviación de N; sin embargo, también aumentó el N disponible para las plantas, reduciendo la fertilización en 27 kg N ha<sup>-1</sup> sin afectar el rendimiento de los cultivos.

Los stocks de C y N son el capital que poseen los ecosistemas para garantizar su funcionamiento y representan la base de provisión de servicios ecosistémicos como el ciclado de nutrientes, de agua y la conservación del suelo (Viglizzo et al. 2011; Drinkwater et al. 2017). Además, son esenciales para mejorar la calidad edáfica a través de sus impactos beneficiosos sobre la estructura y la microbiota del suelo (Rillig et al. 2019). Los CC podrían ayudar a conservar el C y N en el suelo y restaurar funciones ecosistémicas degradadas a través del incremento de los aportes de C y de la reducción de las pérdidas de N por lixiviación, aumentando su circulación interna (reciclado) y estimulando así la capacidad de recuperación del suelo para volver a acoplar los ciclos de C y N. Además, la presencia casi ininterrumpida de raíces vivas cuando se incorporan CC a la rotación posiblemente esté asociada a cambios en determinadas propiedades físicas y químicas de los suelos y, por consiguiente, a su funcionamiento (Goss y Kay 2005).

Los microorganismos juegan un rol fundamental en la descomposición de los residuos y en el ciclado de nutrientes y, debido a que son componentes vivos con una alta relación superficie/volumen, responden rápidamente a cambios en el manejo del suelo (Nieder y Benbi 2008). Algunos cambios detectados en las propiedades físicas y químicas del suelo son consecuencia de cambios producidos en la composición de la

comunidad microbiana, en su biomasa o en su actividad debido a modificaciones en el manejo del sistema (Vargas Gil et al. 2011). Dentro de la comunidad microbiana, los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) representan un grupo de la microbiota edáfica que modula la fertilidad del suelo, la nutrición y la salud de las plantas a partir de la formación de micorrizas (van der Heijden et al. 2015, Rillig et al. 2019). Además, producen una sustancia insoluble denominada glomalina que se encuentra presente en la materia orgánica del suelo y también está relacionada con la estabilidad de los agregados (Wright y Upadhyaya 1996, Rillig et al. 2002). No obstante, otros autores sugieren que el impacto de las micorrizas sobre la agregación del suelo es bajo comparado con el de las raíces o con otros microorganismos que podrían estar involucrados en la estabilización de los agregados del suelo (Hallett et al. 2009, Lehmann y Rillig 2015). Por otro lado, la presencia o no del fertilizante nitrogenado en sistemas con CC puede modificar la distribución de raíces en profundidad, contribuyendo a desestratificar propiedades asociadas a su crecimiento, al aporte de C y a la actividad de los microorganismos del suelo (Bardgett et al. 2014).

En relación a los fertilizantes, no existe una postura clara en cuanto su efecto sobre la microbiota del suelo, ya que ésta también depende de otras variables, como de la temperatura, de las precipitaciones, de las condiciones edáficas, de la diversidad de plantas huésped y de las dosis aplicadas (Avio et al. 2013, Chen et al. 2014). Wright et al. (2007) propusieron que la glomalina actúa como un cementante microbiano en la formación de agregados, además de la fracción lábil de la materia orgánica que postula Six et al. (2004). Sin embargo, la relación entre la fertilización nitrogenada y los hongos micorrícicos arbusculares no está clara aún: han sido reportados aumentos y reducciones en la abundancia de HMA por los fertilizantes (Wilson et al. 2009, Avio et al. 2013, Chen et al. 2014). Por otro lado, se observan evidencias contradictorias sobre el efecto

positivo o negativo de los fertilizantes sobre las reservas de materia orgánica (Alvarez 2005, Tonitto et al. 2006, Brar et al. 2013, Irizar et al. 2013). Debido a esto se manifiesta la necesidad de seguir explorando la implementación y desarrollo de CC en rotaciones agrícolas con aplicaciones bajas y continuas de fertilizante nitrogenado en el largo plazo.

Los servicios que proveen los CC a los agroecosistemas varían de acuerdo a las especies que se empleen: las leguminosas tienen capacidad para fijar N atmosférico a través de relaciones mutualistas, de manera que, manejadas correctamente pueden reducir la necesidad de fertilizante nitrogenado de los cultivos siguientes a partir del aporte del N en sus residuos (Schipanski et al. 2014). Las gramíneas dejan abundantes residuos en superficie con alta relación C/N, por lo que su descomposición es más lenta, lo que permite una mejor regulación de la temperatura y agua del suelo, brindándole además protección. Y por último, las crucíferas se utilizan por su capacidad para reducir la compactación del suelo, al ser sus raíces capaces de penetrar hasta capas profundas del suelo (Chen y Weil 2010). Conociendo las propiedades de las especies que se emplean como CC, es conveniente evaluar la utilización de especies solas o en mezclas, buscando aumentar y complementar diferentes funciones prestadas por el suelo. Así, por un lado, la mezcla de especies de CC puede incrementar la oferta de N al cultivo principal, mejorar el C orgánico y reducir más la lixiviación de N comparado con las especies puras (Sainju et al. 2005). Y por otro, puede incrementar la porosidad total del suelo, permitiendo mayor disponibilidad de agua para las plantas (Villamil et al. 2006). Además, al diversificarse el sistema vegetativo, también se incrementa la diversidad de microorganismos del suelo, que emplean a los CC como fuente de nutrientes, hábitat y refugio (Gregory et al. 2013).

La intensificación ecológica de las rotaciones agrícolas a partir de la incorporación de CC podría ser una opción viable para incrementar la estabilidad ecológica y la resiliencia de los agroecosistemas, contribuyendo a una mayor y más consistente productividad. La clave del éxito de los CC o también llamados “cultivos de servicios” será la utilización de la energía y el agua no interceptada por los cultivos de cosecha para canalizarla hacia servicios ecosistémicos diferentes a los de provisión de alimentos (Pinto et al. 2017). A pesar de la gran variedad de trabajos recientemente publicados que involucra el uso de CC en secuencias agrícolas y su impacto sobre diferentes variables productivas y ambientales (Poeplau y Don 2015, Duval et al. 2016, Frasier et al. 2016, Alvarez et al. 2017, Daryanto et al. 2018), es escaso el conocimiento sobre el uso de CC combinados con bajos insumos antropogénicos sobre el reciclado interno del C y N y su impacto en el secuestro de C y el funcionamiento del suelo en el mediano y largo plazo. Por otro lado, y en relación a las diferentes especies (o familias) utilizadas como CC (solas o en mezclas), es necesario investigar su capacidad para rehabilitar las funciones ecosistémicas degradadas del suelo, mientras que, combinadas con el uso reducido de fertilizantes, puedan contribuir con la productividad del sistema. Además, debido al rol central del N en los procesos ecológicos del suelo y su impacto en la productividad y el ambiente, es necesario preguntarse: ¿es posible evaluar y comprender la dinámica del N en los agroecosistemas con CC en el largo plazo?

La evaluación del impacto, en el largo plazo, de los agroecosistemas que incluyen CC sobre las reservas de C del suelo, la dinámica del N y la producción de los agroecosistemas, implica experimentos de campo que resultan costosos y que requieren mucho tiempo para la obtención de datos (Autret et al. 2020). Por lo tanto, es importante contar con herramientas predictivas que permitan extender las observaciones de campo y que evalúen los efectos interactivos de las prácticas de manejo, el suelo y el



clima en el medio ambiente y la producción agrícola (Therond et al. 2011). Los modelos de simulación se utilizan cada vez más para predecir el comportamiento de diferentes escenarios de manejo a determinadas escalas espaciales, regionales o globales (Moreau et al. 2012), y temporales, las cuales van desde décadas (Beaudoin et al. 2008) hasta el siglo, como en los estudios de impacto del cambio climático (Bassu et al. 2014).

Dentro de las opciones disponibles en modelos de simulación, STICS (Simulateur multIdisciplinaire pour les Cultures Standard) es un modelo de suelo-cultivo de paso diario que simula el crecimiento de los cultivos y la dinámica de C, N (mineral y orgánico) y agua en el suelo con sus impactos ambientales asociados (Brisson et al. 1998, Brisson et al. 2008). Varios estudios han indicado que debido a su carácter genérico y robustez, este modelo puede ser utilizado para simular diferentes procesos dentro de los ciclos de C y N bajo diferentes condiciones edafoclimáticas (Beaudoin et al. 2008, Constantin et al. 2012, Yin et al. 2017). Así, STICS se ha convertido en uno de los modelos suelo-cultivo más ampliamente utilizados en el mundo (Syswerda et al. 2012, Jégo et al. 2014, Coucheney et al. 2015, Yin et al. 2017); sin embargo, no hay antecedentes de su aplicación para evaluar las reservas orgánicas y pérdidas de N por lixiviación en los sistemas agrícolas de Argentina.

Con esta tesis se pretende obtener nuevas percepciones sobre los procesos que involucran la gestión del C y N en distintas escalas de tiempo, a partir de la complementación de fuentes orgánicas (CC) y el uso de bajas dosis de fertilización con N. Además, como una consecuencia de lo anterior, examina la importancia de nuevas interacciones en el funcionamiento físico y biológico del suelo generadas por dichas estrategias. Esta nueva aproximación agronómica en el manejo de los agroecosistemas tiene por finalidad optimizar las reservas orgánicas del suelo y restaurar funciones ecosistémicas perdidas; además de aportar nuevos enfoques científicos para el diseño

sostenible de los sistemas de cultivo, sin abandonar los aspectos productivos demandados por el mundo.

## **1.2 Objetivos e Hipótesis**

El objetivo general de la tesis es analizar los cambios en los ciclos de C y N, a distintas escalas temporales, a partir de la introducción de CC en sistemas agrícolas simplificados combinados con baja o nula fertilización nitrogenada, explorando los mecanismos a partir de los cuales las especies introducidas y los microorganismos del suelo controlan y acoplan estos ciclos y afectan la funcionalidad edáfica.

**Objetivo específico 1:** evaluar y cuantificar los cambios de mediano plazo sobre las reservas de COS y NOS y algunas propiedades físicas y biológicas vinculadas a funciones de soporte del suelo a partir de la introducción de CC (solos o en una mezcla gramínea+leguminosa) combinados con baja dosis de fertilizante nitrogenado en la rotación soja-maíz (**Capítulo 2**).

*Hipótesis 1.1:* Los CC aumentan el COS a través de: (i) un aumento en el aporte de C derivado de su biomasa y de (ii) un incremento en el reciclado de N mineral y una disminución de sus pérdidas a partir de la absorción del N por los CC.

*Hipótesis 1.2:* La presencia de CC de leguminosa aumenta las reservas de COS y NOS a partir de mayores aportes de C y de N al sistema de cultivo.

*Hipótesis 1.3:* La inclusión de CC en secuencias agrícolas mejora la estructura del suelo debido al reemplazo del barbecho por plantas vivas durante todo el año.

*Hipótesis 1.4:* La ausencia de fertilización con N, aplicada al maíz, y combinada con CC mejora la estabilidad de los agregados del suelo, debido a la estimulación de la

actividad de microorganismos simbioses, como los HMA, que liberan glomalinas y actúan como agentes cementantes.

**Objetivo específico 2:** evaluar los cambios en las propiedades del suelo (fracciones orgánicas y estructura) y en la productividad (biomasa de CC y rendimiento del cultivo de cosecha) después de cinco años de rotación con dos mezclas de CC (gramínea+crucífera y gramínea+crucífera+leguminosa) introducidas en las secuencias soja-soja y soja-maíz con baja fertilización nitrogenada al maíz (**Capítulo 3**).

*Hipótesis 2.1:* Las asociaciones de especies de diferentes familias (gramíneas, leguminosas, crucíferas) como CC en rotaciones agrícolas complementan funciones e impactan positivamente sobre la estructura y las reservas de C y N edáficas debido a aumentos en la cantidad y calidad de los residuos aportados al suelo.

*Hipótesis 2.2:* La inclusión de una leguminosa en la mezcla de CC impacta positivamente en la cantidad de N de su biomasa aérea y aumenta los rendimientos de los cultivos de cosecha, particularmente de maíz.

**Objetivo específico 3:** a) evaluar la capacidad de STICS para simular la evolución de diferentes variables de los cultivos, el suelo y el agua en sistemas agrícolas que incluyen CC, bajo las condiciones edafoclimáticas de la pampa ondulada, y b) predecir los cambios de largo plazo en las reservas de C y N orgánicos del suelo y evaluar las pérdidas de N por lixiviación en sistemas con y sin CC y diferentes dosis de fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (**Capítulo 4**).

*Hipótesis 3.1:* a) La presencia de CC y bajas dosis de fertilizante nitrogenado aplicado al maíz, promueven el aumento de C y N orgánico, principalmente a través del mayor aporte de C y N en comparación con la misma secuencia sin CC; b) cuando la dosis del fertilizante nitrogenado aplicado al maíz es elevada aumenta la producción de biomasa

de la secuencia agrícola, conduciendo a incrementos más importantes en las reservas orgánicas edáficas.

Hipótesis 3.2: La magnitud en el aumento de las reservas de N orgánico del suelo debido al uso de CC estimula la pérdida de N por lixiviación a partir de la mineralización del N orgánico bajo condiciones climáticas favorables.

Hipótesis 3.3: La discontinuidad del uso de CC, disminuye las reservas orgánicas del suelo y aumenta la lixiviación de N debido a la interrupción del crecimiento y aporte de biomasa, impactando negativamente sobre las reservas de C del suelo.

### **Organización de la tesis**

El Capítulo 1 presenta el marco general de la tesis. El Capítulo 2 se centra en evaluar el impacto de la introducción de CC (solos: leguminosa, crucíferas, gramíneas y una mezcla de gramínea+leguminosa) en una secuencia soja-maíz con baja o nula dosis de fertilización con N aplicada al maíz sobre las reservas orgánicas y propiedades biofísicas del suelo en el mediano plazo; mientras que en el Capítulo 3 se evalúa de manera integral cómo dos mezclas de CC (gramínea+crucíferas y gramíneas+crucíferas+leguminosa) que combinan diversos rasgos funcionales impactan en diferentes funciones del suelo y la productividad, simultáneamente, cuando se introducen en rotaciones simplificadas de cultivos de verano (soja-soja y soja-maíz). El Capítulo 4 modeliza los flujos de C y N en sistemas simplificados con y sin CC en el largo plazo. Por último, el Capítulo 5 concluye sobre los resultados y plantea perspectivas para el futuro.

## **2. CAPÍTULO 2: Combinación de cultivos de cobertura y bajas dosis de fertilizantes nitrogenados: efecto sobre las funciones de soporte del suelo <sup>(1,2)</sup>**

---

<sup>1</sup> Restovich SB, Andriulo AE, Armas-Herrera CM, Beribe MJ, Portela SI (2019) Combining cover crops and low nitrogen fertilization improves soil supporting functions Plant and Soil 442 401-417 10.1007/s11104-019-04205-8

<sup>2</sup> El capítulo 2 corresponde en parte a la publicación mencionada

## 2.1 Introducción

La creciente preocupación por los impactos ambientales y por las funciones ecosistémicas perdidas, particularmente del suelo, aumentó el interés por el uso de las alternativas de manejo que brinden servicios ecosistémicos, más allá de maximizar el rendimiento del cultivo (Schipanski et al. 2014). Una estrategia de manejo, relacionada a la gestión de nutrientes, debería optimizar las reservas orgánicas y minerales del suelo con tiempos de residencia medios más largos y a las que se pueda acceder a través de procesos microbianos y mediados por plantas, en lugar de enfocarse únicamente en fuentes de N inorgánicas (Drinkwater y Snapp 2007). El uso estratégico de diferentes fuentes de nutrientes, incluidos los fertilizantes inorgánicos, combinado con una mayor diversidad de plantas, ayudaría a restaurar las funciones de los agroecosistemas (Drinkwater y Snapp 2007).

La diversificación e intensificación ecológica de los sistemas de cultivo utilizando CC se ha sugerido como una estrategia para incrementar los aportes de C a partir de los residuos de la rotación, al reemplazar el período de barbecho por un período adicional de asimilación de C. Esto, a su vez, puede aumentar las reservas de COS y la agregación del suelo y reducir la erosión, mejorando la sustentabilidad del sistema al tiempo que se logran rendimientos de cosecha comparables con aquellas secuencias sin CC (Drinkwater y Snapp 2007, Rimski-Korsakov et al. 2015). Además, experiencias anteriores han demostrado que la introducción de CC de ciclo otoño-invernal en una rotación reduce el contenido de nitrato ( $\text{NO}_3$ ) del suelo a través de la absorción, inmovilizándolo durante los períodos de lixiviación potencial (Constantin et al. 2010, Restovich et al. 2012, Portela et al. 2016). Este N absorbido por los CC, por un lado, está disponible para el cultivo siguiente a través de la mineralización de sus residuos en sincronía con la demanda del cultivo de cosecha, mejorando el reciclaje de N dentro del

sistema suelo-planta (Thorup-Kristensen et al. 2003, Gabriel y Quemada 2011). Y, por otro, al aumentar la capacidad del sistema para retener y reciclar el N, podría mejorar la eficiencia de su uso a través de las reducciones en la cantidad de fertilizante nitrogenado utilizado para satisfacer la demanda de los cultivos de cosecha (Schipanski et al. 2014). Se debe destacar, que las leguminosas utilizadas como CC, también aumentan el ingreso de N a los sistemas agrícolas a través de la fijación biológica de N (Pinto et al. 2017). De esta forma, las entradas de N a los agroecosistemas coexisten con la fijación de C, reacoplando los ciclos de C y N en el largo plazo (Tonitto et al. 2006, Recous et al. 2019).

Por otro lado, la extensión del lapso temporal con coberturas vegetales también comprende la presencia de raíces vivas y su rizodeposición durante una mayor parte del año. Esto está directa e indirectamente (porque las raíces vivas sostienen a las comunidades microbianas del suelo) relacionado con los cambios en las propiedades físicas y químicas y el funcionamiento del suelo (Goss y Kay 2005, Mbuthia et al. 2015). Los microorganismos juegan un papel central en las funciones edáficas, como el ciclado de nutrientes y la agregación del suelo (Drinkwater y Snapp 2007). Los HMA son un componente dominante entre los hongos del suelo y parecen ser los moduladores más importantes en la agregación del suelo a través de la producción de glomalinas (Wright y Upadhyaya 1998, Rillig y Mummey 2006, Rillig et al. 2019). Mbuthia et al. (2015) observaron que el aumento en las dosis de fertilización se relacionó negativamente con la abundancia de HMA y se asoció positivamente con la presencia de bacterias. Sin embargo, existen diferentes opiniones sobre el efecto de los fertilizantes sobre la microbiota del suelo debido a que depende del clima, el tipo de suelo y la diversidad de la vegetación huésped (Avio et al. 2013, Chen et al. 2014).

En Restovich et al. (2012) se concluyó que la introducción de CC en la secuencia soja-maíz, combinada con baja fertilización con N aplicado al maíz, reducía las pérdidas de N e incrementaba su reciclado dentro del sistema, mientras que los rendimientos de los cultivos de cosecha se mantenían o aumentaban en comparación a los obtenidos sin CC. En este capítulo, se utilizó el mismo experimento, con seis años de duración (2005–2011) con el objetivo de evaluar y cuantificar los cambios de mediano plazo sobre las reservas de COS y NOS y algunas propiedades físicas y biológicas vinculadas a funciones de soporte del suelo a partir de la introducción de CC (solos o en mezcla de gramínea y leguminosa) combinados con baja dosis de fertilizante nitrogenado en la rotación soja-maíz.

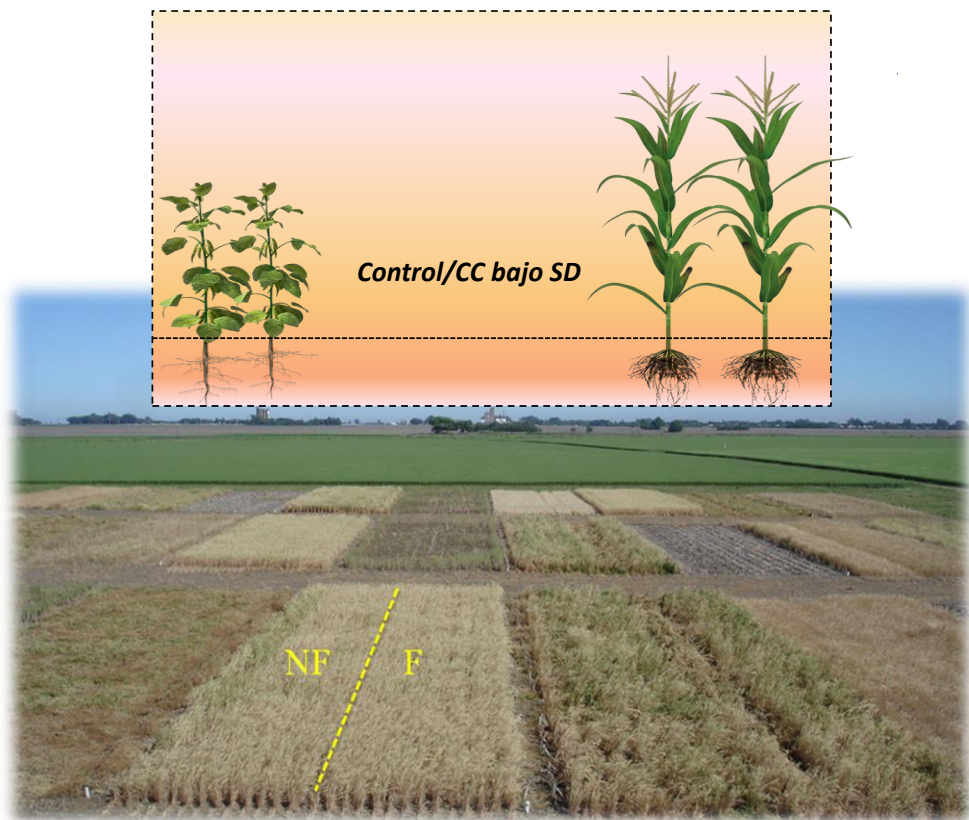
## **2.2 Materiales y Métodos**

### **2.2.1 Sitio de estudio y diseño experimental**

En 2005 se instaló un experimento en la Estación Experimental Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (33 ° 51'S, 60 ° 40'W) con una secuencia soja-maíz con CC bajo SD. La historia previa del lugar se correspondió con agricultura continua de largo plazo a base de soja, principalmente, trigo y maíz con mediana a baja fertilidad edáfica (Restovich et al. 2011, 2012). Cada año (en la misma parcela) se sembraron diferentes especies de ciclo otoño-invernal como CC: cebadilla criolla (*Bromus unioloides* L.), ryegrass (*Lolium multiflorum* L.), avena (*Avena sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), colza (*Brassica napus* L.), nabo forrajero (*Raphanus sativus* L.), vicia (*Vicia sativa* L.) y una mezcla de avena + vicia). Además, se incluyó un control sin CC y se mantuvo sin malezas utilizando control químico siguiendo la práctica de manejo estándar (Figura 2.1). El diseño experimental fue en parcelas divididas con tres repeticiones (bloques); las parcelas principales (30 × 10 m)



corresponden al CC y las subparcelas a dosis de fertilizante nitrogenado (0 y 32 kg N ha<sup>-1</sup>) aplicado al maíz. El tipo de suelo es un Argiudol típico (Taxonomía de suelo del USDA) de la serie Pergamino con un horizonte A franco limoso sin fase erosionada (<0,3% de pendiente) y un fuerte horizonte B argílico. El clima en el área de estudio es templado húmedo sin una estación seca. La temperatura media anual es de 16.5 ° C (Soriano et al. 1991, Hall et al. 1992) y la precipitación anual osciló entre 573 y 1125 mm durante el período experimental (base de datos de la red Agroclimatológica, INTA).



**Figura 2.1.** Ensayo de Cultivos de Cobertura de la EEA Pergamino

Al momento de la siembra, entre abril y mayo, los CC y el tratamiento control se fertilizaron con 14,7 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> (6,4 kg P ha<sup>-1</sup>) utilizando como fuente el superfosfato simple de calcio. La vicia se inoculó con *Rhizobium leguminosarum* biovarviceae inmediatamente antes de la siembra. En el año 2008 y 2009 no se sembró

nabo forrajero por falta de semilla. El maíz (*Zea may L.*), híbrido DK 747, y la soja (*Glicine max L.*), var. DM 4970, se sembraron en octubre y noviembre (fecha de primera siembra), en hileras espaciadas a 0,70 y 0,52 m de distancia, respectivamente, según el manejo regional. En la siembra, el maíz fue fertilizado con 31,5 kg de  $P_2O_5$   $ha^{-1}$  (13,7 kg P  $ha^{-1}$ ), y en la etapa  $V_{5-6}$  (Ritchie et al. 1982) la mitad de cada parcela (subparcela) fue fertilizada con 32 kg de N  $ha^{-1}$  incorporada como urea entre líneas. La dosis de la fertilización con N se determinó utilizando el método del balance, con el objetivo de obtener un rendimiento promedio de maíz de 9,0 Mg  $ha^{-1}$ . Los componentes incluidos en el balance para calcular la dosis de fertilización con N fueron el aporte del cultivo antecesor, la mineralización anual de N proveniente del suelo, el sistema de labranza, el perfil de suelo hasta los 60 cm (4, 2 y 1%  $año^{-1}$  para los horizontes A, BA y BT1, respectivamente), la porción del año en el que se desarrolla el cultivo (primavera/verano) y el contenido de nitrógeno de nitrato (N- $NO_3$ ) a la siembra del cultivo de maíz. Además, un factor promedio de pérdida del N mineralizado que puede escapar al aprovechamiento del cultivo hasta el periodo comprendido entre 4 y 6 hojas y la demanda de N del maíz para el rendimiento objetivo. A su vez, se buscó un rendimiento promedio para la zona, de manera que pudiera expresarse el posible aporte de los CC, particularmente en los tratamientos que incluían leguminosas como CC. La soja no fue fertilizada y fue inoculada con *Bradyrhizobium* sp. Las fechas de siembra de maíz y soja (septiembre -octubre y noviembre, para el maíz y la soja, respectivamente) y la distribución de la lluvia definieron las fechas de finalización del ciclo de los CC: antes del maíz, se secaron en invierno o principios de primavera (agosto-septiembre), mientras que antes de la soja, se secaron en primavera (octubre). Los CC se secaron con 3 a 4 L  $ha^{-1}$  de glifosato (principio activo del 48%). El calendario de cultivos se presenta en el Cuadro 2.1.

**Cuadro 2.1.** Calendario del manejo de cultivos y precipitaciones del ensayo de Cultivos de Cobertura de INTA Pergamino

Cultivo	Precipitaciones	Fecha Siembra	Cosecha/Secado CC <sup>1</sup>	Fertilización	
	mm			kg N ha <sup>-1</sup>	kg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ha <sup>-1</sup>
<b>CC 2005</b>	104	8/04/05	12/08/05	-----	14,7
<b>Maíz</b>	487	26/09/05	07/03/06	32	31,5
<b>CC 2006</b>	151	10/05/06	12/10/06	-----	14,7
<b>Soja</b>	831	8/11/06	09/04/07	-----	-----
<b>CC 2007</b>	127	14/05/07	26/09/07	-----	14,7
<b>Maíz</b>	422	18/10/07	28/03/08	32	31,5
<b>CC 2008</b>	83	23/04/08	10/10/08	-----	14,7
<b>Soja</b>	498	28/10/08	08/04/09	-----	-----
<b>CC 2009</b>	125	14/04/09	18/08/09	-----	14,7
<b>Maíz</b>	961	01/10/09	16/03/10	32	31,5
<b>CC 2010</b>	329	26/03/10	18/10/10	-----	14,7
<b>Soja</b>	583	24/11/10	18/04/11	-----	-----

<sup>1</sup> para cultivo principal (soja y maíz) y cultivos de cobertura, respectivamente.

### 2.2.2 Determinaciones edáficas

En abril de 2005, se extrajeron doce muestras de suelo a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidades del sitio experimental para determinar la densidad aparente inicial, la distribución del tamaño de poro, la estabilidad de agregados, el COS y el NOS. Después de seis ciclos de la secuencia soja-maíz con y sin CC (abril de 2011), se extrajo una muestra de suelo disturbada y no disturbada (cilindro) de cada subparcela del ensayo a 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de profundidad obteniendo seis muestras para cada tratamiento de CC (tres de cada tratamiento de fertilización). Las muestras disturbadas se usaron para determinar la estabilidad del agregados, COS, NOS, carbono orgánico particulado (COP) y glomalina total, y las muestras no disturbadas se usaron para determinar la densidad aparente y la distribución del tamaño de poros. En Restovich et al. (2012) se reportaron, para el mismo período de estudio, otras variables de suelo (N-NO<sub>3</sub> y agua en 0-100 cm), de vegetal (biomasa aérea, concentración de N y relación C/N de los CC) y el rendimiento en grano de soja y maíz (Anexos 1, 2 y 4).

La densidad aparente se determinó por el método del cilindro ( $58,9 \text{ cm}^3$  de volumen) (Burke et al. 1986). La distribución del tamaño de poro se calculó utilizando la relación entre el contenido de agua del suelo y el potencial mátrico (Hillel 1980). Los cilindros se saturaron al vacío durante 24 h para minimizar la ruptura estructural y, posteriormente, se llevaron a -1, -5 y -20 kPa de potencial mátrico mediante el uso de una mesa de tensión (Bezerra de Oliveira 1968). La retención de agua en el suelo se expresó en contenido de agua volumétrico utilizando la densidad aparente para la conversión del contenido de agua gravimétrico a volumétrico. Los poros del suelo se clasificaron como microporos ( $<15 \text{ }\mu\text{m}$  de diámetro), mesoporos (15-60  $\mu\text{m}$ ) y macroporos (60-300  $\mu\text{m}$  y  $> 300 \text{ }\mu\text{m}$ ) (Hillel 1980). La estabilidad de agregados se determinó mediante el tamizado en agua usando el método de Douglas y Goss (1982) con ligeras modificaciones. Se colocaron 10 gramos de agregados, entre 1-2 mm, a humedad de campo en un tamiz de 0,5 mm y se subieron y bajaron mecánicamente en el agua durante 5 minutos. Después del tamizado mecánico en el agua, se calculó el índice de estabilidad como la relación entre el peso seco de los agregados  $> 0,5 \text{ mm}$  y el peso seco de los agregados de 1-2 mm, y se expresó como un porcentaje (Kemper 1965). Se usaron agregados con un tamaño de 1-2 mm porque son sensibles a los cambios de manejo a corto plazo (Rillig et al. 2002). La estabilidad de agregados se clasificó como inestable ( $<20\%$ ), moderadamente estable (20-40%) y estable ( $> 40\%$ ).

El COS se determinó por digestión húmeda mediante el método de Walkley-Black (Nelson y Sommers 1982), el NOS mediante el método de Kjeldahl (Bremner y Mulvaney 1982) y el COP mediante el método de Cambardella y Elliot (1992), reemplazando la dispersión química del método original mediante agitación mecánica del agua con bolitas de vidrio (Feller 1979). La proteína del suelo relacionada con la glomalina se determinó en la forma de glomalina fácilmente extraíble como se describe

en Wright y Upadhyaya (1996). El carbono orgánico asociado a la fracción mineral (CAM) se obtuvo por diferencia entre COS y COP. El COS y NOS se ajustaron a una masa de suelo equivalente de 2200 Mg ha<sup>-1</sup>, para tener en cuenta las diferencias de densidad aparente entre 2005 y 2011 (Poulton et al. 2003).

### **2.2.3 Balance de Nitrógeno**

Se calculó un balance simple de masa de N para cada tratamiento con y sin CC y fertilización durante seis años de rotación. Se consideraron como ingresos de N, los provenientes de la fertilización, la fijación biológica de cultivos de leguminosas y la deposición atmosférica, y se consideró como egresos de N a la exportación de N en grano y el NO<sub>3</sub> lixiviado. Las pérdidas gaseosas (amoníaco y óxido nitroso) no se incluyeron porque se consideran insignificantes para los sistemas de cultivo de bajos insumos (Álvarez et al. 2007, Peyrard et al. 2016). Para estimar la fijación de N por la soja, se utilizó la relación lineal entre la absorción de N en la biomasa aérea y el N fijado biológicamente obtenida por Salvagiotti et al. (2008). La absorción de N en la biomasa aérea de soja se estimó en función del rendimiento de grano y la absorción total de N (aéreo y subterráneo) y se calculó suponiendo que el 24% del total de N de la planta se localiza en forma subterránea (Salvagiotti et al. 2008). Así, el N aportado por fijación biológica representó, en promedio, el 60% del total y esto estuvo de acuerdo con lo reportado por Collino et al. (2015) para la región pampeana. En el caso de la vicia, se utilizó la producción de biomasa aérea entre 2005 y 2010 (datos de Restovich et al. 2012) para estimar el N fijado biológicamente, considerando la relación desarrollada para la alfalfa por Alvarez et al. (2014): 19 kg de N fijado por Mg de materia seca producida. A partir de este cálculo y el contenido de N de biomasa reportado en Restovich et al. (2012), se concluyó que, en promedio, el 59% del N acumulado en la biomasa aérea de la vicia, derivaba de la atmósfera. Este valor es

similar a otros reportados en para la región (promedio 61% según Enrico et al. 2020). El ingreso de N a través de la deposición atmosférica húmeda y seca se estimó a partir de la deposición media anual de amonio y  $\text{NO}_3$  medida entre 2007 y 2012 en Pergamino en el marco de la Red de Deposición Atmosférica del Río de la Plata (Carnelos et al. 2014). Las exportaciones de N en el grano se estimaron con base en el rendimiento de grano y el contenido medio de N en el grano. Se asignaron valores de 6,34% (es decir, kg N 100 kg grano<sup>-1</sup>) para la soja (Salvagiotti et al. 2008) y 1,1% para el maíz (Restovich et al. 2012). Se consideró que la pérdida de N a través del drenaje profundo se redujo en un 75% con la inclusión de CC (Portela et al. 2016, De Notaris et al. 2018). Esta reducción en la lixiviación de N es consistente con la reducción del 50-90% en el contenido de  $\text{NO}_3$  del suelo al secar los CC reportados por Restovich et al. (2012) y Thorup-Kristensen et al. (2003).

Los balances de N se relacionaron con los cambios en el almacenaje de N en distintos compartimentos, entre la situación inicial (abril de 2005) y después de seis años de rotación (abril de 2011), para explicar las fuentes de N en el caso de déficit de N (saldo negativo) y los destinos de N en el caso de N excedente (saldo positivo). Se tuvieron en cuenta tres compartimentos: el N- $\text{NO}_3$  en el suelo en 0–100 cm de profundidad, el stock de NOS en 2200 toneladas de suelo ha<sup>-1</sup> y la cantidad promedio de N de la biomasa aérea del CC. El contenido de N- $\text{NO}_3$  del suelo y el contenido de N de la biomasa del CC se muestran en Anexos 1 y 2, respectivamente.

Una fuente de incertidumbre dentro del cálculo del balance de N es el aporte de la fijación biológica del N. Por este motivo, se realizó un análisis de sensibilidad para determinar cambios en el balance de N en respuesta a la variación de la fijación de N en soja y vicia. La fijación de N para soja puede variar entre 46, 59 y 71 % y para vicia entre 43, 61 y 79 %, valores que representan los percentiles 25, 50 y 75, de acuerdo a lo

reportado por Collino et al. 2015 y Enrico et al. 2020 para la región pampeana, respectivamente. Los valores del percentil 50 están de acuerdo con los estimados en el balance de N presentado en la tesis. Los resultados del balance con diferentes valores de fijación biológica de N y su relación con los cambios en el almacenaje de N se presentan en el Anexo 3.

#### **2.2.4 Análisis estadísticos**

Para evaluar el efecto de los CC y los tratamientos de fertilización a diferentes profundidades sobre las variables de estudio, se utilizó el método de modelos lineales mixtos. Se probaron la homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuos de cada variable y la matriz de varianza-covarianza de los errores se ajustó cuando la varianza fue heterogénea. Los bloques se incluyeron como un efecto aleatorio y el análisis se realizó con el procedimiento MIXED de SAS (SAS 2009). Los valores medios se compararon mediante la prueba de diferencia menos significativa (LSD) protegida de Fisher ( $p < 0,05$ ). Se utilizó la prueba t de Student para evaluar los cambios en la macroporosidad, la estabilidad de agregados y las reservas de COS y SON entre la situación inicial y después de seis años de rotación. Se usó un análisis de correlación (procedimiento CORR de SAS) para determinar las relaciones entre diferentes variables (estabilidad de agregados, concentración de glomalina, fracciones y reservas orgánicas del suelo, balance de N y producción de biomasa de CC tomada de Restovich et al. (2012)). Se utilizó un análisis de regresión (procedimiento REG de SAS) para evaluar la relación lineal entre la biomasa aérea de seis años de los CC y los cambios en las reservas de COS entre 2005 y 2011.

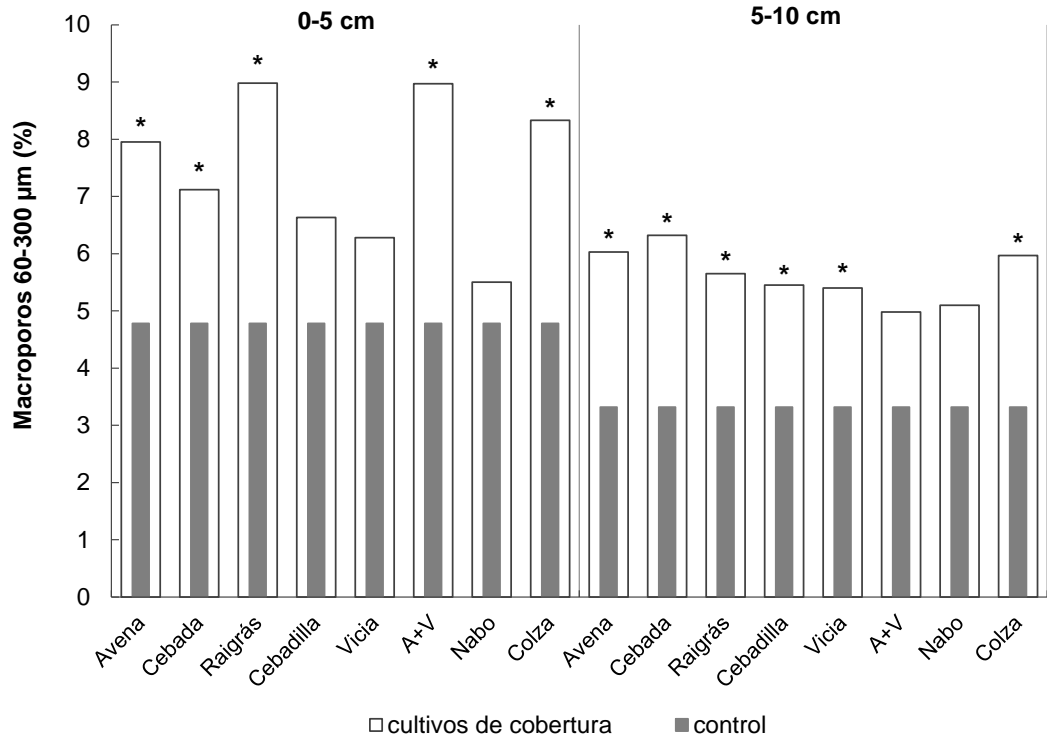
## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Porosidad del suelo

Después de seis años, con la inclusión de CC en la secuencia soja-maíz se observó interacción significativa entre los CC y la profundidad del suelo en la proporción de macroporos entre 60-300  $\mu\text{m}$  en dos de las cuatro profundidades evaluadas. A 0-5 cm de profundidad de suelo, se observó una mayor proporción de este tamaño de poros en la secuencia soja-maíz con raigrás, avena, cebada, colza y la mezcla avena+vicia en comparación con la secuencia soja-maíz sin CC, independientemente de la presencia o ausencia del fertilizante nitrogenado (Figura 2.2). A 5-10 cm de profundidad, hubo una mayor proporción de macroporos entre 60-300  $\mu\text{m}$  luego de la inclusión de CC (excepto para nabo forrajero y la mezcla de avena+vicia) que en el control sin CC. En 10-20 y 20-30 cm de profundidad, no hubo diferencias en la proporción de macroporos entre 60-300  $\mu\text{m}$ .

Por otro lado, cuando se comparó la macroporosidad total (macroporos  $>300 + 60-300 \mu\text{m}$ ) a 0-5 cm de profundidad con respecto a la situación inicial, ésta tendió a aumentar desde 16,1%, al comienzo del experimento, a 17,9% (promedio de todos tratamientos con CC y de fertilización) después seis años de rotación ( $p < 0,1$ ). La proporción de macroporos  $>300 \mu\text{m}$ , mesoporos (15-60 $\mu\text{m}$ ) y microporos ( $<15 \mu\text{m}$ ) no difirió entre los distintos tratamientos evaluados (promedio de macroporos  $>300 \mu\text{m}$ : 10,1 - 6,4 - 4,9 - 4,0%; de mesoporos: 6,3 - 5,6 - 5,5 - 5,3%; y de microporos: 33,8 - 33,5 - 34,5 - 36,1% en 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de profundidad, respectivamente). La biomasa aportada de los CC se correlacionó positivamente con los macroporos a 30-600 en el espesor 0-5 y 5-10 cm,  $R^2 = 0,46$ , ( $p < 0,002$ ) y  $R^2 = 0,24$ , ( $p < 0,04$ ), respectivamente.





**Figura 2.2.** Porcentaje de macroporos entre 60-300  $\mu\text{m}$  a 0-5 y 5-10 cm de profundidad después de 6 años de la rotación soja-maíz con y sin CC. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos con CC y el control sin CC. A+V: avena+vicia.

### 2.3.2 Estabilidad de agregados y concentración de glomalinas en el suelo

El efecto de los CC sobre la estabilidad de agregados del suelo presentó interacción significativa entre CC y la profundidad del suelo. Por otro lado, no hubo efecto de la presencia o ausencia del fertilizante sobre la estabilidad de agregados. A 0-5 cm de profundidad, la estabilidad de agregados fue más estable en la secuencia soja-maíz con CC que en la misma secuencia sin CC (Cuadro 2.2). A 5-10 y 10-20 cm de profundidad, la estabilidad de agregados fue similar entre los tratamientos con o sin CC. Al inicio del experimento, en la 0-5 cm de profundidad, la estructura edáfica fue inestable (18,8%) y, después de seis años de rotación soja-maíz, se volvió moderadamente estable (25,0%) sin CC y estable con la inclusión de CC en dicha rotación (43,1%, promedio de los CC) ( $p < 0,01$ ) (Cuadro 2.2). En 5-10 cm de profundidad, comparado con el inicio, la estabilidad de agregados pasó a moderadamente estable (25,3%) ( $p < 0,01$ ), y en 10-20

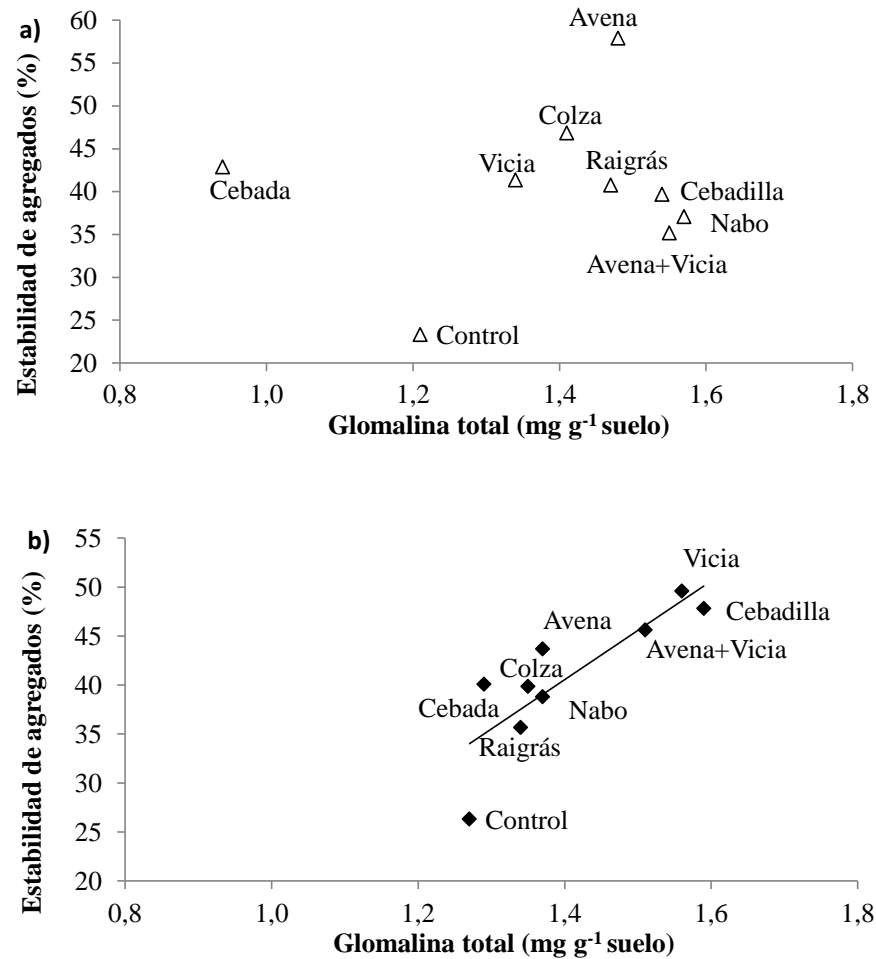
cm, la estabilidad aumentó de 7,8 a 11,6 con la inclusión de CC % ( $p<0,01$ ). Como era esperable, en los tratamientos con CC, la estabilidad de los agregados disminuyó con la profundidad del suelo.

**Cuadro 2.2.** Estabilidad de agregados del suelo (%) al comienzo del experimento y luego de 6 años de rotación soja-maíz con y sin CC a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad.

	Espesor del suelo (cm)		
	0-5	5-10	10-20
<b>Inicial</b>	18,8	12,8	7,8
<b>Avena</b>	51,9 a	27,8 d	11,8 ef
<b>Cebada</b>	42,1 ab	29,5 d	14,6 ef
<b>Raigrás</b>	38,5 abc	27,3 d	12,3 ef
<b>Cebadilla</b>	44,2 ab	24,0 d	9,4 f
<b>Vicia</b>	46,5 ab	26,9 d	11,9 ef
<b>Avena+Vicia</b>	39,9 abc	24,8 d	11,4 ef
<b>Colza</b>	43,5 ab	26,1 d	12,5 ef
<b>Nabo for.</b>	38,1 bc	21,1 d	11,3 ef
<b>Control</b>	25,0 d	20,4 de	9,5 f

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre CC y profundidad.

