

Cultivos de servicio para mitigar las emisiones de óxido nitroso de los cultivos de soja de la región pampeana

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,

Área Ciencias Agropecuarias

Marcos René Petrasek

Ingeniero agrónomo - Universidad Nacional de Luján - 2016

Lugar de trabajo: Departamento de Tecnología – Universidad Nacional de Luján



FAUBA

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



COMITÉ CONSEJERO

Directora de tesis

Laura Yahdjian

Licenciada en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA, Argentina.
Doctora en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Co-director

Piñeiro Gervasio

Ingeniero Agrónomo. Universidad de la República, Uruguay.
Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Asesora de Tesis

Bonvecchi Virginia E.

Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Luján, Argentina.
Doctora en Ciencias Aplicadas, Universidad Nacional de Luján,
Argentina.

JURADO

Esteban Ciarlo

Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (Argentina)
Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Buenos Aires. (Argentina)

JURADO

Nicolás Daniel Ayub

Licenciado en Ciencias Biológicas (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de
Buenos Aires (Argentina))
Doctor en Química Biológica la Universidad de Buenos Aires (Argentina)

JURADO

Walter Baethgen

Ingeniero Agrónomo. Universidad de la República (Uruguay)
Doctor en Ciencias Ambientales de Cultivo y Suelo Virginia. Polytechnic Institute and State
University. (EEUU)

Fecha de defensa de la tesis: 21 de Junio de 2023

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi esposa y a mi hija, ambas me acompañaron, me contuvieron y fueron mi sostén en todo este proceso.

AGRADECIMIENTOS

A mis consejeros, Laura, Gervasio y Virginia, gracias por guiarme y por tener las palabras justas que necesitaba escuchar ante momentos de incertidumbre y frustraciones. Cada uno de ustedes aportado conocimiento, ideas, experiencia y mucha dedicación para que pueda terminar esta tesis. Gracias al apoyo de ustedes pude disfrutar el doctorado.

A la Universidad Nacional de Luján (UNLu), mi casa de estudios y mi lugar de trabajo. La UNLu es el lugar que me ve crecer como profesional y me provee sus instalaciones para realizar mis experimentos y determinaciones.

A todas las personas que me ayudaron en mis experimentos de campo y posterior laboratorio, Gonzalo, Julio, Edila, Nazareno, Pedro, Laura, Paula, Federico, Virginia, Cristina y Johanna.

A Laura, Virginia, Julieta, Cristina y Johanna, mis compañeras de Edafología de la UNLu, gracias por acompañarme en todos estos años.

A Tomás Della Chiesa y a Pedro Tognetti que me ayudaron y colaboraron con el diseño y análisis de los datos.

A los becarios e investigadores del grupo de Laura y Gervasio.

A Gustavo, Belén, Claudia y Emi, los técnicos del Laboratorio de la UNLu, gracias por agentarme estos años.

A María Agustina, a pesar de la distancia hemos realizado varias reuniones para discutir resultados, figuras y las presentaciones.

A mi papá Carlos y a mi mamá Zulmira, gracias por ser mis padres. A mi hermana y a mis sobrinos.

A Johanna y a Milenka, mi familia, gracias infinitas. Hemos pasado por muchos estados, sobrellevamos un encierro por más de un años, nos casamos y decidimos apostar a que la vida tiene más sentido de a tres. Milenka llegó en un momento especial, me recargó de energía para llegar a la meta.

DECLARACIÓN

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

Marcos R. Petrsek

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Petrasek M.R, Piñeiro G., Bonvecchi V.E., Yahdjian L. 2023. Are service crops an alternative for mitigating N₂O emissions in soybean crops in the Argentinian pampas? *Journal of Environmental Quality*. 52:258–269. DOI: 10.1002/jeq2.20445

ÍNDICE GENERAL

1	CAPÍTULO	24
1.1	Problemática y antecedentes.....	25
1.2	Producción de N ₂ O en el suelo y variables de control	27
1.3	Efecto de la actividad agrícola sobre las emisiones	29
1.4	Objetivos y organización de la tesis	33
1.4.1	Capítulo 2. Emisiones de N ₂ O en rotaciones agrícolas soja/soja con cultivos de servicio	34
1.4.2	Capítulo 3. Manejo de fecha de siembra y terminación de los cultivos de servicio para reducir las emisiones de N ₂ O	35
1.4.3	Capítulo 4. Estimación de las emisiones de N ₂ O mediante un modelo de simulación.....	36
1.4.4	Capítulo 5. Discusión general y conclusiones.....	37
2	CAPÍTULO 2.....	39
2.1	INTRODUCCIÓN	40
2.2	MATERIALES Y MÉTODOS	44
2.2.1	Sitio de estudio.....	44
2.2.2	Diseño del experimento.....	45
2.2.3	Muestreo de gas y suelo	46
2.2.4	Variables respuesta auxiliares	48
2.2.5	Análisis estadístico.....	49
2.3	RESULTADOS	50
2.3.1	Emisiones de N ₂ O	50
2.3.2	Variables ambientales medidas.....	54

2.3.3	Variables de control de las emisiones de N ₂ O	55
2.3.4	Producción de los cultivos de servicio	58
2.4	DISCUSIÓN	59
2.5	CONCLUSIÓN	66
2.6	APÉNDICE	67
3	CAPÍTULO 3.....	68
3.1	INTRODUCCIÓN	69
3.2	MATERIALES Y MÉTODOS	74
3.2.1	Sitio de estudio.....	74
3.2.2	Diseño experimental.....	74
3.2.3	Muestreo de gas y suelo	76
3.2.4	Variables auxiliares.....	77
3.2.5	Análisis estadístico.....	78
3.3	RESULTADOS	80
3.3.1	Siembra y crecimiento de los CS	80
3.3.2	Terminación de los CS	82
3.3.3	Modelos de ecuaciones estructurales	88
3.3.4	Rendimiento del grano de soja.....	91
3.4	DISCUSIÓN	92
3.5	CONCLUSIÓN	97
3.6	APÉNDICE	99
4	CAPÍTULO 4.....	103
4.1	INTRODUCCIÓN	104
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS	108
4.2.1	Características del sitio de estudio	108

4.2.2	Calibración del modelo <i>DayCent</i>	109
4.2.2.1	Estabilización, calibración y evaluación del modelo <i>DayCent</i>	110
4.2.2.2	Simulación de las emisiones de N ₂ O en diferentes escenarios climáticos y de manejo.....	111
4.3	RESULTADOS	112
4.3.1	Calibración	112
4.3.2	Simulación de N ₂ O en diferentes escenarios climáticos	114
4.4	DISCUSIÓN	119
4.5	CONCLUSIÓN	122
5	CAPÍTULO 5.....	124
5.1	INTRODUCCIÓN	125
5.2	Adopción de los cultivos de servicios en la Región Pampeana y su impacto en las emisiones de N ₂ O	128
5.3	Mecanismos de regulación de N ₂ O con ecuaciones de modelos estructurales.....	131
5.4	Evaluación del modelo <i>DayCent</i>	133
5.5	Perspectivas futuras	136
6	BIBIOGRAFÍA.....	138

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2. 1: Información climática para el período del experimento (febrero 2018 - enero 2019) y las medias históricas para San Antonio de Areco, Buenos Aires, Argentina.....	44
Cuadro 2. 2: Características edáficas para cada una de las parcelas experimentales, (muestras de suelo tomadas en febrero 2018). Valores medios (± 1 error estándar) para $n=3$. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$). CO: carbono oxidable; CT: carbono total; DA: densidad aparente.	46
Cuadro 2.3: Valores promedio de variables ambientales y de suelo medidas durante un año experimental (febrero 2018-enero 2019).	54
Cuadro 2.4: Mejor modelo de regresión lineal espacial simple de efectos mixtos seleccionado por Criterio de Índice Akaike (AIC). Pendiente, R^2 marginal (R^2_m), R^2 condicional (R^2_c) y valor p para las emisiones de N_2O	56
Cuadro 2.5: Mejor modelo de regresión lineal temporal simple y múltiple de efectos mixtos seleccionado por Criterio de Índice Akaike (AIC). Pendiente, R^2 marginal (R^2_m), R^2 condicional (R^2_c) y valor p para las emisiones de N_2O	57
Cuadro 2.6: Análisis de biomasa de los CS: materia seca, carbono (C), nitrógeno (N) y relaciones C/N de biomasa aérea y subterránea de los CS. La producción de biomasa aérea se midió en 2018, mientras que la biomasa subterránea y los contenidos de C y N se estimaron con datos de campo obtenidos en la red de cultivos de servicio AAPRESID-FAUBA 2020. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=3$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos para cada variable.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Controles y procesos de emisiones de N₂O del suelo a distintas escalas (temporales y espaciales). Escala temporal de las interacciones entre los procesos involucrados en las emisiones de N₂O (eje Y). Escala espacial de las interacciones entre los procesos involucrados en las emisiones de N₂O del suelo (eje X). Las esferas de diferentes colores indican el nivel de conocimiento del proceso involucrado, desde el color verde que describe procesos muy conocidos hasta el rojo con bajo conocimiento. Las cajas grises indican las metodologías usadas para medir la producción y consumo del gas nitroso. Figura adaptada de Butterbach-Bahl et al., 2013.28

Figura 2.1: Emisiones medias anuales de N₂O (µgN-N₂O.m-2.h-1) para cada tratamiento (febrero 2018-enero 2019). Las barras representan los valores medios de las emisiones de N₂O (± 1 error estándar) para n= 3. No hubo diferencias significativas entre tratamientos (p>0,05).....50

Figura 2.2: Diferencias en las emisiones de N₂O entre cultivos de servicio (avena, vicia y mezclas de avena-vicia) y parcelas de soja/barbecho (ΔN₂O= emisión CS – emisión barbecho). Cero representa ningún efecto de los CS en las emisiones de N₂O, los valores positivos muestran emisiones más altas en parcelas con cultivo de servicio que en soja/barbecho y los valores negativos muestran emisiones más bajas en cultivos de servicio que en soja/barbecho. Los puntos son medias de las emisiones de N₂O (± 1 error estándar) para n= 3. Las flechas en la parte superior de la figura muestran las principales etapas del cultivo de soja (madurez, cosecha y siembra) y de los cultivos de cobertura (siembra y terminación). Los asteriscos muestran diferencias significativas entre tratamientos en ciertas fechas de muestreo (p<0.05).52

Figura 2.3: Variables de respuesta estimadas durante el experimento (febrero 2018-enero 2019). De arriba a abajo, los paneles muestran las emisiones de N₂O, la temperatura del suelo, el espacio poroso lleno de agua (WFPS), y el contenido nitrato y amonio del suelo, medidos en el barbecho

- (línea y cuadrado azul), avena (línea y círculo gris), vicia (línea y triángulo rojo) y avena-ricia (línea y rombo azul). Cada punto representa valores medios (± 1 SE) de los 3 bloques de cada tratamiento. Las flechas en el panel superior muestran las principales etapas del cultivo de soja (madurez, cosecha y soja) y de los cultivos de cobertura (siembra y terminación).53
- Figura 2.4:** Modelo espacial de emisiones de N_2O ($\mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$) en función de (a) el contenido de nitratos del suelo (NO_3^- ; $\mu gN.g^{-1}$); y (b) el contenido de amonio del suelo (NH_4^+ ; $\mu gN.g^{-1}$). Los puntos representan valores medios para cada parcela experimental. Consulte el Cuadro 2.3 para obtener detalles del modelo.....55
- Figura 2.5:** Modelos temporales de emisiones de N_2O ($\log N_2O$, $\mu gN.m^{-2}.h^{-1}$) en función de (a) espacio poroso del suelo lleno de agua (WFPS; %); y (b) contenido de amonio del suelo (NH_4^+ ; $\mu gN.g^{-1}$). Los puntos representan valores para cada tratamiento experimental y fecha. Consulte la Tabla complementaria S2.4 para obtener detalles del modelo.....56
- Figura 2.6:** Regresiones lineales entre las emisiones promedio de N_2O ($\mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$) y (a) relación C/N de la biomasa aérea de los CS; y (b) biomasa subterránea de los CS. Los puntos son valores medios ($\pm 1SE$) para cada CS para $n=3$59
- Figura 3.1:** Variaciones temporales en el logaritmo natural en las tasas de respuesta ($\ln RR$) de las emisiones de N_2O de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla avena y vicia) sembrados (a) Temprano, el 11 de marzo y (b) Tarde, el 1 de abril, período de siembra y crecimiento de los CS. La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las emisiones de N_2O entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los tratamientos son Avena 1ra fecha siembra (A-1fs), Vicia 1ra fecha siembra (V-1fs), Avena/Vicia 1ra fecha siembra (AV-1fs), Avena 2da fecha siembra (A-2fs), Vicia 2da fecha siembra (V-2fs), Avena/Vicia 2da fecha siembra (AV-2fs). Los asteriscos muestran diferencias significativas de cero para cada fecha de muestreo ($p<0,05$)..81
- Figura 3.2:** Variación temporal del efecto de los CS en las variables ambientales estimado como el $\ln RR$ (CS/Barbecho); (a) espacio poroso lleno de agua (WFPS); (b) temperatura del suelo; (c)

nitrate y (d) amonio para los cultivos de servicios (avena, vicia y avena/vicia) sembradas en diferentes fechas (primera y segunda) período de siembra y crecimiento de los CS. La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las variables entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran los efectos significativos de los CS sobre las variables ambientales en cada fecha de muestreo ($p<0.05$).82

Figura 3.3: Emisiones medias de N_2O ($\mu g N_2O-N m^{-2} h^{-1}$) para cada tratamiento en el periodo de terminación de los CS (2 de septiembre 2019-16 de enero 2020). Las barras representan los valores medios para la emisión de N_2O y los bigotes muestran ± 1 error estándar para $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p<0,05$). Los tratamientos son Barbecho, Avena 1ra fecha terminación (A-1ft), Vicia 1ra fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1ra fecha terminación (AV-1ft), Avena 2da fecha terminación (A-2ft), Vicia 2da fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2da fecha terminación (AV-2ft).....83

Figura 3.4: Efecto de los CS sobre las emisiones de N_2O estimado como Relación de respuesta ($LRR=CS/Barbecho$) en los subperíodos: (A) máximo crecimiento de los CS, (B) barbecho de primavera y (C) crecimiento de soja. Las líneas punteadas verticales muestran el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las emisiones entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son medias \pm intervalos de confianza para $n=6$. Los asteriscos muestran un efecto significativo de los CS sobre las emisiones de óxido nitroso durante el período correspondiente ($p<0,05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).....84

Figura 3.5: Variación temporal del efecto de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla de avena y vicia) en las emisiones de N_2O , estimado como el logaritmo natural de la tasa de respuesta ($LRR (CS/Barbecho)$) en dos fechas de terminación (a) primera (3 de septiembre) y (b) segunda (15 de octubre). La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no

hay diferencias en las emisiones entre las parcelas con los CS y el barbecho. Las flechas completas representan la fecha de finalización de los cultivos de servicio y las flechas discontinuas la fecha de siembra de la soja. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran diferencias significativas de cero en cada fecha de muestreo ($p<0.05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).....86

Figura 3.6: Variación temporal de los efectos de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla de avena y vicia) en las variables de control estimados como el logaritmo natural de la tasa de respuesta ($LRR=CS/Barbecho$) en las fechas de terminación primera (3 de septiembre; paneles de la izquierda) y segunda (15 de octubre; paneles de la derecha). En los paneles *a, b, c y d* están expresadas las variables LRR WFPS, LRR temperatura de suelo, LRR nitrato y LRR amonio para la fecha de terminación primera. En los paneles *e, f, g y h* se expresan las mismas variables, pero para la segunda fecha de terminación. Las líneas punteadas horizontales muestran el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las variables entre las parcelas con los CS y el barbecho. Las flechas completas representan la fecha de finalización de los cultivos de servicio y las flechas discontinuas representan la fecha de siembra de la soja. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran efectos significativos en cada fecha de muestreo ($p<0.05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).....88

Figura 3.7: Modelo de ecuaciones estructurales (SEM) para el período de siembra y crecimiento de los CS. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N_2O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Soil Temp.], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o

negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (Rm) y términos fijos más aleatorios del modelo (Rc), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.....89

Figura 3.8: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el subperíodo de máximo crecimiento de los CS. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N_2O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Soil Temp.], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (Rm) y términos fijos más aleatorios del modelo (Rc), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.....91

Figure 3.9: Rendimiento de soja (kg/ha) cosechada en marzo de 2020 para los tratamientos con cultivo de servicio y barbecho. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Los tratamientos son Barbecho, Avena 1^{ra} fecha terminación (O-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (OV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (O-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (OV-2ft).....92

Figura 4.1: Correlación entre los valores de óxido nitroso ($\mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$) observados a campo y los simulados con el modelo DayCent calibrado. Los paneles corresponden a los tratamientos a) barbecho, b) avena, c) vicia y d) avena/vicia. Cada punto de los datos observados corresponde a la media entre los tres bloques para cada fecha de muestreo. La línea punteada es la correlación entre observados y simulados; la línea negra es la relación 1:1.....114

- Figura 4.2:** Valores medios de óxido nitroso ($\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) observados (barras llenas) y simulados (barras sombreadas) para cada tratamiento durante el período Febrero 2018-Enero 2019. Los valores son medias (± 1 error estándar).....115
- Figura 4.3:** Simulación de emisiones de N_2O en diferentes escenarios climáticos manteniendo la fecha de siembra y terminación del experimento. Los valores son medias (± 1 error estándar) Los escenarios son Seco PPpv [573 mm]; Seco PPoi [763 mm]; Húmedo PPpv [1471 mm] y Húmedo PPoi [1454 mm]. Precipitaciones estacionadas en primavera-verano (PPpv) y precipitaciones estacionadas en otoño-invierno (PPoi).....116
- Figura 4.4:** Diferencia en las emisiones de N_2O entre estación de crecimiento de ciclo largo y ciclo corto ($\Delta \text{CS ciclo largo} - \text{CS ciclo corto}$) para los tratamientos con avena, vicia y avena/vicia en los diferentes escenarios climáticos (Seco PPpv [573 mm]; Seco PPoi [763 mm]; Húmedo PPpv [1471 mm]; Húmedo PPoi [1454 mm]). Precipitaciones estacionadas en primavera-verano (PPpv) y precipitaciones estacionadas en otoño-invierno (PPoi).....117
- Figura 4.5:** Emisiones diarias estimadas de N_2O para cada uno de los tratamientos con y sin CS en cada uno de los escenarios simulados durante un año: a) año seco con precipitaciones en primavera-verano, b) año seco con precipitaciones en otoño-invierno, c) año húmedo con precipitaciones en primavera-verano, d) año húmedo con precipitaciones en otoño-invierno. La línea punteada representa la precipitación acumulada mensual.....119
- Figura 5.1:** Emisiones medias anuales de N_2O ($\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) para el barbecho, la avena, vicia y avena/vicia sembrada en marzo y terminada en septiembre. Las barras son valores medios de emisión de $\text{N}_2\text{O} \pm 1$ error estándar de la media, $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p<0,05$).131
- Figura 5.2:** Valores medios de óxido nitroso ($\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) observados (barras llenas) y simulados (barras sombreadas) para cada tratamiento durante el período Febrero 2018-Enero 2019. Los valores observados tiene un $n=14$ (muestreos) y los simulados tienen un $n=365$ (simulación diarias).....135

Figura Ap-2.1: Rendimiento de soja (kg/ha) en abril 2018 para todos los tratamientos (Barbecho sin cultivo de servicio y los tres tratamientos con cultivo de servicio). Los valores son medias (\pm 1 error estándar) para $n=3$. Los rendimientos no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$)...61

Figura Ap-2.2: Precipitación diaria (mm) y temperatura media ($^{\circ}\text{C}$) para cada fecha de muestreo durante el período experimental (febrero 2018 - enero 2019).61

Figura Ap-3.1: Modelo conceptual teórico para analizar en los modelos de ecuaciones estructurales. Los cultivos de servicio muestran el efecto del tratamiento sobre las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones entre variables. El cuadro que reúne a las variables ambientales representa el efecto entre ellas. Este modelo fue utilizado durante el período de crecimiento de los CS y los subperíodos de la terminación de los CS. El símbolo “f” que acompaña a los tratamientos representa “fecha”.100

Figure Ap-3.2: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el período de terminación de los CS, subperíodo barbecho de primavera. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N_2O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: *** $p<0,001$; ** $p<0,01$; * $p<0,05$. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (R_m) y términos fijos más aleatorios del modelo (R_c), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.101

Figure Ap-3.3: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el período de terminación de los CS, subperíodo crecimiento soja. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N_2O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas

(líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (R_m) y términos fijos más aleatorios del modelo (R_c), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro102

Figura Ap-3.4: Biomasa aérea (kg/ha) para los tratamiento con cultivo de servicio previo a su terminación. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (OV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft), terminación tardía de avena (A-2ft), terminación tardía de vicia (V-2ft), Terminación tardía de Avena/Vicia (OV-2ft).103

Figura Ap-3.5: Precipitación diaria (mm) y temperatura media ($^{\circ}\text{C}$) para el período experimental (marzo 2019 - enero 2020). Los círculos que aparecen sobre la línea de temperatura indican las fechas de muestreo.....103

ABREVIATURAS

C: Carbono

CO₂: Dióxido de carbono

CS: Cultivos de servicios

GEI: Gases de efecto invernadero

IPCC: Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático

N: Nitrógeno

N₂: Nitrógeno molecular

N₂O: Óxido nitroso

NH₄⁺: Amonio

NO: Óxido nítrico

NO₃⁻: Nitrato

RMSE: root mean square error – raíz del error cuadrático medio

SEM: structural equation models – Modelos de ecuaciones estructuradas

WFPS: water filled pore space – porcentaje de poros llenos de agua

RESUMEN

El óxido nitroso (N_2O) es un potente gas de efecto invernadero y principal destructor de la capa de ozono cuya concentración atmosférica está aumentando producto de las actividades humanas. La agricultura es uno de los sectores que más aporta a este aumento de concentración de N_2O en la atmósfera. Los cultivos de servicio (CS) que se siembran entre cultivos comerciales durante el período de barbecho con el fin de recuperar y sostener la provisión de los servicios ecosistémicos, pueden ser una herramienta para mitigar las emisiones de N_2O . El objetivo de esta tesis es evaluar qué tipo de cultivos de servicio establecidos en lotes de producción de soja (*Glycine max L. Merr.*) reducen de las emisiones de N_2O y bajo qué manejo se consigue el mejor resultado. Se realizaron dos experimentos a campo y una simulación usando el modelo *DayCent* con el fin de estimar emisiones anuales de N_2O , de estudiar la dinámica temporal y de conocer los mecanismos responsables del cambio. Se utilizaron parcelas con monocultivos de soja que incluían distintos CS durante el invierno, avena (*Avena sativa L.*), vicia (*Vicia villosa Roth.*) y una mezcla avena-vicia y se probaron distintas fechas de siembra y terminación de los CS. Los CS no siempre reducen las emisiones ya que la emisión media de N_2O del cultivo de soja fue $38,91 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ y cuando se incluye avena, vicia o avena/vicia como CS, los valores fueron de 31,14; 45,38 y 26,91 $\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ respectivamente. Los CS emiten menos N_2O cuando se siembran antes de la cosecha de soja y durante el ciclo, las menores emisiones desde parcelas con CS fueron previas a su terminación. Los CS con una relación C/N baja en los residuos, como la vicia, incrementan las emisiones de N_2O posteriores a su terminación. El modelo *DayCent* sugiere que la avena sembrada temprano y terminada tarde es la mejor alternativa para disminuir las emisiones de N_2O independientemente del

escenario climático. Los resultados de esta tesis ponen en valor la capacidad de los CS para reducir las emisiones de N₂O y contribuyen con información de manejo cuando se incorpora un CS en rotaciones agrícolas con soja.

Palabras claves: Gases de efecto invernadero; cambio climático; cultivos de cobertura; DayCent; manejo agrícola, ciclo del nitrógeno.

ABSTRACT

Nitrous oxide (N₂O) is a powerful greenhouse gas and main depletes of the ozone layer, whose atmospheric concentration is increasing as a result of human activities. Agriculture is one of the sectors that contribute the most to this increase in concentration of N₂O in the atmosphere. Service crops (SC) that are planted between commercial crops during the fallow period in order to recover and sustain the provision of ecosystem services, can be a tool to mitigate N₂O emissions. The objective of this thesis is to evaluate what type of service crops established in soybean production lots (*Glycine max L. Merr.*) reduces N₂O emissions and under which management the best results are achieved. I carried out two field experiments and a simulation using the *DayCent* model in order to estimate annual N₂O emissions, to study the temporal dynamics and to understand the mechanisms responsible for the change. I used plots with soybean monocultures that included different SC during the winter, oats (*Avena sativa L.*), vetch (*Vicia villosa Roth.*) and an oat/vetch mixture and tried different seeding and termination dates of the SC. I found that SC does not always reduce emissions since the mean annual N₂O emission from soybean cultivation was 38.91 $\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ and when oats, vetch or oats/vetch are included as SC, the values were 31.14; 45.38 and 26.91 $\mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ respectively. The SC produced less N₂O when seeding before the soybean harvest and during the cycle, the lowest emissions from plots with SC were before to termination. The SC with a low C/N ratio in residues, such as vetch, increases N₂O emissions after termination. The *DayCent* model suggests that oats seeding early and termination late is the best alternative to reduce N₂O emissions regardless of the climate scenario. The results of this thesis value the capacity of SC to

reduce N₂O emissions and contribute with management information when a SC is incorporated in agricultural rotations with soybeans.

Keywords: Greenhouse gases; climate change; cover crops; DayCent; agricultural management; cycle of nitrogen.

1 CAPÍTULO 1

Introducción General

1.1 Problemática y antecedentes

El incremento de la concentración de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera está ocasionando un aumento en la temperatura media global (Duce et al., 2013; Ravishankara et al., 2009). Entre los principales GEI que son el dióxido de carbono (CO_2), el metano (CH_4) y el óxido nitroso (N_2O), éste último es muy importante porque su concentración aumentó $0,73.\text{ppb año}^{-1}$ en las últimas tres décadas (Ciais et al., 2013), y además tiene una gran capacidad de destruir la capa de ozono en la estratósfera (IPCC, 2014). Si bien, la concentración del N_2O en la atmósfera es menor que la del CO_2 , tiene un potencial de calentamiento global (GWP, por sus siglas en inglés) superior. El GWP del N_2O es de 265 a 298 veces mayor que el del CO_2 y su tiempo de residencia es de aproximadamente 100 años. En consecuencia, produce un mayor efecto invernadero que el CO_2 (Forster et al., 2007).

En el año 1990, el Panel Intergubernamental del Cambio Climático (Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC) comunicó los primeros valores de emisión de N_2O e informó que el suelo contribuye con el 70% de las emisiones de N_2O generadas tanto en suelos con vegetación natural como en suelos antropizados (Butterbach-Bahl et al., 2013). Para ese año, los valores de emisiones globales de N_2O eran en promedio entre $0,01\text{-}2,2 \text{ Tg N-N}_2\text{O.año}^{-1}$, pero ascendieron a $1,7\text{-}4,8 \text{ Tg N-N}_2\text{O.año}^{-1}$ en el año 2011 (Smith, 2017). Esta situación refleja el incremento sostenido de las emisiones provenientes del manejo antrópico del suelo, lo que actualmente representa el 60% de las emisiones de N_2O a la atmósfera (Ciais et al., 2013). Los sistemas de producción de Argentina contribuyeron a este incremento mediante la expansión de la frontera agrícola, la implementación de cultivos fijadores de nitrógeno, la aceleración del proceso de mineralización de la materia

orgánica y la utilización de fertilizantes sintéticos a base de nitrógeno (Bouwman et al., 2013; Piquer-Rodriguez., 2018). Los principales cambios provienen más precisamente desde la Región Pampeana, una de las principales regiones de nuestro país con potencialidad para emitir N_2O . Como resultado, surge la necesidad de implementar estrategias de manejo que logren reducir las emisiones de N_2O provenientes de suelos agrícolas.

Si bien en Argentina se han realizado mediciones a campo de las emisiones de N_2O a escala nacional y regional (Araujo et al., 2020; Della Chiesa et al., 2019; Lewczuk et al., 2017; Cosentino et al., 2012; Piñeiro-Guerra et al., 2019), es poca la información reunida para entender cómo cambios en las prácticas de manejo agrícola podrían afectar los flujos de emisión de este gas y sus controles. Existe una gran variabilidad temporal y espacial en los flujos de emisión de N_2O , que generan una gran variación en su estimación (figura 1.1). La variación espacial en las emisiones de N_2O está ocasionada por características propias del suelo como la textura, la porosidad, el material original, el pH, y los componentes de nitrógeno inorgánico, entre otros, así como la cobertura vegetal del suelo (Ambus et al., 1994; Araujo et al., 2020). Mientras que la variabilidad temporal ha sido relacionada principalmente con las precipitaciones, la temperatura median anual y los ciclos biológicos de los cultivos y su manejo (Lognoul et al., 2017; Miller et al., 2022; Molodovskaya et al., 2012; Pelster et al., 2021). Como resultado, las emisiones de N_2O del suelo pueden mostrar picos de emisión muy altos que se caracterizan como "puntos calientes" y "momentos calientes", producto de una enorme variabilidad espacio-temporal (Butterbach-Bahl et al., 2013). Si bien, sabemos que los factores distales como la fisiología de los cultivos y el manejo agronómico son importantes, los factores proximales como el contenido de agua del

suelo y el contenido de NO_3 modifican la dinámica temporal de las emisiones (Basche et al., 2014). Aunque poco se sabe sobre el efecto que genera la intensificación agrícola (aumento de la eficiencia en el uso de los recursos disponibles del sistema productivo) sobre las emisiones de N_2O .

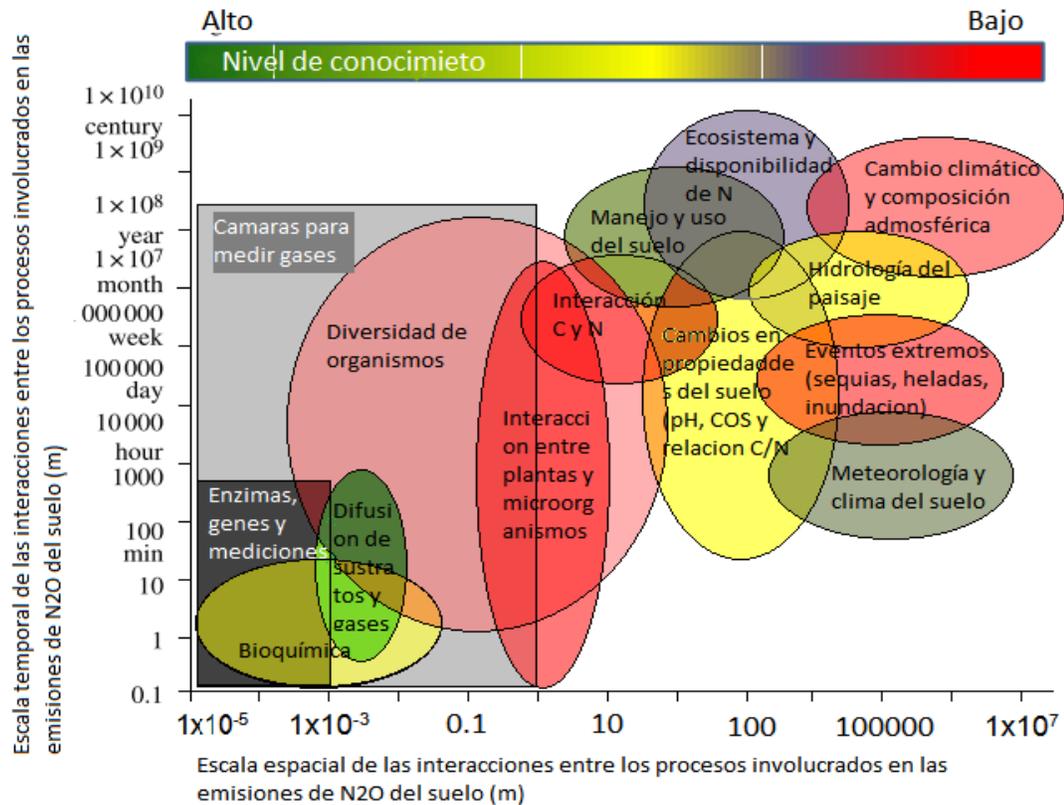


Figura 1.1: Controles y procesos de emisiones de N_2O del suelo a distintas escalas (temporales y espaciales). Escala temporal de las interacciones entre los procesos involucrados en las emisiones de N_2O (eje Y). Escala espacial de las interacciones entre los procesos involucrados en las emisiones de N_2O del suelo (eje X). Las esferas de diferentes colores indican el nivel de conocimiento involucrado, desde el color verde que describe controles muy conocidos hasta el rojo con bajo conocimiento. Las cajas grises indican las metodologías usadas para medir la producción y consumo del gas nitroso. Figura adaptada de Butterbach-Bahl et al., 2013.

1.2 Producción de N_2O en el suelo y variables de control

En el suelo, el N_2O es producido principalmente por bacterias y en menor medida por hongos y arqueas. Durante el ciclo del N del suelo, las bacterias oxidan y reducen al

nitrógeno orgánico formando diferentes moléculas con distintos estados de oxidación. Durante este ciclo, el N_2O puede formarse como producto principal y en otros casos es liberado como producto secundario. Dentro de los principales procesos que generan N_2O se encuentran la nitrificación, la desnitrificación y la nitrato-amonificación (Baggs & Phillipot, 2010). La nitrificación es realizada por bacterias quimioautótroficas de la familia *Nitrobacteriaceae*. Estas bacterias realizan dos procesos de oxidación biológica: por un lado, oxidan el amoníaco (NH_3) para convertirlo en nitrito (NO_2^-) y la posterior oxidación a nitratos (NO_3^-). Durante estos procesos, los microorganismos usan al oxígeno como aceptor de electrones y al nitrógeno como fuente de energía (Ussiri & Lal., 2013). En este procesos que involucran la nitrificación hay una liberación de N_2O como producto secundario, proceso que se ve favorecido con temperaturas entre 25 y 35°C (Robertson y Groffman, 2015). En este sentido, la nitrificación es controlada principalmente por la presión parcial de oxígeno, la temperatura, la humedad, la disponibilidad de NH_4^+ y la relación C/N de la materia orgánica del suelo (Dalal et al., 2003). Por el contrario, la desnitrificación se realiza en condiciones de anaerobiosis, donde el N_2O es un producto primario, que en determinadas ocasiones se transforma en N_2 y en otros se libera directamente a la atmósfera. Por este motivo, la desnitrificación es el proceso principal de pérdida de N del suelo, llegando a valores del 25% del N ingresado como fertilizante (Mogge et al., 1999). Los hongos del filo *Actinomycetes* y las bacterias del filo, *Firmicutes*, *Bacteroides* y *Proteobacteria* son las responsables de reducir el NO_3^- a nitrógeno molecular (N_2) pasando por el óxido nítrico (NO) y el N_2O (Morley et al., 2008). Principalmente, las *Proteobacterias* son las bacterias responsables de la denitrificación en los suelos, especialmente el género *Pseudomonas*. En suelos con texturas limosas, estas bacterias (anaerobias facultativas) limitan su actividad cuando el suelo contiene menos del 60% del

espacio de poros llenos de agua (WFPS). Durante la desnitrificación, las bacterias utilizan al carbono como fuente de energía y como donador del electrón que necesita el nitrato para reducirse. Las condiciones edáficas óptimas para la desnitrificación son: temperaturas entre 4 y 60°C, elevados contenido de agua en suelo (>al 60% de WFPS y <80-90%), baja presión de oxígeno, altas concentraciones de NO_3^- y una fuente carbonada soluble (Coyne, 2015). En suelos agrícolas, hasta un 90 % de nitrógeno se puede perder por emisiones de N_2O , principalmente por los procesos de nitrificación y desnitrificación (Smith, 2017). Por último y en menor medida, la nitrato-amonificación, el pasaje de NO_3^- a NH_4^+ mediante bacterias fermentativas, libera N_2O como intermediario (Baggs, 2011). Este proceso se incrementa cuando el porcentaje de poros llenos de agua del suelo (WFPS por su sigla en inglés) es entre 30 y 70% y cuando hay excesos de NO_3^- o de carbono lábil, dado que los nitratos actúan como aceptor de electrones (Mekala y Nambi, 2017). Por lo tanto, cuando el contenido de agua del suelo es elevado, ocurren en simultaneo los procesos de desnitrificación y nitrato-amonificación, generando una competencia por los NO_3^- en el suelo. La variación de nitrógeno, carbono y humedad son claves para entender los picos en las emisiones de N_2O .

1.3 Efecto de la actividad agrícola sobre las emisiones

El manejo de los suelos agrícolas y el tipo de cultivo sembrado impactan directamente sobre los factores de suelo que controlan las emisiones de N_2O . Los cultivos anuales provocan una variación espacial y temporal de las emisiones de N_2O producto de un cambio en las variables de control (principalmente nitrógeno, agua y temperatura de suelo) debido al manejo y demanda del cultivo. Esta variación provoca una estacionalidad anual que genera patrones temporales que determinan momentos con elevadas emisiones de N_2O

(Loick et al., 2017). Además, los cultivos anuales modifican la disponibilidad de C y N en el suelo durante su ciclo, así como también la temperatura y la disponibilidad de agua. En los estadios tempranos del ciclo de los cultivos de granos (maíz, soja, trigo, etc...), se genera una fuerte demanda por nutrientes del suelo que son movilizados tanto para formar estructura vegetativa y reproductivas. Los restos vegetales que no se exportan por cosecha, vuelven al suelo donde se descomponen y mineralizan, aumentando en primera instancia los niveles de N mineral y posteriormente el pool de C lábil. La relación C/N de los residuos modifica las tasas de descomposición y la incorporación de nutrientes al suelo. Las leguminosas, con menor relación C/N en los residuos vegetales que quedan en el suelo después de la cosecha, liberan el N mineral más rápido que las gramíneas y otras plantas no fijadoras de nitrógeno (Gómez-Muñoz et al., 2014).

La tasa de descomposición de los residuos de los cultivos es variable y depende principalmente de su calidad (Zhang et al., 2008). Durante la primera fase de descomposición de los residuos de los cultivos, la tasa de mineralización es elevada y los microorganismos aprovechan como fuente de energía a las formas de carbono más solubles (azúcares y almidón) y la elevada concentración de compuestos nitrogenados disponibles para su síntesis (Douglas et al., 1992). En un análisis que incluyó un rango amplio de calidad de tejidos vegetales, se observó que entre el 39 y el 63% del C de tallos y hojas se mineralizaron en los primeros 120 días posteriores a la cosecha y que parte del N mineral aportado fue inmovilizado por bacterias (Redin et al., 2014). Es probable que con alta disponibilidad de N mineral en el suelo, se promuevan las emisiones de N₂O, debido a incrementos en el sustrato de microorganismos desnitrificadores. Sin embargo, cuando la disponibilidad de C y N mineral en el suelo es alta (NO₃⁻ > 50 ppm y carbono orgánico

disuelto cercano a los 300ppm), la desnitrificación es completa, finalizando el ciclo en N_2 , y reduciendo la emisión de N_2O (Wang et al., 2011). Por el contrario, una fuente de energía para las bacterias insuficiente provoca la finalización del proceso de desnitrificación en N_2O (Loick et al., 2017). Por lo tanto, durante la senescencia de los cultivos y en los períodos posteriores a la cosecha, es probable que se produzcan momentos de altas emisiones de N_2O . Por eso, incluir cultivos de servicios, es decir cultivos que no se cosechan y que tienen el propósito de restaurar algún servicio ecosistémico, para que tomen el N mineral en los momentos en que aumenta su concentración en el suelo puede resultar clave para disminuir las emisiones de N_2O .

