



NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DEL ESTADO DE SALUD EDÁFICA EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE

Gisela Vanesa García

Trabajo de tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al título de **DOCTORA en CIENCIAS AGRARIAS**

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS AGRARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Lugar de realización: Unidad Integrada Balcarce: Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP – Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA

> Balcarce, Argentina Marzo, 2021

NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DEL ESTADO DE SALUD EDÁFICA EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE

well

Gisela Vanesa García

Director de Tesis

Co-Directora de Tesis Lic. Fernanda Covacevich, M.Sc., Dra.

Ing. Agr. Guillermo Alberto Studdert, M.Sc., Dr.Ing.Agr.

Asesor de Tesis Ing. Agr. Nicolás Wyngaard, M.Sc., Ph.D.

Asesor de Tesis Ing. Agr. Nahuel Ignacio Reussi Calvo, Dr.

Asesora de Tesis Prof. Silvina San Martino, M.Sc., Dra.

NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DEL ESTADO DE SALUD EDÁFICA EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE

Gisela Vanesa García

Aprobado por:

Mac Evaluadora etaria de grarias ultad de Ciencias / Lic. Carmen González Murúa, Dra.

..... Evaluador E. Mag Ing Agr. Juan Alberto Galantini, Dr. arias

Evaluador Liliana IRIARTE, Man Ing. Agr. Jorge Álvaro Fuentes, Dr.

DEDICATORIA

A mi familia, las personas que hacen posible el logro de mis objetivos.

AGRADECIMIENTOS

A mi Comité Asesor por el gran aporte que hicieron a mi formación, sus enseñanzas y consejos personales y profesionales, el trabajo conjunto, la buena predisposición, la dedicación y la paciencia. Fue un placer trabajar con personas así y haber logrado vínculos que posiblemente nos permitirán seguir trabajando juntos.

A los asesores profesionales y productores agropecuarios que colaboraron en la búsqueda de sitios de muestreo y/o permitieron tomar muestras y realizar ensayos en los establecimientos agropecuarios.

A los Grupos de Investigación "Relaciones Suelo-Cultivo", "Biogeoquímica Ambiental y Ecología Microbiana", "Patología Vegetal" y "Patología Animal" de la Unidad Integrada Balcarce y al "Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (CONICET) – Fundación para las Investigaciones Biológicas Aplicadas" de Mar del Plata, por el préstamo de equipos e insumos y permitirme trabajar en sus laboratorios.

A Silvia Rodriguez, por la ayuda brindada y el tiempo compartido en el laboratorio. A Cecilia Baeza, por su ayuda profesional en técnicas de laboratorio. A Ignacio Queirolo, y su Comité Asesor, por su colaboración al brindar datos de los ensayos correspondientes a su Tesis de Maestría. A mis compañeros de posgrado por la ayuda brindada al prestarme un insumo o un equipo y facilitarme el trabajo.

A mi familia, especialmente a mi compañero de vida por el apoyo incondicional durante esta etapa, por entenderme, ser mi sostén y no dejarme caer en cada tropezón, y a mis papás, por el apoyo y todo el esfuerzo que hicieron para brindarme la educación que tengo e inculcarme valores.

A todos ellos gracias, porque todos hicieron algún aporte para que hoy pudiera llegar a esta instancia.

Detalle	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ABREVIATURAS	xviii
RESUMEN	хх
ABSTRACT	xxii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. CAPÍTULO I. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1. <u>Selección de sitios y muestreo de suelos</u>	10
2.2. <u>Realización de ensayos de fertilización nitrogenada y muestreo de</u> plantas	11
2.3. <u>Procesamiento de muestras</u>	12
2.3.1. De suelo	12
2.3.2. De planta	13
2.4. <u>Determinaciones analíticas</u>	13
2.4.1. En suelo	13
2.4.1.1. <u>En la masa total del suelo</u>	13
2.4.1.1.1. Densidad aparente	13
2.4.1.1.2. Carbono orgánico total	14
2.4.1.1.3. Carbono orgánico particulado y asociado a minerales	15
2.4.1.1.4. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis	16
2.4.1.1.5. Fósforo extractable	17
2.4.1.1.6. Nitrógeno en forma de nitrato	18
2.4.1.1.7. Textura y separación por tamaño de arenas	19
2.4.1.1.8. Separación por tamaño de agregados y estabilidad de agregados	20
2.4.1.1.9. Proteínas del suelo relacionadas con glomalina fácilmente extraíble	22
2.4.1.1.10. Cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares	23

ÍNDICE

2.4.1.1.11. Colonización de raíces con hongos formadores de micorrizas arbusculares	2
2.4.1.2. <u>En macroagregados</u>	2
2.4.2. En planta	2
2.4.2.1. <u>Rendimiento en grano, biomasa aérea total, respuesta en</u> <u>rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada</u>	2
2.4.2.2. Contenido de nitrógeno total en material vegetal	2
2.4.2.3. Contenido de fósforo total en planta	2
2.4.2.4. Disponibilidad de agua para el cultivo	2
2.5. Cálculo de variables en 0-20 cm y análisis estadístico	2
3. CAPÍTULO II: NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADORES DE LA ESTABILIDAD DE AGREGADOS	3
3.1. Introducción	3
3.2. <u>Materiales y métodos</u>	3
3.3. <u>Resultados y discusión</u>	3
3.3.1. Masa total del suelo	3
3.3.2. Macroagregados	5
3.4. <u>Conclusiones</u>	6
4. CAPÍTULO III: NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DE LA ACTIVIDAD Y ABUNDANCIA DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES	6
4.1. Introducción	6
4.2. <u>Materiales y métodos</u>	6
4.3. <u>Resultados y discusión</u>	6
4.3.1. Masa total del suelo	6
4.3.1.1 . <u>Relación entre NAN_{MT} y PSRG-FE</u>	6
4.3.1.2. <u>Relación entre NAN_{MT} y la abundancia de HMA</u>	7
4.3.1.3. <u>Relación entre NAN_{MT} y la actividad de HMA</u>	8
4.3.2. Macroagregados	9
4.4. Conclusión	9

	5.1. Introducción	94
	5.2. <u>Materiales y métodos</u>	96
	5.3. <u>Resultados y discusión</u>	96
	5.3.1. Caracterización hídrica	96
	5.3.2. Masa total del suelo	99
	5.3.3. Macroagregados	105
	5.4. <u>Conclusión</u>	107
6.	SÍNTESIS FINAL	108
7.	PRODUCCIÓN CIENTÍFICA GENERADA	113
	7.1. <u>Revistas científicas con referato</u>	113
	7.2. <u>Contribuciones en congresos científicos</u>	113
	7.2.1. Nacionales	113
	7.2.2. Internacionales	113
	7.3. <u>Artículos de divulgación</u>	114
8.	BIBLIOGRAFÍA	115

ÍNDICE DE TABLAS

Leyenda	Pág.
Tabla 2.1.: Número de sitios, lotes de producción agrícola (LPA), pseudoprístinos (PRIS) y ensayos en dos años.	11
Tabla 3.1: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones entre carbono orgánico total en la masa total del suelo (COT_{MT}) y carbono orgánico particulado en la masa total del suelo (COP_{MT}) con los indicadores de estabilidad de agregados (EA) (cambio de diámetro medio ponderado [Δ DMP], diámetro medio ponderado del mojado violento [DMP _{MV}] y masa de macroagregados de 2000-8000 µm del mojado violento [masaMA _{MV}]) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.	40
Tabla 3.2: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones entre nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (MT) (NAN _{MT}) y carbono orgánico (CO) total en la MT (COT _{MT}), CO particulado en la MT (COP _{MT}) y CO asociado a minerales en la MT (COA _{MT}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.	46
Tabla 3.3: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones entre carbono orgánico (CO) total y CO particulado en macroagregados de 2000-8000 μm (MA) (COT _{MA y} COP _{MA} , respectivamente) con la masa de MA del mojado violento (masaMA _{MV}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80	52
Tabla 3.4: Coeficientes de correlación de Pearson entre carbono orgánico total (COT) en masa total (COT _{MT}) y COT en macroagregados de 2000-8000 μ m (MA) (COT _{MA}), y entre carbono orgánico particulado (COP) en masa total (COP _{MT}) y en MA (COP _{MA}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.	54
Tabla 3.5: Coeficientes de correlación de Pearson para las relaciones entre nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) en macroagregados de 2000-8000 μm (MA) (NAN _{MA}) con carbono orgánico (CO) total (COT) en MA (COT _{MA}), CO particulado (COP) en MA (COP _{MA}), CO asociado a minerales (COA) en MA (COA _{MA}), COT en masa total del suelo (MT) (COT _{MT}), COP en MT (COP _{MT}) y COA en MT (COA _{MT}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.	56
Tabla 4.1: Coeficientes de correlación de Pearson (r) para caracterizar las asociaciones de carbono orgánico total, particulado y asociado a minerales, y nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados (COT _{MA} , COP _{MA} , COA _{MA} y NAN _{MA} , respectivamente) con proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE, n=80) y con logaritmo del número de esporas de hongos micorrícicos cada 100 g de suelo (log ESP, n=17) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). r _{PRIS} : r para pseudoprístinos (PRIS) (n=5), r _{LPA} : r para lotes de producción agrícola (LPA) (r=12), r _{TODOS} : r para PRIS más LPA, NC: variables no correlacionadas.	92

ÍNDICE DE FIGURAS

	Leyenda	Pág.
Figura 1.1:	Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) como indicador de propiedades bioquímicas, físicas y microbiológicas del suelo, que están relacionadas entre sí y que hacen a la salud edáfica y, con ello, a un buen crecimiento y rendimiento de los cultivos. COT: carbono orgánico total, COP: carbono orgánico particulado, N ₀ : nitrógeno potencialmente mineralizable, S ₀ : azufre potencialmente mineralizable, EA: estabilidad de agregados, HMA: hongos formadores de micorrizas arbusculares.	9
Figura 2.1:	Posiciones georreferenciadas de los 46 sitios de muestreo en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires.	10
Figura 2.2:	Esquema de la metodología para la separación de agregados. MV: mojado violento, MC: mojado por capilaridad, DMP: diámetro medio ponderado, Δ DMP: cambio de DMP entre el MC y el MV, masaMA: masa de macroagregados de 2000-8000 µm (MA), masaMa: masa de macroagregados de 250-2000 µm (MA), masaMi: masa de microagregados, masaFF: masa de la fracción fina, carbono orgánico (CO) total en MA y Ma (COT _{MA} y COT _{Ma} , respectivamente), CO particulado en MA y Ma (COP _{MA} y COP _{Ma} , respectivamente), CO asociado a minerales en MA y Ma (COA _{MA} y COA _{Ma} , respectivamente), nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en MA y Ma (NAN _{MA} y NAN _{Ma} , respectivamente).	21
Figura 2.3:	Reconocimiento y cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares de una muestra de suelo bajo lupa estereoscópica con aumento de 40X.	24
Figura 2.4:	Portaobjetos con segmentos de raíces para la observación y reconocimiento de estructuras de hongos formadores de micorrizas arbusculares, y la cuantificación del porcentaje de raíces colonizados con HMA.	25
Figura 3.1:	Máximos, mínimos y promedios para contenidos de arena, arcilla y limo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). n=80.	33
Figura 3.2:	Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c), CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) y CO asociado a minerales en la MT (COA_{MT}) (g, h, i) expresados en concentración en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.	35

- Figura 3.3: Máximos, mínimos y promedios para densidad aparente en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.
- Figura 3.4: Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c), CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) y CO asociado a minerales en la MT (COA_{MT}) (g, h, i) expresados en stock referidos a una masa equivalente en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad.
- Figura 3.5: Máximos, mínimos y promedios para los indicadores de estabilidad de agregados: cambio de diámetro medio ponderado (ΔDMP) (a, b, c), diámetro medio ponderado del mojado violento (DMP_{MV}) (d, e, f), masa de macroagregados de 2000-8000 µm del mojado violento (masaMA_{MV}) (g, h, i) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.
- Figura 3.6: Valores de diámetro medio ponderado (DMP) del mojado violento (DMP_{MV}) y del mojado por capilaridad (DMP_{MC}), cambio de DMP (ΔDMP), carbono orgánico total y carbono orgánico particulado en la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente) en dos suelos de distintas texturas: franco arenoso (684,15 g kg⁻¹ de arena y 103,64 g kg⁻¹ de arcilla) y franco arcilloso (271,35 g kg⁻¹ de arena y 333,10 g kg⁻¹ de arcilla).
- Figura 3.7: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c) y CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80. 43

- Figura 3.8: Máximos, mínimos y promedios para nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.
- Figura 3.9: Modelos de regresión lineal simple ajustados para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c) y CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la MT (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80. 47
- Figura 3.10: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.
- Figura 3.11: Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total (a, b, c) y CO particulado (d, e, f) en macroagregados de 2000-8000 µm (COT_{MA} y COP_{MA}, respectivamente) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.
- Figura 3.13: Máximos, mínimos y promedios para nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) en macroagregados de 2000-8000 μm (NAN_{MA}) en lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

- Figura 3.14: Modelos de regresión lineal simple de carbono orgánico total (a, b, c) y carbono orgánico particulado (d, e, f) en la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados de 2000-8000 µm (NAN_{MA}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80 57
- Figura 3.15: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μ m (MA) del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en MA (NAN_{MA}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.
- Figura 4.1: Máximos, mínimos y promedios para contenidos de proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). PRIS: pseudoprístino (n=34), LPA: lote de producción agrícola (n=46). Promedios seguidos por letras mavúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0-5 y 5-20 cm para cada uso del suelo. 65
- Figura 4.2: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y carbono orgánico total (COT_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (*i.e.* LPA más PRIS. n=80). 68
- Figura 4.3: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y carbono orgánico particulado (COP_{MT}) (a, b, c) v carbono orgánico asociado a minerales (COA_{MT}) determinados en la masa total del suelo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (i.e. LPA más PRIS, n=80). 70
- Figura 4.4: Correlaciones entre masa de macroagregados entre 2 y 8 mm remanentes de un mojado violento (masaMA_{MV}) como medida de estabilidad de agregados y proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) en la masa total del suelo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (i.e. LPA más PRIS, n=80), NC: variables no correlacionadas. 72

59

- Figura 4.7: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. n=17.
- Figura 4.9: Correlaciones entre masa de macroagregados entre 2 y 8 mm remanentes de un mojado violento (masaMA_{MV}) y log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas cada 100 g de suelo (log ESP) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r_{TODOS}: r incluyendo LPA y PRIS (n=17), r_{LPA}: r para LPA (n=12), r_{PRIS}: r para PRIS (n=5), NC: variables no correlacionadas.
- Figura 4.10: Correlaciones entre log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) y nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r_{TODOS}: r incluyendo LPA y PRIS (n=17), r_{LPA}: r para LPA (n=12), r_{PRIS}: r para PRIS (n=5), NC: variables no correlacionadas.

- Figura 4.13: Correlaciones entre log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) y porcentaje de raíces con infección total (%de raíces con IT) (a) y porcentaje de raíces con arbúsculos (% de raíces con AR) (b) en 0-20 cm en los lotes de producción agrícola (n=11). NC: variables no correlacionadas.

- Figura 5.1: Disponibilidad de agua durante el periodo de crecimiento de los cultivos de trigo y cebada de 2016 (a) y de 2018 (b) en los ensayos.
 La línea punteada indica la demanda hídrica promedio de trigo y cebada (387 mm).
- Figura 5.2: Correlaciones entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en 0-5 cm (a, b, c) 0-20 cm (d, e, f) de profundidad y rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}) (a, d), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) (b, e) y contenido de N total en planta entera 0N (NTP_{0N}) (c, f) para trigo y cebada en ensayos sin déficit hídrico realizados en dos años. NC: variables no correlacionadas. n=60.

- Figura 5.5: Relaciones entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en macroagregados de 2 a 8 mm (NAN_{MA}) en 0-5 (a, b, c, d) y 0-20 cm (e, f, g, h) y rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}) (a, e), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) (b, f), y contenido de N (NTP_{0N}) (c, g) y fósforo total acumulado en planta entera 0N (PTPa) (d, h) para el año 2018. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n = 24.
- Figura 6.1: Nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (MT) (NAN_{MT}) como indicador de propiedades edáficas. COT_{MT}: carbono orgánico (CO) total en MT, COP_{MT}: CO particulado en MT, N₀: N potencialmente mineralizable, S₀: azufre potencialmente mineralizable, EA: estabilidad de agregados, PSRG-FE: proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles, log ESP: logaritmo decimal del número de esporas de hongos micorrícicos, RG_{0N}: rendimiento en grano sin fertilización con N (0N), BA_{0N}: biomasa aérea total 0N, NTP_{0N}: N total acumulado en planta entera 0N, PTPa: fósforo total acumulado en planta entera 0N, R²: coeficientes de determinación (o pseudo-R²) y r: coeficientes de correlación de Pearson tomados de los Capítulos II, III y IV de esta Tesis, excepto *1 y *2 que fueron adaptados de Schomberg *et al.* (2009) y Carciochi *et al.* (2018), respectivamente.

ABREVIATURAS

0N	Sin fertilización nitrogenada				
BA 0N	Biomasa aérea sin fertilización nitrogenada				
С	Carbono				
COA	Carbono orgánico asociado a la fracción mineral				
СОАмт	Carbono orgánico asociado a la fracción mineral en la masa total del suelo				
СОАма	Carbono orgánico asociado a minerales en macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μm				
СОАма	Carbono orgánico asociado a minerales en macroagregados chicos entre 250 y 2000 μm				
СОР	Carbono orgánico particulado				
СОРмт	Carbono orgánico particulado en la masa total del suelo				
СОРма	Carbono orgánico particulado en macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μm				
СОРма	Carbono orgánico particulado en macroagregados chicos entre 250 y 2000 μm				
СОТ	Carbono orgánico total				
СОТмт	Carbono orgánico total en la masa total del suelo				
СОТма	Carbono orgánico total en macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μm				
COT _{Ma}	Carbono orgánico total en macroagregados chicos entre 250 y 2000 μm				
DMP	Diámetro medio ponderado				
DMP _{MV}	Diámetro medio ponderado luego del mojado violento				
∆CDMP	Cambio de diámetro medio ponderado entre el mojado por capilaridad y el mojado violento				
EA	Estabilidad de agregados				
ELISA	Método de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas				
ESP	Número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares en la masa total del suelo				
HMA	Hongos formadores de micorrizas arbusculares				
ISE	Indicador de salud edáfica				
log ESP	Logaritmo decimal de número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares				
LPA	Lote de producción agrícola				
Ма	Macroagregados chicos entre 250 y 2000 μm				

MA	Macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μ m			
MA+Ma	Macroagregados totales entre 250 y 8000 μ m.			
masaMA _{M∨}	Masa de macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μm remaner luego del mojado violento			
МС	Mojado por capilaridad			
MO	Materia orgánica			
MV	Mojado violento			
Ν	Nitrógeno			
No	Nitrógeno potencialmente mineralizable			
NAN	Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis			
ΝΑΝ _{ΜΤ}	Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo			
NAN _{MA}	Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μm			
NAN _{Ma} Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados c entre 250 y 2000 μm				
NTP _{0N}	Nitrógeno total en planta entera sin fertilización nitrogenada			
Р	Fósforo			
P _{EXT}	Fósforo extractable en la masa total del suelo			
PRIS	Pseudoprístino			
PSRG	Proteínas del suelo relacionadas a glomalina			
PSRG-FE	Proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles en la masa total del suelo			
PSRG-T	Proteínas del suelo relacionadas a glomalina totales			
РТР	Fósforo total en planta entera			
РТРа	Fósforo total acumulado en planta entera			
PTPc	Fósforo total en planta entera en concentración			
RG _{0N}	Rendimiento en grano sin fertilización nitrogenada			
RTA	Respuesta en rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada			
SEB	Sudeste bonaerense			
%AR	Porcentaje de raíces colonizadas con arbúsculos			
%ІТ	Porcentaje de infección total, es decir, porcentaje de raíces colonizadas con estructuras de hongos formadores de micorrizas arbusculares (arbúsculos, vesículas e hifas)			

RESUMEN

Los indicadores de salud del suelo (ISE) son parámetros edáficos que deben ser sensibles a las prácticas de manejo, fáciles de interpretar, sencillos y económicos de determinar, y deberían relacionarse con propiedades edáficas. El nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis (NAN) es sensible a las prácticas de manejo y a los cambios en el uso del suelo, sencillo, económico y fácil de interpretar. El NAN es un indicador de la capacidad del suelo de proveer N a los cultivos, se relaciona con el carbono orgánico total (COT) y el particulado (COP) y podría relacionarse con otras propiedades relacionadas, lo que lo calificaría como ISE. El objetivo general fue evaluar la utilidad del NAN en la masa total del suelo (NAN_{MT}) y en macroagregados como ISE. Se tomaron muestras de suelo de 0-5 y 5-20 cm en lotes de producción agrícola y pseudoprístinos de Molisoles del sudeste bonaerense. Se determinó COT, COP y NAN en la masa total del suelo (COT_{MT}, COP_{MT} y NAN_{MT}, respectivamente) y en macroagregados, estabilidad de agregados (EA), proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles (PSRG-FE) y número de esporas de hongos micorrícicos (HMA) (ESP). Se tomaron muestras de raíces de trigo y cebada en 0-20 cm y se determinó el porcentaje de raíces colonizadas con HMA. Se realizaron ensayos de fertilización nitrogenada en trigo y cebada, y se determinó rendimiento en grano sin fertilización nitrogenada (0N) (RG_{0N}), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}), respuesta en rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada (R_{TA}) y contenido total acumulado en planta entera de N (NTP_{0N}) y de fósforo (PTPa). El NAN_{MT} se relacionó con el COT_{MT} $(R^2 \text{ entre } 0,46 \text{ y } 0,74) \text{ y el COP}_{MT}$ ($R^2 \text{ entre } 0,33 \text{ y } 0,73$). Así, el NAN_{MT} puede ser utilizado como indicador de esas dos variables bioquímicas, que están asociadas con todas las funciones del suelo. El NAN_{MT} se relacionó con la EA (R^2 entre 0,69 y 0,81), siendo un adecuado indicador de la salud física del suelo. El NAN_{MT} se relacionó con el contenido de PSRG-FE (r entre 0,34 y 0,65) y el logaritmo de ESP (r entre 0,66 y 0,78), aunque no se relacionó con el porcentaje de raíces colonizadas con HMA. De esta manera, el NAN_{MT} es también un indicador de un aspecto de la salud microbiológica del suelo. El NAN_{MT} se relacionó con aspectos productivos del cultivo como RG_{0N}, BA_{0N}, el NTP_{0N} y el PTPa (R^2 entre 0,32 y 0,67), aunque no estuvo relacionado con la R_{TA} . El NAN determinado en macroagregados grandes entre 2 y 8 mm (NAN_{MA}) estuvo relacionado con COT_{MT}, COP_{MT}, EA, PSRG-FE, logaritmo de ESP, RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N} y PTPa. Sin embargo, no fue mejor indicador de esas variables que el NAN_{MT}. Esto fue porque el NAN_{MA} estuvo estrechamente correlacionado con el NAN_{MT} (r entre 0,81 y 0,97). De esta

manera, el NAN_{MT} es un adecuado ISE para ser utilizado en monitoreos de rutina, permitiendo realizar un diagnóstico rápido, sencillo y económico del estatus de propiedades bioquímicas, físicas y microbiológicas del suelo.

Palabras clave: carbono orgánico total, carbono orgánico particulado, estabilidad de agregados, hongos formadores de micorrizas arbusculares, cereales de invierno.

ABSTRACT

Soil health Indicators (ISE) are soil parameters that must be sensitive to management practices, easy to interpret, simple and cheap to determine, and should relate to soil properties. Anaerobically mineralizable nitrogen (N) (NAN) is sensitive to management practices and soil use changes, simple, cheap, and easy to interpret. The NAN could be qualified as ISE because it is an indicator of soil N supply capacity to crops, is related to total (COT) and particulate (COP) organic carbon and could be related to other properties. This Thesis aimed to evaluate the usefulness as ISE of NAN in the bulk soil (NAN_{MT}) and within macroaggregates. Soil samples were taken at 0-5 and 5-20 cm depth in continuous cropping fields and pseudo-pristine situations of Mollisols of the southeastern Buenos Aires province. It was determined COT and COP in the bulk soil $(COT_{MT} \text{ and } COP_{MT}, \text{ respectively})$, and NAN_{MT} and COT, COP, and NAN within macroaggregates, aggregate stability (EA), soil protein related to glomalin easily extractable (PSRG-FE), and spore number of mycorrhizal fungi (HMA) (ESP). Wheat and barley root samples were taken at 0-20 cm depth and the percent of colonized roots with HMA was determined. Nitrogen fertilization trials in wheat and barley were done, and grain yield without N fertilizer (0N) (RG_{0N}), aboveground biomass (BA_{0N}), N (NTP_{0N}), and phosphorus accumulation 0N (PTPa), and response in grain yield to N fertilization (R_{TA}), were determined. The NAN_{MT} was related to COT_{MT} (R^2 between 0,46 and 0,74) and COP_{MT} (R² between 0,33 and 0,73). Thus, NAN_{MT} can be useful as an indicator of both biochemical variables, that are associated with most soil functions. The NAN_{MT} was related to EA (R² between 0,69 and 0,81), being an adequate physical soil indicator. Likewise, the NAN_{MT} was related to PSRG-FE content (r between 0,34 and 0,65) and the logarithm of ESP (r between 0.66 and 0.78), but it was not related to the percent of colonized roots with HMA. So, NAN_{MT} is also an indicator of an aspect of soil microbiological health. The NAN_{MT} was related to RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N}, and PTPa (R² between 0,32 and 0,67), but it was not related to R_{TA} . The NAN within macroaggregates between 2 and 8 mm (NAN_{MA}) was related to COT_{MT}, COP_{MT}, EA, PSRG-FE, the logarithm of ESP, RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N}, and PTPa. However, the NAN_{MA} was not a better indicator of these variables than NAN_{MT}. This is because NAN_{MA} was closely correlated to NAN_{MT} (r between 0,81 and 0,97). Thus, NAN_{MT} is an adequate ISE to be used in routine soil health monitorings, allowing to do a fast, simple, and cheap diagnosis of soil biochemical, physical, and microbiological properties status.