La concentración de glomalina en el suelo disminuyó con la profundidad y fue similar entre los tratamientos con CC y la presencia o ausencia de la fertilización nitrogenada (1,41, 1,13 y 0,96 mg g<sup>-1</sup> suelo, a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad, respectivamente;  $p<0,01$ ). La estabilidad de agregados no se relacionó con el COS ni con su fracción lábil en ninguna profundidad, pero se correlacionó positivamente con la concentración de glomalina a 0-5 cm en los tratamientos no fertilizados con N ( $r=0,84$ ;  $p<0,01$ ) (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Relación entre la concentración de glomalinas en el suelo y la estabilidad de agregados a 0-5 cm de profundidad en: a) tratamientos fertilizados ( $r=0,14$ ;  $p<0,74$ ), b) tratamientos no fertilizados ( $r=0,84$ ;  $p<0,01$ ).

### 2.3.3 Fracciones de la materia orgánica del suelo

La fertilización aumentó las concentraciones de COS y CAM a 0-5 cm de profundidad, independientemente de la inclusión de CC en la rotación (se observó interacción significativa entre fertilización y profundidad para ambas variables) (Cuadro 2.3). Además, los tratamientos con CC tuvieron un efecto significativo sobre el COS y el COP dependiendo de la profundidad del suelo y la especie de CC evaluada (las dos variables presentaron interacción significativa entre CC y profundidad). A 0-5 cm, las parcelas sembradas con avena, raigrás, vicia, avena+via y nabo forrajero como CC presentaron mayor concentración de COS que la secuencia soja-maíz sin CC. A 5-10

cm, cuando se incluyó raigrás, vicia y la mezcla de avena+vicia como CC en dicha secuencia, se observó una mayor concentración de COS que el control sin CC. En 10-20 y 20-30 cm, no se encontró diferencias significativas entre tratamientos con o sin CC y presencia o ausencia de la fertilización con N.

Por otro lado, la concentración de COP difirió entre los tratamientos con CC en todas las profundidades del suelo evaluadas. A 0-5 cm, las parcelas sembradas con vicia, avena+vicia y colza como CC en la secuencia soja-maíz presentaron mayor concentración de COP que el control sin CC. A 5-10 cm, la inclusión de raigrás, vicia y la mezcla de avena+vicia como CC fueron los tratamientos que incrementaron esta fracción lábil con respecto al control sin CC. En 10-20 cm de profundidad, con el uso de cebadilla, y en 20-30 cm, con el uso de cebada y colza, se incrementó la concentración de COP con respecto al control sin CC. Todas las fracciones de materia orgánica del suelo disminuyeron con la profundidad.

En el caso del NOS, hubo interacción significativa entre los diferentes CC, la fertilización con N y la profundidad evaluada. Para una mayor claridad en la presentación de esta interacción en los resultados, se compararon los tratamientos de CC fertilizados y no fertilizados dentro de cada profundidad. A 0-5 cm de profundidad, las parcelas sembradas con avena como CC y el control sin CC, y en presencia de la fertilización con N al maíz, presentaron mayor concentración de NOS que las parcelas no fertilizadas. En 5-10 cm de profundidad, se encontró que la inclusión de nabo forrajero como CC y la fertilización con N incrementaron la concentración de NOS en relación a las parcelas no fertilizadas mientras que las parcelas sembradas con vicia en ausencia del fertilizante nitrogenado presentaron mayor concentración de NOS en comparación con las parcelas fertilizadas. Con respecto a la profundidad de 10-20 cm, el uso de raigrás o la mezcla de avena+vicia como CC en ausencia de la fertilización

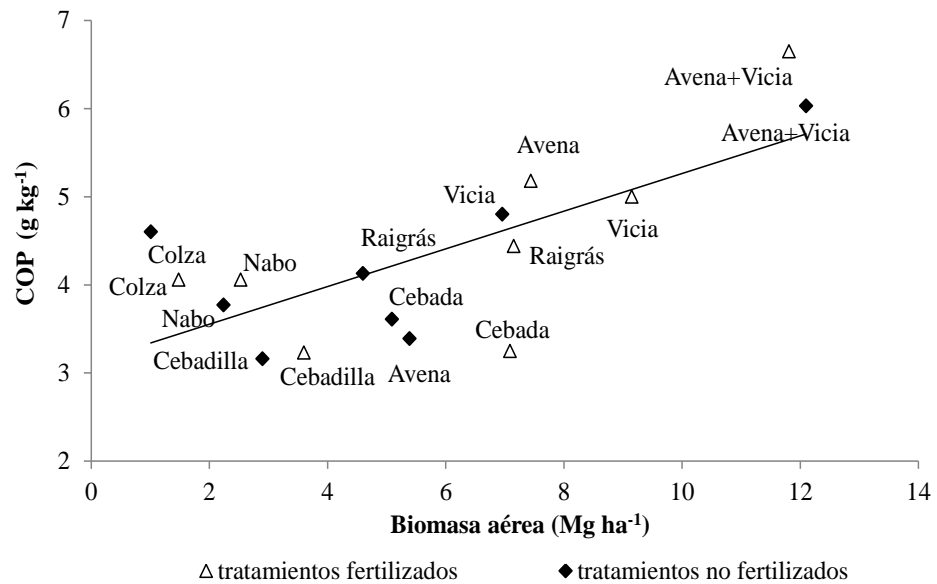
nitrogenada aplicada al maíz, incrementaron las concentraciones de NOS en relación a las parcelas fertilizadas con N.

Por otro lado, en el espesor 0-5 cm, la concentración de COS se correlacionó positivamente con la producción media de biomasa aérea de CC ( $r=0,85$ ;  $p<0,01$ ) y no se encontró asociación con la calidad (relación C/N) de los CC. Además, el COP se correlacionó positivamente con la biomasa aérea producida de los CC sembrados en el año previo al muestreo del suelo ( $r=0,72$ ;  $p<0,01$ ) (Figura 2.4).

**Cuadro 2.3.** Valores promedio de COS, NOS, COP y CAM (g kg<sup>-1</sup>) después de 6 años de rotación soja-maíz con y sin (control) cultivos de cobertura a 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de profundidad.

	COS	NOS		COP	CAM
<b>0-5 cm</b>					
		F	NF		
<b>Avena</b>	23,4 b	2,4 a	1,9 b	4,2 bcd	19,1 a
<b>Cebada</b>	22,9 bcd	2,0 a	2,2 a	3,4 cd	19,4 a
<b>Raigrás</b>	23,6 b	2,3 a	2,0 a	4,2 bcd	19,4 a
<b>Cebadilla</b>	21,4 cd	1,9 a	1,9 a	3,2 cd	18,2 a
<b>Vicia</b>	24,4 ab	2,3 a	2,4 a	4,9 b	19,6 a
<b>Avena+Vicia</b>	25,7 a	2,3 a	2,1 a	6,3 a	19,3 a
<b>Nabo for.</b>	23,1 bc	2,1 a	2,0 a	3,9 bcd	19,2 a
<b>Colza</b>	22,7 bcd	2,1 a	1,9 a	4,3 bc	18,4 a
<b>Control</b>	21,2 d	2,1 a	1,8 b	3,1 d	18,1 a
<b>F</b>	23,8 A			4,3 A	19,5 A
<b>NF</b>	22,6 B			4,1 A	18,5 B
<b>5-10 cm</b>					
		F	NF		
<b>Avena</b>	16,2 fgh	1,5 a	1,5 a	1,3 efg	14,9 a
<b>Cebada</b>	16,5 efgh	1,5 a	1,7 a	1,1 fg	15,5 a
<b>Raigrás</b>	18,2 e	1,6 a	1,7 a	1,7 e	16,4 a
<b>Cebadilla</b>	16,2 fgh	1,5 a	1,5 a	1,3 efg	14,9 a
<b>Vicia</b>	17,4 ef	1,5 b	1,8 a	1,5 ef	15,9 a
<b>Avena+Vicia</b>	17,4 efg	1,5 a	1,5 a	1,5 ef	15,9 a
<b>Nabo for.</b>	16,8 efgh	1,7 a	1,4 b	1,3 efg	15,4 a
<b>Colza</b>	15,6 gh	1,6 a	1,4 a	1,1 fg	14,5 a
<b>Control</b>	15,3 h	1,5 a	1,4 a	0,9 gh	14,4 a
<b>F</b>	16,7 C			1,3 B	15,4 C
<b>NF</b>	16,6 C			1,3 B	15,2 C
<b>10-20 cm</b>					
<b>Avena</b>	13,5 i	1,24 a	1,28 a	0,55 ij	13,0 a
<b>Cebada</b>	13,7 i	1,41 a	1,34 a	0,61 hij	13,1 a
<b>Raigrás</b>	13,8 i	1,20 b	1,41 a	0,62 hij	13,2 a
<b>Cebadilla</b>	13,2 i	1,25 a	1,21 a	0,65 hi	12,5 a
<b>Vicia</b>	13,2 i	1,24 a	1,36 a	0,50 jk	12,6 a
<b>Avena+Vicia</b>	13,1 i	1,15 b	1,34 a	0,59 hij	12,5 a
<b>Nabo for.</b>	13,5 i	1,22 a	1,33 a	0,53 ijk	12,9 a
<b>Colza</b>	13,1 i	1,28 a	1,12 a	0,55 ij	12,5 a
<b>Control</b>	13,0 i	1,28 a	1,20 a	0,50 jk	12,5 a
<b>F</b>	13,2 D			0,5 C	12,7 D
<b>NF</b>	13,4 D			0,6 C	12,8 D
<b>20-30 cm</b>					
<b>Avena</b>	11,2 j	1,08 a	1,08 a	0,28 mn	10,9 a
<b>Cebada</b>	11,7 j	1,11 a	1,14 a	0,41 kl	11,3 a
<b>Raigrás</b>	11,6 j	1,13 a	1,12 a	0,34 lmn	11,3 a
<b>Cebadilla</b>	13,3 j	1,11 a	1,17 a	0,33 lmn	12,0 a
<b>Vicia</b>	11,7 j	1,15 a	1,11 a	0,28 mn	11,5 a
<b>Avena+Vicia</b>	11,1 j	1,01 a	1,16 a	0,34 lmn	10,7 a
<b>Nabo for.</b>	11,4 j	1,13 a	1,11 a	0,30 mn	11,0 a
<b>Colza</b>	12,1 j	1,06 a	1,11 a	0,36 lm	11,8 a
<b>Control</b>	11,7 j	1,19 a	1,16 a	0,25 n	11,5 a
<b>F</b>	11,5 E			0,3 D	11,2 E
<b>NF</b>	11,7 E			0,3 D	11,4 E

Cuando hubo interacción entre CC y profundidad (COS y COP) o entre fertilización y profundidad (COS y CAM): diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) entre CC (y profundidad). Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre fertilizante (y profundidad). Cuando hubo triple interacción entre CC\*fertilización\*profundidad (NOS), diferentes letras minúsculas indicaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre fertilizado (F) y no fertilizado (NF) entre CC y profundidad.



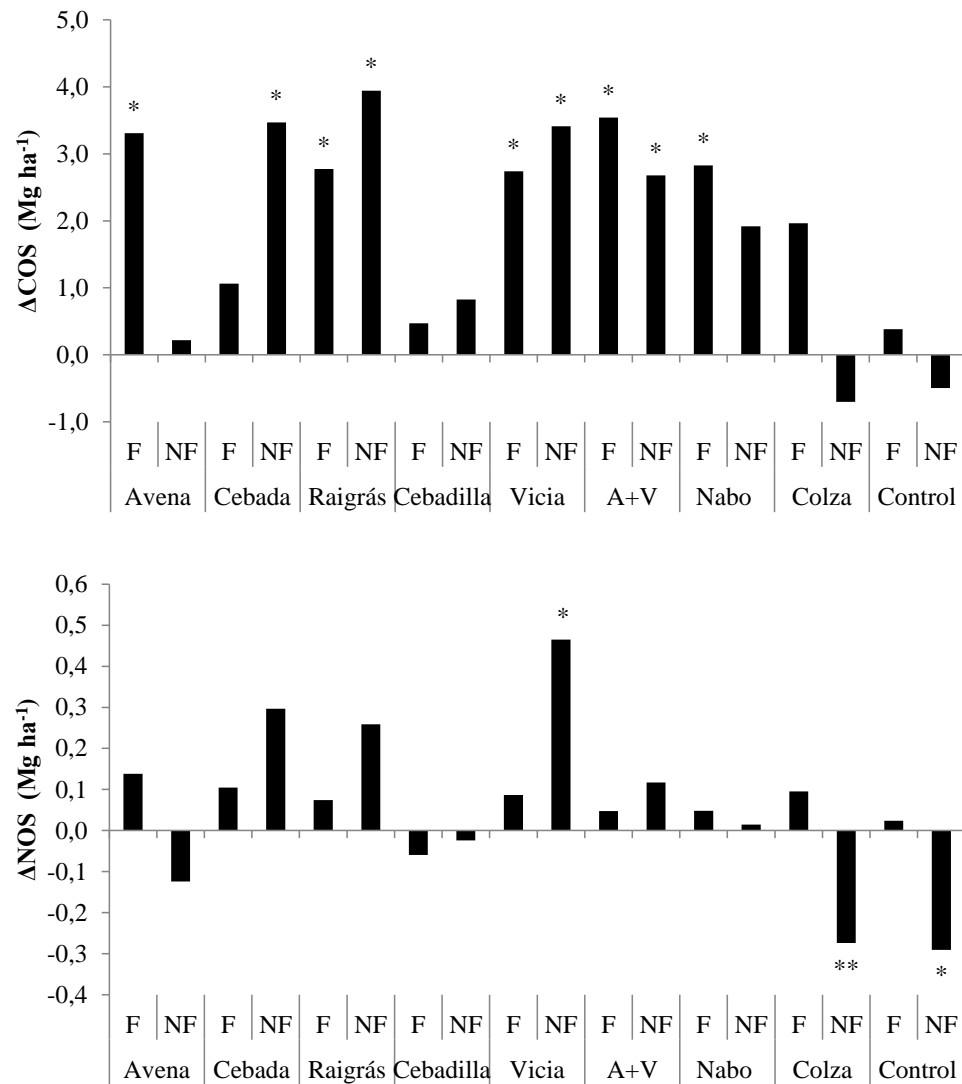
**Figura 2.4.** Relación entre el COP y la producción de biomasa aérea de los cultivos de cobertura a 0-5 cm de profundidad ( $r=0,72$ ;  $p<0,01$ ). En Anexo 2 se presenta la producción de biomasa aérea de los CC.

### 2.3.4 Cambios en las reservas de C y N del suelo

El stock inicial de COS fue de  $34,9 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Después de seis años de rotación soja-maíz sin CC, o con cebadilla y colza como CC, las reservas de COS se mantuvieron constantes tanto en las parcelas fertilizadas como en las no fertilizadas con N (Figura 2.5). Cuando las gramíneas, excepto cebadilla, se incluyeron como CC, las reservas de COS aumentaron independientemente de la fertilización nitrogenada, mientras que con avena y cebada las reservas se incrementaron en presencia y ausencia del fertilizante nitrogenado, respectivamente. La inclusión de vicia y la mezcla avena+via aumentaron las reservas de COS con y sin fertilización nitrogenada. En el caso de las crucíferas, sólo el nabo forrajero aumentó el stock de COS en las parcelas fertilizadas.

El stock inicial de NOS fue de  $3,38 \text{ Mg ha}^{-1}$ . En ausencia de fertilización con N, la secuencia soja-maíz sin CC y la inclusión de colza como CC, disminuyeron las reservas de NOS mientras que aumentó cuando se incluyó vicia como CC. Todos los demás tratamientos de CC en ausencia o presencia de la fertilización nitrogenada mantuvieron

las reservas de NOS con respecto al inicio. Las reservas de COS y NOS se correlacionaron positivamente ( $r=0,83$ ;  $p<0,01$ ).

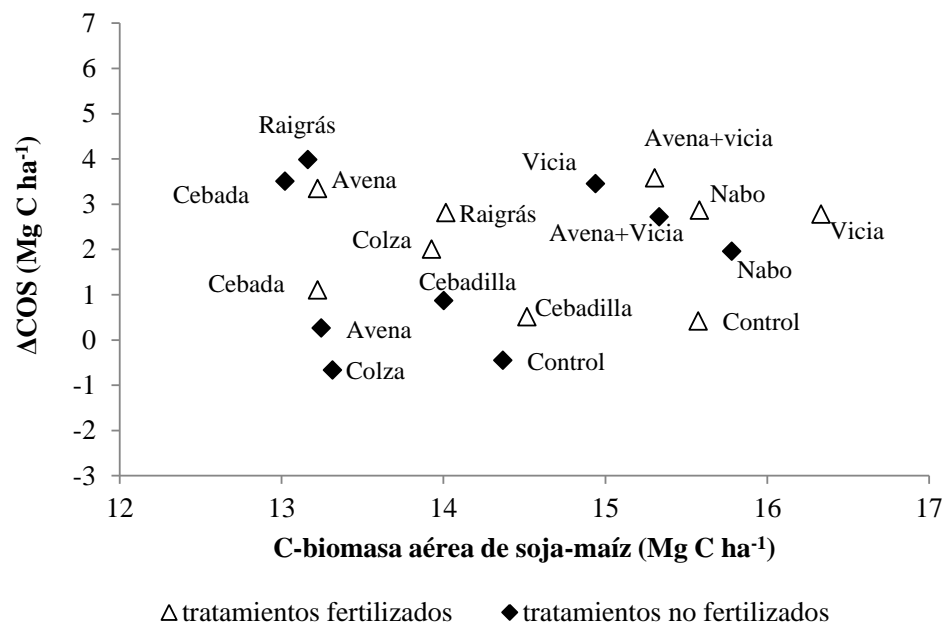


**Figura 2.5.** Cambios en las reservas de (a) COS y (b) NOS a 2200 Mg suelo ha<sup>-1</sup> después de 6 años de soja-maíz con y sin CC y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente). Uno y dos asteriscos indican diferencias significativas ( $p<0,05$  y  $p<0,10$ , respectivamente) comparando el inicio con el final del experimento: reservas de COS y NOS inicial fueron de 34,9 y 3,38 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. A+V: avena+vicia

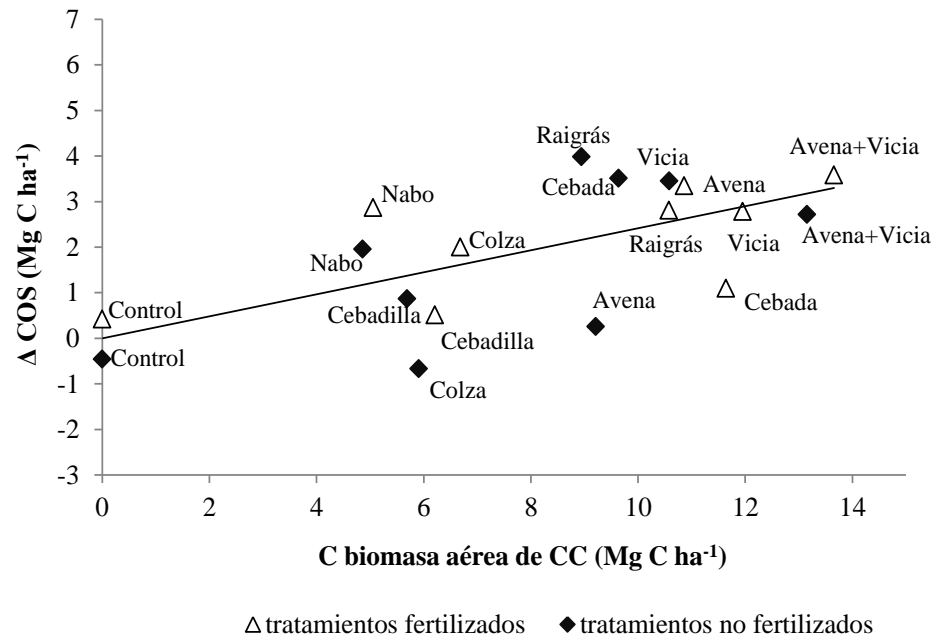
El cambio en las reservas de COS (COS a los seis años-COS inicial) mostró una relación lineal positiva con el ingreso de C producido (biomasa aérea) durante seis años por la rotación soja-maíz con y sin CC ( $R^2=0,44$ ;  $p<0,003$ ). Sin embargo, al analizar el



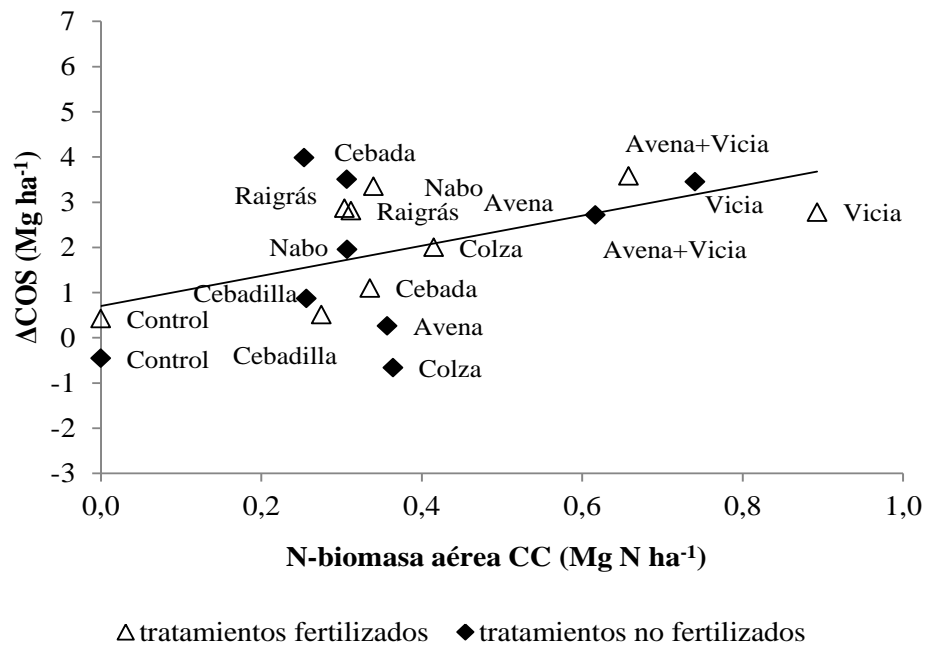
efecto aislado de los aportes de los cultivos de cosecha, no se encontró relación entre el cambio en las reservas de COS y el aporte de C proveniente de estos cultivos ( $R^2=0,01$ ;  $p<0,65$ ) (Figura 2.6). El cambio en el COS estuvo particularmente asociado al ingreso de C a partir de la biomasa aérea de los CC ( $R^2=0,40$ ;  $p<0,01$ ) (Figura 2.7). La pendiente de la regresión, que representa el coeficiente de humificación aparente, fue de 0,24. Los ingresos de N a partir de la biomasa aérea de los CC se asociaron positivamente con los cambios de COS ( $R^2=0,25$ ;  $p<0,03$ ) (Figura 2.8) y mostraron una tendencia al relacionarlos con las reservas de NOS ( $R^2=0,19$ ;  $p<0,1$ ).



**Figura 2.6.** Relación entre los ingresos de C de la biomasa aérea producida por los cultivos de soja y maíz para cada tratamiento (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo ha<sup>-1</sup> (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $R^2=0,01$ ;  $p<0,65$ ).



**Figura 2.7.** Relación entre los ingresos de C de la biomasa aérea producida por los CC (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo  $\text{ha}^{-1}$  (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $y=0,24x$ ;  $R^2=0,40$ ;  $p<0,01$ ). La biomasa aérea producida por los CC está disponible en Anexo 2.



**Figura 2.8.** Relación entre los ingresos de N de la biomasa aérea producida por los CC (x) y los cambios en las reservas de COS a 2200 Mg suelo  $\text{ha}^{-1}$  (y) después de 6 años de la secuencia soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y con y sin fertilización nitrogenada al cultivo de maíz (F y NF, respectivamente) ( $R^2=0,25$ ;  $p<0,03$ ). La biomasa aérea producida por los CC está disponible en Anexo 2.

### 2.3.5 Balance de nitrógeno

En la rotación soja-maíz sin y con la inclusión de CC, excepto vicia, los egresos de N (exportaciones de granos y lixiviación) excedieron los ingresos (fertilización, fijación biológica de la soja y deposición atmosférica) (Cuadro 2.4). El exceso de N en las rotaciones con vicia como CC se asoció con el aporte adicional estimado de N proveniente de la fijación biológica. Los déficits de N (egresos > ingresos) en las rotaciones con gramíneas y crucíferas como CC, oscilaron entre -91 y -276 kg N ha<sup>-1</sup> mientras que, en la rotación soja-maíz sin CC fue entre -291 y -398 kg N ha<sup>-1</sup>, pudiendo explicarse la diferencia por una mayor pérdida de N por lixiviación en ausencia de CC.

Los resultados del balance (en algunos casos positivos y otros negativos según el tratamiento) se relacionaron con los cambios en el almacenaje de N en distintos compartimentos (N-NO<sub>3</sub> en el suelo, NOS y N en la biomasa de CC), entre la situación inicial y después de seis años de rotación, para explicar las fuentes de N en el caso de déficit de N (saldo negativo) y los destinos de N en el caso de N excedente (saldo positivo) (Cuadro 2.4). Así, después de seis años de rotación soja-maíz, el almacenaje de N en diferentes compartimentos disminuyó en la parcela del control sin CC, en rotaciones con crucíferas y gramíneas como CC (excepto en las parcelas fertilizadas con avena y en las no fertilizadas con cebada y raigrás), y aumentaron en la secuencia soja-maíz con vicia y la mezcla avena+viaja como CC en ausencia de la fertilización con N. Cuando no se aplicó N como fertilizante al maíz, el mayor déficit de N (-398 kg ha<sup>-1</sup>) se explicó por la disminución general del almacenamiento de N (-407 kg ha<sup>-1</sup>) en el caso del control sin CC, y el excedente de N (208 kg ha<sup>-1</sup>) se vinculó con el almacenamiento de N (357 kg ha<sup>-1</sup>) en la rotación con vicia como CC. El resultado del balance de N se correlacionó positivamente con los cambios de stock de NOS solo en los tratamientos no fertilizados ( $r=0,65$ ;  $p<0,06$ ).

**Cuadro 2.4.** Componentes del balance de N ( $\text{kg N ha}^{-1}$ ) y cambios en el almacenaje de NOS ( $\text{kg N ha}^{-1}$ ) después de 6 años de rotación soja-maíz con y sin cultivos de cobertura y en ausencia o presencia de fertilización con N.

	Entradas			Salidas		Balance	ΔAlmacenaje			Total
	Fertilizante	Fijación Biológica	Deposición atmosférica <sup>a</sup>	Exportación grano	Lixiviación		ΔN-NO <sub>3</sub> <sup>b</sup>	Δ NOS <sup>c</sup>	ΔN-CC <sup>d</sup>	
<b>Avena</b>	96	776	37	1006	28	-126	-169	138	57	25
<b>Cebada</b>	96	744	37	976	28	-127	-172	105	56	-12
<b>Raigrás</b>	96	812	37	1031	28	-114	-175	74	52	-49
<b>Cebadilla</b>	96	742	37	959	28	-112	-171	-60	46	-185
<b>Vicia</b>	96	1347	37	1119	28	333	-168	86	74	-7
<b>Avena+Vicia</b>	96	1151	37	1006	28	250	-172	48	73	-51
<b>Nabo for.</b>	96	810	37	1006	28	-91	-173	48	51	-74
<b>Colza</b>	96	788	37	1045	28	-153	-174	95	69	-10
<b>Control</b>	96	847	37	1163	107	-291	-122	24	0	-99
<b>Avena</b>		772	37	932	28	-151	-171	-124	59	-235
<b>Cebada</b>		772	37	942	28	-162	-173	297	51	175
<b>Raigrás</b>		780	37	989	28	-201	-174	259	42	127
<b>Cebadilla</b>		804	37	1003	28	-190	-175	-24	43	-156
<b>Vicia</b>		1224	37	1025	28	208	-170	465	62	357
<b>Avena+Vicia</b>		1139	37	1027	28	121	-173	117	69	12
<b>Nabo for.</b>		802	37	1087	28	-276	-172	14	51	-107
<b>Colza</b>		741	37	924	28	-175	-174	-274	61	-387
<b>Control</b>		729	37	1056	107	-398	-117	-291	0	-407

<sup>a</sup>Deposición anual media considerada de  $6,1 \text{ kg N ha}^{-1}$  (Carnelos et al. 2019).

<sup>b</sup>en 0-100 cm de profundidad.

<sup>c</sup>en  $2200 \text{ Mg suelo ha}^{-1}$ .

<sup>d</sup>contenido de N de la biomasa aérea producida por cada CC.

## 2.4 Discusión

### 2.4.1 Efecto de los CC sobre la estructura del suelo

Las especies utilizadas como CC, particularmente gramíneas, colza y vicia, incrementaron la proporción de macroporos de 60-300  $\mu\text{m}$  a 0-10 cm de profundidad en comparación con parcelas sin CC. Los CC extendieron el período con raíces vivas, creando, probablemente, mayor cantidad de bioporos después de seis años en rotación. Las gramíneas son especies con múltiples raíces fibrosas y una gran cantidad de ramificaciones que actúan como una malla para unir las partículas del suelo (Loades et al. 2013). Por el contrario, las crucíferas tienen una raíz central de la cual salen raíces secundarias: el nabo forrajero tiene una raíz principal que es carnosa, cilíndrica y dominante, con raíces gruesas, mientras que la colza tiene varias raíces principales, más fibrosas, que se localizan cerca de la superficie del suelo, y presenta muchos pelos finos laterales que salen de las raíces principales (Chen y Weil 2010). Estas diferencias, probablemente, explican por qué la colza aumentó la proporción de macroporos de 60–300  $\mu\text{m}$ . Sin embargo, después de dos años de rotación con nabo forrajero como CC, Restovich et al. (2011) encontraron una mayor macroporosidad a 10–20 cm de profundidad, probablemente asociado a una alta producción de biomasa debido a la alta disponibilidad inicial de  $\text{NO}_3$  en el suelo (Restovich et al. 2012). Chen y Weil (2010) observaron que el nabo forrajero tenía raíces más profundas cuando se fertilizaba, y Sasal y Andriulo (2005) encontraron un aumento en la porosidad total en los primeros 23 cm de suelo después de 2 años de rotación con nabo forrajero fertilizado con N utilizado como CC. Por otro lado, al cuarto y quinto año de rotación no se sembró nabo forrajero como CC (por falta de semilla), lo que también pudo haber impactado negativamente en la construcción de macroporos.

En 2005, después del primer secado de CC en la rotación, se observó que avena había aumentado transitoriamente la estabilidad de los agregados en 0-5 cm de profundidad (Restovich et al. 2011). Después de seis años de rotación soja-maíz con CC, se encontró que todas las especies evaluadas como CC aumentaron la estabilidad de agregados en 0-5 cm en comparación con el control sin CC. En este estudio, la variación en la producción de biomasa aérea de CC explicó la variación en el COS; sin embargo, el COS no se correlacionó con la estabilidad de agregados, posiblemente porque la productividad influye en la agregación del suelo a través de diferentes mecanismos. La materia orgánica total del suelo a veces se correlaciona con la estabilidad de los agregados (Novelli et al. 2013, Irizar et al. 2015), pero otras veces no (Restovich et al. 2011, Paul et al. 2013), sugiriendo que solo una parte de la materia orgánica es responsable de la estabilidad de los agregados y que los residuos orgánicos no siempre son los principales agentes cementantes (Tisdall y Oades 1982). Rillig et al. (2002) y Bronick y Lal (2005) explicaron que la estructura y distribución de la raíz, la calidad y la cantidad de ingreso de C, el microclima del suelo, los microorganismos del suelo y sus actividades pueden influir en su agregación. Wright et al. (2007) propusieron a la glomalina como un cementante microbiano para la formación de agregados del suelo, además de la materia orgánica particulada postulada por Six et al. (2004). Los resultados de esta tesis muestran que se encontró una asociación estrecha entre la concentración de glomalina del suelo y la estabilidad de los agregados en parcelas no fertilizadas con N. Esta relación también se mostró en diferentes suelos (Wright y Upadhyaya 1998) y se relacionó con diferentes prácticas de manejo del suelo (Wright 2005). La respuesta de la abundancia y composición de los HMA a la fertilización con N es variable y podría ser específica del sitio (Avio et al. 2013, Chen et al. 2014). La ausencia de correlación entre la concentración de glomalina y la estabilidad de los agregados en las

parcelas fertilizadas podría estar relacionada con una mayor variabilidad en la concentración de glomalina en el suelo y mayor ingreso de C con la fertilización nitrogenada. Esto sugiere que la biomasa de raíces y otros microorganismos, diferentes a los HMA, podrían ser agentes de agregación importantes bajo sistemas con fertilización nitrogenada.

#### **2.4.2 Efecto de los CC y la fertilización con N sobre las fracciones de la materia orgánica del suelo**

Los CC aumentaron el COS en los primeros 10 cm del suelo después de seis años de incluidos en la rotación soja-maíz, confirmando la importancia de intensificar las secuencias agrícolas con CC para potenciar el secuestro de C en los agroecosistemas (Schipanski et al. 2014). La producción de biomasa aérea de CC explicó la variación del COS en 0-5 cm, lo que refuerza la importancia del aporte de C a partir del uso de CC para incrementar el COS (Poeplau y Don 2015). La fertilización nitrogenada aplicada al maíz promovió la acumulación de COS en los primeros 5 cm del suelo y se almacenó en la fracción mineral, probablemente en asociación con el incremento en el rendimiento del maíz fertilizado en 2005 y 2007 (Restovich et al. 2012). El aporte de biomasa aérea proveniente de los CC aumentó la acumulación de COP, independientemente de la fertilización del maíz, hecho que confirma la sensibilidad de esta fracción a los cambios en las prácticas de manejo. Duval et al. (2016) y Dube et al. (2012) informaron que los CC de ciclo otoño-invernal son los principales contribuyentes a la materia orgánica particulada.

El NOS fue menor en la secuencia soja-maíz sin CC y sin fertilización nitrogenada que en la misma secuencia con fertilizante en 0-5 cm de profundidad, lo que demuestra que los insumos externos de N son esenciales para mantener las reservas de N en una rotación de

soja-maíz. Sisti et al. (2004) observaron que la falta de aporte externo de N bajo algunos sistemas de SD de Brasil redujo la materia orgánica del suelo, especialmente en rotaciones con soja como único cultivo leguminosa, debido al balance de N cercano al neutro (N fijado - N exportado en grano) de este cultivo (Salvagiotti et al. 2008). Entre las especies evaluadas como CC, la inclusión de avena y la ausencia de fertilización con N al maíz también redujo el NOS. Esto está de acuerdo con Dube et al. (2012), quienes informaron que la fertilización con N es importante para aumentar la materia orgánica del suelo en una rotación de avena y maíz.

Las parcelas no fertilizadas con N al maíz y sembradas con vicia acumularon más NOS que las parcelas fertilizadas a 5-10 cm de profundidad, y las parcelas con raigrás y la mezcla de avena+via como CC acumularon más NOS en los 10-20 cm de profundidad. Dube et al. (2012) observaron que la ausencia de fertilización con N en maíz aumentó la proporción de materia orgánica en el perfil inferior y esto, probablemente, se asocie con una exploración más profunda de las raíces por la búsqueda de nutrientes. Además, los sistemas agrícolas con CC leguminosa y sin fertilización con N promueven la actividad funcional microbiana y la diversidad y abundancia de microorganismos simbióticos como los HMA, mejorando el ciclado de C y N mediado por microorganismos (Mbuthia et al. 2015, Nivelles et al. 2016).

#### **2.4.3 Cambios en las reservas de C y N del suelo y balance de N**

Después de seis años de rotación soja-maíz sin CC, las reservas de COS se mantuvieron con respecto al inicio. Con los CC, la tasa promedio de acumulación de COS fue de  $0,36 \pm 0,23 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ : con gramíneas  $0,20-0,55 \text{ Mg C ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ , con excepción de la secuencia soja-maíz con inclusión de avena y sin fertilización nitrogenada y cebadilla,



independientemente de la fertilización al maíz, que no aumentaron el COS; el uso de vicia y la mezcla de avena+viaja acumularon 0,45-0,59 Mg ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup> y las crucíferas (excepto la colza sin fertilizar) acumularon 0,33-0,47 Mg ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup>. Poeplau y Don (2015) compararon, a nivel mundial, diferentes estudios con CC y concluyeron que su inclusión en secuencias agrícolas aumenta las reservas orgánicas de C en el suelo con un secuestro promedio de COS de 0,32 ± 0,08 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. La humificación aparente de C proveniente de la biomasa aérea derivada de los CC fue de 0,24, similar a la reportada por Constantin et al. (2010) (0,28) y más alto que el coeficiente de humificación de los residuos de cereales bajo SD (0,11-0,14) (Saffih-Hdadi y Mary 2008).

Por otro lado, Álvarez (2005) concluyó que el uso de fertilizantes nitrogenados o labranza conservacionistas aumentan las reservas orgánicas de C y que el impacto es mayor cuando las rotaciones incluyen maíz o que contienen más de un cultivo por año. La presencia de maíz en la rotación aumenta el COS debido a la mayor cantidad de residuos de maíz en comparación con la soja (Alvarez et al. 2014, Mazzilli et al. 2014). En esta tesis, se encontró que la rotación soja-maíz en ausencia de la fertilización nitrogenada y con la inclusión de cebada, raigrás, vicia y la mezcla de avena+viaja aumentó las reservas de COS posiblemente asociado a que el aporte de C de los CC compensa la disminución en el aporte de C por menor rendimiento del maíz (Restovich et al. 2012).

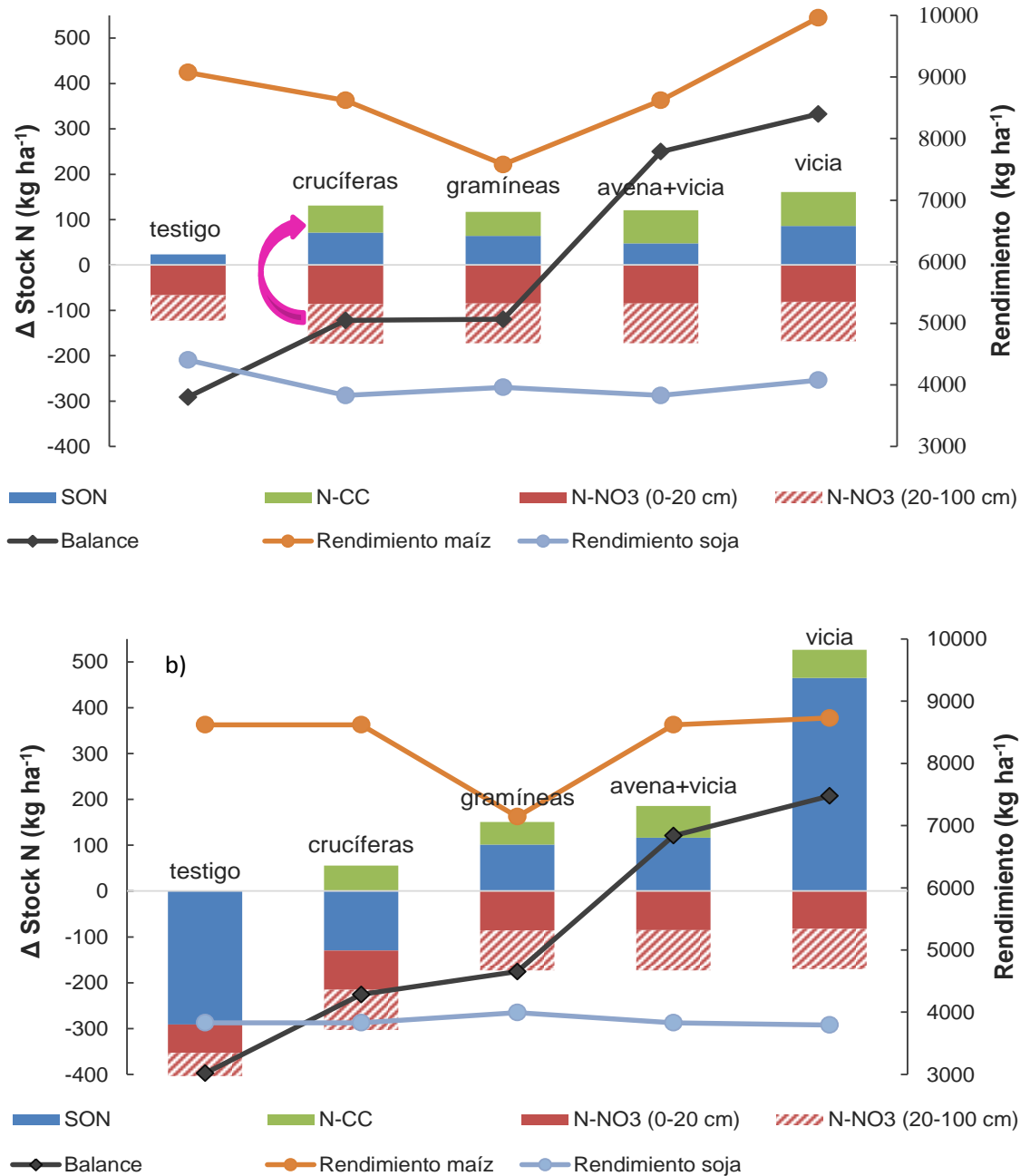
Las reservas de NOS se mantuvieron en la rotación soja-maíz sin CC combinado con fertilización nitrogenada en el maíz, pero disminuyeron en el control no fertilizado. El control no fertilizado, además de la falta de aporte de N inorgánico, tuvo menores aportes de biomasa de los cultivos de cosecha, particularmente del maíz, en comparación con las parcelas fertilizadas con N (Restovich et al. 2012), lo que disminuyó la reserva de NOS. La inclusión de CC en la rotación impidió una pérdida de 79 kg de N ha<sup>-1</sup> por lixiviación y la

fertilización con N del maíz introdujo 96 kg de N ha<sup>-1</sup> durante todo el período experimental; y ambos tratamientos mantuvieron las reservas de NOS. Nivelles et al. (2016) también encontraron que los CC son esenciales para mantener las reservas de C y N en sistemas no fertilizados. Para mantener o aumentar los niveles de materia orgánica del suelo, es necesario acoplar la incorporación de residuos de C e ingresos de N, involucrando flujos de energía y ciclos de nutrientes en el espacio y el tiempo (Sisti et al. 2004; Tonitto et al. 2006; Alvarez et al. 2014). Por otro lado, las rotaciones con vicia aumentaron el aporte de N y, por consiguiente, el excedente de N (ingresos > egresos), lo cual incrementó las reservas orgánicas de N en los tratamientos no fertilizados mientras que esto no se observó en los tratamientos fertilizados con N. En este estudio, se asumió que la lixiviación de N era uniforme en todos los tratamientos de CC; sin embargo, las estaciones secas restringen la producción de maíz y la absorción de N, y las rotaciones con vicia como CC dejan niveles particularmente altos de N residual en la cosecha de maíz fertilizado, lo que aumenta el riesgo de lixiviación de N entre la cosecha de maíz y la siembra del CC posterior (Restovich et al. 2012). Esto puede haber resultado en una sobreestimación de los excedentes de N en la rotación fertilizada con vicia, y puede explicar por qué la combinación de estos tratamientos no mejoró la acumulación de NOS.

El almacenaje de N en el sistema suelo-planta cambió del compartimento inorgánico más lábil a formas orgánicas más estables (NOS y biomasa de CC) después de la introducción de CC (Figura 2.9), incrementando la permanencia y el reciclado de N dentro del sistema. El manejo de estos compartimentos de N permite suministrar este nutriente, a partir de la mineralización de NOS y la descomposición de los residuos de CC, para satisfacer la demanda de los cultivos de cosecha y aumentar la estabilidad ecológica del agroecosistema. Por otro lado, después de seis años de una rotación soja-maíz sin CC, el

almacenaje de N (NOS y N mineral) disminuyó más en los tratamientos no fertilizados y en menor medida en los fertilizados, y esto estuvo de acuerdo con los déficits estimados a través de los balances de N.

La introducción de los CC en las rotaciones anuales con baja o nula fertilización nitrogenada aplicada al maíz, presenta una oportunidad para aumentar los servicios ecosistémicos proporcionados por los sistemas agrícolas más allá de la provisión de alimentos. Los resultados muestran que los CC, impactan positivamente sobre la estructura del suelo y producen cambios beneficiosos en los ciclos de C y N del suelo asociados con servicios ecosistémicos de soporte. Por otro lado, los CC se consideran una herramienta de manejo viable solo si no interfieren con la producción de cultivos de cosecha y la rentabilidad a corto plazo (Schipanski et al. 2014). En Restovich et al. (2012), se encontró que los CC no solo mantuvieron los rendimientos de maíz y soja similares a los obtenidos sin CC, sino que la vicia proporcionó suficiente N al cultivo de maíz siguiente para lograr rendimientos superiores al control sin CC, en años sin limitación de agua.



**Figura 2.9.** Cambios en el almacenaje de N (barras) entre la situación inicial y luego de 6 años de rotación y su relación con el balance de N (líneas negras) y el rendimiento en grano (línea gris) para la rotación soja-maíz con y sin CC y con (a) y sin (b) fertilización con N al maíz. Los compartimentos de almacenaje de N son: N-NO<sub>3</sub> en suelo a 0-20 y 20-100 cm de profundidad, reservas de NOS a 2200 Mg suelo ha<sup>-1</sup>, y el contenido de N en la biomasa de los CC. Los rendimientos de soja y maíz se presentan en Anexo 4. La flecha indica que el almacenaje de N cambió de compartimentos inorgánicos más lábiles a formas orgánicas más estables (NOS y biomasa de CC) después de la introducción de CC.

## 2.5 Conclusiones

Después de seis años de rotación, los CC combinados con o sin fertilización nitrogenada al maíz aumentaron la porosidad y la estabilidad de agregados y produjeron cambios beneficiosos en las reservas orgánicas de C y el N del suelo. Las gramíneas, vicia y la mezcla avena+viaja y, dentro de las crucíferas, colza, aumentaron la porosidad del suelo favoreciendo los macroporos entre 60-300  $\mu\text{m}$  en la profundidad de 0-10 cm. La inclusión de CC incrementó la estabilidad de agregados del suelo en 0-5 cm de profundidad. Además, la mayoría de los CC aumentaron las reservas de COS y el uso de vicia incrementó el COS y NOS en ausencia de la fertilización con N. El mayor tiempo ocupado el suelo con especies vegetales de ciclo otoño-invernal impactó positivamente sobre las reservas orgánicas de C y N del suelo en asociación con un mayor aporte de C a partir de los residuos, mayor aporte de N (a partir de la fijación biológica) en el caso de vicia y su mezcla con avena y por aumentar la permanencia y el reciclado de N dentro del sistema (cambia el N inorgánico a formas orgánicas más estables). La ausencia de la fertilización nitrogenada, por un lado, aumentó la concentración del NOS en profundidad luego de la inclusión de raigrás y la mezcla avena+viaja, posiblemente asociado a una exploración más profunda de las raíces, y, por el otro, enfatizó el efecto de la glomalina como agente cementante de los agregados del suelo.