La dinámica temporal de las emisiones de N_2O en cultivos de soja es variable durante el ciclo del cultivo y el barbecho (Araujo et al., 2020; Della Chiesa et al., 2019). Durante la etapa de fijación biológica de N, los flujos suelen ser bajos debido a la demanda de N y agua por parte del cultivo de soja, mientras que en el período de senescencia de los nódulos y posterior a la cosecha, los flujos de N_2O son altos (Della Chiesa et al., 2019; Uchida y Akiyama, 2013). En este último período, el aporte de rastrojo con baja relación C/N y la liberación de N mineral durante la descomposición de los nódulos y residuos posterior a la cosecha favorecen las emisiones de N_2O (Rochette & Janzen, 2005). En la región pampeana, el contenido de N en los rastrojos de soja luego de la cosecha es cercano a los $14,10 \text{ gN.m}^{-2}$ (Vachon, 2008), lo que representa un valor potencial de emisión desde el suelo de $7,05 \text{ } \mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{día}^{-1}$ (IPCC, 2013). Por lo tanto, la incorporación de un cultivo de servicio que permita absorber N y sincronizar la oferta de N inorgánico del suelo con la demanda del cultivo de servicio, permitiría aumentar la eficiencia del sistema y al mismo tiempo reducir las emisiones de N_2O y las pérdidas N inorgánico en general.

En los últimos años, la incorporación de cultivos con objetivos distintos a los de cosecha ha comenzado a ser una práctica de manejo alternativa en los cultivos extensivos de la Región Pampeana. Los cultivos de servicios, que incluyen a los cultivos de cobertura, los cultivos trampa, cultivos descompactadores, etc., no se cosechan, sino que se incluyen en una rotación agrícola con la finalidad de restaurar determinados servicios ecosistémicos que han sido deteriorados como consecuencia de la actividad antrópica (Pinto et al., 2017). Estos cultivos permiten atenuar el impacto de la erosión eólica, acumular agua en el suelo, suprimir el crecimiento de malezas, incrementar el carbono orgánico del suelo y la captura de nutrientes móviles (Blanco-Canqui et al., 2013; Gonzalez, 2016; Kaye y Quemada, 2017; Poeplau y Don, 2015; Varela et al., 2014; Ward et al., 2012). Por otro lado, existen resultados que muestran un efecto de los CS sobre la descomposición de los residuos de cultivos estivales, un incremento de la mineralización de los residuos del cultivo estival y una reducción de la lixiviación de N (Peyrard et al., 2016; Strock et al., 2004). La menor lixiviación de N mineral se debe a la reducción del drenaje del agua del suelo cuando se utilizan CS (Strock et al., 2004). Si bien existen trabajos que muestran una reducción las emisiones de N_2O en un 38% usando CS (Irisarri et al., 2012; Nadeem et al., 2012), aún no existe suficiente información para sustentar la incorporación de esta práctica como estrategia de mitigación en la Región Pampeana. La incertidumbre radica en las variables climáticas, de suelo, las fuentes y los factores de manejo que podrían modificar los flujos de emisión de N_2O bajo prácticas que incorporen los CS (diferentes especies, momentos de siembra y momento de terminación).

Dada la gran superficie cubierta con cultivo de soja en la zona agrícola de Argentina y los antecedentes sobre los cultivos de servicio para mitigar los problemas ambientales que

ocasiona la agricultura convencional, sería muy útil evaluar el uso de estos cultivos en las rotaciones soja-soja para reducir las emisiones de este potente gas de efecto invernadero a nivel nacional.

1.4 Objetivos y organización de la tesis

El **objetivo general** de esta tesis es estudiar el efecto de los cultivos de servicio establecidos en lotes de producción de soja (*Glycine max* L. Merr.) sobre las emisiones de N₂O para evaluar qué tipo de cultivos, y bajo qué manejo, reducen las emisiones de este gas de efecto invernadero. Para esto resulta clave comparar las emisiones de N₂O en lotes agrícolas con rotaciones soja/soja y distintos cultivos de servicios (gramíneas y leguminosas) que difieren en la relación C/N de sus tejidos. Así también, se evaluará el efecto de distintas fechas de siembras y de terminación de los cultivos de servicio sobre las emisiones de N₂O y los factores que las controlan. Con estos resultados se lograría aportar evidencias que ayudan a entender estrategias relacionadas al uso de los CS en lotes con soja generan menos flujos de este potente gas. Como los costos y la logística impiden realizar muestreos con mucha frecuencia o por periodos extensos, también se propone calibrar y evaluar un modelo de simulación de las emisiones de paso diario, el modelo *DayCent*, para estimar la dinámica temporal de las emisiones de N₂O bajo rotaciones agrícolas soja/soja con cultivos de servicios en la región pampeana. El modelo calibrado permite, además, realizar estimaciones anuales y compararlas en distintos escenarios climáticos. A continuación se presentan los objetivos e hipótesis de los capítulos de resultados (Capítulos 2, 3 y 4) y el contenido del Capítulo 5.

1.4.1 Capítulo 2. Emisiones de N₂O en rotaciones agrícolas soja/soja con cultivos de servicio

La inclusión de los cultivos de servicio en los agroecosistemas simplificados es de gran importancia, reducen el ingreso de insumos agrícolas y aumentan los servicios ecosistémicos, pero su capacidad para mitigar las emisiones de N₂O es aún incierta. La utilización de los CS podría contribuir a la mitigación de N₂O debido a la transformación de N inorgánico en biomasa. En este sentido, incorporar un cultivo que permita sincronizar la oferta y demanda de N inorgánico del suelo, permitiría aumentar la eficiencia del sistema en el uso del N y reducir las emisiones de N₂O.

El **objetivo** de este capítulo es comparar la dinámica anual de las emisiones de N₂O en monocultivos de soja con rotaciones de cultivos que incluyen diferentes cultivos de servicios (gramíneas y leguminosas), y evaluar los factores que controlan las emisiones de N₂O a escala temporal y espacial para comprender los mecanismos involucrados en los efectos de los cultivos de servicio sobre las emisiones de N₂O.

Las **hipótesis** que se pusieron a prueba en este capítulo son: (a) la introducción de un CS en rotaciones continuas de soja reducirá las emisiones de N₂O al reducir la temperatura, el WFPS y el contenido de nitrato del suelo; (b) Los efectos de los CS en las emisiones de N₂O en una rotación de soja-soja varían a lo largo del año, reduciendo las emisiones de N₂O durante la temporada de crecimiento de CS debido a la absorción de N inorgánico de la planta, pero aumentando las emisiones después de la terminación del CS debido a la liberación de N de la descomposición de sus residuo; (c) Los CS con relaciones bajas de C/N, como las leguminosas, serán menos eficientes para mitigar las emisiones de N₂O que los cultivos con alto contenido de C/N en sus residuos, como las gramíneas. (d) La

reducción de las emisiones de N_2O de CS será mayor cuando las gramíneas y las leguminosas se siembren en mezclas porque maximizan la cantidad de nutrientes inmovilizados en la biomasa vegetal.

Se utilizó el cuarto año de un experimento de larga duración que incluía parcelas con una rotación soja/soja (barbecho) y parcelas con soja en verano y un CS (avena, vicia y avena/vicia) creciendo durante el invierno. Se realizaron muestreos mensuales de emisiones de N_2O durante un año y se midieron las principales variables de suelo en los primeros centímetros que controlan las emisiones de N_2O (porcentaje de poros llenos de agua (WFPS), contenido de nitrato y amonio y temperatura).

1.4.2 Capítulo 3. Manejo de fecha de siembra y terminación de los cultivos de servicio para reducir las emisiones de N_2O

Instalar un cultivo inmediatamente luego de la senescencia del cultivo de verano mejora la captura y el ciclo de nutrientes del suelo, principalmente reduce la pérdida de N del suelo mediante la transformación en biomasa (Peoples et al., 2009; Tanveer et al., 2017). Así también, el momento de la terminación de los CS puede ser un factor de control muy importante sobre las emisiones de N_2O durante este período. Por lo tanto, es muy importante entender cómo varían las emisiones de N_2O cuando adelantamos la fecha de siembra de los CS y en el período posterior a su terminación, particularmente en la interacción entre las fechas de terminación y la relación C/N de los residuos.

El **objetivo** desarrollado en este capítulo es, a) evaluar los efectos de la incorporación de diferentes CS con fechas contrastantes de siembra y terminación sobre la dinámica

temporal de las emisiones de N_2O en monocultivos de soja y b) evaluar los mecanismos e impulsores asociados con estos cambios.

Las **hipótesis** que se pusieron a prueba son que: a) la siembra temprana de los CS reduce los flujos de emisiones de N_2O en comparación con las fechas de siembra tardías; b) las fechas de terminación anticipada aumentan los flujos de emisión de N_2O , especialmente en los cultivos de servicio que incluyen leguminosas, mientras que la terminación tardía reduce los flujos de emisión de N_2O independientemente del tipo de cultivo de servicio.

Para ello, instalamos dos experimentos consecutivos, uno para evaluar el efecto de la fecha de siembra y el otro de la fecha de terminación de los cultivos de servicio, ambos en un lote agrícola con monocultivo de soja que incluyen los mismos tipos de CS que los usados en el experimento del capítulo 2. En estos experimentos aumentamos la frecuencia de muestreo de gas y suelo (cada 20 días), concentrados el período de siembra, crecimiento y terminación de los CS.

1.4.3 Capítulo 4. Estimación de las emisiones de N_2O mediante un modelo de simulación

Los modelos computacionales son una herramienta muy importante para estimar las emisiones de N_2O que son muy variables en el tiempo y permiten tener salidas con una alta resolución temporal y espacial para integrar las emisiones diarias en emisiones acumuladas (Del Grosso et al., 2001, 2011; Parton et al., 2001). Los modelos facilitan la tarea de cuantificar la emisión de N_2O en el tiempo y permiten hacerlo con precisión, para periodos de tiempo relativamente largos, e integrando las mediciones puntuales para tener tasas de mediciones anuales. Poder predecir las emisiones de N_2O en la región pampeana sería de

gran valor, ya que permitiría mejorar la toma de decisiones frente a diferentes planteos agrícolas.

Los **objetivos** de este capítulo son: a) calibrar y evaluar el modelo de simulación *DayCent* para estimar la dinámica temporal de las emisiones de N_2O bajo rotaciones agrícolas soja/soja que incluyen CS y escenarios climáticos contrastantes en la región pampeana; b) simular y estimar los flujos medios anuales de emisiones de N_2O en rotaciones soja/soja con CS que cubren todo el período de barbecho en escenarios climáticos contrastantes.

Las **hipótesis** que se pusieron a prueba son: a) La incorporación de CS en las rotaciones agrícolas basadas en rotaciones de soja-soja disminuye los flujos de emisiones de N_2O en el sitio de estudio independientemente del escenario meteorológico (precipitación y estacionalidad); b) Independientemente del CS, los CS que cubren todo el período de barbecho emiten menos N_2O respecto a ciclos más cortos.

Se calibró el modelo con datos obtenidos en el experimento del capítulo 2 de esta tesis. Luego se simularon las emisiones anuales de N_2O para CS que cubren todo el periodo de barbecho del cultivo de soja (ciclo largo) y los que se siembran dos meses luego de la cosecha de soja y son terminados dos meses previos a la siembra del siguiente cultivo de soja (ciclo corto). A su vez, se simularon diferentes escenarios climáticos que surgieron de la combinación de años lluviosos y secos con variada estacionalidad de las precipitaciones, concentradas en primavera-verano y en otoño-invierno.

1.4.4 Capítulo 5. Discusión general y conclusiones

El último capítulo corresponde a la discusión general de la tesis donde se discuten los principales mensajes de la tesis, sus implicancias y las posibles líneas de investigación que surgen a partir de ella.

2 CAPÍTULO 2

Emisiones de N₂O en rotaciones agrícolas soja/soja con la incorporación de cultivos de servicio

- Petrasek M.R, Piñeiro G., Bonvecchi V.E., Yahdjian L. 2023. Are service crops an alternative for mitigating N₂O emissions in soybean crops in the Argentinian pampas? *Journal of Environmental Quality* 52:258–269. DOI: 10.1002/jeq2.20445

2.1 INTRODUCCIÓN

El cambio de uso de los suelos, de ecosistemas naturales a la agricultura, junto a un aumento en el uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos han sido identificados como los principales contribuyentes al aumento de N_2O atmosférico ($0,73 \text{ ppb año}^{-1}$) durante las últimas tres décadas (Ciais et al., 2013; Hu et al., 2015; Ravishankara et al., 2009). De hecho, los suelos agrícolas son la mayor fuente antropogénica de N_2O a nivel mundial y representan el 60 % de las emisiones antropogénicas de N_2O (Tian et al., 2020). Ciertos cultivos, como la soja y otras leguminosas, fijan grandes cantidades de N de la atmósfera y lo almacenan en sus tejidos, pero después de la senescencia, el N se libera rápidamente al suelo mediante la mineralización. Por ello, después de la cosecha, los cultivos con leguminosas producen aumentos la disponibilidad de N del suelo y, en última instancia, provocan una mayor emisión de N_2O que las especies no leguminosas (Della Chiesa et al., 2019; Liu et al., 2021; Robertson et al., 2000). Por lo tanto, el desarrollo de prácticas agrícolas que limiten los excesos de nitrógeno en el suelo, como la incorporación de cultivos de servicio (CS) durante el período de barbecho de los cultivos comerciales, puede ser una alternativa para mitigar las emisiones de N_2O de los suelos agrícolas. Aunque algunos estudios mostraron una reducción en las emisiones de N_2O en cultivos de soja con la inclusión de un CS (Dietzel et al., 2011; Parkin et al., 2006; Rosecrance et al., 2000), las emisiones de N_2O dependen de las especies de cultivos de servicio, la biomasa vegetal acumulada por éstos y la relación C/N, el contenido de lignina y el método de manejo de los residuos posterior a la cosecha o terminación del CS (Basche et al., 2014). Se necesitan estudios de campo sobre cultivos de soja y sistemas alternativos de CS para comprender

cómo modifican las emisiones de N_2O y cuáles son los mecanismos que afectan este proceso.

El aumento del área sembrada con cultivos fijadores de N como la soja aumenta la disponibilidad de N en el suelo durante la descomposición poscosecha de residuos de cultivos y raíces con alta concentración de N (Uchida y Akiyama, 2013). Este aumento en el N del suelo afecta los procesos biológicos del suelo que producen N_2O , como la desnitrificación y la nitrificación (Baggs et al., 2000; Basche et al., 2014; Hoben et al., 2011). Los procesos del suelo que ciclan el N están controlados por la temperatura, el contenido de agua del suelo, la presión parcial de oxígeno, el contenido de N inorgánico del suelo (nitrato y amonio) y la relación C/N del suelo (Baggs et al., 2000; Mosier, 1997; Robertson y Groffman, 2015). Si bien, la temperatura del suelo tiene una relación positiva y un intervalo óptimo que favorece la producción de N_2O (4-60°C), existen algunos factores como la presión parcial de oxígeno que pueden hacer variar la emisión en determinados rangos de temperatura (Ussiri et al., 2013). La presión parcial de oxígeno tiene una relación negativa con el espacio poroso lleno de agua del suelo (WFPS) que depende entre otros factores de la textura del suelo. En suelos bien aireados y oxigenados, el amonio se transforma en nitrato por nitrificación, y las emisiones de N_2O son principalmente un subproducto de este proceso (Robertson et al., 2015). Sin embargo, por encima de un umbral de WFPS de alrededor del 60%, predominan las condiciones anaeróbicas y la desnitrificación asociada incrementan las emisiones de N_2O (Davidson, 1991; Mogge et al., 1999). Los cultivos de cobertura tradicionales incorporados durante los períodos de barbecho en las rotaciones agrícolas en la actualidad se denominan "cultivos de servicio" porque cumplen múltiples funciones en los agroecosistemas asociadas con la regulación y

el apoyo de los servicios ecosistémicos (Canali et al., 2015; García-gonzález et al., 2018; Pinto et al., 2017). Varios estudios demostraron que la integración de los CS en las rotaciones agrícolas mejora la regulación del agua del suelo (García-gonzález et al., 2018), suprime el crecimiento de malezas (Isbell et al., 2017), cambia el albedo (Kaye et al., 2017), mejora la retención de nutrientes (Gabriel et al., 2012), el almacenamiento de carbono en el suelo (Daryanto et al., 2018; Villarino et al., 2021), la estabilidad estructural del suelo y la infiltración de agua, aumentando la condición aeróbica del suelo (Álvarez et al., 2013; García-gonzález et al., 2018). Sin embargo, la capacidad de los CS para mitigar las emisiones de N_2O en rotación con cultivos comerciales ha sido poco evaluada.

La capacidad de los cultivos de servicio para mitigar las emisiones de N_2O es incierta porque depende de la especie de CS utilizada, la calidad de los residuos (relación C/N, contenido de lignina, etc.), el rendimiento de biomasa y la duración del tiempo de crecimiento del CS, entre otros factores (Basche et al., 2014). Sin embargo, sabemos que los CS de gramíneas son muy eficientes para capturar N inorgánico en la biomasa vegetal y disminuir la lixiviación de NO_3 y N del suelo durante los períodos de barbecho (Sanzcobena et al., 2014), mientras que los CS de leguminosas aumentan el NO_3 del suelo, pero pueden reducir el uso de fertilizantes nitrogenados y sus emisiones de N_2O asociadas (Tonitto et al., 2006). Un CS mezcla de gramíneas y leguminosas puede aumentar la captura de N y la relación C/N de los residuos de cultivos (en comparación con las leguminosas puras), lo que disminuye las tasas de mineralización de N y aumenta la inmovilización de N (Abdalla et al., 2020; Tribouillois et al., 2015). En consecuencia, el uso de diferentes tipos de CS puede tener consecuencias muy diferentes sobre la disponibilidad de N del suelo y, potencialmente, en las emisiones de N_2O . Por lo tanto, el

desarrollo de manejos agrícolas alternativos, como la implementación de cultivos de servicios en rotaciones con cultivos comerciales, podría disminuir las emisiones de N_2O de los suelos agrícolas, lo cual es muy importante para regular las emisiones de este gas de efecto invernadero. Los objetivos principales desarrollados en este capítulo son: (a) comparar la dinámica anual de las emisiones de N_2O en monocultivos de soja con rotaciones de cultivos que incluyen diferentes cultivos de servicios (gramíneas y leguminosas), y (b) evaluar los factores que controlan las emisiones de N_2O a escala temporal y espacial para comprender los mecanismos involucrados en los efectos de los cultivos de servicio sobre las emisiones de N_2O . Las siguientes hipótesis guiaron nuestro estudio: (a) la introducción de un CS en rotaciones continuas de soja reducirá las emisiones de N_2O al reducir la temperatura, el WFPS y el contenido de nitrato del suelo; (b) Los efectos de los CS en las emisiones de N_2O en una rotación de soja-soja varían a lo largo del año, reduciendo las emisiones de N_2O durante la temporada de crecimiento de CS debido a la absorción de N de la planta, pero aumentando las emisiones después de la terminación del CS debido a la liberación de N de la descomposición de sus residuos; (c) Los efectos de la CS sobre las emisiones de N_2O después de su terminación dependerán del tipo de cultivo de servicio, las diferencias en la relación C/N de los residuos determinará la disponibilidad de N para la desnitrificación. Los CS con relaciones bajas de C/N, como las leguminosas, serán menos eficientes para mitigar las emisiones de N_2O que los cultivos con alto contenido de C/N en sus residuos, como las gramíneas. (d) La reducción de las emisiones de N_2O de CS será mayor cuando las gramíneas y las leguminosas se siembren en mezclas porque maximizan la cantidad de nutrientes inmovilizados en la biomasa vegetal y aportan un residuo con una relación C/N que se incorpora más fácil a la materia orgánica del suelo.

Para evaluar estas hipótesis, realizamos un experimento a campo en un establecimiento agrícola de San Antonio de Areco.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Sitio de estudio

El experimento se realizó en un establecimiento agrícola “La Fe” (34°12’19,6” S 59°32’45,2” O), ubicada a 120 km al oeste de la Ciudad de Buenos Aires (Argentina). El suelo se clasifica como un Argiudol vértico de textura franco-limosa (Soil Taxonomy, 2014) con una pendiente media <1%. La precipitación media anual es de 1.090 mm y la temperatura media anual es de 15,6°C. La información meteorológica del sitio de estudio está disponible en el Cuadro 2. 1. El establecimiento agrícola se ha utilizado para la producción de cultivos anuales con algunos años de pradera, ambos manejos sembrados bajo el sistema de siembra directa desde 2007. Los principales cultivos anuales producidos fueron soja, maíz y trigo.

Cuadro 2. 1: Información climática para el período del experimento (febrero 2018 - enero 2019) y las medias históricas para San Antonio de Areco, Buenos Aires, Argentina.

	<i>Feb</i>	<i>Mar</i>	<i>Abr</i>	<i>May</i>	<i>Jun</i>	<i>Jul</i>	<i>Ago</i>	<i>Sep</i>	<i>Oct</i>	<i>Nov</i>	<i>Dic</i>	<i>Ene</i>
<i>Precipitaciones (mm)(2018-2019)</i>	40,5	38,4	271,8	347,6	1,5	60,3	70,1	194	70,4	160,5	54,1	187,3
<i>Medias (1945- 2019)</i>	114,6	114,9	129,0	106,9	71,9	53,8	50,2	56,1	61,2	112,7	109,2	103,4
<i>Temperatura (°C) (2018-2019)</i>	24,5	22,2	21,7	16,8	11,1	11,0	12,0	16,4	17,5	20,9	22,1	24,5
<i>Medias (1983- 2018)</i>	21,5	19,2	15,5	12,3	9,4	8,7	10,6	12,3	15,4	18,3	21,1	22,7

* Información obtenida de <http://www.arecoclima.com.ar/extras/lluvias.htm> and <https://www.wunderground.com/history/monthly/ar/palermo/SABE/date/2019-1>

2.2.2 Diseño del experimento

Se utilizó un experimento a largo plazo con una historia de cuatro años de cultivos de servicio sembrados en una rotación continua de soja-CS-soja en las mismas parcelas. El experimento consistió en parcelas de 120 m² (8m x 15m) sembradas con soja (*Glycine max* (L.) Merr) como cultivo comercial, que se combinaba con los siguientes cultivos de servicio sembrados en invierno, durante el período de barbecho del cultivo de soja, para obtener diferentes rotaciones (tratamientos): avena (*Avena sativa* L.), vicia (*Vicia villosa* Roth.), mezcla de avena y vicia. También se incluyó un tratamiento control sin cultivos de servicio (soja/barbecho), en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Cada tratamiento fue sembrado en la misma parcela los cuatro años anteriores. La información adicional del suelo del sitio está disponible en el Cuadro 2. 2. La soja se cosechó el 20 de abril de 2018 (ver rendimiento Figura Ap-2.1) y posteriormente se sembraron los cultivos de servicios, el 28 de junio. El CS se sembró en el entresurco de la soja a una distancia de 32 cm, la densidad de siembra varió según el CS: 70 kg de semilla ha⁻¹ para las parcelas de avena, 40 kg de semilla ha⁻¹ para las parcelas de vicia y 60-40 kg de semilla ha⁻¹ para las parcelas mixtas de avena y vicia. Las semillas de vicia se inocularon con *Rhizobium leguminosarum biovar viceae* y las semillas de soja con *Bradyrhizobium japonicum*, cepa, E109. Todos los cultivos incluida la soja, se sembraron bajo prácticas de labranza cero. Los CS se terminaron el 20 de octubre mediante la aplicación de glifosato [N-(fosfonometil) glicina] a razón de 2,5 L ha⁻¹. Luego, el próximo cultivo comercial de soja se sembró el 23 de diciembre. Medimos las emisiones de N₂O durante todo un año, desde febrero de 2018, cuando la soja estaba en plena floración, hasta enero de 2019, utilizando la técnica que se describe a continuación.

Cuadro 2. 2: Características edáficas para cada una de las parcelas experimentales, (muestras de suelo tomadas en febrero 2018). Valores medios (± 1 error estándar) para $n=3$. Diferentes letras muestran diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$). CO: carbono oxidable; CT: carbono total; DA: densidad aparente.

<i>Tratamiento</i>	<i>pH</i>	<i>CO (%)</i>	<i>CT (%)</i>	<i>DA (g/cm³)</i>	<i>Textura</i>		
					<i>Arcilla (%)</i>	<i>Limo (%)</i>	<i>Arena (%)</i>
Barbecho	5,7 \pm 0,05(b)	2,0 \pm 0,19(a)	1,8 \pm 0,05	1,3 \pm 0,02(a)	28,0 \pm 2,31(a)	44,7 \pm 3,70(a)	27,3 \pm 2,4(b)
Avena	5,6 \pm 0,01(ab)	1,8 \pm 0,19(a)	1,7 \pm 0,05	1,3 \pm 0,02(ab)	26,7 \pm 0,67(a)	52,7 \pm 0,67(b)	20,7 \pm 0,67(a)
Vicia	5,6 \pm 0,02(b)	1,6 \pm 0,15(a)	1,8 \pm 0,06	1,3 \pm 0,01(a)	29,3 \pm 0,67(a)	48,7 \pm 1,33(ab)	22,0 \pm 1,15(a)
Avena-Vicia	5,6 \pm 0,06(b)	1,7 \pm 0,27(a)	1,8 \pm 0,08	1,3 \pm 0,02(b)	28,0 \pm 1,15(a)	50,0 \pm 1,15(ab)	22,0 \pm 0,00(a)

2.2.3 Muestreo y determinaciones de gas y suelo

Los muestreos de gases y suelo se realizaron entre febrero de 2018 y enero de 2019, a intervalos de 20 días, totalizando 14 fechas de muestreo. Las emisiones de N₂O se determinaron mediante el método de cámaras estáticas, siguiendo el protocolo adaptado por Parkin y Venterea, (2010) y De Klein y Harvey, (2012). Las cámaras están construidas por plástico (*policloruro de vinilo* [PVC]) de 37 cm de largo x 25,5 cm de ancho x 14 cm de alto, cubiertas con una película de aluminio que refleja la luz y ventiladas con un tubo de acero inoxidable de 10 cm de largo. Estas cámaras se colocaron encima de una base de hierro enterrada previamente a una profundidad de 8 cm (Parkin y Venterea, 2010). En cada parcela se colocaron dos bases de hierro en el entresurco y transversal a la línea de siembra. Durante las tomas de muestra de gas se dejaron las cámaras sobre bases de hierro y se sellaron con agua. Si en el momento del muestreo la cámara contenía plantas dentro de la base, se cortó la biomasa aérea a 5 cm de altura para permitir colocar la cámara sobre la base. Las muestras de gas se tomaron con una bomba de vacío manual (Mytivac) y se almacenaron en viales de 10 ml con sellos de goma de caucho. Antes de cada extracción,

los viales se evacuaron generando 85 kPa. Las emisiones de N₂O se estimaron mediante extracciones de gas sucesivas de cada cámara a los 0, 15 y 30 minutos después de la colocación de la cámara. Dentro de los siguientes 10 días de recolección, se analizaron las muestras de gas inyectando una submuestra de 0,5 ml con una jeringa en un cromatógrafo de gases (GC, 6890 Agilent Technologies Network) con detector de captura de electrones Agilent 63 Ni, equipado con una columna HP- Parcela Molesieve (30 m ´ 530 µm ´ 25 µm). Las emisiones de N₂O se calcularon utilizando modelos de regresión lineal de las tres extracciones de gas (De Klein et al., 2012). Después de cada fecha de muestreo, trasladamos las bases de hierro a un sitio inalterado para realizar el siguiente muestreo de N₂O.

Durante cada fecha de muestreo de N₂O, registramos la temperatura del suelo (0-10 cm), y después del muestreo de gas, extrajimos tres submuestras de suelo de 0-10 cm de profundidad dentro de cada base de hierro y las compusimos como una sola muestra. Las muestras de suelo se transportaron refrigeradas al laboratorio, donde una submuestra de 5 g se secó a 105 °C hasta peso constante. Usamos la muestra seca para estimar el contenido gravimétrico de agua del suelo (g.g⁻¹). Luego calculamos el porcentaje de poros lleno de agua usando la fórmula:

$$WFPS (\%) = \text{contenido de agua del suelo} \times \left(\frac{\text{Densidad aparente}}{\text{Porosidad de suelo}} \right)$$

La porosidad del suelo fue calculada asumiendo que la densidad de partícula es de 2,65 g cm⁻³ (Linn et al., 1984) como:

$$\text{Porosidad del suelo} = 1 - \left(\frac{\text{Densidad aparente}}{\text{Densidad de partícula}} \right)$$

Otra submuestra de suelo fue secada a 30°C durante 48 horas y tamizada con una malla de 2-mm para determinar el N inorgánico del suelo. El contenido de nitrato (NO_3^-) del suelo fue determinado mediante una extracción con 2 M KCl Bremner (1965) y Keeney y Nelson (1982). El contenido de amonio (NH_4^+) del suelo fue determinado por espectrofotometría usando K_2SO_4 como extractante (Baethgen et al., 1989).

2.2.4 Variables respuesta auxiliares

Para caracterizar las condiciones bióticas y abióticas, se midió varias propiedades físicas y químicas del suelo y la biomasa acumulada de los CS al final de la temporada de crecimiento, previo a su terminación. Antes de iniciar el experimento, tomamos muestras de suelo de todas las parcelas para caracterizar el suelo (Cuadro 2.2). En cada parcela, extrajimos cinco muestras de 0 a 10 cm de profundidad utilizando un muestreador de suelo de 2 cm de diámetro y luego armamos una muestra compuesta. Determinamos el pH del suelo (relación suelo: agua de 1:2,5), el contenido de carbono orgánico mediante digestión húmeda por el método de Walkley-Black (Nelson et al., 1982), el C total mediante análisis de combustión automatizado (cubo Vario TOC), la densidad aparente (Burker et al., 1986) y la textura del suelo (porcentajes de arena, limo y arcilla) a través de la sedimentación del tamaño de las partículas (Bouyoucos, 1962; Cuadro 2. 2). Se midió la biomasa de los cultivos de servicio antes de su terminación; la biomasa aérea se cosechó cortando 2 cm sobre el suelo dentro de un marco de 0,25 cm^2 . La biomasa vegetal recolectada se secó a 60°C hasta peso constante y luego se calculó el material seco aéreo ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$). Estimamos la biomasa de raíces y las relaciones C/N aéreas y subterráneas con mediciones específicas de especies de CS realizadas en la Red de Cultivos de Servicio de AAPRESID-FAUBA de Argentina (Piñeiro et al., 2019).

2.2.5 Análisis estadístico

Para evaluar la dinámica anual de las emisiones de N₂O, analizamos nuestro conjunto de datos a través de modelos espaciales y temporales por separado. Estos modelos se utilizaron para evaluar las emisiones de N₂O en el espacio y en el tiempo de forma independiente y a escala de ecosistema (Araujo et al., 2020; Butterbach-Bahl et al., 2013; Groffman et al., 2009; Piñeiro-Guerra et al., 2019). Las emisiones de N₂O se compararon mediante un modelo de interpolación jerárquica lineal con efectos simples usando modelos mixtos. Las fechas, los bloques y los muestreos se analizaron como efectos aleatorios y los tratamientos (coberturas y barbecho) como efecto fijo.

Para comparar las emisiones de N₂O entre tratamientos, realizamos un análisis basado en promedios de valores temporales para cada tratamiento (tres CS y un control) totalizando 12 observaciones. De manera similar, para evaluar si los CS modificaron las emisiones de N₂O durante diferentes partes del ciclo del cultivo (variabilidad temporal), promediamos las submuestras dentro de cada parcela en todas las fechas de muestreo, totalizando 168 observaciones (4 tratamientos × 3 bloques × 14 fechas de muestreo). Las emisiones de N₂O se transformaron con logaritmo para cumplir con el supuesto de normalidad de los residuos. Además, analizamos las diferencias en las emisiones de N₂O entre cultivos de servicio (avena, vicia y mezclas de avena y vicia) y parcelas de soja/barbecho como $\Delta N_2O = \text{tasa de emisión de CS} - \text{tasa de emisión de barbecho}$. Los modelos espaciales y temporales se seleccionaron con base en el AIC más bajo (Criterio del índice de *Akaike*) y solo si todas las variables seleccionadas eran estadísticamente significativas a $p < 0,05$ y los residuos tenían una distribución normal sin sesgo (Pinheiro et al., 2000; Zuur et al., 2009). Para evaluar el efecto de los tratamientos y las variables edáficas sobre las emisiones de N₂O, se utilizaron modelos lineales de efectos mixtos con regresión simple y múltiple. Realizamos

estos análisis en lenguaje estadístico R (paquete *nlme*; R Core Team 2013; Pinheiro et al., 2016), lo que permite el uso de modelos de efectos mixtos en la rutina de selección del mejor modelo por la función *dredge* en el paquete *MuMIn*.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Emisiones de N₂O

La inclusión de un CS que crece por un período corto durante el barbecho del cultivo de soja no modificó la tasa media anual de emisión de N₂O (Figura 2.1). Sin embargo, se encontró una tendencia creciente en las tasas medias de emisión con los CS, ya que las emisiones fueron en el siguiente orden: testigo (barbecho, $20,73 \pm 5,19 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) < avena ($22,65 \pm 2,27 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) < avena-vicia ($27,59 \pm 1,22 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) < vicia ($30,46 \pm 2,04 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Sin embargo, las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas.

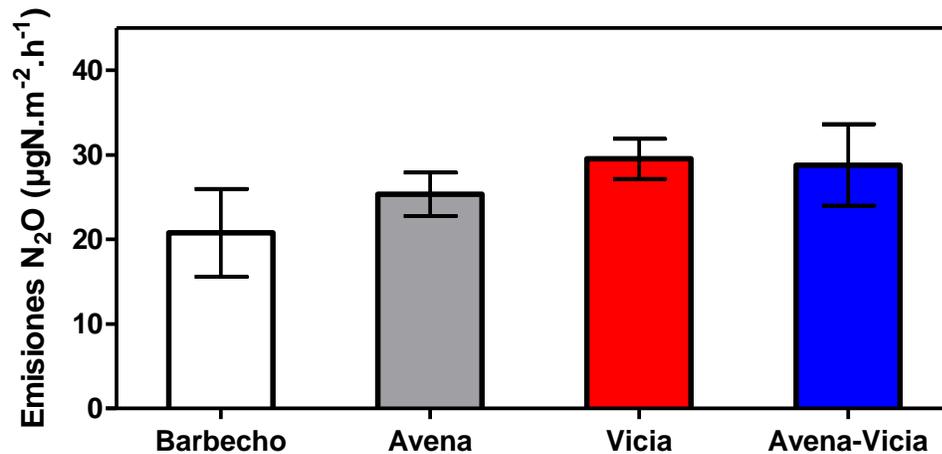


Figura 2.1: Emisiones medias anuales de N₂O ($\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$) para cada tratamiento (febrero 2018-enero 2019). Las barras representan los valores medios de las emisiones de N₂O (± 1 error estándar) para $n = 3$. No hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

Las emisiones de N_2O fueron muy variables y produjeron diferencias entre los CS en algunas fechas (Figura 2.2); es decir, hubo una interacción significativa ($p < 0,05$) tiempo \times tratamiento. Si bien, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos considerando todo el período, se observaron diferencias entre tratamientos después de la madurez de la soja, durante la primavera y después de la terminación de los CS (Figuras 2.2 y 2.3). Durante abril y mayo (entre la madurez de la soja y la poscosecha), las emisiones medias de N_2O de las parcelas en barbecho, con avena, vicia y mezcla de avena-vicia fueron de $46,43 \pm 17,79$, $69,98 \pm 14,84$, $55,56 \pm 17,93$ y $92,26 \pm 9,84 \mu g N_2O-N.m^{-2}.h^{-1}$, respectivamente (Figura 2.3). Además, durante la primavera (octubre y noviembre), detectamos aumentos significativos ($p < 0,05$) en las emisiones de N_2O en las rotaciones con vicia en comparación con las parcelas en barbecho después de la terminación de los CS. En presencia de vicia la mayor emisión ocurrió alrededor de 15 días después de la terminación (Figura 2.2). Durante la terminación de los CS, las emisiones de N_2O en los tratamientos que contenían vicia y avena-vicia fueron superiores a las de las parcelas en barbecho, los valores fueron de $52,61 \mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$ y $12,00 \mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$ mayores a barbecho en avena y avena-vicia respectivamente. En contraste, las parcelas que contenían avena como cultivo de servicio mostraron menores emisiones de N_2O ($-2,02 \mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$) que las parcelas en barbecho que emitieron en promedio $15,93 \mu gN-N_2O.m^{-2}.h^{-1}$.

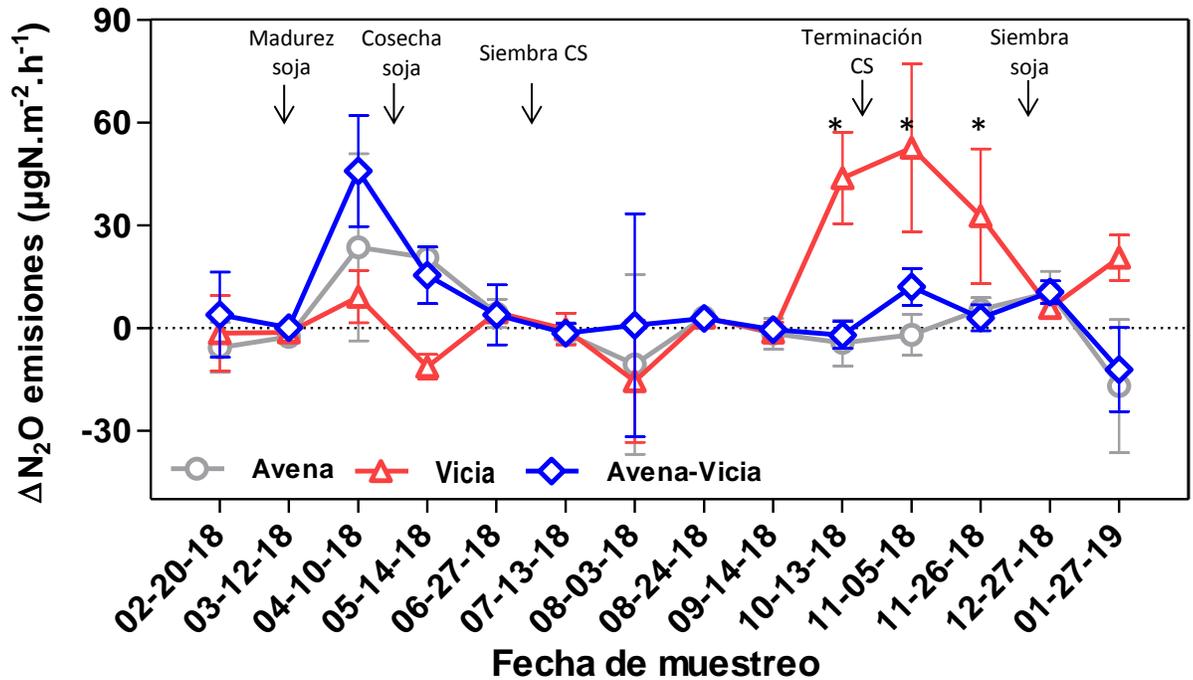


Figura 2.2: Diferencias en las emisiones de N₂O entre cultivos de servicio (avena, vicia y mezclas de avena-vicia) y parcelas de soja/barbecho ($\Delta N_2O = \text{emisión CS} - \text{emisión barbecho}$). Cero representa ningún efecto de los CS en las emisiones de N₂O, los valores positivos muestran emisiones más altas en parcelas con cultivo de servicio que en soja/barbecho y los valores negativos muestran emisiones más bajas en cultivos de servicio que en soja/barbecho. Los puntos son medias de las emisiones de N₂O (± 1 error estándar) para $n = 3$. Las flechas en la parte superior de la figura muestran las principales etapas del cultivo de soja (madurez, cosecha y siembra) y de los cultivos de cobertura (siembra y terminación). Los asteriscos muestran diferencias significativas entre tratamientos en ciertas fechas de muestreo ($p < 0,05$).