Keywords: total organic carbon, particulate organic carbon, aggregate stability, mycorrhizal fungi, winter cereals.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Un suelo saludable es capaz de mantener su capacidad de funcionar en el agroecosistema según su aptitud y en relación con el uso que se le dé (Doran, 2002). En esta condición, el suelo provee servicios ecosistémicos a la sociedad para su bienestar (Powlson et al., 2011; Adhikari y Hartemink, 2016). Es ampliamente reconocido el rol que cumple el suelo en la producción de alimentos. Sin embargo, el suelo brinda muchos otros servicios ecosistémicos, entre los que se destacan: el secuestro de carbono (C), y con ello la mitigación del cambio climático, la purificación del agua, el procesamiento de contaminantes, la regulación de inundaciones, la resistencia a la erosión, la provisión de nutrientes y del ambiente adecuado para el crecimiento de las plantas, el mantenimiento de diversidad biológica, el sostén para las infraestructuras humanas, el suministro de materiales de construcción y la herencia cultural (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2020). Por ello, el suelo es un componente crucial para el logro de 7 de los 17 objetivos de desarrollo sostenible planteados por la FAO para el 2030: "hambre cero, salud y bienestar, agua limpia, ciudades y comunidades sostenibles, producción y consumo responsables, acción por el clima, y vida de ecosistemas terrestres". Para el 2050 se prevé un gran crecimiento de la población mundial (mayor que 9000 millones de personas), y un aumento en la demanda de alimentos del 60%. En este contexto, la gestión sostenible de los suelos agrícolas del mundo y la intensificación de la producción sostenible son esenciales para la seguridad alimentaria mundial (FAO, 2020).

La salud del suelo, y con ello la provisión de servicios ecosistémicos, está relacionada con sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las que son afectadas por el manejo y el uso del suelo (Doran, 2002; Lal, 2015; Adhikari y Hartemink, 2016). El cambio en el uso del suelo, junto a la utilización de prácticas de manejo inadecuadas, ha llevado a la pérdida gradual de salud edáfica (*i.e.* degradación) (Doran, 2002). Esto compromete la agricultura sostenible, la seguridad alimentaria, el suministro de servicios ecosistémicos (Lal, 2015) y la economía (Adhikari y Hartemink, 2016). De esta manera, la agenda actual de desarrollo sostenible debe colocar la salud del suelo en el centro de la atención para el logro de todos aquellos objetivos (FAO, 2020).

La evaluación de la salud del suelo y de su dirección de cambio en el tiempo es fundamental para un manejo sustentable, para diagnosticar y cuantificar el grado de

degradación y para planificar prácticas de manejo adecuadas (Doran, 2002). Dicha evaluación se realiza a través de indicadores de salud edáfica (ISE) que permiten inferir sobre su estado. Los ISE son parámetros edáficos que deben ser sensibles a las prácticas de manejo, fáciles de interpretar, sencillos y económicos de determinar, y que deberían relacionarse con una o más funciones y/o propiedades edáficas (Doran y Parkin, 1996). Algunos autores proponen índices o un conjunto de variables para evaluar cambios en la salud del suelo como resultado de su uso y de la aplicación de prácticas de manejo (Doran y Parkin, 1996; Arshad y Martin, 2002; Drobnick et al., 2018). Sin embargo, un adecuado ISE debería ser una variable que se relacione con otras propiedades edáficas y, por lo tanto, su valor sería afectado por los cambios en las propiedades asociadas (Arshad y Martin, 2002). De esta manera, una única variable permitiría monitorear el estado de salud del suelo a partir de su relación con otras variables edáficas. Esto contribuiría a disponer de una herramienta para un monitoreo rápido, sencillo y económico que pudiera ser adoptado de manera rutinaria por el sector agropecuario para detectar cambios tempranos en la salud del suelo. A partir de este diagnóstico preliminar, si se percibieran disminuciones en la salud del suelo, podrían realizarse análisis específicos para determinar qué propiedades edáficas son las más afectadas y en qué nivel, para realizar una evaluación profunda de la salud del suelo que permita tomar medidas para detener o revertir el proceso de degradación.

La materia orgánica (MO) es el parámetro químico más ampliamente reconocido como ISE (Doran, 2002), ya que es uno de los componentes del suelo que más incide sobre su funcionamiento en el agroecosistema y sobre sus servicios ecosistémicos. De la cantidad y las características de la MO dependen las propiedades y el mantenimiento del complejo de poros que define la dinámica del agua y del aire en el suelo, especialmente en los horizontes superficiales. De la MO dependen también la provisión de nutrientes a plantas y otros organismos (principalmente nitrógeno [N]), la actividad y la diversidad biológicas, y la capacidad de resistir disturbios y de recomposición, todos factores que definen la salud edáfica (Lal, 2010). No obstante, la MO es el componente del suelo más sensible a la actividad antrópica y, a través de distintas prácticas de manejo (elección de las especies de cultivos combinadas en el tiempo, intensidad y oportunidad de los laboreos, aplicación de fertilizantes, entre otras), puede incidirse sobre su dinámica y la de muchas otras propiedades edáficas relacionadas. Las prácticas de manejo afectan el contenido de MO al regular los mecanismos de entrada y de salida del C, el principal componente de la MO (Janzen,

2006; Quiroga y Studdert, 2014). Dichas prácticas deben ser combinadas de manera tal que conduzcan a compensar las salidas de C. Si las salidas fueran mayores que las entradas, el contenido de C orgánico total (COT) del suelo se reduciría y disminuiría su capacidad de funcionar y de cumplir con los servicios ecosistémicos (Janzen, 2006; Quiroga y Studdert, 2014). Esto sucede en los sistemas agrícolas, en los que los niveles de COT se han ido reduciendo paulatinamente (Sainz Rozas et al., 2011) y, con ello, su salud. Se ha informado de una disminución del COT con el aumento de los años de agricultura (Studdert y Echeverría, 2000; Studdert et al, 2010). La alteración del contenido de COT tiene incidencia directa sobre la salud del suelo, su capacidad de recuperación y sobre gran cantidad de procesos que influyen sobre la sustentabilidad del sistema de producción (Quiroga y Studdert, 2014). Dadas las consecuencias que esto provocaría sobre el funcionamiento del suelo, el logro de una agricultura sustentable está ligado al manejo del COT (Lal, 2010) y la variación del contenido de COT debe ser monitoreada a fin de ajustar el manejo para subsanar las consecuencias negativas. No obstante, el COT no es lo suficientemente sensible para detectar cambios en la salud del suelo en el corto a mediano plazo (Domínguez et al., 2016). Por esta razón, se requiere hallar ISE más sensibles para evidenciar cambios en la salud del suelo provocados por el uso.

La separación de fracciones del COT es muy usada para aislar fracciones con diferente sensibilidad a las prácticas de manejo (Six et al., 2002; Wander, 2004). El fraccionamiento del suelo por tamaño de partícula permite aislar una fracción lábil del COT, el C orgánico particulado (COP) (Cambardella y Elliott, 1992; Christensen, 2001). Esta fracción está constituida por restos animales y vegetales en distintos grados de descomposición e hifas y esporas de hongos, y tiene una rápida tasa de reciclaje (Cambardella y Elliott, 1992; Wander, 2004). Dada su labilidad, las prácticas de manejo y los cambios en el uso del suelo provocan cambios tempranos en el contenido de COP (Six et al., 2004; Wander y Nissen, 2004; Domínguez et al., 2009). Dichos cambios se asocian a variaciones en el suministro de nutrientes a las plantas (p.e. N) (Gregorich et al., 2006) y en las propiedades físicas. El COP está asociado al mecanismo de formación, reciclaje y estabilidad de los agregados (EA) (Six et al., 2004) y se relaciona con el sistema poroso y la resistencia a la erosión. Por ello, el contenido de COP ha sido propuesto como un ISE. No obstante, no es adoptado por los laboratorios de servicio a productores, debido a la complejidad de su determinación para el operario y el tiempo que insume.

El N mineralizado en anaerobiosis (NAN) es un parámetro edáfico que se determina a partir de una incubación anaeróbica corta del suelo (*i.e.* 7 días, Keeney, 1982). Su determinación es simple, rápida, económica, segura y de fácil implementación por los laboratorios, ya que tiene requerimientos mínimos de equipamiento y reactivos, y la interpretación de sus resultados es sencilla. El NAN se correlaciona estrechamente con el N potencialmente mineralizable (N_o) y, por ello, es utilizado como una alternativa rápida y precisa para la estimación del N₀, ya que éste requiere de largos períodos de incubación (Echeverría *et al.*, 2000; Wyngaard *et al.*, 2018). De esta manera, el NAN es un indicador rápido de la capacidad de mineralización de N del suelo, y ha sido propuesto como una herramienta de apoyo al diagnóstico de la disponibilidad de N para cultivos como el trigo (*Triticum aestivum* L.) (Reussi Calvo *et al.*, 2013; Reussi Calvo, Wyngaard *et al.*, 2018) y el maíz (*Zea mays* L.) (Orcellet *et al.*, 2017). Asimismo, el NAN se relaciona con el azufre potencialmente mineralizable, habiéndose propuesto como una herramienta para su predicción (Carciochi *et al.*, 2018).

El NAN es sensible a cambios en el suelo en el mediano a largo plazo asociados con el uso (Soon *et al.*, 2007; García *et al.*, 2016), pero no se han observado cambios estacionales (Studdert *et al.*, 2015) ni en respuesta a efectos de corto plazo (*p.e.* cantidad y calidad de los residuos de cultivos de cosecha antecesores inmediatos) (García *et al.*, 2016). Se ha informado una mayor sensibilidad del NAN respecto a otras propiedades edáficas (*i.e.* COT y otros indicadores de la mineralización de N) frente a cambios producidos por el uso (Soon *et al.*, 2007) o las prácticas de manejo, principalmente en la capa más superficial del suelo (García *et al.*, 2016). García *et al.* (2016) observaron una disminución del NAN con los años de agricultura en la capa arable (0-20 cm), tanto bajo labranza convencional como bajo siembra directa, y para condiciones con y sin N. Se ha demostrado que existe una estrecha relación entre el NAN y el contenido de COT y más aún con el de COP (Domínguez *et al.*, 2016). Por otro lado, *dada la estrecha relación del NAN con el COT y su fracción lábil, el NAN podría relacionarse con otras propiedades edáficas asociadas a la MO*.

La agregación del suelo es el proceso mediante el cual sus partículas minerales primarias (arena, limo y arcilla) se unen formando unidades secundarias, los agregados. La estabilidad de agregados (EA) es una estimación de la capacidad de los agregados de resistir a la ruptura cuando se somete al suelo a la acción de fuerzas originadas por la acción del agua o de esfuerzos mecánicos externos. Por lo tanto, la EA es un indicador de la capacidad del suelo de mantener la estructura de su fracción sólida y del espacio poroso (Kay, 1990). Las variaciones de la EA están directamente

relacionadas comportamiento con el del sistema poroso del suelo У, consecuentemente, con la densidad aparente y la infiltración. Por ello, la EA se asocia a la dinámica del agua y del aire en el suelo, la geometría de poros y la resistencia a la erosión. La EA está influenciada por numerosos factores bióticos y abióticos relacionados con las características edáficas (i.e. textura, actividad microbiana, contenido de MO), las características de la vegetación (i.e. cobertura, calidad de residuos, sistema radical y tiempo de permanencia), el clima y las prácticas de manejo (Six et al., 2004). No obstante, el contenido de COT y, especialmente, el de sus fracciones lábiles son los factores que más influencia tienen sobre la capacidad de los agregados de resistir la ruptura (Six et al., 2004; Agostini et al., 2012). Además, la EA ha sido postulada como el parámetro físico más sensible a los cambios producidos en el suelo por el uso agrícola (Aparicio y Costa, 2007), y la magnitud de su cambio puede relacionarse con las prácticas de manejo (Roldán et al., 2014). El monitoreo de la EA sería necesario para evaluar la salud edáfica desde el punto de vista físico, pero su determinación es algo complicada y, por lo tanto, no es adoptada por los laboratorios de suelos de servicio a productores. Dada la relación de la EA con la MO y sus fracciones lábiles, y la de éstas con el NAN, éste podría ser un indicador de la EA.

La EA tiene una gran influencia sobre la protección física del COT y el COP (Six *et al.*, 2002; Rasmussen *et al.*, 2018; Lal, 2018). Esto es así porque la ubicación del C orgánico dentro de los agregados determina diferentes grados de accesibilidad a los microorganismos descomponedores (Six *et al.*, 2002; Lal, 2018). El fraccionamiento del suelo por tamaño de agregados permite aislar fracciones de C orgánico con diferente estado de estabilización, protección y dinámicas, y caracterizar su relación con la distribución de tamaño de agregados (Six *et al.*, 2002) y la salud del suelo.

Se ha postulado que la EA puede ser caracterizada a través de la estabilidad de los macroagregados (>250 µm) (Roldán *et al.*, 2014). La preservación de la estabilidad de los macroagregados tiene un gran impacto sobre la salud del suelo ya que promueve la acumulación de COT y, consecuentemente, mejora la salud física del suelo (Lal, 2018; Tourn *et al.*, 2019). La estabilidad de los macroagregados depende, a su vez, de sus contenidos de COT y COP (Six *et al.*, 2004; Mandiola *et al.*, 2011). Algunos autores (Novelli *et al.*, 2017; Sithole *et al.*, 2019) han descripto que el COT dentro de macroagregados fue más sensible para indicar cambios producidos por las prácticas de manejo que el COT en la masa total del suelo. Para Molisoles del sudeste bonaerense (SEB), ha sido reportado que la proporción, la estabilidad y el contenido de COT y de COP de los macroagregados en la capa arable (0-20 cm) fueron sensibles

a las prácticas de manejo (Mandiola *et al.*, 2011; Roldán *et al.*, 2012a, b). Así, las fracciones orgánicas dentro de macroagregados podrían ser más sensibles para reflejar efectos del manejo que las fracciones orgánicas en la masa total del suelo como indicadores de la estabilidad de los macroagregados, de la EA, y de la salud del suelo. Dada la estrecha asociación de las fracciones orgánicas de la masa total del suelo con la EA, y la dependencia de la estabilidad de los macroagregados, el NAN determinado en macroagregados podría ser un indicador más preciso de la capacidad del suelo de proveer N, de la EA, y de los contenidos de COT y COP en la masa total del suelo que el NAN determinado en la masa total del suelo.

La EA está fuertemente influenciada por los microorganismos que habitan en el suelo, particularmente los hongos. Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son simbiontes obligados de las raíces de aproximadamente el 90% de las plantas terrestres (Covacevich y Vargas Gil, 2014) y son los más comunes en los suelos agrícolas (García et al., 2014). Los HMA conforman uno de los grupos de microorganismos más importantes involucrados en la formación y estabilización de agregados (Six et al., 2004), principalmente mediante dos mecanismos. Por un lado, sus hifas extra-radicales (i.e. micelio) entrelazan pequeños agregados y forman agregados de mayor tamaño y estabilidad. Por otro lado, el micelio de los HMA exuda una proteína hidrofóbica, la glomalina, que interviene en la formación y la estabilización de agregados al actuar como agente adhesivo para unir partículas de suelo (Wright y Upadhyaya, 1996; Chenu y Cosentino, 2007). Asimismo, al ser un compuesto hidrofóbico, incrementa la hidrofobicidad de la MO del suelo, lo que puede evitar la ruptura de agregados secos en el proceso de humedecimiento y, así, crear agregados más estables al agua (Chenu y Cosentino, 2007; Rashid et al., 2013). Se ha demostrado una estrecha relación entre el contenido de glomalina y la EA (Bedini et al., 2009; Fokom et al., 2012) y entre el contenido de glomalina y el de COT (Nichols y Wright, 2005; Wu et al., 2014; Thougnon Islas et al., 2016). Esto sugiere que el COT y la glomalina probablemente estén sometidos a similares dinámicas de acumulación y descomposición (Nichols y Wright, 2005), o que los HMA incrementan el contenido de COT (Xu et al., 2015). Así, el incremento del COT asociado con los HMA podría ser otro mecanismo por el cual estos microorganismos incrementan la EA del suelo (Xu et al., 2015). Además, el contenido de glomalina y la EA se relacionan con la densidad de esporas de HMA en el suelo (Fokom et al., 2012) y la cantidad de raíces colonizadas con HMA (Bedini et al., 2009). Dada la relación entre el contenido de glomalina y la

abundancia y/o la actividad de HMA con la EA y el contenido de COT, y la de éstos con el NAN, es factible pensar que el NAN podría relacionarse con el contenido de glomalina y la abundancia y/o la actividad de HMA del suelo. De esta manera, el NAN sumaría un atributo más para mejorar su desempeño como ISE, permitiendo monitorear, además de la salud bioquímica y física, un aspecto de la salud microbiológica del suelo.

El establecimiento de las asociaciones simbióticas entre los HMA y las raíces de las plantas (*i.e.* micorrizas) juega un rol crucial en la captación del fósforo (P) disponible en el suelo (Cano, 2011). Los HMA invaden intra- e intercelularmente las células corticales de la raíz formando arbúsculos que constituyen las estructuras clave en el intercambio de nutrientes entre los simbiontes. El micelio extra-radical de los HMA aumenta la superficie de absorción en las plantas micorrizadas y actúa como nexo entre los componentes bióticos y geoquímicos del suelo, incrementando la absorción y transferencia a las plantas de nutrientes con baja movilidad como el P (Covacevich y Vargas Gil, 2014). Es así que, la interacción entre el simbionte (i.e. el HMA) y su hospedante (i.e. la planta) consiste en la transferencia de nutrientes: la planta proporciona al hongo compuestos de C y el hongo suministra nutrientes a la planta (Cano, 2011). A través de esta asociación simbiótica, los HMA tienen efectos benéficos sobre la biomasa aérea, la absorción de P y el rendimiento en grano de los cultivos (Treseder, 2013; Pellegrino et al, 2015). Dado el efecto que tienen los HMA sobre la nutrición fosfatada y distintos parámetros de crecimiento y rendimiento de los cultivos, una posible relación entre el NAN y la abundancia y/o actividad de los HMA, permitiría utilizar el NAN también como indicador de parámetros que definen el comportamiento de los cultivos. La identificación de estas relaciones mejoraría aún más su desempeño como ISE.

En síntesis, el NAN es un parámetro fácil y económico de determinar, de interpretación sencilla, y sensible a cambios en el suelo en el mediano a largo plazo asociados con el uso (García *et al.*, 2016). Además, se relaciona con el COT, el COP y el estado nutricional nitrogenado (Reussi Calvo *et al.*, 2013; Orcellet *et al.*, 2017; Domínguez *et al.*, 2016) y azufrado (Carciochi *et al.*, 2018) del suelo. Asimismo, podría relacionarse con otras propiedades edáficas como, por ejemplo, la EA, el contenido de glomalina del suelo y la abundancia y/o la actividad de HMA, así como con otras relacionadas a ellas. Así, el NAN podría ser utilizado como un indicador de propiedades bioquímicas, físicas y microbiológicas del suelo, como así también de parámetros que caracterizan la nutrición de los cultivos (Figura 1.1). Del mismo modo, el NAN en los

macroagregados (> 250 µm) podría ser un indicador más sensible que aquél determinado en la masa total del suelo. Todo esto responde a las características que se requieren de un ISE (Doran y Parkin, 1996). No obstante, a fin de poder utilizarlo como tal, es necesario evaluar su comportamiento en suelos de diferente textura e historias de manejo.

Para suelos con aptitud agrícola del SEB, con diferentes texturas e historias de manejo, se ponen a prueba las siguientes hipótesis:

1) el NAN en la masa total del suelo en la capa arable puede ser utilizado como ISE porque:

a) se relaciona positivamente con la EA;

b) se relaciona positivamente con el contenido de glomalina y la abundancia y la actividad de HMA;

c) se relaciona positivamente con aspectos productivos de los cultivos de trigo y cebada (*Hordeum vulgare* L.); y

 el NAN en los macroagregados (>250 μm) de la capa arable es más sensible que el determinado en la masa total del suelo y mejora su desempeño como ISE.

El objetivo general de esta Tesis es evaluar la utilidad del NAN en la masa total del suelo y en macroagregados como ISE en suelos del SEB con diferentes texturas e historias de manejo. Para ello, en comparación con el contenido de COT y de una de sus fracciones lábiles (*i.e.* COP), se plantean los siguientes objetivos específicos:

1) evaluar la relación del NAN con la EA en la masa total del suelo;

2) evaluar la relación del NAN y la EA con el contenido de glomalina, la abundancia de HMA (número de esporas), y la actividad de HMA (porcentaje de raíces colonizas con HMA) en la masa total del suelo;

 evaluar la relación del NAN y la abundancia y la actividad de HMA con aspectos productivos de los cultivos de trigo y cebada (rendimiento en grano, respuesta en rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada, biomasa aérea total, contenidos de N y P en planta);

4) evaluar el desempeño del NAN como ISE al ser determinado en los macroagregados
 (>250 μm) del suelo, respecto al NAN en la masa total del suelo.



Figura 1.1: Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) como indicador de propiedades bioquímicas, físicas y microbiológicas del suelo, que están relacionadas entre sí y que hacen a la salud edáfica y, con ello, a un buen crecimiento y rendimiento de los cultivos. COT: carbono orgánico total, COP: carbono orgánico particulado, N₀: nitrógeno potencialmente mineralizable, S₀: azufre potencialmente mineralizable, EA: estabilidad de agregados, HMA: hongos formadores de micorrizas arbusculares.

2. CAPÍTULO I. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección de sitios y muestreo de suelos

Se seleccionaron 46 sitios de muestreo del sudeste bonaerense (SEB) en posiciones georreferenciadas (Figura 2.1) correspondientes a establecimientos agropecuarios de producción agrícola con diferentes situaciones de manejo (sistemas de labranza, secuencias de cultivos, años de agricultura). Los sitios seleccionados no presentaron evidencias de erosión (pendientes menores al 2%) ni de anegamiento. En cada sitio de muestreo se seleccionó un lote de producción agrícola (LPA) y una situación de referencia para cada LPA, es decir sectores sin disturbio por muchos años (*i.e.* más de 20) que pudieran ser equiparables al suelo prístino o pseudoprístino (PRIS). En algunos sitios, un PRIS fue referencia para más de un LPA, mientras que en otros no se encontró ningún PRIS para el LPA muestreado. Así, un total de 46 LPA y 34 PRIS fueron muestreados en dos etapas: 34 sitios en 2016 (*i.e.* 34 LPA y 29 PRIS) y 12 sitios en 2018 (*i.e.* 12 LPA y 5 PRIS) (Tabla 2.1).



Figura 2.1: Posiciones georreferenciadas de los 46 sitios de muestreo en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires.

Los suelos muestreados correspondieron al orden Molisol (Rubio *et al.*, 2019) y las clases texturales franca, franco-arenosa, franco-arcillo-arenosa y franco-arcillosa (Soil Survey Staff, 2014). Aproximadamente el 80% de los LPA habían tenido más de 10 años de agricultura bajo siembra directa, ninguno de los LPA había tenido riego en su historia agrícola, y todos los LPA habían tenido soja (*Glicine Max* (L.) Merr.) o girasol (*Helianthus annuus* L.) como cultivos antecesores inmediatos a las fechas de

muestreo. Además, de los 46 LPA, 28 en 2016 y 11 en 2018 estaban destinados a la siembra de trigo (*Triticum aestivum* L.) o cebada (*Hordeum vulgare* L.) en el año de muestreo (Tabla 2.1).

En cada LPA y en los PRIS, se marcaron parcelas de 20 x 20 m (400 m²) y en otoñoinvierno se tomaron muestras de suelo de 0-5 y 5-20 cm de profundidad (compuestas por 15 y 5 submuestras, respectivamente), con un muestreador tubular de 4,4 cm de diámetro (muestras A). Asimismo, se tomaron muestras de suelo (compuestas por 5 submuestras) de 0-5 y 5-20 cm de profundidad con pala, desechando todas las partes de cada submuestra que habían sido afectadas por el corte de la herramienta (muestras B). Las muestras fueron colocadas cuidadosamente en recipientes plásticos, evitando dañar los agregados. Además, en cada LPA que estaba destinado a la siembra de trigo o cebada en el año de muestreo, se tomaron muestras de suelo (compuestas por 10 submuestras) de 0-60 cm de profundidad con un muestreador tubular de 2,5 cm de diámetro (muestras C).

En los 11 LPA muestreados en 2018 que estaban destinados a la siembra de trigo o cebada (Tabla 2.1), en noviembre de ese año, coincidiendo con el estado de antesis de los cultivos, se realizó el muestreo para recolectar raíces. Para ello, se tomaron muestras de suelo de 0-20 cm de profundidad (compuestas por 18 submuestras) con un muestreador tubular con recolector sobre la línea de siembra (muestras D).