Los resultados de este capítulo destacan la importancia de intensificar los agroecosistemas simplificados con CC (especies monoespecíficas y mezcla gramínea+leguminosa) y combinarlos con nula o baja dosis de fertilización nitrogenada, con la finalidad de restaurar funciones y procesos del suelo perdidos e incrementar la sustentabilidad de los sistemas agrícolas en el largo plazo.

**3. CAPÍTULO 3: Efecto del uso de mezclas de cultivos de cobertura sobre diferentes propiedades edáficas y productivas en secuencias agrícolas simplificadas**

### 3.1 Introducción

Los agroecosistemas actuales han disminuido la diversidad de especies de plantas, tanto espacial como temporalmente (Meyer et al. 2013). Además, se volvieron dependientes de insumos externos, despreciando el rol de procesos edáficos como el ciclado de nutrientes, y perdieron capacidad para proveer algunos servicios ecosistémicos asociados al suelo (Bender et al. 2016; El Mujtar et al. 2019). La inclusión de CC en los sistemas de cultivos anuales incorpora una importante biodiversidad temporal, taxonómica y funcional (Schipanski et al. 2014), mientras que proporcionan otros servicios ecosistémicos adicionales en los sistemas agrícolas, como el aumento en la calidad y el funcionamiento del suelo, ciclado de nutrientes, menor erosión, calidad del agua, regulación de plagas y productividad de los cultivos (Thorup-Kristensen et al. 2003, Tonitto et al. 2006; Drinkwater et al. 2011, Restovich et al. 2012, Pinto et al. 2017).

Experiencias anteriores han demostrado que la introducción de CC en una rotación aumenta la materia orgánica del suelo (Poeplau y Don 2015), retiene N en su biomasa (Constantin et al. 2010, Restovich et al. 2012, Portela et al. 2016), y mejora la agregación del suelo (Restovich et al. 2011, Rimski-Korsakov et al. 2015). Además, algunos estudios muestran que los CC aportan nutrientes a los cultivos de cosecha, particularmente las leguminosas y sus consociaciones, permitiendo la reducción de las dosis de fertilización; y que los rendimientos se mantienen e incluso aumentan con el uso de CC (Restovich et al. 2012, Schipanski et al. 2014). Sin embargo, otros estudios han registrado, dependiendo de condiciones locales edafoclimáticas, reducciones en el rendimiento de los cultivos principales de la rotación luego del uso de CC (Abdalla et al. 2019). Tribouillois et al. (2018) informaron que el consumo de agua del suelo por los CC tiene un efecto negativo

sobre el cultivo de cosecha posterior y que la inmovilización del N del suelo debido a la acumulación de residuos de los CC de menor calidad, también es una importante preocupación.

Cada especie de CC (o familia) es reconocida por prestar servicios o funciones específicas al sistema de cultivo, por ejemplo, vicia, y las leguminosas en general, fijan biológicamente el N atmosférico, lo que permite reducir el ingreso de N a través de la fertilización inorgánica (Kaye y Quemada 2017). Las gramíneas generalmente producen abundante biomasa y de lenta descomposición debido a su relación C/N relativamente alta, proporcionando mayor protección del suelo por los residuos, como también la regulación de la temperatura y la humedad del suelo (Rimski-Korsakov et al. 2015). Las gramíneas también tienen raíces fibrosas con una gran cantidad de pelos radicales que actúan como una malla, mejorando la estructura del suelo (Loades et al. 2013). Por otro lado, las crucíferas producen raíces pivotantes que penetran las capas profundas del suelo reduciendo la compactación (Chen et al. 2014). Otros servicios están relacionados con atributos de los CC más que con una especie o familia en particular. Por ejemplo, la competencia y/o supresión de malezas, la absorción de N y el aporte de C al suelo se correlacionan positivamente con la producción de biomasa de CC (Poeplau y Don 2015, Rimski-Korsakov et al. 2015).

Aunque los CC pueden utilizarse como una sola especie, la incorporación de mezclas de especies de CC en rotación con cultivos comerciales, se propone como una estrategia emergente e innovadora desde hace unos años para proveer, de forma simultánea, múltiples funciones o servicios del ecosistema a partir de los distintos atributos de las especies (Finney y Kaye 2017). En Restovich et al. (2012) observamos que el rendimiento de maíz luego de la incorporación de vicia como CC fue similar al uso de vicia+avena, pero el N



residual a la cosecha del maíz fue menor luego de la mezcla de CC. Este resultado demuestra el potencial de combinar especies para mejorar la sincronía entre la liberación de N de los residuos del CC y la demanda del cultivo de cosecha. Por otro lado, también se observó dentro de las especies monoespecíficas evaluadas que el nabo forrajero se destacó como generador de porosidad en la base del horizonte A1 y la avena como estabilizadora del sistema poroso (Restovich et al. 2011). Así, los servicios reportados por estas especies utilizadas como CC en el corto plazo estimularon a explorar las mezclas de estas especies en busca de combinar servicios que aumenten la sustentabilidad y la resiliencia de los agroecosistemas poco diversificados y con bajas dosis de fertilización nitrogenada.

El objetivo fue evaluar los cambios en las propiedades del suelo (fracciones orgánicas y estructura) y en la productividad (biomasa de CC y rendimiento del cultivo de cosecha) después de cinco años de rotación con dos mezclas de CC introducidas en las secuencias soja-soja y soja-maíz con baja fertilización nitrogenada al maíz. Las mezclas de CC estuvieron compuestas por una gramínea (avena) y una crucífera (nabo forrajero) en presencia y ausencia de leguminosa (vicia).

## **3.2 Materiales y métodos**

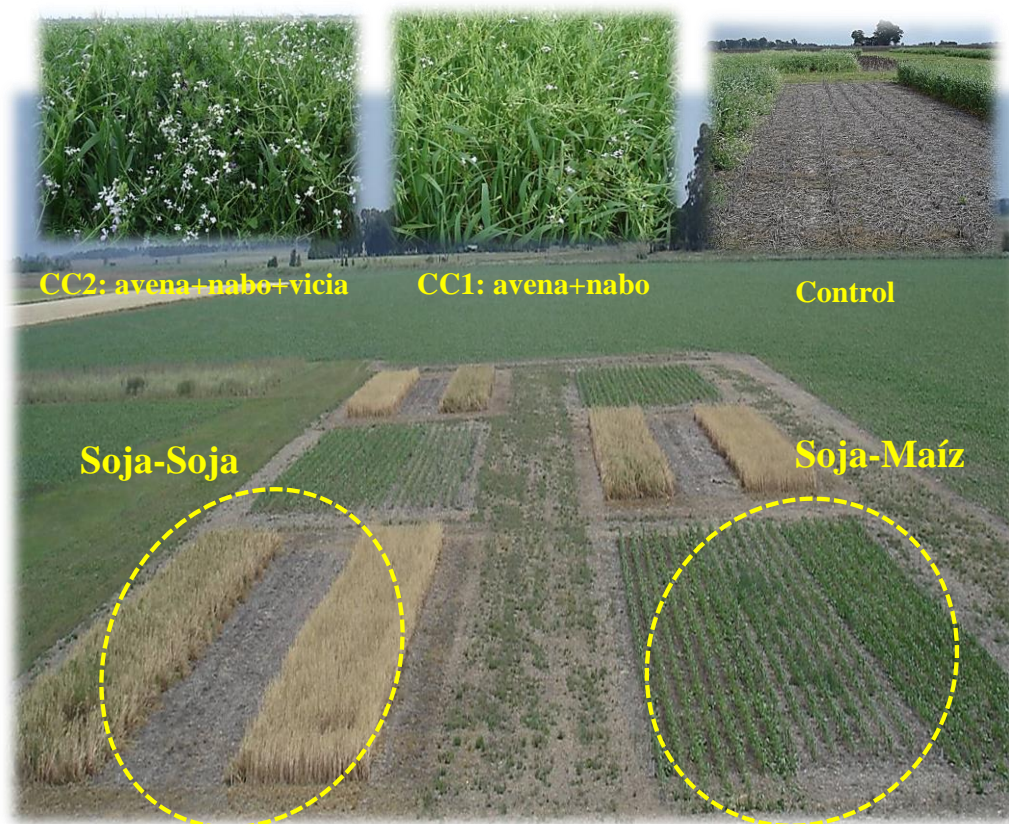
### **3.2.1 Sitio de estudio y diseño experimental**

En el año 2011 se instaló un experimento de campo en la Estación Experimental Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (33°51'S, 60°40'W) con dos secuencias de cultivo (soja-soja y soja-maíz) con mezclas de CC bajo SD. Las especies utilizadas como CC fueron: avena (*Avena sativa L.*), vicia (*Vicia sativa L.*) y nabo forrajero (*Raphanus sativus L.*), que se combinaron en dos mezclas: avena + nabo forrajero

(CC1) con densidades de 80 y 20 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente y avena + nabo forrajero + vicia (CC2) con densidades de 20, 20 y 40 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Además, se incluyó un control sin CC, el cual se mantuvo sin malezas utilizando control químico (Figura 3.1). Los tratamientos fueron: a) soja-CC1-soja; b) soja-CC2-soja; c) soja-barbecho-soja (control); d) soja-CC1-maíz; e) soja-CC2-maíz; y f) soja-barbecho-maíz (control). El diseño experimental fue en parcelas divididas con tres repeticiones (bloques). La parcela principal (30 m de largo y 15 m de ancho) correspondió a la secuencia del cultivo de cosecha y la subparcela los tratamientos con CC y al control sin CC. El clima es templado húmedo, sin estación seca, con una temperatura media anual de 16,5°C y una precipitación media anual de 971 mm para el período 1910-2010 (base de datos de la red agroclimatológica, INTA). La lluvia y el drenaje ocurren principalmente en otoño y primavera, y los meses de verano se caracterizan por déficits de lluvia de intensidad variable.

El cultivo de soja (*Glycine max L.*) var. DM 5.1 se sembró con un espacio entre hileras de 0,52 m y una densidad de 500.000 plantas ha<sup>-1</sup>. En la rotación soja-maíz, la siembra de soja, durante el mes de noviembre, fue en 2012, 2014 y 2016 o todos los años en la secuencia soja-soja; el cultivo de maíz (*Zea mays L.*) DK 747, se sembró entre fines de septiembre y primera quincena de octubre en hileras espaciadas a 0,70 m de distancia (75.000 plantas ha<sup>-1</sup>) en 2011, 2013, 2015 y 2017. Al momento de la siembra, los CC y el maíz fueron fertilizados con 14,7 y 31,5 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> o 6,4 y 13,7 kg P ha<sup>-1</sup>, respectivamente, utilizando como fuente el superfosfato simple de calcio, y el maíz fue fertilizado en la etapa V<sub>5-6</sub> con 32 kg de N ha<sup>-1</sup>. La soja no se fertilizó con N ni con P. La vicia y la soja fueron inoculadas con *Rhizobium leguminosarum biovar viceae* y *Bradyrhizobium* sp., respectivamente, inmediatamente antes de la siembra. Las fechas de secado de los CC se determinaron de acuerdo con las fechas de siembra de soja y maíz y la

distribución de las precipitaciones. Los CC se secaron en invierno o principios de la primavera (agosto-septiembre) antes del maíz y en la primavera (octubre) cuando precedieron a la soja. Los CC se secaron con 3-4 L ha<sup>-1</sup> de glifosato (48% de ingrediente activo). El calendario de cultivos se presenta en el Cuadro 3.1.



**Figura 3.1.** Ensayo de mezclas de cultivos de cobertura en la secuencia soja-soja y soja-maíz de la EEA Pergamino

**Cuadro 3.1.** Calendario de manejo de cultivos y precipitaciones del ensayo de mezclas de cultivos de cobertura de INTA Pergamino

Cultivo	Precipitaciones mm	Fecha Siembra	Cosecha/Secado CC <sup>1</sup>	Fertilización	
				kg N ha <sup>-1</sup>	kg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ha <sup>-1</sup>
<b>Soja-Maíz</b>					
<b>CC 2011</b>	96	28/04/11	17/08/11	-----	14,7
<b>Maíz</b>	592	03/10/11	19/03/12	32	31,5
<b>CC 2012</b>	571	04/04/12	12/10/12	-----	14,7
<b>Soja</b>	533	06/11/12	10/04/13	-----	-----
<b>CC 2013</b>	145	16/04/13	16/08/13	-----	14,7
<b>Maíz</b>	910	09/10/13	25/03/14	32	31,5
<b>CC 2014</b>	356	24/04/14	16/10/14	-----	14,7
<b>Soja</b>	748	07/11/14	10/04/15	-----	-----
<b>CC 2015</b>	477	24/04/15	21/08/15	-----	14,7
<b>Maíz</b>	705	05/10/15	28/03/16	32	31,5
<b>CC 2016</b>	238	03/05/16	28/10/16	-----	14,7
<b>Soja</b>	841	15/11/16	20/04/17	-----	-----
<b>CC 2017</b>	272	04/05/17	06/09/17	-----	14,7
<b>Maíz</b>	317	04/10/17	20/03/18	32	31,5
<b>Soja-Soja</b>					
<b>CC 2011</b>	185	28/04/11	17/10/11	-----	14,7
<b>Soja</b>	564	08/11/11	12/04/12	-----	-----
<b>CC 2012</b>	557	20/04/12	12/10/12	-----	14,7
<b>Soja</b>	533	06/11/12	10/04/13	-----	-----
<b>CC 2013</b>	196	16/04/13	10/10/13	-----	14,7
<b>Soja</b>	866	21/11/13	21/04/14	-----	-----
<b>CC 2014</b>	356	24/04/14	16/10/14	-----	14,7
<b>Soja</b>	748	07/11/14	10/04/15	-----	-----
<b>CC 2015</b>	584	24/04/15	17/10/15	-----	14,7
<b>Soja</b>	826	06/11/15	28/04/16	-----	-----
<b>CC 2016</b>	238	03/05/16	28/10/16	-----	14,7
<b>Soja</b>	841	15/11/16	20/04/17	-----	-----
<b>CC 2017</b>	401	04/05/17	24/10/17	-----	14,7
<b>Soja</b>	351	15/11/17	13/04/18	-----	-----

<sup>1</sup> para cultivo principal (soja y maíz) y cultivos de cobertura, respectivamente. A la cosecha 2016 se realizó en muestreo de suelos que se presenta en este capítulo

### 3.2.2 Determinaciones de suelo y planta

Al comienzo del experimento (abril de 2011) y después de cinco ciclos de CC (abril de 2016), se extrajo una muestra de suelo disturbada y no disturbada (cilindro) de 0-5, 5-10, 10-20 y 20 -30 cm de profundidad de cada subparcela para determinar la densidad aparente, la distribución del tamaño de poro, la estabilidad de agregados, COS, NOS y COP. Las muestras disturbadas se utilizaron para determinar la estabilidad del agregados, COS, NOS y COP, y los cilindros para determinar la densidad aparente y la distribución del tamaño de poro. Además, durante los primeros tres años de experimento (2011, 2012 y 2013) se extrajeron muestras de suelo de cada subparcela a 0-20, 20-27, 27-52, 52-82 y 82-100 cm de profundidad (correspondiente a cada horizonte de suelo) al secado de los CC, para determinar la concentración de  $\text{NO}_3$  y el contenido de agua. La metodología para la determinación de las diferentes variables (densidad aparente, la distribución de poros, reservas orgánicas), son las mismas que las detalladas en el capítulo 2. El COS y NOS se ajustaron a una masa de suelo equivalente de  $2300 \text{ Mg ha}^{-1}$  para tener en cuenta las diferencias de densidad aparente entre 2011 y 2016 (Poulton et al. 2003). Al secado de los CC (2011, 2012, 2013), se determinó la concentración de  $\text{N-NO}_3$  en el suelo mediante el método del ácido fenoldisulfónico (Mulvaney 1996) y el contenido de agua se midió gravimétricamente. El contenido de  $\text{N-NO}_3$  ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) se calculó como la suma de los productos entre la concentración de  $\text{N-NO}_3$ , el espesor de la capa de suelo (cm) y la densidad aparente ( $\text{g cm}^{-3}$ ) de cada espesor del suelo. El agua disponible en el suelo se determinó como la suma de las diferencias entre el contenido de agua volumétrico en cada fecha de muestreo y en el punto de marchitez permanente de cada capa del suelo.

En el secado de los CC, se extrajo biomasa aérea a partir de dos muestras de 0,25 m<sup>2</sup> por cada subparcela durante 6 años. El material recolectado se secó a 65 °C y se registraron los pesos de la materia seca. Luego, se molió una submuestra, se homogeneizó y se pasó a través de un tamiz de 0,25 mm de diámetro para la determinación de N por el método de Kjeldahl (Bremner y Mulvaney 1982). La producción de biomasa aérea de maíz y soja en la cosecha se obtuvieron de dos muestras de 1 m<sup>2</sup> por cada subparcela durante 7 años. El material cosechado se secó a 65 °C y los granos se separaron de la materia seca y se registró ambos pesos por separado.

### **3.2.3 Análisis estadísticos**

El efecto de los CC y las secuencias de cultivos comerciales en diferentes profundidades sobre las variables en estudio se evaluó utilizando el enfoque de modelos lineales mixtos. Se probó la homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuos de cada variable. Se incluyeron los bloques como un efecto aleatorio y se realizó el análisis siguiendo el procedimiento MIXTO de SAS (SAS 2009). Los valores medios se compararon mediante la prueba de la diferencia menos significativa (LSD) protegida de Fisher ( $p < 0,05$ ). Se utilizó un análisis de regresión simple (procedimiento REG de SAS) para determinar las relaciones entre la estabilidad de los agregados y COS y COP, y entre COS y NOS y el aporte de C de los CC. Además, se utilizó el análisis de parcelas subdivididas para comparar los cambios de stock de COS y NOS entre la situación inicial y después de cinco años de cada rotación.

Las variables de suelo y planta medidas en las secuencias de cultivos con y sin mezclas de CC se integraron utilizando gráficos de araña (spider plot). Para ello, los datos de 12 y 13 variables medidas, para las secuencias soja-soja y soja-maíz, respectivamente, se

normalizaron en una escala de 0 a 1, donde “más es mejor” (Schipansky et al. 2014) usando la siguiente ecuación:

$$Y_{norm} = \frac{Y_t}{Y_{mean} * 2}$$

Donde  $Y_{norm}$  es el valor normalizado de cada variable,  $Y_t$  es el valor de la variable en el momento del muestreo e  $Y_{mean}$  es el valor medio de cada variable para los tratamientos CC1, CC2 y control. En el caso del N-NO<sub>3</sub> en el suelo al momento de secado de los CC para los distintos tratamientos, continuando con el criterio de “más es mejor”, se utilizó el valor complementario de  $Y_{norm}$  ( $1 - Y_{norm}$ ) y se lo denominó control de la lixiviación N. Las variables elegidas constituyen algunos de los indicadores del suministro de diferentes servicios ecosistémicos prestados por el sistemas suelo-planta (Comerford et al. 2013, Rositano y Ferraro 2014, Adhikari y Hartemink 2016).

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Efecto de mezclas de CC sobre fracciones orgánicas y estructura del suelo

Después de cinco años de rotación, las secuencias de cultivos de soja-maíz y soja-soja con mezclas de CC presentaron mayores concentraciones de COS, NOS y COP que las secuencias sin CC a 0-5 cm de profundidad (23,3 vs 20,1 g kg<sup>-1</sup>, 2,4 vs 2,0 g kg<sup>-1</sup> y 4,4 vs 2,9 g kg<sup>-1</sup>, para COS, NOS y COP, respectivamente) (Cuadro 3.2). Por debajo de 0-5 cm, las secuencias de cultivos de cosecha y las mezclas de CC no afectaron las fracciones orgánicas. Las concentraciones de COS y NOS a 0-5 cm se relacionaron con el ingreso de C de la biomasa aérea de CC (COS y NOS vs ingreso de C de CC, R<sup>2</sup> = 0,70 y 0,95 (p<0,05), respectivamente). En comparación con el inicio del experimento, las reservas de

COS se mantuvieron constantes en las secuencias de soja-soja y soja-maíz con o sin CC, mientras que las reservas de NOS se mantuvieron constantes en la secuencia de soja-maíz y disminuyeron en la secuencia soja-soja, independientemente de la inclusión de CC (Figura 3.2).

Los agregados del suelo de las secuencias con CC fueron más estables que los de las secuencias sin CC (33,1% contra 16,4%) a 0-5 cm de profundidad (Cuadro 3.2). La estabilidad de la agregados se relacionó positivamente con las concentraciones de COS ( $R^2=0,44$   $p<0,01$ ) y de COP ( $R^2=0,50$ ;  $p<0,01$ ) a 0-5 cm de profundidad. En la profundidad 5-10 cm, el uso de CC1 aumentó la estabilidad de los agregados en comparación con el control y fue ligeramente más estable que con CC2. Además, el suelo en la secuencia soja-soja presentó mayor estabilidad de agregados que la secuencia soja-maíz. Por debajo de los 5-10 cm de profundidad, la estabilidad de agregados fue similar entre las secuencias de los cultivos de cosecha y los tratamientos con CC.

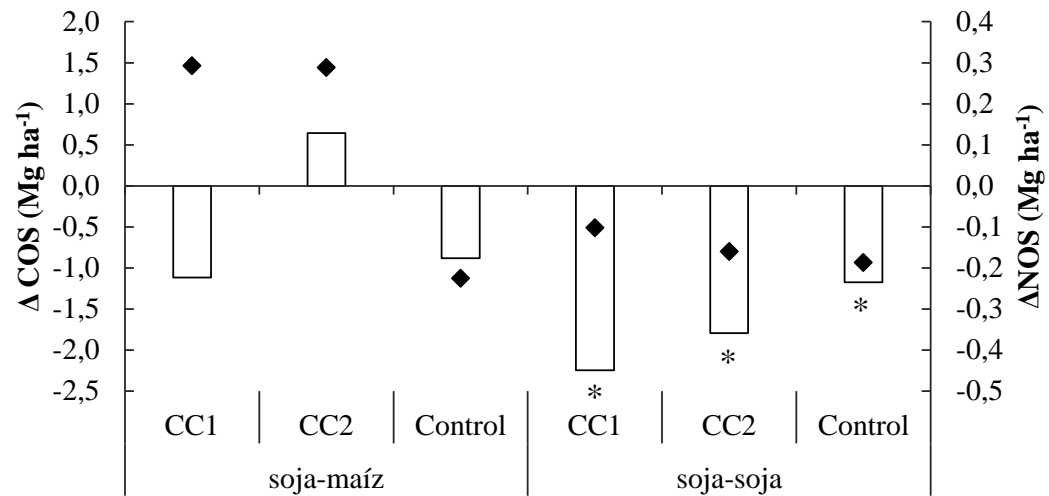
Por otro lado, la mezcla de CC de tres especies (CC2) aumentó la proporción de macroporos  $> 300 \mu\text{m}$  a 0-5 cm de profundidad en comparación con la mezcla de dos especies (CC1) y el control sin CC (Cuadro 3.2). A 10-20 cm de profundidad, el suelo con mezclas de CC tuvo una mayor proporción de mesoporos, destacándose CC2 sobre CC1. En la profundidad 20-30 cm, el efecto de CC2 se mantuvo por encima de CC1 y el control, sin diferencias entre estos dos últimos. Además, la proporción de mesoporos del espesor 10-30 cm se relacionó positivamente con la biomasa aérea total de las secuencias analizadas ( $R^2=0,47$   $p<0,01$ ) y, particularmente, con la biomasa aérea de las mezclas de CC ( $R^2=0,61$ ;  $p<0,01$ ).



**Cuadro 3.2.** Concentración de fracciones orgánicas del suelo, estabilidad de agregados y distribución de poros luego de cinco años de rotación (soja-maíz y soja-soja) con y sin (control) cultivos de cobertura a 0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm de espesor de suelo.

	COS	NOS	COP	Estabilidad de agregados	Macroporos >300µm	Macroporos 60-300 µm	Mesoporos 15-60µm	Microporos < 15 µm
	(g kg <sup>-1</sup> )			(%)	(%)			
<i>0-5cm</i>								
<b>S-M</b>	22,1 A	2,2 A	3,7 A	25,2 A	17,5 A	5,0 A	3,4 A	34,5 A
<b>S-S</b>	22,4 A	2,3 A	4,3 A	30,3 A	17,2 A	3,8 A	3,0 A	35,0 A
<b>CC1</b>	23,9 a	2,3 a	4,6 a	33,7 a	14,0 b	4,0 a	2,8 a	37,0 a
<b>CC2</b>	22,8 a	2,4 a	4,3 a	33,1 a	22,7 a	5,2 a	3,6 a	32,7 a
<b>Control</b>	20,1 b	2,0 b	2,9 b	16,4 b	16,3 b	4,1 a	3,2 a	35,3 a
<i>5-10 cm</i>								
<b>S-M</b>	15,6 A	1,6 A	0,9 A	12,0 B	14,0 A	4,0 A	2,8 A	31,3 A
<b>S-S</b>	14,4 A	1,5 A	0,8 A	16,7 A	12,8 A	3,2 A	3,5 A	31,2 A
<b>CC1</b>	15,5 a	1,6 a	0,9 a	17,7 a	13,3 a	3,5 a	2,9 a	31,5 a
<b>CC2</b>	14,7 a	1,6 a	0,9 a	14,0 ab	14,3 a	3,1 a	3,4 a	31,0 a
<b>Control</b>	14,9 a	1,5 a	0,7 a	11,3 b	12,7 a	4,0 a	3,3 a	31,2 a
<i>10-20 cm</i>								
<b>S-M</b>	13,4 A	1,4 A	0,6 A	6,2 A	13,6 A	2,6 A	3,1 A	31,0 A
<b>S-S</b>	12,9 A	1,3 A	0,5 A	6,4 A	12,6 A	2,7 A	3,0 A	32,0 A
<b>CC1</b>	12,9 a	1,3 a	0,6 a	4,8 a	13,6 a	3,1 a	3,0 b	31,0 a
<b>CC2</b>	13,5 a	1,4 a	0,5 a	7,6 a	12,2 a	2,6 a	3,8 a	31,5 a
<b>Control</b>	13,0 a	1,4 a	0,5 a	6,3 a	13,3 a	2,3 a	2,4 c	32,0 a
<i>20-30 cm</i>								
<b>S-M</b>	10,7 A	1,1 A	0,3 A	6,3 A	12,4 A	2,5 A	2,4 A	32,3 A
<b>S-S</b>	11,4 A	1,2 A	0,3 A	6,9 A	15,1 A	2,7 A	3,2 A	32,0 A
<b>CC1</b>	11,0 a	1,2 a	0,3 a	6,0 a	13,7 a	2,8 a	2,5 b	32,0 a
<b>CC2</b>	10,9 a	1,1 a	0,2 a	7,3 a	14,6 a	2,4 a	3,6 a	31,7 a
<b>Control</b>	11,3 a	1,1 a	0,3 a	6,5 a	12,8 a	2,6 a	2,4 b	33,3 a

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre mezclas de cultivos de cobertura. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre rotación. S-M: soja-maíz, S-S: soja-soja, CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+naboforrajero+vicia.



**Figura 3.2.** Cambios en las reservas de COS (símbolos) y NOS (barras) en 2300 Mg suelo ha<sup>-1</sup> luego de 5 años de agricultura en ausencia (control) y presencia de mezclas de cultivos de cobertura (CC1 y CC2). Los asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) comparado con el inicio del experimento para NOS en soja-soja. CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+nabo forrajero+vicia.

### 3.3.2 Producción de biomasa aérea, N vegetal y contenido de N y agua del suelo al secado de las mezclas de CC

La producción de la biomasa aérea, presentó interacción significativa entre la secuencia de cultivos de cosecha y el tratamiento de mezcla de CC en 2011, 2014 y 2015 (Cuadro 3.3). En la secuencia soja-maíz, la producción de biomasa de CC1 y CC2 fue similar, excepto en 2014, cuando CC2 casi duplicó la producción de CC1. En la secuencia soja-soja, la mezcla CC2 usualmente produjo más biomasa aérea que CC1. La mayor producción de CC2, también se observó en 2016 cuando el efecto del tratamiento de CC fue independiente de la secuencia de cultivos de cosecha. En el caso de las estaciones de crecimiento de los CC más húmedas (por ejemplo, 2012 con mayor a 550 mm de precipitaciones), la producción de biomasa fue alta ( $\approx 10$  Mg ha<sup>-1</sup>), independientemente de la secuencia y la mezcla de CC. Con respecto a la absorción de N, fue siempre mayor en

CC2 que en CC1 (128 vs. 46 kg N ha<sup>-1</sup>) durante todos los años analizados (Cuadro 3.3). La concentración de N siempre fue mayor y la relación C/N siempre fue menor en CC2 que en CC1. En 2011, 2013, 2014 y 2015, la biomasa aérea producida por las mezclas de CC en la secuencia soja-maíz presentó mayor concentración de N y menores relaciones C/N que en la secuencia soja-soja.

Al momento de secado, las secuencias agrícolas de soja-maíz y soja-soja que incluyeron las mezclas de CC, presentaron menor contenido de N-NO<sub>3</sub> que bajo las mismas secuencia sin CC en 0-100 cm de espesor de suelo (2011: 9, 8, 50 kg N ha<sup>-1</sup>; 2012: 37, 46, 82 kg N ha<sup>-1</sup>; 2013: 21, 17, 77 kg N ha<sup>-1</sup>, para CC1, CC2 y el control sin CC, respectivamente). En los secados 2011 y 2013, no hubo diferencias significativas entre secuencias, mientras que en el año 2012 la secuencia soja-soja presentó mayor cantidad de N mineral que la secuencia soja-maíz (62 vs 43 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente).

El contenido de agua al secado de los CC, a 0-100 cm de profundidad, no presentó diferencias significativas entre las secuencias soja-maíz y soja-soja en ninguno de los años evaluados (promedio soja-maíz: 123 mm y soja-soja: 103 mm). Por el contrario, los tratamientos con CC presentaron menor contenido de agua que el tratamiento control sin CC en 2011 y 2013 (CC: 68 mm vs control: 140 mm), en 2012 no se encontró diferencias entre tratamientos (promedio: 156 mm).

**Cuadro 3.3.** Producción de biomasa aérea, cantidad y concentración de N y relación C/N de dos mezclas de cultivos de cobertura al momento del secado y lluvia acumulada durante cada estación de crecimiento de los cultivo de cobertura en el período de estudio.

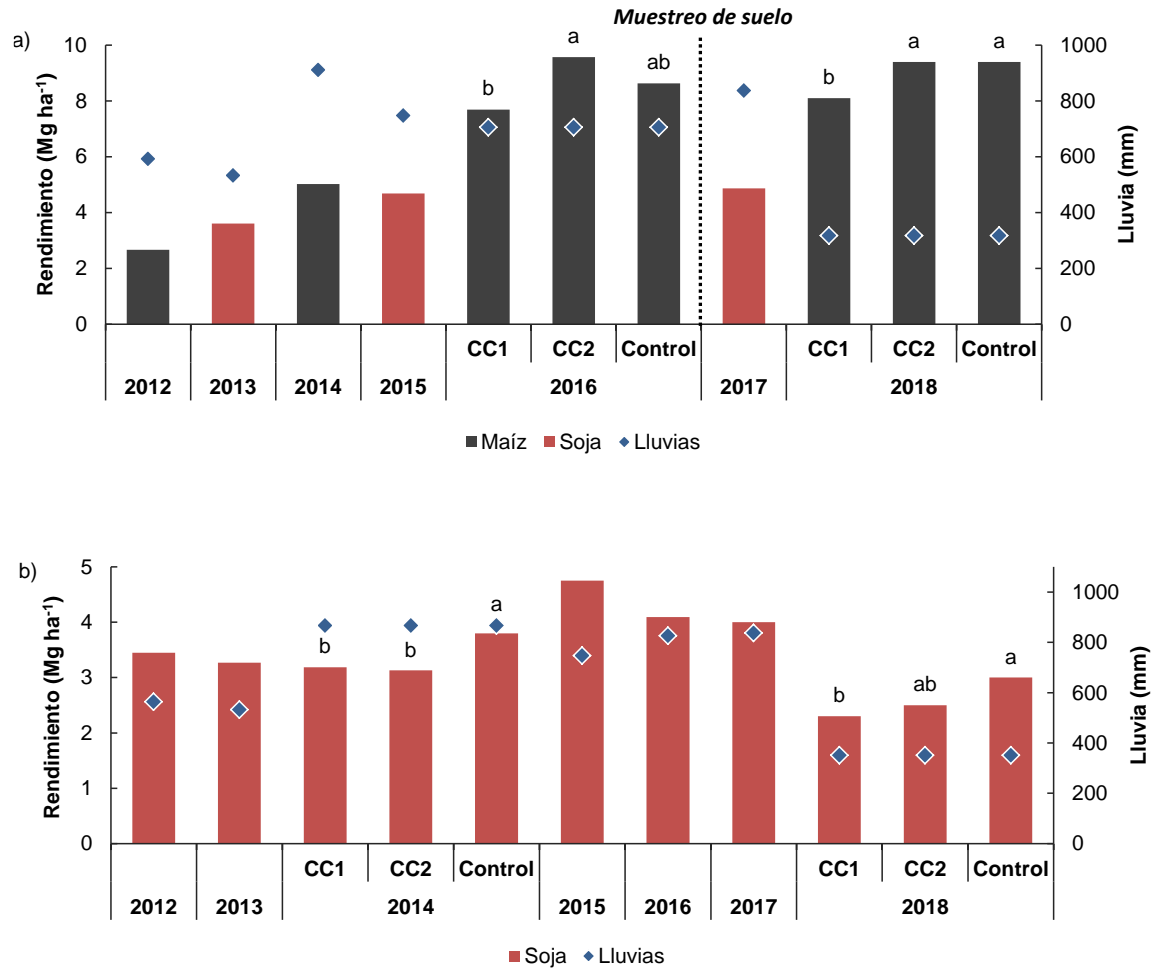
<b>Rotación/CC</b>	<b>2011</b>		<b>2012</b>		<b>2013</b>		<b>2014</b>		<b>2015</b>		<b>2016</b>	
Lluvias durante el crecimiento de los CC (mm) <sup>(*)</sup>												
<b>Soja-maíz</b>	96	M	571	S	145	M	356	S	477	M	238	S
<b>Soja-soja</b>	185	S	571	S	196	S	356	S	584	S	238	S
Biomasa aérea (Mg ha <sup>-1</sup> )												
<b>Soja-CC1-maíz</b>	2,3	<i>a</i>	-	-	-	-	4,7	<i>b</i>	3,3	<i>a</i>	-	-
<b>Soja-CC2-maíz</b>	2,1	<i>a</i>	-	-	-	-	8,8	<i>a</i>	4,8	<i>a</i>	-	-
<b>Soja-CC1-soja</b>	5,9	<i>b</i>	-	-	-	-	7,2	<i>a</i>	5,7	<i>b</i>	-	-
<b>Soja-CC2-soja</b>	7,6	<i>a</i>	-	-	-	-	6,8	<i>a</i>	11,1	<i>a</i>	-	-
<b>Soja-maíz</b>	-	-	9,8	A	3,2	B	-	-	-	-	6,2	B
<b>Soja-soja</b>	-	-	10,0	A	7,5	A	-	-	-	-	7,8	A
<b>CC1</b>	-	-	8,9	<i>a</i>	4,5	<i>a</i>	-	-	-	-	5,7	<i>b</i>
<b>CC2</b>	-	-	10,8	<i>a</i>	6,3	<i>a</i>	-	-	-	-	8,2	<i>a</i>
N (kg ha <sup>-1</sup> )												
<b>Soja-CC1-maíz</b>	38	<i>a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Soja-CC2-maíz</b>	45	<i>a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Soja-CC1-soja</b>	45	<i>b</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Soja-CC2-soja</b>	109	<i>a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Soja-maíz</b>	-	-	109	A	53	B	91	A	77	A	75	A
<b>Soja-soja</b>	-	-	142	A	90	A	63	A	96	A	82	A
<b>CC1</b>	-	-	70	<i>b</i>	43	<i>b</i>	37	<i>b</i>	45	<i>b</i>	36	<i>b</i>
<b>CC2</b>	-	-	181	<i>a</i>	97	<i>a</i>	117	<i>a</i>	127	<i>a</i>	120	<i>a</i>
N (g kg <sup>-1</sup> )												
<b>Soja-maíz</b>	18,8	A	10,8	A	16,1	A	11,4	A	18,7	A	10,9	A
<b>Soja-soja</b>	10,9	B	13,7	A	12,0	A	9,0	A	10,2	B	10,4	A
<b>CC1</b>	12,1	<i>b</i>	8,1	<i>b</i>	11,3	<i>b</i>	6,1	<i>b</i>	11,2	<i>b</i>	6,2	<i>b</i>
<b>CC2</b>	17,7	<i>a</i>	16,4	<i>a</i>	16,7	<i>a</i>	14,3	<i>a</i>	17,7	<i>a</i>	15,2	<i>a</i>
Relación C/N												
<b>Soja-maíz</b>	22	B	44	A	25	B	45	B	23	B	44	A
<b>Soja-soja</b>	40	A	34	A	36	A	53	A	45	A	49	A
<b>CC1</b>	38	<i>a</i>	51	<i>a</i>	37	<i>a</i>	66	<i>a</i>	43	<i>a</i>	65	<i>a</i>
<b>CC2</b>	23	<i>b</i>	27	<i>b</i>	25	<i>b</i>	31	<i>b</i>	25	<i>b</i>	27	<i>b</i>

Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre mezclas de CC (media general y dentro de cada rotación cuando tenemos interacción significativa entre CC\*rotación). Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre rotación. CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+nabo forrajero+vicia, M: maíz, S: soja (\*) Las lluvias corresponden al periodo de crecimiento de las mezclas de CC.

### 3.3.3 Rendimientos de maíz y soja

En la figura 3.3 se presentan los rendimientos de los cultivos de soja y maíz desde el año 2012 hasta el año 2018 para las secuencias soja-maíz (a) y soja-soja (b) con y sin mezclas de CC. Además, en la figura se identifica el momento de muestreo de suelo (2016), en el cual se obtuvieron los datos de las fracciones orgánicas y estructura del suelo anteriormente presentado. También se presenta la precipitación total caída durante cada ciclo del cultivo de cosecha. Se debe destacar que las precipitaciones registradas durante el mes de diciembre, en los que hubo maíz, fueron variable y en algunos años muy bajas (dic/2011: 14 mm, dic/2013: 20mm, dic/2015: 74 mm y dic/2017: 128mm).

El rendimiento promedio de maíz, en 2012 y 2014, no presentó diferencias significativas entre tratamientos con y sin CC, y fue menor a  $5,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ , mientras que en 2016 y 2018 fue de 7,9 y  $9,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , cuando se introdujeron CC1 y CC2 en la rotación, respectivamente, presentando diferencias significativas entre estos tratamientos. Con respecto al control sin CC, el rendimiento de maíz luego de CC2 fue ligeramente superior (2015/2016) o similar (2017/2018) y disminuyó luego de CC1 (Figura 3.3a). Los rendimientos de soja de la rotación soja-maíz no presentaron diferencias significativas, independientemente del tratamiento con CC. Por otro lado, en la secuencia soja-soja, el rendimiento de grano del control sin CC fue mayor que el de los tratamientos con mezcla de CC ( $3,4$  vs  $2,8 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) en 2014 y 2018. En los otros años evaluados no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 3.3b).



**Figura 3.3.** Rendimiento de cultivos (barras) para la rotación soja-maíz (a) y soja-soja (b), y precipitaciones (símbolos) durante cada estación de crecimiento de los cultivos de cosecha. Los rendimientos están expresados al 14,5% y 13,5% de humedad, para maíz y soja, respectivamente. CC1: avena+nabo forrajero y CC2: avena+nabo forrajero+vicia; control sin CC. El año representa el momento de cosecha de los cultivos de soja y maíz.

### 3.3.4 Análisis integral de múltiples servicios ecosistémicos brindados por las mezclas de CC en sistemas agrícolas simplificados

La Figura 3.4 resume los resultados y compara los impactos del uso de mezclas de CC (clasificados entre 0 y 1) sobre diferentes variables de suelo y productivas en sistemas agrícolas simplificados. En un sistema de producción de soja-maíz o soja-soja, el aumento

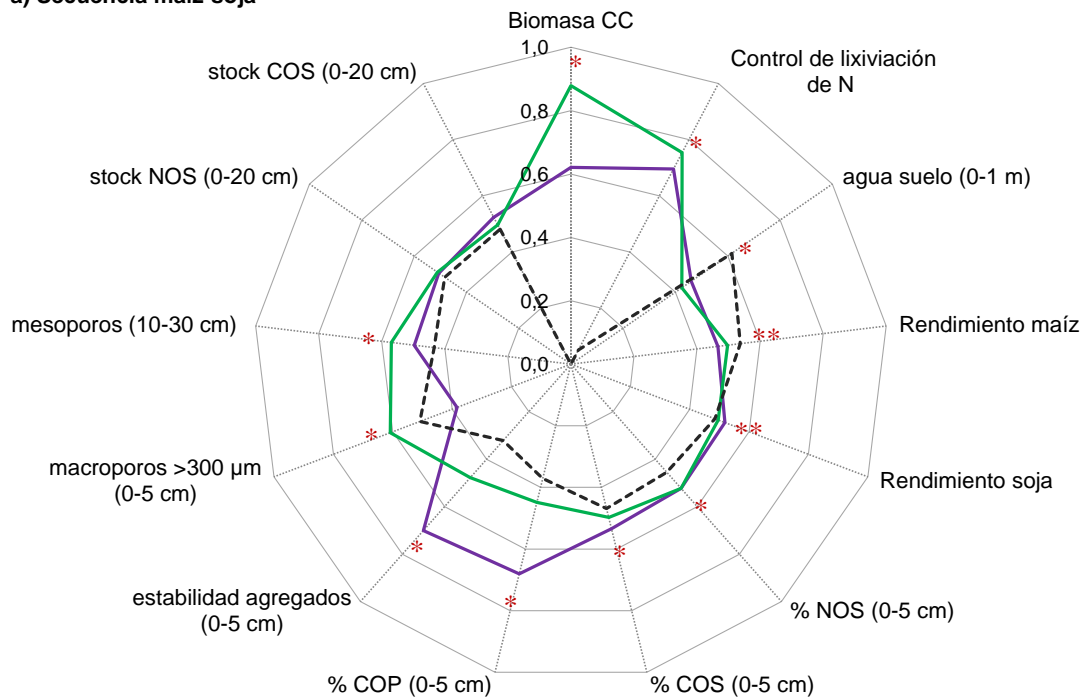
de las especies en las secuencias con el uso de mezclas de CC tuvo moderado/alto impacto en algunas variables relacionadas con servicios ecosistémicos (Figura 3.4 a y b). La producción de biomasa de los CC en las secuencias soja-maíz y soja-soja redujo el contenido de N mineral del suelo, al momento de secado de los CC, en comparación con las mismas secuencias sin CC, aumentando el control sobre la pérdida de N por lixiviación. Además, el crecimiento de los CC consumió agua del suelo pero esta reducción no impactó, excepto en algunos años en el cultivo de soja, sobre el rendimiento de los cultivos de cosecha. La inclusión de las mezclas de CC incrementó las concentraciones de las diferentes fracciones de la materia orgánica en las dos secuencias e impactó positivamente sobre la estructura del suelo. En este sentido, si bien las dos mezclas de CC incrementaron la estabilidad de agregados, la triple mezcla (CC2), fue la que produjo mayor proporción de poros conductores de agua con respecto a la mezcla de gramínea y crucífera (CC1) en los espesores de suelo más profundos. Por otro lado, la inclusión de CC1 y CC2 aumentó las concentraciones de C y N en el suelo en ambas secuencias, pero no tuvo efecto sobre las reservas de COS y NOS del horizonte A en comparación con el control.

Las mezclas de CC adicionaron distintos servicios ecosistémicos a las secuencias agrícolas simplificadas, particularmente en lo relacionado con las fracciones de la materia orgánica, la estructura del suelo, la producción de biomasa y el control de las pérdidas de N a partir de la reducción de N mineral. No obstante, las mezclas de CC mostraron comportamientos diferenciales dentro de cada secuencia agrícola. La secuencia soja-maíz con la mezcla de CC que incluyó o no una leguminosa, tuvo un desempeño similar en las mejoras de las variables relacionadas con algunos servicios ecosistémicos: CC2 se destacó en la construcción de poros y producción de biomasa mientras que CC1 en la estabilidad de agregados y la fracción lábil del C. En cambio en la secuencia soja-soja, la mezcla de CC

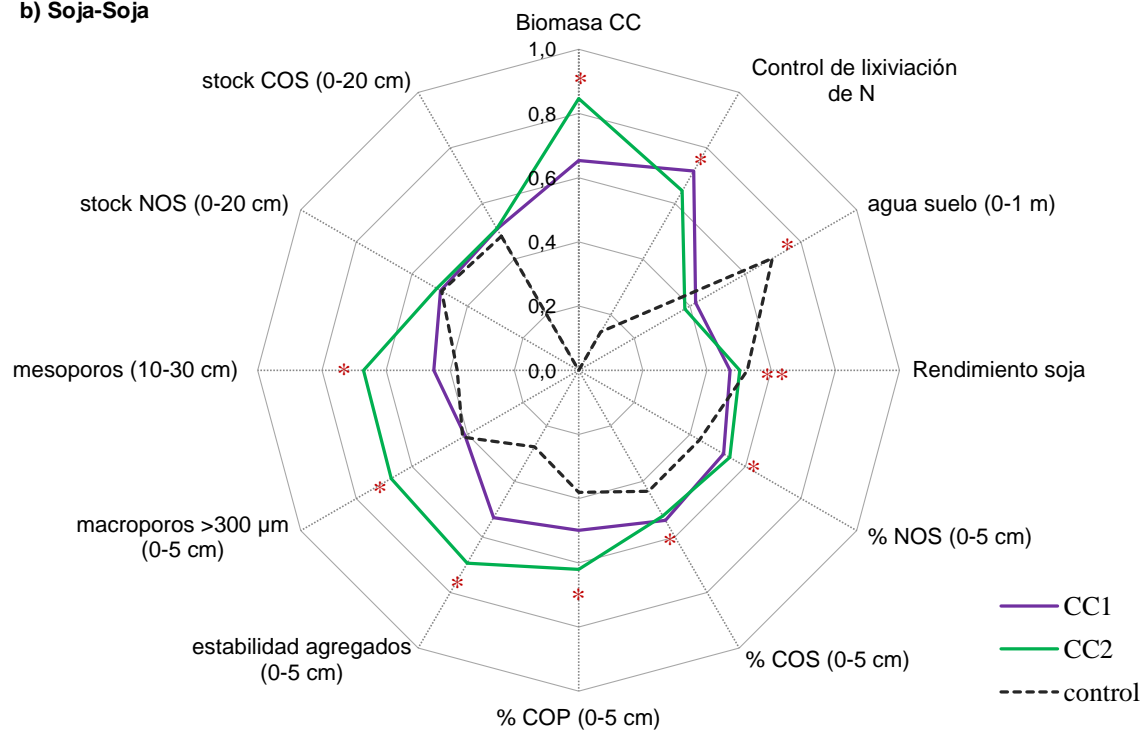
con leguminosa tuvo un mayor impacto sobre la provisión de servicios que la mezcla de CC solo con gramínea y crucífera: CC2 impactó sobre la estructura del suelo, la fracción lábil del C y la producción de biomasa.