Durante el invierno (junio a septiembre) las emisiones de N₂O fueron bajas (Figura 2.3) y similares entre todos los tratamientos (Figura 2.2). Las emisiones medias de N₂O durante este período fueron $5,52 \pm 1,14$, $6,55 \pm 1,21$, $7,00 \pm 0,73$ y $7,90 \pm 1,49$ $\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ para los tratamientos testigo (barbecho), avena, vicia y avena-vicia, respectivamente. Sin embargo, el 3 de agosto, las emisiones de N₂O mostraron un pico en todos los tratamientos (Figura 2.3). Las emisiones medias de N₂O durante este pico fueron $79,75 \pm 27,94$, $69,14 \pm 12,38$, $64,22 \pm 16,80$ y $79,3 \pm 19,05$ $\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ en barbecho, avena, vicia y avena-vicia respectivamente (Figura 2.3).

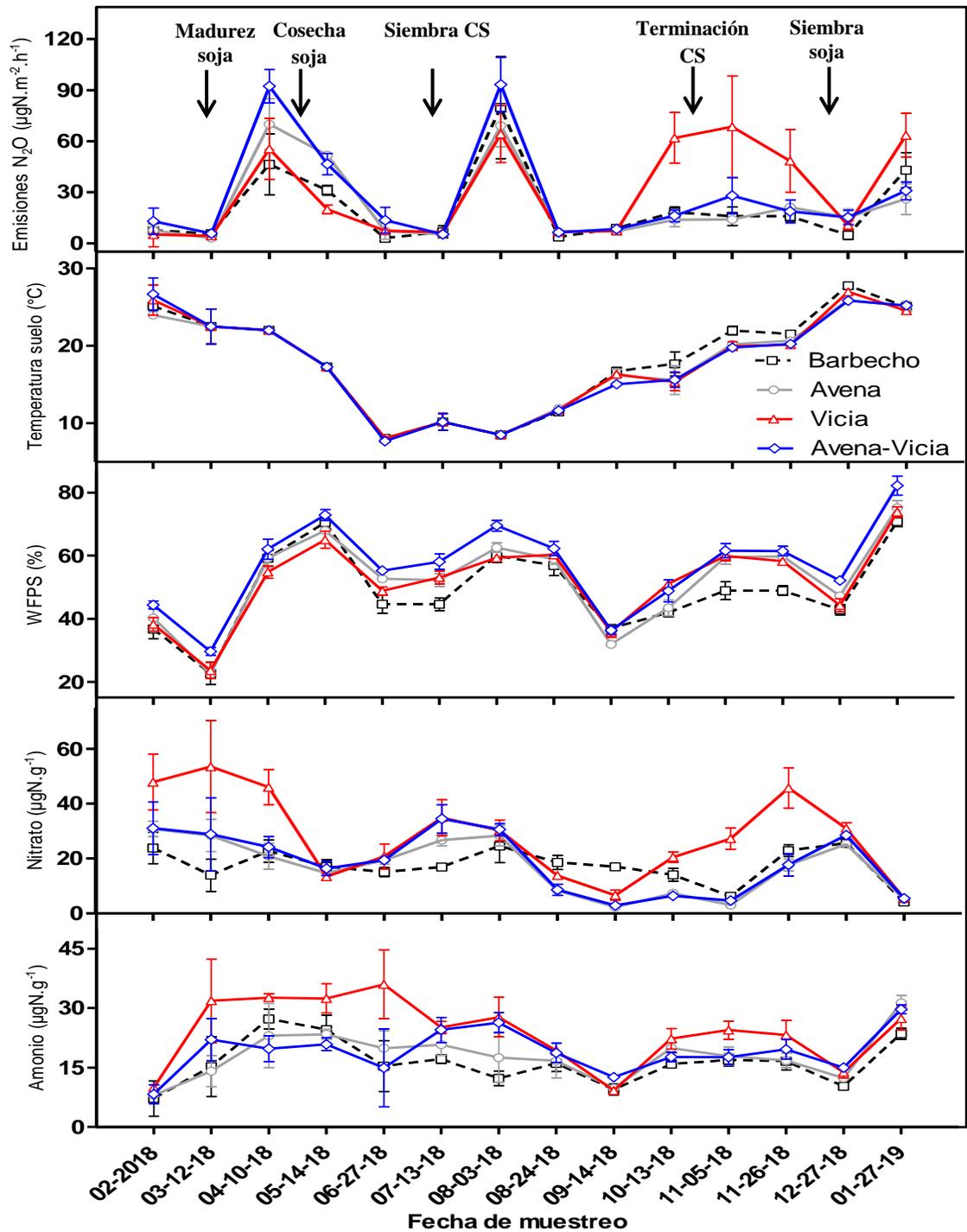


Figura 2.3: Variables de respuesta estimadas durante el experimento (febrero 2018-enero 2019). De arriba a abajo, los paneles muestran las emisiones de N_2O , la temperatura del suelo, el espacio poroso lleno de agua (WFPS), y el contenido nitrato y amonio del suelo, medidos en el barbecho (línea y cuadrado azul), avena (línea y círculo gris), vicia (línea y triángulo rojo) y avena-vicia (línea y rombo azul). Cada punto representa valores medios (± 1 SE) de los 3 bloques de cada tratamiento. Las flechas en el panel superior muestran las

principales etapas del cultivo de soja (madurez, cosecha y soja) y de los cultivos de cobertura (siembra y terminación).

2.3.2 Variables ambientales medidas

Las variables ambientales de control variaron durante el año de muestreo y la inclusión de un CS en la rotación soja/soja modificó las características edáficas (Figura 2.3). El WFPS fue mayor en las mezclas de avena y vicia y fueron significativamente más altos que en el tratamiento de barbecho ($p < 0,05$; Cuadro 2.3). Las parcelas con vicia como cultivo de servicio aumentaron significativamente el contenido de NO_3^- del suelo en un 63,5 % en comparación con el barbecho, mientras que los otros cultivos de servicios no mostraron diferencias significativas (Cuadro 2.1). El contenido de NH_4^+ del suelo aumentó en todos los tratamientos con CS, pero solo la vicia mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con los otros tratamientos, aumentando en un 48,1% el contenido de NH_4^+ en comparación con el testigo (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3: Valores promedio de variables ambientales y de suelo medidas durante un año experimental (febrero 2018-enero 2019).

Tratamiento	WFPS (%)	Temp. Suelo (°C)	NO_3^- ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}$)	NH_4^+ ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}$)
Barbecho	48,97 \pm 2,08 (a)	18,26 \pm 1,00 (a)	17,34 \pm 1,22 (a)	16,28 \pm 1,14 (a)
Avena	52,70 \pm 2,21 (ab)	17,55 \pm 0,96 (a)	16,71 \pm 1,64 (a)	18,21 \pm 1,21 (a)
Vicia	51,89 \pm 2,00 (ab)	17,81 \pm 0,98 (a)	28,40 \pm 2,77 (b)	23,97 \pm 1,59 (b)
Avena-Vicia	56,95 \pm 2,22 (b)	17,96 \pm 0,99 (a)	18,53 \pm 2,07 (a)	19,23 \pm 1,07 (a)

Valores medios (\pm 1 standard error) del espacio poroso del suelo lleno de agua [WFPS], temperatura de suelo [Temp. Suelo], contenido de nitrato [NO_3^-], y amonio [NH_4^+] del suelo. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos considerando todas las fechas de muestreos.

2.3.3 Variables de control de las emisiones de N₂O

Se analizó la relación entre las emisiones de N₂O para los diferentes tratamientos y las siguientes variables de control: temperatura del suelo, WFPS y contenidos de nitrato y amonio del suelo. Sólo los contenidos de NO₃⁻ y NH₄⁺ del suelo mostraron una relación positiva significativa ($p < 0.05$) con las emisiones de N₂O (Cuadro 2.4). El contenido de NO₃⁻ del suelo explicó el 30 % de la variación en las emisiones de N₂O, mientras que el NH₄⁺ del suelo representó el 29 % cuando el modelo consideró el bloque y el tratamiento como factores aleatorios (Cuadro 2.4). Al mismo tiempo, el incremento en el contenido de NH₄⁺ del suelo tuvo el mismo efecto sobre las emisiones de N₂O que el contenido de nitratos del suelo ($p > 0,05$; Cuadro 2.4; Figura 2.4).

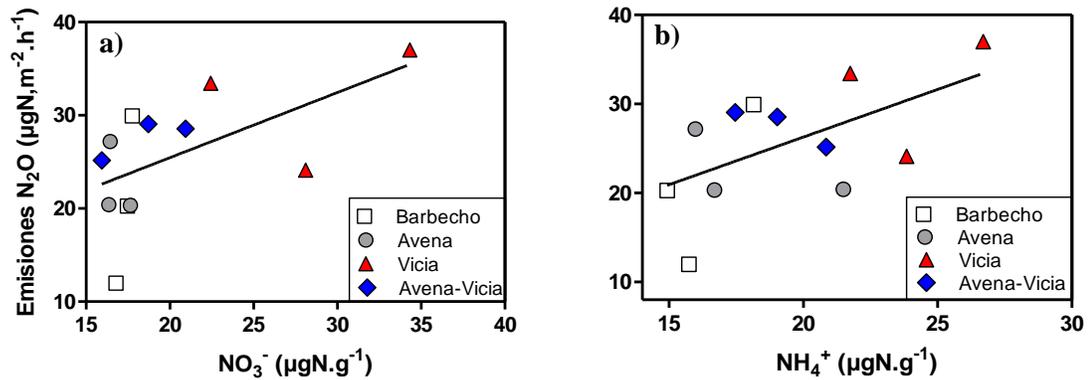


Figura 2.4: Modelo espacial de emisiones de N₂O ($\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) en función de (a) el contenido de nitratos del suelo (NO_3^- ; $\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}$); y (b) el contenido de amonio del suelo (NH_4^+ ; $\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}$). Los puntos representan valores medios para cada parcela experimental. Consulte el Cuadro 2.4 para obtener detalles del modelo.

Cuadro 2.4: Mejor modelo de regresión lineal espacial simple de efectos mixtos seleccionado por Criterio de Índice Akaike (AIC). Pendiente, R^2 marginal (R^2_m), R^2 condicional (R^2_c) y valor p para las emisiones de N_2O

	Pendiente	AIC	R^2_m	R^2_c	p
Modelo Espacial Log N_2O Regresión simple (n=12)					
NO_3^-	0,70	81,34	0,30	0,93	0,039
NH_4^+	1,13	79,85	0,29	0,94	0,025

El modelo temporal mostró una interacción entre el WFPS y el NO_3^- del suelo y explicó el 10% de las emisiones de N_2O cuando el modelo consideró la fecha, el bloque y el tratamiento como factores aleatorios. Sin embargo, los modelos de regresión simple mostraron una relación positiva entre WFPS y NO_3^- con las emisiones de N_2O (Cuadro 2.5). El WFPS explicó el 34% de las variaciones temporales en las emisiones de N_2O (Figura 2.5a) y el NH_4^+ explicó el 13% de las variaciones temporales cuando el modelo consideró la fecha, el bloque y el tratamiento como factores aleatorios (Figura 2.5b). Además, la interacción del WFPS con los tratamientos explicó el 33% de la variación temporal de las emisiones de N_2O cuando el modelo consideró fechas y bloques como factores aleatorios. En este modelo, las regresiones fueron positivas y el WFPS mostró la pendiente más alta en vicia (Cuadro 2.5). Durante todo el año, el WFPS mostró valores más altos para los CS que en barbecho, con aumentos del 7% (avena), 6,2% (vicia) y 14,7% (avena-vicia), aunque solo esta última diferencia fue significativa ($p < 0,05$). Cuando se terminaron los CS, todos los tratamientos mostraron aumentos significativos del WFPS en comparación con el barbecho. Las diferencias medias fueron 19,8% (avena), 18,8% (vicia) y 22,8% (avena-vicia) superiores al barbecho ($p < 0,05$). Al considerar los modelos de regresión múltiple, las emisiones de N_2O en el modelo temporal fueron explicadas por el WFPS y el contenido de NO_3^- del suelo. Estas variables tuvieron una relación positiva con

las emisiones de N_2O y explicaron el 37% de su variación cuando el modelo consideró la fecha, el bloque y el tratamiento como factores aleatorios (Cuadro 2.5).

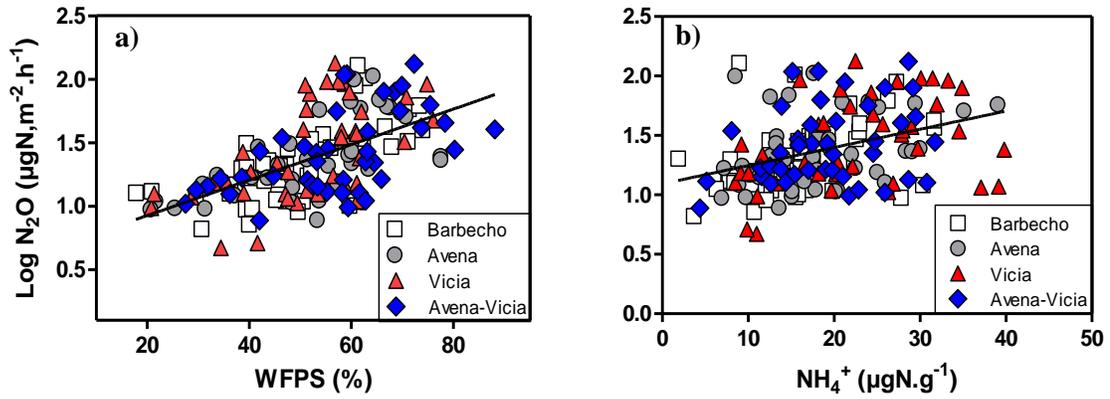


Figura 2.5: Modelos temporales de emisiones de N_2O ($\log N_2O$, $\mu\text{gN}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) en función de (a) espacio poroso del suelo lleno de agua (WFPS; %); y (b) contenido de amonio del suelo (NH_4^+ ; $\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}$). Los puntos representan valores para cada tratamiento experimental y fecha. Consulte el Cuadro 2.5 para obtener detalles del modelo

Cuadro 2.5: Mejor modelo de regresión lineal temporal simple y múltiple de efectos mixtos seleccionado por Criterio de Índice Akaike (AIC). Pendiente, R^2 marginal (R^2_m), R^2 condicional (R^2_c) y valor p para las emisiones de N_2O .

	Pendiente	AIC	R^2_m	R^2_c	p
Modelo temporal					
Log N_2O Regresión simple (n=166)					
WFPS	0,0140	61,02	0,34	0,99	0,001
NH_4^+	0,0119	104,47	0,13	0,96	0,002
WFPS*Tratamiento					
Barbecho	0,0133	31,94	0,33	0,72	0,001
Avena	0,0131				0,001
Vicia	0,0148				0,001
Avena-Vicia	0,0132				0,001
WFPS* NO_3^-	$1,6*10^{-4}$	119,60	0,10	0,96	0,001
Log N_2O Regresión múltiple (n=166)					
WFPS + NO_3^-	$0,0104 - 4,3*10^{-3}$	67,33	0,37	0,96	0,0001 - 0,007

2.3.4 Producción de los cultivos de servicio

La producción de biomasa de los cultivos de servicio varió sustancialmente al momento de su terminación. Los tratamientos de avena y avena-vicia mostraron dos veces más biomasa aérea ($6,6$ y $6,0 \text{ Mg ha}^{-1}$, respectivamente) que el tratamiento de vicia ($3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$) (Cuadro 2.6).

Cuadro 2.6: Análisis de biomasa de los CS: materia seca, carbono (C), nitrógeno (N) y relaciones C/N de biomasa aérea y subterránea de los CS. La producción de biomasa aérea se midió en 2018, mientras que la biomasa subterránea y los contenidos de C y N se estimaron con datos de campo obtenidos en la red de cultivos de servicio AAPRESID-FAUBA 2020. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=3$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p<0,05$) entre tratamientos para cada variable.

Tratamiento	Materia seca (kg/ha)	N estimado en biomasa (kg/ha)	C estimado en biomasa (kg/ha)	Relación C/N estimada
Biomasa aérea				
Avena	$6618,9 \pm 169,0$ (a)	$78,8 \pm 2,0$ (ab)	$2613,8 \pm 66,7$ (a)	33,2
Vicia	$2976,9 \pm 229,6$ (b)	$72,6 \pm 5,6$ (a)	$1132,1 \pm 87,3$ (b)	15,6
Avena/Vicia	$5996,5 \pm 267,5$ (a)	$93,8 \pm 4,2$ (b)	$2341,6 \pm 104,5$ (a)	25,0
Biomasa subterránea				
Avena	$661 \pm 19,9$ (a)	$6,1 \pm 0,2$ (b)	$248,1 \pm 6,3$ (a)	40,7
Vicia	$267 \pm 20,7$ (b)	$7,7 \pm 0,6$ (ab)	$105,8 \pm 8,2$ (b)	13,8
Avena/Vicia	$599 \pm 26,7$ (a)	$9,0 \pm 0,4$ (a)	$228,3 \pm 10,2$ (a)	25,3

Los datos de campo de los experimentos de la red de cultivos de servicio AAPRESID-BASF 2020 (Piñeiro et al., 2019) se utilizaron para estimar la biomasa subterránea de raíces y los contenidos de C y N. La biomasa subterránea estimada para todos los CS fue del 10 % de la biomasa aérea y el contenido de C fue menor en la vicia con una relación C/N más baja que en los tratamientos de avena y avena-vicia. Por el contrario, la avena tuvo los

mayores contenidos de C y relaciones C/N en la biomasa aérea y subterránea (Cuadro 2.6). Las tasas de emisión de N₂O mostraron una relación negativa con las relaciones C/N de la biomasa aérea y subterránea de los cultivos de servicio (Figuras 2.6a y 2.6b).

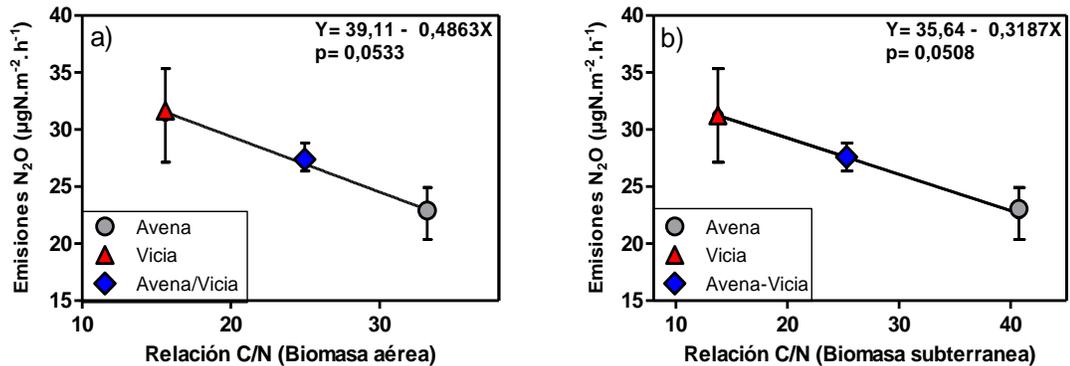


Figura 2.6: Regresiones lineales entre las emisiones promedio de N₂O (µgN-N₂O.m⁻².h⁻¹) y (a) relación C/N de la biomasa aérea de los CS; y (b) biomasa subterránea de los CS. Los puntos son valores medios (±1SE) para cada CS para n=3.

2.3 DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la inclusión de cultivos de servicios en una rotación soja-soja no modificó la tasa media anual de emisión de N₂O en las condiciones experimentales descritas. Sin embargo, las emisiones de N₂O difirieron entre los cultivos de servicio y las parcelas en barbecho durante ciertos períodos del año, como se mostró anteriormente (Fiorini, Codruta, Abalos, Amaducci, et al., 2020; Ruis et al., 2018; Uchida et al., 2013). Las emisiones más altas de N₂O ocurrieron en primavera, después de la terminación de los CS, y antes de la cosecha de soja en otoño, pero las diferencias entre los tratamientos fueron significativas solamente después de la terminación de los CS en la rotación soja-vicia-soja. En ambos períodos, la temperatura del suelo estuvo cerca de los 20 °C y el WFPS fue del 60 %. Por lo tanto, la entrada de biomasa con una relación C/N baja en el CS

con vicia fue la responsable del aumento de las emisiones de N_2O luego de la terminación de los CS. Esto también fue evidente porque antes de la cosecha de soja todas las parcelas tenían soja por lo que la entrada de residuos de cosecha fue la misma en todas las parcelas (residuos con bajo C/N). Sin embargo, la soja que estaba en las parcelas que venían de CS con avena/vicia y avena mostraron mayor rendimiento que se puede asociar con mayor aporte de rastrojo de soja y mayor emisión de N_2O . Durante la primavera, después de la terminación de CS, el aporte de residuos difirió entre tratamientos, con diferente relación C/N en las parcelas de avena, vicia y avena-vicia (sin entrada de residuos en las parcelas en barbecho), lo que explica el aumento de las emisiones de N_2O solo en las parcelas con vicia. Como era de esperarse, las condiciones edáficas fueron modificadas por el manejo agrícola y la fenología de los cultivos (Balota et al., 2014; Gabriel et al., 2012), lo que en algunos tratamientos indujo altas emisiones de N_2O . Al mismo tiempo, el contenido de N inorgánico del suelo (NO_3^- y NH_4^+) fue significativamente mayor en la rotación soja-vicia-soja y el WFPS fue mayor en la rotación soja-avena/vicia-soja que en cualquier otro tratamiento. El contenido de N inorgánico del suelo tuvo un efecto positivo en las emisiones de N_2O independientemente del tratamiento, mientras que el contenido de NO_3^- del suelo y el WFPS fueron las variables que explicaron la variabilidad temporal en las emisiones de N_2O durante el año experimental.

Contrariamente a nuestra primera hipótesis, la inclusión de un CS, sembrado en junio y terminado en octubre, en una rotación de soja continua no redujo la tasa media anual de emisión de N_2O desde el suelo. La inclusión de la vicia como cultivo de servicio mostró un aumento del contenido de NO_3^- y NH_4^+ en el suelo en comparación con los otros CS o con el barbecho. Se ha demostrado que el uso de vicia como cultivo de servicio puede reducir la

lixiviación de nitratos (Gabriel et al., 2012) y aumentar el N mineral del suelo después de la terminación, especialmente cuando se termina tarde en la temporada de crecimiento (Alonso-Ayuso et al., 2014). Además, el WFPS aumentó en todos los tratamientos con CS en comparación con el tratamiento de barbecho, incluso durante los períodos en los que no había CS o cultivo comercial. Si bien, estudios anteriores informaron una disminución del WFPS con CS, la magnitud del efecto depende de las condiciones climáticas y del suelo (Alvarez et al., 2017; Meyer et al., 2019). Durante nuestro estudio, quedaron grandes cantidades de residuos en la superficie del suelo que se acumulan por efecto de tener el suelo con más de un cultivo al año, lo que probablemente limitó la evaporación luego de los grandes eventos de precipitación (Figura Ap-2.2) que precedieron a la siembra del CS (Ogilvie et al., 2019). Aunque los cultivos de servicio redujeron las temperaturas medias del suelo en primavera e inicios del verano, estas reducciones no resultaron en menores emisiones de N_2O . Como esperábamos, el contenido de N inorgánico del suelo y el WFPS fueron las variables ambientales que tuvieron un efecto positivo en las emisiones de N_2O . El aumento en el contenido de N inorgánico del suelo y el WFPS, variables que tienen una relación positiva con las emisiones de N_2O , explicaron los aumentos a corto plazo en las emisiones de N_2O con CS que fueron especialmente evidentes después de la terminación del CS. Estos resultados son consistentes con un metaanálisis realizado por Basche et al. (2014) que mostró mayores emisiones de N_2O con CS, que se atribuyeron a un aumento en la disponibilidad de N mineral en el suelo durante la descomposición de los residuos después de la terminación del CS. Sin embargo, otro metaanálisis (Muhammad et al., 2019) mostró que los CS redujeron las emisiones de N_2O en comparación con el barbecho, excepto cuando el cultivo de servicio involucró una leguminosa. Nuestros resultados destacan la importancia del N inorgánico del suelo en la producción de N_2O de los suelos.

El aumento del N mineral del suelo incrementó las emisiones de N₂O como se demostró en estudios previos que reportaron una relación positiva entre las emisiones de N₂O y el contenido de N inorgánico del suelo en la Región Pampeana de Argentina (C. Alvarez et al., 2012; Araujo et al., 2020; Della Chiesa et al., 2019; Piñeiro-Guerra et al., 2019).

Al igual que otros resultados, el cultivos de soja presentó los valores de emisiones de N₂O más elevados durante la etapa de madurez fisiológica (es decir, antes de la cosecha en otoño) (Della Chiesa et al., 2019; Escobar et al., 2010; Uchida et al., 2013). Al final del ciclo de cultivo y después de la cosecha de soja, la descomposición de los nódulos es una de las principales fuentes de N₂O (Akiyama et al., 2016; Inaba et al., 2009; Obando et al., 2019). Un estudio a campo mostró una relación positiva entre la abundancia de nódulos y las emisiones de N₂O durante la etapa de madurez de la soja (Inaba et al., 2009), por lo que un aumento de los nódulos de la soja al final del ciclo del cultivo podría explicar el aumento observado en las emisiones de N₂O. Aunque no medimos el número de nódulos de soja, los mayores rendimientos de soja en las parcelas con avena y vicia podrían estar asociados con una mayor producción de materia seca y nódulos (Arora et al., 2011; Salvagiotti et al., 2008). Una alternativa para reducir las emisiones de N₂O podría ser sembrar el CS antes de la madurez de la soja, es decir antes de la cosecha, para que el CS pueda capturar el exceso de N del suelo de la descomposición de los nódulos y residuos de la soja y limitar las emisiones de N₂O y otras vías de pérdida de N inorgánico.

Una de las hipótesis de este capítulo plantea que la introducción de un CS reduciría las emisiones de N₂O durante la temporada de crecimiento y especialmente antes de que se terminaran los CS. Sin embargo, nuestros resultados mostraron que las emisiones de N₂O fueron similares entre los tratamientos durante la temporada de crecimiento y hasta 15 días

antes de la terminación de los CS (Figura 2.3). Esto contrasta con un metaanálisis que mostró que las emisiones de N_2O disminuyeron en un 60 % durante la temporada de crecimiento de los cultivos de servicios (Han et al., 2017). Mientras que en los meses de invierno las emisiones de N_2O fueron cercanas a cero, encontramos un pico en las emisiones en todos los tratamientos en agosto (Figura 2.3). Este pico de emisión se interpretó como un “Hot Spot” o "momento caliente", generado como una respuesta breve y desproporcionadamente alta a una combinación de factores como la incorporación de N al suelo o la re-humectación del suelo (Groffman et al., 2009; McClain et al., 2003; Molodovskaya et al., 2012). Aunque las emisiones de N_2O suelen ser bajas a temperaturas del suelo por debajo de los 12 °C, incluso a bajas temperaturas pueden ser altas cuando la WFPS está por encima del 60 % (Cosentino et al., 2013; Theodorakopoulos et al., 2017). De hecho, el pico de emisión de N_2O en agosto estaría asociado con un evento de precipitación antes de la fecha de muestreo (Figura Ap-2.2). Después de humedecer el suelo (24 a 100 horas), la emisión de N_2O cambia según la textura del suelo y la densidad aparente. Los suelos de textura gruesa necesitan más tiempo para mostrar picos de emisión que los suelos de textura fina al igual que en suelos con una densidad aparente cercana a 1,5 $g\ cm^{-3}$ (Beare et al., 2009; Lognoul et al., 2017; Rabot et al., 2015). Además, si el suelo está seco completamente, el tiempo necesario para activar los microorganismos y producir emisiones máximas de N_2O después de la humectación puede ser de varias horas (Lognoul et al., 2017). Por lo tanto, el pico de emisión de N_2O en agosto podría deberse a la combinación de la textura franco-limosa, la densidad aparente 1,3 $g\ cm^{-3}$, y el evento de precipitación 6 días antes del muestreo. En nuestro estudio, detectamos un “hot spot” que representó el 21% de las emisiones durante el año de muestreo. Poder detectar este tipo picos de máxima emisión es muy importante para calcular las emisiones medias anuales de

N₂O. Similares picos de emisión, 24% de las emisiones anuales de N₂O, fueron reportados por Molodovskaya et al. (2012), que a su vez demostró que estos picos pueden ocurrir de 3 a 10 veces al año y dependen de la combinación de temperatura, agua y la disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

Durante la primavera, observamos un incremento significativo en las emisiones de N₂O en el cultivo de vicia durante un mes, desde antes de su terminación y que finaliza 20 días posteriores ($p < 0.05$; Figura 2.2). Después de que terminó el CS, el contenido de NO₃⁻ del suelo aumentó en el tratamiento con vicia ($p < 0.05$) y en menor grado en el tratamiento mezcla de avena/vicia, posiblemente asociado con la baja relación C/N y una alta tasa de descomposición de la biomasa de baja relación C/N de los residuos de cultivos de vicia (Basche et al., 2014; Loick et al., 2017; Notaris et al., 2019; Toma y Hatano, 2007; Cuadro 2.6). Estudios previos también mostraron un aumento en las emisiones de N₂O después de la terminación de CS con gramíneas y leguminosas (Basche et al., 2014; Gomes et al., 2009; Peyrard et al., 2016). La terminación de los CS produjo una acumulación de biomasa seca sobre el suelo y esto incrementó el WFPS en todos los tratamientos con CS (en promedio el WFPS era del 60%) ($p < 0.05$; Figura 2.3). Además, luego de la terminación de los CS, la temperatura del suelo aumentó de 15 a 35 °C, lo que probablemente resultó en un aumento de la actividad microbiana, incluido un aumento de los procesos de mineralización, nitrificación y desnitrificación (Stanford et al., 1975). Como consecuencia, es posible que una alta demanda de oxígeno, sumado al aumento del WFPS haya generado micrositios anaeróbicos, aumentando las condiciones reductoras, lo que habría estimulado la desnitrificación y potencialmente un incremento de la producción de N₂O (Butterbach-Bahl et al., 2013; Smith et al., 2003).

Aunque no encontramos diferencias significativas en las emisiones de N_2O entre CS, nuestros resultados mostraron una relación ligeramente negativa entre las emisiones de N_2O y la relación C/N de los residuos de los CS (Figura 2.6). Las emisiones de N_2O cambiaron con la calidad y la cantidad de residuos al momento de la terminación de los cultivos de servicio, principalmente la relación C/N (Muhammad et al., 2019; Toma et al., 2007). Los residuos de los CS a base de leguminosas (con una relación C/N baja) se descomponen rápidamente y liberan N y C a los organismos del suelo en comparación con las gramíneas (Notaris et al., 2019). Además, se ha observado que en suelos de textura fina, como en nuestro sitio experimental, un aumento en la disponibilidad de C en el suelo incrementa las emisiones de N_2O (Harrison-Kirk et al., 2013). Por el contrario, estudios de 2-3 años de duración mostraron que los tratamientos de especies mixtas aumentaron las reservas de carbono orgánico del suelo y reducen las emisiones de N_2O en comparación con las parcelas en barbecho (Abdalla et al., 2019). Por lo tanto, los experimentos futuros deben incluir más especies de gramíneas, en secuencias de muchos años y evaluar el período de crecimiento de los CS (fechas de siembra y terminación) para optimizar los efectos de sincronizar entre los cultivos comerciales y los cultivos de servicio que potencialmente conducirían a una recomendación de manejo para mejorar el sistema de producción. Estos resultados también muestran que las emisiones de N_2O son muy variables en el tiempo y que se necesitan muestreos más frecuentes para mejorar las estimaciones de emisiones anuales. Sin embargo, nuestro diseño experimental nos permitió comparar cómo los CS modifican las emisiones de N_2O del suelo en las condiciones ambientales del ensayo y se logró comprender cómo se articulan las variables ambientales en sistemas de producción que incluyen CS una zona representativa de las zonas de producción templadas con estos sistemas de cultivo.

2.4 CONCLUSIÓN

En conclusión, los resultados de este capítulo mostraron que la inclusión de diferentes cultivos de servicio sembrados en junio y terminados en octubre en lotes con producción de soja continua no redujo la tasa media anual de emisión de N_2O . Sin embargo, las etapas involucradas en el ciclo fisiológico de los cultivos comerciales, como la senescencia de la soja durante el otoño y el manejo de los cultivos de servicio en primavera, tuvieron una influencia significativa en las emisiones de N_2O . Nuestros hallazgos presentan una oportunidad para analizar más a fondo las fechas de siembra y cosecha que definen el período de crecimiento de los CS. Además, el tipo de cultivo empleado como cultivo de servicio en la rotación de soja es importante, porque los CS con relaciones C/N bajas como la vicia produjeron emisiones de N_2O más altas que las especies con relaciones C/N altas. Dado que el contenido de N inorgánico del suelo y el WFPS controlaron significativamente las emisiones de N_2O , las prácticas de manejo que modifican estas variables son una oportunidad para reducir las emisiones de N_2O . Ajustar las fechas de siembra y finalización de los cultivos de servicio para aumentar su período de crecimiento es una alternativa para lograr una mejor sincronización entre el suministro de N inorgánico a través de la descomposición de los cultivos de servicio y/o comercial y la absorción de N por el siguiente cultivo.

2.5 APÉNDICE

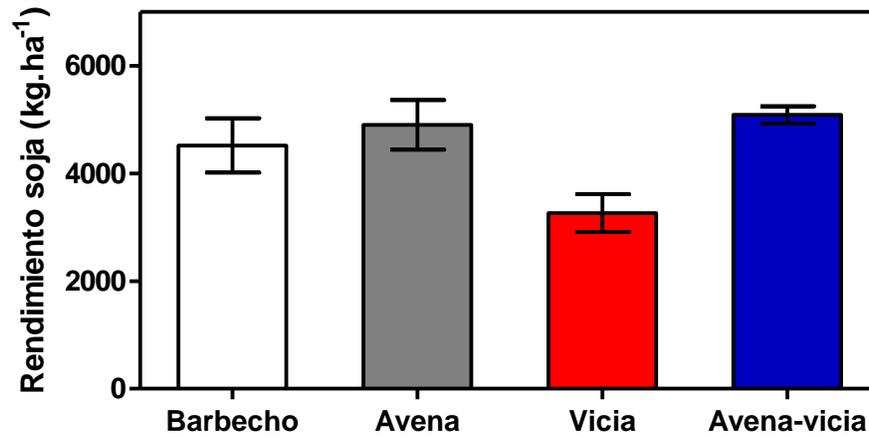


Figura Ap-2.1: Rendimiento de soja (kg/ha) en abril 2018 para todos los tratamientos (Barbecho sin cultivo de servicio y los tres tratamientos con cultivo de servicio). Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=3$. Los rendimientos no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$).

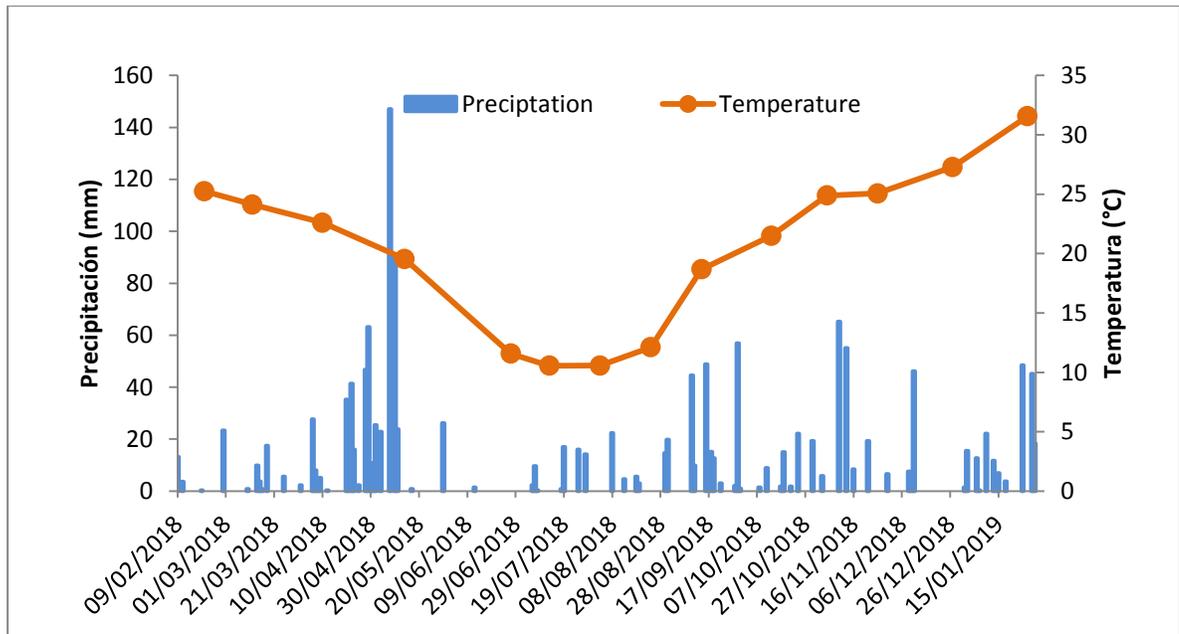


Figura Ap-2.2: Precipitación diaria (mm) y temperatura media (°C) para cada fecha de muestreo durante el período experimental (febrero 2018 - enero 2019).