N° de:		Año			Total	
		2016	2018		- iotai	
Sitios		34	12		46	
	LPA	34	12	46	90	
	PRIS	29	5	34	00	
Ensayos en LPA	Establecidos	28 (17 propios y 11 de Queirolo, [2018])	11 (propios)		39	
trigo y	Perdidos	6	3		9	
cebada	Finalizados	22	8		30	

Tabla 2.1.: Número de sitios, lotes de producción agrícola (LPA), pseudoprístinos (PRIS) y ensayos en dos años.

2.2. Realización de ensayos de fertilización nitrogenada y muestreo de plantas

En 28 de los LPA destinados a la siembra de trigo y cebada (17 en 2016 y 11 en 2018, Tabla 2.1) se llevaron a cabo ensayos de respuesta a la fertilización nitrogenada en secano. Las parcelas de 400 m² marcadas para la realización del muestreo de

suelos, no recibieron fertilización nitrogenada. Una parcela aledaña de 400 m² recibió fertilización con N en la dosis utilizada por el productor agropecuario del establecimiento (entre 55 y 155 kg N ha⁻¹). Asimismo, el control de malezas, insectos y enfermedades fue llevado a cabo por el productor. Nueve de los ensayos establecidos no llegaron a su finalización dado que, por equivocación, los cultivos de las parcelas sin fertilización nitrogenada (0N) fueron fertilizados por el productor o dañados por heladas. En estado de madurez fisiológica de los cultivos de trigo y cebada, se realizó el muestreo de plantas en las dos parcelas. Para ello, en cada parcela se tomaron 3 muestras de 9 m lineales cada una de la parte aérea de la planta.

En 11 LPA de 2016 destinados a la siembra de cebada (Tabla 2.1), no fue necesario realizar el procedimiento antes mencionado dado que se dispuso de datos de biomasa aérea total 0N (BA_{0N}), rendimiento en grano 0N (RG_{0N}) y con fertilización nitrogenada y contenido de nitrógeno total en planta 0N (NTP_{0N}). Estos datos fueron proporcionados por el Ing. Agr. Ignacio Queirolo obtenidos como resultado del establecimiento de ensayos de fertilización nitrogenada para su Tesis de Maestría en Producción Vegetal (Queirolo, 2018).

2.3. Procesamiento de muestras

2.3.1. De suelo

Las muestras A fueron pesadas en húmedo, posteriormente homogeneizadas, una alícuota de suelo fue tomada y su peso húmedo fue registrado. Dicha alícuota fue secada a 105°C con circulación forzada de aire hasta peso constante y posteriormente pesadas. El resto de la muestra A y las muestras C fueron secadas en estufa con circulación forzada de aire a 50°C hasta peso constante y molidas hasta pasar por tamiz de 2 mm, eliminando el material vegetal identificable que guedaba sobre el tamiz. En las muestras B se separaron manualmente los agregados siguiendo sus líneas naturales de ruptura, hasta que fueran capaces de pasar por un tamiz de 8 mm de apertura de malla. Esto fue realizado inmediatamente luego de la extracción (i.e. en condición húmeda). Se obtuvieron así agregados menores que 8 mm de diámetro. Luego, las muestras fueron secadas en estufa con circulación forzada de aire a 50°C hasta peso constante. En las muestras D se separaron las raíces del suelo con una pinza. Las raíces fueron colocadas sobre un tamiz de 1 mm y lavadas con abundante agua para eliminar el suelo adherido a ellas. Las raíces fueron almacenadas en recipientes plásticos, cubiertas con una solución de alcohol etílico 70% $V_{\rm v}$ hasta su utilización.

2.3.2. De planta

Las plantas fueron secadas en estufa a 60°C hasta peso constante y pesadas. Posteriormente, las espigas fueron separadas manualmente del resto de la planta (hoja y tallo). Las espigas fueron trilladas y los granos obtenidos fueron secados en estufa a 60°C hasta peso constante y pesados. Tanto los granos como el resto de la planta fueron molidos hasta pasar por tamiz de 0,5 mm y almacenados hasta su análisis.

2.4. Determinaciones analíticas

2.4.1. En suelo

2.4.1.1. <u>En la masa total del suelo</u>: En las muestras A se determinó densidad aparente, textura, carbono (C) orgánico total (COT), particulado (COP) y asociado a la fracción mineral (COA), nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN), proteínas del suelo relacionadas con glomalina fácilmente extraíbles (PSRG-FE), fósforo (P) extractable (P_{EXT}) y número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) (ESP, sólo en las muestras A de 2018) en la masa total del suelo. En las muestras B se realizó la separación por tamaño de agregados y la determinación de la estabilidad de agregados (EA). En los macroagregados se determinó COT, COP, COA y NAN. En las muestras C se determinó el contenido de nitrógeno (N) en forma de nitrato (N-NO₃⁻). En las muestras D se determinó el porcentaje de raíces colonizadas con estructuras de HMA.

2.4.1.1.1. *Densidad aparente*: La densidad aparente fue determinada mediante el método simple descripto por Agostini *et al.* (2014), con la forma de muestreo y el procesamiento de muestras descripto para las muestras A en las secciones 2.1 y 2.3.1, respectivamente. La alícuota de suelo tomada en dichas muestras y secada a 105°C (sección 2.3.1) permitió estimar el contenido de agua en %^m/_m (Ecuación 2.1) y el de la muestra completa (Ecuación 2.2), para así calcular el peso de suelo seco (Ecuación 2.3). El volumen de la muestra fue calculado de acuerdo con la Ecuación 2.4 y la densidad aparente mediante la Ecuación 2.5.

Contenido de agua (% ^m/_m) =
$$\frac{Ph_{al} - Ps_{al}}{Ps_{al}} \times 100$$
 Ecuación 2.1

Contenido de agua
$$_{mA} = \frac{Ph_{mA} \times contenido de agua (\% m/m)}{100}$$
 Ecuación 2.2

 $Ps_{mA} = Ph_{mA} - Contenido de agua_{mA}$ Ecuación 2.3
$$V = \pi \times r^{2} \times e \times n^{\circ}s$$

Ecuación 2.4
$$DA = \frac{Ps_{mA}}{V}$$

Ecuación 2.5

donde Ph_{al} es el peso húmedo de la alícuota de suelo de la muestra A en g, Ps_{al} es el peso seco a 105°C de la alícuota de suelo de la muestra A en g, mA es la muestra A completa, Ph_{mA} es el peso húmedo de la muestra A en g, Ps_{mA} es el peso seco de la muestra A en g, V es el volumen en cm⁻³, r es el radio del muestreador utilizado en cm (*i.e.* 2,2 cm, sección 2.1), e es el espesor del estrato de suelo muestreado en cm (5 cm para la profundidad de 0-5 cm y 15 cm para la profundidad de 5-20 cm), n°s es el número de submuestras (15 para 0-5 cm y 5 para 5-20 cm, sección 2.1), DA es densidad aparente en Mg m⁻³ (equivalente a g cm⁻³ como se desprende de las Ecuaciones).

2.4.1.1.2. *Carbono orgánico total:* El COT se determinó por combustión húmeda con mantenimiento de la temperatura de reacción ($120^{\circ}C$) según Nelson y Sommers (1982) modificada. Para ello, se pesaron en balanza analítica 0,25 g de suelo seco y mortereado hasta pasar por tamiz de 0,5 mm y se colocaron en un matraz aforado de 50 mL. Se agregaron 7,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y 5 mL de una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 2 N y se agitó cuidadosamente. Se colocaron los matraces en la estufa a 120°C y se los mantuvo durante 120 min, agitándolos a los 60 y 120 min. Se sacaron los matraces de la estufa y se agregó agua desionizada hasta el nivel del cuello. Se dejaron enfriar en agua y luego se enrasaron y se homogeneizó la suspensión. Asimismo, siguiendo el mismo procedimiento detallado para las muestras de suelo, se realizó una curva de calibración con concentraciones de C conocidas (0, 30, 90, 150, 240, 300 mg L⁻¹) a partir de una solución de tartrato de sodio ($Na_2C_4H_4O_6.2H_2O$).

De cada solución (incluyendo las muestras problema y la curva de calibración) se trasvasaron 10 mL a un tubo de ensayo y se centrifugaron a 1000 x *g* durante 10 min. Por último, se midió la absorbancia de luz de la solución a una longitud de onda de 578 nm con espectrofotómetro de luz visible. La absorbancia medida en las soluciones correspondientes a la curva de calibración fueron graficadas en función de la concentración de C orgánico y se expresó la relación entre ambas por un modelo de regresión lineal simple. La ecuación obtenida fue utilizada para calcular las concentraciones de C en las soluciones de las muestras de suelo problema expresadas en mg L⁻¹. Finalmente, los resultados de COT fueron expresados como concentración en g de COT kg⁻¹masa total del suelo utilizando la Ecuación 2.6:

$$C_f = (C_i \times V) / m$$
 Ecuación 2.6

donde C_f es la concentración de COT en la masa total del suelo en mg C g⁻¹ de masa total de suelo (o g kg⁻¹), C_i es la concentración de COT en la solución en mg C L⁻¹ de solución, V es el volumen de la solución en L (*i.e.* 0,05 L) y m es la masa de suelo utilizada en la combustión (*i.e.* 0,25 g).

Asimismo, los valores de COT fueron también expresados en stock referido a una masa equivalente calculado de acuerdo con lo descripto por Ellert *et al.* (2007). Esta forma de expresión permite comparar situaciones con diferente densidad aparente que fueron muestreadas a una profundidad fija (Toledo *et al.*, 2013a). Para ello, se calcularon los contenidos de COT a la profundidad de muestreo en Mg ha⁻¹ (COT_s, Ecuación 2.7). Se calculó la masa de suelo en Mg ha⁻¹ de cada PRIS (Mr) y LPA (Mi, Ecuación 2.8). Dado que, para cada sitio, el PRIS presentó una menor masa de suelo respecto a su/s LPA correspondiente/s, la masa de suelo del PRIS fue tomada como masa de suelo de referencia (Mr, en Mg ha⁻¹) para el/los correspondiente/s LPA. A partir de ello, se calculó la masa de suelo en exceso (Me) en Mg ha⁻¹ que tenía cada LPA y que debía restarse para que su masa fuera equivalente a la de su respectivo PRIS (Ecuación 2.9). Por último, se calculó el contenido de COT expresado en stock referido a una masa de suelo de referencia o equivalente en Mg ha⁻¹ (COT_{me}, Ecuación 2.10).

 $COT_s = DA \times C_f \times e \times 10$ Ecuación 2.7

$$M_{i \, o \, r} = DA \times e \times 10.000$$
 Ecuación 2.8

 $M_e = M_i - M_r$ Ecuación 2.9

$$COT_{me} = COT_s - Me \times \frac{C_f \ln f}{1000}$$
 Ecuación 2.10

donde DA es la densidad aparente (Mg m⁻³), C_f es la concentración de COT calculado mediante la Ecuación 2.6 en g kg⁻¹, e es el espesor de suelo analizado en m, C_f inf es la concentración de COT (g kg⁻¹) de la capa de suelo inmediatamente inferior a la profundidad analizada. Esta metodología se utilizó para calcular el COTme en los estratos de 0-5 y de 0-20 cm. Para este último, como C_f inf se utilizó la concentración de COT (g kg-1) del estrato de 5-20 cm, dado que en todos los casos el horizonte A tenía más de 20 cm y se asumió que por debajo de esa profundidad la concentración de COT no cambiaba.

2.4.1.1.3. *Carbono orgánico particulado y asociado a minerales:* Para la determinación del COP y el COA se realizó el fraccionamiento físico de las muestras según el método descripto por Cambardella y Elliott (1992), recuperándose la fracción <53 μm en la que

se determinó COA. Para ello, se pesaron en balanza granataria 10 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm, se colocaron en un recipiente hermético, se le agregaron 30 mL de hexametafosfato de sodio ([NaPO₃]_n) (5 g L⁻¹) y 4 perlas de vidrio de 4 mm de diámetro, y se agitaron durante 16 h en un agitador rotatorio. El contenido del recipiente de agitación se volcó sobre un tamiz de 53 µm de apertura de malla. Se ayudó a pasar el material a través del tamiz con agua desionizada. La fracción retenida en el tamiz (>53 µm, arena y materia orgánica particulada) fue descartada. La fracción que pasó el tamiz (<53 µm, limo, arcilla y materia orgánica asociada a minerales) fue recogido en un recipiente de 500 mL. A la fracción recuperada en el recipiente se le agregaron 5 mL de cloruro de calcio (CaCl₂) 2 N para acelerar la floculación. Luego de 16 a 24 h, se extrajo el sobrenadante de los recipientes. El material se secó en estufa a 50°C con circulación forzada de aire hasta peso constante, se registró el peso y se homogenizó con un mortero. Posteriormente, se realizó la determinación de C orgánico en esta fracción según el método descripto en la sección 2.4.1.1.2. El valor de COA fue calculado mediante las Ecuaciones 2.11. y 2.12:

$$C_{f} = (C_{i} \times V) / m_{1}$$
Ecuación 2.11.
COA = (C_{f} \times m_{2}) / m_{3}Ecuación 2.12.

donde C_f es la concentración de C en mg C g⁻¹ de fracción asociada a minerales (o g kg⁻¹), C_i es la concentración de C orgánico en la solución en mg C L⁻¹ de solución, V es el volumen de la solución en L (*i.e.* 0,05 L), m₁ es la masa de alícuota de suelo utilizada en la combustión (*i.e.* 0,25 g), COA está expresado en mg C kg⁻¹ de masa total del suelo, m₂ es la masa de la fracción asociada a minerales en g y m₃ es la masa de suelo utilizada en el fraccionamiento físico en g (*i.e.* 10 g). El COP se determinó por diferencia entre el contenido de COT (sección 2.4.1.1.2.) y el de COA. Los resultados de COP y COA fueron expresados como concentración en g de C por kg⁻¹ de masa total de suelo y en stock referidos a una masa equivalente como fue descripto para COT en la sección 2.4.1.1.2.

2.4.1.1.4. *Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis:* Para la determinación del NAN se utilizó el método de incubación anaeróbica corta (Keeney, 1982). Para esto se pesaron en balanza granataria 5 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm, fueron colocados en tubos de ensayo (150 mm de alto x 16 mm de diámetro) y se completó el volumen de los mismos con agua desionizada. Se cerraron herméticamente asegurando una condición de anaerobiosis y se los incubó durante 7 días a 40°C. Un blanco fue incubado de la misma manera, sólo con agua desionizada.

Finalizada la incubación, se agitó cada tubo enérgicamente y se transfirió su contenido a un balón de destilación. Para completar la transferencia se utilizaron 15 mL de cloruro de potasio (KCI) 4 M. Se agregaron aproximadamente 0,2 g de MgO al balón de destilación. La determinación del N de amonio (N-NH₄⁺) mineralizado durante la incubación, se realizó por destilación por arrastre de vapor. El destilado se recogió en 5 mL de ácido bórico (H₃BO₃) al 2% con indicador mixto (verde de bromocresol y rojo de metilo). Finalmente, se tituló con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,005 N. El valor de N-NH₄⁺ se calculó mediante la Ecuación 2.13. Al valor de N-NH₄⁺ mineralizado durante la incubación se le restó el valor de N-NH₄⁺ inicial que presentó la muestra determinado por destilación por arrastre a vapor como se detalló anteriormente, pero sin previa incubación. Los valores fueron expresados en mg de NAN por kg⁻¹ de masa total de suelo:

$$NAN = (V_1 - V_2) \times C \times Peq N \times \frac{1000}{m}$$
 Ecuación 2.13

donde NAN está expresado en mg kg⁻¹ de masa total de suelo, V₁ es el volumen de H_2SO_4 consumido en la titulación de la muestra en mL, V₂ es el volumen de H_2SO_4 consumido en la titulación del blanco, C es la concentración de H_2SO_4 utilizado en la titulación (*i.e.* 0,005 N), Peq N es el peso equivalente del N en g eq⁻¹ y m es la masa de suelo utilizada en la incubación (*i.e.* 5 g).

2.4.1.1.5. *Fósforo extractable:* La determinación de P_{EXT} fue realizada con el método Bray-Kurtz modificado (Instituto Argentino de Normalización y Certificación [IRAM], 2009). Para la extracción, se pesaron en balanza granataria 2 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm y se colocaron en tubos plásticos de 50 mL. Se agregaron 14 mL de una solución extractora de fluoruro de amonio (FNH₄) 0,03 M y ácido clorhídrico (HCI) 0,025 M. Los tubos fueron inmediatamente tapados y agitados en posición horizontal en un agitador vaivén durante 5 min a 180 golpes min⁻¹ y 20-25°C de temperatura. Posteriormente, se centrifugaron a 1000 x g durante 5 min.

Para la cuantificación, se tomó 1 mL de sobrenadante, se colocó en un tubo de ensayo y se adicionaron 9 mL de una solución mezcla de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$), H_2SO_4 , molibdato de amonio ([NH_4]₆ $Mo_7O_{24}.4H_2O$) y tartrato de antimonio y potasio (K[SbO]C₄ H_4O_6). Del mismo modo, se realizó una curva de calibración tomando 1 mL de soluciones de fosfato dibásico de potasio (K_2HPO_4) con concentraciones conocidas de P (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 µg L⁻¹) y adicionándoles 9 mL de la solución mezcla. Se homogeneizó la solución y se esperó 1 h para el desarrollo de color de la reacción. Se midió la absorbancia de luz de la solución a una longitud de onda de 882 nm con

espectrofotómetro de luz visible. La absorbancia medida en las soluciones correspondientes a la curva de calibración fueron graficadas en función de la concentración de P y se expresó la relación entre ambas por un modelo de regresión lineal simple. La ecuación obtenida fue utilizada para calcular las concentraciones de P_{EXT} en las soluciones de las muestras de suelo problema expresadas en mg L⁻¹. Finalmente, los resultados de P_{EXT} fueron expresados como concentración en mg kg⁻¹ masa total del suelo utilizando la Ecuación 2.14.:

$$P_{f} = (P_{i} \times V_{1}) / (m \times V_{2})$$
 Ecuación 2.14.

donde P_f es la concentración de P_{EXT} en mg kg⁻¹ de masa total de suelo, P_i es la concentración de P en la solución en µg L⁻¹ de solución, V₁ es el volumen de la solución extractora en mL (*i.e.* 14 mL), m es la masa de suelo utilizada para la extracción (*i.e.* 2 g) y V₂ es el volumen de la alícuota de solución de sobrenadante tomada para la reacción de color (*i.e.* 1 mL).

2.4.1.1.6. *Nitrógeno en forma de nitrato:* La determinación de N-NO₃⁻ se realizó por extracción y espectrofotometría de acuerdo con el método descripto por Keeney y Nelson (1982). Para la extracción de N-NO₃ se pesaron en balanza granataria 20 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm, se colocaron en recipientes plásticos de 100 mL y se le adicionaron 50 mL de sulfato de potasio (K₂SO₄) 0,1 N. Se agitaron durante 30 minutos a 170 golpes min⁻¹ en agitador vaivén. Una alícuota de extracto de 10 mL fue colocada en un tubo de ensayo y centrifugada durante 4 min a 1500 x g. Se extrajo una alícuota de 2 mL de sobrenadante y se colocó en un vaso de precipitado de 50 mL. Se puso en estufa a 90°C hasta que todo el líquido se evaporó. Se retiró de la estufa y una vez frío se agregó 1 mL de ácido fenoldisulfónico $(C_6H_6O_7S_2)$, se homogeneizó y se dejó reposar 10 min. Se adicionaron 14 mL de agua desionizada y 10 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 25 % m/v, se homogeneizó y se dejó reposar 10 min. La curva de calibración fue realizada a partir de soluciones de nitrato de potasio (KNO₃) con concentraciones conocidas de N-NO₃⁻ (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 mg L⁻¹) que fueron tratadas de igual forma que los extractos de suelo. Posteriormente, se midió la absorbancia de luz de la solución a una longitud de onda de 420 nm con el uso de un espectrofotómetro de luz visible. La absorbancia medida en las soluciones correspondientes a la curva de calibración fueron graficadas en función de la concentración de N-NO₃- y se expresó la relación entre ambas por un modelo de regresión lineal simple. La ecuación obtenida fue utilizada para calcular las concentraciones de N-NO3⁻ en las soluciones de las muestras de suelo problema

expresadas en mg L⁻¹. Los resultados de N-NO₃⁻ fueron expresados como concentración en mg kg⁻¹masa total del suelo utilizando la Ecuación 2.15:

 $(N - NO_3^-)_f = ((N - NO_3^-)_i \times V) / m$ Ecuación 2.15. donde $(N-NO_3^-)_f$ es la concentración de N-NO_3^- en mg kg⁻¹ de masa total de suelo, $(N-NO_3^-)_i$ es la concentración de N-NO_3^- en la solución en mg L⁻¹ de solución, V es el volumen de la solución extractora en L (*i.e.* 0,05 L) y m es la masa de suelo utilizada para la extracción (*i.e.* 20 g). Finalmente, los resultados de N-NO₃⁻ fueron expresados en kg ha⁻¹. Para ello, se utilizó la densidad aparente de la profundidad de 0-20 cm de acuerdo con lo descripto en la sección 2.4.1.1.1 y se estimó la densidad aparente en la profundidad de 20-60 cm asumiendo un aumento de 4,62% respecto a la capa de 0-20 cm (Batallanez, 1972).

2.4.1.1.7. *Textura y separación por tamaño de arenas:* La textura se determinó con el método del hidrómetro según Gee y Bauder (1986). Para ello, se pesaron en balanza granataria 50 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm, se colocaron en un vaso de precipitado de vidrio de 600 mL previamente pesado, se adicionaron 25 mL de agua oxigenada (H₂O₂) 30% $^{v}/_{v}$ y se dejaron reposar durante 16 h. Posteriormente, la muestra se calentó a 90°C en una plancha calefactora adicionando pequeñas cantidades de agua oxigenada hasta oxidar toda la materia orgánica. Las muestras fueron secadas en estufa a 105°C hasta peso constante y pesadas.

Se adicionaron 50 mL de solución dispersante con hexametafosfato de sodio $([NaPO_3]_n)$ y carbonato de sodio (Na_2CO_3) y aproximadamente 200 mL de agua desionizada lavando las paredes del vaso de precipitado para despegar el material adherido. Se agitó durante 2 min con agitador vertical de alta velocidad y se pasó por un tamiz de 53 µm con agua desionizada. En el tamiz quedó retenida la arena (*i.e.* >53 µm), la que fue recolectada con agua desionizada en un recipiente. Una vez decantada, se extrajo el sobrenadante y la arena fue secada en estufa a 105°C hasta peso constante y pesada. La fracción que atravesó el tamiz (*i.e.* <53 µm) quedó compuesta por arcilla y limo y fue recolectada en una probeta de 1 L, enrasando a volumen. Se preparó un blanco con 50 mL de solución dispersante y agua desionizada hasta enrasar a 1 L. La suspensión de la probeta fue agitada con un agitador manual durante 30 seg. Se dejaron reposar durante 6 h a 20°C, se registró la temperatura y se realizó una lectura con un hidrómetro en la muestra y en el blanco. Los contenidos de arena, arcilla y limo fueron calculados mediante las Ecuaciones 2.16, 2.17 y 2.18, respectivamente y expresados en g de arcilla, arena o limo kg⁻¹ de fracción mineral:

$$Arena = \frac{m_3}{m_2 - m_1} \times 1000$$
 Ecuación 2.16

$$Arcilla = \frac{L_1 - L_2}{m_2 - m_1} \times 1000$$
 Ecuación 2.17

Limo = 100 - Arena - Arcilla Ecuación 2.18

donde Arena, Arcilla y Limo son los contenidos de esas fracciones en g kg⁻¹ de fracción mineral, m_1 es la tara del vaso de precipitado en g, m_2 es la masa de la muestra de suelo sin materia orgánica más la masa del vaso de precipitado en g, m_3 es la masa de arena en g, L₁ es la lectura del hidrómetro en la muestra y L₂ es la lectura del hidrómetro en el blanco.

Las arenas fueron separadas por tamaño en arenas muy gruesas (1000-2000 μ m), gruesas (500-1000 μ m), medianas (250-500 μ m), finas (100-250 μ m) y muy finas (53-100 μ m). Para ello, la muestra de arena seca fue puesta en una batería de tamices colocados de mayor a menor tamaño en un agitador por vibración. Se agitaron durante 3 min y, posteriormente, la fracción de arena retenida en cada tamiz fue recuperada y pesada. El porcentaje de cada fracción de tamaño de arena en la masa total de arena fue calculado.