## a) Secuencia maíz-soja



## b) Soja-Soja



**Figura 3.4.** Análisis integral de servicios ecosistémicos en las secuencias soja-maíz y soja-soja con mezclas de CC. Valores normalizados para 12-13 variables de suelo y de producción a través de 5 años de rotación de cultivos de cosecha con y sin mezcla de cultivos de cobertura: a) rotación soja-maíz, b) soja-soja. CC1: avena + nabo forrajero; CC2: avena+ nabo forrajero + vicia. (\*) Diferencias significativas, (\*\*) diferencias significativas encontradas algunos años.

### 3.4 Discusión

#### 3.4.1 Fracciones orgánicas y estructura del suelo

Las mezclas de CC impactan positivamente sobre las reservas orgánicas de C de los sistemas agrícolas, a través del aporte de C que aumenta la materia orgánica del suelo (Poeplau y Don 2015) y, especialmente, influyen en su fracción lábil (Duval et al. 2016). Más recientemente, Clivot et al. (2019) y Mary et al. (2020), encontraron que la dinámica del COS no solo responde al aporte de C de la biomasa de los residuos sino también a una menor relación C/N, la cual estimula la estabilización del C y N en el suelo, trabajando bajo condiciones controladas (Justes et al. 2009). En esta tesis se observó que los incrementos en las concentraciones de COS y NOS cerca de la superficie del suelo, cuando se utilizaron mezclas de CC, se deben a aumentos en la cantidad de los residuos aportados al suelo; sin embargo, no se encontró relación con su calidad (relación C/N). En condiciones de campo, probablemente intervengan otros factores cuyas interacciones impiden visualizar el efecto de esta variable (condiciones de humedad, retención de N, heterogeneidad de residuos aéreos y raíces).

Las reservas de COS y NOS se mantuvieron constantes en las secuencias maíz-soja y soja-soja con y sin mezclas de CC con respecto al inicio. Plaza-Bonilla et al. (2016) informaron que el uso de CC mitigó la pérdida de COS y NOS en rotaciones con leguminosas y cereales como cultivos de cosecha. Esto coincide con lo observado en los resultados del Capítulo 2, en donde la rotación soja-maíz que incluyó CC secuestró más COS asociado principalmente a los aportes de C a partir de la biomasa aérea de los CC. Sin embargo, en este estudio, mantuvieron las reservas de COS con respecto al inicio en la secuencia soja-maíz con y sin mezclas de CC. Este resultado, posiblemente, este

relacionado con el bajo aporte de C del maíz al suelo. Mazzilli et al. (2014) informan que la presencia de maíz en la rotación aumenta el COS debido a la mayor cantidad de residuos aportados. En este estudio, dos de los tres maíces de la secuencia con y sin CC tuvieron muy baja producción (2012 y 2014 rendimiento  $< 5,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), y los CC no compensaron este bajo aporte de C.

Por otro lado, la secuencia soja-soja mantuvo el COS con respecto al inicio pero se observó una disminución de las reservas de NOS. Plaza Bonilla et al. (2015) encontraron que el aumento en el número de leguminosas de grano en las rotaciones (en comparación con los cereales) incrementa la pérdida de N por lixiviación, asociado a la mayor cantidad de N residual a la cosecha. Esto puede estar relacionado con la alta descomposición de los residuos de leguminosas que aumentan la disponibilidad de N mineral del suelo como consecuencia de su baja relación C/N (Kuzyakov 2010). Además, en rotaciones con soja, el pH del horizonte A (levemente ácido) favorecería la actividad de los descomponedores y la aceleración de la descomposición de la materia orgánica del suelo debido a los productos derivados de la fijación biológica (Huggins et al. 2007). Este N disponible puede ser utilizado por el CC siguiente, pero parte también puede perderse por lixiviación o a través de las emisiones al aire (Nemecek et al. 2008). En este sentido, se encontró que las mezclas de CC redujeron el contenido de  $\text{NO}_3$  en el suelo (a menos de la mitad del contenido del control sin CC) en el momento de secado de los CC; sin embargo, no incrementaron las reservas orgánicas del suelo. Adicionalmente, la inclusión de una leguminosa en la mezcla de CC aumenta el ingreso de N al sistema como consecuencia de la fijación biológica; y, debido a que este ingreso de N se acopla con el ingreso de C a partir de las gramíneas, mejora la productividad de la mezcla en lugar de perderse del sistema (Plaza Bonilla et al. 2016). De acuerdo con esto, el aporte promedio de biomasa aérea de las mezclas de CC fue

de 7,1 y 9,2 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> para CC1 y CC2, respectivamente, en la secuencia soja-soja. Esta diferencia estuvo asociada a la inclusión de la leguminosa en la mezcla de CC; no obstante, esta mayor producción de biomasa tampoco incrementó las reservas orgánicas del suelo. Además, el cultivo de soja aporta baja cantidad de C a la rotación (Mazzilli et al. 2014). A partir de estos resultados, se planteó la hipótesis de que la acumulación de NOS puede estar limitada por el bajo aporte de C a partir de los residuos de soja junto con los excedentes de N en esta rotación. Para lograr agroecosistemas sostenibles, los sistemas de cultivo basados en leguminosas de grano deben equilibrar el N residual y la demanda de los cultivo posteriores, para evitar aumentar las pérdidas de N por lixiviación y / o emisión de óxido nitroso (Nemecek et al. 2008).

Después de cinco años de rotación, los agregados del suelo de las secuencias con mezclas de CC fueron más estables que en las secuencias sin CC. Además, su relación con COS y COP, ponen en evidencia el rol fundamental de los agentes cementantes provenientes de las fracciones orgánicas (Six et al. 2004). Sin embargo, en el Capítulo 2, para el periodo 2005-2011, se observó una fuerte asociación entre la concentración de glomalinas y la estabilidad de los agregados en la secuencia soja-maíz con CC (monoespecíficos y una mezcla) en ausencia del fertilizante nitrogenado. Estos resultados sugieren que la importancia relativa de los diferentes agentes aglutinantes del suelo que promueven su estabilidad estructural varía con las prácticas de manejo, las cuales interactúan con las condiciones edafoclimáticas.

Los agregados del suelo, ligeramente más estables a 5-10 cm de profundidad con CC1, probablemente están asociados a que CC1 tiene mayor proporción de avena. En Restovich et al. (2011) se destacó a la avena como estabilizadora del sistema poroso luego de dos años de incluirla en la secuencia soja-maíz. En este sentido, la avena tiene raíces fibrosas y

ramificadas que actúan como una malla, uniendo las partículas del suelo (Loades et al. 2013). Por otro lado, el aumento en la estabilidad de agregados en la secuencia soja-soja a 5-10 cm de profundidad podría estar asociado a la mayor producción de biomasa de raíces por los secados más tardíos de los CC. En general, los secados tardíos producen mayor cantidad de biomasa aérea de los CC que los secados tempranos debido a que tienen un periodo de crecimiento mayor.

Con respecto a la porosidad del suelo, la mezcla CC2 aumentó la proporción de macroporos  $>300 \mu\text{m}$  a 0-5 cm de profundidad. Esto también se observó en rotaciones que incluían gramíneas solas o combinadas con vicia como CC (Haruna et al. 2018, Gabriel et al. 2019, Capítulo 2). No obstante, las mezclas de CC, particularmente CC2, aumentaron los mesoporos a 10-20 cm de profundidad, y fue CC2 la que mantuvo dicho efecto hacia los 30 cm de profundidad. La presencia de vicia en CC2, mejora la productividad de la mezcla, a través del ingreso del N fijado biológicamente y la transferencia de N a los cultivos no leguminosos (Giacomini et al. 2003). Esto tendría un impacto positivo sobre la biomasa subterránea y, en consecuencia, sobre la porosidad del suelo. En este estudio se encontró que la mayor cantidad de residuos aéreos aportados por los CC, particularmente bajo CC2, a las secuencias de cultivos de verano se asoció con mayor proporción de mesoporos en profundidad. Estos importantes incrementos en la porosidad del suelo fueron medidos, luego de 5 años, a la cosecha de maíz y soja, lo que indica que el efecto del uso de mezclas de CC en secuencias agrícolas de verano persistiría en el tiempo.

La mayor porosidad del suelo generada a partir del uso de mezclas de CC podría incrementar la infiltración del agua y la conductividad hidráulica, reduciendo el escurrimiento en los agroecosistemas. Además, aumentar el flujo de agua en poros con drenaje lento/muy lento, es importante para determinar la productividad de los cultivos

como así también para el transporte, la disponibilidad de los nutrientes y la actividad microbiana (Haruna et al. 2018). La utilización de mezclas de CC se plantea como una opción biológica para mejorar los estados estructurales degradados de los sistemas de cultivos simplificados. En este estudio se demuestra que, si bien ambas mezclas aumentaron la porosidad del suelo, fue la que incluyó vicia, la que construyó mayor proporción de macroporos y mesoporos en todo el perfil evaluado.

#### **3.4.2 Biomasa aérea, N vegetal y contenido de N y agua del suelo al momento de secado de las mezclas de CC**

Las mezclas de CC crecieron aproximadamente durante 4 meses antes de maíz y entre 5 y 7 meses antes de soja ya sea en la rotación soja-maíz y soja-soja. La producción de biomasa aérea varió entre 2,1 y 11,1 Mg ha<sup>-1</sup> dependiendo de la mezcla de CC utilizada y del momento de interrupción del ciclo de los CC el cual está relacionado con las fechas de siembra y cosecha de soja y maíz. En la secuencia soja-maíz, la producción de biomasa de los CC tiene una temporada de crecimiento más corta antes del maíz que antes de la soja, porque el maíz se siembra en septiembre-octubre y la soja se siembra en noviembre. En este sentido, las temporadas de crecimiento más largas antes de la soja que se extienden hacia la primavera, combinadas con periodos lluviosos (por ejemplo, 2014), aumentan la producción de biomasa, particularmente cuando se incluye vicia en la mezcla. En el caso de la secuencia soja-soja, CC2 usualmente produjo más biomasa que CC1. Las estaciones de crecimiento húmedas (por ejemplo, 2012 con > 550 mm), favorecieron la producción de biomasa (≈10 Mg ha<sup>-1</sup>), independientemente de la secuencia y la mezcla de CC. Wendling et al. (2019) observaron que la producción de biomasa aérea estaba más asociada a la especie utilizada que a la diversidad de la mezcla. En Restovich et al. (2012), la producción

de biomasa aérea de especies monoespecíficas de gramíneas, crucíferas y leguminosas utilizadas como CC varió entre 1,1 y 11,9 Mg ha<sup>-1</sup>, y esta variabilidad se asoció con la duración y la lluvia de la temporada de crecimiento y al cultivo comercial antecedente.

La mayor absorción y concentración de N en CC2 condujo a una menor relación C/N debido a la inclusión de la vicia en la mezcla de tres especies (Thorup-Kristensen y Dresbøll 2010). Además, las mezclas de CC en la secuencia soja-maíz aumentan las concentraciones de N y disminuyen la C/N en comparación a su inclusión en la secuencia soja-soja porque en los primeros se interrumpe su crecimiento durante la etapa vegetativa y los segundos durante la etapa reproductiva (Thorup-Kristensen et al. 2003, Restovich et al. 2012).

Al momento de secado de los CC, las mezclas evaluadas redujeron la cantidad de N-NO<sub>3</sub> en el perfil del suelo entre un 50 y 85% con respecto al control. Esta reducción de N mineral ya fue reportada por otros autores para especies monoespecíficas (Constantin et al. 2010; Restovich et al. 2012). Además, esta menor cantidad de N en el perfil de suelo demuestra el potencial de las mezclas de CC para mitigar las pérdidas de N por lixiviación hacia el final del período de barbecho y durante las primeras etapas de los cultivos de verano cuando las precipitaciones superan la evapotranspiración (Constantin et al. 2010; Rimski-Korsakov et al. 2015; Portela et al. 2016). No obstante, se debe destacar que si bien las mezclas redujeron la cantidad de N mineral con respecto al control sin CC, en el año 2012, dejaron la mitad del N mineral en el suelo con respecto al control mientras que, en 2011 y 2013, dejaron cuatro veces menos de N mineral. Esto estaría asociado a la mayor cantidad de lluvia (>500mm) durante la temporada de crecimiento otoño-invernal de los CC de 2012 con respecto a los otros años (<200 mm).

La cantidad de agua en el perfil al momento de secado se redujo con el uso de CC en años con menores precipitaciones durante su crecimiento. El consumo de agua de los horizontes superiores del suelo generalmente se recarga con las precipitaciones de primavera y no afecta el rendimiento de los cultivos de cosecha. No obstante, en Restovich et al. (2012) observaron que el consumo de agua de horizontes más profundos puede afectar el rendimiento del cultivo siguiente durante un año extremadamente seco (Restovich et al. 2012). Pinto et al. (2017), mencionan que la duración del crecimiento de los CC, de 3 a 5 meses, durante los períodos de barbecho tuvo poco impacto en el contenido de agua del suelo a la siembra del cultivo de cosecha. Esto también fue reportado por Restovich et al. (2012) para las condiciones edafoclimáticas de Pergamino.

### **3.4.3 Rendimientos de maíz y soja**

La reducción del rendimiento de maíz en algunos años estuvo relacionado a las escasas precipitaciones (<20 mm) durante diciembre cuando el maíz está en floración (Ritchie et al. 1982), lo cual es crítico para la determinación del rendimiento. En 2016 y 2018, con precipitaciones > 75 mm durante el mes de diciembre, el rendimiento de maíz aumentó luego de CC2 en comparación con CC1. Este incremento en el rendimiento, probablemente, estuvo relacionado con una mayor disponibilidad de N después de CC2, que tenía un 50% de vicia (Thorup-Kristensen y Dresbøll 2010, Drinkwater et al. 2017). La biomasa aérea de la mezcla CC2 contiene tres veces el contenido de N de CC1. Sin embargo, el rendimiento de maíz luego de CC2 fue similar (2017/2018) o ligeramente superior (2015/2016) que el control sin CC, probablemente, porque en los primeros, la lluvia (317 mm) restringió la disponibilidad de N a partir de la descomposición de los residuos de CC2 apenas compensando la disponibilidad de N mineral con respecto al control sin CC; mientras que



en el segundo, una temporada de crecimiento más lluviosa (705 mm) permitió una mayor provisión de N (Thorup-Kristensen et al. 2003). Además, la descomposición de residuos de la mezcla de CC durante el cultivo de maíz pudo haber limitado la disponibilidad de N mineral, probablemente asociada a la inmovilización microbiana, aumentando la reducción de  $\text{NO}_3$  del suelo (Redin et al. 2014).

En la secuencia soja-soja, en dos años durante el período evaluado, el rendimiento del control sin CC fue mayor que cuando se incluyeron mezclas de CC. Al momento del secado de los CC, la cantidad de  $\text{NO}_3$  y agua fue mayor en el suelo del control sin CC que en el suelo con mezclas de CC, particularmente después de temporadas de crecimiento de los CC con menores precipitaciones. La mayor disponibilidad de N y agua en el control sin CC probablemente se asoció con un mayor rendimiento. Por ejemplo, en 2013 el N- $\text{NO}_3$  del suelo y el contenido de agua al secado del CC fueron 19 y 77  $\text{kg N ha}^{-1}$  y 65 y 128 mm en 0-100 cm de profundidad, con y sin CC, respectivamente. Estas diferencias se atenuaron en períodos de crecimiento de los CC más lluviosos como en el otoño-invierno del 2012, cuando el contenido de agua del suelo fue similar con y sin CC (156 mm) y el contenido de N- $\text{NO}_3$  en el suelo en el control sin CC fue solo el doble que con CC (89 vs 49  $\text{kg N ha}^{-1}$ ), reduciendo la ventaja relativa del control y obteniendo rendimientos similares con y sin CC. Además, como se planteó para el cultivo de maíz, las mezclas de CC podrían promover la inmovilización de N por parte de los microorganismos (Redin et al. 2014).

La disminución del rendimiento a veces se señala como una desventaja de la implementación de CC en las secuencias de cultivos comerciales (Abdalla et al. 2019). Sin embargo, el impacto negativo sobre el rendimiento, particularmente de soja, ocurre algunos años; por lo tanto, esta desventaja sobre la producción de los sistemas agrícolas debería

analizarse a una escala mayor de tiempo y en un contexto más amplio porque hay múltiples beneficios involucrados con la inclusión de mezclas de CC.

#### **3.4.4 El uso de mezclas de CC y la provisión de múltiples servicios ecosistémicos a los sistemas agrícolas simplificados**

La incorporación de CC de múltiples especies en rotación con cultivos comerciales es una estrategia emergente innovadora desde hace algunos años que pretende mejorar, simultáneamente, diferentes servicios ecosistémicos (Finney y Kaye 2017). La mezcla de CC debe estar compuesta por especies que cumplan diferentes funciones y se complementen entre sí para potenciar sus beneficios y, de esa manera, poder incrementar la resiliencia y la provisión de servicios ecosistémicos en los sistemas productivos (Schipanski et al. 2014).

El excedente de N mineral en sistemas agrícolas simplificados puede ser regulado a partir de la producción de biomasa de las mezclas de CC y reducir el N mineral del suelo, controlando las pérdidas de N por lixiviación. Este mismo efecto también se observó con especies solas como CC (Restovich et al. 2012, Tribouillois et al. 2016). Portela et al. (2016) observaron en mediciones realizadas en lisímetros que avena y avena+vicia como CC antecesores de soja y maíz, respectivamente, redujeron la lixiviación de N entre 60 y 90% con respecto a la rotación sin CC. Además, demostraron que prolongar el período con cobertura vegetal es fundamental para cerrar los ciclos hidrológico y de N, particularmente durante períodos de excesos hídricos. Aunque los CC también redujeron el contenido de agua edáfica al momento del secado, la recarga de agua del suelo antes de la siembra de cultivos de cosecha fue suficiente para mantener los rendimientos, en promedio, similares al control sin CC. Por otro lado, el impacto de las mezclas de CC sobre las fracciones

orgánicas de la materia orgánica mejora la calidad y resiliencia del sistema como así también la estructura edáfica, parámetro clave de la sustentabilidad agrícola (Rillig et al. 2019).

Dentro de las mezclas de CC evaluadas, la que incluyó vicia generó un aumento en la producción de biomasa de los CC e impactó más en la secuencia soja-soja, debido a que tienen más tiempo de crecimiento los CC en esta secuencia y, por otro lado, asociado, posiblemente, al aporte adicional de N por fijación biológica. La inclusión de vicia en la mezcla de CC también estimuló la creación de poros conductores de agua, no solamente cerca de la superficie sino más profundamente (desde la base del horizonte A hasta el inicio del horizonte Bt1). En cambio, la mezcla sin vicia mejoró la estabilidad del sistema de poros del suelo en el caso de la secuencia soja-soja compensando la falta de maíz en la secuencia. La inclusión de maíz en la rotación incrementa el aporte de C en comparación con el monocultivo de soja impactando positivamente sobre funciones edáficas relacionadas a la estructura y las fracciones orgánicas del suelo (Mazzilli et al. 2015, Capítulo 2).

De acuerdo con Schipansky et al. (2014), este estudio muestra el potencial de los CC para influir positivamente sobre diversos servicios ecosistémicos, particularmente asociados al suelo; no obstante, la gestión del N dentro de estos agroecosistemas es compleja. El aporte adicional de N por las leguminosas y la mineralización de N a partir de residuos de los CC se pueden complementar con bajas dosis de fertilizantes sintéticos y en conjunto colaborar en la producción de los cultivos (Drinkwater et al. 2017). No obstante, se encontró que la disminución del N mineral por los CC resulta en una ventaja (en términos de rendimiento de cultivos comerciales) cuando la alternativa es perder N por lixiviación en períodos lluviosos; sin embargo, durante los años más secos el uso de CC

puede convertirse en una desventaja al reducir la disponibilidad de N para el cultivo de cosecha (Thorup-Kristensen et al. 2003, Tribouillois et al. 2016). Esto es, particularmente importante, en el caso de la soja sembrada bajo monocultivo, debido a que probablemente enriquece con N el ambiente edáfico.

### **3.5 Conclusiones**

En este capítulo se demostró que el uso de mezclas de CC de ciclo otoño-invernal en sistemas de cultivo simplificados aumentó las concentraciones de las fracciones orgánicas en las capas superficiales del suelo y la proporción de macro y mesoporos en profundidad. Además, el uso de mezclas de CC mejoró la estabilidad de los agregados, en comparación con las rotaciones que mantuvieron el barbecho invernal. El aumento en el COS y NOS se relacionó con la entrada de C de la biomasa aérea de CC y el COS se asoció positivamente con la estabilidad de los agregados. Los periodos de crecimiento de las mezclas de CC más largos y lluviosos incrementaron el potencial de producción de biomasa de la triple mezcla CC2 en comparación con CC1 y la mezcla CC2 siempre tuvo mayor cantidad de N en su biomasa, por la inclusión de vicia. Por otro lado, la absorción de  $\text{NO}_3$  del suelo por las mezclas de CC redujo el N mineral en comparación con las secuencias sin CC disminuyendo, posiblemente, el riesgo de pérdida de N por lixiviación durante las temporadas de lluvias. No obstante, en años húmedos, la secuencia soja-soja con y sin mezcla de CC presentó mayor cantidad de N mineral que la secuencia soja-maíz.

El uso de mezclas de CC en la secuencia soja-maíz, produjo rendimientos de soja similares con y sin CC, mientras que el rendimiento de maíz luego de CC2 fue superior al obtenido luego de CC1 y similar o levemente mayor en relación al control sin CC. Esto, probablemente, se relacionó con una mayor disponibilidad de N luego de CC2, que incluyó

vicia, que luego de CC1 y con menores precipitaciones que no permitieron que el maíz se beneficiara con el aporte de N de la mezcla CC2 en comparación con el control sin CC. El rendimiento de soja en la secuencia soja-soja con CC fue menor en años con bajas precipitaciones durante el crecimiento de los CC. Esto estuvo, posiblemente, asociado con el consumo de agua y de N por parte de los CC; en cambio, con elevadas precipitaciones este impacto negativo desapareció.

Los resultados de este capítulo destacan el potencial de las mezclas de CC, específicamente la triple mezcla de CC, en adicionar e influir sobre diversos servicios ecosistémicos, en particular sobre la mejora de la estructura del suelo en profundidad, las fracciones de la materia orgánica y la producción de biomasa. En consecuencia, su inclusión, en secuencias agrícolas simples, particularmente con maíz, y con bajas dosis de fertilización nitrogenada, contribuyen a la sustentabilidad de los sistemas de producción en el mediano plazo.

**4. CAPÍTULO 4: Construcción de escenarios agronómicos ambientalmente sustentables con cultivos de cobertura y dosis variables de fertilización con N utilizando el modelo STICS**

## 4.1 Introducción

Los sistemas agrícolas diversificados con CC y asociados con baja o nula fertilización nitrogenada, propuestos en los capítulos anteriores, resultaron exitosos para reducir los impactos ambientales negativos en el mediano plazo. Este manejo disminuyó el N mineral residual y su pérdida por lixiviación, mejoró el secuestro de C, la porosidad y la agregación del suelo, mientras que incrementó o mantuvo los rendimientos de los cultivos de cosecha en comparación a un sistema sin CC (Restovich et al. 2011, 2012, Capítulo 2). Sin embargo, no todos los impactos de esta práctica sobre los ciclos de C y N pueden determinarse en esta escala de tiempo. En varios estudios se ha informado de un marcado aumento en la mineralización de N con el uso de CC en sistemas agrícolas (Olesen et al. 2004, Constantin et al. 2012). Además, la mayor cantidad de materia orgánica del suelo que se encuentra después de utilizar CC durante varios años (Poeplau y Don 2015, Rimski-Korsakov et al. 2015, Capítulo 2), indica que los impactos a largo plazo de los CC podrían ser diferentes de los observados después de algunos años. Además, el efecto de diferentes dosis de fertilizantes sobre las pérdidas de N por lixiviación en estos sistemas es incierto.

Por otro lado, también se ha demostrado que aumenta la lixiviación de N cuando se abandona, luego de algunos años, el uso de CC (Constantin et al. 2012), aunque la duración de este efecto bajo diferentes condiciones edafoclimáticas no se conoce bien. La evaluación de todos estos impactos en experimentos de campo de largo plazo es muy costosa debido a una elevada inversión en análisis y en tiempo de experimentación (Autret et al. 2020). La articulación entre datos de campo adquiridos y modelos de simulación de cultivos brinda la posibilidad de evaluar cambios en variables difíciles de medir a campo y permite

determinar el impacto de los sistemas de cultivo sobre los ciclos de C y N en el largo plazo (Constantin et al. 2012).

En este contexto, se han desarrollado y evaluado modelos dinámicos basados en procesos para simular los rendimientos y los impactos ambientales de los sistemas de cultivo convencionales (Brisson et al. 1998, Keating et al. 2003). Uno de ellos es el modelo suelo-planta STICS (Simulateur multIdisciplinaire pour les Cultures Standard) que simula el crecimiento de los cultivos y los ciclos de N, C y agua y sus impactos ambientales asociados (Brisson et al. 1998, 2008). Este modelo se ha evaluado positivamente para simular el impacto de las prácticas agrícolas en el balance de C del suelo (Wattenbach et al. 2010), la mineralización de N y la lixiviación de  $\text{NO}_3$  (Constantin et al. 2015, Plaza-Bonilla et al. 2015) y las emisiones de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) (Peyrard et al. 2016, Plaza-Bonilla et al. 2017, Autret et al. 2019), en una amplia gama de condiciones edafoclimáticas y de manejo de cultivo (Coucheney et al. 2015). Además, puede simular diversas prácticas de gestión agrícola como el uso de residuos orgánicos, los CC o la interseembra de cultivos (Beaudoin et al. 2008, Corre-Hellou et al. 2009, Constantin et al. 2012). Una versión reciente del modelo permite simular cultivos perennes, incluida su rotación de raíces (Strullu et al. 2020). El modelo STICS, dado su carácter genérico y su robustez, tiene el potencial de simular las dinámicas de C y N en sistemas de cultivos diversificados a largo plazo (Constantin et al. 2012). Por otro lado, si bien es uno de los modelos más utilizados en Europa y en el mundo (Syswerda et al. 2012, Jégo et al. 2014, Coucheney et al. 2015, Yin et al. 2017), no existen antecedentes de su uso en Argentina, indicando que su implementación podría contribuir significativamente a la comprensión del funcionamiento de los sistemas agrícolas.



Los objetivos del capítulo son: a) evaluar la capacidad de STICS para simular la evolución de diferentes variables de los cultivos, el suelo y el agua en sistemas agrícolas que incluyen CC, en las condiciones edafoclimáticas de la pampa ondulada, y b) predecir los cambios de largo plazo en las reservas de C y N orgánicos del suelo en sistemas con y sin CC y diferentes dosis de fertilización nitrogenada al cultivo de maíz y evaluar las pérdidas de N por lixiviación en rotaciones agrícolas.

## **4.2 Materiales y métodos**

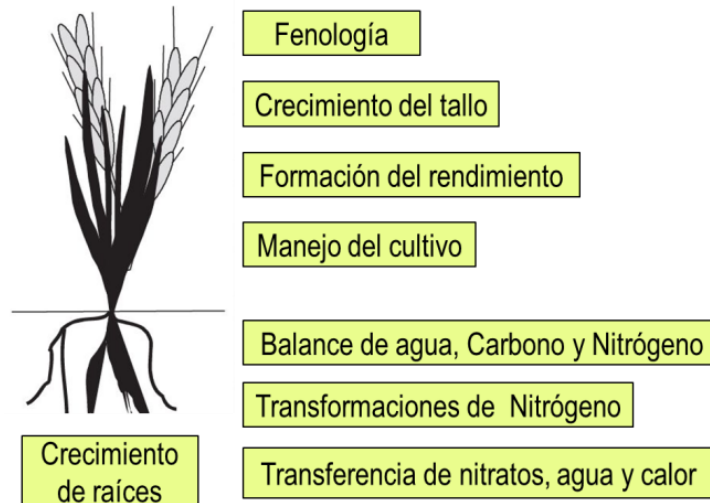
### **4.2.1 Dispositivo experimental**

Para la evaluación del modelo se utilizaron datos del experimento de campo de larga duración de Cultivos de Cobertura instalado en la EEA INTA Pergamino, que fue descrito en el capítulo 2 de esta tesis. Se utilizaron bases de datos de un Argiudol típico (Taxonomía de suelo del USDA) de la serie Pergamino con un horizonte A franco limoso sin fase erosionada (<0,3% de pendiente) y un fuerte horizonte B argílico. Los datos de clima del área de estudio fueron obtenidos de la red Agroclimatológica de INTA. Las prácticas de manejo simuladas corresponden a manejos típicos simplificados de la región (soja-maíz) incluyendo o no el uso de diferentes especies como CC y dos niveles de fertilización para maíz (0 y 32 kg N ha<sup>-1</sup>). Las especies utilizadas como CC para la evaluación del modelo, representando diferentes familias botánicas, fueron: cebada forrajera (*Hordeum vulgare L.*), vicia (*Vicia sativa L.*) y colza (*Brassica campestris L.*). Además, para la evaluación de STICS se utilizaron tres lisímetros de relleno construidos entre 1969 y 1970, también ubicados en la EEA INTA Pergamino, con un suelo Argiudol típico de la serie Pergamino. Se reconstruyeron los perfiles de suelo hasta 1,2 m de profundidad colocando

secuencialmente cada horizonte y compactándolo hasta su densidad original sobre una capa de 0,12 m de arena y 0,04 m de grava que deriva el drenaje profundo hacia un tubo colector ubicado a 1,4 m de profundidad. Los lisímetros estuvieron bajo agricultura continua durante 40 años, permitiendo a los suelos recuperar su estructura natural. A partir de 2001, se inició una rotación soja-maíz bajo SD.

#### **4.2.2 Descripción general del modelo STICS**

El modelo STICS (v10) es un modelo unidimensional que simula tanto variables agrícolas (desarrollo y rendimiento del cultivo) como variables ambientales (dinámica del agua, C y N en el suelo y las plantas) impulsadas por datos climáticos, características del suelo y prácticas agrícolas (Figura 4.1). Es un modelo establecido y probado para simular el comportamiento del sistema suelo-cultivo con paso diario de tiempo. Las entradas del modelo son variables climáticas diarias, características iniciales del suelo (contenido de C orgánico, N orgánico, arcilla y  $\text{CaCO}_3$ , pH, densidad aparente, punto de marchitez y capacidad de campo) e información sobre prácticas de manejo de cultivos (por ejemplo, labranza, fechas de siembra y densidad, riego, fertilización con N y fechas de cosecha). Además, se debe proporcionar al modelo los parámetros específicos del cultivo con respecto al desarrollo, el crecimiento potencial y los factores de estrés abiótico (en relación con la temperatura, el agua o el N). En la Cuadro 4.1 se muestra una lista de parámetros relacionados con el suelo, el manejo de cultivos y el clima necesarios para el modelo.



**Figura 4.1.** Módulos principales del modelo de simulación suelo-cultivo STICS\_

El desarrollo de los cultivos es impulsado por un índice térmico (grados-días) o un índice fototérmico, y la radiación solar. El modelo simula el crecimiento del cultivo a través de la acumulación de C de la planta: la radiación fotosintéticamente activa es interceptada por el follaje y transformada en biomasa que se dirige a los órganos cosechados al final del ciclo del cultivo. El contenido de N de la planta depende de la acumulación de C y de la disponibilidad de N del suelo. STICS, al simular los equilibrios de agua, C y N del sistema de cultivo y del suelo a diario, permite calcular los índices de estrés de temperatura, agua y N. El suelo se considera como una sucesión de, como máximo, cinco capas horizontales, cada una de las cuales se caracteriza por su profundidad, contenido de agua en la capacidad de campo (CapC) y punto de marchitez permanente (PMP), densidad aparente, tipo y contenido de elementos gruesos (pedregosidad) y tasa de infiltración. Además, se asume que todas estas características son constantes para cada capa.

**Cuadro 4.1.** Parámetros de entrada utilizados en el modelo STICS

Parámetros del suelo	Manejo del cultivo	Clima
Arcilla (g kg <sup>-1</sup> )	Aporte de residuos	Temperatura mínima (°C)
C orgánico (g kg <sup>-1</sup> )	Labranza del suelo	Temperatura máxima (°C)
N orgánico (g kg <sup>-1</sup> )	Fecha de siembra	Radiación (MJ m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )
Relación C/N	Riego	ETP Penman (mm d <sup>-1</sup> )
CaCO <sub>3</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	Fertilización	Precipitaciones (mm d <sup>-1</sup> )
pH	Fecha de cosecha	Viento (m s <sup>-1</sup> )
Constantes hídricas: PMP y CapC (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )		
Albedo de suelo desnudo	Técnicas especiales	Presión de vapor (mbar)
Profundidad del suelo a la que se impide el crecimiento de las raíces debido a restricciones físicas(cm)	Modificación del suelo por fragmentación por compactación.	Contenido CO <sub>2</sub> (ppm)
Profundidad máxima del suelo afectada por la evaporación del suelo(cm)		
Umbral de concentración de nitrato en el suelo para lixiviación(kg N ha <sup>-1</sup> mm <sup>-1</sup> agua)		
Evaporación acumulativa del suelo por encima de la cual disminuye la tasa de evaporación(mm)		
Fracción de escurrimiento (en relación con la precipitación total) en un suelo desnudo		
Cantidad mínima de lluvia requerida para formar costra en el suelo (mm d <sup>-1</sup> )		
Profundidad del rastrojo a partir del cual se produce costra (cm)		
Longitud de rugosidad del suelo desnudo(m)		

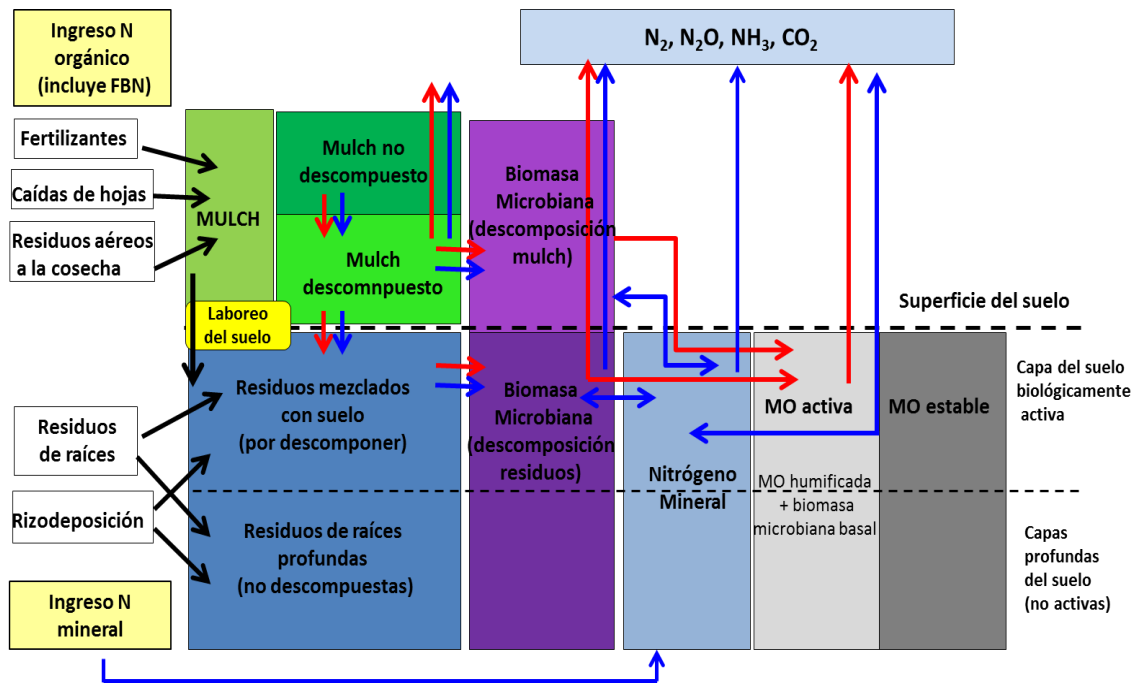
La descomposición de la materia orgánica del suelo se simula con tres compartimentos: materia orgánica fresca (mulch), biomasa microbiana y materia orgánica humificada, esta última está compuesta por una fracción activa y una estable (Figura 4.2). STICS asume que la mineralización de la materia orgánica ocurre en la capa superior del suelo hasta una profundidad máxima (generalmente 25 cm), mientras que se considera insignificante por debajo de esa profundidad (Brisson et al. 2008). Los flujos de C y N, durante la descomposición de los residuos de cultivos, entre estos compartimentos dependen de su relación C/N, temperatura del suelo, contenido de agua y contenido de N mineral (Yin et al.

2020). Además, la descomposición de los residuos orgánicos y su humificación debido a la actividad microbiana se simula a través de los siguientes parámetros: relación C/N de biomasa microbiana, tasa de descomposición del residuo vegetal, tasa de descomposición de la biomasa microbiana, rendimiento de asimilación de C y la tasa o coeficiente de humificación (Nicolardot et al. 2001). Adicionalmente, el modelo asume que la relación entre fracciones activas e inertes es similar para C y N, es decir que la relación C/N de las fracciones activa y estable de la materia orgánica son iguales (Clivot et al. 2017, 2019).

El coeficiente de humificación utiliza una relación C/N promedio específica para cada residuo de cultivo comercial (Machet et al. 2017) y las funciones de parametrización descrita por Justes et al. (2009), considerando que valores bajos de C/N promueven la humificación. El coeficiente de mineralización de la materia orgánica del suelo en el modelo depende de las condiciones climáticas y de las características del suelo en la capa biológicamente activa (N orgánico activo, contenido de arcilla, cantidad de  $\text{CaCO}_3$ , relación C/N, pH, contenido de agua del suelo y la temperatura) (Clivot et al. 2019). Ésta se obtiene a partir de una tasa de mineralización potencial que es función de la temperatura del aire y de una función usada como un proxy para describir la humedad del suelo (es una función del ingreso por lluvia y/o riego y de la evapotranspiración potencial). La proporción de N orgánico activo por defecto del modelo está fijada al inicio del experimento en 0,35, valor para situaciones de larga historia agrícola (Mary y Guérif 1994, Andriulo et al. 1999, Saffih-Hdadi y Mary 2008, Mary et al. 2020).

La descomposición de los residuos está afectada no solo por las propiedades físicas como la temperatura y la humedad del suelo sino también por las propiedades químicas que afectan los ciclos de C y N. En general, el mantillo de residuos se compone de una fracción de fácil descomposición (en contacto con el suelo) y otra fracción de lenta descomposición

(ubicada justo arriba). En la medida en que la fracción de los residuos de fácil descomposición desaparece, la fracción de lenta descomposición le suministra residuos hasta alcanzar una cantidad máxima, cuyo valor depende del tipo de residuo. Además, el modelo considera una disminución en la tasa de descomposición de los residuos debido a la limitada accesibilidad al N mineral del suelo por parte de los microorganismos que descomponen la materia orgánica. El N mineral del suelo disponible depende linealmente de la cantidad de C en los residuos incorporados al suelo (Autret et al. 2020).



**Figura 4.2.** Compartimentos de C y N del suelo y flujos entrantes y salientes de C y N en el modelo STICS. Las flechas rojas representan los flujos C, las flechas azules los flujos de N y las flechas negras los flujos de materia orgánica (C+N) (Adaptado de Autret et al. 2020).

Por otro lado, para la simulación en la transferencia de agua y solutos (nitrato) entre capas, el agua llena las capas por flujo descendente cuando se excede la capacidad de campo de la capa superior. A su vez, el transporte de nitratos dentro del perfil del suelo se

simula utilizando el concepto de "mixing cell", simulando la convección y dispersión de solutos y mezclándose con la cantidad ya presente en la capa (Mary et al. 1999; Plaza-Bonilla et al. 2015).

#### **4.2.3 Evaluación del modelo**

La evaluación del modelo STICS, que se presenta en esta tesis, se realizó en el marco de un proyecto internacional de colaboración con investigadores de los grupos Agro Impact Research Unit (Laon-Mons, Francia), Agroscope (Nyon, Suiza) y Aarhus University (Tjele, Dinamarca), con el fin de promover globalmente la utilización del modelo a través del proyecto "Extension and improvement of IDE-STICS (Intercontinental Data base for Evaluation of STICS model) over the world". Para este estudio, se utilizaron cuatro experimentos de campo en zonas templadas y tropicales, incluyendo la EEA de Pergamino y otros tres ubicados en Francia (Boigneville), Dinamarca (Foulum), y Brasil (Río Verde) (Armas-Herrera et al. 2015). Por otro lado, se destaca que la calibración del modelo suelo-cultivo STICS se realizó con diferentes ensayos de larga duración de Francia.

En el caso de Pergamino, se realizó la evaluación del modelo utilizando los parámetros generales por defecto de STICS. Sin embargo, algunos parámetros fueron adaptados localmente como los coeficientes genéticos de cultivares de soja y maíz debido a que las variedades e híbridos de Francia para soja y maíz, respectivamente, tienen menor producción que en Argentina (datos fenológicos proporcionados por Jimena Introna EEA Pergamino, comunicación personal). La parametrización del suelo se realizó mediante la recopilación de características físico-químicas y el cálculo de algunos índices de acuerdo con las entradas que necesita el modelo (Cuadro 4.1). El modelo fue evaluado a partir de datos de suelo y vegetal obtenidos entre 2005 y 2013 en cuatro tratamientos del ensayo de

larga duración: a) soja-maíz sin CC, b) soja-vicia-maíz, c) soja-cebada-maíz, d) soja-colza-maíz (Restovich et al. 2011, 2012, capítulo 2) y de registros diarios (años) de drenaje y lixiviación obtenidos del ensayo en lisímetros (Portela et al. 2006, 2016). Así, el modelo se probó comparando sus predicciones con los valores observados para: i) biomasa aérea y N absorbido; ii) rendimiento en grano; iii) balance hídrico: contenido de agua del suelo y drenaje; iv) balance de N: N mineral del suelo, reservas de N orgánico, N lixiviado; v) reservas de COS. La comparación se realizó en modo de simulación continua, siguiendo a Beaudoin et al. (2008) y Constantin et al. (2012).

#### **4.2.4 Criterios estadísticos para evaluar el modelo**

El uso combinado de algunos indicadores estadísticos es necesario para alcanzar un adecuado marco para inferir sobre la calidad de simulación durante los estudios de modelización. Así, se aplicaron siete criterios para evaluar la calidad de las simulaciones: el error cuadrático medio (RMSE), el error cuadrático medio relativo (RMSEr), el error sistemático (RMSEs) y el error no sistemático (RMSEu), la eficiencia del modelo (EF), la diferencia media (DM) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). La combinación de estos criterios proporciona una visión general de la precisión del modelo.

El RMSE proporciona una estimación del error del modelo, y se divide en dos componentes que constituyen el error sistemático (RMSEs) y el error no sistemático (RMSEu), los cuales representan el sesgo sistemático y la dispersión de los valores simulados, respectivamente. La prevalencia del error sistemático indica que hubo un error durante la parametrización del modelo o que el modelo perdió procesos importantes necesarios para simular correctamente el comportamiento del sistema suelo-planta. El error no sistemático está ligado a: 1) incertidumbres en las entradas o en las mediciones o 2) al



efecto de condiciones ambientales excepcionales o estreses bióticos no tenidos en cuenta por el modelo (Autret et al. 2020). El RMSE relativo (RMSEr) con valores  $\leq 15$  el error se considera bajo, entre 15 y 30 moderado y  $>30$  cuando es elevado. La EF se interpreta como el rendimiento del modelo en relación con los valores medios observados; un valor cercano a uno indica una estimación perfecta del modelo. La EF puede tomar valores negativos y sin límite inferior, pero en estos casos, la estimación del modelo no es muy buena. Si el límite superior de EF es 1 se considera al modelo como un estimador perfecto. Los valores de EF comprendidos entre 0 y 0,5 se consideran aceptables, entre 0,5 y 0,7 satisfactorio y entre 0,7 y 1 bueno. La DM da el sesgo del modelo, indicando sobre o subestimación de la variable. El  $R^2$  describe la proporción de la variación total de los datos observados que puede ser explicada por el modelo y si bien caracteriza la dispersión no tiene en cuenta el error sistemático. Se calculan de la siguiente manera:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Si - Oi)^2}{n}}$$

$$RMSEr = 100/\bar{O} * \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Si - Oi)^2}{n}}$$

$$RMSEs = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{S}i - Oi)^2}{n}}$$

$$RMSEu = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Si - \bar{S}i)^2}{n}}$$

$$EF = \frac{\sum_{i=1}^n (Oi - \bar{O})^2 - \sum_{i=1}^n (Si - Oi)^2}{\sum_{i=1}^n (Oi - \bar{O})^2}$$

$$DM = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (S_i - O_i)$$

$$R^2 = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})(O_i - \bar{O})}{\sigma_s \sigma_o} \right]^2$$

donde:  $n$  = número de observaciones;  $S_i$  = valores simulados;  $O_i$  = valores observados;  $\bar{O}$  = valor medio observado.  $\bar{S}$  = derivado de la regresión lineal entre valores observados y simulados,  $\sigma_s$  y  $\sigma_o$  = representan los desvíos estándares de los datos simulados y observados, respectivamente.