3 CAPÍTULO 3

Manejo de fecha de siembra y terminación de los cultivos de servicio para reducir las emisiones de N₂O

3.1 INTRODUCCIÓN

La intensificación de los sistemas agrícolas basadas en prácticas agrícolas tradicionales estimulan las emisiones de óxido nitroso (N_2O) del suelo y convierten a la agricultura en una de las principales fuentes de emisión de N_2O (Tian et al., 2020). Además, estos sistemas afectan muchos aspectos del funcionamiento natural de los ecosistemas como el ciclo de nutrientes, la descomposición de la materia orgánica y la regulación de los flujos de C y N y los servicios ecosistémicos esenciales para los seres humanos como la descontaminación del medio ambiente, el control de plagas y enfermedades para humanos, animales y plantas (Brevik et al., 2015). Las emisiones de diferentes gases de efecto invernadero de los suelos agrícolas y la lixiviación de nutrientes a la napa freática subterránea generan deterioros en recursos naturales clave para la vida (Novara et al., 2013). Por este motivo, se están estudiando entre otros aspecto, diferentes manejos agrícolas para contribuir a la mitigación del aumento de la concentración del N_2O en la atmósfera. Una de la alternativas de manejo para ello que parece muy promisoria es la incorporación de cultivos de servicio (CS) en sistemas con rotaciones simplificadas (Abdalla et al., 2014; Fiorini, Codruta, Abalos, & Amaducci, 2020; Kaye et al., 2017; Ruis et al., 2018). Los cultivos de servicio también llamados cultivos de cobertura son cultivos no comerciales sembrados entre dos cultivos comerciales para recuperar múltiples servicios ecosistémicos del suelo (García-gonzález et al., 2018; Garland et al., 2021; Ogilvie et al., 2019), con respuestas positivas que a veces exceden al sistema suelo, como la prevención de plagas o un control de malezas más sustentable. Se ha observado que estos cultivos pueden mejorar la comunidad microbioma del suelo (Kim et al., 2020), reducir la lixiviación de NO_3^- (Plaza-Bonilla et al., 2015; Sedghi et al., 2022), aumentar el carbono

edáfico (Duval et al., 2016) y mejorar el balance hídrico, entre otros beneficios (Gabriel et al., 2012). Pero, la capacidad de los CS para reducir las emisiones de N_2O es incierta porque hay muchas variables que afectan las emisiones de N_2O , y evidencias previas muestran reducciones o aumentos en las emisiones de N_2O en rotaciones que incluyen CS (Butterbach-Bahl et al., 2013; Ruis et al., 2018; Wagner-riddle et al., 2020). Los resultados del capítulo 2 de esta tesis muestran que la inclusión de los CS en rotaciones con soja no modificó las emisiones de N_2O , sin embargo permitió conocer su respuesta al manejo y su temporalidad. Decisiones relacionadas con el CS como los diferentes tipos de CS, su fecha de siembra y su fecha de terminación pueden afectar significativamente las emisiones de N_2O .

En el suelo, las emisiones de N_2O son generadas principalmente por procesos microbianos de nitrificación y desnitrificación que dependen de las propiedades físico-químicas del suelo y de los cultivos (Gregorich et al., 2015; Firestone y Davidson, 1989). La desnitrificación y la nitrificación utilizan el nitrógeno (N) inorgánico disponible en el suelo, resultando en la producción de N_2O , dependiendo de la concentración de oxígeno (O_2) (Liang y Robertson, 2021). La desnitrificación se promueve cuando la disponibilidad de O_2 del suelo es baja, mientras que la nitrificación tiene lugar cuando la disponibilidad de O_2 es alta. Ambos procesos se relacionan directamente con el contenido de agua del suelo (Davidson, 1991). Además, el consumo heterótrofo de C lábil consume O_2 y produce condiciones de anoxia en el suelo cuando la disponibilidad de C es alta, estimulando la desnitrificación (Butterbach-Bahl et al., 2013). Diferentes cultivos de servicio pueden cambiar el contenido de N del suelo y, en consecuencia, las emisiones de N_2O . La utilización de gramíneas como cultivos de servicio puede disminuir las emisiones de N_2O al

aumentar la absorción de N inorgánico y reducir el contenido de N disponible en el suelo en comparación con las leguminosas o los sistemas agrícolas convencionales con barbechos invernales (Abdalla et al., 2014; Sanz-Cobena et al., 2014). Se espera que la adición al suelo de residuos de cultivos de servicio de leguminosas, caracterizados por una relación C/N baja, aumente las emisiones de N₂O en comparación con las emisiones de cultivos que no son leguminosas. La relación C/N de los residuos vegetales regula la disponibilidad de N mineral, ya que es inmovilizado por los microorganismos del suelo o liberado a la solución del suelo a través de la mineralización (Fiorini, et al., 2020). Estudios anteriores demostraron que las emisiones de N₂O disminuyeron con el aumento de la biomasa de los cultivos de servicio y con aumentos en la relación C/N de los residuos; en esos casos, se vio que las emisiones de N₂O aumentaron después de la terminación de los cultivos de servicio con leguminosas, con baja relación C/N (Basche et al., 2014; Dalal et al., 2003; Muhammad et al., 2019; Negassa et al., 2015b; Peyrard et al., 2016). Sin embargo, se espera que la magnitud de la respuesta a la adición de residuos de leguminosas dependa de las condiciones ambientales y del suelo (Rochette et al., 2004). En este sentido, la variabilidad de las emisiones de N₂O se ve afectada por la calidad y cantidad de la biomasa de los CS, el contenido de agua del suelo, la temperatura del suelo y la duración de los cultivos de servicio. Por lo tanto, es muy importante entender cómo estos factores afectan en su conjunto las emisiones de N₂O.

Dentro de un mismo suelo y posición topográfica, la variación espacial de los flujos de N₂O y la dinámica temporal están fuertemente relacionadas con el tipo de cultivo y su manejo (Araujo et al., 2020; Negassa et al., 2015a). En los cultivos de soja, la dinámica temporal de las emisiones de N₂O depende la disponibilidad de N mineral, que está

determinada por la senescencia del cultivo y la absorción de N por el cultivo (Della Chiesa et al., 2019; Uchida y Akiyama, 2013). Durante la senescencia, la descomposición de raíces y nódulos de las plantas de soja aumenta las emisiones de N₂O debido a la alta concentración de N en los tejidos (Uchida y Akiyama, 2013). Durante largos períodos de barbecho invernal, las altas emisiones de N₂O están asociadas con la temperatura del suelo (>15 °C), el contenido de agua del suelo (>55 % de WFPS) y la disponibilidad de N inorgánico en el suelo (Risk et al., 2014). Por el contrario, cuando un CS de invierno está creciendo durante este período, las emisiones de N₂O suelen ser bajas en comparación con el barbecho, pero después de la terminación del CS, las emisiones de N₂O pueden aumentar en las parcelas con CS, especialmente si éstos incluyen leguminosas (Petrasek et al., 2022). Cuando los CS se siembran tarde o terminan antes de tiempo, dejando períodos de barbecho después de la cosecha del cultivo comercial o antes de sembrar el siguiente cultivo comercial, las emisiones de N₂O parecen ser altas y, por lo tanto, los CS pueden no reducir las emisiones de N₂O (Negassa et al., 2015a; Peyrard et al., 2016; Sanz-Cobena et al., 2014; Thomas et al., 2017). Por lo tanto, mejorar el manejo de los CS con periodos de barbecho lo más cortos posible, gracias a períodos más largo de CS creciendo entre los cultivos comerciales, sería una alternativa para mitigar las emisiones de N₂O de los cultivos comerciales.

Optimizar la sincronización entre el establecimiento de un cultivo comercial y un cultivo que cubra el período de barbecho (como los CS) permite tener el suelo cubierto todo el año, mejorar la eficiencia del uso de nutrientes y agua del suelo, aportar C al suelo y reducir la degradación del suelo y mejorar la sostenibilidad del sistema (Tanveer et al., 2017). El cultivo de relevo o “relay cropping” es un método en el que un cultivo se siembra sobre otro

cultivo que aún no se ha cosechado y sus ciclos se superponen durante un período de tiempo (Della Chiesa, et al., 2022; Heaton et al., 2013; Queen et al., 2009). El cultivo de relevo con leguminosas está especialmente diseñado para mejorar la captura y el ciclo de nutrientes mediante la fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico (Peoples et al., 2009), y produce beneficios como la reducción de la lixiviación de nutrientes y, en consecuencia, la eutrofización del agua (Schepers et al., 2005). La fecha de finalización de los cultivos de servicio es muy importante para el período de barbecho de primavera porque los CS puede tener impactos negativos en el rendimiento de los cultivos de verano al reducir la disponibilidad de agua y nutrientes del suelo (Alonso-Ayuso et al., 2014; Nevins et al., 2020). Cuando la terminación de los CS es temprana, hay tiempo suficiente para dejar disponible los nutrientes al siguiente cultivo comercial, pero largos períodos de barbecho también pueden producir excesivas pérdidas de nutrientes por ejemplo a través de emisiones de N_2O . En contraste, en la terminación tardía de los CS, los períodos de barbecho son más cortos o inexistentes y, por lo tanto, las emisiones de N_2O podrían ser más bajas. Sin embargo, la producción de biomasa de los CS es más alta y pueden concentrar más N en los tejidos, produciendo una alta disponibilidad de N mineral en momentos en que hay una baja absorción por los cultivos de verano. En los casos en que los CS incluyen leguminosas, esto puede llevar a un aumento de las emisiones de N_2O (Alonso-Ayuso et al., 2014; Plaza-Bonilla et al., 2015). En definitiva, las fechas de siembra y terminación de los CS junto con su identidad parecen ser claves para determinar la efectividad de los CS en mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero.

Los objetivos del estudio desarrollado en este capítulo son: a) evaluar los efectos de la incorporación de diferentes CS con fechas contrastantes de siembra y terminación sobre la

dinámica temporal de las emisiones de N₂O en monocultivos de soja; b) evaluar los mecanismos e impulsores asociados con estos cambios. Las hipótesis que se pusieron a prueba son que: a) la siembra temprana de los CS reduce los flujos de emisiones de N₂O en comparación con las fechas de siembra tardías; b) las fechas de terminación anticipada aumentan los flujos de emisión de N₂O, especialmente en los cultivos de servicio que incluyen leguminosas, mientras que la terminación tardía reduce los flujos de emisión de N₂O independientemente del tipo de cultivo de servicio.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Sitio de estudio

El experimento se realizó de febrero de 2019 a enero de 2020 en un establecimiento agrícola (34°39'01,5" S 59°09'27,8" O), 15 km al SO de la ciudad de Luján, Buenos Aires, Argentina, en la Pampa Ondulada. El suelo del sitio experimental se clasifica como un Argiudol ácuico de textura franco (36,28 % arena, 22,44 % arcilla y 41,28 % limo) (Soil Taxonomy, 2006) con pendiente promedio <1%, un 2,58% de carbono orgánico y un pH 6,17. La precipitación media anual es de 1.090 mm/año y la temperatura media anual es de 15,6°C. La vegetación potencial del área es pastizal natural con presencia de especies forrajeras perennes. El lote seleccionado para realizar el experimento ha estado bajo producción agrícola con rotaciones de pasturas por más de 50 años, con un cultivo anual cada cinco años, pero en los últimos dos años se ha realizado monocultivo de soja.

3.2.2 Diseño experimental

Instalamos dos experimentos consecutivos en una parcela agrícola con rotación continua de soja (*Glycine max* (L.) Merr). El primer experimento (siembra y crecimiento de los CS) consistió en parcelas de 50 m² (5m x 10m) sembradas con los siguientes cultivos de

servicio: avena (*Avena sativa* L.), vicia (*Vicia villosa* Roth.) y una mezcla de avena y vicia. Los CS se sembraron en relevo en dos momentos del año, ambos con cultivos de soja en pie, treinta días y nueve días antes de la cosecha de soja (10 de abril). La combinación de los tres tipos CS con las dos fechas de siembra generó los siguientes seis tratamientos: Avena 1^{ra} fecha siembra (A-1fs), Vicia 1^{ra} fecha siembra (V-1fs), Avena/Vicia 1^{ra} fecha siembra (AV-1fs), Avena 2^{da} fecha siembra (A-2fs), Vicia 2^{da} fecha siembra (V-2fs), Avena/Vicia 2^{da} fecha siembra (AV-2fs). También incorporamos un tratamiento testigo o control consistente en un barbecho de soja sin CS (barbecho). Los tratamientos se dispusieron en un diseño en bloques completos al azar con seis repeticiones. Los cultivos de servicio de primera fecha de siembra se sembraron el 11 de marzo, treinta días antes de la cosecha de soja (la soja estaba en R5.3, escala fenológica; (Fehr et al., 1971). Los CS sembrados en segunda fecha se sembraron el 1 de abril, nueve días antes de la cosecha de soja (la soja estaba en R8, escala fenológica; (Fehr et al., 1971). En el entresurco de la soja y a una distancia de 32 cm se sembraron los cultivos de servicio con una sembradora manual de una hilera en diferentes densidades según el tipo de cultivo: 70 kg semilla ha⁻¹ para avena, 40 kg semilla ha⁻¹ para vicia y 60-40 kg semilla ha⁻¹ para la mezcla avena-vicia. Al momento de la siembra, las semillas de vicia fueron inoculadas con *Rhizobium leguminosarum biovar viceae*.

El segundo experimento (terminación de los CS) se estableció después de finalizar el primer experimento, en las parcelas experimentales que habían sido sembradas el 11 de marzo (primera fecha de siembra). Estas parcelas se dividieron en dos para generar subparcelas de 5 x 5 m cada una que fueron adjudicadas al azar a uno de los tratamientos de fechas terminación: setenta y treinta días antes de sembrar la próxima soja (14 de noviembre). Los tratamientos del segundo experimento se formaron por la combinación de

los tres tipos de CS y las dos fechas de terminación, de la siguiente manera: Avena de 1^{ra} fecha de terminación (A-1ft), Vicia de 1^{ra} fecha de terminación (V-1ft), Avena/Vicia de 1^{ra} fecha de terminación (AV-1ft), Avena de 2^{da} fecha de terminación (A-2ft), Vicia de 2^{da} fecha de terminación (V-2ft), Avena/Vicia de 2^{da} fecha de terminación (AV-2ft). Se continuó midiendo también en el tratamiento barbecho (testigo) sin CS. Como consecuencia de estas dos fechas de terminación, en las parcelas con CS se generaron dos períodos de barbecho primaveral: barbecho largo, constituido por primera fecha de terminación de los CS el 3 de septiembre, setenta y dos días antes de la siembra de soja; y barbecho corto, constituido por segunda fecha de terminación de los CS realizada el 15 de octubre, treinta días antes de la siembra de soja. Los cultivos de servicio se terminaron con la aplicación de glifosato [*N-(fosfonometil) glicina*] a razón de 2,5 L ha⁻¹. El cultivo de soja se inoculó con *Bradyrhizobium japonicum*, cepa, E109. Las emisiones de N₂O se midieron durante dos períodos, el período de crecimiento de los CS y después de la terminación de los CS, como se describe a continuación.

3.2.3 Muestreo y determinaciones de gas y suelo

Los muestreos de gases y suelos se realizaron desde abril de 2019 hasta enero de 2020, en intervalos de 20 días, usando el mismo protocolo de muestreo que en el experimento descrito en el capítulo 2. Se excluyeron del muestreo los meses de junio, julio y agosto, temporada de invierno porque los resultados del experimento anterior (Capítulo 2 de esta tesis) e investigaciones previas en la región mostraron que cuando la temperatura del suelo está por debajo de los 10 °C, las emisiones de N₂O son cercanas a cero (Araujo et al., 2020; Della Chiesa et al., 2019; Piñeiro-Guerra et al., 2019). Las emisiones de N₂O se determinaron mediante el método de cámaras estáticas, siguiendo el protocolo adaptado por Parkin y Venterea (2010) y (De Klein y Harvey, 2012). Se colocaron cámaras de plástico

(*policloruro de vinilo* [PVC]) de 37 cm de largo x 25,5 cm de ancho x 14 cm de alto, cubiertas con una película de aluminio que refleja la luz y ventiladas con un tubo de acero inoxidable de 10 cm de largo, sobre bases de hierro enterradas previamente hasta una profundidad de 8 cm (Parkin y Venterea, 2010). Durante el tiempo de muestreo, las cámaras se colocaron sobre bases de hierro y se sellaron con agua. Si en el momento del muestreo la cámara contenía plantas dentro de la base, recortamos la biomasa aérea a 5 cm. Las bases de hierro se enterraban perpendicular al surco, tomando parte del sueco y parte entresurco. Las muestras de gas se tomaron con una bomba de vacío manual (Mytivac) y se almacenaron en un vial de 10 ml con sellos de goma de caucho. Antes de cada extracción, los viales se evacuaron generando 85 kPa. Las emisiones de N_2O se estimaron mediante extracciones de gas sucesivas de cada cámara a los 0, 15 y 30 minutos después del colocar de la cámara. Dentro de los 10 días de la recolección, analizamos las muestras inyectando una submuestra de 0,5 ml con una jeringa en un cromatógrafo de gases (GC, 6890 Agilent Technologies Network) con detector de captura de electrones de 63 Ni Agilent, equipado con una columna HP-Plot Molesieve (30 m ´ 530 mm ´ 25 mm), en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Las emisiones de N_2O se calcularon utilizando modelos de regresión lineal de las tres extracciones de gas (De Klein y Harvey, 2012). Por lo menos cinco días antes de la siguiente fecha de muestreo, trasladamos las bases de hierro a un sitio no perturbado dentro de cada parcela experimental para realizar el siguiente muestreo de N_2O .

3.2.4 Variables auxiliares

Durante cada fecha de muestreo de N_2O , registramos la temperatura del suelo (0-10 cm) con termómetro y después de tomar las muestras de aire, extrajimos tres submuestras de suelo de 0-10 cm de profundidad dentro de cada base de hierro y las mezclamos para

formar una sola muestra. Las muestras de suelo se transportaron refrigeradas y en el laboratorio se pesó una submuestra de 5 g y se secó a 105°C hasta peso constante (2 o 3 días). Usamos la muestra seca para estimar el contenido gravimétrico de agua del suelo (g.g^{-1}). Luego calculamos WFPS asumiendo una densidad real de $2,65 \text{ g cm}^{-3}$ usando la fórmula:

$$WFPS (\%) = \text{contenido de agua del suelo} \times \left(\frac{\text{Densidad aparente}}{\text{Porosidad de suelo}} \right)$$

Otra submuestra de suelo se secó a 30°C durante 48 h y se tamizó con malla de 2 mm de apertura. El NO_3^- del suelo se determinó por extracción con KCl 2 M por el método de Bremner, (1965) y Keeney y Nelson (1982). El contenido de NH_4^+ del suelo se determinó por espectrofotometría usando extracción con K_2SO_4 (Baethgen y Alley, 1989). La temperatura, el WFPS y el contenido de nitrato y amonio del suelo se analizaron para luego evaluar su efecto como variable de control de las emisiones de N_2O .

Además, la biomasa de cultivos de servicio se estimó antes de cada fecha de terminación. La biomasa aérea se cosechó cortando la vegetación hasta 2 cm sobre el suelo con un marco de $0,25 \text{ cm}^2$. Las biomásas vegetales recolectadas se secaron a 60°C hasta un peso constante para calcular el material seco aéreo (kg.ha^{-1}).

3.2.5 Análisis estadístico

Para evaluar los efectos de los CS sobre las emisiones de N_2O , separamos el análisis en dos períodos considerando los experimentos descritos anteriormente. El primer período “siembra y crecimiento de los CS” (desde el 24 de abril al 29 de mayo) incluyó etapas iniciales del CS y tenía como objetivo evaluar los efectos de las diferentes fechas de siembra de los CS sobre las emisiones de N_2O durante el crecimiento de los CS, mientras que el segundo período “terminación de los CS” (desde el 2 de septiembre al 16 de enero)

tenía como objetivo evaluar los efectos de diferentes fechas de terminación sobre las emisiones de N₂O. A su vez, el período de terminación de los CS se dividió en subperíodos que se clasificaron según el manejo y el estado fenológico de los cultivos. Separamos nuestro análisis en tres subperíodos: 'Crecimiento máximo de los CS' (desde el 2 de septiembre de 2019 hasta 10 días posterior a la terminación de los CS), 'Barbecho de primavera' (10 días luego de la terminación del CS a siembra de soja) y 'Crecimiento de soja' (desde siembra de soja a enero).

Calculamos el efecto de los cultivos de servicio sobre las emisiones de N₂O utilizando el logaritmo natural de la relación entre los tratamientos con CS y barbecho, de la siguiente manera:

$$\lnRR = \ln (\text{emisiones N}_2\text{O de los CS} / \text{emisiones N}_2\text{O del barbecho}).$$

Comparamos el efecto de los CS sobre las emisiones de N₂O y con los factores de control para cada fecha de muestreo, luego, usamos pruebas de *t* para evaluar cada efecto de los CS. Se utilizaron modelos de efectos mixtos lineales para explorar regresiones múltiples entre los lnRR de las emisiones de N₂O y los factores de control, utilizando la función '*lme*' del paquete *nlme* en el lenguaje estadístico R (R Core Team 2013; Pinheiro et al., 2000). Usamos los tratamientos como factor fijo y los bloques como efectos aleatorios.

Finalmente, para evaluar los efectos de los CS sobre los diferentes factores de control de emisiones de N₂O, usamos modelos de ecuaciones estructurales (SEM) a través del paquete SEM para el lenguaje estadístico R (Lefcheck, 2015). Este paquete usa un conjunto de ecuaciones lineales estructuradas y las analiza mediante modelos mixtos lineales, poniendo a prueba un modelo conceptual definido *a priori* (Apéndice; Figura Ap-3.1). Usamos la

función '*lme*' del paquete nlme, incluyendo bloques y fechas como factores aleatorios. Utilizamos valores no significativos ($p > 0,05$) y C de Fisher para indicar la bondad del ajuste.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Siembra y crecimiento de los CS

Considerando los tres tipos de cultivo de servicio evaluados, durante la temporada de crecimiento de estos, la siembra temprana mostró en promedio menores valores de emisiones de N_2O ($7,42 \pm 0,93 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), que la siembra tardía de los CS ($12,87 \pm 1,67 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$; $p < 0,05$). Las emisiones en las parcelas testigo en barbecho ($11,29 \pm 5,55 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) no difirieron significativamente de los promedios de los CS en ninguna de las fechas de siembra. Sin embargo, al evaluar la dinámica temporal de las emisiones de N_2O durante los primeros meses después de sembrar los CS, las emisiones de N_2O fueron similares o menores que las de las parcelas en barbecho y dependieron de la especie de CS sembrada temprano (Figura 3.1a). Para la situación de CS sembrada más tarde, las emisiones fueron mayores en los CS que en las parcelas en barbecho (Figura 3.1b). Particularmente el 12 y 29 de mayo, las emisiones de N_2O fueron menores en el tratamiento avena/vicia que el barbecho (Figuras 3.1a y 3.1b).

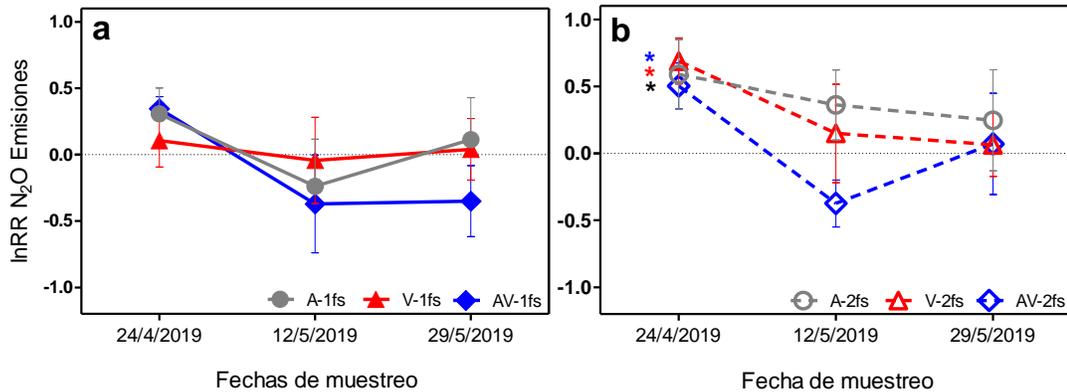


Figura 3.1: Variaciones temporales en el logaritmo natural en las tasas de respuesta ($\ln RR$) de las emisiones de N_2O de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla avena y vicia) sembrados (a) Temprano, el 11 de marzo y (b) Tarde, el 1 de abril, período de siembra y crecimiento de los CS. La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las emisiones de N_2O entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha siembra (A-1fs), Vicia 1^{ra} fecha siembra (V-1fs), Avena/Vicia 1^{ra} fecha siembra (AV-1fs), Avena 2^{da} fecha siembra (A-2fs), Vicia 2^{da} fecha siembra (V-2fs), Avena/Vicia 2^{da} fecha siembra (AV-2fs). Los asteriscos muestran diferencias significativas de cero para cada fecha de muestreo ($p < 0,05$).

Los cultivos de servicio afectaron diferencialmente las variables ambientales, principalmente el WFPS y el contenido de nitrato del suelo ($p < 0,05$). La A-1fs, la AV-1fs y AV-2fs redujeron el contenido de nitrato del suelo y el WFPS durante el período de crecimiento de los CS. Sin embargo, la reducción del contenido de nitrato y de la wfps fue más evidente durante la última fecha de muestreo, 79 días después de la siembra de avena sola o en mezcla (A-1fs y AV-1fs; Figuras 3.2a y 3.2c). Finalmente, cuando integramos todas las fechas y tratamientos con CS, encontramos una relación entre el $\ln RR$ de N_2O y el $\ln RR$ de nitrato del suelo (pendiente= $0,450 \pm 0,163$, $R^2=0,188$, $p < 0,05$). Esto quiere decir que cuando el CS disminuye el nitrato del suelo, el CS también disminuye las emisiones de N_2O . Sin embargo, cuando las fechas se analizaron individualmente, la última fecha mostró el mayor efecto (pendiente= $0,814 \pm 0,228$, $R^2=0,273$, $p < 0,05$).

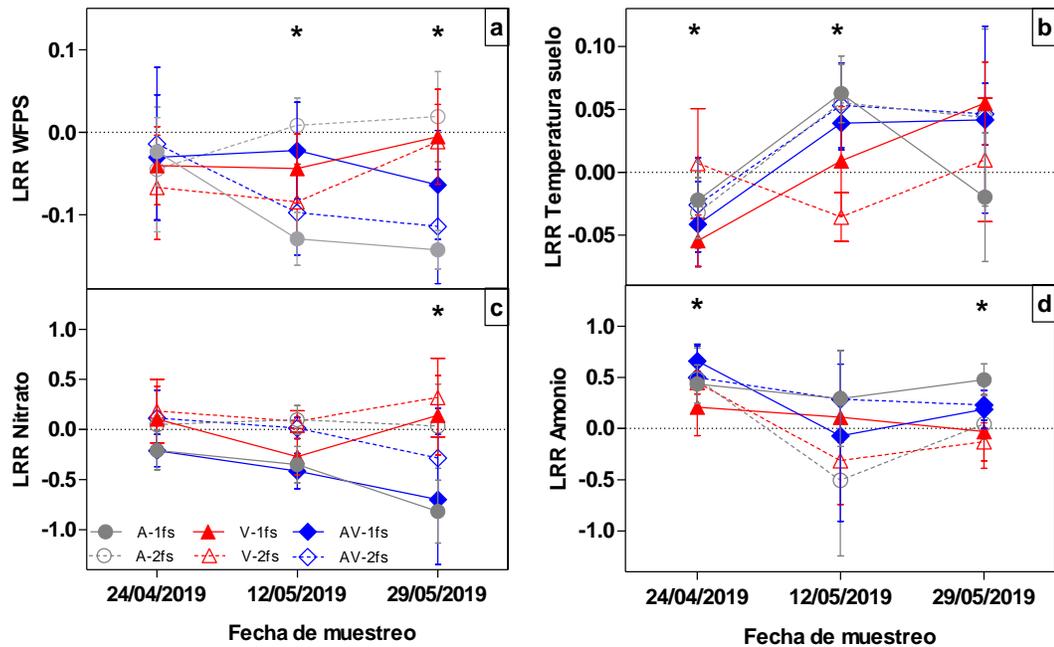


Figura 3.2: Variación temporal del efecto de los CS en las variables ambientales estimado como el LnRR (CS/Barbecho); (a) espacio poroso lleno de agua (WFPS); (b) temperatura del suelo; (c) nitrato y (d) amonio para los cultivos de servicios (avena, vicia y avena/vicia) sembradas en diferentes fechas (primera y segunda), período de siembra y crecimiento de los CS. La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las variables entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran los efectos significativos de los CS sobre las variables ambientales en cada fecha de muestreo ($p<0,05$).

3.3.2 Terminación de los CS

Durante el segundo experimento, la fecha de terminación modificó las emisiones de N_2O en las parcelas con CS ($p<0,05$). En este experimento, el tratamiento con avena/vicia de 1ra fecha de terminación mostró las emisiones de N_2O más bajas en promedio para todo este período ($36,01\pm 8,57 \mu\text{g } N_2O\text{-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Estas emisiones representan un 28,8 % menos de que lo que se emite en el tratamiento con barbecho, ($p<0,05$; Figura 3.3). Las emisiones de N_2O fueron muy variables en el tratamiento vicia de segunda fecha de terminación y a su vez fue el tratamiento que mostró los valores mayores ($137,48\pm 37,39 \mu\text{g } N_2O\text{-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$),

un 171,8% superior al barbecho ($p > 0,05$, Figura 3.3). En todos los casos, los tratamientos terminados en segunda fecha emitieron más N_2O que los terminados en primera fecha, pero la diferencia fue significativa en el tratamiento avena/vicia solamente (Figura 3.3; $p < 0,05$).

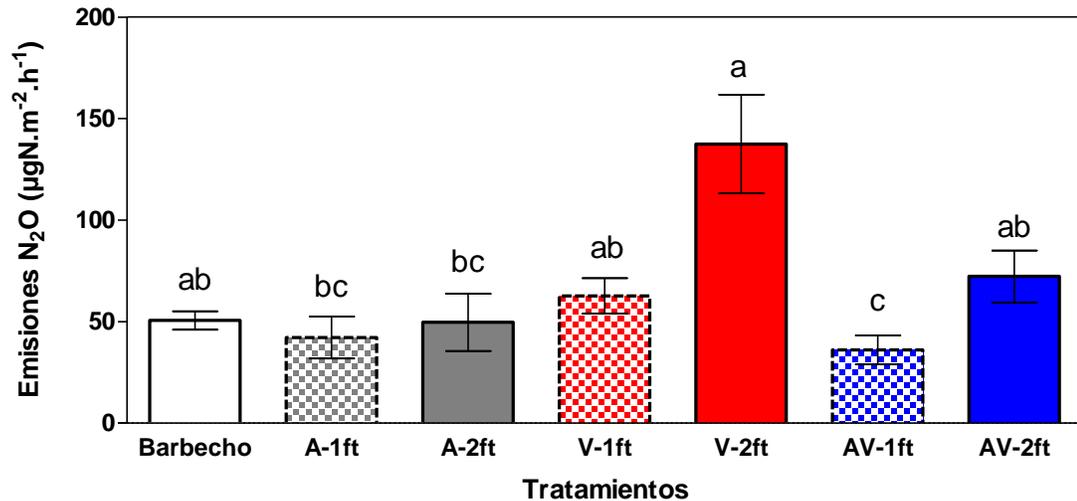


Figura 3.3: Emisiones medias de N_2O ($\mu g N_2O-N m^{-2} h^{-1}$) para cada tratamiento en el periodo de terminación de los CS (2 de septiembre 2019-16 de enero 2020). Las barras representan los valores medios para la emisión de N_2O y los bigotes muestran ± 1 error estándar para $n = 6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). Los tratamientos son Barbecho, Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).

Las emisiones de N_2O mostraron cambios en la dinámica temporal en los subperíodos en el experimento de terminación que dependió del estado y manejo de los cultivos de servicio ($p < 0,05$). Dado el gran contraste en la cobertura vegetal, analizamos el período de terminación separado en tres subperíodos: (A) crecimiento máximo de los CS, (B) barbecho de primavera y (C) crecimiento de soja. Durante el crecimiento máximo de los CS (3 de septiembre y 15 de octubre), los tratamientos con CS mostraron una reducción en las emisiones de N_2O independientemente de la fecha de terminación y el tipo de cultivo de servicio y este efecto se mantuvo quince días después de la terminación de los CS ($p < 0,05$,

Figura 3.4a) . Durante el subperíodo de barbecho de primavera, los tratamientos que tenían solo vicia aumentaron las emisiones de N₂O en comparación con el barbecho y no se relacionaron con la fecha de terminación o la duración del barbecho ($p < 0,05$, Figura 3.4b). Finalmente, durante el subperíodo de crecimiento de soja, las emisiones de N₂O en las parcelas con CS fueron similares a las emisiones del tratamiento de control (Figura 3.4c).

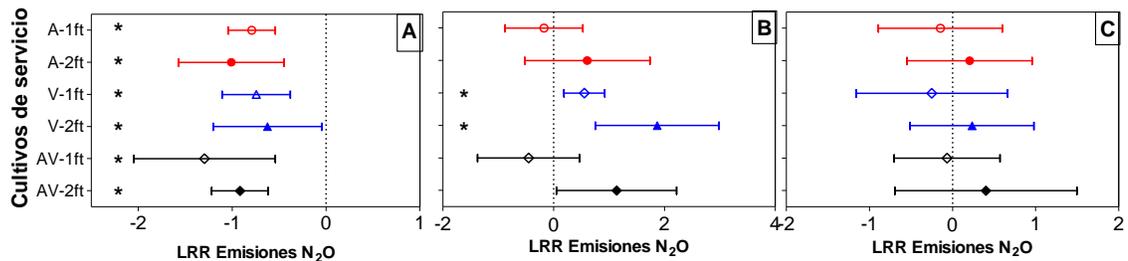


Figura 3.4: Efecto de los CS sobre las emisiones de N₂O estimado como Relación de respuesta ($LRR = CS/Barbecho$) en los subperíodos: (A) máximo crecimiento de los CS, (B) barbecho de primavera y (C) crecimiento de soja. Las líneas punteadas verticales muestran el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las emisiones entre las parcelas con los CS y el barbecho. Los puntos son medias \pm intervalos de confianza para $n=6$. Los asteriscos muestran un efecto significativo de los CS sobre las emisiones de N₂O durante el período correspondiente ($p < 0,05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).

Cuando analizamos la dinámica temporal de las emisiones de N₂O de cada tratamiento, encontramos que las emisiones de N₂O variaban según el CS y la fecha de terminación, principalmente en los subperíodos de máximo crecimiento de CS y barbecho primaveral. Antes de la terminación de los CS, los CS redujeron las emisiones de N₂O independientemente del tipo de CS en los tratamientos que se terminaron en primera fecha ($p < 0,05$), además el tratamiento de avena/vicia de primera fecha de terminación mostró diferencias con el control quince días después de la terminación ($p < 0,05$, Figura 3.5a). Los resultados muestran que cuando se retrasa la terminación, el tratamiento con avena reduce

las emisiones de N_2O antes de la terminación y quince días después de la terminación ($p < 0,05$, figura 3.5b). Sin embargo, las emisiones de N_2O aumentaron significativamente en el tratamiento de vicia durante los períodos de barbecho de primavera cuando se retrasa la terminación ($p < 0,05$, Figura 3.5b).

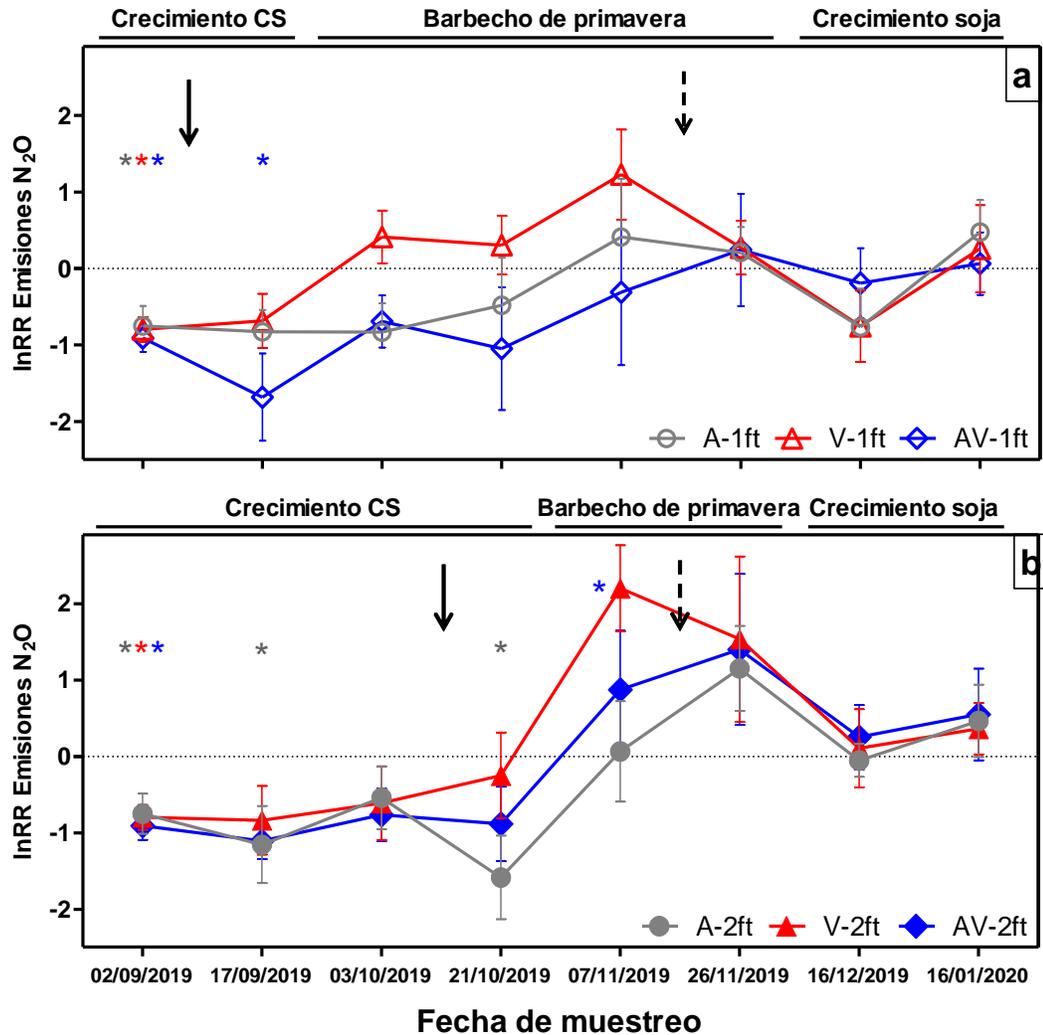


Figura 3.5: Variación temporal del efecto de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla de avena y vicia) en las emisiones de N_2O , estimado como el logaritmo natural de la tasa de respuesta (LRR (CS/Barbecho)) en dos fechas de terminación (a) primera (3 de septiembre) y (b) segunda (15 de octubre). La línea punteada horizontal muestra el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las emisiones entre las parcelas con los CS y el barbecho. Las flechas completas representan la fecha de finalización de los cultivos de

servicio y las flechas discontinuas la fecha de siembra de la soja. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran diferencias significativas de cero en cada fecha de muestreo ($p<0,05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).