2.4.1.1.8. Separación por tamaño de agregados y estabilidad de agregados: La separación por tamaño de agregados fue realizada según Six et al. (1998) y la determinación de la EA según el método descripto por Six et al. (2000) (Figura 2.2). Para ello, 100 g de agregados secos y menores que 8 mm de diámetro fueron sometidos a un re-humedecimiento por capilaridad durante 24 h hasta capacidad de campo (mojado por capilaridad, MC), mientras que otros 100 g de agregados secos fueron sometidos a una inmersión rápida en agua (mojado violento, MV). El MC permite el humedecimiento paulatino del suelo y que el aire atrapado dentro de los agregados se libere lentamente, por lo que los agregados quedan en su estado de máxima estabilidad. Por el contrario, el MV provoca que el agua ingrese rápidamente en los poros de los agregados secos y se generen grandes fuerzas internas por compresión del aire dentro de los mismos, con lo que los agregados quedan en su estado de máxima vulnerabilidad. Posteriormente, cada alícuota de agregados, la proveniente del MV y la del MC, fue sumergida en agua sobre un tamiz de 2000 μ m durante 5 min. Mediante tamizados sucesivos en agua con movimiento de arriba hacia abajo con un recorrido de 3 cm y 50 repeticiones durante 2 min y en un dispositivo diseñado para tal fin (Roberto Domínguez y Germán Domínguez, construcción ad hoc), se separaron 4 fracciones: i) macroagregados grandes (2000-8000 µm, MA), ii) macroagregados chicos (250-2000 μ m, Ma), iii) microagregados (53-250 μ m) y iv) fracción fina (<53 μ m). Las primeras tres fracciones se obtuvieron por retro-lavado del correspondiente tamiz, se las dejó flocular durante 24 h, se retiró el sobrenadante, se secaron en estufa a 50°C hasta peso constante y se pesaron. La fracción fina fue descartada y su masa fue calculada como la diferencia entre la masa de agregados inicial (*i.e.* 100 g) y la suma de las tres fracciones de agregados recuperadas. Debido a que el 95 % o más de las arenas de los suelos muestreados (determinadas según 2.4.1.1.7) fue <250 μ m (arenas finas y muy finas, Soil Survey Staff, 2014), no se realizó la corrección de las masas de MA y Ma por la masa de arena.





Figura 2.2: Esquema de la metodología para la separación de agregados. MV: mojado violento, MC: mojado por capilaridad, DMP: diámetro medio ponderado, △DMP: cambio de DMP entre el MC y el MV, masaMA: masa de macroagregados de 2000-8000 μm (MA), masaMa: masa de macroagregados de 250-2000 μm (Ma), masaMi: masa de microagregados, masaFF: masa de la fracción fina, carbono orgánico (CO) total en MA y Ma (COT_{MA} y COT_{Ma}, respectivamente), CO particulado en MA y Ma (COP_{MA} y COP_{Ma}, respectivamente), CO asociado a minerales en MA y Ma (COA_{MA} y COA_{Ma}, respectivamente), nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en MA y Ma (NAN_{MA} y NAN_{Ma}, respectivamente).

El tamizado luego del MC ocasiona un disturbio mínimo, por lo que las masas de agregados remanentes luego de este pretratamiento contienen agregados estables e inestables. Sin embargo, el tamizado luego del MV, ocasiona un mayor disturbio que el MC a los agregados menos estables, por lo que las masas de agregados remanentes contienen sólo agregados estables (Cambardella y Elliott, 1993; Roldán *et al.*, 2014). Con las masas de las fracciones, se obtuvieron tres indicadores de la EA: i) masa de MA remanente luego del MV (masaMA_{MV}) (García *et al.*, 2020), ii) diámetro medio ponderado (DMP) luego del MV (DMP_{MV}) (Ecuación 2.19) (Chaplot y Cooper, 2015; Scott *et al.*, 2017; Sarker *et al.*, 2018; King *et al.*, 2019) y iii) cambio de DMP entre el MC y el MV (Δ DMP) (Ecuación 2.20) (Six *et al.*, 2000).

$$DMP_{MV} = \sum_{i=1}^{4} X_i W_i$$
 Ecuación 2.19

 $\Delta DMP = DMP_{MC} - DMP_{MV}$ Ecuación 2.20

donde i identifica a cada fracción separada luego del MV (*i.e.* 2000-8000 (1), 250-2000 (2), 53-250 (3) y <53 (4) μ m), X_i es el diámetro promedio de la fracción i calculado como la media aritmética de la apertura de malla de dos tamices sucesivos, y W_i es la proporción de masa de la fracción i respecto a la muestra total tamizada (100 g). DMP_{MC} es el DMP luego del MC y fue calculado de la misma forma que el DMP_{MV} (Ecuación 2.19), pero teniendo en cuenta las masas de las fracciones separadas luego del MC. El Δ DMP y el DMP_{MV} fueron expresados en mm, mientras que la masaMA_{MV} lo fue en g de MA (100 g)⁻¹ de suelo.

2.4.1.1.9. Proteínas del suelo relacionadas con glomalina fácilmente extraíble: La extracción de PSRG-FE fue realizada según el método descripto por Wright y Upadhyaya (1996). Se pesaron en balanza analítica 0,5 g de suelo seco y mortereado hasta pasar por tamiz de 0,5 mm y se colocaron en tubos de ensayo de 10 mL. Se adicionaron 4 mL de citrato de sodio ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$) 20 mM con pH 7, los tubos se cerraron y se agitaron en vórtex durante 15 seg y se autoclavaron 30 min a 121°C y 0,1 MPa. Una vez retirados de la autoclave, se centrifugaron a 1300 x g durante 15 min.

La cuantificación de las proteínas fue realizada por espectrofotometría en microplaca por el método de Bradford según el protocolo descripto por Sigma-Aldrich (2019). Se tomaron 5 μ L de extracto y se colocaron en una celda de una microplaca y se le adicionaron 250 μ L de reactivo de Bradford comercial (Sigma). El mismo procedimiento fue llevado a cabo para la curva de calibración, que fue realizada a partir de soluciones de suero de albúmina bovina con concentraciones de proteína

conocidas (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 y 1 mg mL⁻¹). Se agitaron las microplacas suavemente y se dejaron reposar 10 min. Posteriormente, se midió la absorbancia de luz de cada solución a una longitud de onda de 420 nm con el uso de un espectrofotómetro de luz visible para microplaca. La absorbancia medida en las soluciones correspondientes a la curva de calibración fueron graficadas en función de la concentración de proteína y se expresó la relación entre ambas por un modelo de regresión lineal simple. La ecuación obtenida fue utilizada para calcular las concentraciones de PSRG-FE en las soluciones de las muestras de suelo problema expresadas en mg mL⁻¹. Finalmente, los resultados de PSRG-FE fueron expresados como concentración en mg g⁻¹ masa total del suelo utilizando la Ecuación 2.21.:

$$PSRG - FE_f = PSRG - FE_i \times \frac{V}{m}$$
 Ecuación 2.21.

donde PSRG-FE_f es la concentración de PSRG-FE en mg g⁻¹ de masa total de suelo, PSRG-FE_i es la concentración de PSRG-FE en mg mL⁻¹, V es el volumen de citato de sodio en mL (*i.e.* 4 mL) y m es la masa de suelo en g (*i.e.* 0,50 g).

2.4.1.1.10. Cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares: La extracción de esporas de HMA fue realizada mediante la técnica de tamizado en húmedo, decantado y centrifugado en gradiente de sacarosa al 60% (Covacevich y Consolo, 2014). Para ello, se pesaron en balanza granataria 50 g de suelo seco y molido hasta pasar por tamiz de 2 mm y se colocaron en un recipiente de 2 L con agua. El suelo se agitó con una varilla durante 2 min, se dejó reposar durante 2 min y el sobrenadante se pasó por un tamiz de 75 µm. Este procedimiento fue repetido 4 veces. El suelo retenido sobre el tamiz fue recuperado con aqua desionizada y transferido a un tubo de centrífuga de 50 mL y se centrifugó a 1000 x g durante 3 min. El sobrenadante fue descartado. Al precipitado se le adicionaron 40 mL de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) 60 % ^m/_v y se homogeneizó la solución con una varilla de vidrio. Se centrifugó a 500 x g durante 2 min. El sobrenadante fue vertido sobre el tamiz de 75 µm y el material retenido fue lavado con abundante cantidad de agua para eliminar los residuos de sacarosa. El material retenido en el tamiz fue recuperado con agua desionizada en un tubo de 50 mL con tapa y almacenado en heladera a 4°C hasta su cuantificación. La cuantificación fue realizada dentro de un período de 4 días desde la extracción. Para ello, cada muestra fue transferida a una placa de Petri y bajo lupa binocular estereoscópica con aumento de 40X, las esporas de HMA fueron reconocidas y cuantificadas (Figura 2.3). El número de esporas de HMA (ESP) fue expresado cada 100 g de masa total de suelo.



Figura 2.3: Reconocimiento y cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares de una muestra de suelo bajo lupa estereoscópica con aumento de 40X.

2.4.1.1.11. Colonización de raíces con hongos formadores de micorrizas arbusculares: Las raíces que habían sido almacenadas en alcohol etílico 70% ^m/_v fueron colocadas sobre un tamiz de 1000 μ m y lavadas con abundante agua. La tinción fue realizada según Covacevich y Consolo (2014). Para ello, las raíces fueron sumergidas en hidróxido de potasio (KOH) 10% ^m/_v durante 30 min a 90°C. Se colocaron sobre el tamiz de 1000 μ m y se lavaron con abundante agua. Posteriormente, se sumergieron en azul Tripán 0,05% ^m/_v diluido en lactoglicerol (1 ácido láctico:1 glicerol:1 agua) durante 15 min a 90°C.

La cuantificación del grado de colonización micorrícica presente en las raíces fue realizada según Brundrett (2008). Para ello, 3 líneas equidistantes fueron trazadas a lo largo de un portaobjetos y se colocaron gotas de solución de glicerol y ácido láctico (1:1). Las raíces fueron cortadas en segmentos de 1 cm, 33 segmentos fueron montados en un portaobjeto en forma transversal a las líneas trazadas, y fueron cubiertas con un cubreobjeto (Figura 2.4).

La observación fue realizada bajo microscopio binocular estereoscópico con aumento de 50X, registrando la presencia de hifas, arbúsculos y vesículas de HMA en cada intersección línea-raíz. El porcentaje de infección total (%IT) fue calculado mediante la Ecuación 2.22, y el de arbúsculos (%AR) mediante la Ecuación 2.23:

% IT
$$=\frac{n_c}{n_t} \times 100$$
 Ecuación 2.22

$$\% \text{ AR} = \frac{n_a}{n_t} \times 100$$
 Ecuación 2.23

donde n_c es el número de intersecciones línea-raíz colonizadas con estructuras micorrícicas (hifas, arbúsculos y/o vesículas de HMA), n_t es el número total de intersecciones línea-raíz observadas, n_a es el número de intersecciones línea-raíz colonizadas con arbúsculos.



Figura 2.4: Portaobjetos con segmentos de raíces para la observación y reconocimiento de estructuras de hongos formadores de micorrizas arbusculares, y la cuantificación del porcentaje de raíces colonizadas con HMA.

2.4.1.2. <u>En macroagregados</u>: Los macroagregados (MA y Ma) remanentes del MC secos fueron mortereados hasta pasar por tamiz de 0,5 mm y en ellos se determinó COT (COT_{MA} y COT_{Ma}, respectivamente), COP (COP_{MA} y COP_{Ma}, respectivamente), COA (COA_{MA} y COA_{Ma}, respectivamente) y NAN (NAN_{MA} y NAN_{Ma}, respectivamente) con las metodologías descriptas previamente para masa total del suelo. Las determinaciones se realizaron en los macroagregados remanentes luego del MC porque con este pretratamiento se lleva a los agregados a su máxima estabilidad posible para la condición en la que se hallan (Six *et al.*, 1998). El COT y el COP presente en ellos son indicadores de la estabilidad que tendrán los agregados al ser sometidos a fuerzas disruptivas más intensas como el MV. Así, la masa remanente de macroagregados luego del MV (*i.e.* la estabilidad de los macroagregados) depende de la concentración de COT y de COP de los macroagregados remanentes del MC (Roldán *et al.*, 2014).

Los resultados de COT, COA y COP en MA y Ma fueron expresados como concentración referida a la masa de macroagregados, es decir, g de C kg⁻¹ de masa de las fracciones MA o Ma, según correspondiera. Asimismo, los resultados de NAN en MA y Ma fueron expresados en mg de NAN kg⁻¹ de masa de MA o Ma, respectivamente. Las concentraciones de COT, COP, COA y NAN en macroagregados totales (*i.e.* 250-8000 μ m, MA+Ma) fueron calculadas a partir de los promedios de las concentraciones de las variables en MA y Ma ponderados por masa de MA y Ma, respectivamente.

2.4.2. En planta

2.4.2.1. <u>Rendimiento en grano, biomasa aérea total y respuesta en rendimiento en</u> <u>grano a la fertilización nitrogenada</u>: El RG_{0N}, el rendimiento en grano con N y la BA_{0N} en base seca fueron calculados a partir de la Ecuación 2.24 y expresados en kg ha⁻¹:

RG ó BA_{0N} =
$$\frac{m}{(d_1 - d_2)/10000}$$
 Ecuación 2.24

donde RG (RG_{0N} o rendimiento en grano con N) y BA_{0N} están expresados en kg ha⁻¹, m es la masa de grano seco o biomasa aérea (espiga, tallo y hoja) según correspondiera en kg, d₁ es la distancia entre surcos en m y d₂ es la distancia lineal muestreada en m (*i.e.* 9 m). Finalmente, el rendimiento en grano fue expresado en humedad comercial. La respuesta a la fertilización nitrogenada (R_{TA}) fue calculada como la diferencia entre el rendimiento en grano fertilizado con N y el RG_{0N}.

2.4.2.2. <u>Contenido de nitrógeno total en material vegetal</u>: La cuantificación de N total en material vegetal (*i.e.* grano y tallo más hoja) se realizó mediante digestión de la muestra para convertir el N orgánico a N-NH₄⁺ y la determinación de N-NH₄⁺ en el digesto por destilación por arrastre a vapor (Bremner y Mulvaney, 1982) modificada. Para ello, se pesaron en balanza analítica 0,05 g o 0,1 g cuando el material vegetal fue grano u hoja y tallo, respectivamente, secos y molidos hasta pasar por tamiz de 0,5 mm. El material fue colocado en tubos de digestión aforados de 50 mL con 4 perlas de vidrio de 4 mm de diámetro, 1,1 g de mezcla catalizadora de sulfato de potasio (K₂SO₄), sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) y selenio (Se) en una proporción 100:10:1, y 3 mL de H₂SO₄ concentrado. Los tubos fueron tapados con embudos de 3 cm de diámetro y se digirieron a 350°C hasta que el digesto obtuvo un color verde esmeralda. Se llevaron a volumen con agua desionizada y homogeneizaron. Un blanco fue preparado siguiendo el mismo procedimiento, pero sin material vegetal.

Una alícuota de 10 mL de solución fue colocada en un balón de destilación, al que se le adicionaron 10 mL de NaOH 50% $^{m}/_{v}$. El N-NH₄⁺ fue recuperado por destilación por arrastre de vapor. El destilado se recogió en 10 mL de ácido bórico (H₃BO₃) al 4% con indicador mixto (verde de bromocresol y rojo de metilo). Finalmente, se tituló con H₂SO₄ 0,002 N. La concentración de N total en material vegetal (*i.e.* grano o tallo más hoja, NTc) en g 100g⁻¹ (o kg 100kg⁻¹) se calculó mediante la Ecuación 2.25 y el contenido de N total en grano (NT_G) y en tallo más hoja (NT_{HT}) en kg ha⁻¹ mediante la Ecuación 2.26 y 2.27, respectivamente. El contenido de N total acumulado en planta

entera (*i.e.* grano más tallo más hoja, NTP) con N y 0N (NTP_{0N}) en kg ha⁻¹ se calculó mediante la Ecuación 2.28.:

NTc = $(V_3 - V_4) \times C \times Pmeq N \times \frac{V_1}{V_2} \times \frac{100}{m}$ Ecuación 2.25

$$NT_G = (NTc \times RG)/100$$
 Ecuación 2.26

$$NT_{HT} = (NTc \times (BA-RG))/100$$
 Ecuación 2.27

$$NTP = NT_G + NT_{HT}$$
 Ecuación 2.28

donde V₃ es el volumen de H₂SO₄ consumido en la titulación de la muestra en mL, V₄ es el volumen de H₂SO₄ consumido en la titulación del blanco, C es la concentración de H₂SO₄ utilizado en la titulación (*i.e.* 0,002 N), Pmeq N es el peso miliequivalente del N en g meq⁻¹, V₁ es el volumen de la solución inicial en el tubo de ensayo (*i.e.* 50 mL), V₂ es el volumen de la alícuota tomada de la solución anterior (*i.e.* 10 mL), m es la masa de material vegetal utilizada (*i.e.* 0,05 g para grano y 0,1 g para hoja más tallo), RG es rendimiento en grano con N o RG_{0N} en kg ha⁻¹, BA es biomasa aérea total (*i.e.* grano más tallo más hoja) con N o BA_{0N} en kg ha⁻¹. Los contenidos de proteína en grano 0N y con N se calcularon mediante el producto del NT_G (con N o 0N, según correspondiera) y un factor de 6,25 para cebada (Magliano *et al.*, 2014; Stevens *et al.*, 2015) y de 5,7 para trigo (Rhee, 2001).

2.4.2.3. Contenido de fósforo total en planta: La cuantificación de P total en material vegetal (i.e. grano y tallo más hoja) se realizó según el método descripto por Walinga et al. (1995) modificada. Para ello, se pesaron en balanza analítica 0,05 g ó 0,1 g cuando el material vegetal fue grano u hoja y tallo, respectivamente, secos y molidos hasta pasar por tamiz de 0,5 mm. El material fue colocado en tubos de digestión aforados de 50 mL con 4 perlas de vidrio de 4 mm de diámetro y 2,5 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado. Se taparon con embudos de 3 cm de diámetro y se dejaron reposar durante 16 h. Los tubos fueron colocados en digestor a 150°C durante 1 h. Se adicionaron 2,5 mL de ácido perclórico (HClO₄) concentrado y se digirieron a 205°C durante 2 h. Se llevaron a volumen con agua desionizada y homogeneizaron. Una alícuota de 5 mL de solución fue colocada en un matraz aforado de 50 mL. Se adicionaron 10 mL de solución mezcla de ácido ascórbico (C₆H₈O₆), ácido sulfúrico (H₂SO₄), molibdato de amonio ([NH₄]₆Mo₇O₂₄.4H₂O) y tartrato de antimonio y potasio $(K[SbO]C_4H_4O_6)$, se llevaron a volumen con agua desionizada y se homogeneizaron. Del mismo modo, se realizó una curva de calibración tomando 10 mL de soluciones de KH₂PO₄ de concentraciones conocidas de fósforo (0, 1, 3, 4 y 5 mg L⁻¹). Se esperó 1 h para el desarrollo de color de la reacción y se midió la absorbancia de luz de la solución

a una longitud de onda de 882 nm con espectrofotómetro de luz visible. La absorbancia medida en las soluciones correspondientes a la curva de calibración fueron graficadas en función de la concentración de P y se expresó la relación entre ambas por un modelo de regresión lineal simple. La ecuación obtenida fue utilizada para calcular las concentraciones de P en las soluciones de las muestras de suelo problema expresadas en mg L⁻¹. Finalmente, el valor de P total en material vegetal (*i.e.* grano o tallo más hoja) en mg kg⁻¹ (P_f) se calculó mediante la Ecuación 2.29 y el contenido de P total acumulado en grano (PT_G) y en tallo más hoja (PT_{HT}) en kg ha⁻¹mediante la Ecuación 2.30 y 2.31, respectivamente. El contenido de P total acumulado en planta entera (*i.e.* grano más tallo más hoja) en kg ha⁻¹ (PTPa) se calculó mediante la Ecuación 2.32 y la concentración de P total en planta entera (PTPc) mediante la Ecuación 2.33:

$P_f = P_i \times \frac{V}{m}$	Ecuación 2.29
$PT_{G} = (P_{f} \times RG_{0N})/100$	Ecuación 2.30
$PT_{HT} = (P_f \times (BA_{0N} - RG_{0N}))/100$	Ecuación 2.31
$PTPa = PT_G + PT_{HT}$	Ecuación 2.32
$PTPc = (PTPa \times 100)/BA_{0N}$	Ecuación 2.33

donde P_i es la concentración de P total en grano u hoja más tallo en mg L⁻¹, V es el volumen final de digesto en mL (*i.e.* 50 mL), m es la masa de suelo utilizada (*i.e.* 0,05 g para grano y 0,1 g para hoja más tallo), RG_{0N} y BA_{0N} están expresados en kg ha⁻¹.

2.4.2.4. <u>Disponibilidad de agua para el cultivo</u>: fue calculada mediante la suma del agua disponible en el suelo a la siembra y las precipitaciones durante el ciclo de crecimiento de los cultivos (*i.e.* julio a diciembre). El contenido de agua disponible en el momento de la siembra de los cultivos fue de 150 mm considerando que el perfil del suelo se encontraba a capacidad de campo (Carpaneto y Lanzavecchia, 2016; Queirolo, 2018). Las precipitaciones fueron tomadas de estaciones meteorológicas lo más cercanas posible al lugar del establecimiento de los ensayos.

2.5. Cálculo de variables en 0-20 cm y análisis estadístico

Los valores de todas las variables determinadas en el suelo en 0-5 y 5-20 cm, fueron calculados para la capa de 0-20 cm, a través del promedio de los valores correspondientes a cada profundidad muestreada (0-5 y 5-20 cm) ponderado por su espesor (*i.e.* 5 y 15 cm, respectivamente).

Para caracterizar las diferentes variables, se calcularon algunas medidas descriptivas (valores mínimo, máximo y promedio). Adicionalmente, para cada profundidad, se realizaron análisis de varianza para comparar los valores promedio de todas las variables entre usos del suelo (LPA y PRIS), considerando el efecto de sitio. En esos análisis, las parcelas de LPA que tenían como referencia a la misma parcela de PRIS fueron consideradas como provenientes del mismo sitio. Para comparar los valores promedio de todas las variables entre las dos profundidades muestreadas (0-5 y 5–20 cm) para cada uso del suelo, se realizaron pruebas T para muestras apareadas. Para analizar la asociación y caracterizar la relación entre variables se utilizaron coeficientes de correlación de Pearson (r), modelos de regresión lineal simple y múltiple, en los que se presenta el coeficiente de determinación (R²), y modelos lineal-plateau, en los que se presenta el pseudo-R². Asimismo, en cada modelo, se presentan los valores de criterios de información de Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) con el fin de comparar modelos con la misma variable respuesta y distintas variables explicativas. Dado que al relacionar los datos de ESP con las otras variables, no se presentaba linealidad ni varianza constante, fueron transformados a logaritmo decimal de ESP (log ESP). El análisis estadístico fue realizado con el programa R (R Core Team, 2018). Se utilizó un nivel de significación de 0,05.

3. CAPÍTULO II: NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DE LA ESTABILIDAD DE AGREGADOS

3.1. Introducción

La evaluación de la salud del suelo se realiza a través de indicadores de salud edáfica (ISE). Los ISE son parámetros edáficos que deben ser sensibles a las prácticas de manejo, fáciles de interpretar, sencillos y económicos de determinar, y deberían relacionarse con una o más funciones y/o propiedades edáficas (Doran y Parkin, 1996). El nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis (NAN) es un parámetro fácil, rápido, seguro y económico de determinar y sus resultados son de interpretación sencilla. Además, es una metodología de fácil implementación para los laboratorios de análisis de suelo, debido a que tiene requerimientos mínimos de equipamiento y reactivos, ya que sólo debe determinarse N de amonio (N-NH₄⁺).

El NAN es sensible a las prácticas de manejo (Soon *et al.*, 2007; Domínguez *et al.*, 2016; García *et al.*, 2016). En el mediano a largo plazo, el NAN se comporta de forma similar al carbono (C) orgánico total (COT) y al C orgánico particulado (COP) frente a las prácticas de manejo, aunque el porcentaje de caída es mayor para NAN que para COT (García *et al.*, 2016). Asimismo, el NAN se relaciona con el COT y más aún con el COP (Studdert *et al.*, 2015; Domínguez *et al.*, 2016). Además, el NAN no presenta cambios estacionales de gran magnitud (Studdert *et al.*, 2015) ni en respuesta a efectos de corto plazo (García *et al.*, 2016). Las características mencionadas, posicionan al NAN como un posible ISE (García *et al.*, 2016; Domínguez *et al.*, 2016) y, por lo tanto, podría ser utilizado para monitorear el estado de salud de los suelos. En este sentido, dada su estrecha relación con fracciones lábiles de la materia orgánica (MO), el NAN podría relacionarse con otras propiedades edáficas asociadas a la MO. Así, el NAN adicionaría más atributos que beneficiarían su uso como ISE.

La estabilidad de los agregados del suelo (EA) es una propiedad física muy importante para el funcionamiento del suelo, ya que influye sobre el comportamiento de su sistema poroso y, con ello, sobre la dinámica del agua y del aire en el suelo (Bronick y Lal, 2005; Rabot *et al.*, 2018) y la de las poblaciones microbianas (Cosentino *et al.*, 2006). Además, influye sobre la resistencia a la erosión, el ciclado de nutrientes, el secuestro de C, las emisiones de CO₂, la penetración de las raíces y el rendimiento de los cultivos (Bronick y Lal, 2005; Rabot *et al.*, 2005; Rabot *et al.*, 2006). La EA se asocia a otras propiedades edáficas tales como la densidad aparente, la infiltración y el contenido de COT (Rabot *et al.*, 2018). La EA ha sido postulada como el parámetro físico más

sensible a los cambios producidos en el suelo por el uso agrícola (Aparicio y Costa, 2007) y es ampliamente reconocida como un indicador de salud física del suelo (Rabot *et al.*, 2018).