Se considera que las predicciones del modelo son satisfactorias (criterio de aceptación) cuando el sesgo (estimado por DM y RMSE) es pequeño, el RMSEs es menor a 10% y el RMSEu es menor o igual a la variabilidad de los datos medidos (desvío estándar), el RMSEr es moderado, la EF > 0 y el  $R^2$  presenta una buena capacidad para explicar la dispersión de los datos.

#### 4.2.5 Escenarios de simulación

Se simularon tres escenarios de manejos agrícolas durante 30 años, variando la presencia y la frecuencia de dos CC (vicia y cebada) en la rotación soja-maíz y la dosis del fertilizante nitrogenado aportado al cultivo de maíz, comparando siempre con la rotación soja-maíz sin CC. Las especies elegidas como CC pertenecen a las familias con alto uso en los sistemas productivos de la región pampeana. No se incluyó en la evaluación una mezcla de leguminosa y gramíneas debido a que el fichero planta en el modelo todavía no está disponible.

Las simulaciones fueron realizadas para un plazo de 30 años en un contexto de variabilidad climática conocida (1989-2019) para poder atribuir los cambios de las variables de estudio al manejo de los sistemas productivos. El escenario 1 (E1) simuló la rotación soja-maíz en presencia de CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>). El escenario 2 (E2) simuló la rotación anterior pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC. El escenario 3 (E3) simuló la rotación soja-maíz con CC y una dosis de 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó un control, soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz.

Para comparar los valores simulados entre tratamientos y/o entre los escenarios se utilizó el RMSE del modelo de cada variable. Si bien no es un criterio absoluto debido a que este valor se obtuvo en 9 años y que también incluye la variabilidad de las mediciones, es un buen indicador del error promedio del modelo. Entonces, si la diferencia entre tratamientos es mayor que el RMSE, se puede aceptar, con alta probabilidad, que dos tratamientos son diferentes.

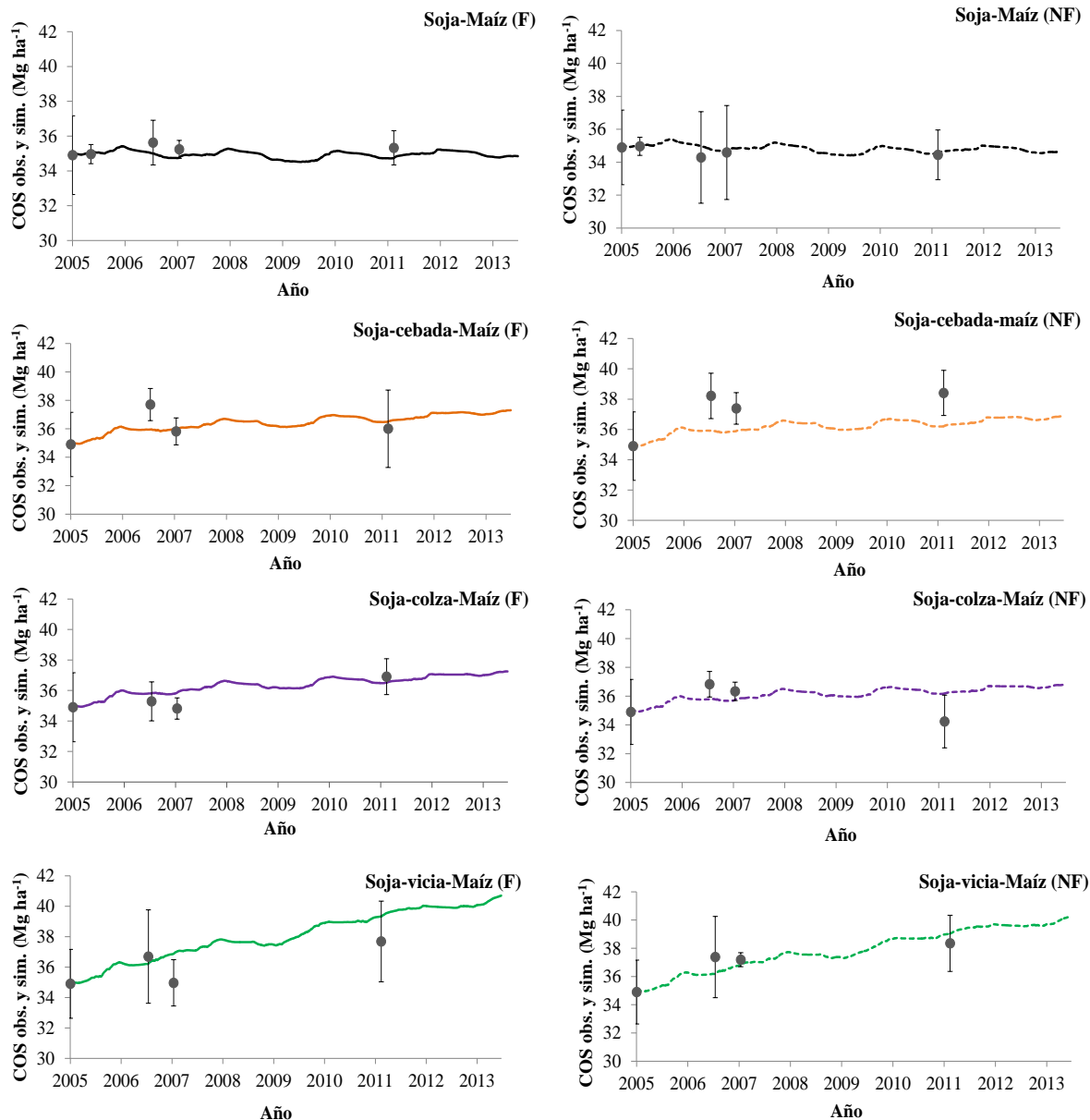
## **4.3 Resultados**

### **4.3.1 Evaluación del modelo**

#### **4.3.1.a Evolución de las reservas de COS y NOS**

El rendimiento de STICS se evaluó, para las diferentes variables de interés, en simulaciones continuas contra la base de datos de una secuencia soja-maíz con y sin CC (vicia, cebada, colza) asociados con baja (32 kg N ha<sup>-1</sup>) o nula fertilización con N aplicado

al maíz. Los valores de COS variaron entre 34,6-40,7 Mg ha<sup>-1</sup> y se mantuvieron o aumentaron, durante el tiempo experimental (2005-2013) según los tratamientos, y esta dinámica fue bien simulada por el modelo excepto en el caso de la secuencia con cebada como CC y sin fertilización en la que el modelo subestimó en un 5% las reservas de COS (Figura 4.3). Las reservas de NOS siguieron las mismas tendencias que las de COS y los valores variaron entre 3,35-3,97 Mg NOS ha<sup>-1</sup> de acuerdo a los tratamientos con y sin CC asociados a baja o nula fertilización nitrogenada.



**Figura 4.3.** Evolución del stock de COS (en 2200 Mg ha<sup>-1</sup> suelo) simulado para tratamientos fertilizados (F) (línea sólida) y no fertilizados (NF) (línea punteada) y los valores observados (puntos).

En la evaluación estadística se observó que las reservas orgánicas del horizonte A fueron muy bien simuladas, con valores muy bajos de RMSE de 0,16 y 1,0 Mg ha<sup>-1</sup> para NOS y COS, respectivamente. Además, las simulaciones presentaron eficiencias aceptables (EF: 0,15/0,41) y con baja subestimación (DM: 0,1 Mg N ha<sup>-1</sup> y -0,1Mg C ha<sup>-1</sup>) (Cuadro 4.2 y

Anexo 5). Si bien el modelo subestimó las reservas de COS para cebada en la secuencia soja-maíz sin fertilización con N, el error cuadrático medio (RMSE: 1,0 Mg C ha<sup>-1</sup>) fue menor que el error de medición (desviación estándar media: 1,3 Mg C ha<sup>-1</sup>), lo que confirma la calidad satisfactoria de la predicción del modelo para esta variable. Además, se evaluaron diferentes variables de planta (biomasa aérea y N en planta de CC, soja y maíz y rendimiento en grano) para probar la calidad del modelo en la estimación de los aportes. Estas variables fueron bien simuladas con una eficiencia muy aceptable (EF= 0,70-0,86), con bajos errores y menores que la variabilidad de los datos (RMSE<DE). La simulación de la biomasa aérea y el N en planta presentaron muy baja sobreestimación (0,8 y 6,1 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) y en el rendimiento se observó una subestimación de 0,3 kg ha<sup>-1</sup> (Cuadro 4.2 y Anexo 5).

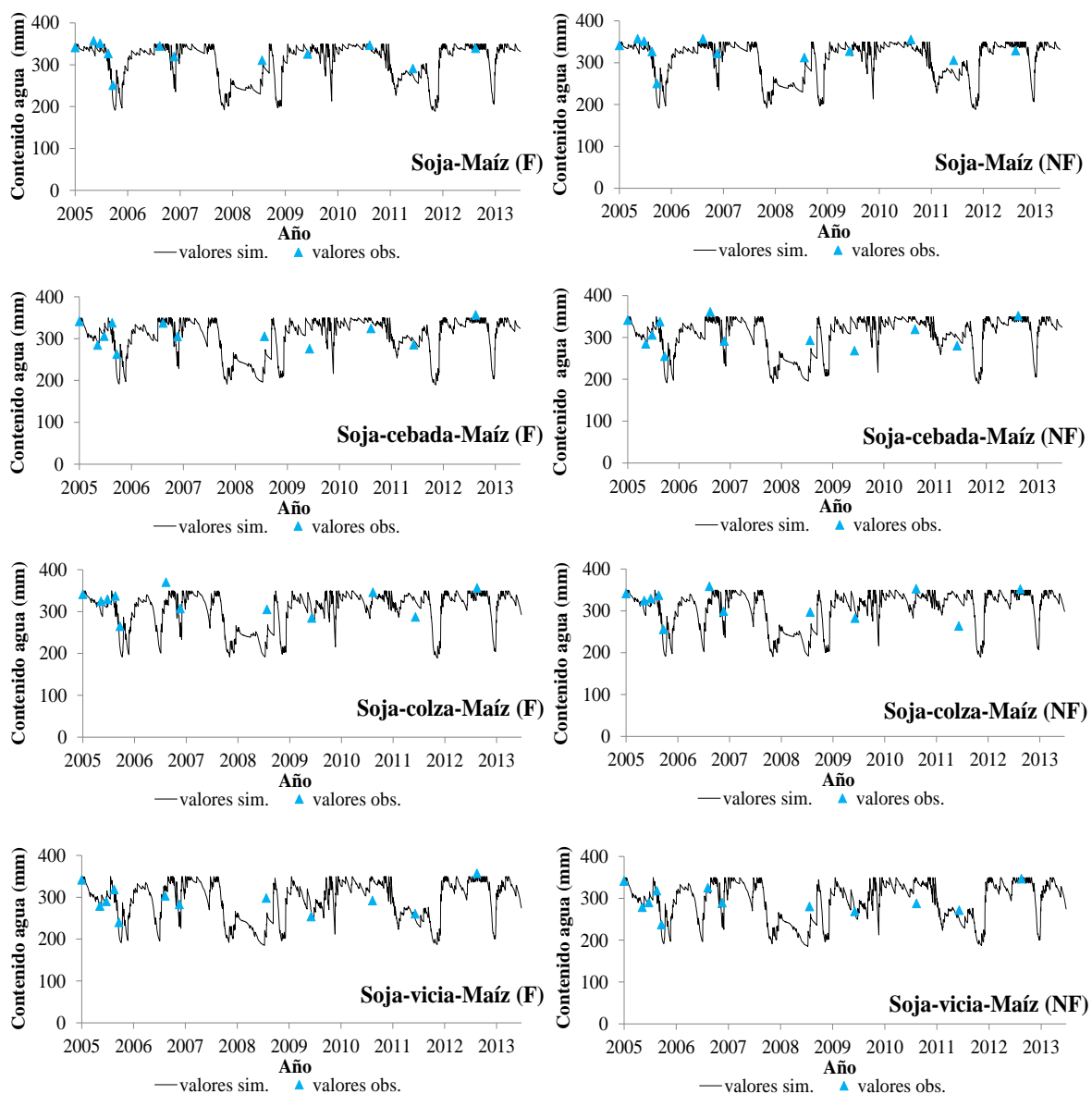
En general, el RMSEr fue muy bajo para las reservas orgánicas de C y N en el suelo (<5%) e intermedio para las variables de cultivo (27-36%). Los errores sistemáticos estuvieron por debajo del 10% y los errores no sistemáticos por debajo del desvío estándar de las mediciones.

**Cuadro 4.2.** Evaluación estadística del modelo STICS para las reservas orgánicas y las variables de planta.

	<b>RMSE</b>	<b>RMSEr</b>	<b>RMSEs</b>	<b>RMSEu</b>	<b>EF</b>	<b>DM</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>DE</b>	<b>n</b>
<b>COS</b> (Mg ha <sup>-1</sup> )	1,0	2,7	0,56	0,8	0,41	-0,1	0,45	1,3	34
<b>NOS</b> (Mg ha <sup>-1</sup> )	0,16	4,6	0,10	0,11	0,15	0,1	0,34	0,2	16
<b>Biomasa aérea</b> (Mg ha <sup>-1</sup> )	2,9	36,1	0,9	2,7	0,70	0,8	0,80	5,2	130
<b>Rendimiento</b> (Mg ha <sup>-1</sup> )	1,6	30,7	0,7	1,4	0,71	-0,3	0,72	2,9	64
<b>N total planta</b> (kg ha <sup>-1</sup> )	30,9	27,9	6,2	30,2	0,86	6,1	0,88	84,0	70

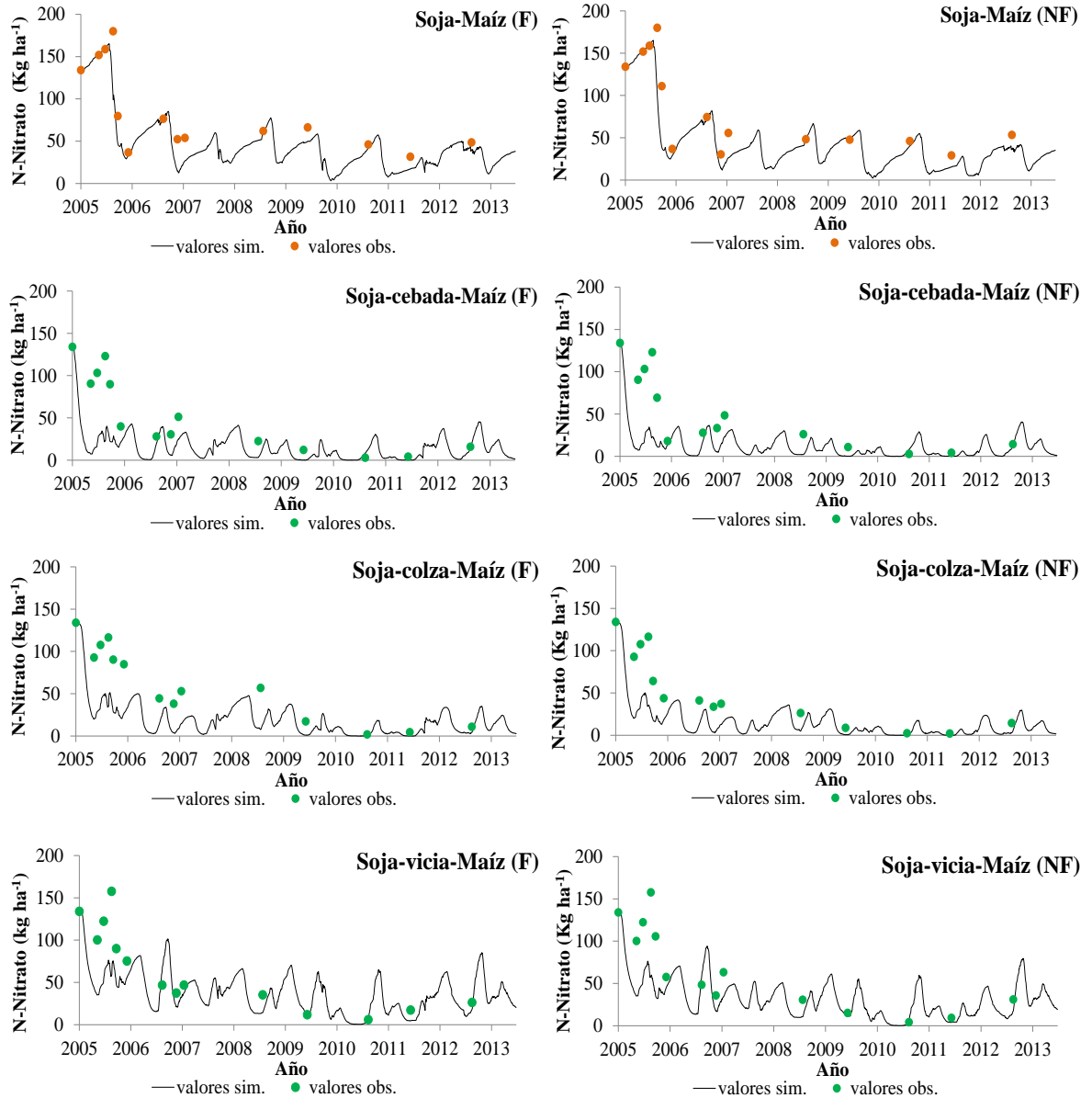
#### **4.3.1.b Dinámica de los contenidos de agua y N-NO<sub>3</sub> en el suelo**

El modelo STICS simuló satisfactoriamente la dinámica del contenido de agua y N-NO<sub>3</sub> del suelo en el espesor 0-100 cm, en todos los tratamientos y durante todo el periodo evaluado (Figuras 4.4 y 4.5). No obstante, se observó que el contenido de N-NO<sub>3</sub> disminuía al comienzo de la simulación (antes del primer maíz) en los tratamientos con CC, no coincidiendo con lo observado. Esto se asoció con la absorción de N por la inclusión de los CC, la cual no fue sobreestimada, debido a que la variable N total en planta, fue bien simulada para los CC. La diferencia en el contenido de N-NO<sub>3</sub> del suelo entre la secuencia soja-maíz sin CC, en presencia o ausencia de la fertilización nitrogenada, y con CC resultó baja y estuvo asociada a la absorción de N por la introducción de los CC. En cambio, cuando no hubo CC, coincidieron los valores simulados con los observados. A partir del 2006 hubo acuerdo entre lo observado y lo simulado en todos los tratamientos.



**Figura 4.4.** Dinámica del contenido de agua simulada (línea negra) y observada (triángulos celestes) para cada uno de los tratamientos evaluados.





**Figura 4.5.** Dinámica del contenido de N-NO<sub>3</sub> simulado (línea negra) y observado (círculos naranjas: control, círculos verdes: cultivos de cobertura) para cada uno de los tratamientos evaluados en la profundidad 0-100cm.

La evaluación estadística del modelo mostró que la humedad gravimétrica en 0-30 cm fue bien simulada, presentando un RMSE bajo de 12,1 mm, una eficiencia aceptable (EF: 0,10) y una subestimación de 1,7 %. El contenido de agua en la profundidad 0-100 cm si bien presentó bajos errores y una subestimación de 16,3 mm, resultó con una eficiencia ligeramente negativa (Cuadro 4.3 y Anexo 5). Este resultado está asociado a una subestimación del modelo en el horizonte B3, en el período 2005-2007, el cual posiblemente en la realidad retiene más agua, de la que indica su capacidad de campo, en periodos muy húmedos por una baja capacidad de absorción por parte de los cultivos (Anexo 6). La cantidad de N-NO<sub>3</sub> en la profundidad 0-100 cm fue, en promedio, subestimada en 27,5 kg ha<sup>-1</sup> y con una eficiencia aceptable (Cuadro 4.3 y Anexo 5).

El RMSEr fue elevado para ambas variables en la profundidad de 0-100 cm y los errores sistemáticos estuvieron por arriba del 10%. En relación a estos resultados, se debe tener en cuenta la presencia del horizonte Bt en el suelo bajo estudio, el cual representa una elevada fuente de variación no controlada sobre las dinámicas del agua y del N en el perfil. Por otro lado, los errores no sistemáticos fueron similares o estuvieron por debajo del desvío estándar de las mediciones. El RMSEs fue siempre menor que la RMSEu, excepto para N-NO<sub>3</sub> que resultó opuesto, indicando que el modelo simuló mejor su variabilidad que su media.

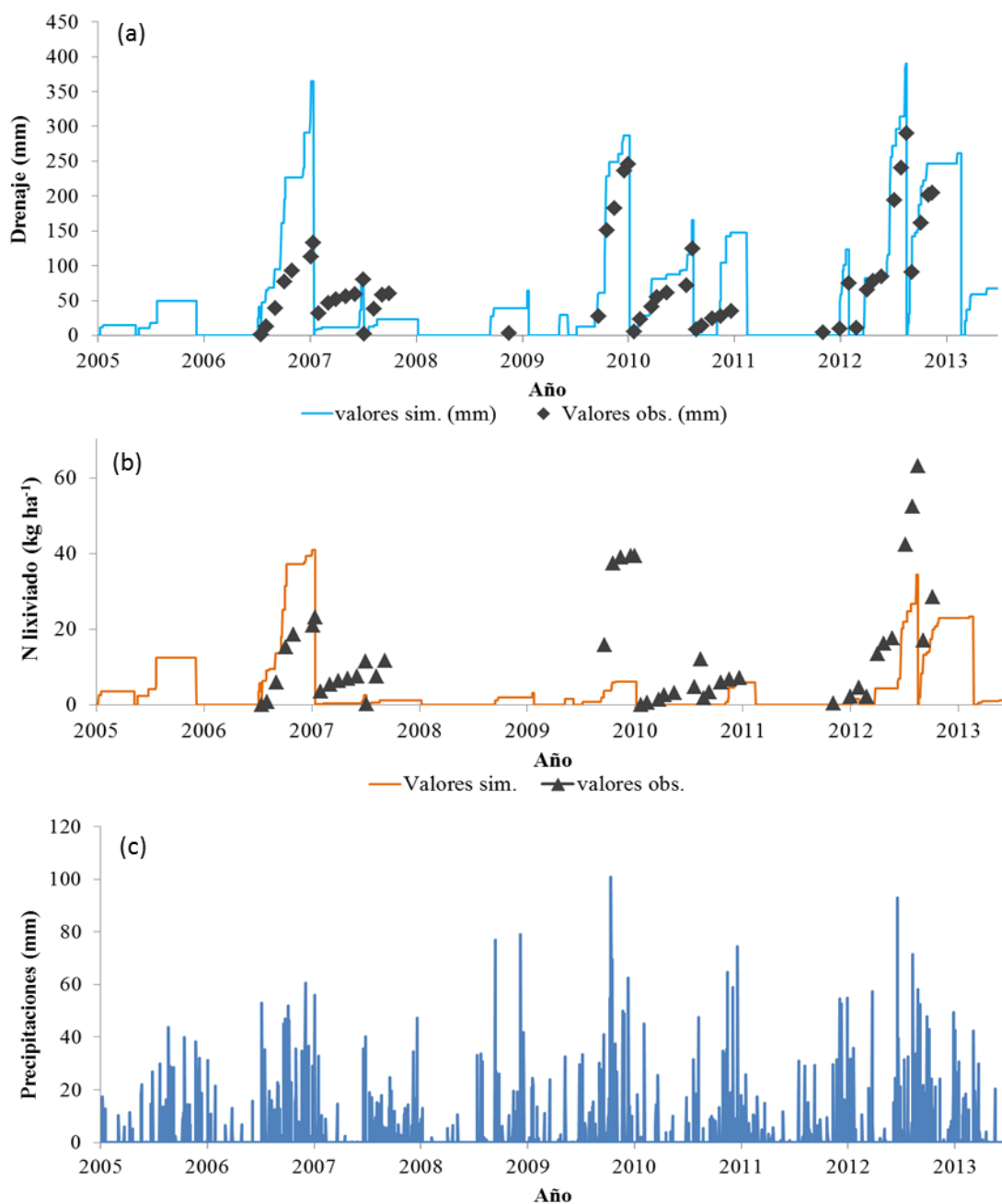
**Cuadro 4.3.** Evaluación estadística del modelo STICS para el contenido de agua y N-NO<sub>3</sub> del suelo

	RMSE	RMSEr	RMSEs	RMSEu	EF	DM	R <sup>2</sup>	DE	n
<b>Contenido de agua</b> 0-100 cm (mm)	12,1	37,9	16,3	34,2	-0,03	-16,3	0,49	33,5	96
<b>% humedad</b> 0-30 cm (g/100 g suelo)	4,2	18,8	1,9	3,8	0,10	-1,7	0,48	4,4	96
<b>Contenido de N-NO<sub>3</sub></b> 0-100 cm (kg ha <sup>-1</sup> )	42,2	63,5	34,6	28,2	0,30	-27,5	0,60	50,7	96

### 4.3.1.c Dinámica del drenaje y la lixiviación

En general, STICS capturó muy bien las tendencias del drenaje registrado en los lisímetros, a lo largo del período evaluado, para la secuencia soja-maíz sin CC (Figura 4.6a). El periodo bajo estudio (2005-2013) presentó un drenaje promedio de 82 mm año<sup>-1</sup>, estos datos fueron obtenidos en los lisímetros de relleno. Las condiciones lluviosas de primavera-verano de 2006 y 2011 sobreestimaron el drenaje entre un 20 y 40 % mientras que en los años siguientes, las sobre o subestimaciones fueron de menor magnitud (Figura 4.6c). Con respecto al N lixiviado, el modelo produjo una buena simulación de la lixiviación de N, excepto por picos ocasionales de altos valores (Figura 4.6b). Los valores observados provienen de una secuencia soja-maíz con una dosis mayor de fertilización de N, aplicada al cultivo de maíz (52 vs 32 kg N ha<sup>-1</sup>). Por lo tanto, esos picos observados están relacionados a una mayor fertilización aplicada que la indicada al modelo. Además, el año 2008 fue extremadamente seco, estimulando a mayores pérdidas de N durante 2009 cuando retornaron las lluvias.

La evaluación estadística de STICS arrojó que el modelo simuló bien el drenaje y la lixiviación, sobreestimando y subestimando sólo en 35 mm y 6,0 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Cuadro 4.4 y Anexo 5). Además, el modelo reprodujo bien la variabilidad de ambas variables (eficiencia aceptable). No obstante, el RMSEr fue muy elevado, con errores sistemáticos entre el 10 y 34% para lixiviación y drenaje, respectivamente, pero con errores no sistemáticos por debajo del desvío estándar de las mediciones.



**Figura 4.6.** Datos simulados y observados de drenaje (a) y lixiviación de N (b) acumulados anualmente. Como referencia, se incluyen las precipitaciones del período de evaluación (c). Los datos observados de drenaje y lixiviación se obtuvieron de los lisímetros ubicados en la EEA Pergamino

**Cuadro 4.4.** Evaluación estadística del modelo STICS para drenaje y lixiviación de nitrógeno.

	<b>RMSE</b>	<b>RMSEr</b>	<b>RMSEs</b>	<b>RMSEu</b>	<b>EF</b>	<b>DM</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>DE</b>	<b>n</b>
<b>Drenaje (mm)</b>	70,2	86,0	34,1	55,5	0,10	35,4	0,76	75,4	49
<b>Lixiviación N (kg ha<sup>-1</sup>)</b>	14,0	98,0	10,2	9,8	0,14	-6,0	0,34	15,4	45

La evaluación de las variables de planta y de suelo mostró un buen comportamiento del modelo para describir la dinámica estacional de diferentes prácticas de manejo de cultivo. En este contexto, estos resultados habilitan el uso de STICS como una herramienta predictiva para identificar cambios en los ciclos de C y N en la Pampa Ondulada argentina. No obstante, a partir de lo observado en la dinámica de COS para la secuencia con cebada y sin fertilización con N, esta opción de manejo no se utilizó para las simulaciones de los escenarios.

#### **4.3.2 Simulación de la secuencia soja-maíz con y sin CC durante 30 años**

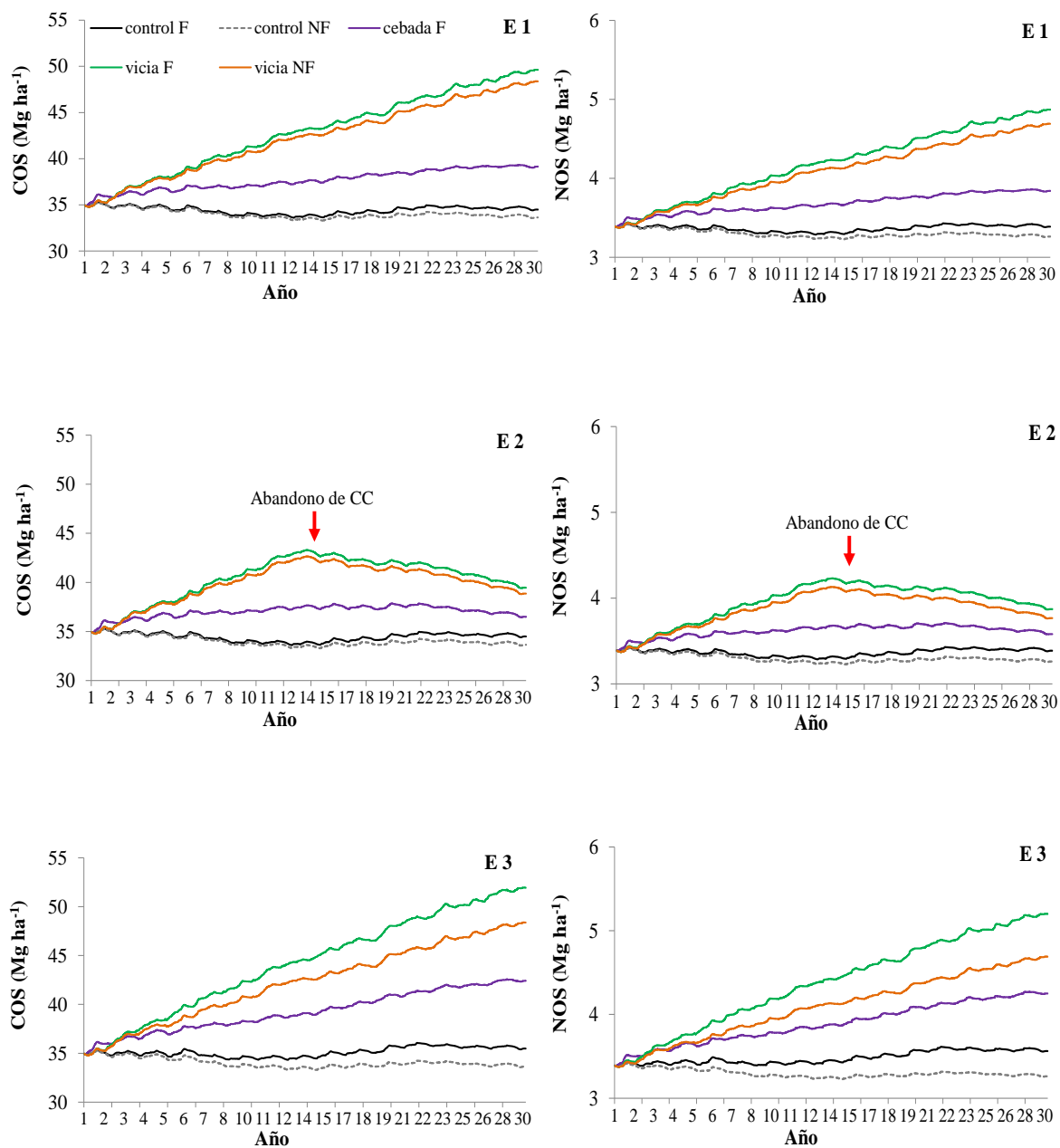
##### **4.3.2.a Secuestro de COS y NOS en el largo plazo**

Luego de 30 años, la secuencia soja-maíz sin CC y con 32 kg N ha<sup>-1</sup> (E1) mantuvo las reservas de COS y NOS con respecto al inicio (34,5 y 3,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) (Figura 4.7). El stock inicial de COS y NOS fue de 34,9 y 3,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Por otro lado, la secuencia soja-maíz sin CC y sin fertilización con N disminuyó las reservas de C y N del suelo con respecto a la misma secuencia con mayor dosis de fertilización (E3: 96 kg N ha<sup>-1</sup>). Por el contrario, el mayor secuestro de COS y NOS ocurrió cuando se incluyó vicia como CC, aumentando estas reservas orgánicas en 14,7 y 1,5 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. En el caso del uso de cebada en la secuencia soja-maíz fertilizada (32

kg N ha<sup>-1</sup>), aumentó el COS en 4,3 Mg ha<sup>-1</sup> y el NOS en 0,45 Mg ha<sup>-1</sup> con respecto al inicio. A partir del momento en el que se abandonó el uso de CC (E2), las reservas de COS y NOS comenzaron a disminuir, siendo más leve la caída con el uso de cebada, la cual mantuvo las reservas orgánicas con respecto al inicio. En el caso de vicia, en presencia o ausencia de la fertilización con N (32 kg N ha<sup>-1</sup>), si bien se observó una caída en las reservas de COS y NOS luego de interrumpir su uso como CC, éstas resultaron más elevadas con respecto al inicio en 4,7 Mg COS ha<sup>-1</sup> y en 0,4 Mg NOS ha<sup>-1</sup>. En el escenario E3, la secuencia soja-maíz sin CC y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> no presentó cambios en COS con respecto a sus valores iniciales. Por el contrario, al incluir CC, aumentó el secuestro de COS entre 3,3 y 2,3 Mg ha<sup>-1</sup> y de NOS entre 0,4 y 0,3 Mg ha<sup>-1</sup> para cebada y vicia, respectivamente, con respecto a la menor dosis de fertilización (32 kg ha<sup>-1</sup>).

Los aportes promedios anuales de C y N de la biomasa total de la secuencia soja-maíz sin CC y con 32 kg N ha<sup>-1</sup>, para el escenario E1, fueron de 4020 y 66 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, respectivamente (Cuadro 4.5). Cuando no se fertilizó la secuencia soja-maíz sin CC los aportes de C y N fueron menores. Con la inclusión de CC, aumentaron los ingresos de C y N siendo mayores con el uso de vicia y, en el escenario E2, disminuyeron debido al abandono de los CC luego de 15 años. En el escenario E3, al utilizar 96 kg N ha<sup>-1</sup>, se aportó adicionalmente entre 373 y 796 kg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y entre 12 y 32 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, comparados con el escenario E1 y este rango estuvo de acuerdo a los tratamientos evaluados. Con respecto al aporte de N proveniente de la fijación biológica en vicia, el modelo estimó en promedio 58% del N total absorbido. El aporte conjunto de C y N de la biomasa total de los CC y de la secuencia soja-maíz se correlacionó positivamente con los valores de COS y

NOS simulados en los tres escenarios (COS:  $R^2=0,96$ ;  $p<0,01$ , NOS:  $R^2=0,94$ ;  $p<0,01$ ). Los rendimientos promedio de maíz y soja de cada escenario están disponibles en el Anexo 7.



**Figura 4.7.** Evolución de los stock de COS y NOS durante 30 años en diferentes escenarios de manejos. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz. F: fertilizado, NF: no fertilizado

**Cuadro 4.5.** Aporte anual (promedio de 30 años) de C y N de la biomasa total (biomasa aérea + biomasa de raíces) de las secuencia soja-maíz con y sin CC para los diferentes escenarios de manejo. F: fertilización con N al maíz; NF: sin fertilización con N al maíz.

	C biomasa total (kg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )			N biomasa total (kg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
<b>Soja-Maíz F</b>	4020		4393	66		78
<b>Soja-Maíz NF</b>	3710			57		
<b>Soja-cebada-Maíz F</b>	5371	4309	6167	94	86	126
<b>Soja-vicia-Maíz F</b>	7246	5101	7684	258	160	289
<b>Soja-vicia-Maíz NF</b>	6983	4926	6983	242	150	242

E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz. El modelo asume que la biomasa de raíces representa el 30% de la biomasa total aérea y que el C representa el 44 y el 40% de las biomásas aérea y radical, respectivamente.

#### *Mineralización anual del C y N del humus y de los residuos aportados*

Paralelamente con los cambios de COS y NOS, los CC incorporaron una cantidad de C y N mineralizada adicional en comparación con las simulaciones sin CC. La mineralización del C humificado fue menos variable entre los escenarios de manejo que entre los tratamientos dentro de cada escenario (Cuadro 4.6). La cantidad de C mineralizado a partir de los residuos aumentó cuando se incluyeron CC (E1), particularmente con vicia, y con mayor dosis de fertilizantes (E3) (control 2766-3256 kg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, cebada 3966-4468 kg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, vicia 4681-5114 kg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, para E1 y E3, respectivamente). Al abandonar el uso de CC luego de 15 años (E2), disminuyó el aporte de biomasa y, por lo tanto, la mineralización del C provenientes de los residuos de la rotación. La diferencia entre el C aportado y el C mineralizado es la suma del C humificado y el C de los residuos aún no descompuestos.



La cantidad anual mineralizada de N humificado, fue variable a lo largo de los años, entre y dentro de los escenarios y entre los tratamientos (control 66-77 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, cebada 84-100kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, vicia 96-128 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>). La mineralización de N de los residuos de la secuencia soja-maíz fertilizada y no fertilizada fue baja (-8,4/-5,5 y -10,7 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, respectivamente). Cuando se incluyó cebada asociada a diferentes dosis de N o cuando se abandonó su uso en la rotación, fue muy baja la mineralización de los residuos (entre -13,1 y -4,5 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>). Por el contrario, cuando se incluyó vicia en la secuencia soja-maíz se mineralizaron entre 69 y 82 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> combinado con 32 y 96 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. La secuencia soja-maíz sin fertilización mineralizó 63 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. Cuando se abandonó el uso de vicia, la cantidad de N mineralizada de los residuos disminuyó. Además, se encontró que los cambios positivos en las reservas de NOS estuvieron estrechamente relacionados con el aumento en la cantidad mineralizada de N humificado ( $R^2=0,94$   $p<0,01$ ).

**Cuadro 4.6.** Mineralización anual (promedio de 30 años) de C y N a partir del humus del suelo y de la biomasa aérea de los residuos aportados bajo los diferentes escenarios de manejo. F: fertilización con N al maíz; NF: sin fertilización con N al maíz.

	C mineralizado (kg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )						N mineralizado (kg ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )					
	Humus			Residuos			Humus			Residuos		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
<b>Soja-Maíz F</b>	709		745	2987		3256	71		78	-8,4		-5,5
<b>Soja-Maíz NF</b>	683			2766			66			-10.7		
<b>Soja-cebada-Maíz F</b>	889	845	975	3966	3566	4468	88	84	100	-13,1	-8,2	-4,5
<b>Soja-vicia-Maíz F</b>	1190	1017	1254	4849	3900	5114	118	101	128	69	28	82
<b>Soja-vicia-Maíz NF</b>	1158	992	1158	4681	3765	4681	112	96	112	63	25	63

E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin CC y sin fertilización del maíz.

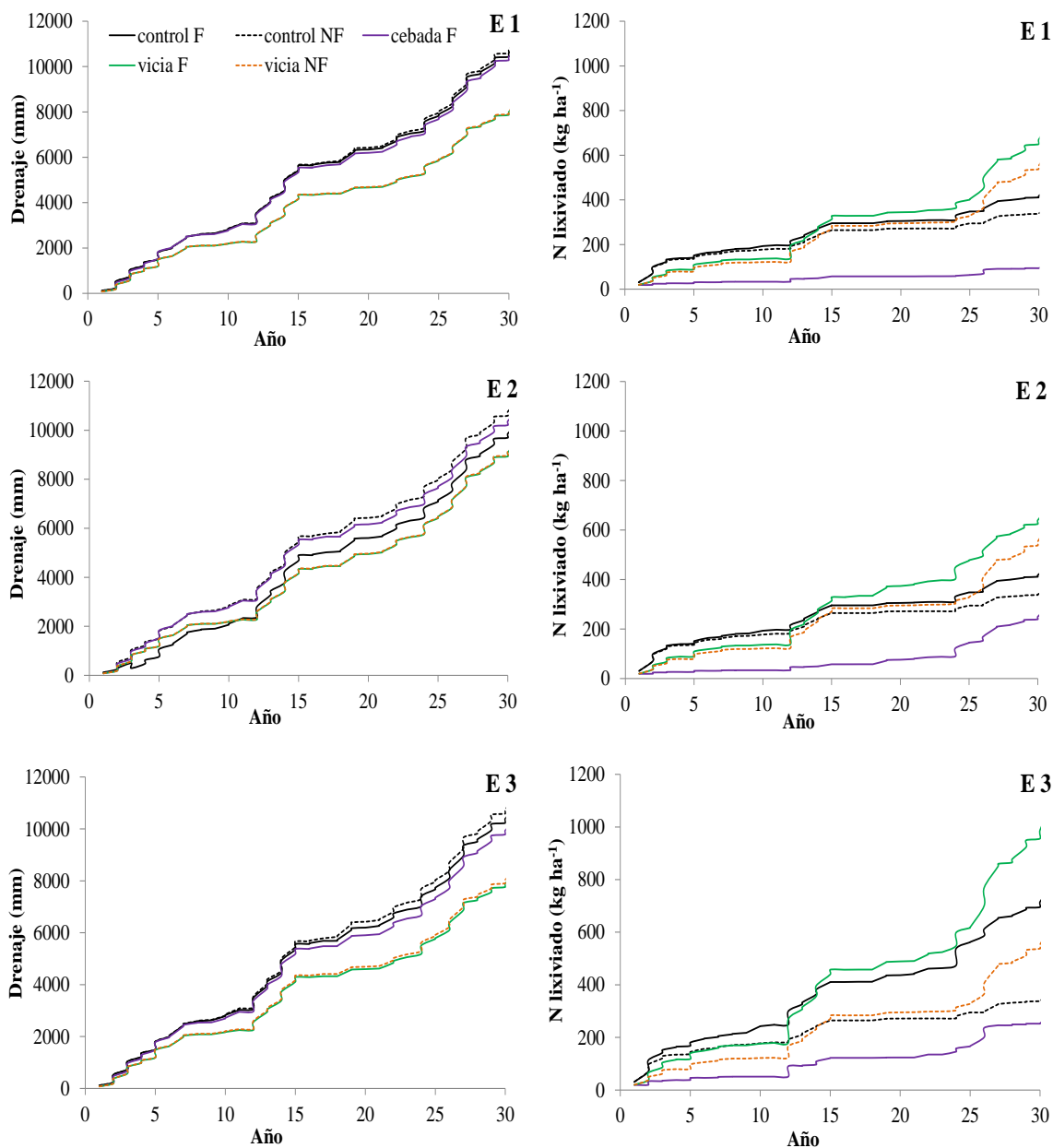
#### 4.3.2.b Drenaje y pérdida de N por lixiviación

El drenaje acumulado luego de 30 años fue mayor en la secuencia soja-maíz sin CC y con cebada como CC que en la secuencia que incluyó vicia como CC, independientemente de la presencia del fertilizante (control: 11300 mm, cebada: 10800 mm, vicia 8535 mm) (Figura 4.8). El abandono del uso de vicia como CC, luego de 15 años de rotación, aumentó el drenaje acumulado en 1200 mm con respecto a continuar con su uso en la rotación.