Los cultivos de servicio modificaron el WFPS durante los períodos de máximo crecimiento de los CS. El WFPS fue menor en los tratamientos con CS antes de la terminación de los CS independientemente de la fecha de terminación, pero aumentó después de la terminación ($p < 0,05$, Figura 3.6). En el mismo sentido, el contenido de nitrato del suelo fue menor respecto al barbecho mientras los CS estaban creciendo, pero luego de la terminación el contenido de nitratos del suelo aumentó ($p < 0,05$, Figura 3.6). Coincidentemente, hubo incrementos significativos en las emisiones de N_2O luego de la terminación, pero fue más evidente en vicia y avena/vicia que en avena para las dos fechas de terminación. Por el contrario, el efecto del CS sobre la temperatura del suelo y el contenido de amonio fueron variables y no mostró patrones estacionales durante el segundo experimento (Figura 3.6).

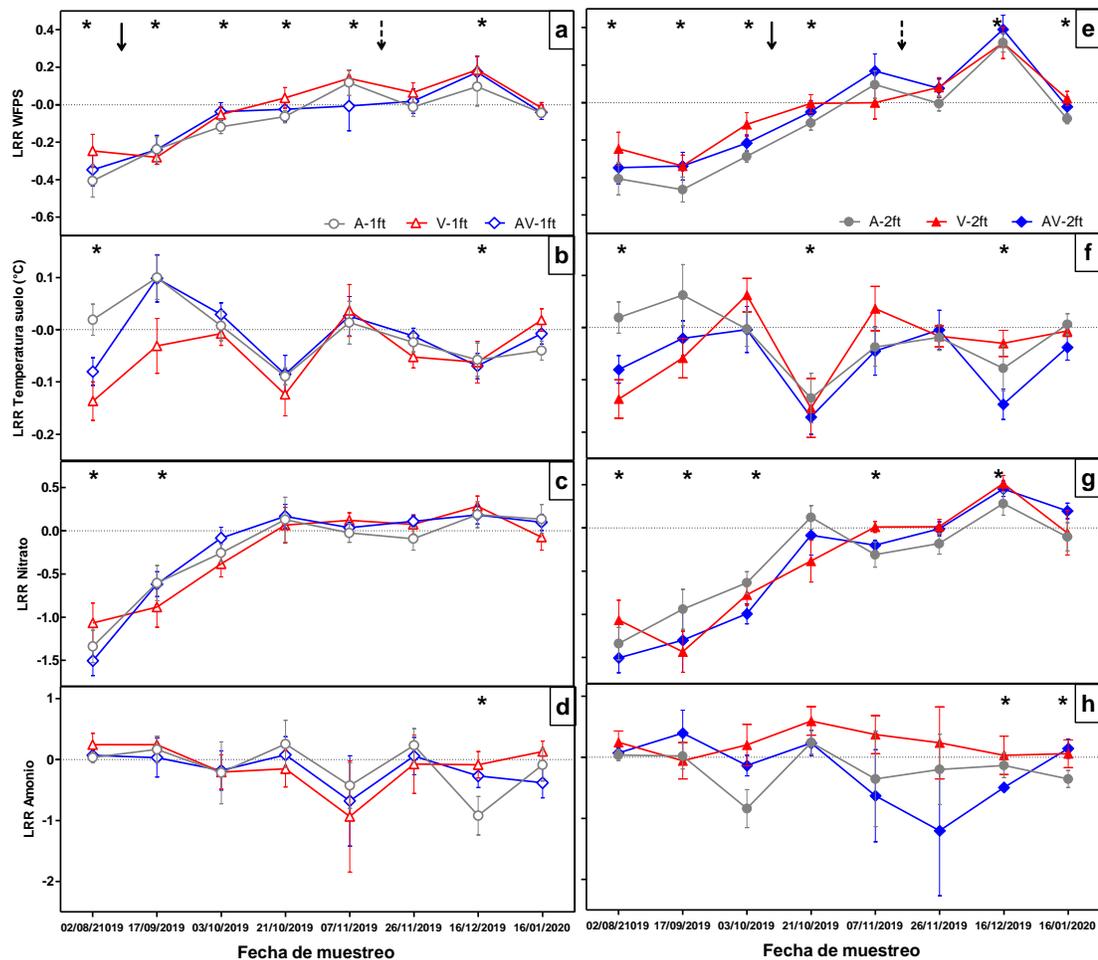


Figura 3.6: Variación temporal de los efectos de los cultivos de servicios (avena, vicia y mezcla de avena y vicia) en las variables de control estimados como el logaritmo natural de la tasa de respuesta ($LRR=CS/Barbecho$) en las fechas de terminación primera (3 de septiembre; paneles de la izquierda) y segunda (15 de octubre; paneles de la derecha). En los paneles *a*, *b*, *c* y *d* están expresadas las variables LRR WFPS, LRR temperatura de suelo, LRR nitrato y LRR amonio para la fecha de terminación primera. En los paneles *e*, *f*, *g* y *h* se expresan las mismas variables, pero para la segunda fecha de terminación. Las líneas punteadas horizontales muestran el valor cero de LRR cuando no hay diferencias en las variables entre las parcelas con los CS y el barbecho. Las flechas completas representan la fecha de finalización de los cultivos de servicio y las flechas discontinuas representan la fecha de siembra de la soja. Los puntos son valores medios para $n=6$ y los bigotes intervalos de confianza. Los asteriscos muestran efectos significativos en cada fecha de muestreo ($p<0,05$). Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft).

3.3.3 Modelos de ecuaciones estructurales

Usamos modelos de ecuaciones estructurales (SEM) para analizar los mecanismos a través de los cuales los CS afectan las emisiones de N_2O , considerando las variables de control medidas en cada experimento y período. Los resultados de los modelos SEM del primer experimento (siembra y crecimiento de los CS) muestran que el WFPS, la temperatura del suelo y el contenido de nitrato se relacionaron positiva y significativamente ($p < 0,05$) con las emisiones de N_2O (Figura 3.7). Entre estas variables, el WFPS tiene un efecto mayor independientemente de los períodos y momentos. Durante el período de crecimiento de los CS, el tratamiento con avena de 1ra fecha de siembra y el tratamiento avena/vicia de segunda fechas de siembra disminuyeron el WFPS y el contenido de nitrato, pero al mismo tiempo la avena de 1ra fecha de siembra aumentó el amonio del suelo (Figura 3.7, $p < 0,05$). Además, durante el mismo período, los resultados mostraron que el CS mono-específico sembrado tardíamente aumenta las emisiones de N_2O , pero este aumento no fue explicado por algunas variables ambientales estudiadas aquí (Figura 3.7).

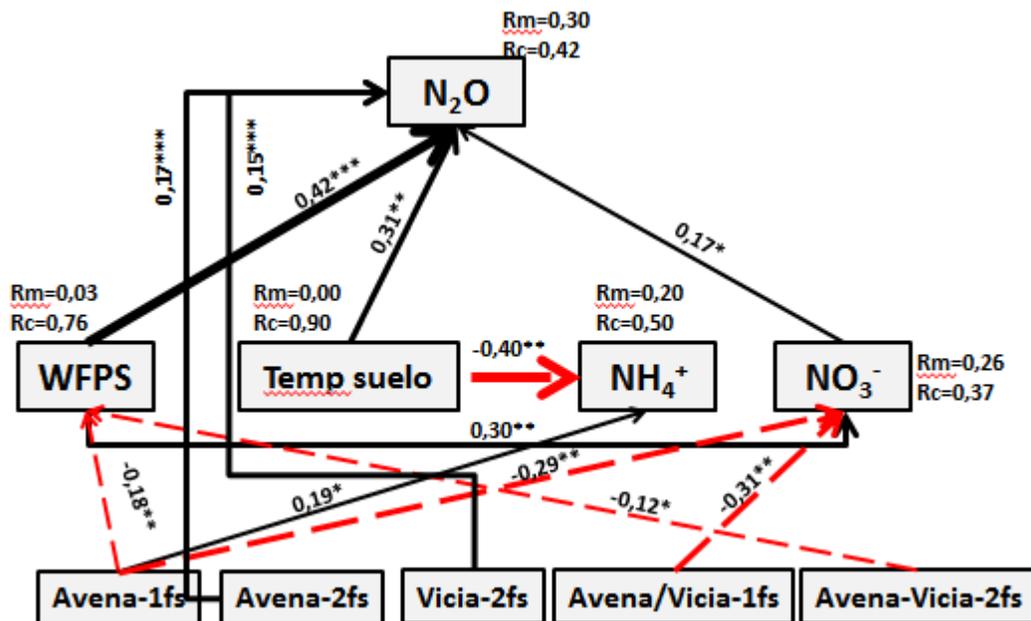


Figura 3.7: Modelo de ecuaciones estructurales (SEM) para el período de siembra y crecimiento de los CS. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N_2O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Soil Temp.], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (R_m) y términos fijos más aleatorios del modelo (R_c), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.

Durante el subperíodo de máximo crecimiento de los CS, todos los tratamientos con CS redujeron el WFPS y el nitrato del suelo, y los tratamientos con vicia pura (ambas fechas de terminación) y avena/vicia terminados en octubre redujeron la temperatura del suelo (Figura 3.8, $p < 0,05$). Sin embargo, la vicia aumentó el contenido de amonio del suelo independientemente de la fecha de terminación (Figura 3.8, $p < 0,05$). El WFPS y la temperatura del suelo fueron los factores ambientales que mostraron una relación positiva con la emisión de N_2O , pero el efecto fue más fuerte en WFPS. El tratamiento mezcla avena/vicia terminada el 3 de septiembre mostró un efecto directo y negativo sobre las emisiones de N_2O , pero este efecto no fue explicado por las variables ambientales que se midieron en esta tesis (Figura 3.8, $p < 0,05$).

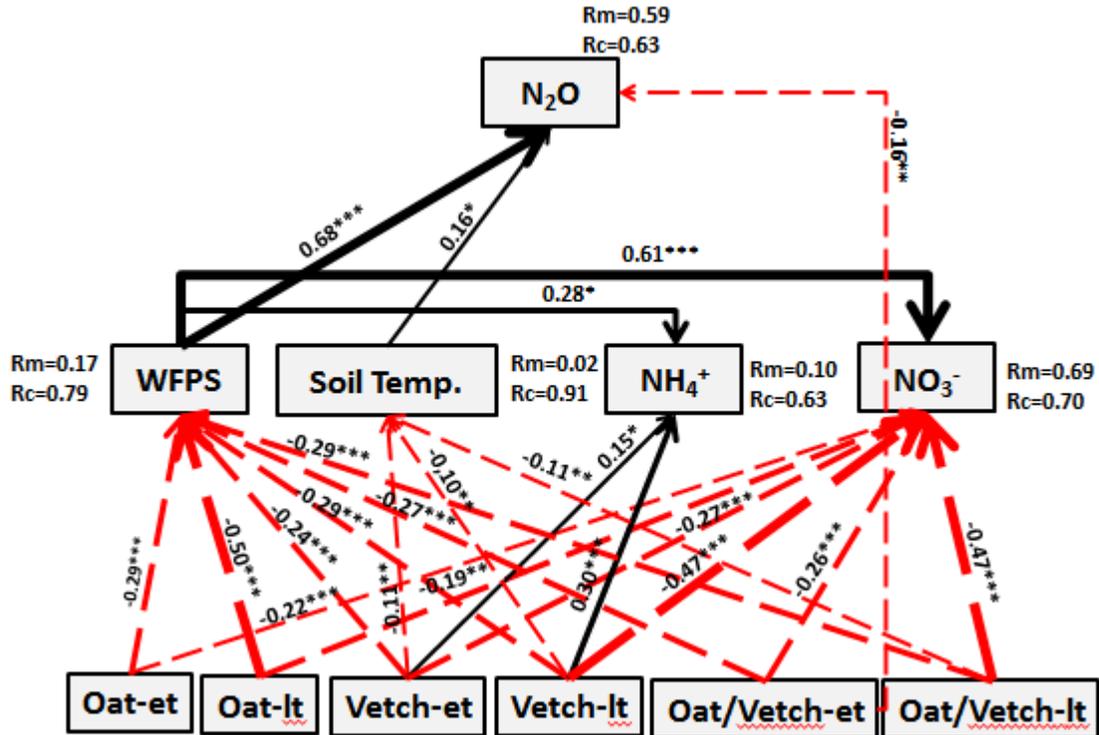


Figura 3.8: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el subperíodo de máximo crecimiento de los CS. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N₂O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Soil Temp.], amonio [NH₄⁺] y nitrato [NO₃⁻]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (Rm) y términos fijos más aleatorios del modelo (Rc), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.

Durante el subperíodo de barbecho, los tratamientos con cultivos de servicio no cambiaron las variables ambientales que medimos. Sin embargo, la segunda fecha de terminación de avena/vicia aumentó el WFPS y la segunda fecha de terminación de avena disminuyó el nitrato del suelo (p<0,05). Además, la vicia terminada en segunda fecha aumentó la emisión de N₂O, mientras que la avena de primera fecha de terminación disminuyó las emisiones de N₂O, pero este efecto no fue explicado por las variables ambientales medidas. El WFPS y la temperatura del suelo explicaron las emisiones de N₂O

(Figura Ap-3.2). Luego de la siembra de soja, la avena terminada en primera fecha y la avena/vicia de segunda fecha de terminación redujeron la temperatura del suelo, mientras que independientemente de la fecha de terminación, la vicia y la avena/vicia aumentaron el WFPS y el contenido de nitrato del suelo (Figura Ap-3.3). Durante este subperíodo, solamente el WFPS mostró una relación positiva significativa con las emisiones de N_2O .

3.3.4 Rendimiento del grano de soja

Los resultados de este experimento indican que un CS incorporado en una rotación soja/soja incrementa el rendimiento en grano de soja. Todos los CS que sembramos (avena, vicia y avena/vicia) incrementaron el rendimiento del grano de soja, pero solamente el tratamiento de avena/vicia terminada en octubre tuvo diferencias significativas ($p < 0,05$). El rendimiento de soja en las parcelas avena/vicia fue de 5.820 kg/ha, un 42% mayor que las parcelas barbecho (4.100 kg/ha; Figura 3.8)

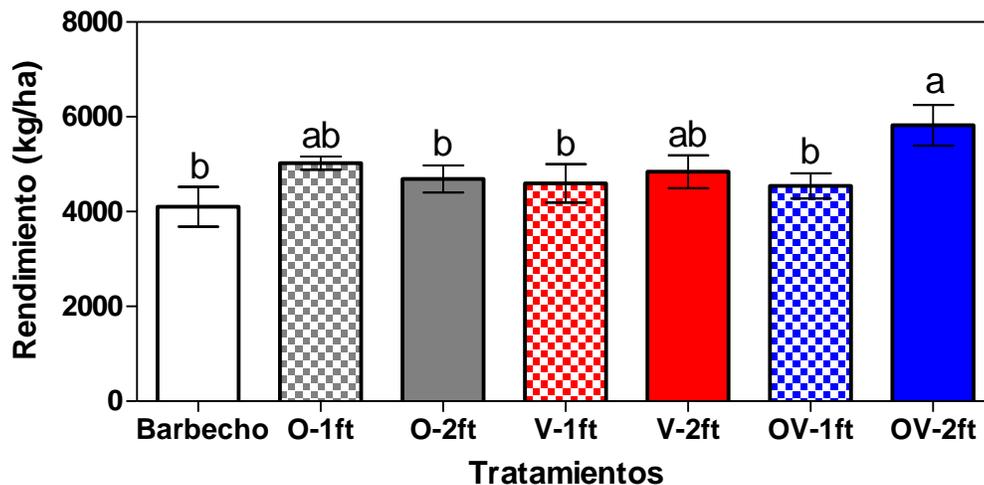


Figure 3.9: Rendimiento de soja (kg/ha) cosechada en marzo de 2020 para los tratamientos con cultivo de servicio y barbecho. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Los tratamientos son Barbecho, Avena 1^{ra} fecha terminación (O-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (OV-1ft), Avena 2^{da} fecha

terminación (O-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (OV-2ft).

3.4 DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que cuando los cultivos de servicio se siembran en rotaciones de soja/soja, el cultivo de servicio debe sembrarse lo antes posible y que, independientemente del tipo de cultivo de servicio, los CS reducen las emisiones de N₂O durante el período de máximo crecimiento de CS. Durante la temporada de crecimiento de los CS, los CS sembrados cuando la soja está llenando el grano (marzo) emitieron menos N₂O que los sembrados más tarde, previo a la cosecha (abril) ($p < 0,05$). Sin embargo, los CS no redujeron las emisiones de N₂O en comparación con las parcelas en barbecho ($p > 0,05$). Cuando integramos todo el período de terminación, los CS terminados en septiembre redujeron las emisiones de N₂O en el tratamiento de avena/vicia, pero si analizamos desde finales de invierno hasta la terminación de los CS, todos los cultivos de servicio redujeron las emisiones de N₂O independientemente de los tipos de CS y la fecha de terminación ($p < 0,05$). Sin embargo, la terminación de los CS incrementó las emisiones de N₂O en la vicia independientemente de la fecha de terminación, en comparación con el tratamiento de barbecho luego de la terminación de los CS. Los cultivos de servicio modificaron el WFPS, la temperatura y el contenido de nitrato del suelo durante el período de crecimiento de los CS hasta su terminación. El WFPS fue la variable ambiental que mejor se ajustó a las emisiones de N₂O a lo largo del período estudiado. Además, los resultados indican que los CS incorporados en una rotación soja/soja incrementaron el rendimiento de la soja en todas las parcelas con CS, pero solamente el tratamiento de avena/vicia terminada en octubre tuvo diferencias significativas.

De acuerdo con nuestra primera hipótesis, la siembra temprana de los CS produjo menores emisiones de N_2O que la siembra tardía ($p < 0,05$), pero no disminuyó las emisiones en comparación con la situación de barbecho durante el período de crecimiento de los CS ($p > 0,05$). La reducción del WFPS y del contenido de nitrato del suelo en el tratamiento con CS sembrados en marzo explicaron las bajas emisiones de N_2O en comparación con los tratamientos sembrados en abril, pero la disminución de estas variables no fue tan importante como para disminuir el N_2O en comparación con el tratamiento de barbecho. De la misma manera, los SEM mostraron efectos positivos y directos de la siembra tardía de avena/vicia sobre las emisiones de N_2O que podrían explicarse por otras variables ambientales que no fueron medidas en experimento. Existe evidencia de que las hojas de las plantas producen N_2O y que hay una facilitación del transporte de N_2O desde la rizosfera a la atmósfera (Bowatte et al., 2014). En este sentido, las raíces de las plantas benefician la expresión genética de los genes *nirK* y *nirS* responsables de los procesos de desnitrificación (Ai et al., 2017), y a su vez, existe una relación entre los exudados de las raíces y el gen *nosZII* que estimula la producción de N_2O (Ai et al., 2020). Además, la respiración de las raíces en la rizosfera disminuye los niveles de O_2 (Hu et al., 2015), lo que aumenta la anoxia y por ende la desnitrificación, lo que se denomina “efecto rizosfera” en el suelo. De la misma manera, Ai et al. (2020) mostraron un aumento en las emisiones de N_2O 35 días posteriores a la siembra de trigo en comparación con un suelo sin cultivos. No obstante, esta situación podría revertirse cuando los cultivos de servicio incrementan la absorción de N y disminuyen el WFPS, como observamos durante el período anterior a la terminación de CS. Otros investigadores encontraron una relación entre los cultivos de cobertura y el nitrato en el suelo, entre los 45 a 60 días después de sembrar los cultivos, ya que el nitrato en el suelo disminuyó en comparación con el barbecho (Carey et al., 2018).

Esto se evidencia por qué las emisiones de N_2O en los tratamientos con CS fueron similares al barbecho después de la germinación de los CS y durante los primeros estadios de crecimiento de los CS.

La reducción del contenido de nitrógeno del suelo, del WFPS y de la temperatura del suelo en parcelas con CS explicaron la reducción de las emisiones de N_2O desde finales del invierno hasta la terminación de los CS ($p < 0,05$). Principalmente, los CS modificaron el WFPS y el contenido de nitrato del suelo independientemente de la fecha de terminación y el tipo de CS, aunque cuando la fecha de terminación se retrasó el efecto se extiende en el tiempo, lo que se puso en evidencia en los modelos SEM. Probablemente, las reducciones del nitrógeno y agua del suelo se produjeron por una mayor absorción de los CS durante un período con alta acumulación de biomasa. En este sentido, la fecha de terminación en el caso de la avena fue entre la floración y la formación de granos, momentos de máximo consumo de agua (Mansano Sarto et al., 2017). Durante ese período, el WFPS fue inferior al 50%, por lo que es probable que las emisiones de N_2O se produjeran principalmente por nitrificación (Davidson, 1991; Khalil y Baggs, 2005). Otros estudios también mostraron una disminución en el contenido de nitrato del suelo antes de la terminación de los CS, produciendo efectos variables según la absorción de N por la planta y según el CS utilizado (Sanz-Cobena et al., 2014).

La fecha de terminación y el tipo de CS modificaron las emisiones de N_2O durante el período de barbecho de primavera. Aunque el CS terminado a principios de septiembre estuvo más tiempo para descomponerse (72 días) en comparación con el CS terminado en octubre (30 días), ninguno de los tratamientos con CS terminado en septiembre mostró un pico de emisiones de N_2O o "momentos calientes" (Groffman et al., 2009). Ninguno de los

tratamientos terminados en septiembre aumentó la emisión de N_2O en comparación con el barbecho cuando analizamos la temporalidad de las emisiones de N_2O (figura 3.5). Aunque las leguminosas tienen una mayor tasa de descomposición y liberan el 50 % de su contenido de N orgánico retenido en sus tejidos durante los 30 días posteriores a la terminación (Jani et al., 2015; Notaris et al., 2019), no hubo un aumento significativo de las emisiones de N_2O en las fechas de muestreo en las parcelas terminadas en septiembre. Esto podría explicarse debido a que la primera fecha de terminación se realizó con temperaturas inferiores a 15 °C, por debajo de las cuales disminuye la tasa de descomposición (Wang et al., 2021), y la desnitrificación (Schaufler et al., 2010; Schindlbacher et al., 2004; Stanford et al., 1975). La baja temperatura del suelo durante este período podría haber contribuido a disminuir las tasas de mineralización de N y los procesos de nitrificación y desnitrificación, disminuyendo así la producción de N_2O (Ussiri et al., 2013). De la misma manera, el contenido de agua del suelo fue inferior al 50% WFPS, lo que también puede explicar las bajas emisiones de N_2O (Davidson, 1991).

Aunque el modelo SEM para el barbecho de primavera no mostró un efecto del CS sobre las variables ambientales, el tratamiento de avena/vicia terminado en septiembre mostró un efecto negativo directo sobre las emisiones. Por el contrario, la segunda fecha de terminación (15 de octubre) alcanzó una temperatura >20 °C, WFPS >60 %, varios eventos de precipitaciones (Figura Ap-3.5) y la biomasa de los residuos fueron más altos que la primera fecha de terminación (3 de septiembre; Figura Ap-3.4). Probablemente, el aumento de WFPS esté asociado con la mayor contribución de biomasa aérea muerta de la finalización del tratamiento de avena/vicia en octubre en comparación con otros tratamientos (Figura Ap-3.1). La biomasa muerta cubre el suelo y frena la evaporación. El

incremento de estas variables produjo un aumento en las emisiones de N_2O de las parcelas de vicia y avena/vicia 23 días después de la terminación, pero el efecto fue significativo solo en el tratamiento de vicia. Sin embargo, la disminución de nitrato en el suelo en avena de segunda fecha de terminación estaría asociada con un aumento de la biomasa aérea con baja relación C/N ($p < 0,05$), lo que conduce a una menor liberación de N al suelo y una mayor captación de N por parte de los microorganismos del suelo. Los modelos SEM no mostraron un efecto de los tratamientos de CS sobre las variables edáficas medidas, especialmente para el contenido de nitrógeno del suelo, pero el incremento en la velocidad de entrada y salida de N podría explicarlo. Además, el mayor consumo de oxígeno disponible durante la descomposición de la vicia predispone la creación de micrositios anaeróbicos sensibles a la producción de N_2O por desnitrificación (Khalil y Baggs, 2005). Así también, en los micro-agregados del suelo cuando existen grandes cantidades de hojarasca en descomposición, como en los tratamientos que se terminaron en octubre, la demanda de oxígeno puede ser mayor que su difusión, facilitando así la desnitrificación (Zilli et al., 2019). Estudios previos mostraron un aumento en las emisiones de N_2O en diferentes condiciones ambientales y de suelo con vicia 45 días después de la terminación (Gomes et al., 2009) o durante el período de barbecho (Basche et al., 2014; Muhammad et al., 2019; Sanz-Cobena et al., 2014). Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que se debe evitar la terminación tardía de CS con vicia para evitar cualquier riesgo de aumento de las pérdidas de N_2O .

En este experimento se evidenció que los CS tuvieron efectos sobre las variables de control durante el crecimiento de los CS y antes de su terminación. Sin embargo, durante el barbecho de primavera y la siembra de soja no hubo patrones similares. Es probable que

otras variables ambientales no medidas como el oxígeno en el suelo o la disponibilidad de carbono controlaran las emisiones de N_2O durante este período. Por lo tanto, es muy importante tener el suelo cubierto con cobertura viva todo el año ya que el cultivo deprime el contenido de agua, la temperatura del suelo y el N inorgánico del suelo, sustrato de la desnitrificación. En este sentido, para reducir las emisiones de N_2O es muy importante elegir el tipo de cultivo de servicio (gramíneas, leguminosas o mixtas), usar cultivos de relevo para sembrar los CS y ajustar la fecha en que el CS terminará.

3.5 CONCLUSIÓN

En conclusión, los resultados de este capítulo mostraron que la introducción de un cultivo de servicio en una rotación de soja/soja en la región pampeana modifica las emisiones de N_2O . La siembra temprana de los CS no modifica las emisiones de N_2O respecto a las parcelas sin CS; sin embargo, los CS sembrados en marzo emitieron menos N_2O que los sembrados en abril. La fecha de terminación y el CS utilizado modifican las emisiones de N_2O durante el período de terminación de los CS. Adelantar la fecha de terminación de avena/vicia disminuyó las emisiones de N_2O durante el período de terminación del CS. Antes de la terminación de los CS, todos los tratamientos con CS redujeron las emisiones de N_2O en comparación con el barbecho independientemente de la fecha de terminación, pero las emisiones de N_2O aumentaron después de la terminación del CS en el tratamiento de vicia. Cuando se atrasa la fecha de terminación de vicia, se incrementan las emisiones de N_2O en comparación a la vicia terminada temprano y al barbecho. En este sentido, cuando el barbecho primaveral es largo y se usa avena/vicia como CS, la emisión de N_2O disminuye, pero si la terminación es tardía (barbecho primaveral corto) y se usa vicia como CS, la emisión de N_2O aumenta. Los resultados

presentados en este capítulo mostraron que los cambios en la emisión de N_2O están relacionados con las variables ambientales. Los CS disminuyeron el WFPS, la temperatura del suelo y el contenido de nitrato del suelo durante el período de crecimiento de CS y antes de su terminación.

3.6 APÉNDICE

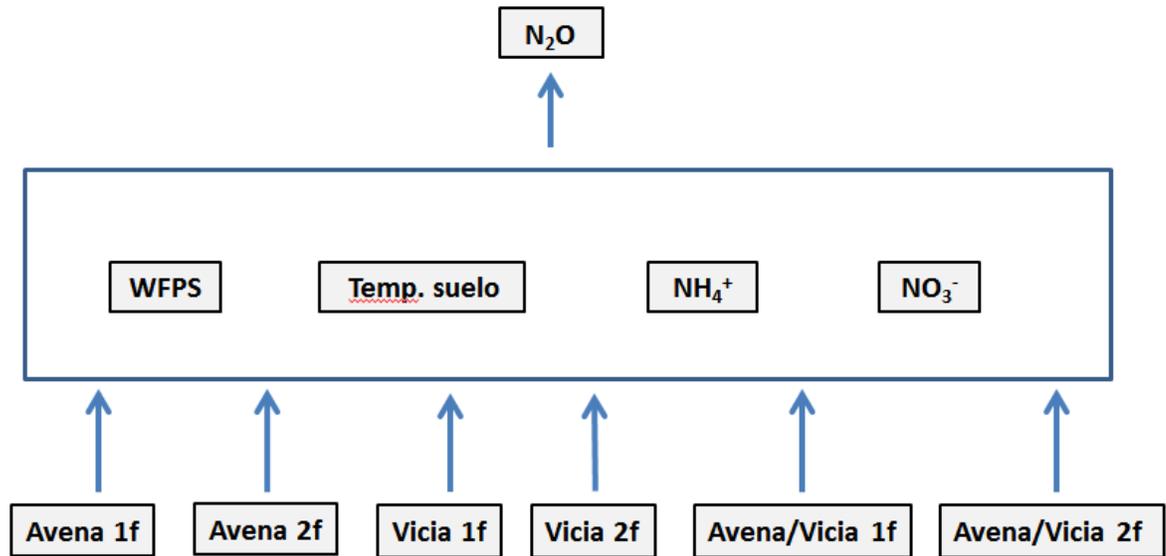


Figura Ap-3.1: Modelo conceptual teórico para analizar en los modelos de ecuaciones estructurales. Los cultivos de servicio muestran el efecto del tratamiento sobre las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH_4^+] y nitrato [NO_3^-]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones entre variables. El cuadro que reúne a las variables ambientales representa el efecto entre ellas. Este modelo fue utilizado durante el período de crecimiento de los CS y los subperíodos de la terminación de los CS. El símbolo “f” que acompaña a los tratamientos representa “fecha”.

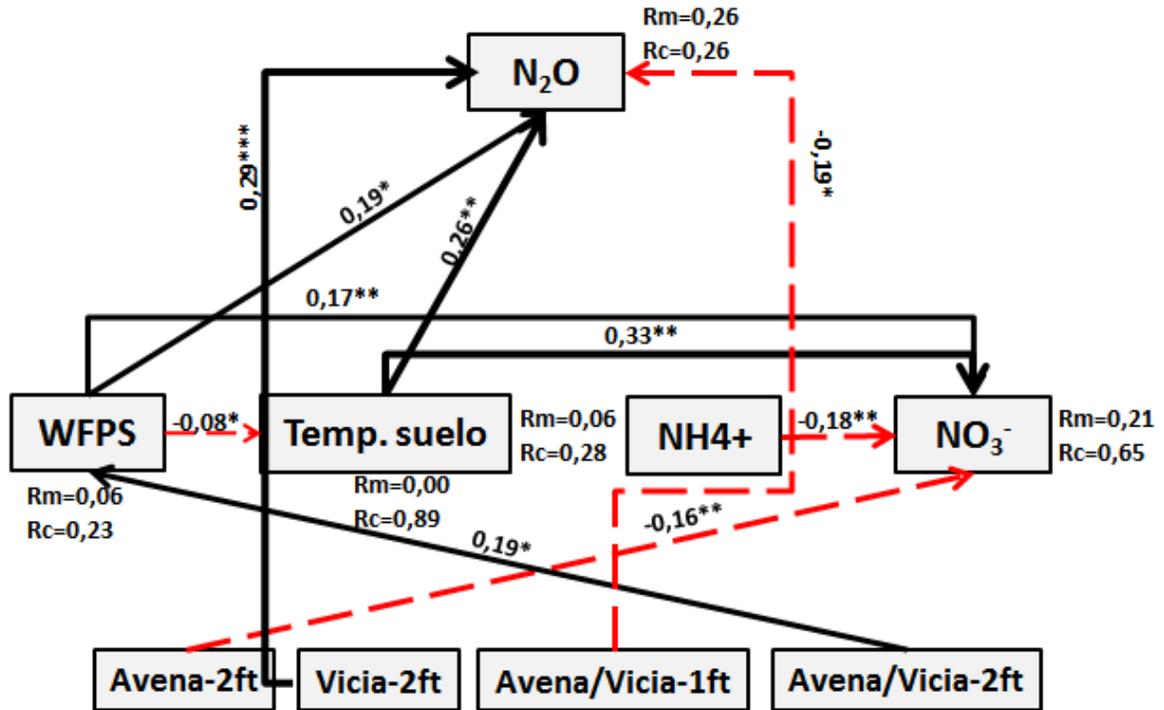


Figure Ap-3.2: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el subperíodo barbecho de primavera. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N₂O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH₄⁺] y nitrato [NO₃⁻]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (Rm) y términos fijos más aleatorios del modelo (Rc), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.

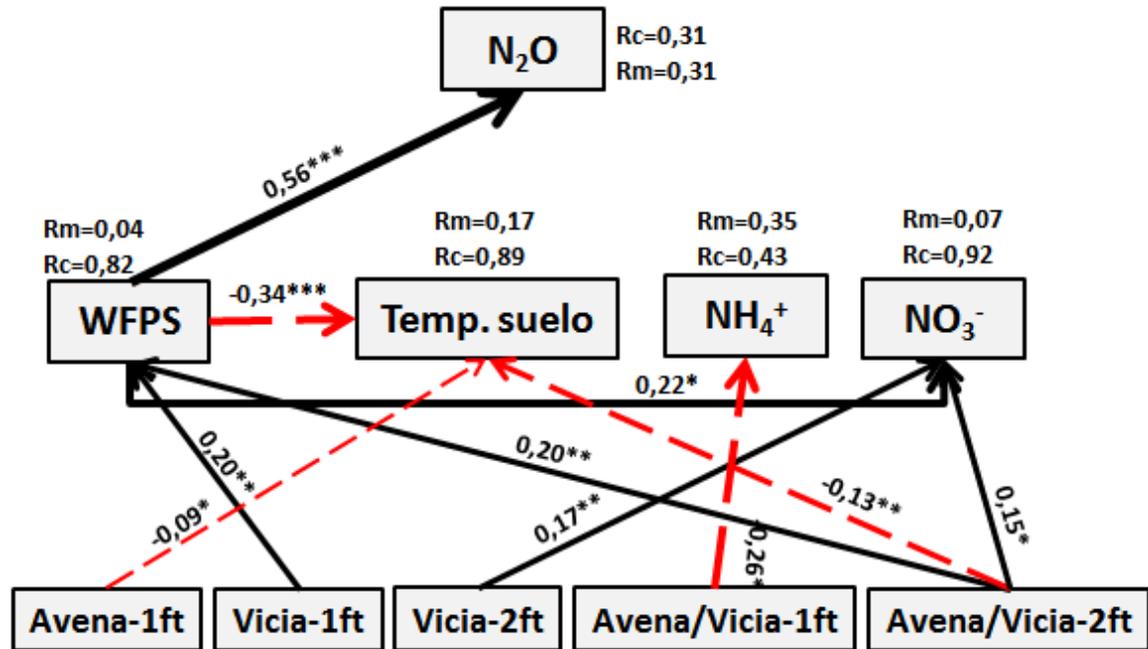


Figure Ap-3.3: Modelo de ecuación estructural (SEM) para el subperíodo crecimiento soja. El modelo muestra efectos directos en las emisiones de N₂O de los tratamientos con CS y los efectos indirectos, a través del cambio en las variables ambientales (espacio poroso lleno de agua [wfps], temperatura del suelo [Temp. suelo], amonio [NH₄⁺] y nitrato [NO₃⁻]). Los cuadros representan variables y las flechas representan relaciones positivas (líneas negras continuas) o negativas (líneas rojas discontinuas) entre variables. Significado del efecto: ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05. La proporción de la variabilidad explicada por términos fijos (Rm) y términos fijos más aleatorios del modelo (Rc), se indica para cada variable de respuesta al lado del recuadro.

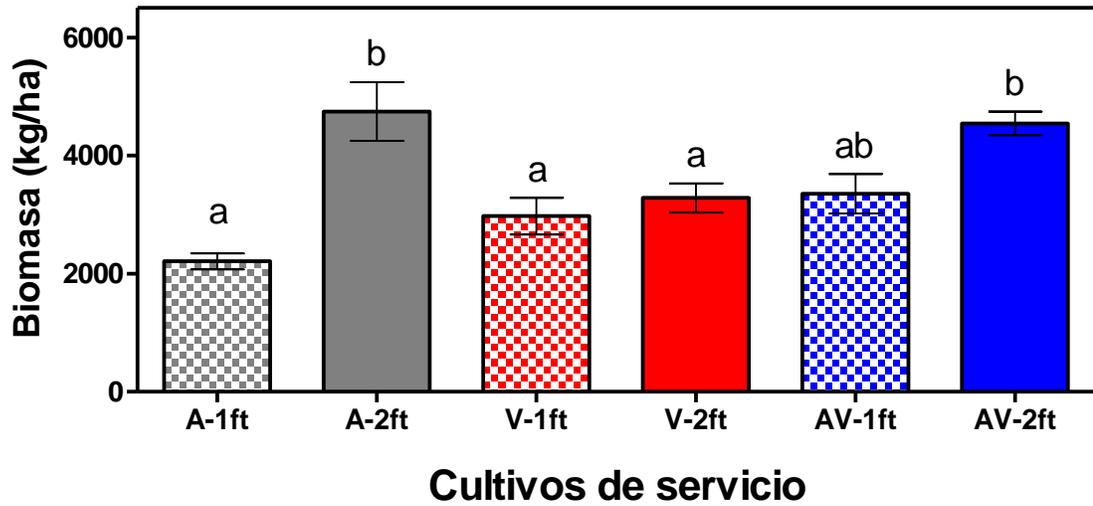


Figura Ap-3.4: Biomasa aérea (kg/ha) para los tratamientos con cultivo de servicio previo a su terminación. Los valores son medias (± 1 error estándar) para $n=6$. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Los tratamientos son Avena 1^{ra} fecha terminación (A-1ft), Vicia 1^{ra} fecha terminación (V-1ft), Avena/Vicia 1^{ra} fecha terminación (AV-1ft), Avena 2^{da} fecha terminación (A-2ft), Vicia 2^{da} fecha terminación (V-2ft), Avena/Vicia 2^{da} fecha terminación (AV-2ft). (AV-et), terminación tardía de avena (A-lt), terminación tardía de vicia (V-lt), Terminación tardía de Avena/Vicia (AV-lt).

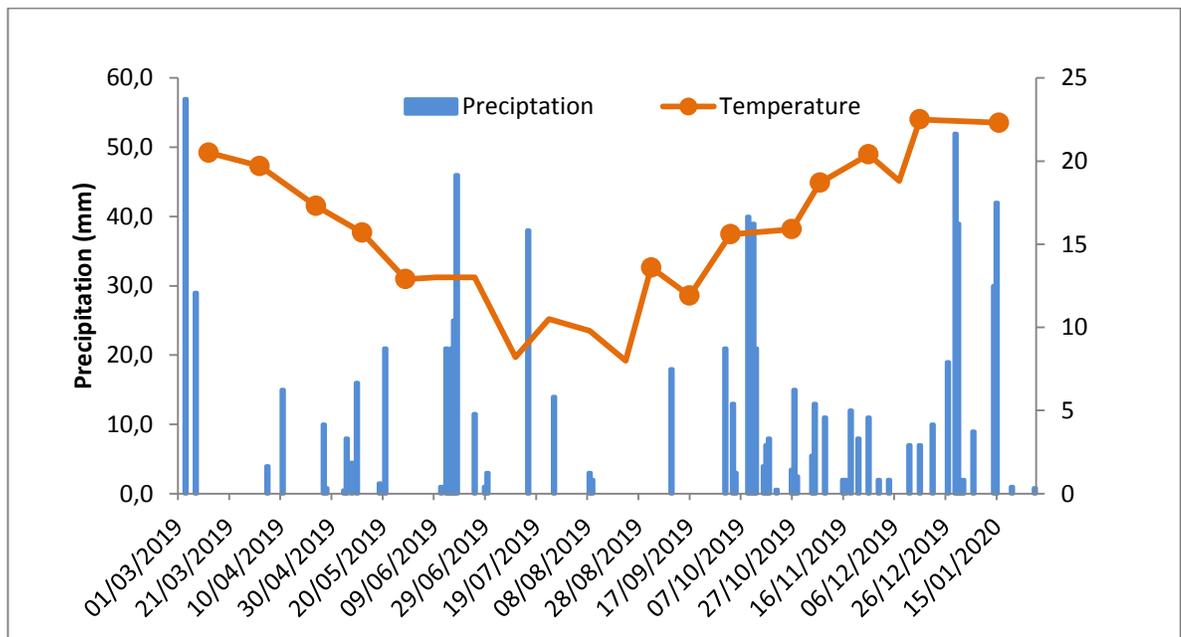


Figura Ap-3.5: Precipitación diaria (mm) y temperatura media (°C) para el período experimental (marzo 2019 - enero 2020). Los círculos que aparecen sobre la línea de temperatura indican las fechas de muestreo.