Los cambios en el uso de la tierra y la utilización de algunas prácticas de manejo han llevado a la disminución de la EA y, como consecuencia, a la degradación física de los suelos (Bronick y Lal, 2005). Por ello, el monitoreo de la EA es necesario para evaluar la salud edáfica desde el punto de vista físico. No obstante, su determinación es complicada e insume mucho tiempo y, por lo tanto, no es adoptada por los laboratorios de suelos de servicio a productores. Sin embargo, se conoce que la capacidad de los agregados de resistir la ruptura está relacionada, entre otras cosas, con el contenido de MO y, especialmente, con el de sus fracciones lábiles (Six *et al.*, 1998, 2004). De esta manera, conocer la relación entre una fracción lábil de la MO de fácil medición y una propiedad física asociada al uso del suelo, como lo es la EA, permitiría monitorear la salud física de los suelos y planificar prácticas de manejo para mantenerla o mejorarla si fuera necesario. Dada la relación de la EA con el COT y el COP, y la de éstos últimos con el NAN, éste podría ser un buen indicador de la EA.

Por otro lado, se conoce que la EA depende, en gran medida, de la estabilidad de los macroagregados (>250 μ m) y ésta depende, a su vez, del contenido de C orgánico presente en ellos (Mandiola *et al.*, 2011; Roldán *et al.*, 2014). Para suelos del sudeste bonaerense (SEB), se ha reportado que la proporción de macroagregados (>250 μ m), su estabilidad y su concentración de COT y de COP fueron sensibles a las prácticas de manejo en la capa arable (0-20 cm) (Mandiola *et al.*, 2011, Roldán *et al.*, 2014). Así, para los suelos del SEB, el COP presente en los macroagregados, podría ser un indicador más sensible de la EA que el determinado en la masa total del suelo. El contenido de COP en los macroagregados se relaciona con su estabilidad (Six *et al.*, 2004) y, por lo tanto, el NAN dentro de los macroagregados también podría relacionarse con ella. Asimismo, el NAN en los macroagregados podría ser un mejor indicador de la EA que el NAN en la masa total del suelo.

Hipótesis:

i) el NAN en la masa total del suelo (NAN_{MT}) se relaciona positivamente con la EA,

ii) el NAN en macroagregados es un mejor indicador del COT y el COP de la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT} , respectivamente) y de la EA que el NAN_{MT}.

Objetivos:

i) evaluar la relación entre el NAN_{MT} y la EA, en comparación con el COT_{MT} y el COP_{MT},

ii) evaluar la relación entre el NAN, el COT y el COP en macroagregados y la EA, y compararlos con las relaciones observadas en la masa total del suelo.

3.2. Materiales y métodos

El muestreo de suelos y el procesamiento de muestras se realizó de acuerdo con lo descripto para las muestras A y B en las secciones 2.1 y 2.3.1 del Capítulo I, respectivamente. Se determinó COT_{MT} (2.4.1.1.2), COP_{MT} y carbono orgánico asociado a minerales (COA) en la masa total del suelo (COA_{MT}) (2.4.1.1.3), NAN_{MT} (2.4.1.1.4), textura (2.4.1.1.7), separación por tamaño de agregados y EA (2.4.1.1.8), COT, COP, COA y NAN en macroagregados (2.4.1.2). El análisis estadístico se encuentra descripto en la sección 2.5.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Masa total del suelo

En la Figura 3.1 se presentan los máximos, mínimos y promedios para los contenidos de arena, arcilla y limo en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm) para los 46 sitios de muestreo. El rango obtenido para cada una de las tres variables fue característico de suelos del SEB con aptitud agrícola (Durán *et al.*, 2011), y correspondieron a las clases texturales franco, franco-arenoso, franco-arcillo-arenoso y franco-arcilloso (Soil Survey Staff, 2014). Los suelos de textura más fina (franco arcillosos) estuvieron localizados en el norte del SEB (*i.e.* centro de la Provincia de Buenos Aires, Figura 2.1), mientras que los de textura más gruesa (franco-arenosos) estuvieron principalmente cerca de la costa del Océano Atlántico (Figura 2.1). Esto coincide con la distribución del tamaño de partícula del material parental ("loes pampeano", más grueso sobre la costa y más fino en el centro de la Provincia de Buenos Aires) (Durán *et al.*, 2011).



Figura 3.1: Máximos, mínimos y promedios para contenidos de arena, arcilla y limo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). n=80.

En general, eliminando la variabilidad debida al sitio, los pseudoprístinos (PRIS) presentaron mayores valores máximos, mínimos y promedios de COT_{MT}, COP_{MT} y COA_{MT} expresados en concentración que los lotes de producción agrícola (LPA) (Figura 3.2). No obstante, dado que los PRIS presentaron valores promedio de densidad aparente menores que los LPA (Figura 3.3) y que el muestreo fue realizado a una profundidad fija, COT_{MT}, COP_{MT} y COA_{MT} fueron expresados en stock referidos a una masa equivalente. El COT_{MT} y el COP_{MT} expresados de esta manera presentaron también mayores valores promedio en los PRIS que en los LPA en las tres profundidades, pero los promedios de COA_{MT} no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre PRIS y LPA en ninguna de las profundidades (Figura 3.4). Asimismo, modelos de regresión de COT_{MT}, COP_{MT} y COA_{MT} (en concentración y en stock referido a una masa equivalente) en función del contenido de arcilla más limo, evidenciaron pendientes diferentes para los dos usos del suelo (datos no mostrados). Es decir que para un mismo contenido de arcilla más limo, los PRIS presentaron mayores valores promedio de COT_{MT}, COP_{MT} y COA_{MT} que los LPA, aunque los R² fueron bajos (0,21 a 0,58). Esto indica que la textura explicó un bajo porcentaje de la variabilidad de las tres fracciones de C orgánico.

De esta manera, COT_{MT}, COP_{MT} y COA_{MT} fueron sensibles a los cambios en el uso del suelo, siendo COP_{MT} la más afectada. Podría considerarse que los PRIS tienen una dinámica y comportamiento similar a las pasturas, que tienen un alto contenido de C orgánico debido a la gran producción de biomasa aérea y radical y al reducido disturbio antrópico (Tisdall y Oades, 1982; Haynes *et al.*, 1991). El crecimiento continuo y la muerte de los densos sistemas radicales se asocian con incrementos de la biomasa microbiana y con la generación de una gran cantidad de C orgánico

distribuido en diferentes fracciones lábiles (Tisdall y Oades, 1982; Haynes *et al.*, 1991; Haynes y Beare, 1997; McNally *et al.*, 2015), es decir, aquéllas más fácilmente mineralizables (Cambardella y Elliott, 1992; Videla *et al.*, 2005; Gregorich *et al.*, 2006). El cambio en el uso del suelo desde una condición prístina a un sistema agrícola produce la disminución del contenido de COT_{MT} y, principalmente, de sus fracciones lábiles, como el COP_{MT} (Studdert *et al.*, 1997; Sainz Rozas *et al.*, 2011; Studdert *et al.*, 2017). Esto se debe a un balance negativo entre las entradas y las salidas de C al suelo. En sistemas agrícolas como los involucrados en este trabajo, las salidas de C (dadas por la mineralización de la MO) son mayores que las entradas (dadas por el ingreso de C a través de los residuos de los cultivos). Así, el nivel de C orgánico del suelo se reduce y el suelo pierde su capacidad de funcionar y de cumplir su rol en el agroecosistema (Janzen, 2006), es decir pierde salud.



Figura 3.2: Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c), CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) y CO asociado a minerales en la MT (COA_{MT}) (g, h, i) expresados en concentración en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.



Figura 3.3: Máximos, mínimos y promedios para densidad aparente (DA) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0-5 y 5-20 cm para cada uso del suelo.



Figura 3.4: Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c), CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) y CO asociado a minerales en la MT (COA_{MT}) (g, h, i) expresados en stock referidos a una masa equivalente en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad.

Debido probablemente a una larga historia agrícola (aproximadamente el 85% de los LPA tuvieron más de 20 años de agricultura, el 11% entre 10 y 20 años, y sólo el 4%, menos de 10 años), característica de suelos de aptitud agrícola del SEB, los LPA

tuvieron un rango muy acotado de valores de las tres fracciones orgánicas (COT_{MT}, COP_{MT}, COA_{MT}). Para las tres variables y situaciones (*i.e.* LPA y PRIS), los rangos de valores obtenidos de 0-5 cm fueron mayores que los de 5-20 y 0-20 cm de profundidad (Figura 3.2). En el caso de los PRIS, es sabido que la mayor acumulación de C orgánico se da en la capa más superficial (Franzluebbers y Stuedemann, 2009) debido a una mayor cantidad de raíces y biomasa microbiana que en las capas más profundas. Asimismo, en los LPA la mayor acumulación de C orgánico en superficie puede deberse a que la mayoría de ellos estuvieron bajo siembra directa durante la mayor parte de su historia agrícola (aproximadamente el 80% de los LPA habían tenido más de 10 años de siembra directa). La ausencia de remoción bajo siembra directa, que tiende a favorecer los mecanismos de protección del C orgánico del suelo (Six et al., 2002), sumada a la presencia de residuos en superficie, produce una estratificación del C en el perfil (Franzluebbers, 2002; Dolan et al., 2006; Blanco-Canqui et al., 2011). Se establece así una zona de enriquecimiento de C orgánico en el área de contacto entre los residuos y el suelo, llevando a una mayor acumulación en los primeros centímetros del perfil (Franzluebbers, 2002; Puget y Lal, 2005; Powlson et al., 2014).

De manera similar a las variables orgánicas, también se observaron diferencias en los valores máximos, mínimos y promedios entre LPA y PRIS para las variables que se utilizaron como indicadores de la EA (Figura 3.5). Eliminando la variabilidad debida al sitio, los PRIS presentaron mayor EA que los LPA, es decir menor cambio de diámetro medio ponderado entre el mojado por capilaridad (MC) y el mojado violento (MV) (△DMP), mayor diámetro medio ponderado luego del MV (DMP_{MV}) y mayor masa de macroagregados grandes entre 2000 y 8000 μ m (MA) remanente luego del MV (masaMA_{MV}). Asimismo, modelos de regresión de esas tres variables en función del contenido de arcilla más limo, evidenciaron pendientes iguales y ordenadas al origen diferentes para los dos usos del suelo (datos no mostrados). Así, para un mismo contenido de arcilla más limo, los PRIS presentaron mayores valores promedio de EA, con R² entre 0,52 y 0,67. Esto indica que la EA, medida a través de distintos indicadores, fue sensible a los cambios en el uso del suelo, en coincidencia con lo observado por otros autores (Roldán et al., 2014, Scott et al., 2017; King et al., 2019). Cuando el uso del suelo cambia de una situación sin disturbio y alto contenido de C orgánico, como PRIS, a un sistema agrícola, pierde EA debido a la remoción del suelo, la menor permanencia y abundancia de raíces y la pérdida de C orgánico (Cambardella y Elliott, 1993; Six et al., 1998; Domínguez et al., 2016).



Figura 3.5: Máximos, mínimos y promedios para los indicadores de estabilidad de agregados: cambio de diámetro medio ponderado (ΔDMP) (a, b, c), diámetro medio ponderado del mojado violento (DMP_{MV}) (d, e, f), masa de macroagregados de 2000-8000 µm del mojado violento (masaMA_{MV}) (g, h, i) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d, g), 5-20 (b, e, h) y 0-20 cm (c, f, i). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

El ΔDMP se correlacionó negativamente con el COT_{MT} y el COP_{MT}, mientras que el DMP_{MV} y la masa MA_{MV} se correlacionaron positivamente con el COT_{MT} y el COP_{MT} (Tabla 3.1). Las asociaciones entre los indicadores de la EA y el COP_{MT} fueron, en general, mayores que con el COT_{MT}. No hubo relación entre Δ DMP y COA_{MT}, mientras que el DMP_{MV} y la masaMA_{MV} se relacionaron con el COA_{MT}, pero con bajos coeficientes de correlación (*i.e.* r menores que 0,50, datos no mostrados). El DMP_{MV} y la masaMA_{MV} se relacionaron mejor con el COT_{MT} y el COP_{MT} que el Δ DMP (Tabla 3.1). Esta última variable no fue un buen indicador de la EA en situaciones de suelos muy poco estables (p.e. con alto contenido de arena). En dichos suelos se observaron valores de DMP bajos y similares entre el MV y el MC, resultando en un bajo Δ DMP y, por lo tanto, alta EA. Así, suelos con bajos contenidos de COT_{MT} y de COP_{MT} presentaron valores bajos de $\triangle DMP$ (*i.e.* alta EA) (Figura 3.6). De esta manera, el ΔDMP no permitió distinguir entre dos suelos con distinto DMP_{MV} y diferentes concentraciones de COT_{MT} y COP_{MT} (Figura 3.6). Sin embargo, el DMP_{MV} y la masaMA_{MV} no presentaron este inconveniente, ya que reflejaron la estabilidad de los agregados para resistir la ruptura cuando fueron sometidos a un tratamiento muy agresivo (i.e. MV) y, por lo tanto, podrían considerarse mejores indicadores de la EA que el ΔDMP . King et al. (2019) reportaron incrementos en el DMP_{MV} y en la masaMA_{MV} con incrementos en el COT_{MT}.

Tabla 3.1	: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones
	entre carbono orgánico total en la masa total del suelo (COT _{MT}) y carbono
	orgánico particulado en la masa total del suelo (COP _{MT}) con los indicadores
	de estabilidad de agregados (EA) (cambio de diámetro medio ponderado
	[Δ DMP], diámetro medio ponderado del mojado violento [DMP _{MV}] y masa de
	macroagregados de 2000-8000 µm del mojado violento [masaMA _{MV}]) en las
	tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.

Profundidad	Variable —	Indicadores de EA		
		ΔDMP	DMP _{MV}	masaMA _{MV}
0-5 cm	COT _{MT}	-0,62	0,76	0,75
	COPMT	-0,69	0,76	0,77
5-20 cm	COT _{MT}	-0,40	0,61	0,58
	COP _{MT}	-0,60	0,64	0,64
0-20 cm	COT _{MT}	-0,51	0,70	0,68
	COPMT	-0,70	0,75	0,75



Figura 3.6: Valores de diámetro medio ponderado (DMP) del mojado violento (DMP_{MV}) y del mojado por capilaridad (DMP_{MC}), cambio de DMP (ΔDMP), carbono orgánico total y carbono orgánico particulado en la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente) en dos suelos de distintas texturas: franco arenoso (684,15 g kg⁻¹ de arena y 103,64 g kg⁻¹ de arcilla) y franco arcilloso (271,35 g kg⁻¹ de arena y 333,10 g kg⁻¹ de arcilla).

EI DMP_{MV} y la masaMA_{MV} tuvieron una asociación similar con el COT_{MT} y el COP_{MT} (Tabla 3.1), lo que se debe a la alta correlación entre ellos (r=0.99). Así, la masaMA_{MV} sería tan buen indicador de la EA como el DMP_{MV}. Sin embargo, la obtención de masaMA_{MV} es más sencilla y rápida (1 tamizado en agua) que el DMP_{MV} (3 tamizados en agua). Esto indica, además, que la EA depende únicamente de la masaMA_{MV} y no de las masas del resto de las fracciones (i.e. <2000 μ m). Se ha reportado que la masaMA_{MV} es la más sensible a las prácticas de manejo (Roldán et al., 2014) y a los cambios en el uso del suelo (Scott et al., 2017; King et al., 2019; Sithole et al., 2019). Así, según lo indican los resultados de este trabajo y en coincidencia con lo informado por Roldán et al. (2014) y Scott et al. (2017), la EA está dada por la estabilidad de los MA, es decir la masaMA_{MV}. Asimismo, para el SEB se ha informado que la masa de macroagregados chicos entre 250 y 2000 µm (Ma) no refleja los cambios provocados por las prácticas de manejo (Roldán et al., 2014). Durante la separación de fracciones de agregados en el MV, los Ma reciben material de la ruptura de los MA y, al mismo tiempo, pierden material por su ruptura, el cual pasa a la fracción de microagregados. Esto dificulta conocer el rol de los Ma en la EA (Roldán et al., 2014). Sin embargo, Roldán et al. (2014) informaron que la EA depende también de la estabilidad de los macroagregados totales entre 250 y 8000 µm (MA+Ma). No obstante, dado que la

masa de MA+Ma remanente del MV está afectada por la estabilidad de MA y de Ma, y que estos últimos no mostraron tener un rol importante en la EA, en este trabajo no fue considerada la masa de MA+Ma luego del MV como determinante de la EA.

Es reconocido ampliamente que la EA depende en gran medida del contenido de MO y de su fracción lábil (Six *et al.*, 2002; 2004; Chaplot y Cooper, 2015; Domínguez *et al.*, 2016; King *et al.*, 2019). Las correlaciones observadas en este trabajo confirman esto para los distintos indicadores de la EA (Tabla 3.1). La relación existente entre las variables orgánicas y la EA es útil para inferir sobre el estado de salud física del suelo, considerando que la aplicación de prácticas de manejo que permitan aumentar el contenido de MO y sus fracciones lábiles, producirán un aumento de la EA (Six *et al.*, 2004; Novelli *et al.*, 2013; Roldán *et al.*, 2014; Scott *et al.*, 2017).

En la Figura 3.7 se presentan los modelos estadísticos para caracterizar el comportamiento de la masaMA_{MV} en función de COT_{MT} y de COP_{MT} expresados en concentración. En las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm), se observó que la masaMA_{MV} aumentó al aumentar COT_{MT} (Figura 3.7a, b, c) y COP_{MT} (Figura 3.7d, e, f), con la misma pendiente para LPA y PRIS, pero distintas ordenadas al origen. Las relaciones entre masaMA_{MV} y COT_{MT} presentaron características similares que las de masaMA_{MV} y COP_{MT} para las mismas profundidades (Figura 3.7). Así, los cambios en masaMA_{MV} fueron bien explicados tanto por COT_{MT} como por COP_{MT}, con coeficientes de determinación entre 0,63 y 0,77 (Figura 3.7). Los modelos de masaMA_{MV} en función de COT_{MT} y de COP_{MT} expresados en stock referidos a una masa equivalente (datos no mostrados) presentaron ajustes similares a los mostrados para masaMA_{MV} en función de COT_{MT} y de COP_{MT} expresados en concentración (Figura 3.7). Si bien la capacidad de los agregados de resistir la ruptura es determinada por numerosas características edáficas (i.e. textura, actividad microbiana, contenido de MO), de la vegetación (*i.e.* cobertura, calidad de residuos, sistema radical), del clima y de las prácticas de manejo, entre otras (Six et al., 2004), la EA está fuertemente relacionada con los contenidos de COT_{MT} y de COP_{MT}. Sin embargo, debido a que la textura incide en gran medida en la EA, principalmente el contenido de arena y el de arcilla (Six et al., 2004; Plante et al., 2006), estas dos variables fueron introducidas en los modelos anteriores como variables explicativas. Los contenidos de arena y de arcilla estuvieron fuertemente correlacionados entre sí (con valores de -0,72, -0,77 y -0,77 para 0-5, 5-20 y 0-20 cm, respectivamente), por lo que sólo se evaluó la introducción de cada una de ellas por separado en los modelos. Ninguna de las dos variables tuvo un aporte significativo en los modelos de masaMA_{MV} que va contenían a COT_{MT} o COP_{MT} (datos no mostrados). Esto puede deberse a que el rango de ambas variables no fue lo suficientemente amplio (Figura 3.1). Sin embargo, King *et al.* (2019), considerando distintos órdenes de suelos, también reportaron que el contenido de arcilla no explicó la masaMA_{MV}. Algunos autores (Duval *et al.*, 2013; 2015; Toledo *et al.*, 2013b) han propuesto la relativización de las fracciones de carbono orgánico al contenido de limo más arcilla con el fin de hacer comparables situaciones con diferente textura, dada la gran influencia que ésta tiene sobre la acumulación y dinámica del carbono orgánico (Galantini *et al.*, 2004). No obstante, los modelos de masaMA_{MV} en función de COT_{MT} o de COP_{MT} relativizados a la fracción fina (limo más arcilla), presentaron una explicación similar de la variabilidad de la masaMA_{MV} que los modelos de la Figura 3.7. Esto coincide con resultados observados por otros estudios realizados



Figura 3.7: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c) y CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.

para rangos de textura similares o incluso más amplios a los involucrados en este trabajo (Diovisalvi *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2020).

Las relaciones mostradas en la Figura 3.7 bajo LPA indican que las prácticas de manejo que lleven a un incremento del contenido de COT_{MT} o de COP_{MT} , incrementarían la EA con la misma tasa de cambio que para los PRIS. Sin embargo, las diferentes ordenadas al origen de las líneas de regresión de LPA y PRIS (Figura 3.7) indican que a un mismo contenido de COT_{MT} o de COP_{MT}, la EA fue más baja para LPA que para PRIS. Esta diferencia entre ambos usos del suelo puede ser una consecuencia de otros factores diferentes de textura, COT_{MT} y COP_{MT} , que afectan la EA. Propiedades bioquímicas de fracciones orgánicas determinadas por la vegetación, los exudados radicales, y la actividad microbiana relacionada podrían conferir atributos tales como hidrofobicidad, que incrementarían la EA para PRIS (Chenu et al., 2000). Asimismo, la ausencia de disturbio (Six et al., 2004) y la mayor abundancia de raíces (Six et al., 2004; Rashid et al., 2013; Erktan et al., 2016) en PRIS, incrementarían la EA debido a los efectos físicos y microbiológicos de las raíces. La mayor colonización y persistencia de raíces incrementa la rizósfera (Haynes y Francis, 1993), la producción de sustancias microbianas cementantes (*i.e.* glomalina, polisacáridos, entre otros), y el entrelazado de partículas de suelo por hongos y actinomicetes (Chenu y Cosentino, 2007). En un estudio sobre un suelo franco, Tourn et al. (2019) estudiaron cómo la EA fue modificada después de que un manejo de largo plazo con labranza convencional (18 años con arado de rejas) fuera reemplazado por siembra directa o una pastura (20 años). Dichos autores observaron que la siembra directa (20 años) no fue capaz de incrementar la EA hasta el nivel de la pastura continua basada en gramíneas (no pastoreada, similar a PRIS). Más aún, cinco años de agricultura bajo siembra directa después de una pastura llevó a una disminución de la EA, mientras dos años de pastura después de agricultura bajo siembra directa incrementaron la EA, pero no hasta el nivel de la pastura continua basada en gramíneas.

En la Figura 3.8 se muestran los máximos, mínimos y promedios de la variable NAN_{MT} para los LPA y los PRIS en las tres profundidades analizadas. De manera similar a COT_{MT} y COP_{MT}, eliminando la variabilidad debida al sitio, el NAN_{MT} presentó mayores valores máximos, mínimos y promedios en los PRIS que en los LPA. Asimismo, modelos de regresión de NAN_{MT} en función del contenido de arcilla más limo, evidenciaron pendientes y ordenadas al origen diferentes para los dos usos del suelo (datos no mostrados). Así, para un mismo contenido de arcilla más limo, los PRIS presentaron mayores valores promedio de NAN_{MT}, con R² de entre 0,38 y 0,56. Esto

indica que el NAN_{MT} fue sensible a los cambios en el uso del suelo, lo que coincide con lo informado por García *et al.* (2016) y Domínguez *et al.* (2016) quienes, para un suelo de textura franca del SEB, reportaron que el NAN_{MT} fue sensible a los cambios en el uso del suelo y a las prácticas agrícolas. Dichos autores reportaron que el NAN_{MT} disminuyó con el aumento de los años de agricultura, presentando el mismo comportamiento que COT_{MT} y COP_{MT}, aunque el porcentaje de disminución de NAN_{MT} fue mayor (34%) que el de COT_{MT} (12%) en 0-20 cm (Domínguez *et al.*, 2016). De manera similar a COT_{MT} y COP_{MT}, el NAN_{MT} presentó mayores valores en la capa más superficial (0-5 cm) que en la más profunda (5-20 cm) (Figura 3.8). Esto coincide con lo reportado por García *et al.* (2016) para suelos bajo siembra directa y pastura.



Figura 3.8: Máximos, mínimos y promedios para nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

El NAN_{MT} se correlacionó positivamente con el COT_{MT}, el COP_{MT} y, en menor medida, con el COA_{MT} (Tabla 3.2). La Figura 3.9 presenta los modelos de regresión lineal simple para COT_{MT} y COP_{MT} en función de NAN_{MT} para las tres profundidades analizadas. Tal como se esperaba, el COT_{MT} y el COP_{MT} aumentaron ante aumentos de NAN_{MT} (Figura 3.9). Es factible remarcar que las relaciones entre COT_{MT} y NAN_{MT} y entre COP_{MT} y NAN_{MT} no presentaron diferencias de pendiente ni de ordenada al origen entre LPA y PRIS. Esto coincide con lo reportado en otros trabajos para suelos del SEB, pero para un rango más estrecho de situaciones edáficas (Domínguez *et al.*, 2016; Studdert *et al.*, 2017). Sin embargo, estos autores observaron un mejor ajuste entre NAN_{MT} y COP_{MT}, que entre NAN_{MT} y COT_{MT} en las tres profundidades. Si bien se esperaba que el NAN_{MT} se relacionara más estrechamente con la fracción lábil de la MO que con el total de la MO, esto no sucedió. Por otro lado, coincidiendo con lo reportado por Domínguez et al. (2016) y Studdert et al. (2017), en la capa más superficial (0-5 cm) la relación fue más estrecha que en las más profundas (Figura 3.9a, d). Si bien estudios anteriores ya han demostrado la relación entre NAN_{MT} y COT_{MT} y entre NAN_{MT} y COP_{MT} (Domínguez et al., 2016; Studdert et al., 2017), no lo hicieron en un rango de situaciones de manejo y textura tan amplias como las analizadas en este trabajo. Además, en contraste con estudios anteriores, se analizaron resultados de sistemas de producción reales en lugar de ensavos de larga duración, lo que valida las relaciones observadas en las situaciones en las que serán aplicadas. Dado que en este trabajo se consideró un rango de textura más amplio que el reportado por aquellos autores, se evaluó la introducción de los contenidos de arena y arcilla como variables explicativas en los modelos de regresión antes mencionados. El contenido de arcilla mejoró levemente el ajuste de los modelos de COT_{MT} en función de NAN_{MT} (R^2 ajustados=0,79, 0,57 y 0,71 de 0-5, 5-20 y 0-20 cm de profundidad), pero no el de COP_{MT} en función de NAN_{MT} (datos no mostrados).