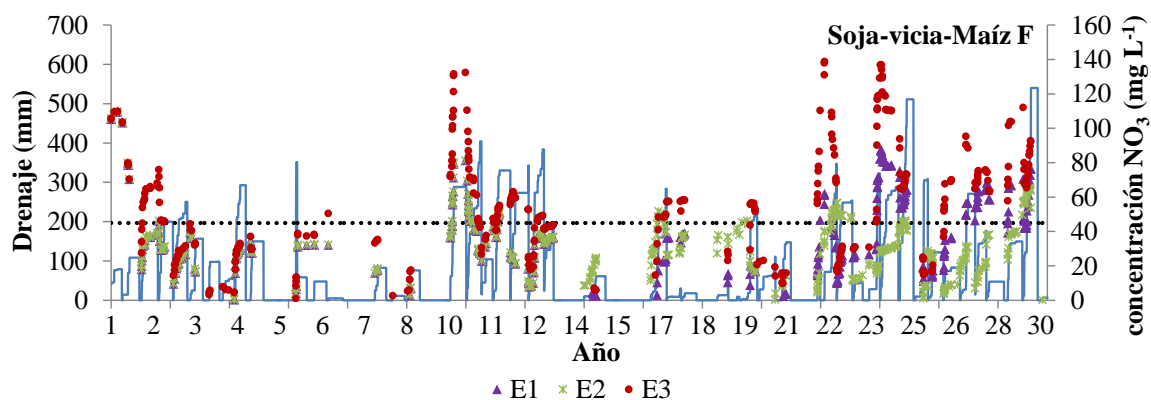
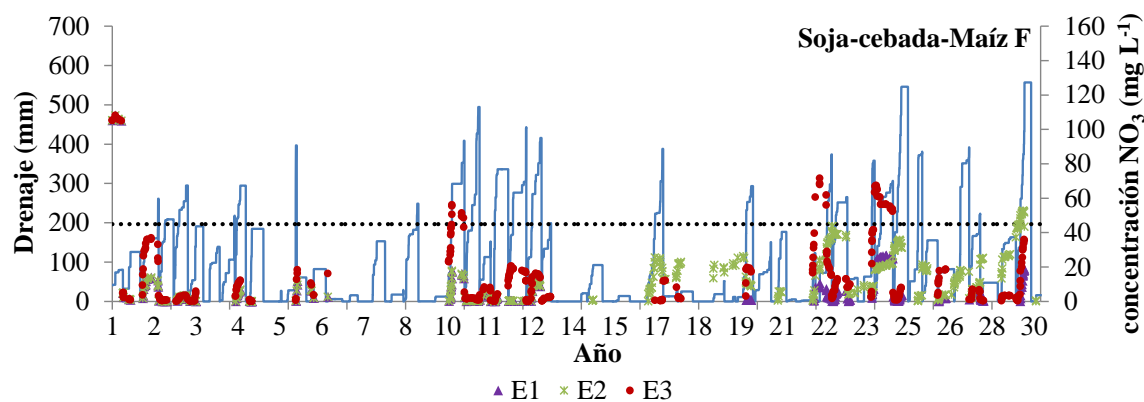
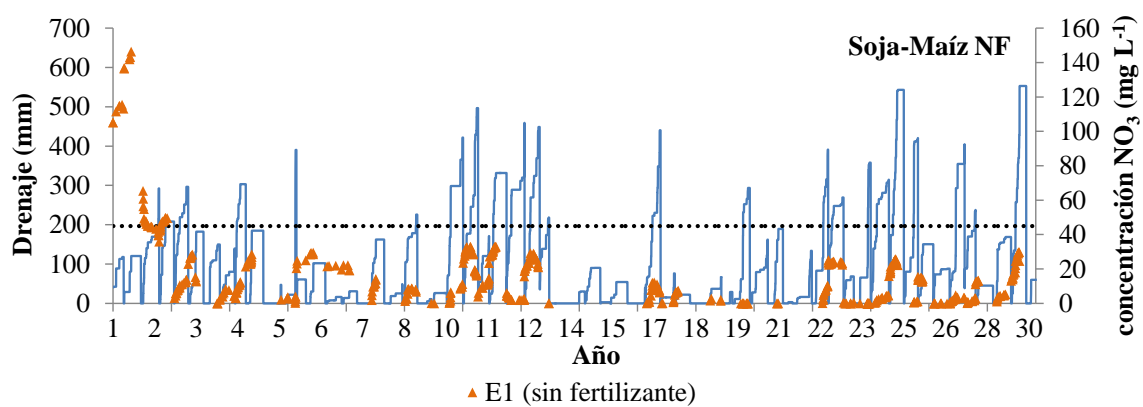
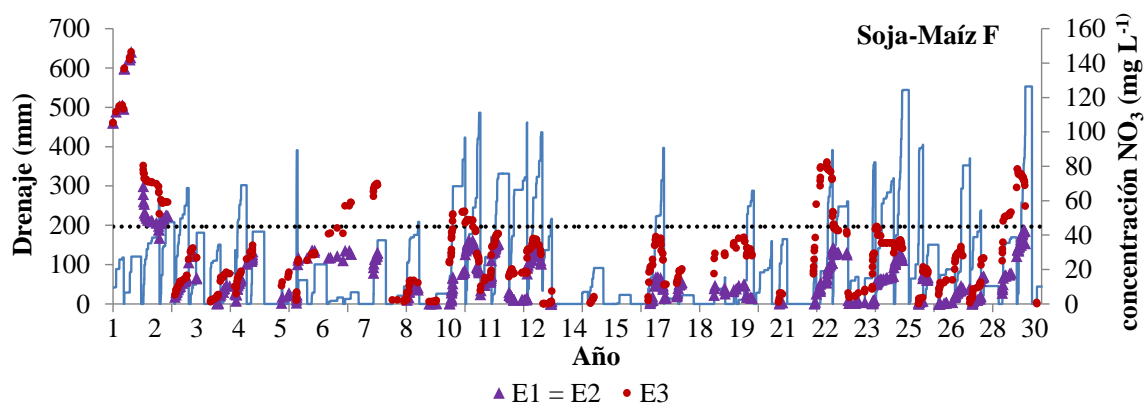
Con respecto a la lixiviación acumulada de N, la secuencia soja-maíz sin CC, en los escenarios E1 y E2, perdió 462 kg N ha<sup>-1</sup> y cuando se triplicó la dosis del fertilizante (E3) se lixivió un adicional de 325 kg N ha<sup>-1</sup> (Figura 4.8). La secuencia soja-maíz sin fertilización nitrogenada, perdió por lixiviación 371 kg N ha<sup>-1</sup>. Las pérdidas acumuladas de N fueron mayores cuando se incluyó vicia como CC combinada con 32 kg N ha<sup>-1</sup> (E1: 763

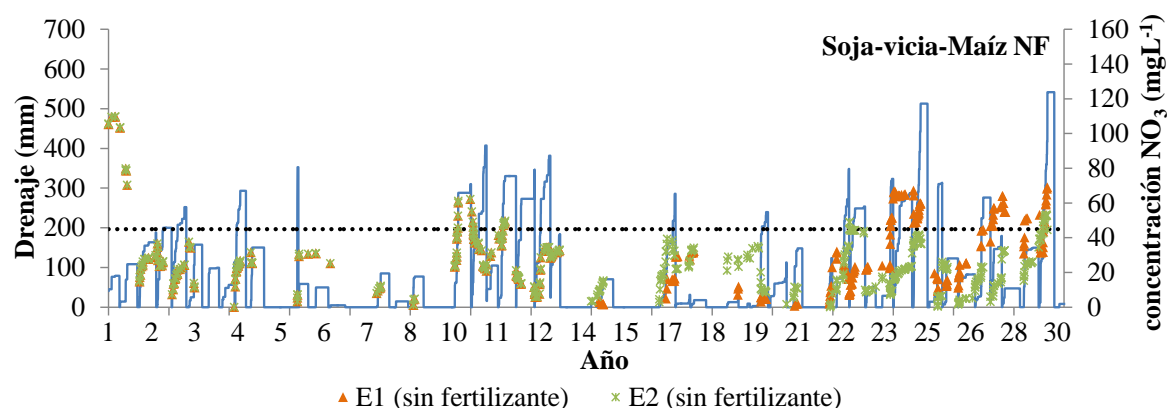
kg N ha<sup>-1</sup>), aun cuando se discontinuó su uso (E2: 707 kg N ha<sup>-1</sup>), e incrementaron cuando se combinó con el aumento en la dosis del fertilizante (E3: 1100 kg N ha<sup>-1</sup>). No obstante, la secuencia soja-maíz con vicia y sin fertilización con N disminuyó la lixiviación en 126 y 463kg N ha<sup>-1</sup> en relación a la misma secuencia con 32 y 96 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante, respectivamente. La inclusión de cebada como CC redujo la lixiviación y presentó menores pérdidas de N lixiviado que con vicia o el control, independientemente del abandono de su uso luego de 15 años o del aumento en la dosis de fertilizante (E1: 117, E2: 304, E3: 298 kg N ha<sup>-1</sup>). Sin embargo, discontinuar el uso de cebada (E2: 304 kg N ha<sup>-1</sup>) o aumentar la dosis del fertilizante al maíz (E3: 298 kg N ha<sup>-1</sup>), incrementó el triple la cantidad de N lixiviado con respecto a continuar la rotación con 32 kg ha<sup>-1</sup> de fertilización (E1: 117 kg N ha<sup>-1</sup>).

La concentración promedio de NO<sub>3</sub> en el agua de drenaje para la secuencia soja-maíz sin CC y con 32 kg N ha<sup>-1</sup> fue de 19,2 mg L<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y de 31,8 mg L<sup>-1</sup> cuando se triplicó la dosis del fertilizante (E3) (Figura 4.9). La concentración promedio de NO<sub>3</sub> para la secuencia soja-maíz sin fertilización nitrogenada fue de 16,9 mg L<sup>-1</sup>. El uso de cebada disminuyó las concentraciones de NO<sub>3</sub>, presentando un promedio de 6,8 mg L<sup>-1</sup> en el escenario E1 y de 14,5 mg L<sup>-1</sup> en los escenarios E2 y E3, sin diferencias entre estos dos últimos escenarios. Cuando se utilizó vicia como CC la concentración de NO<sub>3</sub> aumentó, presentando un promedio de 37,7 y 31,8 mg L<sup>-1</sup> para situaciones fertilizadas en los escenarios E1 y E2, respectivamente, y de 54,8 mg L<sup>-1</sup> al aumentar la dosis del fertilizante (E3). Al incluir vicia en una secuencia soja-maíz sin fertilización, la concentración de NO<sub>3</sub> promedio fue de 30,5 mg L<sup>-1</sup>, y 25,2 mg L<sup>-1</sup> luego del abandono de vicia como CC en la rotación.



**Figura 4.8.** Pérdidas acumuladas de agua por drenaje y N por lixiviación en diferentes escenarios de manejos. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz ( $32 \text{ kg N ha}^{-1}$ ); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  en los escenarios E1 y E2 y con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$  en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz





**Figura 4.9.** Concentración de NO<sub>3</sub> en el agua de drenaje para los diferentes escenarios de manejo. El drenaje graficado corresponde a un promedio de los tres escenarios. E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>) (F violeta, NF naranja); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC (verde); E3: rotación soja-maíz con CC y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz (rojo). Se incluye soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz. Línea negra punteada: máximo nivel de NO<sub>3</sub> permitido para consumo humano (45 mg L<sup>-1</sup>).

## 4.4 Discusión

### 4.4.1 Evaluación del modelo STICS

La evaluación global de la versión V10 de STICS para los agroecosistemas de la Pampa Ondulada se realizó utilizando los parámetros estándar del modelo. Dicha evaluación estuvo focalizada en situaciones bien documentadas y con un buen conocimiento del manejo del sistema de producción (Restovich et al., 2011, 2012, capítulo 2). Los resultados mostraron que el modelo fue capaz de reproducir las principales tendencias en las variables elegidas, con niveles de precisión similares a los reportados por otros autores (Brisson et al. 2003, Beaudoin et al. 2008, Saffih-Hdadi y Mary 2008, Constantin et al. 2012, Constantin et al. 2015, Coucheney et al. 2015, Plaza-Bonilla et al. 2015, Mary et al. 2020, Meyer et al. 2020, Yin et al. 2020).

#### 4.4.1.a Reservas de COS y NOS

La calidad de la simulación del stock de COS fue exitosa, con valores de RMSE y de DM inferiores a los obtenidos por Mary et al. (2020) para la misma versión del modelo (RMSE: 1,0 Mg C ha<sup>-1</sup> vs 2,25 Mg C ha<sup>-1</sup> y DM -0,1 vs -0,95, respectivamente) y a los reportados por Saffih-Hdadi y Mary (2008) en una versión anterior del modelo. Uno de los desafíos de este estudio fue evaluar la capacidad de STICS para estimar las reservas de NOS con manejos agrícolas contrastantes. Los valores de RMSE y DM fueron inferiores o iguales a los obtenidos por Yin et al. (2020) (RMSE: 0,16 vs 0,2 Mg N ha<sup>-1</sup>; DM: 0,1 vs 0,1, respectivamente) y Autret et al. (2020) (RMSE: 0,16 vs 0,38 Mg N ha<sup>-1</sup>; DM: 0,1 vs 0,12, respectivamente), mostrando la elevada capacidad del modelo de simular esta variable en las condiciones edafoclimáticas de la Pampa Ondulada. En el caso de cebada no fertilizada el modelo subestimó la reserva de COS en 2,2 Mg C ha<sup>-1</sup>, y podría atribuirse a procesos involucrados en la retención de COS no tenidos en cuenta por STICS. Posiblemente, la ausencia de fertilización conduce a una adaptación, de la estructura de la microbiota, a requerimientos bajos de N, haciendo más eficientes los procesos involucrados en el secuestro de COS. Atul-Nayyar et al. (2009) encontraron estos resultados utilizando raigrás en experimentos sin fertilización nitrogenada.

Con respecto a las variables de planta, el RMSEr de la biomasa aérea (36,1%) y del rendimiento en grano (30,7%) fueron similares a los reportados por Constantin et al. (2012) y Coucheney et al. (2015) (34-33% y 26-35%, respectivamente). Por otro lado, el valor obtenido de RMSEr para N total en planta (27,9%) fue algo superior al 22% reportado por Constantin et al. (2012). Este resultado estaría asociado a la variabilidad de la concentración de N de los CC en relación a los diferentes momentos de secado según el

cultivo de cosecha posterior. Además, si bien se aportaron datos de coeficientes genéticos obtenidos localmente para maíz y soja, no se realizó un proceso de calibración específica para el crecimiento y desarrollo de las variedades utilizadas como CC. Estudios previos realizados con STICS mostraron que la especificidad en el proceso de calibración de los cultivos disminuía los valores de RMSEr para la concentración de N en planta (Brisson et al. 2003, Nendel et al. 2011). En relación a esto, sería necesaria una calibración más detallada de parámetros específicos para mejorar la evaluación actual del N en planta.

#### **4.4.1.b Contenido de humedad y N-NO<sub>3</sub> en el suelo**

La calidad de simulación del contenido de agua en 0-100 cm fue satisfactoria, presentando un RMSE menor (12,1 mm) a lo reportado por varios autores (20,6-28,5 mm) (Jégo et al. 2012, Coucheney et al. 2015, Autret et al. 2020). No obstante, Jégo et al. (2012) y Coucheney et al. (2015) obtuvieron valores de RMSEr inferiores a lo observado en el presente estudio (6,8 y 10 % vs 37,9%). La baja eficiencia del modelo, ligeramente por debajo de cero, coincidió con lo reportado por Jégo et al. (2012), quienes atribuyeron sus resultados al pequeño rango de variación en los datos observados; sin embargo, esto no ocurrió en el presente trabajo. En este caso se puede explicar por la subestimación del contenido de agua del horizonte B3. Por otro lado, en coincidencia con Plaza-Bonilla et al. (2015), se destaca la capacidad del modelo de simular satisfactoriamente la dinámica del contenido de agua. Además, STICS subestimó solamente en 16,3 mm las reservas de agua en el primer metro de profundidad para todos los tratamientos evaluados, acentuando el buen comportamiento del modelo en el contexto edafoclimático de la Pampa Ondulada.

La dinámica del N-NO<sub>3</sub> del suelo es el resultado de múltiples procesos simultáneos de biotransformación que interactúan con la planta a través de la absorción y también con la



dinámica del contenido de agua edáfica. En consecuencia, como está sujeta a diferentes fuentes de error, con frecuencia, es difícil predecirla con precisión (Coucheney et al. 2015). El RMSE para el N-NO<sub>3</sub> del suelo en 0-100 cm de profundidad, fue de 42,2 kg N ha<sup>-1</sup> a diferencia de la capa superficial (0-20 cm) que fue de 9,7 kg N ha<sup>-1</sup>, indicando su baja contribución al sesgo. Los valores de RMSE encontrados fueron inferiores o similares a los reportados por Coucheney et al. (2015) y Autret et al. (2020) y superiores a lo observado por Constantin et al. (2012). Con respecto al RMSEr, el valor de 63% reportado en este estudio fue superior al valor (50%) observado por Coucheney et al. (2015). Sin embargo, estos autores informaron un RMSEr de 80% para los horizontes superficiales del suelo, atribuyendo este elevado valor a contenidos muy bajos de N-NO<sub>3</sub>. La eficiencia aceptable obtenida en este estudio fue similar a la reportada por Plaza-Bonilla et al. (2015). Por otro lado, el modelo subestimó la absorción de N mineral cuando se incluyeron los CC a la rotación. En relación a este resultado, Coucheney et al. (2015) informaron que cualquier intervalo de tiempo entre la dinámica de N-NO<sub>3</sub> observada y simulada en STICS puede inducir una degradación significativa de los criterios estadísticos sin representar un problema y sin afectar el excedente de N simulado.

Los contenidos de humedad y N-NO<sub>3</sub> del suelo simulados coincidieron con los valores observados, a pesar de la amplia gama de condiciones agronómicas analizadas (cultivos de cosecha, diferentes familias de CC, con o sin fertilización nitrogenada) y ambientales que se encontraron durante el presente estudio. Así, el buen acuerdo entre los valores simulados y observados proporciona confianza en las simulaciones de lixiviación de N-NO<sub>3</sub> para el largo plazo como también lo reportaron otros autores (Brisson et al. 2003, Beaudoin et al. 2008, Jégo et al. 2012, Meyer et al. 2020). Además, el modelo evidenció su capacidad para

capturar la dinámica temporal de las variables de interés (Coucheney et al. 2015) bajo las condiciones de la Pampa Ondulada.

#### **4.4.1.c Drenaje y lixiviación**

El RMSE observado del drenaje (70 mm) estuvo dentro del rango (53-181 mm) reportado por Constantin et al. (2012) pero fue superior al reportado (35 mm) por Yin et al. (2020). Por otro lado, si bien el RMSEr resultó elevado (86%) se logró un buen ajuste entre valores observados y simulados. El horizonte Bt de la serie Pergamino, de textura arcillo-limosa, presenta la formación de grietas que conectan la superficie del suelo con la base del perfil las cuales provocan un flujo preferencial de drenaje (Caprile et al. 2017). Esta particularidad no es tenida en cuenta en la dinámica del agua del modelo, disminuyendo su precisión. Con respecto al N lixiviado, se observó un RMSE de 14 kg ha<sup>-1</sup>, similar o inferior al rango reportado por Constantin et al. (2015) para diferentes sitios experimentales (14-29 kg ha<sup>-1</sup>) y a lo observado (15 kg ha<sup>-1</sup>) por Yin et al. (2020). Sin embargo, el RMSEr obtenido en este estudio fue muy alto (98%) en comparación con los reportados por otros autores (Constantin et al. 2012, Yin et al. 2020) y, probablemente, ello estuvo asociado a que el modelo no capturó los picos de N lixiviado durante la ocurrencia de flujo preferencial. En este sentido, Kay et al. (2009) mencionan que la lixiviación de N puede aumentar debido a los flujos preferenciales de agua que ocurren bajo SD. El modelo subestimó la lixiviación de N en 6 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, este valor fue 50% más bajo que el reportado por Yin et al. (2020) pero estos autores atribuyeron dicha subestimación a que la descomposición profunda de las raíces no es simulada por STICS.

En base al buen desempeño global del modelo STICS, las variables de interés con respecto a las reservas orgánicas y el destino del N podrían simularse tanto a escalas de

corto como de largo plazo utilizando los mismos formalismos del modelo. En este contexto, el modelo resulta apropiado para la creación de escenarios futuros a escala de campo en la que se admite un mayor nivel de error (Therond et al. 2011).

#### **4.4.2 Predicciones del modelo sobre los efectos a largo plazo de los CC**

Después de 30 años de rotación soja-maíz sin CC el stock inicial de COS y de NOS se mantuvo, independientemente de la dosis de N aplicada al cultivo de maíz (32 o 96 kg N ha<sup>-1</sup>). Esto ocurrió con un aporte promedio de 4020 (66) y 4393 (74) kg C (N) ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> proveniente de los residuos de los cultivos de cosecha, para cada dosis, respectivamente. La secuencia soja-maíz sin CC y en ausencia de fertilización provocó una disminución del N orgánico en el largo plazo. Este resultado coincide con lo reportado en el mediano plazo en el Capítulo 2 de la tesis, asociado, posiblemente, a que la falta de ingreso de N al sistema tiene un impacto negativo sobre la fracción orgánica de N (Dube et al. 2012). La fertilización mineral se ha señalado como una estrategia para incrementar el COS en el largo plazo debido al aumento de los rendimientos de cultivo y, en consecuencia, a la mayor cantidad de residuos que ingresan al suelo (Alvarez 2005). Los rendimientos promedio de maíz en el control fueron de  $6,5 \pm 2,0$  y  $7,3 \pm 2,5$  Mg ha<sup>-1</sup> con 32 kg N ha<sup>-1</sup> y 96 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente, y el aporte adicional de C por el maíz no tuvo un impacto positivo sobre el COS. Esto coincide con lo reportado por otros autores (Khan et al. 2007, Triberti et al. 2008, Irizar 2010). La fertilización nitrogenada altera la capacidad de absorción de N del suelo y puede estimular la mineralización neta a partir de la fracción orgánica del N (Cassman et al. 2002). Además, el N aportado por el fertilizante es absorbido por el cultivo pero una parte, aproximadamente el 40% o más, se pierde por lixiviación (Drinkwater et al. 2017). En este sentido, cuando se triplicó la dosis de

fertilización en la secuencia soja-maíz sin CC, el sistema se volvió más ineficiente, debido a que incrementó levemente los rendimientos, no aumentó las reservas orgánicas del suelo y aumentó considerablemente la pérdida de N por lixiviación.

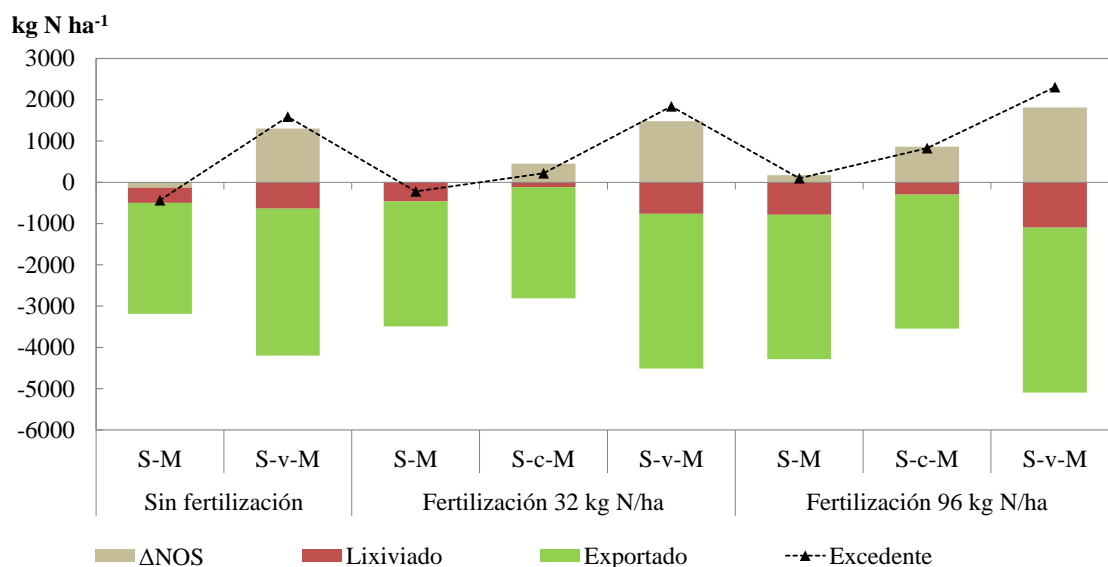
La inclusión de CC en la secuencia soja-maíz con 32 kg N ha<sup>-1</sup> aumentó las reservas orgánicas del suelo y esto estuvo asociado al mayor aporte de C y al aumento en la circulación interna de N por parte de los CC. Sin embargo, la inclusión de vicia como CC tuvo mayor impacto que el uso de cebada, en asociación con los mayores ingresos de C y N en la rotación (C: 7246 y 5371 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>; N: 258 y 94 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>, para vicia y cebada, respectivamente) y con el ingreso adicional de N por fijación biológica. Las leguminosas tienen mayor concentración de N que las gramíneas y esto determina una menor relación C/N (Restovich et al. 2012). Mary et al. (2020) y Clivot et al. (2019), explican que la dinámica del COS responde principalmente al aporte de C de la biomasa total y que una menor relación C/N de los residuos estimula la humificación y secuestro de C. Al utilizar una gramínea como CC, el aumento de COS y de NOS se ve limitado por la baja disponibilidad de N, pero también es menor la pérdida de N por lixiviación, que con una leguminosa, debido a la mayor relación C/N de las gramíneas (Plaza-Bonilla et al. 2015). La inmovilización de N se produce en el suelo durante las primeras etapas de descomposición de los residuos de CC, a expensas del N mineral del suelo y estos residuos contribuyen positiva o negativamente a la tasa de mineralización anual dependiendo de su relación C/N (Constantin et al. 2012).

Cuando se abandonó el uso de CC, las reservas orgánicas de C y N en el suelo decrecieron, y aumentó el N perdido por lixiviación al dejar un período sin cobertura viva entre los cultivos de cosecha, particularmente luego de cebada. El uso de CC regula la humedad del suelo mientras está creciendo a través de la transpiración y reduce el drenaje

lo que lleva a disminuir significativamente las pérdidas de N por lixiviación (Portela et al. 2016). Otros autores reportaron resultados similares cuando se abandonó el uso de gramíneas o crucíferas como CC (Constantin et al. 2012). Al triplicar la fertilización con N en la secuencia soja-cebada-maíz, el aumento de COS fue 3,3 Mg ha<sup>-1</sup> más elevado que cuando se utilizaron 32 kg N ha<sup>-1</sup> (42,4 vs 39,2 Mg COS ha<sup>-1</sup>), demostrando que si prevalecen las gramíneas en una rotación es necesario mayor ingreso de N para aumentar las reservas orgánicas (Dube et al. 2012). No obstante, el uso de cebada y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aumentó las pérdidas de N por lixiviación en comparación con el uso de menor dosis. Rimski-Korsakov et al. (2016) observaron en una secuencia de raigrás-maíz, que el N del fertilizante retenido en la materia orgánica se mineraliza rápidamente y está sujeto a posibles pérdidas en el tiempo.

En el largo plazo, la implementación de vicia como CC, en comparación con cebada o el control, estuvo asociada con mayor cantidad de N mineralizado que se tradujo en un incremento en las pérdidas de N por lixiviación. Estas pérdidas fueron elevadas aun cuando se discontinuó el uso de vicia, y se potenciaron cuando se combinó con dosis más altas del fertilizante nitrogenado. Estos resultados coinciden con Tribouillois et al. (2018) quienes observaron, en un período de 45 años, que el uso de leguminosas como CC aumentaba la lixiviación en comparación con el uso de gramíneas y con el barbecho. Por otro lado, en el capítulo 2, se observó que la rotación con vicia no acumuló NOS luego de seis años en el caso de los tratamientos fertilizados con N, y ello podría estar asociado a mayores pérdidas por lixiviación. Las rotaciones con vicia pueden dejar niveles particularmente altos de N a la cosecha de maíz fertilizado luego de estaciones secas que reducen la absorción de N y la producción de maíz; aumentando el riesgo de lixiviación entre la cosecha y la siembra del CC posterior (Restovich et al. 2012). En este sentido, el excedente de N en los sistemas

agrícolas se presenta a menudo como un indicador de las pérdidas de N hacia sistemas adyacentes; sin embargo, un exceso positivo de N también puede reflejar un incremento en las reservas de NOS en el largo plazo (Autret et al. 2019). En este estudio, el excedente de N luego de rotar soja-maíz con vicia como CC, independientemente de la presencia o ausencia del fertilizante, se tradujo en mayor almacenaje de N orgánico en comparación con el control y la inclusión de cebada como CC (Figura 4.10). El alto impacto que tiene vicia sobre el secuestro de C y N del suelo compensa las salidas de N de estos sistemas, pero son más eficientes ( $<$  lixiviación) cuando se combina con nulas o bajas dosis de fertilizantes nitrogenados. Con respecto a la gramíneas, también se demostró que el excedente de N se reflejó en un mayor almacenaje de N orgánico, pero cuando se lo combinó con altas dosis de fertilizante nitrogenado.



**Figura 4.10.** Partición del N de un sistema agrícola simplificado con y sin CC y asociado a bajas y altas dosis de fertilización con N y el excedente de N. El excedente de N fue calculado como los ingresos de la FBN + fertilizante menos los egresos a partir de N exportado en el grano y el N lixiviado en un periodo de 30 años. S-M: soja-maíz, S-c-M: soja-cebada-maíz, S-v-M: soja-vicia-maíz.

La contaminación de las aguas subterráneas por lixiviación de  $\text{NO}_3$  se considera un importante problema ambiental de los agroecosistemas actuales. El máximo nivel de  $\text{NO}_3$  permitido para consumo humano es de  $45 \text{ mg L}^{-1}$  (Berntsen et al. 2006). La secuencia soja-maíz sin CC, independientemente de la dosis de fertilizante utilizada, mantuvo la concentración media de  $\text{NO}_3$  en el agua de drenaje por debajo de ese valor. Sin embargo, con dosis de fertilización más elevada se observaron picos que lo superaron ampliamente. El uso de vicia disminuyó las pérdidas de agua por drenaje en comparación con cebada debido a la mayor producción de biomasa de la leguminosa (Restovich et al. 2012). Esta disminución en el drenaje, concentró el  $\text{NO}_3$ , particularmente cuando se triplicó la dosis de fertilizante, superando por momentos el límite permitido.

#### **4.5 Conclusiones**

Los resultados de este capítulo permitieron mejorar la comprensión del comportamiento de los sistemas de cultivo pampeanos en el largo plazo, sin necesidad de prolongar los ensayos a campo. El modelo STICS predijo satisfactoriamente los parámetros de cultivo y suelo en simulaciones continuas durante 9 años utilizando los formalismos propios del modelo, confirmando su robustez para diferentes situaciones edafoclimáticas como las de la pampa ondulada.

Las simulaciones de largo plazo permitieron determinar la evolución de las reservas de COS y NOS y las pérdidas de N por lixiviación para la secuencia soja-maíz con y sin CC y con diferentes dosis de fertilización nitrogenada aplicada al maíz. La secuencia soja-maíz bajo SD, implementada en suelos de baja fertilidad, y con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  aplicados al maíz mantuvo las reservas orgánicas del suelo pero subutilizó el agua de lluvia y el N proveniente de la mineralización de la materia orgánica que se perdieron hacia el acuífero.

El aumento en la dosis del fertilizante, si bien incrementó el rendimiento medio de maíz, no se tradujo en un aumento de las reservas orgánicas e incrementó la lixiviación de N. La incorporación de CC en la secuencia con dosis bajas de N produjo un aumento moderado y elevado de las reservas orgánicas con cebada y vicia, respectivamente. Y, en el caso de vicia, aumentó la lixiviación de N. El abandono de CC luego de 15 años de rotación, redujo los avances logrados a nivel de calidad de suelo y de agua subterránea. La combinación de cebada como CC y dosis elevadas de fertilizante aumentó las reservas orgánicas y la lixiviación con respecto a la menor dosis de fertilizante. Por el contrario, la combinación del uso de vicia con la dosis alta de N del fertilizante incrementó levemente las reservas orgánicas pero significativamente las pérdidas de N por lixiviación con respecto a la menor dosis de fertilizante. El ingreso de N de vicia a partir de la fijación biológica, produjo excedentes de N que se tradujeron en un importante almacenaje del N orgánico en el largo plazo. Estos resultados confirman la necesidad de ajustar las dosis del fertilizante nitrogenado en los sistemas de cultivo actuales en relación al CC y consociar la leguminosa con una gramínea para gestionar eficientemente el N y C dentro del sistema suelo-planta y contribuir al logro de agroecosistemas sustentables.



## **5. CAPÍTULO 5: Discusión general y conclusiones**

A medida que aumenta la preocupación por la calidad del ambiente y el funcionamiento global de los agroecosistemas, surge la necesidad de plantear alternativas de manejo que provean múltiples servicios ecosistémicos para impulsar la producción agrícola sustentable. Con esta tesis se buscó contribuir a esta demanda a partir de la implementación de CC en sistemas agrícolas simplificados bajo SD combinados con baja dosis de fertilización nitrogenada aplicada al cultivo de maíz. Resultados previos mostraron que los CC capturaban entre el 50-90% del N mineral, proveniente de la materia orgánica del suelo, en comparación con el control sin CC, reduciendo el riesgo de su pérdida por lixiviación, y que mejoraban algunas propiedades edáficas, en el corto plazo, sin perder productividad (Portela et al. 2006, Restovich et al. 2011, Restovich et al. 2012; Portela et al. 2016).

A partir de estos resultados surgieron nuevos interrogantes sobre el funcionamiento de este sistema con bajas dosis de N y el rol de los CC en la regulación de los ciclos de C y N en el mediano y el largo plazo. Además, resultaba incierto el aporte o legado de diferentes especies o familias de CC, utilizados solos o en mezclas, sobre las reservas orgánicas, el estado estructural del suelo y la pérdida de N por lixiviación. Para responder a estos interrogantes en el mediano y largo plazo, se utilizaron ensayos de campo y el modelo de simulación STICS, respectivamente. En los ensayos de campo se compararon secuencias agrícolas de verano (soja-maíz y soja-soja) con y sin CC (solos y en mezclas) y aplicando 32 kg N ha<sup>-1</sup> como fertilizante al cultivo de maíz. Estas herramientas metodológicas, con un enfoque original y pionero en la Pampa Ondulada, permitieron avanzar hacia la comprensión y predicción de procesos involucrados en la conservación del C y N y el funcionamiento del suelo de los agroecosistemas.

## 5.1 Síntesis de los resultados de la tesis

A continuación, se describen los principales resultados de cada capítulo de la tesis, dando respuesta a las hipótesis formuladas en el Capítulo 1:

Luego de 6 años, la introducción de CC de diferentes especies en la secuencia soja-maíz con baja ( $32 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) o nula fertilización nitrogenada aplicada al maíz en SD, aumentó la proporción de poros estructurales, la estabilidad de agregados del suelo, la fracción lábil de la materia orgánica y el stock de COS en el horizonte A. Las gramíneas (cebada, avena, cebadilla, raigrás), vicia y su consociación con avena, y, dentro de las crucíferas, colza, aumentaron la porosidad del suelo en comparación con el control sin CC, favoreciendo los poros conductores de agua (macroporos entre  $60\text{-}300 \mu\text{m}$ ) en la profundidad de 0-10 cm. Todos los CC evaluados incrementaron la estabilidad de agregados del suelo en 0-5 cm de profundidad. Además, sólo vicia aumentó el C y N orgánico del suelo en ausencia de la fertilización con N. Estos cambios estuvieron modulados por la presencia de los CC en la secuencia soja-maíz a partir de variaciones en el aporte de residuos, por la retención y el reciclado de N en el sistema suelo-planta (cambió el N inorgánico a formas orgánicas más estables como el NOS y la biomasa de los CC) y por el mayor ingreso de N al incluir una leguminosa como CC. La inclusión de CC en la rotación, aumentó el secuestro de C a una tasa promedio de  $0,36 \pm 0,23 \text{ Mg COS ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ . Sin embargo, en el caso de vicia, utilizada sola o en mezcla con avena, la tasa promedio de secuestro aumentó entre 0,45 y 0,59 Mg COS  $\text{ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ . Estos resultados apoyan la **hipótesis 1.1** que propone que “*los CC aumentan el COS a través de: (i) un aumento en el aporte de C derivado de su biomasa y de (ii) un incremento en el reciclado de N mineral y una disminución de sus pérdidas a partir de la absorción del N por los CC*”, la **hipótesis 1.2**, la cual propone que “la

*presencia de CC de leguminosa aumenta las reservas de COS y NOS a partir de mayores aportes de C y de N al sistema de cultivo” y la hipótesis 1.3, que plantea que “la inclusión de CC en secuencias agrícolas mejora la estructura del suelo debido al reemplazo del barbecho por plantas vivas durante todo el año”. Cuando el uso de vicia como CC se combinó con nula fertilización nitrogenada al maíz, también se incrementó la reserva de NOS. Adicionalmente, en ausencia del fertilizante nitrogenado se encontró que la estabilidad del sistema poroso estuvo asociada con el contenido de glomalina, mostrando su función como agente cementante de las partículas del suelo en estos sistemas. Así, se acepta la hipótesis 1.4 que propone que “la ausencia de fertilización con N, aplicada al maíz, y combinada con CC mejora la estabilidad de los agregados del suelo, debido a la estimulación de la actividad de microorganismos simbiotes, como los HMA, que liberan glomalinas y actúan como agentes cementantes”.*

La introducción de mezclas de familias como CC (vicia + avena + nabo forrajero o avena + nabo forrajero) en las secuencias soja-maíz y soja-soja, después de 5 años, tuvo un impacto positivo sobre la estructura y las concentraciones de las fracciones orgánicas del suelo, en comparación con las secuencias que mantuvieron el barbecho invernal. Los efectos sobre COS, NOS y COP se manifestaron exclusivamente en el espesor 0-5 cm, mientras que los efectos correspondientes a la estructura edáfica se expresaron, de forma variable, dentro de los primeros 30 cm del suelo. La mezcla de gramínea, leguminosa y crucífera (CC2), produjo mayor proporción de poros conductores de agua con respecto a la mezcla de gramínea y crucífera (CC1) en los espesores 0-5, 10-20 y 20-30 cm. Estos cambios químicos y físicos estuvieron asociados al mayor aporte de biomasa aérea de las mezclas de CC, y dentro de las propiedades físicas evaluadas, la construcción de los

macroporos y, particularmente, de los mesoporos en profundidad, estuvo asociado a la participación de la vicia en la mezcla. Por otro lado, los stocks iniciales de COS se mantuvieron en las dos secuencias de cultivo y los de NOS se mantuvieron en la secuencia soja-maíz mientras que en la secuencia soja-soja se redujeron. Estos resultados se atribuyeron al menor ingreso de C por parte del cultivo de soja, a la baja producción del cultivo de maíz en años secos y, posiblemente, a excedentes de N en rotaciones con predominio de leguminosas. A partir de esto, se acepta parcialmente la **hipótesis 2.1**, la cual propone que *“las asociaciones de especies de diferentes familias (gramíneas, leguminosas, crucíferas) como CC en rotaciones agrícolas impactan positivamente sobre la estructura y las reservas de C y N edáficas debido a aumentos en la cantidad y calidad de los residuos aportados al suelo”*. Las mezclas de CC no influyeron sobre las reservas orgánicas y tampoco se probó que la calidad de los residuos fuera una causa. Por otro lado, los periodos de crecimiento de las mezclas de CC más largos y lluviosos incrementaron el potencial de producción de biomasa de la triple mezcla CC2 en comparación con CC1 y la mezcla CC2 siempre tuvo mayor cantidad de N en su biomasa, por la inclusión de vicia. Con respecto a los rendimientos de los cultivos de cosecha, el uso de mezclas de CC en la secuencia soja-maíz, produjo rendimientos de soja similares con y sin CC, mientras que el rendimiento de maíz luego de CC2 fue superior al obtenido luego de CC1; y similar o levemente mayor en relación al control sin CC. Esto, probablemente, se relacionó con una mayor disponibilidad de N luego de CC2, que incluyó vicia y, en comparación con el control sin CC, con bajas precipitaciones que no le permitieron al maíz beneficiarse con el aporte de N de la mezcla CC2. El rendimiento de soja en la secuencia soja-soja con CC fue menor en años con bajas precipitaciones durante el crecimiento de los CC. Esto estuvo, posiblemente, asociado con el consumo de agua y de N por parte de los CC; en cambio, con

elevadas precipitaciones, este impacto negativo desapareció. A partir de este resultado, se acepta parcialmente la **hipótesis 2.2**, que propone que *“la inclusión de una leguminosa en la mezcla de CC impacta positivamente en la cantidad de N de su biomasa aérea y aumenta los rendimientos de los cultivos de cosecha, particularmente de maíz”*.

Luego de 30 años, la secuencia soja-maíz sin CC con dosis bajas y altas de fertilización al maíz (32 y 96 kg N ha<sup>-1</sup>) mantuvieron las reservas de COS y NOS. Al incluir vicia como CC en la secuencia soja-maíz, las reservas orgánicas aumentaron debido al mayor aporte de C y N a partir de la biomasa introducida. En el caso del uso de cebada como CC, el aumento del C orgánico del suelo (y del N) fue mayor cuando se combinó con la mayor dosis de fertilización con N al maíz. Este resultado también expone la importancia del N en el secuestro de C, y que es necesario en secuencias agrícolas con gramíneas como CC que existan fuentes externas que provean este nutriente (ej. mezclar con leguminosa o aplicar fertilizante). A partir de estos resultados se comprobó la **hipótesis 3.1(a)** solo cuando se incluyó vicia, la cual enuncia que *“la presencia de CC y bajas dosis de fertilizante nitrogenado aplicado al maíz, promueven el aumento de C y N orgánicos, principalmente a través del mayor aporte de C y N en comparación con la misma secuencia sin CC”*. El aumento en la fertilización con N no condujo a mayores reservas orgánicas del suelo en ausencia de CC, a diferencia de lo encontrado con su inclusión, y aumentó las pérdidas de N por lixiviación; por lo tanto, para la secuencia soja-maíz sin CC, excepto cuando estos se incluyen, no se aceptó la **hipótesis 3.1 (b)** la cual propone que *“cuando la dosis del fertilizante nitrogenado aplicado al maíz es elevada aumenta la producción de biomasa en la secuencia agrícola, conduciendo a incrementos más importantes en las reservas orgánicas edáficas”*. Por otro lado, la inclusión de vicia como CC en la secuencia soja-maíz incrementó la lixiviación de N en comparación con el uso de una gramínea como CC o la

secuencia soja-maíz sin CC. Estas pérdidas fueron elevadas en ausencia o presencia de baja dosis de fertilizante nitrogenado ( $32 \text{ kg ha}^{-1}$ ), y se potenciaron cuando se combinó vicia con la dosis más alta de fertilización con N al maíz ( $96 \text{ kg ha}^{-1}$ ). El incremento en las pérdidas de N por lixiviación al utilizar vicia estuvo, particularmente, asociado a una mayor mineralización de las reservas de NOS y se atribuye al fuerte impacto que tiene la leguminosa sobre el stock de NOS, el cual es una fuente principal de pérdida por lixiviación en los agroecosistemas pampeanos. Con cebada como CC, se inmovilizó más N y se redujo la lixiviación pero con la dosis más baja de fertilización nitrogenada aplicada al maíz. A partir de estos resultados, cuando se utiliza una leguminosa como CC, se confirma la **hipótesis 3.2**, la cual propone que *“la magnitud en el aumento de las reservas de N orgánico debido al uso de CC estimula la pérdida de N por lixiviación a partir de la mineralización del N orgánico bajo condiciones climáticas favorables”*. En consecuencia, se hace necesario ajustar las dosis de fertilizantes y/o mezclar una leguminosa con una gramínea como CC para ser más eficientes en la gestión del N en los agroecosistemas. A partir del abandono de la práctica de CC, comienza una disminución en las reservas orgánicas del suelo, asociada al menor aporte de biomasa de los CC, y un aumento en la lixiviación del N en comparación con su continuidad. La cebada como CC aumentó las pérdidas de N por lixiviación; sin embargo, la cantidad de N lixiviado fue menor que con vicia. En función de estos resultados, se confirma la **hipótesis 3.3**, la cual propone que *“la discontinuidad del uso de CC, disminuye las reservas orgánicas del suelo y aumenta la lixiviación de N debido a la interrupción del crecimiento y al aporte de biomasa, impactando negativamente sobre las reservas de C y N del suelo”*.

## 5.2 Aportes de la tesis al diseño sustentable de los agroecosistemas

Los sistemas de cultivos futuros deberían diseñarse con un enfoque holístico para obtener rotaciones eficientes y autónomas en el ciclado de nutrientes buscando acoplar los ciclos de C y N y disminuir el impacto ambiental (Recous et al. 2019). Los stocks de C y N son el capital que poseen los ecosistemas para garantizar su funcionamiento y representan la base de provisión de servicios ecosistémicos como el ciclado de nutrientes, de agua y la conservación del suelo (Viglizzo et al. 2011; Drinkwater et al. 2017). Además, son esenciales para mejorar la calidad edáfica a través de sus impactos beneficiosos sobre la estructura y la microbiota del suelo (Rillig et al. 2019). Los resultados de esta tesis demostraron, en el mediano plazo, que los sistemas agrícolas simplificados que incluyen CC, particularmente vicia y sus consociaciones, y maíz con bajas dosis de fertilizante nitrogenado mantienen o aumentan el C y N y el funcionamiento biofísico del suelo. Adicionalmente, se encontró que el uso de cebada y vicia, como especies monoespecíficas de CC, y dosis más altas de N incrementan las reservas orgánicas pero conllevan mayores pérdidas de N por lixiviación en el largo plazo, en mayor medida luego de vicia.

Esta información generada, permitió proponer un modelo conceptual sobre los flujos de C y N en la secuencia soja-maíz con CC de diferentes familias de especies y con bajas y altas dosis de fertilización con N, con el objetivo de ayudar a los tomadores de decisiones a diseñar sistemas agrícolas productivos y con menor impacto ambiental (Figura 5.1). En la secuencia soja-maíz sin CC las reservas orgánicas del suelo se mantienen, independientemente de la dosis de fertilización con N (Figura 5.1 A). Estos sistemas tienen bajo aporte de C y son ineficientes en el ciclado de N en el sistema suelo-planta. Por un lado, los largos períodos de barbecho predisponen a las pérdidas de N por lixiviación,



proveniente de la materia orgánica del suelo y/o con altas tasas de aplicación de fertilizantes, cuando hay excedentes hídricos (Rimski-Korsakov et al. 2004, Portela et al. 2016). Y por otro lado, existe un desacople entre el ingreso de N mineral a partir del fertilizante y la fuente de C necesaria para retener ese N en la materia orgánica del suelo. El N aportado por el fertilizante es absorbido por el cultivo en alrededor del 50% (Portela et al. 2006) pero una parte, sin esa fuente adicional de C que lo acompañe, se pierde por lixiviación (Drinkwater et al. 2017).

Los CC absorben el N mineral, potencialmente lixiviable, y lo reciclan en el sistema suelo-planta (Restovich et al. 2012, Rimski-Korsakov et al. 2015, Autret et al. 2019). Luego, una parte de este N se vuelve disponible, a partir de la mineralización, para los cultivos de cosecha y otra parte se humifica (Thorup-Kristensen y Dresbøll 2010). Sin embargo, las especies utilizadas como CC dejan diferentes legados sobre las reservas de COS y NOS, condicionando el funcionamiento del suelo de los agroecosistemas. Cuando se incluyen gramíneas (o crucíferas) como CC, el aporte de C y N tiene un impacto positivo sobre las reservas orgánicas que es mayor cuando se aumenta la dosis del fertilizante (Figura 5.1 B). Además, la relación C/N de estos residuos reduce el pool de N mineral a través de la inmovilización quedando menos disponible para perderse por lixiviación (Constantin et al. 2010).

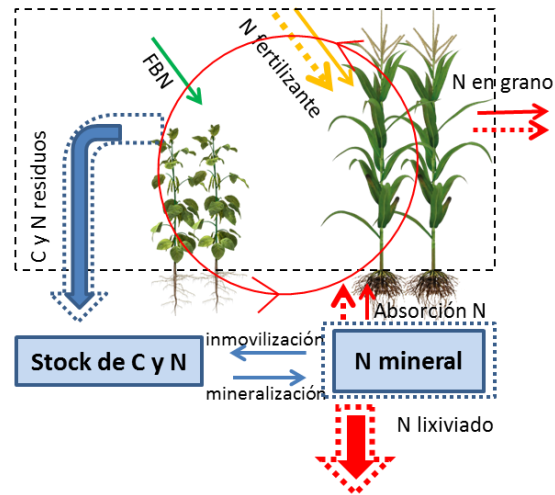
Cuando se utiliza vicia como CC, además del mayor aporte de C, hay un ingreso adicional de N a partir de la fijación biológica que aumenta en magnitud los stocks de C y N en la materia orgánica del suelo (Figura 5.1 C). La cantidad de residuos de leguminosas ingresados al sistema proporciona el sustrato de C y N necesario para que éstos sean secuestrados en el suelo. Este aumento de las reservas orgánicas estimula la mineralización de N y su pérdida hacia el agua subterránea por lixiviación, las cuales se potencian con el

agregado de fertilizantes nitrogenados. No obstante, el uso de leguminosas es crucial en los sistemas agrícolas actuales cuando se busca optimizar las reservas orgánicas y minerales para una gestión integrada de nutrientes (Drinkwater y Snapp 2007).