4 CAPÍTULO 4

Estimación de las emisiones de N₂O mediante un modelo de simulación

4.1 INTRODUCCIÓN

Los manejos agrícolas incrementan la variación temporal y espacial de las emisiones de N_2O , un potente gas de efecto invernadero (GEI) que se acumula en la atmósfera y destruye la capa de ozono (Ravishankara et al., 2009). Poder capturar a campo esta variabilidad con mediciones de las emisiones de N_2O se hace muy costoso, demanda mucho tiempo y no se logra registrar toda la variación biológica y ambiental. En este sentido, los modelos de simulación son herramientas útiles para estimar las emisiones de N_2O instantáneas y acumuladas anualmente. En este sentido, los modelos permiten explorar nuevas estrategias de manejo agrícola, considerando combinaciones de cultivos en paisajes heterogéneos bajo diferentes escenarios climáticos. Poder representar a los agroecosistemas mediante modelos biogeoquímicos que se integran con las observaciones a campo es una manera de generar proyecciones de las emisiones de N_2O con manejo, sitio y ambiente tan necesario en un escenario de cambio climático como el que se vive en la actualidad.

Entre los modelos de simulación basados en procesos, el modelo *DayCent* es uno de los más utilizados a nivel mundial para analizar los ciclos de carbono y nitrógeno en diferentes ecosistemas, incluidos los suelos agrícolas donde se pone especial atención a las emisiones de gases de efecto invernadero (Del Grosso et al., 2001, 2005; Parton et al., 1998). El modelo *DayCent* incluye submodelos que estiman la productividad primaria aérea y subterránea, la descomposición del material vegetal muerto y de la materia orgánica del suelo, la dinámica del agua y la temperatura del suelo, así como los flujos de gas N producidos por la nitrificación y la desnitrificación (Del Grosso et al., 2011). El modelo *DayCent* se ha utilizado previamente para simular las respuestas de los flujos netos de GEI desde el suelo (CO_2 , CH_4 , N_2O) frente a los cambios de clima y prácticas agrícola, tanto en ecosistemas de cultivos como en pastizales, bosques y sabanas (Del Grosso et al., 2011,

2012; Della Chiesa, Del Grosso, et al., 2022; Weiler et al., 2017). En particular en los agroecosistemas, el modelo se ha utilizado para evaluar el resultado de dobles cultivos y su superposición en las emisiones de GEI (Della Chiesa, et al., 2022a; Della Chiesa, et al., 2022b) . La sencillez del modelo permitió una gran adopción debido a que requiere como datos de entrada solamente la textura del suelo, el uso del suelo actual e histórico, la vegetación presente y variables climáticas que suelen estar disponibles (las precipitaciones diarias y la temperatura mínima y máxima diaria). La disponibilidad de experimentos a campo permite mejorar el ajuste en la calibración del modelo para poder realizar estimaciones precisas y confiables.

La frecuencia y la intensidad de los eventos de precipitación extrema así como los períodos de sequías han aumentado en las últimas décadas producto de las actividades humanas (Asadieh y Krakauer, 2015; O’Gorman, 2015). El último informe del IPCC reveló que la ocurrencia de extremos climáticos está relacionada con el aumento en la temperatura media global del aire en la superficie (IPCC et al., 2021). En este sentido, existen estudios que proyectan un cambio en el calentamiento global a una tasa aproximada de 7% C en 50 años, provocando cambios en los eventos extremos de precipitaciones (Li et al., 2021). El incremento de la temperatura provoca una alteración de la frecuencia, magnitud y duración de las precipitaciones que a su vez afectan a principalmente a los procesos biológicos. Cuando el aumento de la temperatura ocurre junto a la alta disponibilidad de agua en el suelo se aceleran los procesos biológicos y provocan un incremento de las tasas de descomposición de los residuos de cultivos y de los ciclos de los nutrientes como N y C en general (Boyero et al., 2014; Keuskamp et al., 2013). Por ejemplo, factores como la humedad y la temperatura de suelo tienen una relación directa con las emisiones de N_2O , ya que temperaturas elevadas aceleran los procesos microbianos (Stanford et al., 1975) y

cuando el contenido de agua alcanza porcentajes de poros del suelo llenos de agua (WFPS) superiores al 50-60% se favorece la desnitrificación, principal proceso natural que produce N_2O (Davidson, 1991). Así también la desnitrificación y nitrificación se ven alteradas al incrementar 2 °C la temperatura del suelo cuando el contenido de agua es mayor a 50% WFPS, provocando un incremento de las emisiones de N_2O (Rafique et al., 2014). Cambios en la frecuencia de las precipitaciones podrían inducir momentos de alta emisión (conocidos en la literatura como *hot moments*) que se producen inmediatamente luego de una precipitación debido al humedecimiento de suelo seco (Beare et al., 2009; Rabot et al., 2015). Estos picos pueden representar hasta un 7% del total de observaciones en un año y pueden constituir hasta el 50% de la emisión anual de N_2O (Molodovskaya et al., 2012). La aparición de los eventos de altas emisiones depende principalmente del evento de precipitación, el contenido de agua del suelo y el nitrógeno disponible. En este sentido los eventos de lluvia tienen gran influencia en estos eventos, la rehumectación luego de largos períodos sin precipitaciones desencadenan los mayores picos de emisión (Molodovskaya et al., 2012).

El creciente incremento de las emisiones de N_2O desde suelos agrícolas obliga a encontrar alternativas de manejo para mitigar las emisiones de N_2O (Tian et al., 2020). Las alternativas que se ha propuesto hasta el momento han estado asociadas principalmente a la sincronía espacial y/o temporal de los ingresos de N al suelo y la absorción de las plantas. Por ejemplo, el uso de diferentes fuentes y tiempo de liberación de fertilizantes sintéticos (Vangeli et al., 2022; Venterea et al., 2011), el agregado de inhibidores de la nitrificación (Hargreaves et al., 2021; Scheer et al., 2017; Wu et al., 2017) y la inclusión de cultivos de servicio (Parkin et al., 2016; Thomas et al., 2017; Petrusek et al., 2022). Estas estrategias han tenido una efectividad variable porque no encontraron acoplar correctamente la

existencia de elevados contenidos de N inorgánico en el suelo (ya sea por fertilización, mineralización de materia orgánica, o fijación biológica de nitrógeno y posterior descomposición de la biomasa vegetal de las especies fijadoras), con la demanda por parte de los cultivos, de modo de reducir el N mineral disponible para los procesos que liberan N₂O (Snyder et al., 2014).

En los capítulos 2 y 3 de esta tesis trabajamos con diferentes cultivos de servicio (CS) sembrados en el barbecho de soja a través de los cuales se logró reducir las emisiones de N₂O en algunos momentos del año. Sin embargo, la frecuencia de muestreo que utilizamos para medir las emisiones de N₂O desde el suelo no permitió registrar la variabilidad temporal y espacial de este proceso. Además, pudimos medir las emisiones solamente en un escenario climático, pero es muy importante poder evaluar los cambios en las emisiones en escenarios de cambio de precipitaciones.

El objetivo de este estudio fue: a) calibrar y evaluar el modelo de simulación *DayCent* para estimar la dinámica temporal de las emisiones de N₂O bajo rotaciones agrícolas soja/soja que incluyen CS en la región pampeana; b) simular y estimar los flujos medios anuales de emisiones de N₂O en rotaciones soja/soja con CS que cubren todo el período de barbecho en escenarios climáticos contrastantes. Las hipótesis que se pusieron a prueba son: a) La incorporación de CS en las rotaciones agrícolas basadas en rotaciones de soja-soja disminuye los flujos de emisiones de N₂O en el sitio de estudio independientemente del escenario meteorológico (precipitación y estacionalidad); b) Independientemente del CS, los CS que cubren todo el período de barbecho emiten menos N₂O respecto a ciclos más cortos.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Características del sitio de estudio

Este estudio se realizó con los datos obtenidos en el experimento instalado en San Antonio de Areco y descrito en el capítulo 2. El sitio está ubicado en la región centro sur de la Pampa Ondulada sobre suelos predominantemente Argiudoles (Gran Grupo, USDA-Soil Taxonomy 2006). La precipitación media anual es de 1090 mm y la temperatura media anual es de 15,6 °C. Estas características ambientales, sumadas al contexto económico-productivo, hacen que el cultivo de soja ocupe el 50% de la superficie agrícola del partido San Antonio de Areco (74.720 hectáreas, INDEC 2018).

Para realizar la calibración del modelo *DayCent*, se usaron los datos de la campaña agrícola 2018-19 realizada en el experimento de varios años que consistió en parcelas de soja con y sin CS (ver detalles en el Capítulo 2 de esta tesis). Brevemente, el experimento consistió en cultivos continuos de soja con barbecho de invierno (control) y los siguientes cultivos de servicio: avena (*Avena sativa* L.), vicia (*Vicia villosa* Roth.) y una mezcla de avena y vicia distribuidos en un diseño de bloques completos al azar. Los cultivos de servicio se sembraron dos meses después de la cosecha de soja y se terminaron dos meses antes de la siembra de soja, siguiendo prácticas agrícolas comunes en la región. Por lo tanto, la temporada de crecimiento del CS fue corta (cuatro meses). Durante un año y con una frecuencia de un mes se tomaron muestras de gas siguiendo el protocolo de Parkin y Venterea (2010) y De Klein y Harvey (2012) para determinar las emisiones de N₂O. A su vez, en cada muestreo se registró la temperatura del suelo y se tomaron muestras de los primeros centímetros del suelo (0-10 cm) para determinar el porcentaje de poros llenos de agua (WFPS por sus siglas en inglés) y el contenido de NO₃⁻ y NH₄⁺ (Bremner (1965) and Keeney y Nelson (1982) para NO₃⁻ y (Baethgen y Alley, 1989 para NH₄⁺). Al inicio del

experimento, se extrajeron cinco muestras de suelo de 0 a 10 cm de profundidad utilizando un núcleo de suelo de 2 cm de diámetro, que luego se agruparon en una muestra única por parcela para caracterizar el sitio de estudio. En estas muestras de suelo, se determinó el pH del suelo (relación suelo: agua de 1:2,5), el contenido de carbono orgánico total mediante digestión húmeda por el método de Walkley-Black (Nelson y Sommers 1982), el C total mediante análisis de combustión automatizado (cubo Vario TOC) y la textura del suelo (porcentajes de arena, limo y arcilla) a través de la sedimentación granulométrica (Bouyoucos 1962). Por último, mediante un cilindro de tamaño conocido, se tomaron tres muestras por parcela para calcular la densidad aparente (Burker et al., 1986). La caracterización del sitio se puede ver en el Cuadro 2.2. La biomasa aérea de los cultivos de servicio se determinó antes de su terminación, cosechando la biomasa cortada 2 cm sobre el suelo dentro de un marco de 0,25 cm². La biomasa recolectada se secó a 60°C hasta peso constante y luego se pesó para estimar el material vegetal seco aéreo (kg. ha⁻¹).

4.2.2 Calibración del modelo *DayCent*

DayCent es un modelo biogeoquímico que se usa para simular los intercambios de C, N, P y S, y los flujos de gases entre la atmósfera, el suelo y la vegetación. *DayCent* es el modelo más utilizado a nivel mundial en el estudio de las emisiones de N₂O del suelo y ha sido evaluado en varios sistemas en todo el mundo (Abdalla et al., 2010, 2020; Del Grosso et al., 2005; Parton et al., 1998). Como datos de entrada, el modelo requiere datos meteorológicos diarios (temperatura mínima/máxima y precipitación), información de cada capa del suelo (textura del suelo, pH, densidad aparente y propiedades hidráulicas), información sobre el uso histórico del sitio y datos del manejo (fechas de siembra y cosecha, fertilización, riego, pastoreo) e información sobre el cultivo.

4.2.2.1 Estabilización, calibración y evaluación del modelo *DayCent*

Para equilibrar los valores de carbono y nutrientes del suelo, se realizó una simulación a largo plazo (3000 años) representando las condiciones prístinas del ecosistema mediante una simulación de un pastizal pastoreado leve y esporádicamente imitando el pastoreo de herbívoros silvestres (simulación *spin up*). Luego, se realizó una *simulación base* hasta el año 2000 según la reconstrucción histórica publicada por Solbrig y Viglizzo (1999). Durante esta etapa, se dio inicio a la simulación de la actividad ganadera en el año 1900 y se aumentó gradualmente la frecuencia de los pastoreos hasta 1980, momento en que se comenzó con la implementación de cultivos anuales con fines ganaderos. Desde el año 2000, los principales cultivos utilizados fueron soja, maíz, trigo y alguna pastura. Posteriormente, (etapa de *estabilización*) se simuló el uso del suelo con información provista por el encargado de campo y se detalló el manejo que se había realizado en el lote donde estaban las parcelas experimentales hasta el año 2014. En 2014 se instaló el experimento de cultivo de soja con la inclusión de cultivos de servicio, por lo tanto, la información del manejo fue aún más precisa. Se trabajó con datos climáticos diarios desde 1930, hasta 2011, obtenidos de una estación meteorológica ubicada en el Partido de Pergamino, dentro de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino. Desde el año 2011 en adelante se tomaron los datos climáticos de una estación meteorológica ubicada en San Antonio de Areco (<http://www.arecoclima.com.ar/>).

Para calibrar y evaluar el modelo, primero se verificó que los niveles de carbono total del suelo simulados se asemejasen a los obtenidos en las parcelas de soja con barbecho de invierno y las parcelas con cultivos de servicio. El carbono total del suelo integra muchos procesos en el modelo (p. ej., productividad primaria neta (NPP), descomposición) que son sensibles tanto a las condiciones ambientales como a las condiciones de manejo (Del Grosso et al., 2011). Luego, se calibró el contenido de agua del suelo, la temperatura y el

contenido de N inorgánico (NH_4^+ , NO_3^-) del suelo; comparando tanto el promedio anual como la dinámica temporal. Por último, se evaluaron las emisiones de N_2O simuladas con los valores de N_2O anuales acumulados para cada tratamiento. Para mejorar el ajuste entre los datos simulados y los observados, se modificaron los parámetros del modelo que eran más sensibles a las variables evaluadas (Necpálová et al., 2015; Rafique et al., 2014). Además, se evaluó cada variable para cada tratamiento mediante un análisis de regresión lineal ubicando los valores observados en el eje “Y” y los simulados en el eje “X” para evitar una estimación sesgada de la ordenada al origen y su pendiente (Piñeiro et al., 2008). A su vez, se observó el coeficiente de determinación de la regresión (R^2) y se calculó el Cuadrado medio del error (RMSE, la sigla en inglés; Chai y Draxler, 2014). Para seleccionar el modelo, se buscó el modelo con el R^2 más elevado y el RMSE más bajo.

4.2.2.2 Simulación de las emisiones de N_2O en diferentes escenarios climáticos y de manejo

Una vez calibrado el modelo *DayCent*, se realizaron ensayos de simulación para estimar las emisiones medias anuales de N_2O en diferentes escenarios climáticos y manejo de los cultivos de servicio. El último inventario del Panel Intergubernamental para el Cambio Climático informa que la dinámica de las precipitaciones está cambiando y que se espera que las precipitaciones sean menos frecuentes, pero más intensas, con una tendencia a incrementar la precipitación media anual acumulada (IPCC 2021). Frente a esta predicción, analizamos las precipitaciones medias anuales de los últimos 30 años y las clasificamos para conocer el valor medio para años muy secos (precipitaciones muy por debajo de la media histórica) y años muy húmedos (precipitaciones muy por encima de la media histórica). Con estos valores seleccionamos un año modelo que sea seco y un año húmedo y estacionamos las precipitaciones en dos momentos del año, en primavera-verano y en

otoño-invierno. Con estos datos generamos 4 escenarios climáticos o regímenes pluviométricos (dos estacionalidades x dos niveles de precipitación). Luego, modificamos la fecha de siembra y terminación de los cultivos de servicio para generar diferentes manejos. Simulamos una siembra del CS inmediatamente después de la cosecha de soja y una terminación de los cultivos de servicio el día anterior a la siembra de soja. Para esta simulación, mantuvimos los 4 escenarios climáticos generados.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Calibración

Las estimaciones de las emisiones de N_2O tuvieron un buen ajuste y se asemejaron a los datos observados a campo (Figura 4.1). Los tratamientos que tuvieron un mejor ajuste entre los datos observados y simulados fueron, en orden creciente del RMSE, el barbecho (10,81), la avena (10,96), la avena/vicia (12,23) y la vicia (18,35). Si bien, la línea de regresión entre los datos observados a campo y los simulados es similar a la línea 1:1, en los tratamientos con CS la línea tiene un pequeño sesgo hacía los datos simulados (Figura 4.1 b, c y d). Esto indica que el modelo sobreestima los datos simulados en los valores más elevados de N_2O en los tratamientos con CS (Figura 4.1).

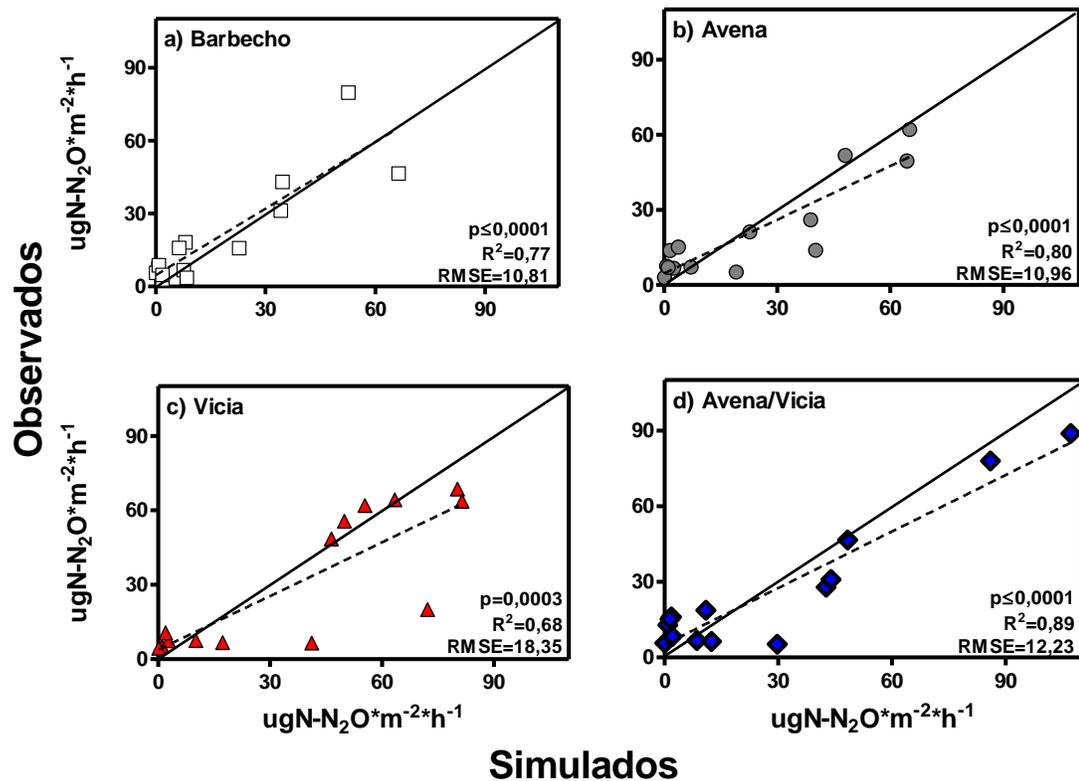


Figura 4.1: Correlación entre los valores de óxido nitroso ($\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) observados a campo y los simulados con el modelo DayCent calibrado. Los paneles corresponden a los tratamientos a) barbecho, b) avena, c) vicia y d) avena/vicia. Cada punto de los datos observados corresponde a la media entre los tres bloques para cada fecha de muestreo. La línea punteada es la correlación entre observados y simulados; la línea negra es la relación 1:1.

Para cada fecha de muestreo, la tasa media de emisión N_2O observada a campo fue similar a la tasa media simulada. El tratamiento que mostró mayor sobreestimación de emisiones fue la vicia, con un incremento del 21% respecto del dato observado a campo. Por otro lado, la avena tuvo la menor diferencia, con una sobreestimación del 8,5% (Figura 4.2).

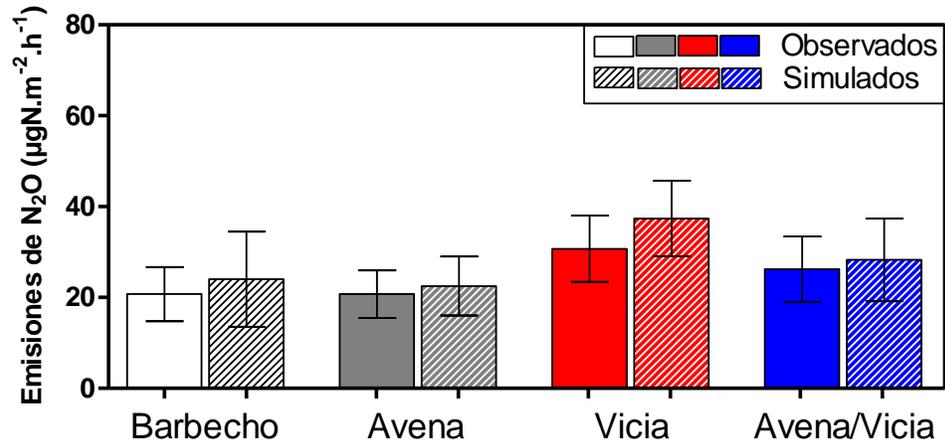


Figura 4.2: Valores medios de óxido nitroso ($\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$) observados (barras llenas) y simulados (barras sombreadas) para cada tratamiento durante el período Febrero 2018-Enero 2019. Los valores son medias (± 1 error estándar).

4.3.2 Simulación de N₂O en diferentes escenarios climáticos

Los resultados que se obtuvieron luego de la simulación mostraron que las emisiones medias anuales de N₂O fueron diferentes entre tratamientos en que se sembraron los CS en junio y se terminaron dos meses antes de la siembra de soja, y entre escenarios climáticos (Figura 4.3). La simulación mostró que independientemente del escenario climático, la tasa media anual de emisión de N₂O fue menor en los tratamientos con avena (23,02 $\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$) y avena/vicia (23,96 $\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$). Los tratamientos de barbecho y vicia mostraron la tasa media anual de emisión de N₂O promedio entre escenarios más elevada, 47,12 y 39,01 $\mu\text{gN-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ para el barbecho y vicia respectivamente.

En años secos, con precipitación acumulada entre 573 y 763 mm/año, la variabilidad de la tasa media anual de las emisiones de N₂O está relacionada con la variación estacional de las precipitaciones (Figura 4.3). En los tratamientos con CS, las emisiones de N₂O fueron menores cuando las precipitaciones se centraron en primavera-verano respecto a otoño-invierno. Con precipitaciones en primavera-verano, las emisiones fueron menores y

similares entre los tratamientos con avena y avena/vicia (8,09 y 8,53 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ respectivamente). Por otro lado, el modelo estimó valores de emisión más elevados para el tratamiento sin CS (34,97 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$). Cuando las precipitaciones ocurren en otoño-invierno en un año seco, las emisiones de N_2O incrementan en los tratamientos con CS a valores medios anuales de 25,12; 49,44 y 28,75 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para avena, vicia y avena/vicia respectivamente. En cambio, cuando el año es húmedo, con una precipitación acumulada entre 1.471 y 1.454 mm/año, las tasas medias de emisión de N_2O fueron similares para un mismo tratamiento independientemente del momento del año donde llueva. La tasa media de emisión de N_2O anual para un año húmedo se duplicó en los tratamientos con barbecho (60,53 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) y con vicia (53,67 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) respecto a la avena (27,45 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) y la avena/vicia (29,27 $\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) (Figura 4.3).

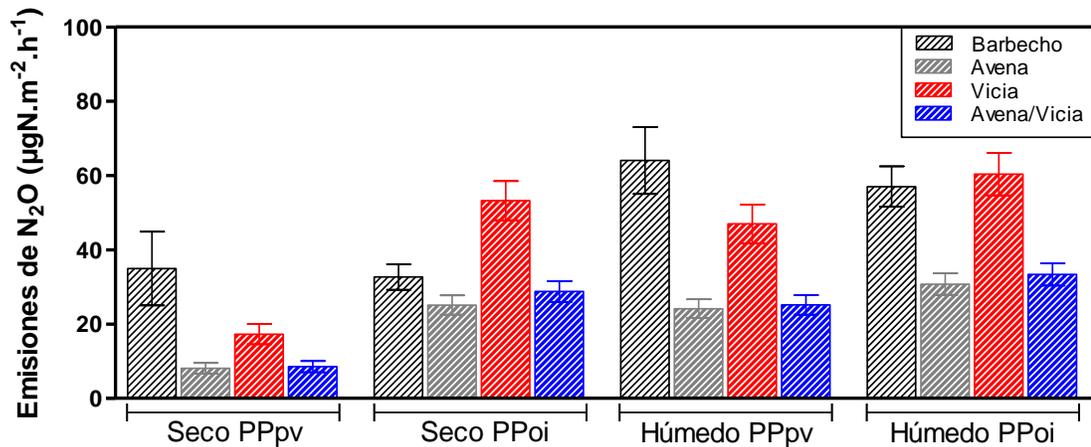


Figura 4.3: Simulación de emisiones de N_2O en diferentes escenario climáticos manteniendo la fecha de siembra y terminación del experimento. Los valores son medias (± 1 error estándar). Los escenarios son Seco PPpv [573 mm]; Seco PPoi [763 mm]; Húmedo PPpv [1471 mm] y Húmedo PPoi [1454 mm]. Precipitaciones estacionadas en primavera-verano (PPpv) y precipitaciones estacionadas en otoño-invierno (PPoi).

Los resultados del modelo *DayCent* mostraron que al incrementar la duración de la estación de crecimiento de los CS, sembrar luego de la cosecha de soja y terminar el CS un día antes de sembrar la soja nuevamente, disminuye las emisiones de N_2O en comparación a ciclos cortos de CS (Figura 4.4). Sin embargo, la reducción de las emisiones de N_2O dependió de las precipitaciones acumuladas, el momento del año y del tipo de cultivo de servicio. En un año seco, la reducción fue solamente cuando las precipitaciones se centraron en otoño-invierno con una reducción del 34,5% para la avena, un 7.1% para la vicia y un 3,4% en avena/vicia. Cuando las precipitaciones se centraron en primavera-verano, las emisiones incrementaron un 30,2% para avena, un 22,5% para vicia y un 38,7% para mezcla. Sin embargo, en un año húmedo todos los tratamientos con CS emitieron menos N_2O cuando se incrementó el ciclo del cultivo (Figura 4.4). Cuando las precipitaciones se concentraron en primavera-verano, el modelo estimó una reducción de un 40,1% para avena, 24,9% en vicia y 23,8% para avena/vicia. Los valores fueron similares cuando las precipitaciones ocurrieron mayoritariamente en otoño-invierno (Figura 4.4).

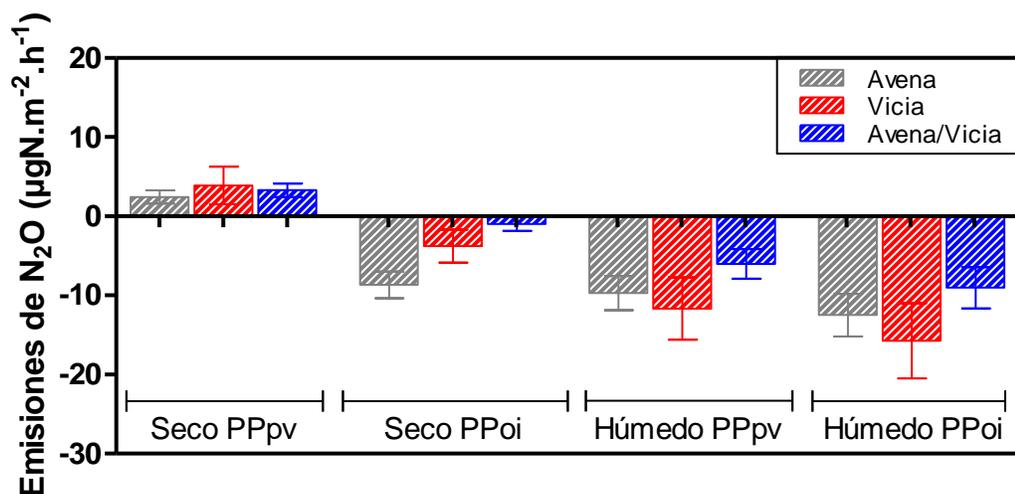


Figura 4.4: Diferencia en las emisiones de N_2O entre estación de crecimiento de ciclo largo y ciclo corto (Δ CS ciclo largo – CS ciclo corto) para los tratamientos con avena, vicia y avena/vicia en los diferentes escenarios climáticos (Seco PPpv [573 mm]; Seco PPoi [763 mm]; Húmedo PPpv [1471 mm]; Húmedo PPoi [1454 mm]). Los valores son medias (\pm 1 error estándar). Precipitaciones estacionadas en primavera-verano (PPpv) y precipitaciones estacionadas en otoño-invierno (PPoi).

Cuando analizamos la dinámica de las emisiones de N_2O en un ciclo largo de CS, observamos que la estacionalidad de las precipitaciones y el tipo de cultivo de servicio provocan una variación en los efectos del largo del ciclo en las emisiones de N_2O . Los momentos con emisiones más elevadas fueron detectados entre la finalización del ciclo de un cultivo e inicio del cultivo siguiente (Figura 4.5). Sumado a esto, cuando se estacionan las precipitaciones en primavera-verano, se producen picos de emisiones, principalmente en la parcela barbecho (sin CS). En esta condición, las parcelas de barbecho tuvieron picos de emisión de $2.537 \mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ en un año seco y $1.080 \mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ en un año húmedo. Por otro lado, en años con estacionalidad de lluvias en otoño-invierno, hubo mayor emisión en madurez fisiológica de soja en las parcelas que tenían vicia como CS. Las parcelas con vicia presentaron picos de $689 \mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para un año seco y de $725 \mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para un año húmedo. Independientemente del escenario climático, la utilización de CS y principalmente de avena redujo significativamente las emisiones durante todo el año simulado (Figura 4.5).

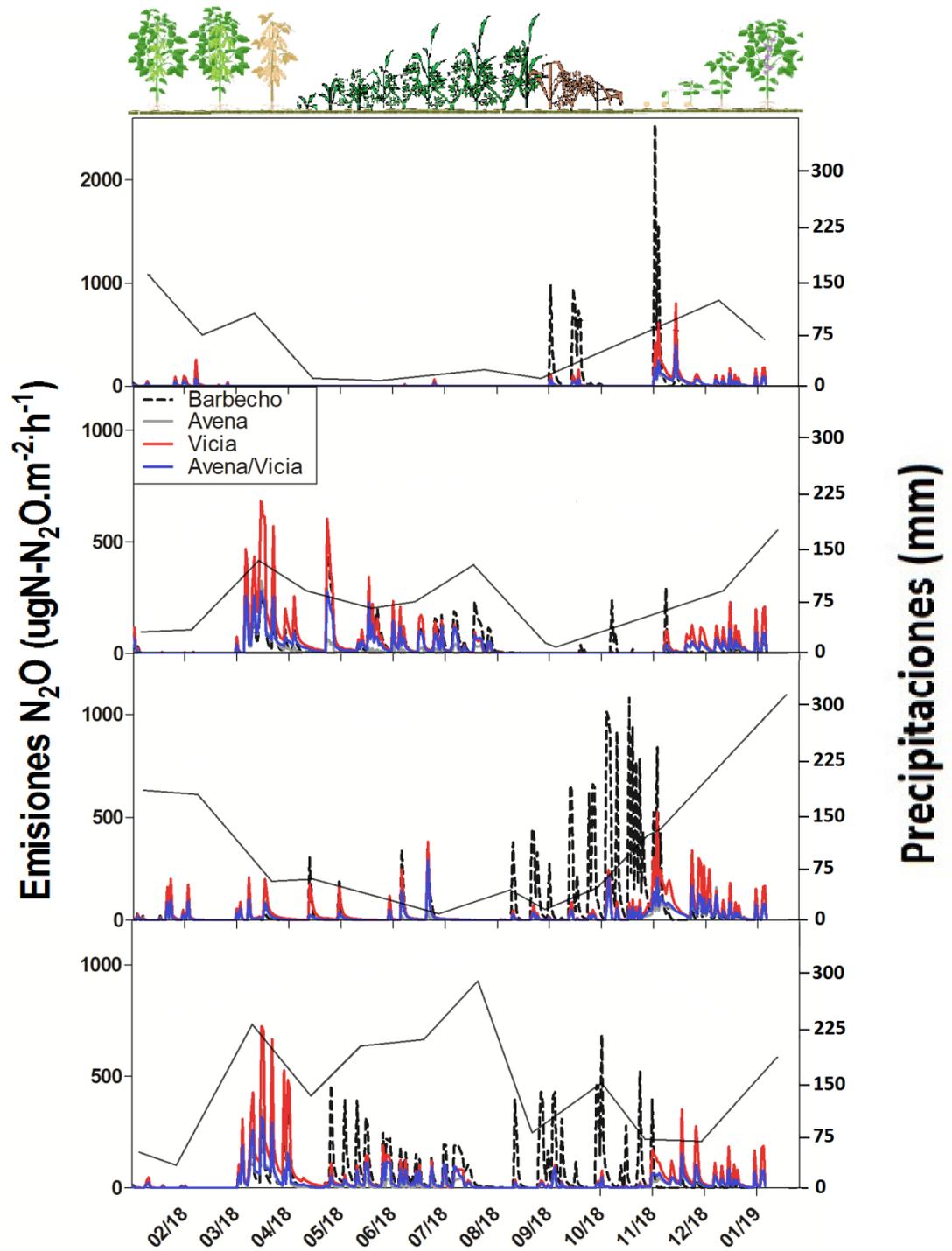


Figura 4.5: Emisiones diarias estimadas de N₂O para cada uno de los tratamientos con y sin CS en cada uno de los escenarios simulados durante un año: a) año seco con precipitaciones en primavera-verano, b) año seco con precipitaciones en otoño-invierno, c)

año húmedo con precipitaciones en primavera-verano, d) año húmedo con precipitaciones en otoño-invierno. La línea negra sólida representa la precipitación acumulada mensual.

4.4 DISCUSIÓN

El modelo *DayCent* resultó una herramienta clave para estimar las emisiones de N₂O acumuladas en el año bajo condiciones climáticas, de suelo y geográfica diferentes a las evaluadas hasta el momento (Álvaro-Fuentes et al., 2017; Jarecki et al., 2008; Necpálová et al., 2015; Rafique et al., 2014). Las estimaciones realizadas mostraron que en un año lluvioso todos los CS de ciclo largo emitieron menos N₂O que un ciclo corto independientemente del momento del año donde lloviera. La reducción de las emisiones de N₂O respecto al barbecho fue de un 40% para avena, de un 24% en vicia y 23% para avena/vicia. Mientras que, en un año seco la reducción fue solamente cuando las precipitaciones se centraron en otoño-invierno con una reducción del 34% para la avena, un 7% para la vicia y un 3% en avena/vicia respecto a un ciclo corto de CS. Cuando las precipitaciones se centraron en primavera-verano las emisiones incrementaron un 30% para avena, un 22% para vicia y un 38% para avena/vicia respecto a un ciclo corto de CS. El modelo *DayCent* resultó una herramienta clave para estimar las emisiones de N₂O acumuladas en el año bajo distintas alternativas de CS, manejos y rotaciones agrícolas.

El modelo estimó que frente a diferentes escenarios climáticos, la avena sembrada inmediatamente luego de la cosecha de soja y terminada previo a la siembra de la soja es la mejor alternativa de manejo para reducir las emisiones de N₂O cuando se utilizan CS. A su vez, el modelo estimó que los CS reducen la tasa media anual de emisiones de N₂O cuando se incrementa el ciclo del CS, es decir cuando los CS son sembrados luego de la cosecha de soja y terminados previos a siembra de soja siguiente. Si bien en el capítulo 2 de esta tesis los CS no mostraron una reducción de la tasa anual de emisiones de N₂O con la siembra de

CS, el modelo permitió estimar emisiones a una tasa diaria y enfatizó el efecto de los CS en momentos en que no se había podido medir a campo. Los resultados coinciden con lo propuesto por trabajos de revisión (Abdalla et al., 2019; Basche et al., 2014; Muhammad et al., 2019) en los que coinciden en que los cultivos de servicio de leguminosas aumentan las emisiones de N_2O y que las especies de gramíneas reducen o no las modifican. Sin embargo, estos trabajos no evaluaron la posibilidad de cubrir todo el barbecho como en este capítulo y en trabajos anteriores en región pampeana (Della Chiesa et al., 2020). Los resultados de este capítulo coinciden con los encontrados por Della Chiesa et al., (2020), quien simuló a partir de datos de biomasa de cultivo y de suelo, la incorporación de CS que cubren todo el período de barbecho del cultivo de soja, pero que se siembran previo a la cosecha de soja.