Tabla 3.2: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones entre nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (MT) (NAN_{MT}) y carbono orgánico (CO) total en la MT (COT_{MT}), CO particulado en la MT (COP_{MT}) y CO asociado a minerales en la MT (COA_{MT}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.

	Profundidad	COT _{MT}	COPMT	COA _{MT}
NAN _{MT}	0-5 cm	0,86	0,86	0,62
	5-20 cm	0,68	0,57	0,53
	0-20 cm	0,79	0,78	0,56



Figura 3.9: Modelos de regresión lineal simple ajustados para carbono orgánico (CO) total en la masa total del suelo (MT) (COT_{MT}) (a, b, c) y CO particulado en la MT (COP_{MT}) (d, e, f) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la MT (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.

El NAN_{MT} se relacionó con el COT_{MT} y el COP_{MT} y, estos últimos, a su vez se relacionaron con la EA. Así, el NAN_{MT} podría relacionarse con la EA y ser un buen indicador de la salud física del suelo. Para las condiciones en las que se desarrolló este trabajo, el NAN_{MT} se correlacionó positivamente con la masaMA_{MV} como indicador de la EA (r=0,83, 0,74 y 0,85 para 0-5, 5-20 y 0-20 cm de profundidad). La relación entre masaMA_{MV} y NAN_{MT}, fue lineal y con pendiente positiva. La pendiente no difirió entre LPA y PRIS para las profundidades de 0-5, 5-20 y 0-20 cm (Figura 3.10a, b, c),

indicando que a medida que aumentó el NAN_{MT}, aumentó la EA y lo hizo a una misma tasa para LPA y PRIS. Sin embargo, la ordenada al origen para LPA fue significativamente más baja que para PRIS. La incorporación del contenido de arcilla y el de arena al modelo con NAN_{MT} para explicar la variabilidad de la masaMA_{MV} no resultó significativa (datos no mostrados). Estos resultados coincidieron con lo observado para masaMA_{MV} en función de COT_{MT} y de COP_{MT}. Del mismo modo, los modelos de masaMA_{MV} en función de NAN_{MT} relativizado a la fracción fina (limo más arcilla), presentaron una explicación similar de la variabilidad de la masaMA_{MV} que los modelos de la Figura 3.10.

Si bien la EA depende de muchos otros factores (Six et al., 2004), el NAN_{MT} explicó una proporción importante de la variabilidad de la EA en 0-5, 5-20 y 0-20 cm de profundidad (R² entre 0,69 y 0,81, Figura 3.10), resultando tan buen indicador (similares R² y criterios de información de Akaike [AIC] y Bayesiano [BIC]) de la EA que el COT_{MT} (R^2 entre 0,65 y 0,77, Figura 3.7a, b, c) y el COP_{MT} (R^2 entre 0,63 y 0,75, Figura 3.7d, e, f). Así, un modelo estadístico simple, en el que el NAN_{MT} es la única variable predictora, permitiría inferir de forma aproximada la EA de un suelo (Figura 3.10). Los resultados observados coinciden con lo sugerido por Domínguez et al. (2016) para situaciones controladas (*i.e.* un ensayo de larga duración) en un suelo del SEB (i.e. una sola textura). Sin embargo, los resultados de este trabajo amplían el rango de situaciones edafoclimáticas y de manejo en las que el NAN_{MT} podría ser utilizado como indicador de la EA, además de haber considerado para ello situaciones de producción reales, en las que el indicador sería utilizado. Asimismo, dado que la EA se relaciona con otras propiedades que hacen a la salud física del suelo, tales como porosidad, densidad aparente e infiltración, entre otras (Rabot et al., 2018), el NAN_{MT} sería un buen indicador de la salud física del suelo.



Figura 3.10: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.
3.3.2. Macroagregados

La EA está dada por la estabilidad de los MA (*i.e.* la masaMA_{MV}) y se ha reportado que ésta se relaciona con el contenido de COT y, especialmente, el de fracciones lábiles como el COP dentro de los MA (COT_{MA} y COP_{MA}, respectivamente) (Tisdall y Oades, 1982; Six *et al.*, 1998). Las concentraciones de COT_{MA} y COP_{MA} (Figura 3.11) presentaron comportamientos similares a las de COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente (Figura 3.2), en relación con el uso del suelo y la profundidad, con concentraciones similares o algo mayores en MA que en masa total del suelo. Los PRIS presentaron mayores valores máximos, mínimos y promedios de COT_{MA} y de COP_{MA} que los LPA (Figura 3.11), indicando que estas dos variables fueron sensibles a los cambios en el uso del suelo. Asimismo, los valores máximos, mínimos y promedios, fueron mayores en la capa más superficial del suelo (0-5 cm de profundidad) (Figura 3.11).



Figura 3.11: Máximos, mínimos y promedios para carbono orgánico (CO) total (a, b, c) y CO particulado (d, e, f) en macroagregados de 2000-8000 μm (COT_{MA} y COP_{MA}, respectivamente) en los lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y en los pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

Se ha reportado que COT_{MA} y COP_{MA} son sensibles a los cambios en el uso del suelo (Roldán *et al.*, 2012a; King *et al.*, 2019) y a las prácticas de manejo (Six *et al.*, 1998; Roldán *et al.*, 2012b; Mandiola *et al.*, 2011; Scott *et al.*, 2017; Novelli *et al.*, 2017). Respecto a esto último, se ha informado que COT_{MA} y COP_{MA} son sensibles a los efectos de los sistemas de labranza (Roldán *et al.*, 2012a; Mandiola *et al.*, 2011; Sarker *et al.*, 2018), las secuencias de cultivos y la intensificación del uso de la tierra (Novelli *et al.*, 2017). Novelli *et al.* (2017), Sarker *et al.* (2018) y Sithole *et al.* (2019) observaron que el COT_{MA} fue más sensible que COT_{MT} para reflejar cambios producidos por las prácticas agrícolas y, por lo tanto, la dinámica del COT_{MA} serviría para predecir cambios en el COT_{MT} (Luo *et al.*, 2017). Asimismo, las variaciones en el COT_{MA} y el COP_{MA} podrían relacionarse mejor con las variaciones en la EA que las de COT_{MT} y COP_{MT}.

La masaMA_{MV} se relacionó positivamente con el COT_{MA} y el COP_{MA}, en todas las profundidades (Tabla 3.3). Esto indica que la estabilidad de los MA, de la cual depende la EA, se relaciona con la concentración de COT_{MA} y de COP_{MA}. Mandiola *et al*. (2011) y Roldán et al. (2012a) reportaron resultados similares para dos suelos del SEB. Los modelos estadísticos de masaMA_{MV} en función de COT_{MA} (Figura 3.12a, b, c), mostraron aumentos en la masaMA_{MV} con aumentos en el COT_{MA}, con la misma pendiente para LPA y PRIS, pero diferentes ordenadas al origen en las tres profundidades. Esto coincide con lo observado para masaMA_{MV} en función de COT_{MT}. Scott et al. (2017) reportaron que pequeños aumentos en el COT_{MA} resultaron en una gran mejora en la masaMA_{MV}. Al igual que lo observado para masaMA_{MV} en función de COT_{MT}, los contenidos de arcilla y de arena no mejoraron los ajustes de los modelos de masaMA_{MV} en función de COT_{MA} (datos no mostrados). Los modelos de masaMA_{MV} en función de COT_{MA} (Figura 3.12a, b, c) presentaron valores de R^2 (0,70, 0,62 y 0,68 en 0-5, 5-20 y 0-20, respectivamente, Figura 3.12a, b, c) levemente inferiores y valores de AIC y BIC mayores que los de masaMA_{MV} en función de COT_{MT} para las mismas profundidades (R²=0,77, 0,65 y 0,73, respectivamente, Figura 3.7a, b, c). Así, contrariamente a lo esperado, el COT_{MA} no sería un mejor indicador de la EA que el COT_{MT}.

Tabla 3.3: Coeficientes de correlación de Pearson para caracterizar las asociaciones entre carbono orgánico (CO) total y CO particulado en macroagregados de 2000-8000 μm (MA) (COT_{MAy} COP_{MA}, respectivamente) con la masa de MA del mojado violento (masaMA_{MV}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.

Profundidad	Variable	$MasaMA_{MV}$
0-5 cm	COT _{MA}	0,68
	COP _{MA}	0,64
5-20 cm	COT _{MA}	0,62
	COPMA	0,56
0-20 cm	COT _{MA}	0,67
	COP _{MA}	0,66



Figura 3.12: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm (MA) del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de carbono orgánico (CO) total en MA (COT_{MA}) (a, b, c) y de CO particulado en MA (COP_{MA}) (d, e, f) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.

Por otro lado, los modelos estadísticos de masa MA_{MV} en función de COP_{MA} (Figura 3.12d, e, f), mostraron pendientes positivas para PRIS y negativas para LPA. La relación entre masa MA_{MV} y COP_{MA} observada en los LPA no coinciden con lo esperado ni con lo anteriormente mostrado para masa MA_{MV} en función de COT_{MT} (Figura 3.7a, b, c), COP_{MT} (Figura 3.7d, e, f), NAN_{MT} (Figura 3.10) y COT_{MA} (Figura 3.12a, b, c).

Se ha reportado que la mayor cantidad de COT_{MT} y de COP_{MT} se encuentra en los MA (De Oliveira Ferreira et al., 2018; King et al., 2019). El destino preferencial de C se relaciona con la masa de las fracciones. Así, en suelos en los que predominan los MA, éstos son el principal destino del C ingresado al suelo (Li et al., 2016; King et al., 2019). Cuanto mayor es la masa de MA, mayor es la acumulación de COT_{MT} y de COP_{MT} (King *et al.*, 2019). Las correlaciones observadas entre COT_{MT} y COT_{MA} (Tabla 3.4) demostraron que estas dos variables estuvieron estrechamente relacionadas, lo que explicaría las similitudes en las relaciones de EA en función de COT_{MT} y de COT_{MA}. No obstante, si bien el COP_{MT} se relacionó con el COP_{MA} (Tabla 3.4), lo fue con menores coeficientes de correlación, sugiriendo que no todo el COP_{MT} estuvo presente en los MA. Esto puede deberse a dos motivos. Por un lado, si bien el COP_{MT} se acumula mayormente en MA, una parte importante de esa fracción forma parte de los microagregados libres (Six et al., 1998; Roldán et al., 2012a). Por otro lado, durante el tamizado en agua, compuestos lábiles que fueron cuantificados al determinar el COP_{MT} y se encontraban principalmente entre agregados, pudieron haberse perdido en solución, no siendo detectados en el COP_{MA}. Esto podría explicar las diferencias de pendientes entre PRIS (pendiente positiva) y LPA (pendiente negativa) en la relación entre masaMA_{MV} y COP_{MA}. Los PRIS tienen agregados más estables (mayor masaMA_{MV}, Figura 3.5g, h, i) que los LPA y, por lo tanto, el COP dentro de esos agregados (COP_{MA}) está más protegido en los PRIS que en los LPA. Así, durante el tamizado en agua, los MA de los PRIS pudieron haber perdido una pequeña cantidad de COP que estaba presente en ellos antes del tamizado, por lo cual la correlación entre COP_{MT} y COP_{MA} fue de 0,76, 0,49 y 0,71 de 0-5, 5-20 y 0-20 cm, respectivamente. Sin embargo, los MA de los LPA, por su baja estabilidad, pudieron haber perdido una importante cantidad del COP durante el proceso de tamizado, por lo que no hubo correlación entre COP_{MT} y COP_{MA} en los LPA.

Tabla 3.4: Coeficientes de correlación de Pearson entre carbono orgánico total (COT) en masa total (COT_{MT}) y COT en macroagregados de 2000-8000 μm (MA) (COT_{MA}), y entre carbono orgánico particulado (COP) en masa total (COP_{MT}) y en MA (COP_{MA}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.

Profundidad	COT _{MT} vs. COT _{MA}	COP _{MT} vs. COP _{MA}
0-5 cm	0,88	0,79
5-20 cm	0,92	0,51
0-20 cm	0,94	0,71

La relación observada entre la masa MA_{MV} y el COT_{MA} (Tabla 3.3, Figura 3.12a, b, c), pone en evidencia la importancia de esta variable orgánica en la estabilización de los macroagregados y en la EA, y con ello en la protección física de la MO. La estructura tiene relación directa con la capacidad del suelo para almacenar C (Six et al., 2002). La variación de masa MA_{MV} es un indicador de la protección de fracciones lábiles del C orgánico (De Oliveira Ferreira et al., 2018). Los MA juegan un rol muy importante en la protección y el secuestro de C, debido a que están formados por microagregados que protegen al C ocluído dentro de ellos del ataque por microorganismos (Six et al., 2002; Six y Paustian, 2014). Cuanto más estables son los MA, el COT y el COP dentro de ellos se encuentran más protegidos, lo que promueve el secuestro de C (Six et al., 2002; Rasmussen et al., 2018). Así, el COT_{MA} y el COP_{MA} serían indicadores del secuestro de C por parte del suelo (Six et al., 2002; Scott et al., 2017). La preservación de la estructura del suelo, especialmente de la estabilización de MA, tiene un gran impacto en la salud edáfica, debido a que promueve el incremento de C orgánico del que depende la mayoría de los servicios ecosistémicos que brinda el suelo (Powlson et al., 2011). Específicamente, el incremento de C en el suelo tiene un gran impacto en la mitigación del cambio climático al reducir las emisiones de CO₂ desde el suelo (Six et al., 2002; Lal, 2018). Los cambios en el uso de la tierra han incrementado la emisión de dióxido de carbono (CO₂) (Lal, 2018). El secuestro de C en el suelo es de crucial importancia, ya que el incremento de temperatura proyectado debido al cambio climático podría incrementar las tasas de mineralización de la MO y, por lo tanto, la pérdida de C desde el suelo y aumentar aún más las emisiones de CO₂ (Lal, 2018). Pequeños cambios en la cantidad de C en el suelo podrían impactar fuertemente en la cantidad de CO₂ en la atmósfera (Lal, 2018).

El NAN en MA (NAN_{MA}) (Figura 3.13) presentó el mismo comportamiento que el NAN_{MT} (Figura 3.8) respecto a uso del suelo y profundidad, con concentraciones

mayores que las de NAN_{MT}. Los valores máximos, mínimos y promedios fueron mayores en los PRIS que en los LPA, lo que indica que el NAN_{MA} fue afectado por el cambio en el uso del suelo. Asimismo, en la capa más superficial (0-5 cm), el NAN_{MA} presentó mayores concentraciones que en las más profundas.



Figura 3.13: Máximos, mínimos y promedios para nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) en macroagregados de 2000-8000 μm (NAN_{MA}) en lotes de producción agrícola (LPA, n=46) y pseudoprístinos (PRIS, n=34) en las tres profundidades analizadas, 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

El NAN_{MA} se correlacionó positivamente con el COT_{MA} , el COP_{MA} y el COA en MA (COA_{MA}) (Tabla 3.5). Si bien se esperaba que el NAN_{MA} presentara una mayor correlación con el COP_{MA} que con el COT_{MA} y el COA_{MA} , esto no fue así. No obstante, en línea con los resultados observados en este trabajo, Gregorutti *et al.* (2013) no observaron una relación significativa entre NAN_{MA} y N orgánico particulado en MA. La posible pérdida de COP presente originalmente en los MA debido a la ruptura de agregados durante el tamizado en agua mencionada anteriormente, podría ser la causa de la baja correlación entre NAN_{MA} y COP_{MA} (Tabla 3.5).

Tabla 3.5: Coeficientes de correlación de Pearson para las relaciones entre nitrógeno mineralizado en anaerobiosis (NAN) en macroagregados de 2000-8000 μm (MA) (NAN_{MA}) con carbono orgánico (CO) total (COT) en MA (COT_{MA}), CO particulado (COP) en MA (COP_{MA}), CO asociado a minerales (COA) en MA (COA_{MA}), COT en masa total del suelo (MT) (COT_{MT}), COP en MT (COP_{MT}) y COA en MT (COA_{MT}) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). n=80.

	Profundidad -	CO en MA			
	Fioluliuluau –	COT_MA	COP _{MA}	COA _{MA}	
NAN _{MA}	0-5 cm	0,81	0,70	0,80	
	5-20 cm	0,73	0,42	0,66	
	0-20 cm	0,79	0,59	0,72	
		CO en MT			
		COT _{MT}	COP _{MT}	COA _{MT}	
	0-5 cm	0,87	0,81	0,71	
	5-20 cm	0,70	0,56	0,56	
	0-20 cm	0,79	0,70	0,62	

Asimismo, el NAN_{MA} se correlacionó positivamente con el COT_{MT}, el COP_{MT} y, en menor medida, con el COA_{MT} (Tabla 3.5). Los modelos de regresión lineal simple de COT_{MT} y COP_{MT} en función de NAN_{MA} mostraron aumentos de COT_{MT} y de COP_{MT} con aumentos de NAN_{MA} (Figura 3.14), con las mismas pendientes y ordenadas al origen para LPA y PRIS. Las relaciones de COT_{MT} y COP_{MT} en función de NAN_{MA} fueron, en general, similares (ordenada al origen, pendiente, R², AIC, BIC) a las de COT_{MT} y COP_{MT} en función de NAN_{MT} (Figura 3.9). El contenido de arcilla mejoró levemente los ajustes de los modelos de COT_{MT} en función de NAN_{MA} (R² ajustados=0,78, 0,60 y 0,70 de 0-5, 5-20 y 0-20 cm de profundidad), que presentaron ajustes similares a los de COT_{MT} en función de NAN_{MT} y arcilla. Sin embargo, el agregado del contenido de arcilla al modelo no explicó significativamente las variaciones de COP_{MT} (datos no mostrados). Por lo tanto, contrariamente a lo esperado, el NAN_{MA} no se relacionó mejor con el COT_{MT} y el COP_{MT} que el NAN_{MT}.



Figura 3.14: Modelos de regresión lineal simple de carbono orgánico total (a, b, c) y carbono orgánico particulado (d, e, f) en la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados de 2000-8000 μm (NAN_{MA}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.

Al igual que COT_{MA} y COP_{MA}, el NAN_{MA} también se correlacionó positivamente con la masaMA_{MV} (r=0,85, 0,79 y 0,84 de 0-5, 5-20 y 0-20 cm de profundidad), pero con coeficientes de correlación más altos que aquéllos (Tabla 3.3). Esto indica que la estabilidad de los MA y la EA, se relacionan con el valor de NAN_{MA}. La Figura 3.15 muestra los modelos estadísticos para masaMA_{MV} en función de NAN_{MA}. La masaMA_{MV} aumentó ante aumentos de NAN_{MA} para las tres profundidades (0-5, 5-20 y 0-20 cm), con pendientes que no difirieron entre LPA y PRIS. Sin embargo, la ordenada al origen para LPA fue significativamente más baja que para PRIS. Esto coincide con lo observado para masaMA_{MV} en función de COT_{MA} (Figura 3.12a, b, c), COT_{MT} (Figura 3.7a, b, c), COP_{MT} (Figura 3.7d, e, f) y NAN_{MT} (Figura 3.10). Para cada profundidad analizada, los ajustes de los modelos de masaMA_{MV} en función de NAN_{MA} (Figura 3.15) fueron levemente mejores (mayor R² y menores valores de AIC y BIC) que los de masaMA_{MV} en función de COT_{MA} (Figura 3.12a, b, c). Asimismo, los ajustes de los modelos de NAN_{MA} (Figura 3.15) fueron similares (R², AIC y BIC) a los de masaMA_{MV} en función de NAN_{MA} (Figura 3.15) fueron similares (R², AIC y BIC) a los de masaMA_{MV} en función de NAN_{MT} (Figura 3.10). Los contenidos de arena y de arcilla no mejoraron los ajustes de los modelos de masaMA_{MV} en función de NAN_{MA} (Atos no mostrados).



Figura 3.15: Relaciones entre masa de macroagregados de 2000-8000 μm (MA) del mojado violento (masaMA_{MV}) en función de nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en MA (NAN_{MA}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=80.

Contrariamente a lo esperado, el NAN_{MA} no fue mejor indicador del COT_{MT}, el COP_{MT} (Figura 3.14) ni de la masaMA_{MV} (Figura 3.15) que el NAN_{MT} (Figuras 3.9 y 3.10). La concentración de NAN_{MA} estuvo fuertemente correlacionada con la concentración de NAN_{MT} para todas las profundidades analizadas (r=0,88, 0,85, 0,90 a 0-5, 5-20 y 0-20 cm). Resultados similares fueron reportados por Gregorutti *et al.* (2013) para un Molisol y un Vertisol de Entre Ríos. Esto indica que la mayor proporción del N orgánico que se cuantifica con el NAN_{MT} está dentro de los MA (Gregorutti *et al.*, 2013; Rivero *et al.*, 2020). Así, si bien se esperaba que el NAN_{MA} fuera un mejor ISE que el NAN_{MT}, estos resultados muestran que con la sencilla determinación de NAN_{MT} se podría monitorear la salud de los suelos, sin la necesidad de utilizar una variable de determinación más compleja como el NAN_{MA}.

Es válido remarcar que uno de los requisitos que debe cumplir un buen ISE es que sea fácil de medir (Doran y Parkin, 1996). El NAN_{MT} se determina a partir de una muestra seca y molida hasta pasar por un tamiz de 2 mm obtenida con cualquier muestreador de suelo. Sin embargo, la obtención del NAN_{MA} presenta una mayor complejidad metodológica, ya que previo a la determinación química, se requiere realizar la separación de los MA. Esto implica un especial cuidado en la toma, el manipuleo y el procesamiento de la muestra. Por ello, los laboratorios de suelo que brindan servicio a productores difícilmente hubieran adoptado esta metodología, a menos que NAN_{MA} hubiera demostrado ser sustancialmente mejor ISE que NAN_{MT}.

3.4. Conclusiones

Para las condiciones en las que se desarrolló este trabajo, los resultados obtenidos permitieron apoyar la hipótesis i, ya que el NAN_{MT} se relacionó positivamente con la EA en suelos del SEB con diferentes texturas e historias de manejo. Por ello, el NAN_{MT} sería un buen indicador de la EA, además del contenido de MO y de su fracción lábil, así como de otras propiedades edáficas relacionadas.

Por otro lado, se recopilaron suficientes evidencias para rechazar la hipótesis ii, ya que el NAN_{MA} no fue un mejor un indicador del COT_{MT} , el COP_{MT} y la EA que el NAN_{MT}. Esto es porque el NAN_{MA} estuvo estrechamente relacionado con el NAN_{MT}. Estos resultados son satisfactorios desde el punto de vista metodológico, dado que la determinación de NAN_{MT} es más sencilla e insume menos tiempo que la de NAN_{MA}.

La relación hallada entre EA y NAN_{MT} suma un atributo más para mejorar el desempeño del NAN_{MT} como ISE. Así, el NAN_{MT} podría ser un parámetro adecuado para monitorear el estado de salud de los suelos. De esta manera, se podrían planificar

prácticas de manejo para no comprometer la salud edáfica y que el suelo pueda seguir cumpliendo con su función en el agroecosistema. La aplicación de prácticas de manejo que procuren mantener o mejorar los niveles de NAN es imprescindible para incrementar la salud edáfica.

4. CAPÍTULO III: NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DE LA ACTIVIDAD Y LA ABUNDANCIA DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES

4.1 Introducción

El nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis (NAN) determinado en la masa total del suelo (NAN_{MT}) es un parámetro sencillo y económico de determinar, fácil de interpretar, sensible a cambios en el suelo asociados con el uso y las prácticas de manejo (Domínguez *et al.*, 2016; García *et al.*, 2016) y se relaciona con más de una propiedad edáfica. El NAN_{MT} se relaciona con el carbono (C) orgánico total (COT) y el particulado (COP) de la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT}, respectivamente) (Domínguez *et al.*, 2016; Capítulo II) y la estabilidad de agregados (EA) (Capítulo II). Por ello, el NAN_{MT} es un adecuado indicador de salud bioquímica y física del suelo (Rivero *et al.*, 2020; Capítulo II), y podría relacionarse con otras de sus funciones asociadas a aquellas propiedades, mejorando su desempeño como indicador de salud edáfica (ISE).