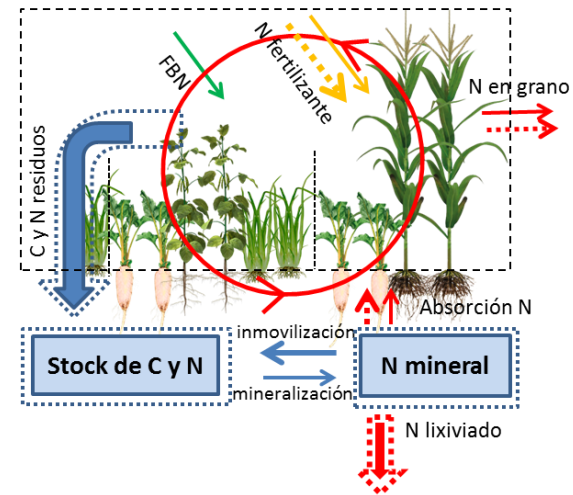
El uso de vicia en altas proporciones (>50% de la mezcla) con una gramínea en la mezcla de CC, proporciona mayores beneficios en comparación con CC monoespecíficos (Figura 5.1 D). Estos mayores beneficios ocurren en las reservas de materia orgánica del suelo y su funcionamiento, ya que el sistema se vuelve más eficiente al regular la lixiviación de N por la presencia de la gramínea. Además, las mezclas de CC, con esta proporción de vicia, no limitan la disponibilidad de N en comparación con el suelo desnudo y aumenta su disponibilidad en relación con las gramíneas como CC (Tribouillois et al. 2016). Los sistemas agrícolas que incluyen vicia en mezcla con avena como CC, presentan igual o mayor rendimiento de maíz que con vicia sola y que la secuencia sin CC, pero con menor N residual a la cosecha (Restovich et al. 2012).

En la búsqueda de agroecosistemas más sustentables y resilientes, los resultados de esta tesis comprobaron que el legado de los CC, combinados con bajas o nulas dosis de fertilizantes nitrogenados, sobre las reservas orgánicas y el funcionamiento del suelo, representa una alternativa de manejo ecológica para lograr una menor dependencia de insumos antropogénicos, manteniendo o aumentando la producción de los cultivos, y con el compromiso de disminuir el impacto ambiental de largo plazo.

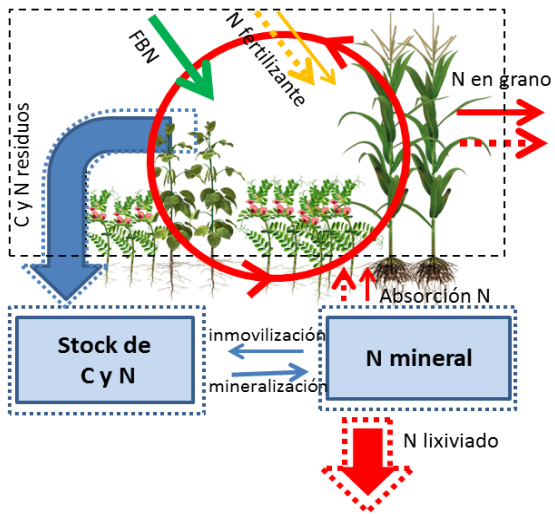
A. Soja-Maíz sin cultivos de cobertura



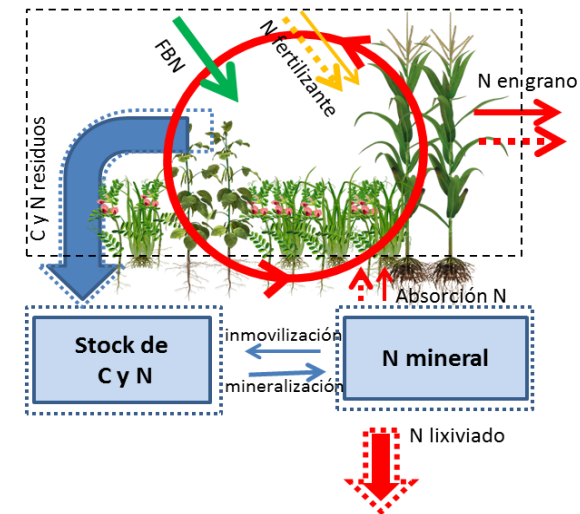
B. Soja-Maíz/Gramíneas o Crucíferas



C. Soja-Maíz/Leguminosas



D. Soja-Maíz/Leguminosas en mezcla



**Figura 5.1.** Modelo conceptual de los principales flujos de C y N en sistemas agrícolas simplificados, en suelos de mediana a baja fertilidad, comparando secuencias con  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  como fertilizante inorgánico al maíz sin CC (A), con gramíneas o crucíferas como CC (B), con leguminosas como CC (C), con mezcla de leguminosas y gramíneas (y crucíferas) como CC (D). Las líneas llenas representan los flujos con el agregado de  $32 \text{ kg N ha}^{-1}$  como fertilizante al maíz y las líneas punteadas con  $96 \text{ kg N ha}^{-1}$ .

### 5.3 Futuras líneas de investigación

A partir de esta tesis surgen nuevos temas para abordar y profundizar:

En ausencia de la fertilización con N, se destacó la relación entre la estabilidad estructural del suelo y el efecto cementante de la glomalina. Este resultado sugiere que los cambios edáficos registrados a partir del uso de CC en ausencia de fertilización nitrogenada podrían estar asociados a una mayor abundancia de HMA. Los HMA representan un grupo de la microbiota edáfica que, además de estar ligados a la mejora de la estructura del suelo, se reconocen como moduladores de la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas a partir de la formación de micorrizas (Cofré et al. 2019, Della Mónica et al. 2020). A partir de esto, se plantean nuevos desafíos asociados a la importancia de los HMA sobre la nutrición y la productividad de los cultivos de cosecha particularmente en sistemas de bajos insumos. Las rotaciones que incluyen CC, particularmente, leguminosas solas o en mezclas, combinados con bajas dosis de fertilizantes nitrogenados podrían generar cambios en la comunidad de HMA que repercutan en una mayor micorrización de las plantas y en un aumento del contenido de N y fósforo en el cultivo de cosecha, en comparación con sistemas de producción sin CC o con mayores dosis de fertilizantes nitrogenados. Además, teniendo en cuenta la importancia de las pérdidas de N por lixiviación es relevante comenzar a investigar el rol de las micorrizas en la regulación de éstas pérdidas. Posiblemente, una mayor masa fúngica de HMA se relacione con menores pérdidas de N debido a que los hongos pueden acceder a sustratos recalcitrantes y al N inorgánico en forma simultánea a partir de sus extensas redes de hifas y así inmovilizar el N fácilmente disponible (de Vries et al. 2011, de Vries y Griffiths 2018).

Por otro lado, la inclusión de CC en las secuencias agrícolas mantiene o incrementa las reservas orgánicas del suelo a partir de los aportes de C y de una mayor eficiencia de la gestión del N. Sin embargo, en la tesis no se pudo cuantificar el impacto de las mezclas de CC sobre los stocks de C y N y la lixiviación de N en el largo plazo. En un futuro, se trabajará con mezclas de CC en el modelo suelo-planta STICS, cuando se incorporen al modelo. Por otro lado, sólo se estudió una proporción de leguminosas en las mezclas en el mediano plazo, por lo que se debería profundizar el estudio con diferentes proporciones de leguminosas y combinaciones de dosis de fertilizantes nitrogenados para promover la gestión del N en el largo plazo. En este sentido, contar con esta información permitiría elaborar estrategias de producción con mezclas de CC a distintas escalas, desde sitio-específico hasta ecorregión.

Adicionalmente, las emisiones de gases con efecto invernadero, entre ellos el  $N_2O$ , constituyen uno de los problemas ambientales más graves a los que debe enfrentarse la humanidad, debido a su íntima relación con el cambio climático (Peyrard et al. 2016). El  $N_2O$  proveniente de la agricultura, tiene su origen a partir de todo el N que ingresa anualmente a los suelos, cuyas fuentes más importantes son los fertilizantes sintéticos, la fijación biológica del N y los residuos aportados por los cultivos; y está mediado por procesos microbianos. Estas pérdidas deberían ser cuantificadas en los sistemas con baja dosis de fertilización con N pero con alta dependencia de leguminosas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdalla M, Hastings A, Cheng K, Yue Q, Chadwick D, Espenberg M, Truu J, Rees RM, Smith P (2019) A critical review of the impacts of cover crops on nitrogen leaching, net greenhouse gas balance and crop productivity *Global Change Biol* 25 2530-2543 <http://dx.doi.org/10.1111/gcb.14644>
- Adhikari K, Hartemink AE (2016) Linking soils to ecosystem services — A global review *Geoderma* 262 101-111 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>
- Alvarez C, Alvarez CR, Costantini A, Basanta M (2014) Carbon and nitrogen sequestration in soils under different management in the semi-arid Pampa (Argentina) *Soil and Tillage Research* 142 25-31 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2014.04.005>
- Álvarez CR, Rimski-Korsakov H, Prystupa P, Lavado RS (2007) Nitrogen Dynamics and Losses in Direct-Drilled Maize Systems *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 38 2045-2059 <http://dx.doi.org/10.1080/00103620701548712>
- Alvarez R (2005) A review of nitrogen fertilizer and conservation tillage effects on soil organic carbon storage *Soil Use and Management* 21 38-52
- Alvarez R, Steinbach HS, De Paepe JL (2017) Cover crop effects on soils and subsequent crops in the pampas: A meta-analysis. *Soil and Tillage Research* 170: 53-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2017.03.005>
- Alvarez R, Steinbach HS, De Paepe J (2014) A regional audit of nitrogen fluxes in pampean agroecosystems *Agriculture, Ecosystems & Environment* 184 1-8 <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2013.11.003>
- Allen DE, Singh BP, Dalal RC (2011) Soil health indicators under climate change-a review of current knowledge Singh B.P, Cowie A.L y Chan K.Y. (ed) *Soil health and climate change Soil Biology Series*. Springer-Verlag Berlin 25-45

- Andriulo A, Mary B, Guérif J (1999) Modeling soil carbon dynamics with various cropping sequences on the rolling pampas *Agronomie* 19 365-377
- Armas-Herrera C, Beaudoin N, Restovich S, Andriulo A, Affholder F, Maltas A, Olesen J, Sharif B, Laurent F, Cohan J-P, Mary B, (2015). Modeling with STICS the effects of no-tillage vs. tillage in cropping systems under contrasting pedoclimatic conditions. “Xè Colloque Modèle de Culture STICS”, Rennes, France.
- Atul-Nayyar A, Hamel C, Hanson K, Germida J (2009) The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand *Mycorrhiza* 19 239-246  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00572-008-0215-0>
- Austin AT, Piñeiro G, González-Polo M (2006) More is less: agricultural impacts on the N cycle in Argentina *Biogeochemistry* 79 45-60 <http://dx.doi.org/10.1007/s10533-006-9002-1>
- Autret B, Beaudoin N, Rakotovololona L, Bertrand M, Grandeau G, Gréhan E, Ferchaud F, Mary B (2019) Can alternative cropping systems mitigate nitrogen losses and improve GHG balance? Results from a 19-yr experiment in Northern France *Geoderma* 342 20-33 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.01.039>
- Autret B, Mary B, Strullu L, Chlebowski F, Mäder P, Mayer J, Olesen JE, Beaudoin N (2020) Long-term modelling of crop yield, nitrogen losses and GHG balance in organic cropping systems *Science of The Total Environment* 134597  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134597>
- Avio L, Castaldini M, Fabiani A, Bedini S, Sbrana C, Turrini A, Giovannetti M (2013) Impact of nitrogen fertilization and soil tillage on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a Mediterranean agroecosystem *Soil Biology and Biochemistry* 67 285-294 <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.005>

- Bardgett RD, Mommer L, De Vries FT (2014) Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes *Trends in Ecology & Evolution* 29 692-699  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.006>
- Bassu S, Brisson N, Durand J-L, Boote K, Lizaso J, Jones JW, Rosenzweig C, Ruane AC, Adam M, Baron C, Basso B, Biernath C, Boogaard H, Conijn S, Corbeels M, Deryng D, De Sanctis G, Gayler S, Grassini P, Hatfield J, Hoek S, Izaurrealde C, Jongschaap R, Kemanian AR, Kersebaum KC, Kim S-H, Kumar NS, Makowski D, Müller C, Nendel C, Priesack E, Pravia MV, Sau F, Shcherbak I, Tao F, Teixeira E, Timlin D, Waha K (2014) How do various maize crop models vary in their responses to climate change factors? *Global Change Biol* 20 2301-2320  
<http://dx.doi.org/10.1111/gcb.12520>
- Beaudoin N, Launay M, Sauboua E, Ponsardin G, Mary B (2008) Evaluation of the soil crop model STICS over 8 years against the "on farm" database of Bruyères catchment *European Journal of Agronomy* 29 46-57
- Berntsen J, Olesen JE, Petersen BM, Hansen EM (2006) Long-term fate of nitrogen uptake in catch crops *European Journal of Agronomy* 25 383-390  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2006.07.006>
- Bezerra De Oliveira L (1968) Determinação do macro e micro porosidade pela “mesa de tensão” em mostras de solo com estrutura indeformada *Pesquisa Agrop Bras* 3 197-200
- Brar BS, Singh K, Dheri GS, Balwinder K (2013) Carbon sequestration and soil carbon pools in a rice–wheat cropping system: Effect of long-term use of inorganic fertilizers and organic manure *Soil and Tillage Research* 128 30-36  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2012.10.001>



- Bremner JM, Mulvaney CS (1982) Nitrogen-Total Page A.L., Miller R.H. y Keeney D.R. (ed) *Methods of Soil Analysis: Chemical and Microbiological Properties. Part 2. Second Edition* Soil Science Society of America and American Society of Agronomy Madison, WI 595-624
- Brisson N, Gary C, Justes E, Roche R, Mary B, Ripoche D, Zimmer D, Sierra J, Bertuzzi P, Burger P, Bussiã Re F, Cabidoche YM, Cellier P, Debaeke P, Gaudillã Re JP, HãCNault C, Maraux F, Seguin B, Sinoquet H (2003) An overview of the crop model stics *European Journal of Agronomy* 18 309-332
- Brisson N, Launay M, Mary B, Beaudoin N (2008) *Conceptual basis, formalisations and parameterization of the STICS crop model* Edition QUAE, INRA, 78026 Versailles Cedex
- Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy MH, Ruget F, Nicoullaud B, Gate P, Devienne-Barret F, Antonioletti R, Durr C, Richard G, Beaudoin N, Recous S, Tayot X, Plenet D, Cellier P, Machet J-M, Meynard JM, Delécolle R (1998) STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parameterization applied to wheat and corn *Agronomie* 18 311-346
- Bronick CJ, Lal R (2005) Soil structure and management: a review *Geoderma* 124 3-22  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.03.005>
- Burke W, Gabriels D, Bouma J (1986) *Soil structure assessment* A.A. Balkema Rotterdam
- Cambardella CA, Elliot ET (1992) Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56 777-783
- Caprile AC, Aparicio VC, Portela SI, Sasal MC, Andriulo AE (2017) Drainage and vertical transport of herbicides in two mollisols of the Argentinian rolling pampa *Ciencia del Suelo* 35 147-159

- Caride C, Piñeiro G, Paruelo JM (2012) How does agricultural management modify ecosystem services in the Argentine Pampas? The effects on soil C dynamics *Agriculture, Ecosystems & Environment* 154 23-33  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2011.05.031>
- Carnelos DA, Portela SI, Jobbágy EG, Jackson RB, Di Bella CM, Panario D, Fagúndez C, Piñeiro-Guerra JM, Grion L, Piñeiro G (2019) A first record of bulk atmospheric deposition patterns of major ions in southern South America *Biogeochem* 144 261-271 10.1007/s10533-019-00584-3
- Cassman KG, Dobermann A, Walters DT (2002) Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management *Ambio* 31 132-140
- Caviglia OP, Sadras VO, Andrade FH (2004) Intensification of agriculture in the southeastern Pampas. I. Capture and efficiency in the use of water and radiation in double-cropped wheat-soybean *Field Crops Research* 87 117-129
- Clivot H, Mary B, Valé M, Cohan J-P, Champolivier L, Piraux F, Laurent F, Justes E (2017) Quantifying in situ and modeling net nitrogen mineralization from soil organic matter in arable cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 111: 44-59. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.010>
- Clivot H, Mouny J-C, Duparque A, Dinh J-L, Denoroy P, Houot S, Vertès F, Trochard R, Bouthier A, Sagot S, Mary B (2019) Modeling soil organic carbon evolution in long-term arable experiments with AMG model *Environmental Modelling & Software* 118 99-113 <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2019.04.004>
- Cofré MN, Soteras F, Del Rosario Iglesias M, Velázquez S, Abarca C, Risio L, Ontivero E, Cabello MN, Domínguez LS, Lugo MA (2019) Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in South America: A Review Pagano Marcela C. y

- Lugo Mónica A. (ed) Mycorrhizal Fungi in South America Springer International Publishing Cham 49-72
- Collino DJ, Salvagiotti F, Peticari A, Piccinetti C, Ovando G, Urquiaga S, Racca RW (2015) Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors. *Plant and Soil* 392: 239-252. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2459-8>
- Comerford NB, Franzluebbers AJ, Stromberger ME, Morris L, Markewitz D, Moore R (2013) Assessment and Evaluation of Soil Ecosystem Services *Soil Horizons* 54 sh12-10-0028 <https://doi.org/10.2136/sh12-10-0028>
- Constantin J, Beaudoin N, Launay M, Duval J, Mary B (2012) Long-term nitrogen dynamics in various catch crop scenarios: Test and simulations with STICS model in a temperate climate *Agriculture, Ecosystems & Environment* 147 36-46
- Constantin J, Le Bas C, Justes E (2015) Large-scale assessment of optimal emergence and destruction dates for cover crops to reduce nitrate leaching in temperate conditions using the STICS soil-crop model *European Journal of Agronomy* 69 75-87 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.06.002>
- Constantin J, Mary B, Laurent F, Aubrion G, Fontaine A, Kerveillant P, Beaudoin N (2010) Effects of catch crops, no till and reduced nitrogen fertilization on nitrogen leaching and balance in three long-term experiments *Agriculture, Ecosystems & Environment* 135 268-278 <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2009.10.005>
- Corre-Hellou GNL, Faure M, Launay M, Brisson N, Crozat Y (2009) Adaptation of the STICS intercrop model to simulate crop growth and N accumulation in pea-barley intercrops *Field Crops Research* 113 72-81
- Coucheny E, Buis S, Launay M, Constantin J, Mary B, García De Cortázar-Atauri I, Ripoche D, Beaudoin N, Ruget F, Andrianarisoa KS, Le Bas C, Justes E, Léonard J

- (2015) Accuracy, robustness and behavior of the STICS soil–crop model for plant, water and nitrogen outputs: Evaluation over a wide range of agro-environmental conditions in France *Environmental Modelling & Software* 64 177-190  
<https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2014.11.024>
- Chavarría DN, Verdenelli RA, Serri DL, Restovich SB, Andriulo AE, Meriles JM, Vargas-Gil S (2016) Effect of cover crops on microbial community structure and related enzyme activities and macronutrient availability *European Journal of Soil Biology* 76 74-82 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.07.002>
- Chen G, Weil R (2010) Penetration of cover crops roots through compacted soils *Plant and Soil* 331 31-43 <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0223-7>
- Chen Y-L, Zhang X, Ye J-S, Han H-Y, Wan S-Q, Chen B-D (2014) Six-year fertilization modifies the biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate steppe in Inner Mongolia *Soil Biology and Biochemistry* 69 371-381  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.11.020>
- [Daryanto S, Fu B, Wang L, Jacinthe P-A, Zhao W \(2018\) Quantitative synthesis on the ecosystem services of cover crops. \*Earth-Science Reviews\* 185: 357-373. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2018.06.013>](https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2018.06.013)
- Delgado-Baquerizo M, Maestre FT, Gallardo A, Bowker MA, Wallenstein MD, Quero JL, Ochoa V, Gozalo B, García-Gómez M, Soliveres S, García-Palacios P, Berdugo M, Valencia E, Escolar C, Arredondo T, Barraza-Zepeda C, Bran D, Carreira JA, Chaieb M, Conceição AA, Derak M, Eldridge DJ, Escudero A, Espinosa CI, Gaitán J, Gatica MG, Gómez-González S, Guzman E, Gutiérrez JR, Florentino A, Hepper E, Hernández RM, Huber-Sannwald E, Jankju M, Liu J, Mau RL, Miriti M, Moneris J, Naseri K, Noumi Z, Polo V, Prina A, Pucheta E, Ramírez E, Ramírez-Collantes DA, Romão R, Tighe M, Torres D, Torres-Díaz C, Ungar ED, Val J, Wamiti W, Wang

- D,Zaady E (2013) Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands. *Nature* 502 672-676 <https://doi.org/10.1038/nature12670>
- De Notaris C, Rasmussen J, Sørensen P, Olesen JE (2018) Nitrogen leaching: A crop rotation perspective on the effect of N surplus, field management and use of catch crops *Agriculture, Ecosystems & Environment* 255 1-11 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.009>
- De Rouw A, Huon S, Soullileuth B, Jouquet P, Pierret A, Ribolzi O, Valentin C, Bourdon E, Chantharath B (2010) Possibilities of carbon and nitrogen sequestration under conventional tillage and no-till cover crop farming (Mekong valley, Laos) *Agriculture, Ecosystems & Environment* 136 148-161 <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2009.12.013>
- De Vries FT, Griffiths RI (2018) Chapter Five - Impacts of Climate Change on Soil Microbial Communities and Their Functioning Horwath William R. y Kuzyakov Yakov (ed) *Developments in Soil Science* Elsevier 111-129
- De Vries FT, Van Groenigen JW, Hoffland E, Bloem J (2011) Nitrogen losses from two grassland soils with different fungal biomass *Soil Biology and Biochemistry* 43 997-1005 <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.016>
- Della Mónica IF, Godeas AM, Scervino JM (2020) In Vivo Modulation of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis and Soil Quality by Fungal P Solubilizers *Microbial Ecology* 79 21-29 <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-019-01396-6>
- Dobermann A, Cassman K (2004) Environmental dimensions of fertilizer nitrogen: what can be done to increase nitrogen use efficiency and ensure global food security? Mosier A R, Syers J K y Freney J R (ed) *Agriculture and the Nitrogen Cycle: Assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment* Island Press Washington, USA 261-278

- Douglas JT, Goss MJ (1982) Stability and organic matter of surface soil aggregates under different methods of cultivation and in grassland Soil & Tillage Research 2 155-175
- Drinkwater LE (2004) Improving fertilizer nitrogen use efficiency through an ecosystem-based approach Mosier A R, Syers J K y Freney J R (ed) Agriculture and the Nitrogen Cycle: Assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment Island Press Washington, USA 93-102
- Drinkwater LE, Schipanski M, Snapp S, Jackson LE (2017) Chapter 7 - Ecologically Based Nutrient Management Snapp Sieglinde y Pound Barry (ed) Agricultural Systems (Second Edition) Academic Press San Diego 203-257
- Drinkwater LE, Snapp SS (2007) Nutrients in Agroecosystems: Rethinking the Management Paradigm Donald L. Sparks (ed) Advances in Agronomy Academic Press 163-186
- Dube E, Chiduzza C, Muchaonyerwa P (2012) Conservation agriculture effects on soil organic matter on a Haplic Cambisol after four years of maize–oat and maize–grazing vetch rotations in South Africa Soil and Tillage Research 123 21-28  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2012.02.008>
- Duval ME, Galantini JA, Capurro JE, Martinez JM (2016) Winter cover crops in soybean monoculture: Effects on soil organic carbon and its fractions Soil and Tillage Research 161 95-105 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2016.04.006>
- Enrico JM, Piccinetti CF, Barraco MR, Agosti MB, Ecclesia RP, Salvagiotti F (2020) Biological nitrogen fixation in field pea and vetch: Response to inoculation and residual effect on maize in the Pampean region European Journal of Agronomy 115 126016 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126016>

- Feller C (1979) Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique du soil. Application aux sols tropicaux à textures grossières, très pauvres en humus Cahiers ORSTOM série Pédologie, Paris 17 339-346
- Finney DM, Kaye JP (2017) Functional diversity in cover crop polycultures increases multifunctionality of an agricultural system Journal of Applied Ecology 54 509-517  
<http://dx.doi.org/10.1111/1365-2664.12765>
- 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: 628-639.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.058>
- Gabriel JL, Quemada M (2011) Replacing bare fallow with cover crops in a maize cropping system: Yield, N uptake and fertiliser fate European Journal of Agronomy 34 133-143
- Gabriel JL, Quemada M, Martín-Lammerding D, Vancloster M (2019) Assessing the cover crop effect on soil hydraulic properties by inverse modelling in a 10-year field trial Agriculture Water Management 222 62-71  
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.05.034>
- Galloway JN, Cowling EB (2002) Reactive Nitrogen and the world:200 years of change Ambio 31 64-71
- García-González I, Quemada M, Gabriel JL, Hontoria C (2016) Arbuscular mycorrhizal fungal activity responses to winter cover crops in a sunflower and maize cropping system Applied Soil Ecology 102 10-18 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.02.006>
- Giacomini SJ, Aita C, Vendruscolo ERO, Cubilla M, Nicoloso RS, Friest MR (2003) Matéria seca, relação c/n e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de plantas de cobertura de solo Rev. Bras. Cienc. Solo 27 325-334

- Goss MJ, Kay BD (2005) Soil Aggregation Zobel R.W y Wright S.F. (ed) Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America Madison, Wisconsin, USA 163-180
- Gregory PJ, Bengough G, George TS, Hallett PD (2013) Rhizosphere Engineering by Plants: quantifying soil-root interactions Timlin Dennis y Ahuja Laj R (ed) Enhancing understanding and Quantification of Soil-Root Growth Interactions American Society of Agronomy, Inc, Crop Science Society of America, Inc, Soil Science Society of America, Inc Madison, WI, USA 1-30
- Hall RA, Rebella CM, Ghersa CM, Culot JP (1992) Field-crop systems of the pampas Pearson C.J. (ed) Field Crops Ecosystems. Ecosystems of the World Elsevier Amsterdam 413-450
- Hallett P, Feeney D, Bengough AG, Rillig M, Scrimgeour C, Young I (2009) Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport Plant and Soil 314 183-196 <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-008-9717-y>
- Hansen EM, Kristensen K, Djurhuus J (2000b) Yield parameters affected by introduction or discontinuation of catch crop use Agronomy Journal 92 909-914
- Hartmann C 2006 Future of soil science Hartemink A.E. (ed) The Future of Soil Science International Union of Soil Sciences Wageningen. The Netherlands 57-59
- Haruna SI, Anderson SH, Nkongolo NV, Zaibon S (2018) Soil Hydraulic Properties: Influence of Tillage and Cover Crops Pedosphere 28 430-442 [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60387-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60387-4)
- Hillel D (1980). Fundamentals of soil physics. London Academic Press, Inc, p. 413.



- Huggins DR, Allmaras RR, Clapp CE, Lamb JA, Randall GW (2007) Corn-soybean sequence and tillage effects on soil carbon dynamics and storage Soil Science Society of America Journal 71 145-154
- Irizar A (2010). Cambios en la reserva de materia orgánica del suelo y sus fracciones granulométricas: efecto de la secuencia de cultivo, del sistema de labranza y de la fertilización nitrogenada. Tesis de Maestría en Ciencia del Suelo. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, p. 63.
- Irizar A, Andriulo A, Mary B (2013) Long-term impact of no tillage in two intensified crop rotations on different soil organic matter fractions in Argentine rolling Pampa Open Agriculture Journal 7 22-31
- Irizar AB, Delaye LM, Andriulo AE (2015) Projection of soil organic carbon reserves in the argentine rolling pampa under different agronomic scenarios. Relationship of these reserves with some soil properties Open Agriculture Journal 9 30-31
- Jégo G, Chantigny M, Pattey E, Bélanger G, Rochette P, Vanasse A, Goyer C (2014) Improved snow-cover model for multi-annual simulations with the STICS crop model under cold, humid continental climates Agricultural and Forest Meteorology 195-196 38-51 <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.05.002>
- Jégo G, Sánchez-Pérez JM, Justes E (2012) Predicting soil water and mineral nitrogen contents with the STICS model for estimating nitrate leaching under agricultural fields Agric. Water Manage. 107 54-65 <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.01.007>
- Justes E, Mary B, Nicolardot B (2009) Quantifying and modelling C and N mineralization kinetics of catch crop residues in soil: parameterization of the residue decomposition module of STICS model for mature and non mature residues Plant and Soil 325 171-185 <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-9966-4>

- Kay P, Edwards AC, Foulger M (2009) A review of the efficacy of contemporary agricultural stewardship measures for ameliorating water pollution problems of key concern to the UK water industry *Agricultural Systems* 99 67-75  
<https://doi.org/10.1016/j.agry.2008.10.006>
- Keating BA, Carberry PS, Hammer GL, Probert ME, Robertson MJ, Holzworth D, Huth NI, Hargreaves JNG, Meinke H, Hochman Z, Mclean G, Verburg K, Snow V, Dimes JP, Silburn M, Wang E, Brown S, Bristow KL, Asseng S, Chapman S, Mccown RL, Freebairn DM, Smith CJ (2003) An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation *European Journal of Agronomy* 18 267-288  
[https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(02\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00108-9)
- Khan SA, Mulvaney RL, Ellsworth TR, Boast CW (2007) The Myth of Nitrogen Fertilization for Soil Carbon Sequestration *Journal of Environmental Quality* 36 1821-1832 <http://dx.doi.org/10.2134/jeq2007.0099>
- Kaye JP, Quemada M (2017) Using cover crops to mitigate and adapt to climate change. A review *Agronomy for Sustainable Development* 37 4  
<http://dx.doi.org/10.1007/s13593-016-0410-x>
- Kemper WD (1965) Aggregate stability Black C.A (ed) *Methods of soil analysis. Part 1: Agronomy Am. Soc. Agron. Inc. Madison* 511-519
- Kuzyakov Y (2010) Priming effects: Interactions between living and dead organic matter *Soil Biology and Biochemistry* 42 1363-1371  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.04.003>
- Lehmann A, Rillig MC (2015) Understanding mechanisms of soil biota involvement in soil aggregation: A way forward with saprobic fungi? *Soil Biology and Biochemistry* 88 298-302 <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.006>

- Loades KW, Bengough A, Fraser Bransby M, Hallett PD (2013) Reinforcement of soil by fibrous roots. Timlin Dennis y Ahuja Laj R (ed) Enhancing understanding and quantification of soil-root growth interactions American Society of Agronomy, Inc, Crop Science Society of America, Inc, Soil Science Society of America, Inc Madison, WI, USA 197-228
- Machet J-M, Dubrulle P, Damay N, Duval R, Julien J-L, Recous S (2017) A Dynamic Decision-Making Tool for Calculating the Optimal Rates of N Application for 40 Annual Crops While Minimising the Residual Level of Mineral N at Harvest *Agronomy* 7 73
- Manning P, Van Der Plas F, Soliveres S, Allan E, Maestre FT, Mace G, Whittingham MJ, Fischer M (2018) Redefining ecosystem multifunctionality *Nature Ecology & Evolution* 2 427-436 <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0461-7>
- Mary B, Clivot H, Blaszczyk N, Labreuche J, Ferchaud F (2020) Soil carbon storage and mineralization rates are affected by carbon inputs rather than physical disturbance: Evidence from a 47-year tillage experiment *Agriculture, Ecosystems & Environment* 299 106972 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106972>
- Mary B, Guérif J (1994) Interêts et limits des modèles de prévision de l'évolution des matières organiques et de l'azote dans le sol *Cahiers agricultures* 3 247-257
- Mazzilli SR, Kemanian AR, Ernst OR, Jackson RB, Piñeiro G (2014) Priming of soil organic carbon decomposition induced by corn compared to soybean crops *Soil Biology and Biochemistry* 75 273-281 <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.005>
- Mazzilli SR, Kemanian AR, Ernst OR, Jackson RB, 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 22-30 <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.014>

- Mbuthia LW, Acosta-Martínez V, Debruyjn J, Schaeffer S, Tyler D, Odoi E, Mpheshea M, Walker F, Eash N (2015) Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality *Soil Biology and Biochemistry* 89 24-34 <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.016>
- Meyer N, Bergez J-E, Constantin J, Belleville P, Justes E (2020) Cover crops reduce drainage but not always soil water content due to interactions between rainfall distribution and management *Agric. Water Manage.* 231 105998 <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.105998>
- Milesi Delaye LA, Irizar AB, Andriulo AE, Mary B (2013) Effect of continuous agriculture of grassland soils of the Argentine Rolling Pampa on soil organic carbon and nitrogen *Applied and Environmental Soil Science* 2013
- Moreau P, Ruiz L, Raimbault T, Vertès F, Cordier MO, Gascuel-Oudou C, Masson V, Salmon-Monviola J, Durand P (2012) Modeling the potential benefits of catch-crop introduction in fodder crop rotations in a Western Europe landscape *Science of The Total Environment* 437 276-284 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.091>
- Mulvaney RL (1996) Nitrogen-Inorganic Forms Sparks D.L., Page A.L., Helmke P.A., Loeppert R.H., Soltanpour P.N., Tabatabai M.A., Johnston C.T. y Sumner M.E. (ed) *Methods of Soil Analysis: Chemical Methods. Part 3.* Soil Science Society of America and American Society of Agronomy Madison, Wisconsin, USA. 1123-1184
- Nelson DW, Sommers LE (1982) Total carbon, organic carbon and organic matter Page A, Miller R H y Keeney D R (ed) *Methods of soils analysis, part II* American Society of Agronomy, Soil Science Society of America Madison, WI 539-577
- Nemecek T, Von Richthofen J-S, Dubois G, Casta P, Charles R, Pahl H (2008) Environmental impacts of introducing grain legumes into European crop rotations *European Journal of Agronomy* 28 380-393 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2007.11.004>

- Nendel C, Berg M, Kersebaum KC, Mirschel W, Specka X, Wegehenkel M, Wenkel KO, Wieland R (2011) The MONICA model: Testing predictability for crop growth, soil moisture and nitrogen dynamics *Ecological Modelling* 222 1614-1625  
<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.02.018>
- Nicolardot B, Recous S, Mary B (2001) Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: A simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues *Plant and Soil* 228 83-103 <http://dx.doi.org/10.1023/a:1004813801728>
- Nieder R, Benbi DK 2008 *Organic Matter and Soil quality* Nieder R y Benbi D.K (ed) Carbon and Nitrogen in the terrestrial Environment Springer Science+Business media B.V
- Nivelle E, Verzeaux J, Habbib H, Kuzyakov Y, Decocq G, Roger D, Lacoux J, Duclercq J, Spicher F, Nava-Saucedo J-E, Catterou M, Dubois F, Tetu T (2016) Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization *Applied Soil Ecology* 108 147-155  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.08.004>
- Novelli LE, Caviglia OP, Wilson MG, Sasal MC (2013) Land use intensity and cropping sequence effects on aggregate stability and C storage in a Vertisol and a Mollisol *Geoderma* 195–196 260-267  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.12.013>
- Olesen JE, Sørensen P, Thomsen IK, Eriksen J, Thomsen AG, Berntsen J (2004) Integrated nitrogen input systems in Denmark Mosier A R, Syers J K y Freney J R (ed) *Agriculture and the Nitrogen Cycle: Assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment* Island Press Washington, USA 129-140

- Mosier A R, Syers J K, Freney J R (ed) Agriculture and the Nitrogen Cycle: Assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment Island Press Washington, USA 129-140
- Paul BK, Vanlauwe B, Ayuke F, Gassner A, Hoogmoed M, Hurisso TT, Koala S, Lelei D, Ndabamenye T, Six J, Pulleman MM (2013) Medium-term impact of tillage and residue management on soil aggregate stability, soil carbon and crop productivity Agriculture, Ecosystems & Environment 164 14-22  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.10.003>
- Peyrard C, Mary B, Perrin P, Véricel G, Gréhan E, Justes E, Léonard J (2016) N<sub>2</sub>O emissions of low input cropping systems as affected by legume and cover crops use Agriculture, Ecosystems & Environment 224 145-156  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.028>
- Pinto P, Fernández Long ME, Piñeiro G (2017) Including cover crops during fallow periods for increasing ecosystem services: Is it possible in croplands of Southern South America? Agriculture, Ecosystems & Environment 248 48-57  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.028>
- Plaza-Bonilla D, Nolot J-M, 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 33-43  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2015.09.021>
- 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 & Environment 212 1-12  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.06.014>

- Plaza-Bonilla D, Nolot J-M, Raffaillac D, Justes E (2017) Innovative cropping systems to reduce N inputs and maintain wheat yields by inserting grain legumes and cover crops in southwestern France *European Journal of Agronomy* 82, Part B 331-341  
<https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.05.010>
- Poeplau C, Don A (2015) Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops – A meta-analysis *Agriculture, Ecosystems & Environment* 200 33-41  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2014.10.024>
- Portela SI, Andriulo AE, Jobbágy EG, Sasal MC (2009) Water and nitrate exchange between cultivated ecosystems and groundwater in the Rolling Pampas *Agriculture, Ecosystems & Environment* 134 277-286  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2009.08.001>
- Portela SI, Andriulo AE, Sasal MC, Mary B, Jobbágy EG (2006) Fertilizer vs. organic matter contributions to nitrogen leaching in cropping systems of the Pampas: 15N application in field lysimeters *Plant and Soil* 289 265-277  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-006-9134-z>
- Portela SI, Restovich S, González H, Torti MJ (2016) Deep drainage and nitrogen leaching reduction in crop rotations with cover crops *Ecología Austral* 26 212 - 220
- Poulton PR, Pye E, Hargreaves PR, Jenkinson DS (2003) Accumulation of carbon and nitrogen by old arable land reverting to woodland *Global Change Biol* 9 942-955  
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00633.x>
- Recous S, Lashermes G, Bertrand I, Duru M, Pellerin S (2019) Chapter 3 C–N–P Decoupling Processes Linked to Arable Cropping Management Systems in Relation With Intensification of Production Lemaire Gilles, Carvalho Paulo César De Faccio, Kronberg Scott y Recous Sylvie (ed) *Agroecosystem Diversity Academic Press* 35-53

- Redin M, Recous S, Aita C, Dietrich G, Skolaude AC, Ludke WH, Schmatz R, Giacomini SJ (2014) How the chemical composition and heterogeneity of crop residue mixtures decomposing at the soil surface affects C and N mineralization *Soil Biology and Biochemistry* 78 65-75 <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.07.014>
- Restovich SB, Andriulo A, Amendola C (2011) Inclusion of cover crops in a soybean-corn rotation: effect on some soil properties *Ciencia del Suelo (Argentina)* 29 61-73
- Restovich SB, Andriulo AE, Portela SI (2012) Introduction of cover crops in a maize-soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics *Field Crops Research* 128 62-70 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.012>
- Rillig M, Wright S, Eviner V (2002) The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species *Plant and Soil* 238 325-333 <http://dx.doi.org/10.1023/a:1014483303813>
- Rillig MC, Aguilar-Trigueros CA, Camenzind T, Cavagnaro TR, Degrune F, Hohmann P, Lammel DR, Mansour I, Roy J, Van Der Heijden MGA, Yang G (2019) Why farmers should manage the arbuscular mycorrhizal symbiosis *New Phytologist* 222 1171-1175 <http://dx.doi.org/10.1111/nph.15602>
- Rillig MC, Mummey DL (2006) Mycorrhizas and soil structure *New Phytologist* 171 41-53 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>
- Rimski-Korsakov H, Alvarez CR, Lavado RS (2015) Cover crops in the agricultural systems of the Argentine Pampas *Journal of Soil and Water Conservation* 70 134A-140A <http://dx.doi.org/10.2489/jswc.70.6.134A>
- Rimski-Korsakov H, Rubio G, Lavado RS (2004) Potential nitrate losses under different agricultural practices in the pampas region, Argentina *Agric. Water Manage.* 65 83-94 <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2003.08.003>



- Rimski-Korsakov H, Zubillaga MS, Landriscini MR, Lavado RS (2016) Maize and cover crop sequence in the Pampas: Effect of fertilization and water stress on the fate of nitrogen *Journal of Soil and Water Conservation* 71 12-20  
<http://dx.doi.org/10.2489/jswc.71.1.12>
- Ritchie SW, Hanway JJ, Benson GO (1982) How a corn plant develops. Iowa State University of Science and Technology. Cooperative extension service Ames, Iowa. Special Report 48
- Rositano F, Ferraro DO (2014) Ecosystem services provided by agroecosystems: A qualitative and quantitative assessment of this relationship in the Pampa Region, Argentina *Environmental Management* 53 606-619  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00267-013-0211-9>
- Saffih-Hdadi K, Mary B (2008) Modeling consequences of straw residues export on soil organic carbon *Soil Biology and Biochemistry* 40 594-607  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.022>
- Sainju UM, Schomberg HH, Singh BP, Whitehead WF, Tillman PG, Lachnicht-Weyers SL (2007) Cover crop effect on soil carbon fractions under conservation tillage cotton *Soil and Tillage Research* 96 205-218  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2007.06.006>
- Sainju UM, Whitehead WF, Singh BP (2005) Biculture legume-cereal cover crops for enhanced biomass yield and carbon and nitrogen *Agronomy Journal* 97 1403-1412  
<http://dx.doi.org/10.2134/agronj2004.0274>
- Salvagiotti F, Cassman KG, Specht JE, Walters DT, Weiss A, Dobermann A (2008) Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review *Field Crops Research* 108 1-13 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001>
- Sas (2009). SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina.