El modelo *DayCent* sobreestimó las emisiones de N_2O en los tratamientos con cultivo de servicio. La línea de regresión entre los datos observados a campo y los simulados fue similar a la línea 1:1 en el barbecho (Figura 4.1), pero en los tratamientos con CS la línea está por arriba, es decir que hay una tendencia a incrementar la tasa de emisión en los valores más altos de N_2O . En vicia (Figura 4.1c) se puede observar una mayor dispersión de los puntos respecto a la calibración en las parcelas con barbecho, avena y avena-vicia (Figura 4.1.a, b y d respectivamente), el R^2 de la parcela con vicia es de 0.68, similar a valores reportados por otros trabajos que utilizan leguminosas para su estimación (Della Chiesa, Piñeiro, et al., 2022; Rafique et al., 2014). Si bien, se modificaron los valores de los parámetros del modelo que presentan mayor sensibilidad (*wfpsdnitadj* y *netmn_to_no3* (*sitepar.in*) y *PRDX*, *PPDF (1)* y *PPDF (2)* (*crop.in*) que corresponden a parámetros de sitio y al cultivo (Necpálová et al., 2015), no se logró mejorar el ajuste. Además de estos parámetros del archivo *sitepar.in*, hemos modificado el parámetro duración de los eventos

de lluvia (*hours_rain*), el tiempo que tarda en drenar el agua del suelo (*drainlag*) y el parámetro que mide la velocidad del agua dentro del suelo a flujo saturado (*Ksatdeep*). Los eventos de lluvias son más prolongados en nuestro sitio de estudio y no tienen la intensidad de los sitios donde se calibró inicialmente el modelo (Del Grosso et al., 2005, 2012; Parton et al., 1998). Nuestros suelos tienen texturas más finas (arcillas y limos) por lo tanto el agua tarda 1 día en drenar (originalmente era 0) desde que se produjo el evento de llovía. Por el contrario, el *Ksatdeep* para nuestro suelo fue superior al presentado en el modelo original (0.00125 vs 0.0003 cm/seg respectivamente). Si los muestreos a campo se hubieran realizado cuando estaba lloviendo o inmediatamente después de una lluvia, se podría haber mejorado el ajuste debido a que el agua de suelo es una de las principales variables que afectan la emisión de N₂O (Davidson, 1991). Trabajos anteriores mostraron que las diferencias encontradas con el *DayCent* en la predicción de picos de N₂O fueron más obvias después de lluvias y eventos de aplicación de fertilizantes (Jarecki et al., 2008; Parton et al., 2001).

Adelantar la fecha de siembra y atrasar la terminación de los CS permitió reducir las emisiones de N₂O en CS con avena independientemente del escenario climático. Cuando los cultivos están creciendo disminuye el contenido de agua y de N inorgánico del suelo, principales factores biológicos que controlan las emisiones de N₂O. Así también, la absorción de energía solar por el canopeo reduce la temperatura del suelo cuando lo comparamos con un sitio sin cultivo y de esta manera se reduce la actividad biológica (Caviglia et al., 2004). Por último, la finalización del ciclo de un cultivo es un factor muy importante que produce un incremento de las emisiones N₂O, principalmente por una liberación acelerada de N al suelo. Se ha demostrado que la alta disponibilidad de N acelera la tasa de descomposición de residuos en estadios tempranos (Gill et al., 2022; Keuskamp

et al., 2013; Ochoa-Hueso et al., 2020). Por lo tanto, el aporte de biomasa con baja relación C/N (como la soja y la vicia) tiene una alta liberación de N que produce una retroalimentación positiva, dejando disponible en el suelo N inorgánico que puede transformarse fácilmente en N₂O. Cuando esto se combina con precipitaciones estacionadas, la sensibilidad del sistema incrementa y se producen más emisiones de N₂O como en las estimaciones de nuestro modelo cuando no usamos CS o cuando incorporamos una vicia como CS.

Nuestros resultados muestran que existen diferentes alternativas (tipos de cultivos y manejos que involucran fechas de siembra y terminación) para utilizar según la demanda y las predicciones de cambio climático que informó el IPCC en su último informe (IPCC 2022; Zhai et al., 2021). No solo los ciclos largos de CS permiten, de acuerdo al modelo de simulación evaluado, disminuir las emisiones, sino también los ciclos cortos de CS con avena o avena/vicia pero en ese caso dependen de la estacionalidad de las precipitaciones. El incremento de la temperatura media anual del aire es otro factor de cambio climático (IPCC 2021). Si bien, en esta tesis no simulamos el cambio en la temperatura, se ha demostrado que un incremento de 2°C de la temperatura media ambiental produce un incremento del 29% y 16% de las emisiones de N₂O en otoño y primavera respectivamente en lotes de soja y maíz (Rafique et al., 2014). Por lo tanto, el modelo *DayCent* resulta ser una herramienta muy importante para realizar predicciones y estudiar escenarios futuros de cambio climático.

4.5 CONCLUSIÓN

Con los datos y resultados obtenidos en el capítulo 2 de esta tesis pudimos calibrar, evaluar y estimar emisiones de N₂O mediante un modelo biogeoquímico. Los resultados de este capítulo permitieron integrar, estimar y mejorar los valores diarios de emisión de N₂O

de los tratamientos del experimento del capítulo 2. A su vez, las simulaciones permitieron estimar emisiones de N_2O en diferentes escenarios climáticos y con diferentes alternativas que mejoren la inmovilización de N en el suelo para reducir las emisiones de N_2O . Los resultados muestran que el manejo agrícola y el escenario climático son dos factores claves para estimar las emisiones de N_2O . Para reducir las emisiones de N_2O siempre se deberían sembrar los CS inmediatamente después de la cosecha de la soja y terminarlos lo más cerca de la siembra del cultivo de verano. En un año lluvioso, la reducción de las emisiones de N_2O en lotes con monocultivo de soja podría ser del 40% cuando usamos avena como CS, de un 24% en vicia y 23% para avena/vicia al año, independientemente del momento del año donde lloviera. Mientras que, en un año seco la reducción fue estimada solamente cuando las precipitaciones se centraron en otoño-invierno con una reducción del 34% para la avena, un 7% para la vicia y un 3% para la combinación avena-vicia. El modelo *DayCent* resultó una herramienta clave para estimar las emisiones de N_2O acumuladas en el año bajo distintas alternativas de CS, manejos y rotaciones agrícolas.

5 CAPÍTULO 5

Discusión general y conclusiones

5.1 INTRODUCCIÓN

En este capítulo se sintetizan los principales resultados de esta tesis y se discuten sus implicancias, poniendo en contexto los principales hallazgos obtenidos y planteando escenarios futuros. En esta tesis se estudiaron diferentes alternativas de manejo para evaluar si sirven para disminuir las emisiones de N_2O del suelo en lotes con monocultivo de soja y cultivos de servicio. En primer lugar, se compararon las emisiones de N_2O producidas en lotes con rotación soja-soja contra lotes que tenían rotación soja-cultivo de servicio-soja. Se realizó un estudio observacional utilizando un experimento ya instalado que consistía en parcelas con una historia de cuatro años de cultivos de servicio sembrados en una rotación continua soja-soja. Los resultados de este experimento mostraron que en términos anuales, los CS no producen un efecto significativo sobre las emisiones de N_2O . Sin embargo, al analizar la dinámica temporal, se identificaron momentos claves en los que lotes con CS producen efectos distintos sobre las emisiones en comparación al barbecho, aunque en algunos casos fue un aumento en lugar de una reducción (Capítulo 2). Esta información fue muy importante para el desarrollo del resto de la tesis ya que estos resultados permitieron ajustar el diseño de los experimentos desarrollados en los capítulos siguientes. En segundo lugar, se realizó un experimento manipulativo donde se modificó el período de permanencia de los CS en el barbecho de soja. Se utilizaron diferentes fechas de siembra y terminación de los CS con el objetivo de evaluar los efectos del período de crecimiento de los CS y del consecuente período de barbecho de soja (Capítulo 3). Se encontró que cuando los cultivos de servicio se siembran temprano, con la soja en pie, se reducen las emisiones de N_2O durante el período de máximo crecimiento de CS, independientemente del tipo de cultivo de servicio. Por otro lado, terminaciones tempranas son más eficientes para mitigar las emisiones de N_2O que las tardías, sobre todo si se emplean gramíneas como CS. En este

experimento, se intensificó el muestreo durante las fechas críticas del crecimiento y terminación de los CS a partir de lo aprendido con los resultados del capítulo 2. Sin embargo, la frecuencia de muestreo fue insuficiente para hacer estimaciones anuales. La frecuencia ideal (semanal o quincenal) es extremadamente costosa e inalcanzable. Por eso, se calibró y se evaluó el modelo de simulación *DayCent* a partir de datos obtenidos a campo con el experimento desarrollado en el Capítulo 2 y se realizaron estimaciones de emisiones de N₂O para diferentes situaciones de manejo de los CS y diferentes escenarios climáticos (Capítulo 4). En síntesis, los principales avances de esta tesis al estado del conocimiento actual sobre las alternativas para mitigar las emisiones de N₂O son los siguientes:

- I. Los CS no modifican las emisiones de N₂O cuando cubren un período corto de crecimiento, por ejemplo, cuando son sembrados dos meses luego de la cosecha de soja y terminados dos meses antes de la siembra del siguiente cultivo comercial (Capítulo 2).
- II. Cuando se utiliza un CS con una relación C/N baja, como la especie leguminosa vicia, las emisiones se incrementan significativamente en primavera luego de la terminación del CS, más aún si el contenido de agua del suelo es mayor o igual al 60% WFPS (Capítulos 2 y 3).
- III. Los cultivos de servicio deberían sembrarse antes de la cosecha de soja (lo más temprano posible) para reducir las emisiones post-cosecha del cultivo comercial gracias al de crecimiento de los CS durante ese período (Capítulo 3).
- IV. Los cultivos de servicio disminuyen las emisiones de N₂O previo a la terminación, independientemente de la especie utilizada y de la fecha de terminación. Este efecto se mantiene durante la primavera en los CS con una relación C/N alta (Capítulo 3).

- V. La fecha de terminación temprana de los CS produce menos emisiones en el barbecho primaveral en comparación con fechas tardías. En particular, mantener períodos de barbecho de cultivos con leguminosas largos posterior a la terminación del CS no sería un manejo adecuado para reducir las emisiones de N₂O (Capítulo 3).
- VI. Las principales variables edáficas medidas en esta tesis que afectan las emisiones son, en orden de relevancia, el WFPS, el contenido de nitrato, la temperatura de suelo y en menor medida el contenido de amonio del suelo (Capítulo 2 y 3).
- VII. Las simulaciones realizadas con el modelo *DayCent* sugieren que las gramíneas de ciclo largo (sembradas temprano y suprimidas tarde) son la mejor alternativa para disminuir las emisiones de N₂O (Capítulo 4).
- VIII. Las estimaciones realizadas usando el modelo *DayCent* mostraron que, en un año lluvioso, todos los CS de ciclo largo emiten menos N₂O que los de ciclo corto, independientemente del momento del año donde llueva. Mientras que, en un año seco, la reducción de las emisiones se produce solamente cuando las precipitaciones se concentran en otoño-invierno (Capítulo 4).

En síntesis, el avance concreto de esta tesis fue intentar dilucidar a través de mediciones directas, la jerarquía operacional de las emisiones de N₂O y sus controles en sistemas de producción que incluyan los CS en una zona representativa no sólo de la producción de granos en Argentina, sino de las zonas de producción templadas de todo el mundo. El entender esta articulación de controles fue clave para proponer estrategias que realmente mitiguen en el corto, mediano y largo plazo las emisiones de este GEI. A continuación discutiré en este capítulo aspectos relevantes de los resultados obtenidos: a) la adopción de los cultivos de servicios en la Región Pampeana y su impacto en las emisiones de N₂O, b)

el uso de ecuaciones estructurales para entender los controles de la emisión y c) la evaluación del modelo *DayCent*.

5.2 Adopción de los cultivos de servicios en la Región Pampeana y su impacto en las emisiones de N₂O

Los cultivos de servicio son una herramienta que permite compensar la pérdida de los servicios ecosistémicos que se generan los agroecosistemas. Los cultivos anuales capturan solamente entre el 20 y 36 % de la radiación fotosintéticamente activa incidente anual y evapotranspiran 44 - 71% de la precipitación anual (Caviglia 2004). Por lo tanto, la inclusión de cultivos de servicios es una alternativa para aumentar la captura y eficiencia en el uso de los recursos, que permitiría reducir las pérdidas de energía, agua y nutrientes en los agroecosistemas (Andrade et al., 2015; Caviglia et al., 2004). Sin embargo, la eficiencia de esta práctica para mitigar las emisiones de óxido nitroso, un potente gas de efecto invernadero y que destruye la capa de ozono, no había sido evaluada en la región pampeana hasta el momento. Si bien, el número de productores que adoptan los CS viene creciendo a una tasa del 20% anual, solamente el 19% de los productores de la región pampeana han adoptado el uso de cultivos de servicio como una tecnología de proceso hasta la actualidad, lo que representa el 1,8% de la superficie sembrada con maíz, soja y girasol (Brihet et al., 2021). Los resultados presentados aquí podrían servir para diseminar esta práctica en la región y mejorar el manejo de los CS que ya se están implementando, por ejemplo, ajustando el acople entre los cultivos comerciales y los de servicio de modo de minimizar las pérdidas indeseadas de nitrógeno inorgánico.

Los resultados de los experimentos de campo de esta tesis permitieron avanzar en el manejo de los CS para reducir las emisiones de N_2O . El experimento instalado en San Antonio de Areco (desarrollado en capítulo 2) aportó información sobre los patrones temporales de emisión de N_2O y sus controles. En cambio, el experimento establecido en Luján (desarrollado en capítulo 3) se realizó en un sitio con condiciones edáficas similares pero las precipitaciones fueron menores (124 vs. 77 mm mensual en San Antonio de Areco y Luján respectivamente), y la historia de uso del lote y el manejo de los CS fueron diferentes. Aún con estas condiciones disimiles entre ambos experimentos, los patrones de emisión temporal se repitieron, mostrando un incremento de emisión luego de la cosecha de la soja y luego de la terminación de los CS que incluían vicia. Por lo tanto, ajustar la fecha de terminación y la especie utilizada como CS podría ser una clave para reducir las emisiones de N_2O en las condiciones edáficas de la región pampeana. Otra alternativa que surge de este estudio en la Región Pampeana y que podría complementar con el uso de los CS, es utilizar cultivos de soja con cepas que contienen un gen que obliga a completar la desnitrificación y reducir las emisiones de N_2O . Akiyama et al. (2016) y Obando et al. (2019) han sugerido que las emisiones de N_2O durante el ciclo de soja podrían reducirse mediante el uso de un inoculante con el gen *nosZ* que conduce a la formación de N_2 como principal producto de la desnitrificación. Un experimento de campo con soja inoculada con cepas de *Bradyrhizobium* que contenían el gen *nosZ* redujo las emisiones de N_2O pero dio como resultado menores rendimientos del cultivo de soja (Obando et al., 2019).

Sin embargo, cuando integramos todas las fechas de muestreo de los CS (marzo 2019-enero 2020) y tomamos los CS que se sembraron en marzo y se terminaron en septiembre, se observa que los CS con mezclas de avena y vicia reducen las emisiones medias anuales

en un 30,7% respecto al barbecho (Figura 5.1). Esto equivale a una reducción de 1,05 kg N.ha⁻¹.año⁻¹ que es emitido a la atmósfera en forma de N₂O. Si comparamos este valor con trabajos realizados en la Región Pampeana, coincide con la emisión que producen los pastizales naturales o sitios de referencia cuando se analiza la emisión base del suelo (Alvarez et al., 2012; Araujo et al., 2020; Della Chiesa et al., 2019). Por lo tanto, lo que reducirían los CS es el equivalente a lo que emiten los pastizales naturales. De aquí la importancia que tienen los cultivos de servicio para mitigar las emisiones de N₂O. Se ha demostrado que la diversidad de las comunidades de plantas está asociada a una menor emisión y variabilidad de N₂O (Piñeiro-Guerra et al., 2019; Scott et al., 2020). Los resultados de esta tesis son muy importantes porque demuestran que el incremento de la diversidad de cultivos en un mismo lote reduce potencialmente las emisiones de N₂O.

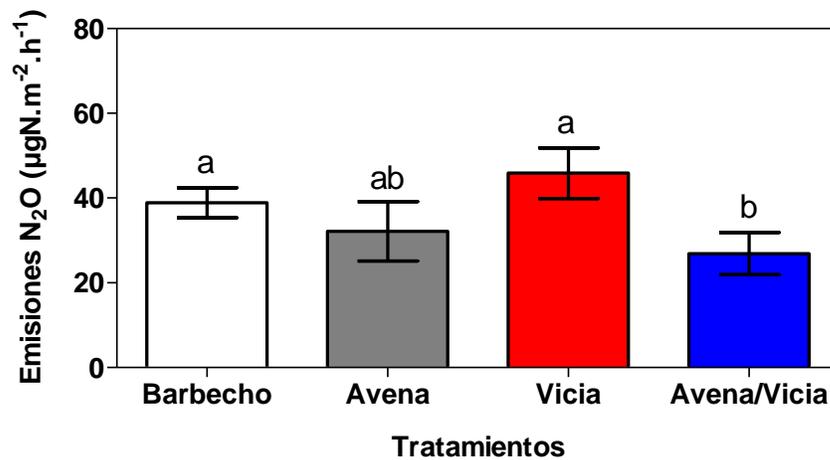


Figura 5.1: Emisión media anual de N₂O (µg N₂O-N m⁻² h⁻¹) desde marzo 2019 a enero 2020 para las parcelas con barbecho, y los cultivos de servicio avena, vicia y avena/vicia sembrados en marzo y terminados en septiembre. Las barras son valores medios de emisión de N₂O ± 1 error estándar de la media, n= 6. Letras diferentes muestran diferencias significativas (p<0,05).

5.3 Mecanismos de regulación de N₂O evaluados con ecuaciones de modelos estructurales

Los modelos de ecuaciones estructurales (SEM) son modelos probabilísticos que integran múltiples predictores y variables de respuesta en una única red causal. Es una herramienta muy utilizada en las ciencias biológicas porque resuelve relaciones múltiples entre un conjunto de variables interrelacionadas (Lefcheck, 2015). Sin embargo, son pocos los trabajos han utilizado e integrado mediante SEM variables ambientales para explicar el efecto de las variables de control sobre las emisiones de N₂O (Della Chiesa et al., 2019; Risch et al., 2020; Scott et al., 2020). En esta tesis las SEM permitieron integrar a los CS con las variables de control, y las emisiones de N₂O.

En primer lugar, se armó un modelo teórico para poner a prueba y que permitió evaluar los efectos indirectos y directos de los tratamientos sobre las emisiones de N₂O (Figura Ap-3.1). Los efectos indirectos permiten ver el efecto del CS sobre las variables de control y, a posteriori, el efecto sobre las emisiones de N₂O. Gran parte de los resultados de las SEM mostraron que los CS tienen un efecto significativo sobre las variables de control, reduciendo la humedad del suelo (el WFPS), la temperatura y el contenido de nitratos durante su crecimiento, respecto a la situación de no tener CS (barbecho de soja). Estudios previos mostraron que los efectos directos se explican por otras variables de control que no fueron estudiadas en esta tesis, como el carbono fácilmente disponible y el NDVI (Della Chiesa et al., 2019) y la diversidad de plantas (Piñeiro-Guerra et al., 2019; Scott et al., 2020), entre otras variables que influyen en la emisión de N₂O. El efecto del C fácilmente disponible sobre las emisiones de N₂O es una variable muy importante que debe seguir estudiándose. Hay evidencias realizadas en laboratorio que plantean la necesidad de considerar al C mineralizable como variable de control de las emisiones, pero se parte de

concentraciones de glucosa y nitrógeno muy diferentes a las condiciones de campo. Según Mitchell et al., (2013) las emisiones de N_2O se ven limitadas por C cuando la concentración del nitrógeno en el nitrato es 200-350 ppm, condiciones muy diferentes a lo que encontramos en nuestros sitios experimentales (donde la concentración de N en los nitratos es entre 10 y 100 ppm). Así también, otro trabajo realizado en suelos de texturas finas, similar a los de nuestros sitios de estudio, encontró un efecto del C del suelo sobre las emisiones de N_2O sólo cuando el carbono orgánico fue $> 40 \text{ mg.g}^{-1}$ suelo (Harrison-Kirk et al., 2013). Sin embargo, el contenido de carbono orgánico en nuestros sitios es en promedio 20 mg.g^{-1} suelo. Todos estos antecedentes nos llevaron a pensar que, en nuestro sistema de estudio, el C orgánico no sería un control limitante. Pero consideramos que sería bueno incorporarlo en futuro estudios para poner a prueba este supuesto

Los modelos SEM del capítulo 3 evidenciaron efectos directos e indirectos que fueron diferentes según el período que se analizó. El manejo de la parcela tiene un efecto sobre las variables de control, la siembra de un CS o un cultivo de soja, la fenología del cultivo y la cosecha o terminación de los cultivos. Así también, todas las variables de control se relacionaron de manera positiva con las emisiones, pero con efectos diferentes según el período analizado. Sin embargo, el contenido de agua del suelo (WFPS), la variable de control más importante, tiene una relación positiva con las emisiones de N_2O en todos los períodos analizados y muestra un efecto mayor. Esto se debe principalmente al efecto que tiene el WFPS sobre la concentración de O_2 y de la naturaleza de acción de las bacterias desnitrificadoras en condiciones de anaerobiosis. La relación negativa de los CS con las variables de control es un efecto que se repite en todo el período de crecimiento y desarrollo de los CS (desde la siembra hasta su terminación). Esto muestra que cuando hay un CS creciendo, hay un cambio en las variables que controlan la tasa de emisión de N_2O .

Durante el subperíodo de máximo crecimiento de los CS, las SEM mostraron que los CS reducen principalmente el contenido de agua y el nitrato del suelo, variables que tienen gran influencia en el ciclo del N en el suelo (Figura 3.8). Sin embargo, durante el barbecho de primavera la SEM no mostró patrones claros. Aparecen efectos directos y positivos para la vicia terminada en octubre y negativo para la avena/vicia terminada en septiembre. El aporte de biomasa luego de la terminación de los CS, el incremento de la temperatura y la alta humedad del suelo incrementan la disponibilidad de nutrientes (Jani et al., 2015; Notaris et al., 2019). Además, en este período hay un aporte de C lábil por parte de los CS que provoca un incremento de la biomasa y actividad de la biota edáfica (Scott et al., 2019). Los modelos SEM aportaron gran información en esta tesis y permitieron entender la relación entre los cultivos de servicio, las variables de control y las emisiones de N₂O. Así también, las SEM nos permitieron evidenciar las variables de suelo que ejercen mayor control sobre las emisiones de N₂O según el manejo agrícola y el momento del CS.

5.4 Evaluación del modelo *DayCent*

Entre los modelos de simulación basados en procesos, el modelo *DayCent* es uno de los más utilizados a nivel mundial para analizar los ciclos de carbono y nitrógeno en diferentes ecosistemas, incluidos los suelos agrícolas donde se pone especial atención a las emisiones de gases de efecto invernadero (Del Grosso et al., 2001, 2005; Parton et al., 1998). El modelo *DayCent* permite realizar simulaciones asociadas a sistemas de información geográfica (SIG) para obtener mapas o resultados espacialmente explícitos. Distintos modelos de simulación han sido probados con éxito en diferentes ambientes del mundo, pero no se registraron hasta el presente muchos datos en la Región Pampeana. Por lo tanto, es necesario realizar mediciones a campo de emisiones de N₂O para calibrar y/o adaptar estos modelos (Chen et al., 2008; Della Chiesa et al., 2022a; Della Chiesa et al., 2022b;

Parton et al., 1998). Una de las limitantes de la calibración del modelo *DayCent* realizada en este estudio fue la baja frecuencia de muestreo (mensual) comparado con evaluaciones anteriores del modelo (Necpálová et al., 2015; Weiler et al., 2017). Si bien, se observa que el ajuste del modelo al comparar los datos observados vs estimados es bueno, hay un sesgo hacia los valores más elevados en la simulación que los medidos a campo. Tener más datos estimados a campo, y en particular en momentos estratégicos como inmediatamente luego de una precipitación, y/o intensificar el muestreo luego de la incorporación de un residuo orgánico, podría permitir la detección de picos de emisión de N_2O y mejorar el ajuste del modelo.

Al comparar las emisiones de N_2O observadas a campo (n=14) con las emisiones de N_2O simuladas (n= 365), se observa que la emisión simulada es mayor en los tratamientos de barbecho y vicia (Figura 5.2). Estas diferencias se deben a que el modelo permite tener datos periódicos que incluyen eventos favorables para la emisión como una precipitación, la terminación de los CS y la cosecha de soja (Jarecki et al., 2008; Parton et al., 2001).

La diferencia entre los flujos de N_2O simulados y observados también puede atribuirse a las grandes incertidumbres inherentes a las emisiones de N_2O medidas debido a las complejas interacciones de los factores reguladores, el manejo del suelo y la heterogeneidad espacial (Rafique et al., 2011). Entonces, habría que diseñar experimentos específicos para calibrar estos parámetros, a partir de los cuales se podría obtener un mejor ajuste del modelo en mediciones futuras.

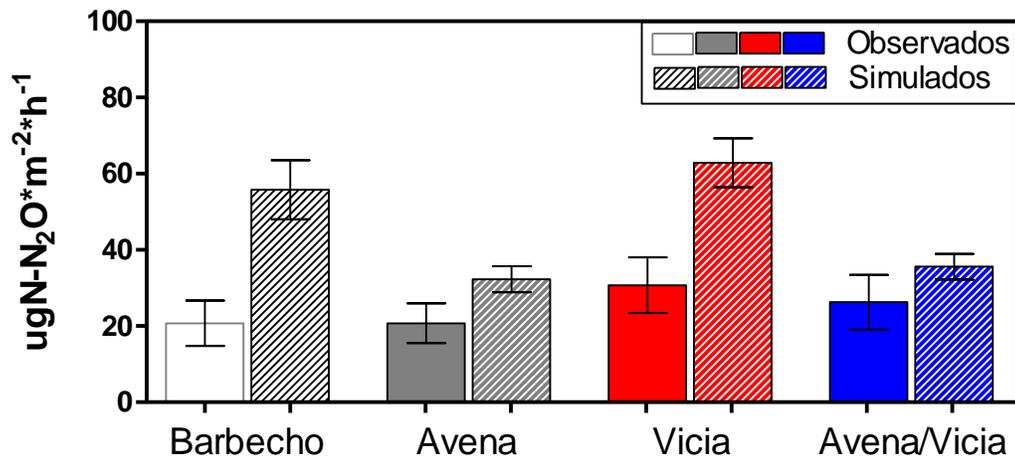


Figura 5.2: Valores medios de óxido nitroso ($\mu\text{gN-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$) observados (barras llenas) y simulados (barras sombreadas) para cada tratamiento durante el período Febrero 2018-Enero 2019. Los valores observados tiene un $n=14$ (muestreros) y los simulados tienen un $n=365$ (simulación diarias).

Finalmente, cabe destacar que los resultados del modelo de simulación indicaron que cuando se alarga el ciclo de los CS, se reducirían las emisiones de N_2O , contrariamente a los resultados obtenidos en el capítulo 3. Posiblemente estas inconsistencias se deban a que son sitios diferentes (San Antonio de Areco y Luján) con diferencias en la historia de uso de los lotes y/o en la distribución de las precipitaciones a lo largo del año. La terminación temprana de los CS en el experimento en Luján se realizó con temperaturas de suelo cercanas a los 10°C , con pocos eventos de precipitaciones en los días posteriores y con menor biomasa de los CS. Cuando se realizó la segunda fecha de terminación, la temperatura fue $>$ a los 15°C , hubo abundantes precipitaciones y la biomasa de los CS fue mayor. Además, las precipitaciones no permitieron una siembra inmediata de la soja, la biomasa de los CS se descompuso y liberó N al suelo. El período entre la terminación de los CS y la siembra de la soja es la principal diferencia con los modelos de simulación que predicen menor emisión de N_2O cuando se realiza una siembra del cultivo comercial inmediatamente después de la terminación del CS.

5.5 Perspectivas futuras

Esta tesis avanza hacia el entendimiento de los mecanismos y factores de control que buscan explicar la magnitud de las emisiones de óxido nitroso, un potente gas de efecto invernadero, en relación al uso de cultivos de servicio en agroecosistemas simplificados. A partir de esta tesis se derivan diferentes alternativas de manejo que se pueden adaptar a la realidad de los productores de la Región Pampeana, implementando diferentes cultivos de servicio, y manejando sus fechas de siembra y de terminación. Esta información será muy importante para otras investigaciones y para que sea incorporada por distintos adoptantes, productores, organizaciones de productores y por la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. Esta última es la institución responsable de la confección del inventario nacional de gases de efecto invernadero y de proponer estrategias de mitigación de la emisión de gases en los diferentes sectores productivos. Además, esta información es de utilidad para el Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación, responsable de proponer e incentivar estrategias productivas, ambientalmente sustentables.

A partir de los resultados de esta tesis es posible plantear nuevas alternativas que guíen investigaciones futuras:

- 1- Sería muy interesante evaluar otros cultivos de servicio, como por ejemplo el Nabo (*Brassica rapa*), que actualmente se utiliza con el objetivo de descompactar el suelo y que a su vez aporta un residuo con relación C/N diferente a las utilizadas en esta tesis. También, incrementar el número de especies a utilizar en las mezclas para diversificar la calidad de residuos de los CS e incrementar la extracción de nutrientes lábiles del suelo para transformarlos en componentes estables.
- 2- Sembrar lo más temprano posible y utilizar semillas de soja inoculadas con sepas NosZ que emiten menos N₂O durante el período de cosecha de la soja. Así como también,

realizar inmediata siembra de la soja después de la terminación de los CS para corroborar los resultados simulados por el modelo DayCent.

- 3- Intensificar los muestreos durante la cosecha de soja y el período de terminación de los CS, y manejar dentro de lo posible el contenido de agua del suelo en esos momentos, para conocer los umbrales de agua en momentos con alta disponibilidad de nitrógeno y carbono en el suelo.

6 BIBIOGRAFÍA

- Abdalla, M., Hastings, A., Cheng, K., Yue, Q., Chadwick, D., Espenberg, M., Truu, J., Rees, R. M., & Smith, P. (2019). A critical review of the impacts of cover crops on nitrogen leaching, net greenhouse gas balance and crop productivity. *Global Change Biology*, *July 2018*, 2530–2543. <https://doi.org/10.1111/gcb.14644>
- Abdalla, M., Hastings, A., Helmy, M., Prescher, A., Osborne, B., Lanigan, G., Forristal, D., Killi, D., Maratha, P., Williams, M., Rueangritsarakul, K., Smith, P., Nolan, P., & Jones, M. B. (2014). Assessing the combined use of reduced tillage and cover crops for mitigating greenhouse gas emissions from arable ecosystem. *Geoderma*, *223–225*(1), <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.01.030>
- Abdalla, M., Jones, M., Yeluripati, J., Smith, P., Burke, J., & Williams, M. (2010). Testing DayCent and DNDC model simulations of N₂O fluxes and assessing the impacts of climate change on the gas flux and biomass production from a humid pasture. *Atmospheric Environment*, *44*(25), 2961–2970. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.05.018>
- Abdalla, M., Song, X., Ju, X., Topp, C. F. E., & Smith, P. (2020). Calibration and validation of the DNDC model to estimate nitrous oxide emissions and crop productivity for a summer maize-winter wheat double cropping system in Hebei, China. *Environmental Pollution*, *262*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114199>
- Ai, C., Liang, G., Wang, X., Sun, J., He, P., & Zhou, W. (2017). A distinctive root-inhabiting denitrifying community with high N₂O/(N₂O+N₂) product ratio. *Soil Biology and Biochemistry*, *109*, 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.02.008>
- Ai, C., Zhang, M., Sun, Y., Zhang, L., Zeng, L., & Liu, Y. (2020). Wheat rhizodeposition stimulates soil nitrous oxide emission and denitrifiers harboring the nosZ clade I gene. *Soil Biology and Biochemistry*, *143*, 107738. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107738>
- Akiyama, H., Hoshino, Y. T., Itakura, M., Shimomura, Y., Wang, Y., Yamamoto, A., Tago, K., Nakajima, Y., Minamisawa, K., & Hayatsu, M. (2016). Mitigation of soil N₂O emission by inoculation with a mixed culture of indigenous Bradyrhizobium diazoefficiens. *Scientific Reports*, *6*, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep32869>
- Alonso-Ayuso, M., Gabriel, J. L., & Quemada, M. (2014). The kill date as a management tool for cover cropping success. *PLoS ONE*, *9*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109587>
- Alvarez, C., Costantini, A., Alvarez, C. R., Alves, B. J. R., Jantalia, C. P., Martellotto, E. E., & Urquiaga, S. (2012). Soil nitrous oxide emissions under different management practices in the semiarid region of the Argentinian Pampas. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, *94*, 209–220. <https://doi.org/10.1007/s10705-012-9534-9>
- Álvarez, C., Quiroga, A., Santos, D., & Bodrero, M. (2013). *Contribuciones de los cultivos de cobertura a la sostenibilidad de los sistemas de producción*.
- Alvarez, R., Steinbach, H. S., & De Peape, J. (2017). Cover crop effects on soils and subsequent crops in the pampas: A meta-analysis. *Soil & Tillage Research*, *170*, 53–

65. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.03.005>
- Álvaro-Fuentes, J., Arrúe, J. L., Bielsa, A., Cantero-Martínez, C., Plaza-Bonilla, D., & Paustian, K. (2017). Simulating climate change and land use effects on soil nitrous oxide emissions in Mediterranean conditions using the Daycent model. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 238, 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.017>
- Ambus, P., & Christensen, S. (1994). *Measurement of N₂O emission from a fertilized grassland: An analysis of spatial variability*. 99, 549–555.
- Andrade, J. F., & Satorre, E. H. (2015). Single and double crop systems in the Argentine Pampas: Environmental determinants of annual grain yield. *Field Crops Research*, 177, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.008>
- Araujo, P. I., Yahdjian, L., Acreche, M. M., Alvarez, C., Alvarez, C. R., Costantini, A., Chalco, J., Petrasek, M., De Tellería, J., Della Chiesa, T., Lewczuk, N., Poccinetti, C., & Piñeiro, G. (2020). Drivers of N₂O Emissions from Natural Forests and Grasslands Differ in Space and Time. *Ecosystems*, 24. <https://doi.org/10.1007/s10021-020-00522-7>
- Arora, V. K., Singh, C. B., Sidhu, A. S., & Thind, S. S. (2011). Irrigation, tillage and mulching effects on soybean yield and water productivity in relation to soil texture. *Agricultural Water Management*, 98(4), 563–568. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.10.004>
- Asadieh, B., & Krakauer, N. Y. (2015). Global trends in extreme precipitation: Climate models versus observations. *Hydrology and Earth System Sciences*, 19(2), 877–891. <https://doi.org/10.5194/hess-19-877-2015>
- Baethgen, W. E., & Alley, M. M. (1989). A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant kjeldahl digests. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 20(9–10), 961–969. <https://doi.org/10.1080/00103628909368129>
- Baggs, E. M. (2011). Soil microbial sources of nitrous oxide: Recent advances in knowledge, emerging challenges and future direction. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 3(5), 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2011.08.011>
- Baggs, E., & Philippot, L. (2010). Microbial terrestrial pathways to N₂O. En K. Smith (Ed.), *Nitrous oxide and climate change earthscan*. Routledge.
- Baggs, E. M., Rees, R. M., Smith, K. A., & Vinten, A. J. A. (2000). Nitrous oxide emission from soils after incorporating crop residues. *Soil Use and Management*, 16, 82–87.
- Balota, E. L., Calegari, A., Nakatani, A. S., & Coyne, M. S. (2014). Benefits of winter cover crops and no-tillage for microbial parameters in a Brazilian Oxisol: A long-term study. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 197, 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.07.010>
- Basche, A. D., Miguez, F. E., Kaspar, T. C., & Castellano, M. J. (2014). Do cover crops increase or decrease nitrous oxide emissions? A meta-analysis. *Journal of Soil and Water Conservation*, 69(6), 471–482. <https://doi.org/10.2489/jswc.69.6.471>
- Beare, M. H., Gregorich, E. G., & St-Georges, P. (2009). Compaction effects on CO₂ and

- N₂O production during drying and rewetting of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), 611–621. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.12.024>
- Blanco-canqui, H., Holman, J. D., Schlegel, A. J., Tatarko, J., & Shaver, T. M. (2013). *Replacing Fallow with Cover Crops in a Semiarid Soil: Effects on Soil Properties*. *Soil & Water Management & Conservation*, 77: 1026-1034
<https://doi.org/10.2136/sssaj2013.01.0006>
- Bouwman, A. F., Beusen, A. H. W., Griffioen, J., Van Groenigen, J. W., Hefting, M. M., Oenema, O., Van Puijenbroek, P. J. T. M., Seitzinger, S., Slomp, C. P., & Stehfest, E. (2013). Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N₂O emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0112>
- Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer Method Improved for Making Particle Size Analyses of Soils 1. *Agronomy Journal*, 54(5), 464–465.
<https://doi.org/10.2134/agronj1962.00021962005400050028x>
- Bowatte, S., Newton, P. C. D., & Theobald, P. (2014). Emissions of nitrous oxide from the leaves of grasses. *Plant Soil*, 374, 275–283. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1879-6>
- Boyero, L., Cardinale, B. J., Bastian, M., & Pearson, R. G. (2014). *Biotic vs . Abiotic Control of Decomposition : A Comparison of the Effects of Simulated Extinctions and Changes in Temperature*. *PLoS ONE*, 9(1), 1–6.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087426>
- Bremner, J. . (1965). Inorganic Forms of Nitrogen in Soil. *Iowa Agr. and Home Econ. Exp., J-4731*(1070), 1179–1237. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr22.c2>
- Brevik, E. C., Cerdà, A., Mataix-Solera, J., Pereg, L., Quinton, J. N., Six, J., & Van Oost, K. (2015). The interdisciplinary nature of SOIL. *Soil*, 1(1), 117–129.
<https://doi.org/10.5194/soil-1-117-2015>
- Brihet, J., Gayo, S., Regeiro, D. 2021. Cultivos de cobertura. Relevamiento de tecnología Agrícola Aplicada. Informe Mensual N. 42.
<https://www.bolsadecereales.com/imagenes/retaa/2021-03/220-retaamensualn%C2%BA42-cultivoscobertura.pdf>
- Burker, W., Gabriels, D., & Bouman, J. (1986). *Soil structure assessment*.
- Butterbach-Bahl, K., Baggs, E. M., Dannenmann, M., Kiese, R., & Zechmeister-Boltenstern, S. (2013). Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130122–20130122.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0122>
- Canali, S., Diacono, M., Campanelli, G., & Montemurro, F. (2015). Organic No-Till with Roller Crimpers: Agro-ecosystem Services and Applications in Organic Mediterranean Vegetable Productions. *Sustainable Agriculture Research*, 4(3), 70.
<https://doi.org/10.5539/sar.v4n3p70>
- Carey, P. ., Cameron, K. ., Di, H. ., & Edwards, G. . (2018). Does sowing an oats catch crop reduce nitrate leaching from urine deposition following simulated winter forage

- grazing? - a growth chamber experiment. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3742-2>
- Caviglia, O. P., Sadras, V. O., & Andrade, F. H. (2004). Intensification of agriculture in the south-eastern Pampas: I. Capture and efficiency in the use of water and radiation in double-cropped wheat-soybean. *Field Crops Research*, *87*(2–3), 117–129. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.10.002>
- Chai, T., & Draxler, R. R. (2014). Root mean square error (RMSE) or mean absolute error (MAE)? -Arguments against avoiding RMSE in the literature. *Geoscientific Model Development*, *7*(3), 1247–1250. <https://doi.org/10.5194/gmd-7-1247-2014>
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Quéré, C. Le, Myneni, R. B., Piao, S., & Thornton, P. (2013). The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Change, IPCC Climate*, 465–570. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.015>
- Cosentino, V. R. N., Figueiro Aureggi, S. A., & Taboada, M. A. (2013). Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled. *European Journal of Soil Science*, *64*(3), 550–557. <https://doi.org/10.1111/ejss.12080>
- Coyne, M. S. (2015). Biological denitrification. *Nitrogen in Agricultural Systems*, *02*, 201–253. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr49.c7>
- Dalal, R. C., Wang, W., Robertson, G. P., & Parton, W. J. (2003). Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: A review. *Australian Journal of Soil Research*, *41*(2), 165–195. <https://doi.org/10.1071/SR02064>
- 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>
- Davidson, E. A. (1991). Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. In *American Society of Microbiology, Washington* (pp. 219–35). <https://doi.org/https://ci.nii.ac.jp/naid/10030421813/>
- De Klein, C. a. M., & Harvey, M. (2012). Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines. *Global Reserch Alliance on Agricultural Greenhouse Gases, December*, 1–148. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0231>
- Del Grosso, S. J., Mosier, A. R., Parton, W. J., & Ojima, D. S. (2005). DAYCENT model analysis of past and contemporary soil N₂O and net greenhouse gas flux for major crops in the USA. *Soil and Tillage Research*, *83*(1 SPEC. ISS.), 9–24. <https://doi.org/10.1016/j.still.2005.02.007>
- Del Grosso, S. J., Parton, W. J., Adler, P. R., Davis, S. C., Keough, C., & Marx, E. (2012). Daycent model simulations for estimating soil carbon dynamics and greenhouse gas fluxes from agricultural production systems. In *Managing Agricultural Greenhouse Gases*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386897-8.00014-0>
- Del Grosso, S. J., Parton, W. J., Keough, C. A., & Reyes-Fox, M. (2011). Special features of the DayCent modeling package and additional procedures for parameterization, calibration, validation, and applications. *Methods of Introducing System Models into*

- Agricultural Research*, 2, 155–176. <https://doi.org/10.2134/advagriscystmodel2.c5>
- Del Grosso, S. J., Parton, W. J., Mosier, a R., Hartman, M. D., Brenner, J., Ojima, D. S., & Schimel, D. S. (2001). *Simulated Interaction of Carbon Dynamics and Nitrogen Trace Gas Fluxes using the DAYCENT Model*. En: *Modeling Carbon and Nitrogen Dynamics for Soil Management* (Issue C). <https://doi.org/DOI:10.1201/9781420032635.ch8>
- Della Chiesa, T., Del Grosso, S. J., Hartman, M. D., Parton, W. J., Echarte, L., Yahdjian, L., & Piñeiro, G. (2022a). A novel mechanism to simulate intercropping and relay cropping using the DayCent model. *Ecological Modelling*, 465, 109869. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2021.109869>
- Della Chiesa, T., Piñeiro, G., Del Grosso, S. J., Parton, W. J., Araujo, P. I., & Yahdjian, L. (2022b). Higher than expected N₂O emissions from soybean crops in the Pampas Region of Argentina: Estimates from DayCent simulations and field measurements. *Science of the Total Environment*, 835. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155408>
- Della Chiesa, T., Piñeiro, G., & Yahdjian, L. (2019). Gross, Background, and Net Anthropogenic Soil Nitrous Oxide Emissions from Soybean, Corn, and Wheat Croplands. *Journal of Environment Quality*, 23, 16–23. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.07.0262>
- Dietzel, R., Wolfe, D., & Thies, J. E. (2011). The influence of winter soil cover on spring nitrous oxide emissions from an agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9), 1989–1991. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.05.017>
- Douglas, C. L., & Rickman, R. W. (1992). Estimating crop residue decomposition from air temperature, initial nitrogen content, and residue placement. *Soil Science Society of America Journal*, 56(1), 272–278. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600010042x>
- Duce, R. A., LaRoche, J., Altieri, K., Arrigo, K. ., Baker, A. ., Capone, D. ., Cornell, S., Dentener, F., Galloway, J., Ganeshram, R. ., Geider, R. ., Jickells, T., Kuypers, M. ., Langlois, R., Liss, P. ., Liu, S. ., Mi, J. ., & Zamora, M. (2013). *Impacts of Atmospheric Anthropogenic Nitrogen on the Open Ocea*. *Science*, 893(2008). <https://doi.org/10.1126/science.1150369>
- Duval, M. E., Galantini, J. A., Capurro, J. E., & Martinez, J. M. (2016). Winter cover crops in soybean monoculture: Effects on soil organic carbon and its fractions. *Soil and Tillage Research*, 161, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.04.006>
- Escobar, L. F., Amado, T. J. C., Bayer, C., Chavez, L. F., Zanatta, J. A., & Fiorin, J. E. (2010). Postharvest nitrous oxide emissions from a subtropical oxisol as influenced by summer crop residues and their management. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 34(2), 435–442. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000200024>
- Fehr, W. ., Cavines, C. E., Burmood, D. T., & Pennington, J. S. (1971). Stage of development descriptions for soybeans, glycine max (l.) Merrill. *Crop Science*, 11, 929–9314.
- Fiorini, A., Codruta, S., Abalos, D., & Amaducci, S. (2020). Combining no-till with rye (*Secale cereale L.*) cover crop mitigates nitrous oxide emissions without decreasing yield. *Soil & Tillage Research*, 196, 104442.