La glomalina es una proteína hidrofóbica que interviene en la formación y la estabilización de agregados al actuar como agente adhesivo para unir partículas de suelo (Chenu y Cosentino, 2007) e incrementar la hidrofobicidad de la materia orgánica (MO), creando agregados más estables al agua (Rashid et al., 2013). La glomalina es aislada del suelo en una fracción conocida como proteínas del suelo relacionadas a glomalina (PSRG) totales (PSRG-T). Sin embargo, una fracción de las PSRG-T, las PSRG fácilmente extraíbles (PSRG-FE), es más frecuentemente medida por su mayor simplicidad (Wright y Upadhyaya, 1996). Se ha reportado que esta fracción es sensible a los cambios en el suelo producidos por el uso y el manejo (Welemariam et al., 2018; Liu et al., 2020), y se relaciona estrechamente con la EA (Bedini et al., 2009; Fokom et al., 2012; Ferrero Holtz et al., 2019) y el COT_{MT} (Nichols y Wright, 2005; Wu et al., 2014; Thougnon Islas et al., 2016). Asimismo, se ha sugerido que las PSRG-FE, por su composición bioquímica, contribuyen al secuestro de C (Rillig, Wright, Nichols et al., 2001; Zhong et al., 2017; He et al., 2020) y podrían ser un indicador de la disponibilidad de N para los cultivos (Hurisso et al., 2018). Por ello, las PSRG-FE han sido propuestas como un ISE (Fine et al., 2017; Šarapatka et al., 2019). Para suelos del sudeste bonaerense (SEB) se ha informado que la EA está estrechamente relacionada con los contenidos de MO y fracciones lábiles (Capítulo II; Tourn et al., 2019; García et al., 2020b). Sin embargo, no hay estudios sobre la importancia de la glomalina como factor determinante de la EA en estos suelos. Asimismo, el efecto del uso del suelo sobre el contenido de PSRG-FE, así como su relación con el COT_{MT} han sido escasamente evaluadas.

Dado que la glomalina es producida por los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) como un componente de las paredes de sus hifas y esporas, la cantidad de PSRG-FE en el suelo es considerada un indicador de la abundancia y la actividad de HMA (Bedini et al., 2007). Ha sido reportado que la abundancia de HMA, medida a través del número de esporas (ESP), está correlacionada positivamente con el contenido de PSRG-FE (Fokom et al., 2012) y, a la vez, con la EA (Lozano Sánchez et al., 2015). Asimismo, se ha informado que la actividad de HMA, medida a través de la cantidad de raíces colonizadas, está positivamente correlacionada con las PSRG-FE y la EA (Bedini et al., 2009). En síntesis, de acuerdo con lo mencionado, el contenido de PSRG-FE y la abundancia y la actividad de HMA se relacionan con la EA y el contenido de COT_{MT}. Dado que la EA y el COT_{MT} se relacionan con el NAN_{MT}, es factible que esta última variable pudiera relacionarse con el contenido de PSRG-FE, la abundancia de HMA medida a través del ESP y la actividad de HMA del suelo medida a través de la colonización micorrícica de raíces. Así, el NAN_{MT} sería un indicador de un aspecto de la actividad microbiológica del suelo, y sumaría un atributo más para mejorar su desempeño como ISE.

Por otro lado, la EA del suelo es determinada por la estabilidad de los macroagregados entre 2 y 8 mm (MA) (Capítulo II, García *et al.*, 2020) y, a su vez, ésta depende de la concentración de fracciones orgánicas como COT y COP en los MA (COT_{MA} y COP_{MA}, respectivamente) (Capítulo II; Mandiola *et al.*, 2011; Roldán *et al.*, 2012a, b; Rivero *et al.*, 2020). Asimismo, las fracciones de C orgánico determinadas dentro de los MA son más sensibles a los cambios en el uso del suelo que las determinadas en la masa total del suelo (Novelli *et al.*, 2017; Sithole *et al.*, 2019). Por tal motivo, el COT_{MA}, el COP_{MA} y el NAN en los MA (NAN_{MA}) deberían ser evaluados como indicadores de las PSRG-FE, y la abundancia y la actividad de HMA y comparar su desempeño respecto al NAN_{MT}.

Hipótesis:

i) el NAN_{MT} se relaciona positivamente con el contenido de PSRG-FE y la abundancia y la actividad de HMA.

ii) el NAN_{MA} es un mejor indicador del contenido de PSRG-FE y la abundancia y la actividad de HMA que el NAN_{MT}.

Objetivos:

i) evaluar la relación de la EA y el NAN_{MT} con PSRG-FE, ESP y porcentaje de raíces colonizadas con HMA, en comparación con el COT_{MT} y el COP_{MT} ,

ii) evaluar la relación de NAN_{MA}, COT_{MA} y COP_{MA} con PSRG-FE, ESP y porcentaje de raíces colonizas con HMA, y compararlos con las relaciones observadas en la masa total del suelo.

4.2 Materiales y métodos

El muestreo de suelos y el procesamiento de muestras se realizó de acuerdo con lo descripto para las muestras A, B y D en las secciones 2.1 y 2.3.1 del Capítulo I, respectivamente. Se determinó COT_{MT} (2.4.1.1.2), COP_{MT} y C orgánico asociado a minerales (COA) en la masa total del suelo (COA_{MT}) (2.4.1.1.3), NAN_{MT} (2.4.1.1.4), textura (2.4.1.1.7), fósforo (P) extractable (P_{EXT}) (2.4.1.1.5), PSRG-FE (2.4.1.1.9), ESP (2.4.1.1.0), porcentaje de raíces colonizadas con arbúsculos, vesículas e hifas de HMA (*i.e.* infección total, %IT) y con arbúsculos (%AR) (2.4.1.1.1), separación por tamaño de agregados y masa de MA remanentes luego del mojado violento (masaMA_{MV}) como medida de EA (2.4.1.1.8), y COT_{MA}, COP_{MA}, COA en MA (COA_{MA}) y NAN_{MA} (2.4.1.2). El análisis estadístico se encuentra descripto en la sección 2.5.

4.3. Resultados y Discusión

4.3.1. Masa total del suelo

4.3.1.1. <u>Relación entre NAN_{MT} y PSRG-FE</u>: Los valores máximos, mínimos y promedios de COT_{MT} , COP_{MT} , masaMA_{MV} y NAN_{MT} fueron presentados en la Sección 3.3.1 (Capítulo II), mientras que los de PSRG-FE son presentados en la Figura 4.1. En la capa de 0-20 cm, las concentraciones de PSRG-FE estuvieron entre 2,6 y 6,0 mg g⁻¹ (Figura 4.1c), siendo superiores a las reportadas previamente para lotes de producción agrícola (LPA) y pseudoprístinos (PRIS) del SEB para la misma profundidad (0,38 a 1,65 mg g⁻¹, Thougnon Islas *et al.*, 2016). Se han informado valores entre 0 y 242 mg g⁻¹ de PSRG-FE dentro de la capa arable (0-20 cm de profundidad) para diferentes tipos y usos del suelo (Hurisso *et al.*, 2018), aunque los valores más frecuentes están entre 2 y 15 mg g⁻¹ (Wright *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2016; Fine *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017; Hurisso *et al.*, 2018). Así, los resultados obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de ese rango.



Figura 4.1: Máximos, mínimos y promedios para contenidos de proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). PRIS: pseudoprístino (n=34), LPA: lote de producción agrícola (n=46). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

Los valores máximos, mínimos y promedios de PSRG-FE de los PRIS fueron mayores que los de los LPA en cada profundidad analizada (Figura 4.1), presentando el mismo comportamiento que COT_{MT}, COP_{MT}, masaMA_{MV} y NAN_{MT} (sección 3.3.1). Se ha reportado que las PSRG-FE fueron sensibles a las prácticas de manejo (Wright *et al.*, 1999; Gispert *et al.*, 2013; Welemariam *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2020) y a los cambios en el uso del suelo, presentando mayor concentración en suelos no disturbados que en suelos agrícolas (Wright *et al.*, 1996, Bedini *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2020). Sin embargo, en el presente trabajo y contrariamente a lo esperado, en 3 sitios de muestreo para la profundidad de 0-5 cm, 14 para 5-20 cm y 7 para 0-20 cm, los contenidos de PSRG-FE fueron menores en los PRIS que en los LPA correspondientes (datos no mostrados).

Un mayor contenido de PSRG-FE en los PRIS que en los LPA es esperable por dos razones. Por un lado, la mayor densidad y persistencia de raíces en los PRIS respecto a los LPA llevaría a una mayor colonización micorrícica y, por lo tanto, a una mayor producción de glomalina. Por otro lado, el cambio en el uso del suelo desde PRIS a LPA provoca: i) mayor descomposición de las PSRG-FE por ruptura de agregados y exposición al ataque por microorganismos, ii) disrupción de las redes de hifas y iii) un ambiente edáfico menos favorable para el desarrollo de HMA debido a la disminución de la porosidad y a la aplicación de fertilizantes y pesticidas (Singh *et al.*, 2016). Todo

esto se traduce en una menor producción de glomalina (Singh *et al.*, 2016). Sin embargo, Thougnon Islas *et al.* (2016) observaron que las concentraciones de PSRG-FE fueron similares o mayores en los LPA que en los PRIS para un rango más estrecho de suelos del SEB. Asimismo, otros autores no observaron diferencias en los contenidos de PSRG-FE entre suelos agrícolas y no disturbados (Rillig *et al.*, 2003; Nautiyal *et al.*, 2019) o entre manejos del suelo (Wright y Anderson, 2000). Se desconocen las razones del comportamiento del cambio de PSRG-FE por el uso del suelo, aunque se debe considerar que hay factores relacionados a los HMA (tipo de hongo, diversidad, biomasa) y a la planta hospedante (especie, diversidad, biomasa) que regulan la micorrización y la producción de glomalina (Zhang *et al.*, 2017) que no fueron abordados en este trabajo.

Por otro lado, los valores máximos, mínimos y promedios de PSRG-FE en 0-5 cm fueron mayores que en 5-20 cm en los PRIS, mientras que fueron similares entre profundidades en los LPA (Figura 4.1). Esto indica que, de acuerdo con los valores promedios de PSRG-FE, esta variable presentó estratificación en la capa arable en los PRIS con un comportamiento similar a los valores promedios de COT_{MT}, COP_{MT}, masaMA_{MV} y NAN_{MT} (Capítulo II), pero no en los LPA. Además, contrariamente a lo esperado, en 21 LPA las concentraciones de PSRG-FE de 0-5 cm fueron menores que las de 5-20 cm (datos no mostrados). En los PRIS, la estratificación de PSRG-FE fue acorde con la estratificación de C en el perfil del suelo (Capítulo II, Sección 3.3.1) debido a un mayor aporte de C en superficie por deposición de residuos, raíces y biomasa microbiana y a la ausencia de remoción del suelo (Franzluebbers y Stuedemann, 2009). Asimismo, la mayoría de los LPA estuvieron bajo siembra directa en los últimos 10 años y, debido a la ausencia de remoción y la presencia de residuos en superficie (Franzluebbers, 2002), mostraron estratificación del C en el perfil (Capítulo II, Sección 3.3.1). Sin embargo, las PSRG-FE no reflejaron en todos los LPA el efecto de estratificación producido por la siembra directa.

Si bien la actividad micorrícica es afectada por la disponibilidad de P en 0-20 cm (Covacevich *et al.*, 2007) y, por lo tanto, la producción de glomalina también podría serlo, en este trabajo, la concentración de P_{EXT} no se relacionó con el contenido de PSRG-FE en ninguna de las profundidades analizadas (datos no mostrados). En coincidencia con estos resultados, Zhong *et al.* (2017) tampoco observaron relación entre P_{EXT} y PSRG-FE.

El contenido de PSRG-FE se correlacionó positivamente con COT_{MT} en las tres profundidades evaluadas. El coeficiente de correlación fue mayor en 0-5 cm que en 5-

20 y 0-20 cm de profundidad (Figura 4.2). Los modelos estadísticos ajustados para caracterizar el comportamiento de PSRG-FE en función de COT_{MT} reflejaron que la incorporación de los contenidos de arena o de arcilla para explicar la variabilidad de PSRG-FE, no resultó significativa en ninguna de las profundidades (datos no mostrados). En 0-5 cm, la incorporación de uso del suelo a dichos modelos reflejó que PSRG-FE aumentó con el aumento en COT_{MT} con la misma pendiente para los dos usos del suelo (*i.e.* LPA y PRIS), y ordenadas al origen diferentes, siendo mayor para PRIS que para LPA (Ecuación 4.1):

PSRG-FE=2,3+0,5 US +0,04 COT_{MT} R²=0,62 Ecuación 4.1 donde US es uso del suelo, y toma un valor de 0 si es LPA y de 1 si es PRIS. Esto indica que, para un mismo contenido de COT_{MT} , los PRIS presentaron mayor contenido medio de PSRG-FE que los LPA en la capa más superficial del suelo. El ambiente más favorable de los PRIS respecto a los LPA (*i.e.* mayor abundancia y persistencia de raíces, ausencia de disturbio y agroquímicos), llevaría a una mayor colonización micorrícica y, por ende, a una mayor producción de glomalina, como fue detallado anteriormente (Singh *et al.*, 2016). Esto podría relacionarse con una mayor EA en los PRIS en 0-5 cm. En el Capítulo II de esta Tesis (Figura 3.7) se mostraron relaciones similares (*i.e.* mismas pendientes y distintas ordenadas al origen entre PRIS y LPA) para masaMA_{MV} en función de COT_{MT}. Así, para un mismo nivel de COT_{MT}, los PRIS mostraron mayor EA (Capítulo II, Figura 3.7) y PSRG-FE (Ecuación 4.1) que los LPA.



Figura 4.2: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y carbono orgánico total (COT_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (*i.e.* LPA más PRIS, n=80).

Para LPA y PRIS del SEB, Thougnon Islas *et al.* (2016), en la capa de 0-20 cm y en un rango más acotado de suelos, reportaron una asociación lineal positiva entre PSRG-FE y COT_{MT} con un coeficiente de correlación mayor (r=0,79) que el observado en este trabajo (r=0,60, Figura 4.2c). Asimismo, para diferentes suelos, se han reportado asociaciones lineales más estrechas entre PSRG-FE y COT_{MT} en ese mismo estrato (Singh *et al.*, 2016; Fine *et al.*, 2017). Sin embargo, Nautiyal *et al.* (2019) reportaron una correlación similar a la observada en este trabajo (r=0,59 en 0-20 cm), mientras que otros autores reportaron pobres (Wright y Upadhyaya, 1998; Zhong *et al.*, 2017; Welemariam *et al.*, 2018) o nulas correlaciones entre PSRG-FE y COT_{MT}.

Dado que la glomalina es un importante componente de la MO (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001; Nichols y Wright, 2004), se esperarían relaciones estrechas entre PSRG-FE y COT_{MT} en todas las profundidades. Los coeficientes de correlación obtenidos en este trabajo (Figura 4.2) reflejan una relación aceptable entre PSRG-FE y COT_{MT}, aunque con diferencias entre profundidades. Se ha observado que el contenido de PSRG no siempre presenta el mismo patrón de distribución que el de COT_{MT}, sugiriendo que la distribución de PSRG-FE en el perfil puede ser controlada por diferentes mecanismos que los que controlan la de COT_{MT} (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001). Por otro lado, para diferentes suelos, se han reportado relaciones más estrechas entre PSRG-T y COT_{MT} que entre PSRG-FE y COT_{MT} (Wright *et al.*, 1996; Wright y Upadhyaya, 1998; Singh *et al.*, 2016; Zhong *et al.*, 2017; Nautiyal *et al.*, 2019), lo que sugiere que la dinámica de PSRG-T se asemejaría más a la del COT_{MT} que la de PSRG-FE.

El contenido de PSRG-FE se correlacionó positivamente con COP_{MT} y COA_{MT} en las tres profundidades evaluadas (Figura 4.3). Los coeficientes de correlación fueron mayores en 0-5 cm que en 5-20 y 0-20 cm de profundidad (Figura 4.3). En coincidencia con lo observado para el modelo de PSRG-FE en función de COT_{MT} en 0-5 cm (Ecuación 4.1), PSRG-FE aumentó con el aumento de COP_{MT} (Ecuación 4.2) y de COA_{MT} (Ecuación 4.3) con la misma pendiente para LPA y PRIS y una mayor ordenada al origen en los PRIS que en los LPA:

 $PSRG-FE=3,5+0,6 \text{ US} +0,05 \text{ COP}_{MT} \quad R^2=0,53 \qquad \text{Ecuación 4.2}$ $PSRG-FE=1,7+0,9 \text{ US} +0,07 \text{ COA}_{MT} \quad R^2=0,58 \qquad \text{Ecuación 4.3}$ donde US es uso del suelo, y toma un valor de 0 si es LPA y de 1 si es PRIS.



Figura 4.3: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y carbono orgánico particulado (COP_{MT}) (a, b, c) y carbono orgánico asociado a minerales (COA_{MT}) determinados en la masa total del suelo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (*i.e.* LPA más PRIS, n=80).

El contenido de PSRG-FE ha sido postulado como un ISE por su sensibilidad a los cambios en el uso del suelo y a las prácticas de manejo (He *et al.*, 2010; Fine *et al.*, 2017). Asimismo, las PSRG-FE han sido consideradas como la fracción de las PSRG-T más recientemente producida y unida a las partículas de suelo (Wright y Upadhyaya, 1998) y de mayor accesibilidad a la descomposición por microorganismos, teniendo un ciclado más rápido (Wright y Upadhyaya, 1998; Steinerg y Rillig, 2000). Por ello, se esperaba una alta asociación de las PSRG-FE con el COP_{MT}, debido a que ésta es la fracción del COT_{MT} más sensible a las prácticas de manejo, de mayor labilidad y

ciclado rápido (Cambardella y Elliott, 1992; Wander, 2004; Domínguez *et al.*, 2016). No obstante, las PSRG-FE se correlacionaron con COP_{MT} y con COA_{MT} con similares R^2 (Ecuaciones 4.2 y 4.3, Figura 4.3).

En los suelos del SEB el COA_{MT} se ha mostrado como la fracción del COT_{MT} más estable en el tiempo, debido a su baja sensibilidad frente a las prácticas de manejo (Domínguez et al., 2016; Studdert et al., 2017). Como se mencionó previamente, muchos autores han postulado a las PSRG-FE como ISE (He et al., 2010; Fine et al., 2017), dado que es una fracción lábil (Wright y Upadhyaya, 1998; Steinerg y Rillig, 2000). Sin embargo, las características guímicas de la glomalina no sugieren labilidad, pudiendo explicar la asociación de PSRG-FE con esa fracción más estable del COT_{MT}. La glomalina es una proteína hidrofóbica (Wright y Upadhyaya, 1996; Wright, 2005) muy estable (Wright y Upadhyaya, 1998). Su exposición a óptimas condiciones de descomposición mostró que se mantiene constante en el tiempo (Steinberg y Rillig, 2003), indicando que no es ciclada rápidamente (Rillig, Wright, Nichols et al., 2001), lo que limita su uso como ISE. Se ha reportado que el C de PSRG-FE se relacionó estrechamente con el C recalcitrante del COT_{MT} (Zhang et al., 2017) y que forma parte del C pasivo del suelo (Preger et al., 2007; Singh et al., 2016). Asimismo, el tiempo de vida de la PSRG es de 6 a 92 años (Rillig, Wright, Nichols et al., 2001; Preger et al., 2007; Zou et al., 2015), indicando su baja tasa de reciclo. No obstante, ese rango de vida tan amplio sugiere que probablemente existan distintas fracciones dentro de las PSRG-T que son estabilizados de diferentes maneras, resultando en fracciones con distintos ciclados (Rillig, Wright, Nichols et al., 2001).

Se ha reportado una estrecha relación entre PSRG-FE y EA en diferentes suelos, lo que se ha interpretado como evidencia del rol de la glomalina en la formación y estabilización de agregados (Wright *et al.*, 1999; Bedini *et al.*, 2009; Fokom *et al.*, 2012; Fine *et al.*, 2017; Ferrero Holtz *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2020). En este trabajo, el contenido de PSRG-FE se correlacionó positivamente con masaMA_{MV} en 0-5 y 0-20 cm, mientras que no se presentó asociación lineal en 5-20 cm (Figura 4.4). Los modelos estadísticos ajustados para caracterizar el comportamiento de masaMA_{MV} en función de PSRG-FE mostraron que la inclusión del contenido de arena o de arcilla no contribuyó a explicar la variabilidad de masaMA_{MV} (datos no mostrados).



Figura 4.4: Correlaciones entre masa de macroagregados entre 2 y 8 mm remanentes de un mojado violento (masaMAMV) como medida de estabilidad de agregados y proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) en la masa total del suelo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (*i.e.* LPA más PRIS, n=80), NC: variables no correlacionadas.

En 0-5 cm (Ecuación 4.4), masaMA_{MV} aumentó con el aumento de PSRG-FE con la misma pendiente para PRIS y LPA, pero distintas ordenadas al origen (mayor para PRIS que para LPA):

masa $MA_{MV} = -4,3 + 29,6 \text{ US} + 5,0 \text{ PSRG-FE}$ $R^2 = 0,66$ Ecuación 4.4 donde US es uso del suelo, y toma un valor de 0 si es LPA y de 1 si es PRIS. Wright y Anderson (2000) observaron una relación similar en 0-10 cm, entre EA y PSRG-T, pero no hallaron relación entre EA y PSRG-FE. Estos autores reportaron que, para un mismo nivel de PSRG-T, la EA fue mayor en PRIS (*i.e.* pastizal de gramíneas no disturbado por 30 años) que en LPA.

La mayor ordenada al origen observada en los PRIS indica que, para un mismo nivel de PSRG-FE, los PRIS presentaron mayor EA promedio que los LPA en 0-5 cm. Por lo tanto, la mayor EA de los PRIS en relación a los LPA a esa profundidad no estaría relacionada únicamente con una mayor concentración de PSRG-FE. Otros factores diferentes de la MO y sus fracciones lábiles (Capítulo II, Figura 3.7) y de PSRG-FE (Ecuación 4.4) estarían contribuyendo a una mayor EA en los PRIS. La mayor abundancia y persistencia de raíces en los PRIS llevaría a una mayor EA al entrelazar partículas de suelo y exudar sustancias cementantes que favorecen la formación de agregados. Además, la mayor abundancia y persistencia de raíces junto a la mayor cantidad de residuos en descomposición en superficie proveen un ambiente favorable para una mayor actividad microbiana (Six *et al.*, 2004). Ésta se vería reflejada en una mayor cantidad de hifas de hongos que entrelazan partículas de suelo formando agregados. Asimismo, la mayor exudación de sustancias hidrofóbicas distintas de la glomalina, derivadas de otros hongos y de bacterias, conferirían a los agregados mayor capacidad de repeler el agua (Chenu y Cosentino, 2007).

No obstante, hubo una débil relación entre PSRG-FE y EA en 0-20 cm (Figura 4.4c), influenciada por la ausencia de asociación lineal en 5-20 cm (Figura 4.4b). En coincidencia con esto, diversos autores han reportado relaciones débiles (Rillig, Wright, Kimball *et al.*, 2001; Rillig *et al.*, 2002) o ausencia de relación entre EA y PSRG-FE (Wright *et al.*, 1996; Wright y Anderson, 2000) en 0-20 cm. Esto indica que el contenido de PSRG-FE no siempre explica por sí solo la EA. Es sabido que la EA depende de muchos otros factores además de la glomalina (Six *et al.*, 2004). En situaciones en que los cambios en la EA no se reflejan en las variaciones en las concentraciones de PSRG-FE, serían otros los factores que adquirirían más importancia en determinar la EA (Rillig, Wright, Kimball *et al.*, 2001). Los suelos del

SEB se caracterizan por tener elevados contenidos de COT_{MT} (en promedio, 40,9 y 32,9 g kg⁻¹ de 0-20 cm para PRIS y LPA, respectivamente, Capítulo II, Figura 3.2c) y de COP_{MT} (en promedio, 10,5 y 4,8 g kg⁻¹ de 0-20 cm para PRIS y LPA, respectivamente, Capítulo II, Figura 3.2f), y estas variables parecen ser los principales factores determinantes de la EA, ya que la variabilidad de masaMA_{MV} estuvo mejor relacionada con COT_{MT} y COP_{MT} (Capítulo II, Figura 3.7, Tabla 3.1) que con PSRG-FE (Figura 4.4).

De acuerdo con lo informado por diversos autores (Wright *et al.*, 1999; Bedini *et al.*, 2009; Fokom *et al.*, 2012; Fine *et al.*, 2017; Ferrero Holtz *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2020), se esperaban relaciones más estrechas entre EA y PSRG-FE. No obstante, según fue mencionado previamente, el C aportado por la PSRG-FE es recalcitrante (Singh *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017). Este sería el motivo por el cual los cambios en los contenidos de PSRG-FE estuvieron algo mejor relacionados con el COA_{MT} que con el COP_{MT} (Figura 4.3). Sin embargo, los cambios en la EA estuvieron asociados con los cambios en la fracción lábil del COT_{MT} (*i.e.* el COP_{MT}, Figura 3.7d, e, f), mientras que no se asociaron con COA_{MT} (Capítulo II, Sección 3.3.1).