- Sasal MC, Andriulo AE (2005) Cambios en la porosidad edáfica bajo siembra directa por la introducción de *Raphanus sativus* L. (Nabo forrajero) RIA. INTA, Argentina 34 131-150
- Sasal MC, Andriulo AE, Taboada MA (2006) Soil porosity characteristics and water movement under zero tillage in silty soils in Argentinian Pampas Soil and Tillage Research 87 9-18 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2005.02.025>
- Sasal MC, Castiglioni MG, Wilson MG (2010) Effect of crop sequences on soil properties and runoff on natural-rainfall erosion plots under no tillage Soil and Tillage Research 108 24-29 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2010.03.010>
- Schipanski ME, Barbercheck M, Douglas MR, Finney DM, Haider K, Kaye JP, Kemanian AR, Mortensen DA, Ryan MR, Tooker J, White C (2014) A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems Agr. Syst. 125 12-22 <http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2013.11.004>
- Scott Angle J (1990) Nitrate leaching losses from soybeans (*Glycine max* L. Merr.) Agriculture, Ecosystems & Environment 31 91-97 [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(90\)90212-V](https://doi.org/10.1016/0167-8809(90)90212-V)
- Sisti CPJ, Dos Santos HP, Kohhann R, Alves BJR, Urquiaga S, Boddey RM (2004) Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil Soil and Tillage Research 76 39-58 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2003.08.007>
- Six J, Bossuyt H, Degryze S, Deneff K (2004) A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics Soil and Tillage Research 79 7-31 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2004.03.008>
- Soriano A, León RJC, Sala OE, Lavado RS, Deregibus VA, Cauhépé MA, Scaglia OA, Velázquez CA, Lemcoff JH (1991) Rio de la Plata grasslands Coupland R.T. (ed)

- Temperate subhumid grasslands. *Ecosystems of the World. Part 8. Natural Grasslands* Elsevier Amsterdam 367-407
- Strullu L, Beaudoin N, Thiébeau P, Julier B, Mary B, Ruget F, Ripoche D, Rakotovololona L, Louarn G (2020) Simulation using the STICS model of C&N dynamics in alfalfa from sowing to crop destruction *European Journal of Agronomy* 112 125948 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.125948>
- Syswerda SP, Basso B, Hamilton SK, Tausig JB, Robertson GP (2012) Long-term nitrate loss along an agricultural intensity gradient in the Upper Midwest USA *Agriculture, Ecosystems & Environment* 149 10-19 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.007>
- Therond O, Hengsdijk H, Casellas E, Wallach D, Adam M, Belhouchette H, Oomen R, Russell G, Ewert F, Bergez J-E, Janssen S, Wery J, Van Ittersum MK (2011) Using a cropping system model at regional scale: Low-data approaches for crop management information and model calibration *Agriculture, Ecosystems & Environment* 142 85-94 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.05.007>
- Thorup-Kristensen K, Dresbøll DB (2010) Incorporation time of nitrogen catch crops influences the N effect for the succeeding crop *Soil Use and Management* 26 27-35 <https://10.1111/j.1475-2743.2009.00255.x>
- Thorup-Kristensen K, Magid J, Jensen LS, Sparks (2003) Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones (ed) *Advances in Agronomy* Academic Press 227-302
- Tisdall JM, Oades JM (1982) Organic matter and water-stable aggregates in soils *Journal of Soil Science* 33 141-163
- Tonitto C, David MB, Drinkwater LE (2006) Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: A meta-analysis of crop yield and N

- dynamics *Agriculture, Ecosystems & Environment* 112 58-72  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2005.07.003>
- Triberti L, Nastri A, Giordani G, Comellini F, Baldoni G, Toderi G (2008) Can mineral and organic fertilization help sequester carbon dioxide in cropland? *European Journal of Agronomy* 29 13-20
- Tribouillois H, Cohan J-P, Justes E (2016) Cover crop mixtures including legume produce ecosystem services of nitrate capture and green manuring: assessment combining experimentation and modelling *Plant and Soil* 401 347-364  
<https://10.1007/s11104-015-2734-8>
- Tribouillois H, Constantin J, Justes E (2018) Analysis and modeling of cover crop emergence: Accuracy of a static model and the dynamic STICS soil-crop model *European Journal of Agronomy* 93 73-81 <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.12.004>
- Van Der Heijden MGA, Martin FM, Selosse M-A, Sanders IR (2015) Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future *New Phytologist* 205  
<https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Van Groenigen JW, Van Kessel C, Hungate BA, Oenema O, Powlson DS, Van Groenigen KJ (2017) Sequestering Soil Organic Carbon: A Nitrogen Dilemma *Environmental Science & Technology* 51 4738-4739  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01427>
- Vargas Gil S, Meriles J, Conforto C, Basanta M, Radl V, Hagn A, Schloter M, March GJ (2011) Response of soil microbial communities to different management practices in surface soils of a soybean agroecosystem in Argentina *European Journal of Soil Biology* 47 55-60 <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.006>
- Viglizzo EF, Frank FC, Carreño LV, Jobbágy EG, Pereyra H, Clatt J, Pincén D, Ricard MF (2011) Ecological and environmental footprint of 50 years of agricultural

expansion in Argentina *Global Change Biol* 17 959-973

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02293.x>

Villamil MB, Bollero GA, Darmody F, Simmons FW, Bullock DG (2006) No-till corn/soybean systems including winter cover crops: effects on soil properties *Soil Science Society of America Journal* 70 1936-1944

Vitousek PM, Hättenschwiler S, Olander L, Allison S (2002) Nitrogen and nature *Ambio* 31 97-101

Vitousek PM, Naylor R, T. C, David MB, Drinkwater LE, Holland E, Johnes PJ, Katzenberger J, Martinelli LA, Matson PA, Nziguheba G, Ojima D, Palm CA, Robertson GP, Sanchez PA, Townsend A, R. , Zhang FS (2009) Nutrient imbalances in agricultural development *Science* 324 1519-1520

Wattenbach M, Sus O, Vuichard N, Lehuger S, Gottschalk P, Li L, Leip A, Williams M, Tomelleri E, Kutsch WL, Buchmann N, Eugster W, Dietiker D, Aubinet M, Ceschia E, Bêziat P, Grunwald T, Hastings A, Osborne B, Ciais P, Cellier P, Smith P (2010) The carbon balance of European croplands: A cross-site comparison of simulation models *Agriculture, Ecosystems & Environment* 139 419-453

Wendling M, Charles R, Herrera J, Amossé C, Jeangros B, Walter A, Büchi L (2019) Effect of species identity and diversity on biomass production and its stability in cover crop mixtures *Agriculture, Ecosystems & Environment* 281 81-91  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.04.032>

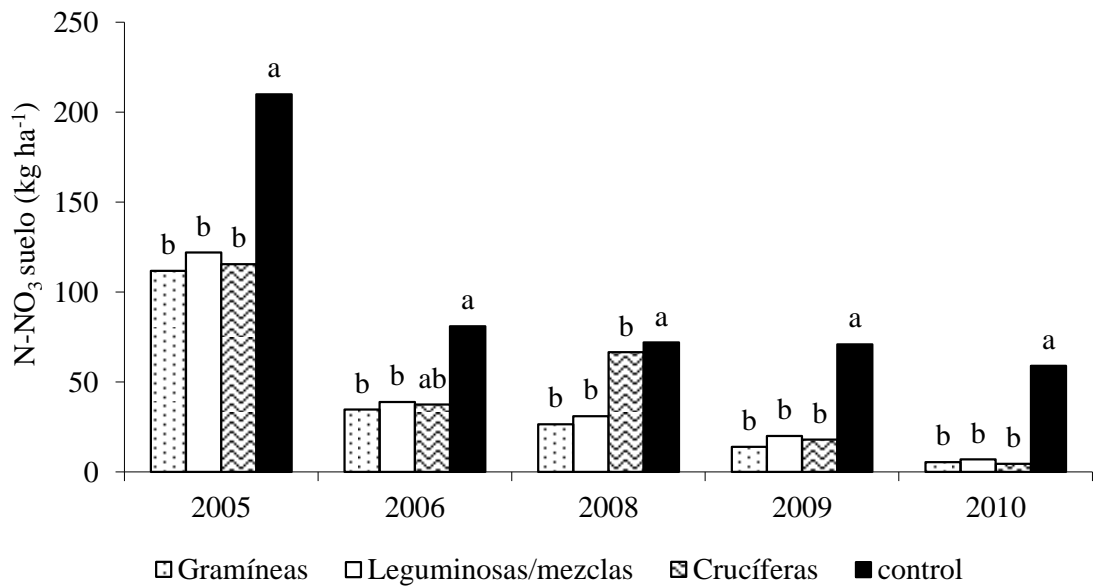
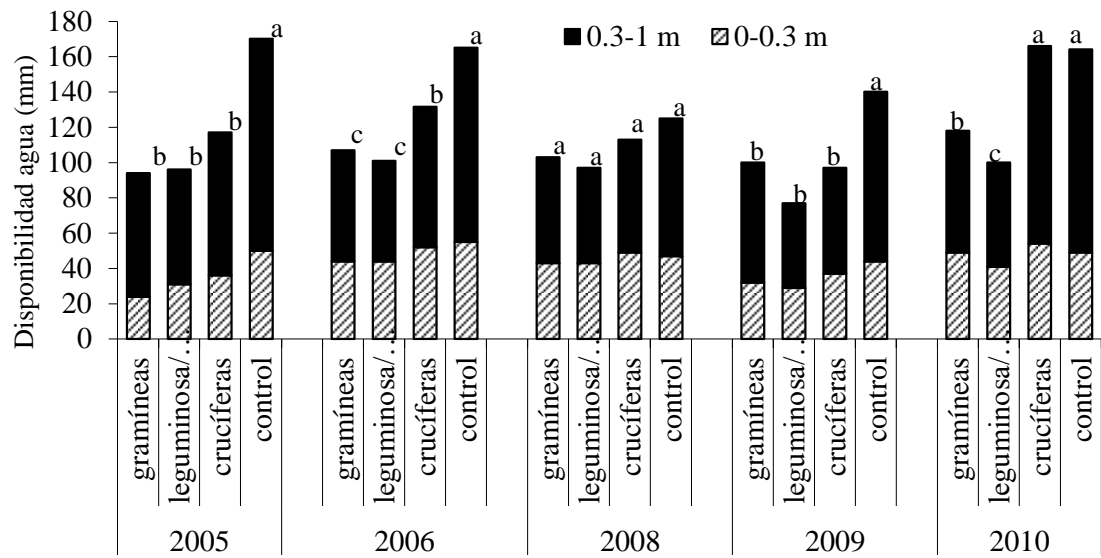
White CM, Dupont ST, Hautau M, Hartman D, Finney DM, Bradley B, Lachance JC, Kaye JP (2017) Managing the trade off between nitrogen supply and retention with cover crop mixtures *Agriculture, Ecosystems & Environment* 237 121-133  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.016>

- Wilson GWT, Rice CW, Rillig MC, Springer A, Hartnett DC (2009) Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments *Ecology Letters* 12 452-461 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01303.x>
- Wingeyer AB, Amado TJ, Pérez-Bidegain M, Studdert GA, Perdomo Varela CH, Garcia FO, Karlen DL (2015) Soil quality impacts of current South American agricultural practices *Sustainability* (Switzerland) 7 2213-2242 <http://dx.doi.org/10.3390/su7022213>
- Wright S (2005) Management of arbuscular mycorrhizal fungi. Zobel R.W y Wright S.F. (ed) *Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil* American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America Madison, Wisconsin, USA 183-197
- Wright S, Upadhyaya A (1996) Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi *Soil Science* 161 575-585
- Wright S, Upadhyaya A (1998) A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi *Plant and Soil* 198 97-107
- Wright SF, Green VS, Cavigelli MA (2007) Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems *Soil and Tillage Research* 94 546-549 <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2006.08.003>
- Yin X, Beaudoin N, Ferchaud F, Mary B, Strullu L, Chlébowski F, Clivot H, Herre C, Duval J, Louarn G (2020) Long-term modelling of soil N mineralization and N fate using STICS in a 34-year crop rotation experiment *Geoderma* 357 113956 <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113956>

- Yin X, Kersebaum KC, Kollas C, Manevski K, Baby S, Beaudoin N, Öztürk I, Gaiser T, Wu L, Hoffmann M, Charfeddine M, Conradt T, Constantin J, Ewert F, De Cortazar-Atauri IG, Giglio L, Hlavinka P, Hoffmann H, Launay M, Louarn G, Manderscheid R, Mary B, Mirschel W, Nendel C, Pacholski A, Palosuo T, Ripoche-Wachter D, P. Rötter R, Ruget F, Sharif B, Trnka M, Ventrella D, Weigel H-J, Olesen J (2017) Performance of process-based models for simulation of grain N in crop rotations across Europe Agr. Syst. 154 63-77 <https://doi.org/10.1016/j.agry.2017.03.005>
- Zhu W, Wang S, Caldwell CD (2012) Pathways of assessing agroecosystem health and agroecosystem management Acta Ecologica Sinica 32 9-17 <http://dx.doi.org/10.1016/j.chnaes.2011.11.001>

## 7. ANEXOS

**Anexo 1.** Contenido de agua y de  $N-NO_3$  en el suelo a 0-1 m para los diferentes tratamientos con CC (publicado en Restovich et al. 2012). Letras diferentes dentro del mismo año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.



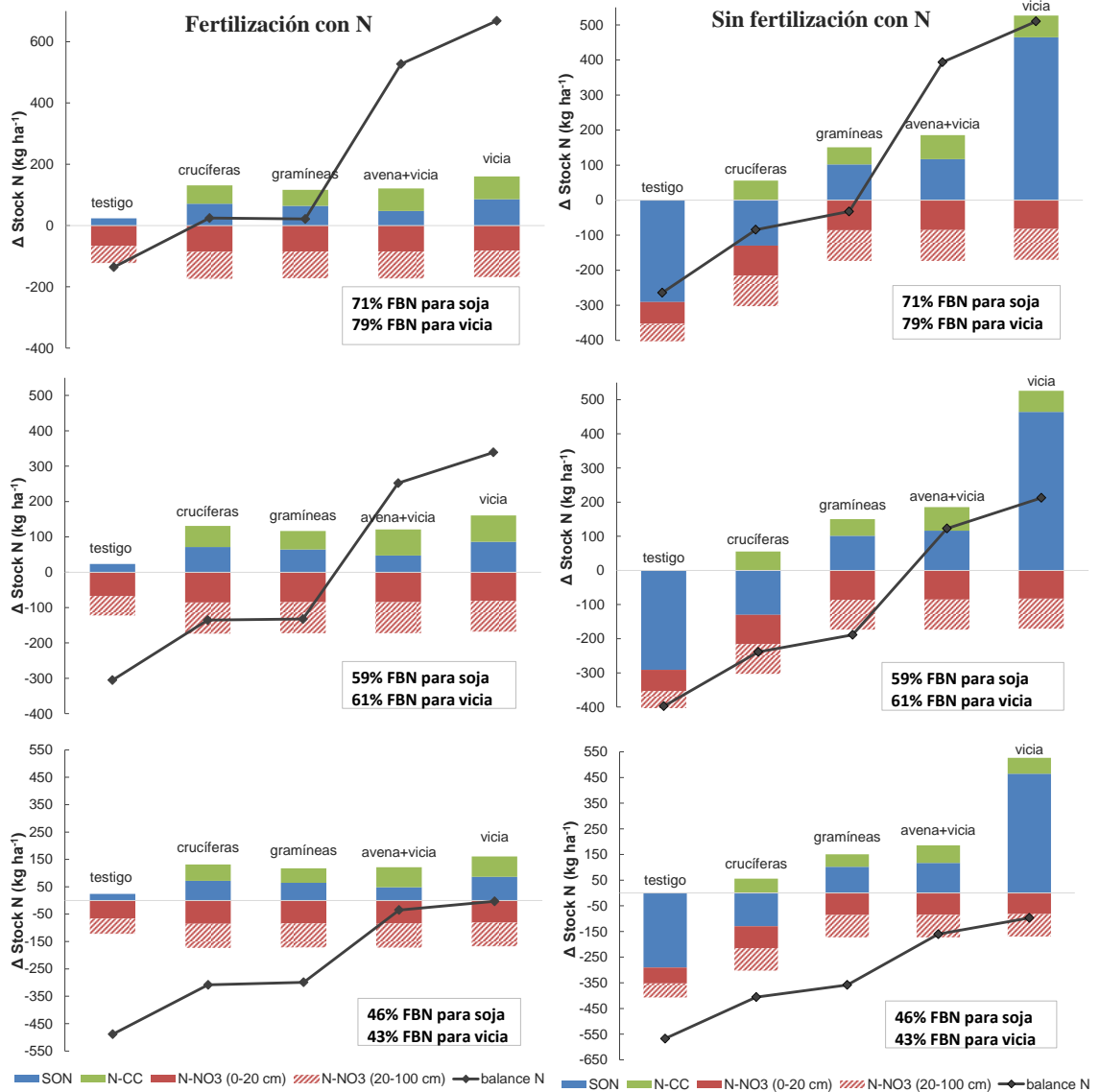


**Anexo 2.** Producción de biomasa aérea, contenido de N, concentración de N y relación C/N de los diferentes cultivos de cobertura al momento del secado durante el período de estudio (no se registraron los datos de 2007). Los cultivos de cobertura sembrados en años impares son antecesores de maíz y los sembrados en años pares de soja (publicado en Restovich et al. 2012).

Cultivo de cobertura	2005	2006	2008	2009	2010
<i>Biomasa aérea (Mg ha<sup>-1</sup>)</i>					
Cebadilla	3,9 bcd	2,0 b	1,6 cd	1,7 d	3,3 d
Avena	5,3 ab	4,3 a	2,8 ab	3,1 c	6,4 c
Cebada	5,0 abc	4,9 a	2,6 abc	4,2 b	6,1 c
Raigrás	4,4 abcd	5,3 a	2,7 ab	3,0 c	5,9 c
Avena+Vicia	3,4 cd	6,0 a	3,1 a	5,2 a	11,9 a
Vicia	2,9 d	5,9 a	1,8 bcd	5,8 a	8,1 b
Colza	6,1 a	2,3 b	1,1 d	1,9 d	1,2 e
Nabo forrajero	5,4 ab	1,3 b	----	----	2,4 de
F				4,0 A	6,3 A
NF				3,1 B	5,0 B
<i>N (kg ha<sup>-1</sup>)</i>					
Cebadilla	98 bc	21 de	29 b	29 c	24 c
Avena	117 bc	34 c	30 b	48 c	35 c
Cebada	106 bc	30 cd	26 b	45 c	37 c
Raigrás	86 c	35 c	33 b	36 c	28 c
Avena+Vicia	102 bc	77 b	55 a	139 b	143 b
Vicia	96 bc	112 a	56 a	188 a	223 a
Colza	172 a	27 cde	25 b	40 c	18 c
Nabo forrajero	131 ab	17 e	----	----	26 c
<i>N (g kg<sup>-1</sup>)</i>					
Cebadilla	24,5 cd	10,8 bc	17,8 c	17,5 c	7,3 d
Avena	22,5 de	8,3 cd	10,7 d	10,5 d	5,5 de
Cebada	20,8 de	6,2 d	10,8 d	10,6 d	6,1 de
Raigrás	19,5 e	6,8 d	12,4 d	11,6 d	4,8 e
Avena+Vicia	29,9 ab	13,4 b	17,9 c	26,1 b	11,8 c
Vicia	32,9 a	19,1a	30,6 a	32,3 a	27,5 a
Colza	28,1 bc	12,1b	22,3 b	20,3 c	14,4 b
Nabo forrajero	24,7 cd	13,3 b	----	----	11,0 c
<i>Relación C/N</i>					
Cebadilla	17 b	40 cd	23 b	23 b	56 c
Avena	20 a	51 cb	38 a	38 a	74 b
Cebada	20 a	69 a	39 a	38 a	67 b
Raigrás	21 a	61 ab	34 a	36 a	85 a
Avena+Vicia	14 bc	32 de	23 b	15 c	35 d
Vicia	13 c	23 e	13 b	12 c	15 e
Colza	15 bc	35 d	19 b	20 b	28 d
Nabo forrajero	17 b	32 de	----	----	37 d

Diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) entre CC. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas con y sin fertilizante aplicado al maíz

**Anexo 3.** Cambios en el almacenaje de N (barras) entre la situación inicial y luego de 6 años de rotación y su relación con el balance de N (líneas negras) con diferentes valores de fijación de N para la rotación soja-maíz con y sin CC y en ausencia y presencia de fertilización con N al maíz. Los compartimentos de almacenaje de N son: N-NO<sub>3</sub> en suelo a 0-20 y 20-100 cm de profundidad, reservas de NOS a 2200 Mg suelo ha<sup>-1</sup>, y el contenido de N en la biomasa de los CC.



Una fuente de incertidumbre dentro del cálculo del balance de N es el aporte de la fijación biológica de N como se mencionó en Materiales y Métodos en la sección 2.2.3 Balance de N del Capítulo 2. Al variar las estimaciones entre 59 y 71% de fijación de N en soja y vicia, los balances de N siguieron siendo positivos cuando se incluyó una leguminosa como CC en relación a la inclusión de no leguminosas. Esto indica que a pesar de la incertidumbre en las estimaciones en el excedente de N, la secuencia soja-

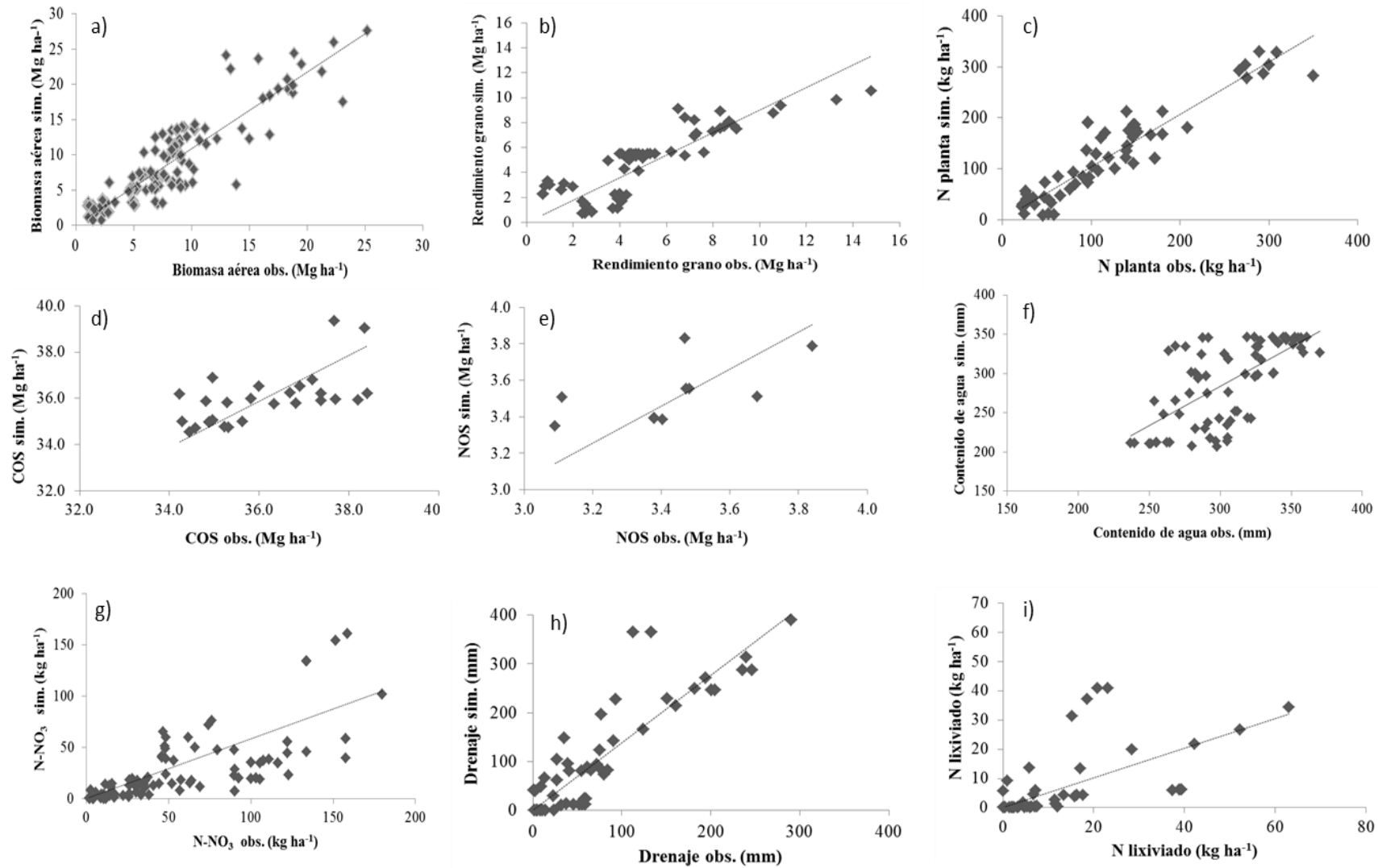
maíz que incluye una leguminosa como CC se caracteriza por un excedente de N mayor que aquellas secuencias con CC no leguminosas. Con respecto al análisis con el 46 y 43 % de fijación de N para soja y vicia, respectivamente, los balances resultaron negativos a neutros generando el interrogante de cómo esta secuencia que incluye una leguminosa como CC con balance negativo puede estar acumulando N en el mediano plazo. Esto indica que el aporte por fijación biológica sería mayor al percentil menor de los valores reportados para la región pampeana.

**Anexo 4.** Rendimiento en grano de los cultivos de cosecha ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) expresado al 14,5% y 13,5% de humedad, para maíz y soja, respectivamente (publicado en Restovich et al. 2012).

<b>Cultivo de cobertura</b>	<b>Maíz 2005<sup>1</sup></b>	<b>Soja 2006</b>	<b>Maíz 2007</b>	<b>Soja 2008</b>	<b>Maíz 2009</b>	<b>Soja 2010</b>
<b>Cebadilla</b>	7,5 abc	5,2 a	3,8 c	2,6 bc	9,1 cd	4,3 a
<b>Avena</b>	7,1 bc	5,1 a	3,8 c	2,6 bc	8,2 cd	4,4 a
<b>Cebada</b>	7,6 abc	4,7 a	3,9 c	2,4 c	7,8 d	4,8 a
<b>Raigrás</b>	6,6 c	5,1 a	4,4 bc	2,5 c	8,7 cd	4,8 a
<b>Avena+Vicia</b>	8,7 a	4,8 a	5,7 abc	1,9 d	12,6 ab	4,6 a
<b>Vicia</b>	8,6 a	5,0 a	5,4 abc	2,4 c	14,0 a	4,4 a
<b>Colza</b>	8,1 ab	4,9 a	4,5 bc	2,6 bc	6,6 d	4,5 a
<b>Nabo forrajero</b>	8,4 ab	5,3 a	6,2 ab	2,9 a	10,6 bc	4,4 a
<b>Control</b>	8,6 a	4,9 a	7,2 a	2,8 ab	10,7 bc	4,7 a
<b>Parcelas fertilizadas</b>	8,4 a	5,0 a	5,4 a	2,5 a	9,9 a	4,7 a
<b>Parcelas no fertilizadas</b>	7,4 b	5,0 a	4,6 b	2,5 a	9,7 a	4,5 a

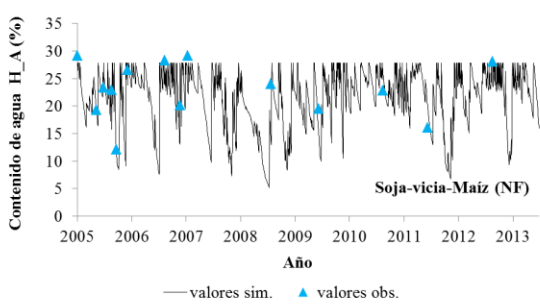
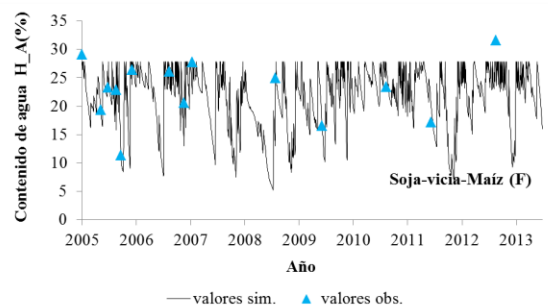
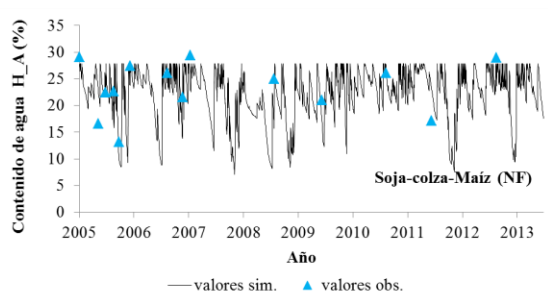
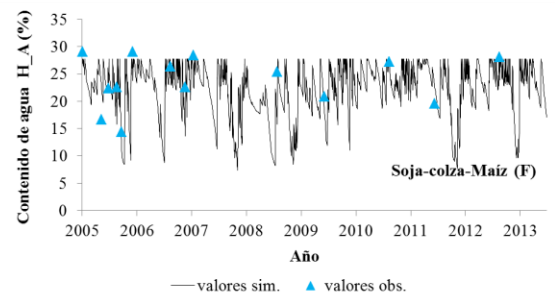
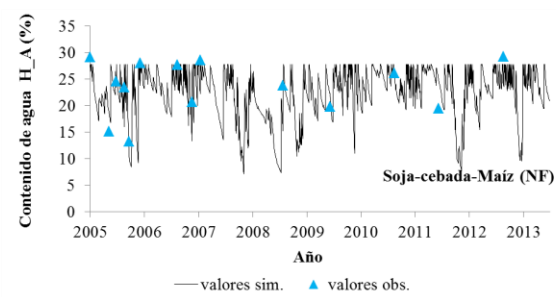
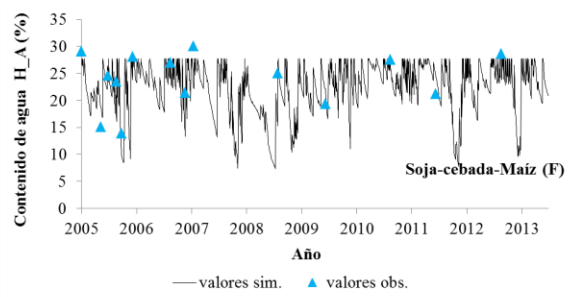
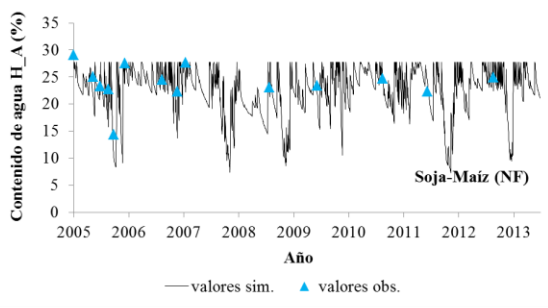
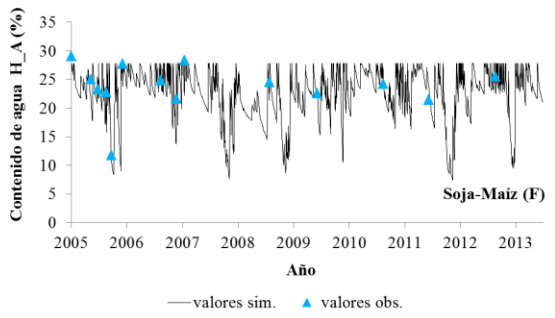
Letras diferentes dentro del mismo año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos con cultivos de cobertura o tratamientos de fertilización.

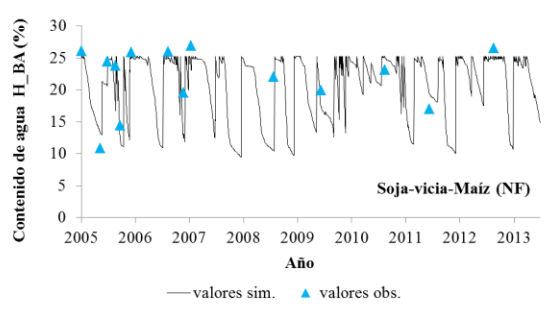
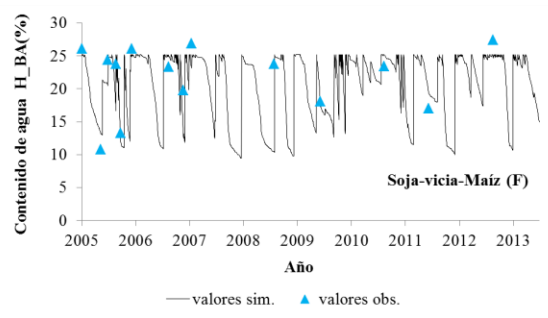
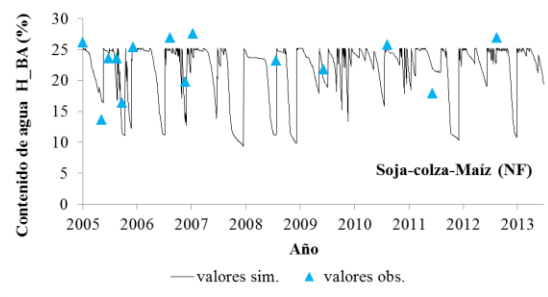
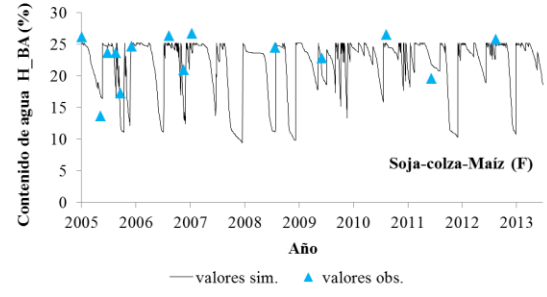
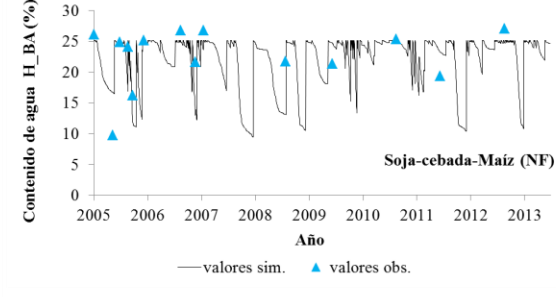
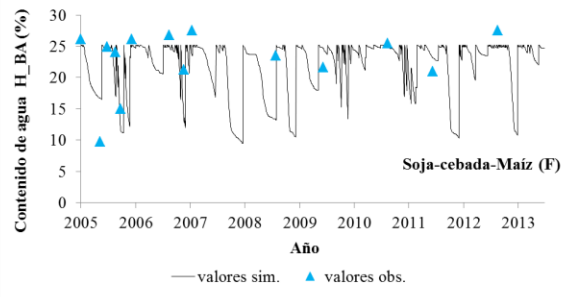
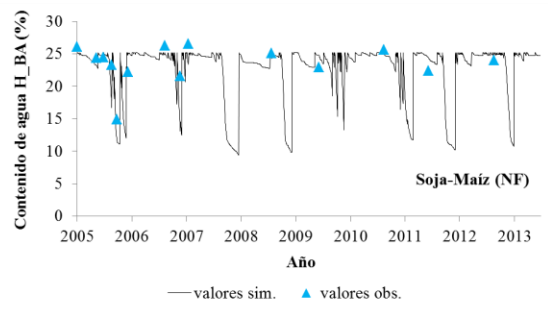
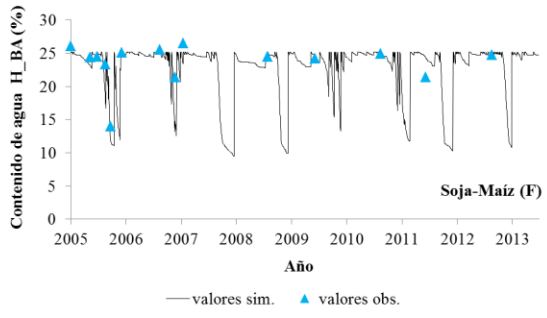
<sup>1</sup> corresponde al año de la siembra

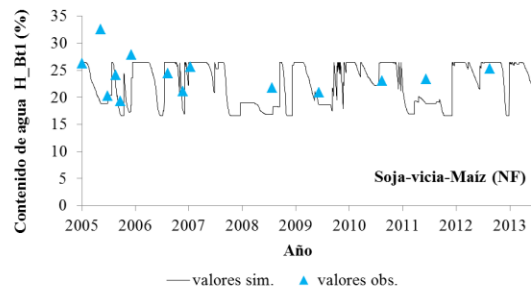
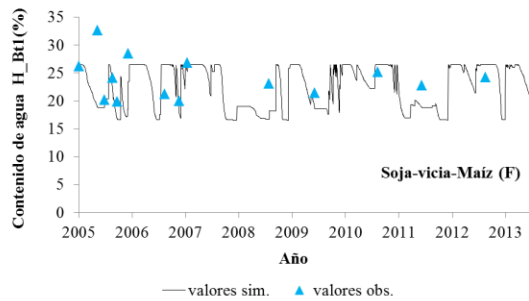
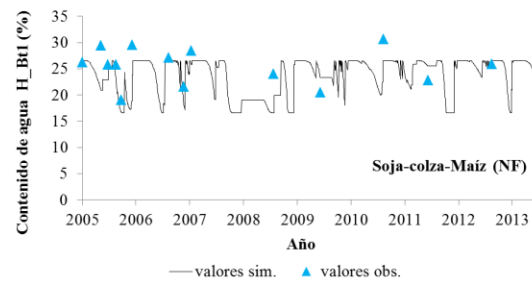
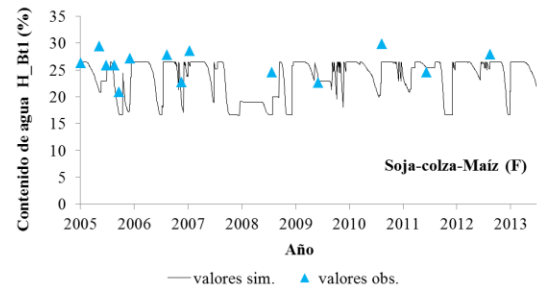
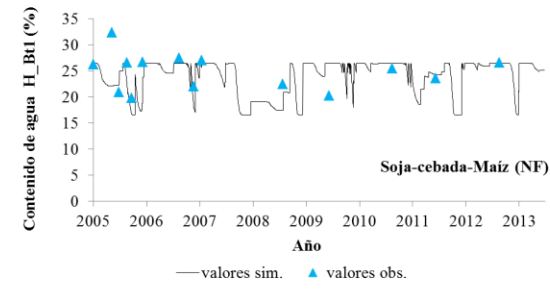
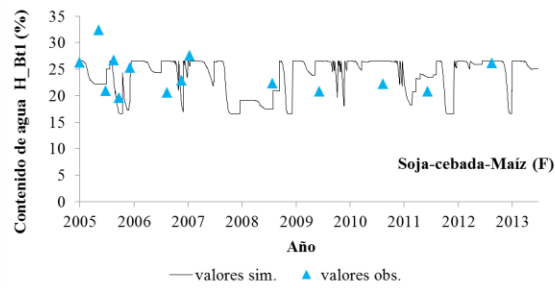
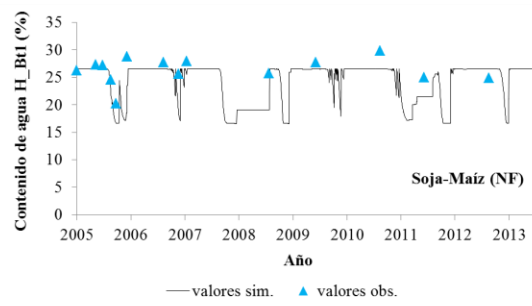
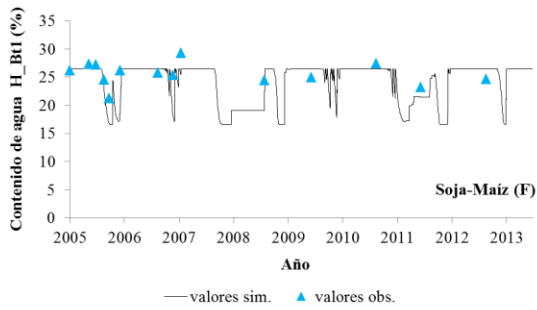


**Anexo 5.** Relación entre valores observados y simulados de variables vegetales (a, b, c), COS y NOS (d, e), contenido de agua y NO<sub>3</sub> (f, g), drenaje y lixiviación (h, i)

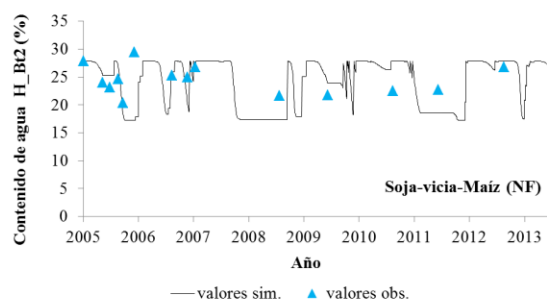
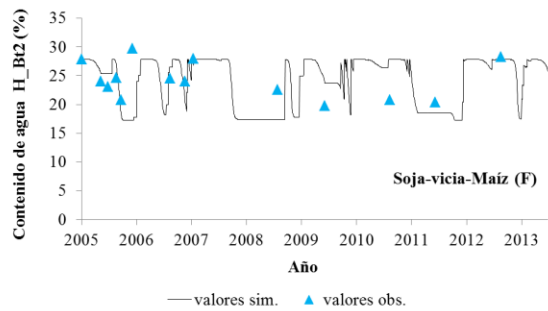
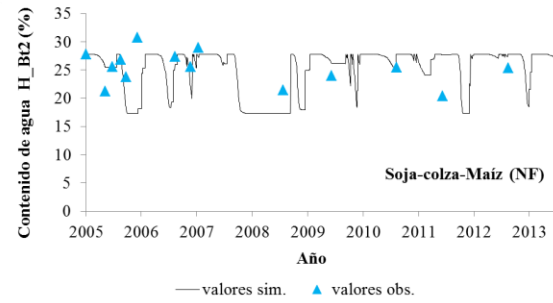
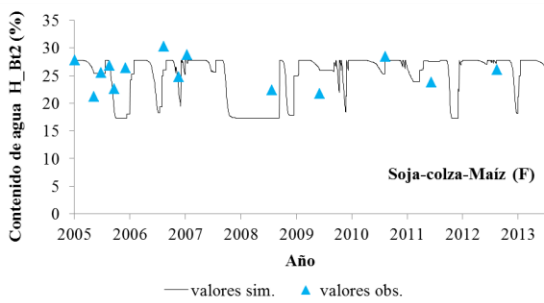
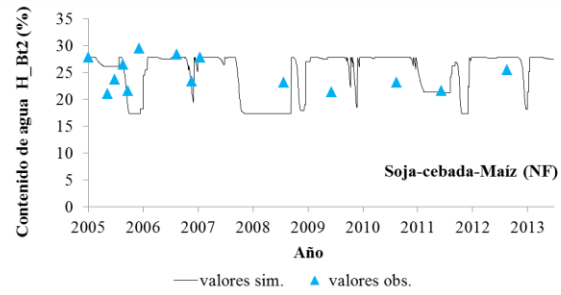
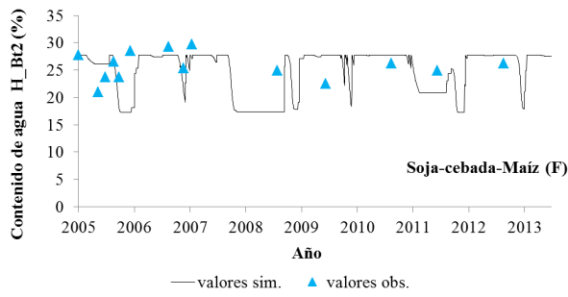
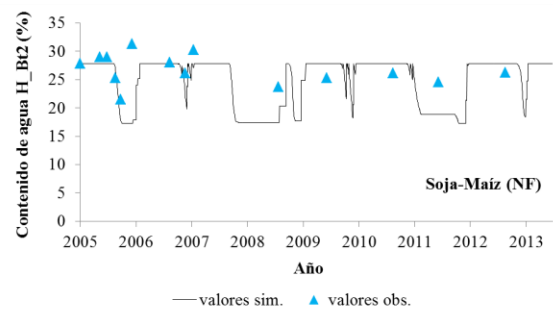
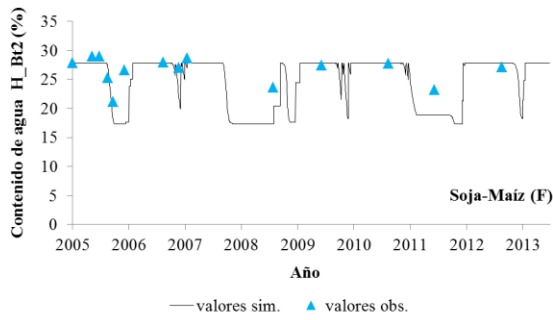
**Anexo 6.** Cambios temporales en la humedad del suelo gravimétrica simulada y observada para los tratamientos evaluados en diferentes horizontes de suelo: A-BA-Bt1-Bt2 y B3,

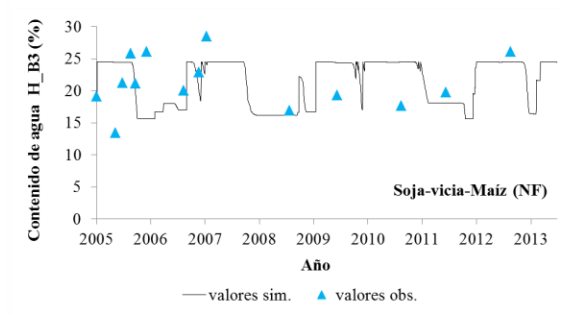
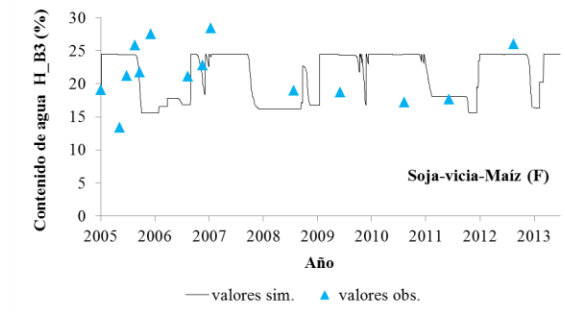
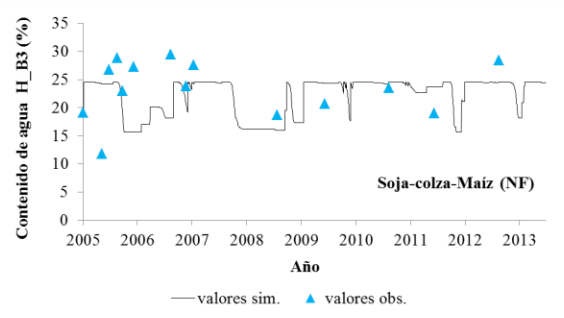
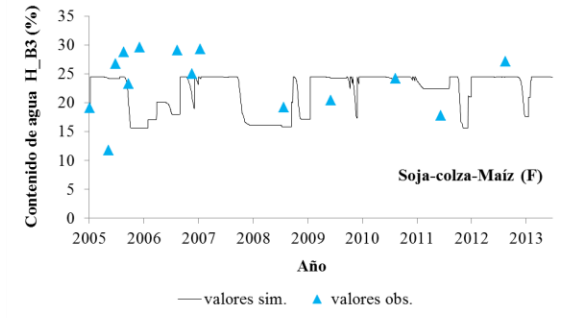
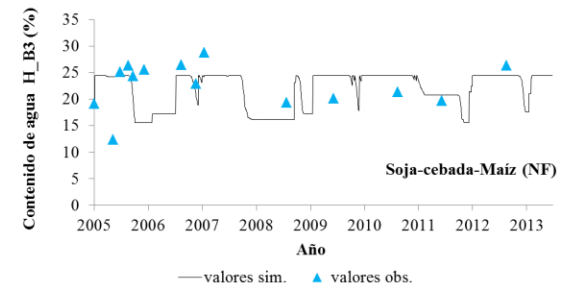
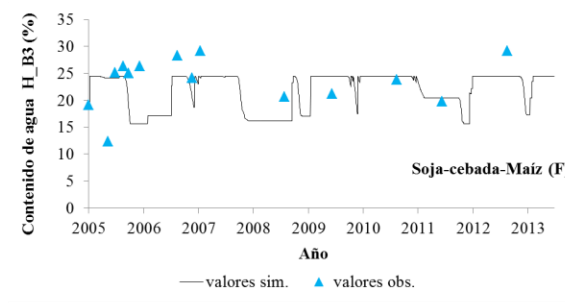
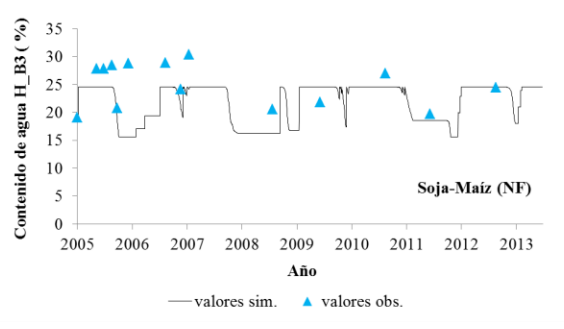
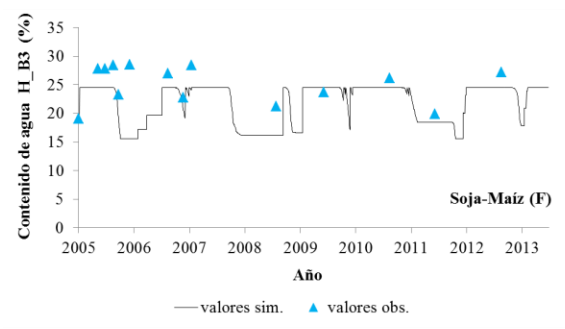












**Anexo 7.** Valor promedio de 30 años del rendimiento en grano de los cultivos de maíz y soja (expresados en base seca) para cada escenario evaluado con el modelo suelo-cultivo STICS

Cultivo	Tratamientos	Escenarios		
		E1	E2	E3
MAIZ	Soja-Maíz F	6,5 ± 2,0	6,5 ± 2,0	7,3 ± 2,5
	Soja-Maíz NF	6,0 ± 1,9	6,0 ± 1,9	6,0 ± 1,9
	Soja-cebada-Maíz F	6,5 ± 2,1	6,5 ± 2,1	7,1 ± 2,5
	Soja-vicia-Maíz F	7,1 ± 2,7	7,0 ± 2,5	7,6 ± 3,1
	Soja-vicia-Maíz NF	6,8 ± 2,5	6,6 ± 2,3	6,8 ± 2,5
SOJA	Soja-Maíz F	3,9 ± 1,3	3,9 ± 1,3	4,2 ± 1,4
	Soja-Maíz NF	3,7 ± 1,2	3,7 ± 1,2	3,7 ± 1,2
	Soja-cebada-Maíz F	3,6 ± 1,1	4,0 ± 1,4	4,1 ± 1,4
	Soja-vicia-Maíz F	4,3 ± 1,7	4,2 ± 1,5	4,2 ± 1,8
	Soja-vicia-Maíz NF	4,3 ± 1,7	4,2 ± 1,5	4,3 ± 1,7

E1: rotación soja-maíz con CC y combinada con y sin fertilización del maíz (32 kg N ha<sup>-1</sup>); E2: misma secuencia que E1 pero luego de 15 años se abandonó el uso de CC; E3: rotación soja-maíz con CC y 96 kg N ha<sup>-1</sup> aplicada al cultivo de maíz. En todos los escenarios se incluyó el control, soja-maíz sin CC, combinado con 32 kg N ha<sup>-1</sup> en los escenarios E1 y E2 y con 96 kg N ha<sup>-1</sup> en el caso de E3 y un control sin fertilización del maíz.