- <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104442>
- Fiorini, A., Codruta, S., Abalos, D., Amaducci, S., & Tabaglio, V. (2020). Combining no-till with rye (*Secale cereale* L.) cover crop mitigates nitrous oxide emissions without decreasing yield. *Soil & Tillage Research*, *196*, 104442. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104442>
- Firestone, M.K., and E.A. Davidson. 1989. Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. In: M.O. Andreae and D.S. Schimel, editors, Forster, P., Ramaswawamy, V., Zealand, N., & Zealand, N. (2007). Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. En *Climate Change 2007* (pp. 131–217).
- Gabriel, J. L., Muñoz-Carpena, R., & Quemada, M. (2012). The role of cover crops in irrigated systems: Water balance, nitrate leaching and soil mineral nitrogen accumulation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *155*(3), 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.03.021>
- García-gonzález, I., Hontoria, C., Luis, J., Alonso-ayuso, M., & Quemada, M. (2018). Geoderma Cover crops to mitigate soil degradation and enhance soil functionality in irrigated land. *Geoderma*, *322*(February), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.024>
- Garland, G., Edlinger, A., Banerjee, S., Degrune, F., García-Palacios, P., Pescador, D. S., Herzog, C., Romdhane, S., Saghai, A., Spor, A., Wagg, C., Hallin, S., Maestre, F. T., Philippot, L., Rillig, M. C., & van der Heijden, M. G. A. (2021). Crop cover is more important than rotational diversity for soil multifunctionality and cereal yields in European cropping systems. *Nature Food*, *2*(1), 28–37. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-00210-8>
- Gill, A. L., Adler, P. B., Borer, E. T., Buyarski, C. R., Cleland, E. E., D’Antonio, C. M., Davies, K. F., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hofmockel, K. S., MacDougall, A. S., McCulley, R. L., Melbourne, B. A., Moore, J. L., Morgan, J. W., Risch, A. C., Schütz, M., Seabloom, E. W., Wright, J. P., ... Hobbie, S. E. (2022). Nitrogen increases early-stage and slows late-stage decomposition across diverse grasslands. *Journal of Ecology*, *110*(6), 1376–1389. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13878>
- Gomes, J., Bayer, C., de Souza Costa, F., de Cássia Piccolo, M., Zanatta, J. A., Vieira, F. C. B., & Six, J. (2009). Soil nitrous oxide emissions in long-term cover crops-based rotations under subtropical climate. *Soil and Tillage Research*, *106*(1), 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.still.2009.10.001>
- Gómez-Muñoz, B., Hatch, D. J., Bol, R., & García-Ruiz, R. (2014). Nutrient dynamics during decomposition of the residues from a sown legume or ruderal plant cover in an olive oil orchard. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *184*, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.11.020>
- Gonzalez, H. R. P. (2016). Utilización de cultivos de cobertura invernales como alternativa para mejorar la estabilidad estructural del suelo. *Ciencia Del Suelo*, *2*(November), 1–10.
- Gregorich, E., Janzen, H. H., Helgason, B., & Ellert, B. (2015). Nitrogenous Gas Emissions from Soils and Greenhouse Gas Effects. In *Advances in Agronomy* (Vol.

- 132). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.02.004>
- Groffman, P. M., Buttherbach-Bahl, K., Fulweiler, R. W., Gold, A. J., Morse, J. L., Stander, E. K., Tague, C., Tonitto, C., & Vidon, P. (2009). Challenges to incorporating spatially and temporally explicit phenomena (hotspots and hot moments) in denitri W cation models. *Biogeochemistry*, *93*, 49–77. <https://doi.org/10.1007/s10533-008-9277-5>
- Han, Z., Walter, M. T., & Drinkwater, L. E. (2017). N₂O emissions from grain cropping systems: a meta-analysis of the impacts of fertilizer-based and ecologically-based nutrient management strategies. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, *107*(3), 335–355. <https://doi.org/10.1007/s10705-017-9836-z>
- Hargreaves, P. R., Baker, K. L., Graceson, A., Bonnett, S. A. F., Ball, B. C., & Cloy, J. M. (2021). Use of a nitrification inhibitor reduces nitrous oxide (N₂O) emissions from compacted grassland with different soil textures and climatic conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *310*, 107307. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107307>
- Harrison-Kirk, T., Beare, M. H., Meenken, E. D., & Condon, L. M. (2013). Soil organic matter and texture affect responses to dry/wet cycles: Effects on carbon dioxide and nitrous oxide emissions. *Soil Biology and Biochemistry*, *57*, 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.008>
- Heaton, E. A., Schulte, L. A., Berti, M. T., Langeveld, H., Zegada-Lazarazu, W., Parrish, D., & Monti, A. (2013). Managing a second-generation crop portfolio through sustainable intensifi cation : Examples from the USA and the EU. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* <https://doi.org/10.1002/bbb>
- Hoben, J. ., Gehl, R. ., Millar, N., Graces, P. ., & Robertson, P. G. (2011). Nonlinear nitrous oxide (N₂O) response to nitrogen fertilizer in on-farm corn crops of the US Midwest. *Global Change Biology*, *17*, 1140–1152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02349.x>
- Hu, H., Chen, D., & He, J. (2015). Microbial regulation of terrestrial nitrous oxide formation : understanding the biological pathways for prediction of emission rates. *Federation of European Microbiological Societies*, 1–21. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv021>
- Inaba, S., Tanabe, K., Eda, S., Ikeda, S., Higashitani, A., Mitsui, H., & Minamisawa, K. (2009). Nitrous oxide emission and microbial community in the rhizosphere of nodulated soybeans during the late growth period. *Microbes and Environments*, *24*(1), 64–67. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME08544>
- IPCC. 2013. Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Intergov. Panel Clim. Change, Cambridge, UK, and New York
- Irisarri, P., Pereyra, V., Fernández, A., Terra, J., & Tarlera, S. (2012). Emisiones de CH₄ y N₂O en un arrozal : primeras medidas en el sistema productivo uruguayo CH₄ and N₂O Emissions in a Rice Field : First Measurements in the Uruguayan Productive System. *Agrociencia Uruguay*, *16*(2), 1–10.
- Isbell, F., Adler, P. R., Eisenhauer, N., Fornara, D., Kimmel, K., Kremen, C., Letourneau,

- D. K., Liebman, M., Polley, H. W., Quijas, S., & Scherer-Lorenzen, M. (2017). Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. *Journal of Ecology*, *105*(4), 871–879. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12789>
- Jani, A. D., Grossman, J., Smyth, T. J., & Hu, S. (2015). Winter legume cover-crop root decomposition and N release dynamics under disking and roller-crimping termination approaches. *Agriculture and Food System*, *31*(3), 214–229. <https://doi.org/10.1017/S1742170515000113>
- Jarecki, M. K., Parkin, T. B., Chan, A. S. K., Hatfield, J. L., & Jones, R. (2008). Comparison of DAYCENT-Simulated and Measured Nitrous Oxide Emissions from a Corn Field. *Journal of Environmental Quality*, *37*(5), 1685–1690. <https://doi.org/10.2134/jeq2007.0614>
- Kaye, J. P., & Quemada, M. (2017). Using cover crops to mitigate and adapt to climate change . A review. *Agronomy for Sustainable Development*. <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0410-x>
- Keeney, D. R., & Nelson., D. W. (1982). Nitrogen—Inorganic Forms. In *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* (Vol. 5, Issue 9, pp. 643–698).
- Keuskamp, J. A., Dingemans, B. J. J., Lehtinen, T., Sarneel, J. M., & Hefting, M. M. (2013). Tea Bag Index: A novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*, *4*(11), 1070–1075. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12097>
- Khalil, M. I., & Baggs, E. M. (2005). *CH₄ oxidation and N₂O emissions at varied soil water-filled pore spaces and headspace CH₄ concentrations*. *37*, 1785–1794. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.02.012>
- Kim, N., Zabaloy, M. C., Guan, K., & Villamil, M. B. (2020). Do cover crops benefit soil microbiome ? A meta-analysis of current research. *Soil Biology and Biochemistry*, *142*, 107701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107701>
- Lefcheck, J. S. (2015). piecewiseSEM : Piecewise structural equation modelling in r for ecology , evolution , and systematics PIECEWISE SEM : Piecewise structural equation modelling in R for ecology , evolution , and systematics. *Methods in Ecology and Evolution*, *7*, 573–579. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12512>
- Lewczuk, N. A., Posse, G., Richter, K., & Achkar, A. (2017). CO₂ and N₂O flux balance on soybean fields during growth and fallow periods in the Argentine Pampas—A study case. *Soil and Tillage Research*, *169*, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.01.017>
- Li, C., Zwiers, F., Zhang, X., Li, G., Sun, Y., & Wehner, M. (2021). Changes in annual extremes of daily temperature and precipitation in CMIP6 models. *Journal of Climate*, *34*(9), 3441–3460. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-19-1013.1>
- Liang, D., & Robertson, G. P. (2021). Nitrification is a minor source of nitrous oxide (N₂O) in an agricultural landscape and declines with increasing management intensity. *Global Change Biology, March*, 1–15. <https://doi.org/10.1111/gcb.15833>
- Linn, D. M., & Doran, J. W. (1984). Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide

- and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 48(6), 1267–1272.
- Liu, L., Knight, J. D., Lemke, R. L., & Farrell, R. E. (2021). Type of pulse crop included in a 2-year rotation with wheat affects total N₂O loss and intensity. *Biology and Fertility of Soils*, 57(5), 699–713. <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01562-4>
- Lognoul, M., Theodorakopoulos, N., Hiel, M. P., Regaert, D., Broux, F., Heinesch, B., Bodson, B., Vandenbol, M., & Aubinet, M. (2017). Impact of tillage on greenhouse gas emissions by an agricultural crop and dynamics of N₂O fluxes: Insights from automated closed chamber measurements. *Soil and Tillage Research*, 167, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.11.008>
- Loick, N., Dixon, E., Abalos, D., Vallejo, A., Matthews, P., McGeough, K., Watson, C., Baggs, E. M., & Cardenas, L. M. (2017). “Hot spots” of N and C impact nitric oxide, nitrous oxide and nitrogen gas emissions from a UK grassland soil. *Geoderma*, 305(December 2016), 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.06.007>
- Mansano Sarto, M. V., Wobeto Sarto, J. R., Rampim, L., Rosset, J. S., Bassegio, D., Ferreira Da Costa, P., & Inagaki, A. M. (2017). Wheat phenology and yield under drought : A review. *Australian Journal of Crop Science*, 11(08), 941–946. <https://doi.org/10.21475/ajcs.17.11.08.pne351>
- McClain, M. E., Boyer, E. W., Dent, C. L., Gergel, S. E., Grimm, N. B., Groffman, P. M., Hart, S. C., Harvey, J. W., Johnston, C. A., Mayorga, E., McDowell, W. H., & Pinay, G. (2003). Biogeochemical Hot Spots and Hot Moments at the Interface of Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Ecosystems*, 6(September 2002), 301–312. <https://doi.org/10.1007/s10021-003-0161-9>
- Mekala, C., & Nambi, I. M. (2017). Understanding the hydrologic control of N cycle: Effect of water filled pore space on heterotrophic nitrification, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium mechanisms in unsaturated soils. *Journal of Contaminant Hydrology*, 202(September 2016), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2017.04.005>
- Meyer, N., Bergez, J. E., Constantin, J., & Justes, E. (2019). Cover crops reduce water drainage in temperate climates: A meta-analysis. *Agronomy for Sustainable Development*, 39(1). <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0546-y>
- Miller, L. T., Griffis, T. J., Erickson, M. D., Turner, P. A., Deventer, M. J., Chen, Z., Yu, Z., Venterea, R. T., Baker, J. M., & Frie, A. L. (2022). Response of nitrous oxide emissions to individual rain events and future changes in precipitation. *Journal of Environmental Quality*, 51(3), 312–324. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20348>
- Mitchell, D. C., Castellano, M. J., & Sawyer, J. E. (2013). Cover Crop Effects on Nitrous Oxide Emissions: Role of Mineralizable Carbon. *Soil Science Society of America Journal*. <https://doi.org/10.2136/sssaj2013.02.0074>
- Mogge, B., Kaiser, E., & Munch, J. (1999). Nitrous oxide emissions and denitrification N-losses from agricultural soils in the Bornhoved Lake region : Influence of organic fertilizers and land-use. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(August 1999), 1245–1252. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00039-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00039-5)
- Molodovskaya, M., Singurindy, O., Richards, B. K., Warland, J., & Johnson, M. S. (2012).

- Temporal Variability of Nitrous Oxide from Fertilized Croplands: Hot Moment Analysis.* <https://doi.org/10.2136/sss5aj2012.0039>
- Morley, N., Baggs, E. M., Peter, D., & Bakken, L. (2008). *Production of NO, N₂O and N₂ by extracted soil bacteria, regulation by NO₃⁻*. 3, 102–112. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00495.x>
- Mosier, A. R. (1997). *Soil processes and global change. December*, 1–2.
- Muhammad, I., Sainju, U. M., Zhao, F., Khan, A., Ghimire, R., & Fu, X. (2019). Regulation of soil CO₂ and N₂O emissions by cover crops: A meta-analysis. *Soil & Tillage Research*, 192(May), 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.04.020>
- Nadeem, S., Hansen, S., Azzaroli Bleken, M., & Dörsch, P. (2012). N₂O emission from organic barley cultivation as affected by green manure management. *Biogeosciences*, 9(7), 2747–2759. <https://doi.org/10.5194/bg-9-2747-2012>
- Necpálová, M., Anex, R. P., Fienen, M. N., Del Grosso, S. J., Castellano, M. J., Sawyer, J. E., Iqbal, J., Pantoja, J. L., & Barker, D. W. (2015). Understanding the DayCent model: Calibration, sensitivity, and identifiability through inverse modeling. *Environmental Modelling and Software*, 66, 110–130. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2014.12.011>
- Negassa, W., Price, R. F., Basir, A., Snapp, S. S., & Kravchenko, A. (2015a). Cover crop and tillage systems effect on soil CO₂ and N₂O fluxes in contrasting topographic positions. *Soil & Tillage Research*, 154, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.06.015>
- Negassa, W., Price, R. F., Basir, A., Snapp, S. S., & Kravchenko, A. (2015b). Cover crop and tillage systems effect on soil CO₂ and N₂O fluxes in contrasting topographic positions. *Soil and Tillage Research*, 154, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.06.015>
- Nelson, D. W., & Sommers, L. E. (1982). Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, 9(9).
- Nevins, C. J., Lacey, C., & Armstrong, S. (2020). The synchrony of cover crop decomposition, enzyme activity, and nitrogen availability in a corn agroecosystem in the Midwest United States. *Soil & Tillage Research*, 197(December 2019), 104518. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104518>
- Noemi Cosentino, V. R., Fernandez, P. L., Figueiro Aureggi, S. A., & Taboada, M. A. (2012). N₂O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 36(4), 1814–1819. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000600015>
- Notaris, C. De, Eivind, J., Peter, O., Jim, S., & Rasmussen, J. (2019). Input and mineralization of carbon and nitrogen in soil from legume-based cover crops. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10705-019-10026-z>
- Novara, A., Gristina, L., Guaitoli, F., Santoro, A., & Cerdà, A. (2013). Managing soil nitrate with cover crops and buffer strips in Sicilian vineyards. *Solid Earth*, 4(2), 255–262. <https://doi.org/10.5194/se-4-255-2013>

- O’Gorman, P. A. (2015). Precipitation Extremes Under Climate Change. *Current Climate Change Reports*, 1(2), 49–59. <https://doi.org/10.1007/s40641-015-0009-3>
- Obando, M., Correa-Galeote, D., Castellano-Hinojosa, A., Gualpa, J., Hidalgo, A., Alche, J. ., Bedmar, E., & Cassán, F. (2019). Analysis of the denitrification pathway and greenhouse gases emissions in *Bradyrhizobium* sp . strains used as biofertilizers in South America. *Applied Microbiology*, 127, 739–749. <https://doi.org/10.1111/jam.14233>
- Ochoa-Hueso, R., Borer, E. T., Seabloom, E. W., Hobbie, S. E., Risch, A. C., Collins, S. L., Alberti, J., Bahamonde, H. A., Brown, C. S., Caldeira, M. C., Daleo, P., Dickman, C. R., Ebeling, A., Eisenhauer, N., Esch, E. H., Eskelinen, A., Fernández, V., Güsewell, S., Gutierrez-Larruga, B., ... Zamin, T. (2020). Microbial processing of plant remains is co-limited by multiple nutrients in global grasslands. *Global Change Biology*, 26(8), 4572–4582. <https://doi.org/10.1111/gcb.15146>
- Ogilvie, C. M., Deen, W., & Martin, R. C. (2019). Service crop management to maximize crop water supply and improve agroecosystem resilience : A review. *Journal of Soil and Water Conservation*, 74(4), 389–404. <https://doi.org/10.2489/jswc.74.4.389>
- Parkin, T. B., & Kaspar, T. C. (2006). Nitrous Oxide Emissions from Corn–Soybean Systems in the Midwest. *Journal of Environment Quality*, 35, 1496–1506. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0183>
- Parkin, T. B., Kaspar, T. C., Jaynes, D. B., & Moorman, T. B. (2016). Rye Cover Crop Effects on Direct and Indirect Nitrous Oxide Emissions. *Journal of Ecology*, 80, 1551–1559. <https://doi.org/10.2136/sssaj2016.04.0120>
- Parkin, T., & Venterea, R. T. (2010). USDA-ARS GRACEnet Project Protocols Chapter 3. Chamber-Based Trace Gas Flux. In *USDA-ARS GRACEnet Project Protocol* (pp. 1–39). www.ars.usda.gov/research/GRACEnet%0A1
- Parton, W. J., Hartman, M., Ojima, D., & Schimel, D. (1998). DAYCENT and its land surface submodel: description and testing. *Global and Planetary Change*, 19(1–4), 35–48. [https://doi.org/10.1016/S0921-8181\(98\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0921-8181(98)00040-X)
- Parton, W. J., Holland, E. A., Del Grosso, S. J., Hartman, M. D., Martin, R. E., Mosier, A. R., Ojima, D. S., & Schimel, D. S. (2001). Generalized model for NO_x and N₂O emissions from soils. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 106(D15), 17403–17419. <https://doi.org/10.1029/2001JD900101>
- Pelster, D. E., Chantigny, M. H., Royer, I., Angers, D. A., & Vanasse, A. (2021). Reduced tillage increased growing season N₂O emissions from a fine but not a coarse textured soil under the cool, humid climate of eastern Canada. *Soil & Tillage Research*, 206(May 2020), 104833. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104833>
- Peoples, M. B., Herridge, D. F., Rochester, I. J., Alves, B. J., Peoples, M., Herridge, D., Alves, R., Urquiaga, S., Boddey, R., Dakora, F., Bhattarai, S., Maskey, S., Sampet, C., Rerkasem, B., Khans, D., Hauggaard-Nielsen, H., & Jensen, B. (2009). The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *SYA/BIOSIS*, 48, 1–17. <https://www.researchgate.net/publication/227091900>
- Petrasek, M. R., Piñeiro, G., Bonvecchi, V. E., & Yahdjian, L. (2022). Are service crops an alternative for mitigating N₂O emissions in soybean crops in the argentinian

- pampas? . *Journal of Environmental Quality*, March 2022, 1–12.
<https://doi.org/10.1002/jeq2.20445>
- Peyrard, C., Mary, B., Perrin, P., Véricel, G., Gréhan, E., Justes, E., & Léonard, J. (2016). N₂O emissions of low input cropping systems as affected by legume and cover crops use. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 224, 145–156.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.03.028>
- Pinheiro, J., D. Bates, S. DebRoy, D. Sarkar, & R Core Team. (2016). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R Package version 3.1-128. R Found. Stat. Comput.
- Piñeiro-Guerra, J. M., Yahdjian, L., Chiesa, T. Della, & Piñeiro, G. (2019). Nitrous oxide emissions decrease with plant diversity but increase with grassland primary productivity. *Oecologia*, 190(2), 497–507. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04424-x>
- Piñeiro, G., Perelman, S., Guerschman, J. P., & Paruelo, J. M. (2008). How to evaluate models: Observed vs. predicted or predicted vs. observed? *Ecological Modelling*, 216(3–4), 316–322. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2008.05.006>
- Piñeiro, G., Pinto, P., Chiesa, T. Della, & Madias, A. (2019). Informe Final de la Red de Cultivos de Servicio AAPRESID-BASF. *Red de Cultivos de Servicio AAPRESID-BASF*.
- Pinheiro, J., & Bates, D. (2000). Theory and computational methods for linear mixed-effects models, mixed-effects models in S and S-PLUS. *Statistics and Computing*, 57–96. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0318-1_2
- Pinto, P., Fernández, M. E., & Piñeiro, G. (2017). Including cover crops during fallow periods for increasing ecosystem services : Is it possible in croplands of Southern South America ? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 248(July), 48–57.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.028>
- Piquer-Rodríguez, M., Butsic, V., Gärtner, P., Macchi, L., Baumann, M., Gavier Pizarro, G., Volante, J. N., Gasparri, I. N., & Kuemmerle, T. (2018). Drivers of agricultural land-use change in the Argentine Pampas and Chaco regions. *Applied Geography*, 91(January), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2018.01.004>
- Plaza-Bonilla, D., Nolot, J. M., Raffailac, D., & Justes, E. (2015). Cover crops mitigate nitrate leaching in cropping systems including grain legumes: Field evidence and model simulations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 212, 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.06.014>
- Poeplau, C., & Don, A. (2015). Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops – A meta-analysis. “*Agriculture, Ecosystems and Environment*,” 200, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.10.024>
- Queen, A., Earl, H., & Deen, W. (2009). Light and moisture competition effects on biomass of red clover underseeded to winter wheat. *Agronomy Journal*, 101(6), 1511–1521.
<https://doi.org/10.2134/agronj2008.0163>
- R Core Team, 2013. R: a language and environment for statistical computing. URLR Founda- tion for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org/>.
- Rabot, E., Lacoste, M., Hénault, C., & Cousin, I. (2015). Using X-ray Computed

- Tomography to Describe the Dynamics of Nitrous Oxide Emissions during Soil Drying. *Vadose Zone Journal*, 14(8), vzt2014.12.0177. <https://doi.org/10.2136/vzt2014.12.0177>
- Rafique, R., Kumar, S., Luo, Y., Xu, X., Li, D., Zhang, W., & Asam, Z. ul Z. (2014). Estimation of greenhouse gases (N₂O, CH₄ and CO₂) from no-till cropland under increased temperature and altered precipitation regime: A DAYCENT model approach. *Global and Planetary Change*, 118, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2014.05.001>
- Rafique, R., Peichl, M., Hennessy, D., & Kiely, G. (2011). Evaluating management effects on nitrous oxide emissions from grasslands using the process-based DeNitrification-DeComposition (DNDC) model. *Atmospheric Environment*, 45(33), 6029–6039. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.07.046>
- Ravishankara, A. ., Daniel John, S., & Portmann Robert, W. (2009). Supporting Online Material for. *Supporting Online Material*, August. <https://doi.org/10.1126/science.1176985>
- Redin, M., Recous, S., Aita, C., Dietrich, G., Skolaude, A. C., Ludke, W. H., Schmatz, R., & Giacomini, S. J. (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. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.07.014>
- Risk, N., Wagner-riddle, C., Furom, A., Warland, J., & Blodau, C. (2014). Comparison of Simultaneous Soil Profile N₂O Concentration and Surface N₂O Flux Measurements Overwinter and at Spring Thaw in an Agricultural Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 78, 180–193. <https://doi.org/10.2136/sssaj2013.06.0221>
- Robertson, G. P., & Groffman, P. M. (2015). Chapter 14 - Nitrogen Transformations. In *Soil Microbiology Ecology and Biochemistry* (4th ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415955-6.00014-1>
- Robertson, P. G., Paul, E. A., & Harwood, R. R. (2000). *Greenhouse Gases in Intensive Agriculture: Contributions of Individual Gases to the Radiative Forcing of the Atmosphere*. September, 1922–1925.
- Rochette, P., Angers, D. A., Belanger, G., Chantigny, M. H., Prevost, D., & Levesque, G. (2004). Emissions of N₂O from Alfalfa and Soybean Crops in Eastern Canada. *Soil Science Society of America Journal*, 493–506. <https://doi.org/10.2136/sssaj2004.4930>
- Rochette, P., & Janzen, H. H. (2005). Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 73(2–3), 171–179. <https://doi.org/10.1007/s10705-005-0357-9>
- Rosecrance, R. C., Mccarty, G. W., Shelton, D. R., & Teasdale, J. R. (2000). Denitrification and N mineralization from hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) and rye (*Secale cereale* L .) cover crop monocultures and bicultures. *Plant and Soil*, 227, 283–290.
- Ruis, S. J., Blanco-canqui, H., Jasa, P. J., Ferguson, R. B., & Slater, G. (2018). Impacts of Early- and Late-Terminated Cover Crops on Gas Fluxes. *Journal of Environment Quality*, 47, 1426–1435. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.02.0066>
- Salvagiotti, F., Cassman, K. G., Specht, J. E., Walters, D. T., Weiss, A., & Dobermann, A.

- (2008). *Field Crops Research Nitrogen uptake , fixation and response to fertilizer N in soybeans : A review*. 108, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001>
- Sanz-cobena, A., García-marco, S., Quemada, M., Gabriel, J. L., Almendros, P., & Vallejo, A. (2014). Do cover crops enhance N₂O, CO₂ or CH₄ emissions from soil in Mediterranean arable systems ? *Science of the Total Environment, The*, 466–467, 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.023>
- Schaufler, G., Kitzler, B., Schindlbacher, A., Skiba, U., Sutton, M. A., & Zechmeister-Boltenstern, S. (2010). Greenhouse gas emissions from European soils under different land use: Effects of soil moisture and temperature. *European Journal of Soil Science*, 61(5), 683–696. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01277.x>
- Scheer, C., Rowlings, D., Firrell, M., Deuter, P., Morris, S., Riches, D., Porter, I., & Grace, P. (2017). Nitrification inhibitors can increase post-harvest nitrous oxide emissions in an intensive vegetable production system. *Scientific Reports*, 7(March), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep43677>
- Schepers, J. S., Francis, D. D., & Shanahan, J. F. (2005). Relay cropping for improved air and water quality. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 60(3–4), 186–189. <https://doi.org/10.1515/znc-2005-3-405>
- Schindlbacher, A., Zechmeister-Boltenstern, S., & Butterbach-Bahl, K. (2004). Effects of soil moisture and temperature on NO, NO₂, and N₂O emissions from European forest soils. *Journal of Geophysical Research D: Atmospheres*, 109(17), 1–12. <https://doi.org/10.1029/2004JD004590>
- Scott, D. A., Eckhoff, K. D., & Baer, S. G. (2020). Plant diversity decreases potential nitrous oxide emissions from restored agricultural soil. *Pedobiologia - Journal of Soil Ecology*, 83(March), 150670. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2020.150670>
- Sedghi, N., & Weil, R. (2022). Fall cover crop nitrogen uptake drives reductions in winter-spring leaching. *Journal of Environment Quality*, February, 1–15. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20342>
- Smith, K. (2017). *Changing views of nitrous oxide emissions from agricultural soil : key controlling processes and assessment at different spatial scales*. 12(March), 137–155. <https://doi.org/10.1111/ejss.12409>
- Smith, K., Ball, T., Conen, F., Dobbie, K., Massheder, J., & Rey, A. (2003). Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: interactions of soil physical factors and biological processes. *European Journal of Soil Science*, 54, 779–791. <https://doi.org/10.1111/ejss.12538>
- Snyder, C. S., Davidson, E. A., Smith, P., & Venterea, R. T. (2014). Agriculture: Sustainable crop and animal production to help mitigate nitrous oxide emissions. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 9–10, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2014.07.005>
- Solbrig, O.T., Viglizzo, E., 1999. Sustainable Farming in the Argentine Pampas: History, Society, Economy, and Ecology. Work. Pap. No.99/00-1.
- Stanford, G., Dzienia, S., & Vander Pol, R. A. (1975). Effect of Temperature on Denitrification Rate in Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 39(5), 867–870.

<https://doi.org/10.2136/sssaj1975.03615995003900050024x>

- Strock, J. S., Porter, P. M., & Russelle, M. P. (2004). Cover Cropping to Reduce Nitrate Loss through Subsurface Drainage in the Northern U.S. Corn Belt. *Journal of Environment Quality*, 33(3), 1010. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.1010>
- Tanveer, M., Anjum, S. A., Hussain, S., Cerdà, A., & Ashraf, U. (2017). Relay cropping as a sustainable approach: problems and opportunities for sustainable crop production. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(8), 6973–6988. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8371-4>
- Theodorakopoulos, N., Lognoul, M., Degruene, F., Broux, F., Regaert, D., Muys, C., Heinesch, B., Bodson, B., Aubinet, M., & Vandenbol, M. (2017). Increased expression of bacterial amoA during an N₂O emission peak in an agricultural field. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 236(2), 212–220. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.002>
- Thomas, B. W., Larney, F. J., Goyer, C., & Charles, A. (2017). Non-Legume Cover Crops Can Increase Non-Growing Season Nitrous Oxide Emissions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 81, 189–199. <https://doi.org/10.2136/sssaj2016.08.0269>
- Tian, H., Xu, R., Canadell, J. G., Thompson, R. L., Winiwarter, W., Suntharalingam, P., Davidson, E. A., Ciais, P., Jackson, R. B., Janssens-maenhout, G., Prather, M. J., Regnier, P., Pan, N., Pan, S., Peters, G. P., Shi, H., Tubiello, F. N., Zaehle, S., Zhou, F., ... Yao, Y. (2020). A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks. *Nature*, 586(December 2019). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2780-0>
- Toma, Y., & Hatano, R. (2007). *Effect of crop residue C : N ratio on N₂ O emissions from Gray Lowland soil in Mikasa , Hokkaido , Japan*. 198–205. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00125.x>
- Tonitto, C., David, M. B., & Drinkwater, L. E. (2006). *Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems : A meta-analysis of crop yield and N dynamics*. 112(3), 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.07.003>
- Tribouillois, H., Cruz, P., Cohan, J., & Justes, É. (2015). Agriculture , Ecosystems and Environment Modelling agroecosystem nitrogen functions provided by cover crop species in bispeci fi c mixtures using functional traits and environmental factors. *“Agriculture, Ecosystems and Environment,”* 207, 218–228. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.04.016>
- Uchida, Y., & Akiyama, H. (2013). Mitigation of postharvest nitrous oxide emissions from soybean ecosystems: A review. *Soil Science and Plant Nutrition*, 59(4), 477–487. <https://doi.org/10.1080/00380768.2013.805433>
- Ussiri, D., & Lal, R. (2013). *Soil Emission of Nitrous Oxide and its Mitigation* (Springer).
- Vachon, K. (2008). Soil carbon and nitrogen dynamics and greenhouse gas mitigation in intercrop agroecosystems in Balcarce , Argentina. *Analysis*, 108.
- Vangeli, S., Restovich, S., & Posse, G. (2022). Cover Crop Species Affect N₂O Emissions at Hotspot Moments of Summer Crops. *Frontiers in Soil Science*, 2(June). <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.903387>
- Varela, M. F., Scianca, C. M., Taboada, M. A., & Rubio, G. (2014). Cover crop effects on

- soybean residue decomposition and P release in no-tillage systems of Argentina. *Soil and Tillage Research*, 143, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.05.005>
- Venterea, R. T., Maharjan, B., & Dolan, M. S. (2011). Fertilizer Source and Tillage Effects on Yield-Scaled Nitrous Oxide Emissions in a Corn Cropping System. *Journal of Environmental Quality*, 40(5), 1521–1531. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0039>
- Villarino, S. H., Pinto, P., Jackson, R. B., & Piñeiro, G. (2021). Plant rhizodeposition : A key factor for soil organic matter formation in stable fractions. *Science Advances*, 7(April), 1–14.
- Wagner-riddle, C., Baggs, E. M., Clough, T. J., & Petersen, S. O. (2020). *Mitigation of nitrous oxide emissions in the context of nitrogen loss reduction from agroecosystems : managing hot spots and hot moments*. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.08.002>
- Wang, R., Willibald, G., Feng, Q., Zheng, X., Liao, T., Br, N., & Butterbach-bahl, K. (2011). *Measurement of N₂, N₂O, NO, and CO₂ Emissions from Soil with the Gas-Flow-Soil-Core Technique*. 6066–6072.
- Wang, X., Lu, J., Zhang, X., & Wang, P. (2021). Contrasting microbial mechanisms of soil priming effects induced by crop residues depend on nitrogen availability and temperature - 1-s2.0-S0929139321003097-main.pdf. *Applied Soil Ecology*, 168, 1–9.
- Ward, P. R., Flower, K. C., Cordingley, N., Weeks, C., & Micin, S. F. (2012). Soil water balance with cover crops and conservation agriculture in a Mediterranean climate. *Field Crops Research*, 132, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.10.017>
- Weiler, D. A., Tornquist, C. G., Parton, W., & Santi, A. (2017). *Crop Biomass, Soil Carbon, and Nitrous Oxide as Affected by Management and Climate: A DayCent Application in Brazil*. <https://doi.org/10.2136/sssaj2017.01.0024>
- Wu, D., Senbayram, M., Well, R., Brüggemann, N., Pfeiffer, B., Loick, N., Stempfhuber, B., Dittert, K., & Bol, R. (2017). Nitrification inhibitors mitigate N₂O emissions more effectively under straw-induced conditions favoring denitrification. *Soil Biology and Biochemistry*, 104, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.022>
- Zhang, D., Hui, D., Luo, Y., & Zhou, G. (2008). Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems : global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology*, 1(2), 85–93. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtn002>
- Zilli, J. É., Rodrigues Alves, J. B., Rouws, M. F. L., Simões-araujo, J. L., De Barros Soares, H. L., Cassán, F., Obando Castellano, M., & O'Hara, G. (2019). The importance of denitrification performed by nitrogen-fixing bacteria used as inoculants in South America. *Plant Soil*.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). Mixed Effects Models and extensions in Ecology with R. In M. Gail, K. Krickeberg, J. . Samet, A. Tsiatis, & W. Wong (Eds.), *Springer*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6> e-ISBN