Por otro lado, se han reportado mejores relaciones entre EA y PSRG-T que entre EA y PSRG-FE (Wright y Anderson, 2000; Bedini et al., 2009; Liu et al., 2020). El contenido de PSRG-T en suelos del SEB es desconocido y podría representar una gran proporción del COT_{MT} y relacionarse mejor con la EA. Asimismo, se ha informado que la fracción medida como PSRG-FE sobreestima el contenido de glomalina, ya que no sólo contiene esta proteína (Rosier et al., 2006; Hurisso et al., 2018). Wright y Upadhyaya (1996) propusieron la metodología utilizada en este trabajo como una forma de extraer y cuantificar únicamente glomalina fácilmente extraíble, basada en que: 1) otras proteínas presentes en el suelo son desnaturalizadas por las condiciones de extracción (30 min a 120°C y 0,1 MPa) con lo que la glomalina sería la única proteína extraída, y 2) observaron una estrecha relación entre la cuantificación de PSRG-FE con el método de Bradford que cuantifica proteínas totales en el extracto (utilizado en este trabajo) y la realizada con el método de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*i.e.* ELISA). Este último método cuantifica sólo glomalina, ya que la fracción inmunorreactiva de esta proteína es detectada por un anticuerpo monoclonal extraído de esporas de HMA (MAb32B11) (Wright et al., 1996), que no interactúa con otras proteínas. Sin embargo, estudios posteriores (Rosier et al., 2006; Hurisso et al., 2018) reportaron que con la metodología de extracción (30 min a 120°C y 0,1 MPa) y cuantificación de Bradford, se extraen y cuantifican también otras proteínas no

derivadas de HMA (*i.e.* no sólo glomalina). Cuanto mayor es el contenido de MO y de residuos en la muestra de suelo, mayor es la cantidad de proteínas de esas fuentes que son extraídas y cuantificadas. Así, en la fracción de PSRG-FE podría haber una gran cantidad de otras proteínas del suelo que no tienen carácter hidrofóbico y cementante y que, por lo tanto, no contribuirían a la formación y estabilización de agregados. El método ELISA permitiría una mayor precisión en la cuantificación de glomalina (Rosier *et al.*, 2006). Confirmando esto, algunos autores observaron ausencia de relación entre PSRG-FE medida con Bradford y EA, pero sí observaron relación entre PSRG-FE medida con ELISA y EA (Wright y Upadhyaya, 1996; Wright y Anderson, 2000).

El contenido de PSRG-FE se correlacionó positivamente con NAN_{MT} en las tres profundidades (Figura 4.5). La mayor asociación lineal entre estas dos variables fue en 0-5 cm y se corresponde con lo observado para las asociaciones lineales entre PSRG-FE y COT_{MT} (Figura 4.2a), COP_{MT} (Figura 4.3a), COA_{MT} (Figura 4.3d) y masaMA_{MV} (Figura 4.4a). Sin embargo, las asociaciones entre PSRG-FE y NAN_{MT} para las tres profundidades (Figura 4.5) presentaron menores coeficientes de correlación (r=0,65, 0,34 y 0,47 en 0-5, 5-20 y 0-20 cm, Figura 4.5) que las observadas para PSRG-FE y COT_{MT} (r=0,77, 0,46 y 0,60, respectivamente, Figura 4.2a) y similares a las de PSRG-FE y COP_{MT} (r=0,70, 0,33 y 0,48, respectivamente, Figura 4.3a, b, c).



Figura 4.5: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r: coeficiente de correlación de Pearson para la asociación lineal considerando todos los datos (*i.e.* LPA más PRIS, n=80).

Los modelos estadísticos ajustados para caracterizar el comportamiento de PSRG-FE en función de NAN_{MT} reflejaron que la incorporación de los contenidos de arena o de arcilla no explicaron significativamente la variabilidad de PSRG-FE en ninguna de las profundidades. En 0-5 cm (Ecuación 4.5), PSRG-FE aumentó con el aumento en NAN_{MT}, con la misma pendiente para los dos usos del suelo (*i.e.* LPA y PRIS) y mayor ordenada al origen para PRIS que para LPA, aunque el R² fue bajo. Esto indica que, para un mismo nivel de NAN_{MT}, los PRIS presentaron mayor contenido medio de PSRG-FE que los LPA, en coincidencia con los modelos presentados anteriormente (Ecuaciones 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4).

 $PSRG-FE = 3,2 + 0,6 \text{ US} + 0,007 \text{ NAN}_{MT} \quad R^2 = 0,46 \qquad \text{Ecuación 4.5}$ donde US es uso del suelo, y toma un valor de 0 si es LPA y de 1 si es PRIS.

Se esperaban relaciones estrechas entre PSRG-FE y NAN_{MT} debido a que se ha reportado que: i) PSRG-FE (Singh *et al.*, 2016; Thougnon Islas *et al.*, 2016; Fine *et al.*, 2017) y NAN_{MT} (Domínguez *et al.*, 2016; Capítulo II, Tabla 3.2 y Figura 3.9) se relacionan con COT_{MT} , ii) PSRG-FE (Fine *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2020) y NAN_{MT} (Capítulo II, Figura 3.10) se relacionan con la EA, y iii) la PSRG-FE contribuye al contenido de N orgánico del suelo (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001; Hurisso *et al.*, 2018). En 0-5 cm, PSRG-FE se relacionó aceptablemente con COT_{MT} (r=077, Figura 4.2a) y con masaMA_{MV} (r=0,62, Figura 4.4a), lo que explicaría la asociación observada entre PSRG-FE y NAN_{MT} a esa profundidad (Figura 4.5a). Sin embargo, en 5-20 y 0-20 cm, las relaciones entre PSRG-FE y COT_{MT} (Figura 4.2b, c) y entre PSRG-FE y masaMA_{MV} fueron débiles (Figura 4.4b, c), coincidiendo con lo observado entre PSRG-FE y NAN_{MT} (Figura 4.5b, c).

Por otro lado, como fue mencionado, la fracción determinada como PSRG-FE contiene, además de glomalina, otras proteínas del suelo (Rosier *et al.*, 2006; Hurisso *et al.*, 2018). Así, el N de PSRG constituye una importante proporción del contenido de N orgánico del suelo (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001). Se han observado asociaciones lineales positivas (r mayores que 0,50) entre PSRG-FE y N total en diferentes suelos (Fokom *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2016; Hurisso *et al.*, 2018; Nautiyal *et al.*, 2019). Por ello, Hurisso *et al.* (2018) han considerado a la PSRG-FE como un indicador rápido y sencillo de la capacidad del suelo de suministrar N. Sin embargo, estos autores observaron un coeficiente de correlación muestral de 0,13 entre dicha variable y NAN_{MT}. Asimismo, otros autores han informado débiles o nulas relaciones entre PSRG-FE y N orgánico (Zhong *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017), y entre PSRG-FE y contenido de amino-azúcares (Zhang *et al.*, 2017). Además, si bien PSRG-FE

podría ser un indicador del contenido de N orgánico del suelo (Hurisso *et al.*, 2018), estuvo más asociada con la fracción más recalcitrante del COT_{MT} (*i.e.* el COA_{MT} , Figura 4.3). Así, probablemente el N que la compone no sea ciclado rápidamente (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001). Esto explicaría también la débil relación con el NAN_{MT}, que está más asociado con las fracciones más lábiles del COT_{MT} (Capítulo II, Tabla 3.2; Domínguez *et al.*, 2016). Asimismo, se han reportado relaciones más estrechas entre N orgánico y PSRG-T que con PSRG-FE (Zhang *et al.*, 2017; Nautiyal *et al.*, 2019). Como se mencionó previamente, futuros estudios podrían profundizar en las relaciones entre PSRG-T de modo de dilucidar estos interrogantes.

4.3.1.2. <u>Relación entre NAN_{MT} y la abundancia de HMA</u>: Los valores máximos, mínimos y promedios de ESP (Figura 4.6) fueron mayores en los PRIS que en los LPA para cada profundidad y en 0-5 que en 5-20 cm para cada uso del suelo. Así, los valores máximos, mínimos y promedios de ESP (Figura 4.6) presentaron un comportamiento similar a COT_{MT}, COP_{MT}, masaMA_{MV}, NAN_{MT} (Capítulo II, Sección 3.3.1) y PSRG-FE (Figura 4.1) respecto a uso del suelo y distribución en el perfil. Asimismo, en cada sitio muestreado, el PRIS presentó mayor ESP que el LPA correspondiente, y en cada PRIS y LPA, el ESP fue mayor en 0-5 que en 5-20 cm. Se ha reportado en distintos tipos de suelo que el ESP fue sensible a los cambios en el suelo producidos por el uso (Bedini et al., 2007; Fokom et al., 2012; Thougnon Islas et al., 2014, 2016; Pagano et al., 2020) o las prácticas de manejo (Sharma et al., 2010; Bedini et al., 2013; Lozano Sánchez et al., 2015). Como se mencionó en la Sección 4.3.1. del presente Capítulo, los PRIS proporcionan un ambiente más favorable para el desarrollo de HMA debido a la mayor abundancia y persistencia de raíces y a la ausencia de disturbio. Por el contrario, los LPA se caracterizan por tener raíces vivas sólo en ciertos períodos del año y con menor abundancia, menor cobertura del suelo que ocasiona mayores fluctuaciones de humedad, acción de los implementos agrícolas que producen disturbio y compactación, y aplicación de fertilizantes y pesticidas, todos factores que reducen el ESP y la propagación de HMA (Sharma et al., 2010; Singh et al., 2016; Jamiołkowska et al., 2017).



Figura 4.6: Máximos, mínimos y promedios para número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (ESP) (a, b, c) y log ESP (d, e, f) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). PRIS: pseudoprístino (n=5), LPA: lote de producción agrícola (n=12). Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre PRIS y LPA para cada profundidad. Promedios seguidos por letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0–5 y 5–20 cm para cada uso del suelo.

La glomalina es un componente de las paredes de las hifas y las esporas de HMA (Driver *et al.*, 2005; Bedini *et al.*, 2007; Rillig, 2004). Por ello, es esperable que el contenido de PSRG-FE se relacione con la abundancia de HMA. Numerosos trabajos han medido longitud de hifas como medida de abundancia de HMA, pero la mayoría han reportado ausencia de relación entre el contenido de PSRG y la longitud de hifas de HMA. Esto ha sido atribuido a las diferentes tasas de ciclado de las PSRG-FE y las hifas de HMA, ya que éstas tienen un ciclado muy rápido, mientras que las PSRG tienen un ciclado mucho más lento (Rillig, Wright, Kimball *et al.*, 2001; Steinberg y Rillig, 2003; Bedini *et al.*, 2007). Sin embargo, las esporas son las estructuras de los

HMA más persistentes (Wrigth y Upadhyaya, 1998; Jamiołkowska *et al.*, 2017) y, por lo tanto, el ESP podría estar asociado a cambios en PSRG-FE, aunque poco se ha reportado acerca de dicha relación.

El log ESP se correlacionó positivamente con el contenido de PSRG-FE en 0-5 y 0-20 cm, pero no en 5-20 cm (Figura 4.7), con un coeficiente de correlación de Pearson más alto en la capa más superficial del suelo (0-5 cm). Se han reportado estrechas correlaciones entre esas dos variables en la capa arable de otros suelos (Bedini *et al.*, 2007; Fokom *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2017). A pesar de la limitada cantidad de situaciones involucradas en este trabajo, las relaciones observadas entre PSRG-FE y log ESP en 0-5 y 0-20 cm (Figura 4.7a, c) sugieren que en suelos del SEB las PSRG-FE serían un indicador de la abundancia de HMA y de la fertilidad biológica del suelo (Bedini *et al.*, 2007).



Figura 4.7: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. n=17.

El log ESP se correlacionó positivamente con COT_{MT} en las tres profundidades (Figura 4.8a, b, c). Asimismo, se asoció estrechamente con COP_{MT} (Figura 4.8d, e, f), pero no con COA_{MT} (datos no mostrados). He *et al.* (2010) reportaron relaciones positivas entre ESP y COT_{MT} en la capa arable. Los resultados observados en este trabajo son los esperados porque, por su tamaño (>73 µm), las esporas de HMA forman parte de la MO particulada (>53 µm) (Christensen, 2001; Nichols y Wright, 2004; Wander, 2004) y, por lo tanto, contribuyen al contenido de COT_{MT} y de COP_{MT} , pero no al de COA_{MT} .



Figura 4.8: Correlaciones entre log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas cada 100 g de suelo (log ESP) y carbono orgánico total (COT_{MT}, a, b, c) y carbono orgánico particulado (COP_{MT}, d, e, f) en la masa total del suelo en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a, d), 5-20 (b, e) y 0-20 cm (c, f). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. n=17.

Los HMA juegan un importante rol en la EA, principalmente como agentes estabilizantes de macroagregados, mediante tres vías: i) a través de la producción de glomalina, que actúa como agente cementante al unir partículas de suelo y proporcionarles hidrofobicidad, ii) a través de sus hifas externas que entrelazan partículas de suelo, y iii) a través del aporte de C por la glomalina, las hifas y las esporas (Miller y Jastrow, 2000). El ESP puede ser utilizado como una medida de abundancia de HMA en el suelo (Bedini et al., 2007) y, si bien no ejerce un efecto directo sobre la EA, es esperable una asociación entre estas dos variables. Esto es porque cuanto mayor es la abundancia de HMA (*i.e.* mayor ESP), habría una mayor cantidad de glomalina, de hifas y de C que conducirían a una mayor EA. Lo observado en este trabajo mostró que el log ESP se correlacionó positivamente con PSRG-FE en 0-5 y 0-20 cm (Figura 4.7) y con COT_{MT} y COP_{MT} en las tres profundidades (Figura 4.8). Por otro lado, masaMA_{MV} estuvo correlacionada con PSRG-FE en 0-5 y 0-20 cm (Figura 4.4) y con COT_{MT} y COP_{MT} en las tres profundidades (Capítulo II, Figura 3.7). Por ello, una relación positiva entre log ESP y masaMA_{MV} sería esperable, al menos en 0-5 y 0-20 cm.

El log ESP se correlacionó positivamente con la masaMA_{MV} en 0-5 cm (Figura 4.9a, r_{TODOS} (considerando LPA y PRIS)). En los estratos de 5-20 (Figura 4.9b) y 0-20 (Figura 4.9c) cm, los LPA y los PRIS se observaron gráficamente como dos grupos aislados con comportamientos diferentes. Por ello, en estos dos estratos fue más adecuado considerar asociaciones individuales para cada uso del suelo que una asociación lineal global (*i.e.* considerando LPA y PRIS juntos). Así, en 5-20 y 0-20 cm, no hubo correlación entre log ESP y masaMA_{MV} ni en los PRIS ni en los LPA (Figura 4.9b, c, r_{PRIS} y r_{LPA}). La escasa cantidad de situaciones evaluadas en cada uso del suelo impide observar un comportamiento claro. No obstante, la correlación global (r_{TODOS}, Figura 4.9b, c) alienta la evaluación futura de la relación entre log ESP y masaMA_{MV} en un mayor número de situaciones.



Figura 4.9: Correlaciones entre masa de macroagregados entre 2 y 8 mm remanentes de un mojado violento (masaMA_{MV}) y log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas cada 100 g de suelo (log ESP) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r_{TODOS}: r incluyendo LPA y PRIS (n=17), r_{LPA}: r para LPA (n=12), r_{PRIS}: r para PRIS (n=5), NC: variables no correlacionadas.

Dadas las relaciones observadas entre log ESP y las variables mencionadas hasta el momento, se esperaba una relación entre log ESP y NAN_{MT}. Una asociación lineal positiva entre log ESP y NAN_{MT} sería esperable, debido a que: i) NAN_{MT} se correlacionó con PSRG-FE (Figura 4.5), COT_{MT} y COP_{MT} (Capítulo II, Tabla 3.2 y Figura 3.9) y EA (Capítulo II, Figura 3.10) en las tres profundidades, ii) log ESP se correlacionó con PSRG-FE en 0-5 y 0-20 cm (Figura 4.7), con COT_{MT} y COP_{MT} en las tres profundidades (Figura 4.8) y con EA en 0-5 cm (Figura 4.9a). En 0-5 cm (Figura 4.10a), la relación entre log ESP y NAN_{MT}, mostró a los LPA y los PRIS como dos grupos separados, por lo que se analizó la asociación individual para cada uso del suelo. Así, log ESP se correlacionó positivamente con NAN_{MT} en los LPA, pero no en los PRIS, probablemente debido a la escasa cantidad de situaciones involucradas. No obstante, la correlación global (r_{TODOS}, Figura 4.10a) alienta la evaluación futura de esta relación en un mayor número de situaciones. Por otro lado, en 5-20 y 0-20 cm (Figura 4.10b, c), log ESP se correlacionó positivamente con NAN_{MT} (r_{TODOS}). Los resultados observados indican que el NAN_{MT} sería un indicador de la abundancia de HMA.


Figura 4.10: Correlaciones entre log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) y nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en las tres profundidades analizadas: 0-5 (a), 5-20 (b) y 0-20 cm (c). US: uso del suelo. LPA: lote de producción agrícola. PRIS: pseudoprístino. r_{TODOS}: r incluyendo LPA y PRIS (n=17), r_{LPA}: r para LPA (n=12), r_{PRIS}: r para PRIS (n=5), NC: variables no correlacionadas.

4.3.1.3. <u>Relación entre NAN_{MT} y la actividad de HMA</u>: En todas las muestras de raíces de trigo (*Triticum aestivum* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) en estado de antesis crecidas a campo en 11 LPA del SEB, se observaron estructuras de HMA identificadas como arbúsculos, vesículas e hifas (Figura 4.11). En la Figura 4.12 se presentan los valores máximos, mínimos y promedios de %IT y %AR. Los valores de %IT y %AR fueron muy superiores a los reportados previamente por Covacevich *et al.* (2012) y Thougnon Islas *et al.* (2014, 2016) para raíces crecidas en condiciones de humedad, luz y temperatura controladas en suelos provenientes de LPA del SEB. Covacevich *et al.* (2012) informaron valores de %IT y de %AR entre 1 y 32 % y entre 0,1 y 18 %, respectivamente. Asimismo, Thougnon Islas *et al.* (2014, 2016) reportaron valores entre 17 y 43 %IT y entre 8 y 28 %AR. Esto muestra que, en las situaciones analizadas en este trabajo, hubo una alta actividad de HMA nativos de suelos del SEB.



Figura 4.11: Estructuras de hongos formadores de micorrizas arbusculares (arbúsculos, vesículas e hifas) observadas en las muestras de raíces de trigo y cebada crecidas en el campo en lotes de producción agrícola del sudeste bonaerense.



Figura 4.12: Máximos, mínimos y promedios para porcentaje de raíces colonizadas con estructuras de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) (*i.e.* infección total (%IT) y arbúsculos (%AR)) en 0-20 cm en lotes de producción agrícola (n=11).

Sería esperable que la abundancia de HMA medida en la siembra de los cultivos de trigo y cebada se relacionara con la actividad de HMA medida a través del porcentaje de raíces colonizadas de dichos cultivos en estado de antesis. Se ha reportado una correlación positiva entre ESP y colonización de raíces con HMA (Khakpour y Khara, 2012; Zangaro *et al.*, 2013). Sin embargo, contrariamente a lo esperado, el log ESP no se relacionó con el %IT (Figura 4.13a) ni con el %AR (Figura 4.13b). No obstante, en coincidencia con estos resultados, otros autores reportaron ausencia de relación entre ESP y colonización micorrícica para suelos del SEB (*i.e.* %IT o %AR) (Thougnon Islas *et al.*, 2014, 2016) y de otras áreas geográficas del mundo (Li *et al.*, 2007; Sivakumar, 2013; Jamiołkowska *et al.*, 2017).



Figura 4.13: Correlaciones entre log del número de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares cada 100 g de suelo (log ESP) y porcentaje de raíces con infección total (%de raíces con IT) (a) y porcentaje de raíces con arbúsculos (% de raíces con AR) (b) en 0-20 cm en los lotes de producción agrícola (n=11). NC: variables no correlacionadas.

De acuerdo con lo reportado por algunos autores, una ausencia de relación entre ESP y colonización micorrícica podría ser atribuida a: i) la no germinación de las esporas causada por dormancia o condiciones ambientales desfavorables (Sigueira et al., 1985; Jamiołkowska et al., 2017), ii) determinación de la colonización micorrícica en un momento distinto al de máxima infección (Becerra et al., 2009) y iii) a la colonización producida a partir de otros propágulos de HMA diferentes de esporas (Thougnon Islas et al., 2014). Dado que la colonización micorrícica de raíces en el presente trabajo fue alta (Figura 4.13), la no germinación de las esporas no sería una explicación a la falta de relación. Asimismo, la colonización de las raíces se determinó en antesis, estado fisiológico en el que se manifiesta la máxima infección (Covacevich et al., 2007). Por otro lado, el número de propágulos de HMA es una medida importante del inóculo potencial micorrícico de un suelo (Covacevich et al., 2006) y se espera que esté relacionado con la colonización micorrícica. Los propágulos de HMA no consisten únicamente de esporas, sino también de fragmentos de hifas y de raíces infectadas (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). En este trabajo no se realizó la cuantificación de otros propágulos diferentes de las esporas.

La PSRG-FE ha sido postulada como un indicador de la actividad de HMA (Bedini *et al.*, 2007). Asimismo, se han reportado estrechas relaciones entre PSRG-FE y colonización de raíces con HMA (Wu *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019). Por ello, era esperada una estrecha relación entre estas dos variables. Sin embargo, en el presente trabajo, el contenido de PSRG-FE no estuvo relacionado con el %IT (Figura 4.14a) ni con el %AR (Figura 4.14b). Estos resultados coinciden con los informados por Thougnon Islas *et al.* (2016) para suelos del SEB. Asimismo, Bedini *et*

al. (2013) tampoco observaron correlación entre colonización de raíces con HMA y PSRG-FE. Se debe tener en cuenta que la colonización de raíces con HMA es reflejo de la actividad de estos hongos en un determinado momento y en respuesta a condiciones ambientales circunstanciales cercanas al momento de muestreo (Jamiołkowska *et al.*, 2017). Sin embargo, tal como fue mencionado, las PSRG-FE constituyen una fracción orgánica recalcitrante que puede tener una vida de entre 6 y 92 años (Rillig, Wright, Nichols *et al.*, 2001; Preger *et al.*, 2007; Zou *et al.*, 2015) y, por lo tanto, el contenido de PSRG-FE no necesariamente es reflejo de la actividad de corto plazo de los HMA.



Figura 4.14: Correlaciones entre proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE) y porcentaje de raíces con infección total (% de raíces con IT) (a) y porcentaje de raíces con arbúsculos (% de raíces con AR) (b) en 0-20 cm en los lotes de producción agrícola (n=11). NC: variables no correlacionadas.

Si bien el micelio extra-radical es el que tiene influencia directa sobre el contenido de COT_{MT} (a través del aporte de C por glomalina, hifas y esporas) y la EA (a través de la producción de glomalina y la acción de las hifas) (Nichols y Wright, 2004), una asociación indirecta entre estas variables y raíces colonizadas con HMA era esperada. Se han reportado correlaciones positivas entre colonización micorrícica y COT_{MT} (Covacevich y Echeverría, 2000; Yang *et al.*, 2017) y entre colonización micorrícica y EA (Yang *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019b). No obstante, en este trabajo, %IT y %AR no estuvieron correlacionados con COT_{MT} , COP_{MT} , COA_{MT} ni con masaMA_{MV} (datos no mostrados). La ausencia de correlación entre %IT o %AR y COT_{MT} coincide con lo informado previamente por otros autores (Covacevich *et al.*, 2012; Khakpour y Khara, 2012; Sivakumar, 2013; Thougnon Islas *et al.*, 2016).

Asimismo, si bien se ha reportado que la actividad de HMA es afectada por el nivel de P_{EXT} (Ezawa *et al.*, 2000; Covacevich *et al.*, 2006, 2007; Zangaro *et al.*, 2013; Jamiołkowska *et al.*, 2017), el %IT y el %AR no estuvieron asociados a P_{EXT} (valores

entre 10,1 y 31,4 mg kg⁻¹). Esto coincide con otros autores (Covacevich *et al.*, 2012; Sivakumar, 2013; Thougnon Islas *et al.*, 2014, 2016).

Por otro lado, a partir de una posible relación entre el NAN_{MT} y el contenido de PSRG-FE y del NAN_{MT} y la abundancia de HMA, se esperaba que el NAN_{MT} fuera un indicador de la actividad de HMA. Aunque el NAN_{MT} estuvo correlacionado positivamente con el contenido de PSRG-FE (Figura 4.5) y la abundancia de HMA (Figura 4.10), la actividad de HMA no estuvo correlacionada con esas dos últimas variables (Figura 4.13 y 4.14, respectivamente). Es así que, contrariamente a los esperado, la actividad de HMA medida a través del %IT (Figura 4.15a) y del %AR (Figura 4.15b) tampoco estuvo relacionada con el NAN_{MT}.



Figura 4.15: Correlaciones entre nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) y porcentaje de raíces con infección total (% de raíces con IT) (a) y porcentaje de raíces con arbúsculos (% de raíces con AR) (b) en 0-20 cm en los lotes de producción agrícola (n=11). NC: variables no correlacionadas.

4.3.2. Macroagregados

La EA es definida por la estabilidad de los MA (García *et al.*, 2020), la que, a su vez depende de su contenido de COT y de COP (*i.e.* COT_{MA} y COP_{MA}) (Mandiola *et al.*, 2011; Roldán *et al.*, 2012a, b; Rivero *et al.*, 2020). Asimismo, se ha postulado que dichas fracciones de C orgánico determinadas en macroagregados han sido más sensibles que la mismas determinadas en la masa total del suelo (Novelli *et al.*, 2017; Sithole *et al.*, 2019). Por lo tanto, las fracciones orgánicas determinadas en este capítulo, que las determinadas en la masa total del suelo ante capítulo, que las determinadas en la masa total del suelo capítulo.

Las variables COT_{MA} , COP_{MA} , COA_{MA} y NAN_{MA} se correlacionaron positivamente con PSRG-FE (Tabla 4.1) en las tres profundidades, con coeficientes de correlación similares a los observados en las correlaciones entre PSRG-FE y COT_{MT} (Figura 4.2), COP_{MT} , COA_{MT} (Figura 4.3) y NAN_{MT} (Figura 4.5). Asimismo, los modelos de regresión de PSRG-FE en función de COT_{MA} , COP_{MA} , COA_{MA} y NAN_{MA} presentaron similar comportamiento (pendientes iguales y ordenadas al origen diferentes para LPA y PRIS) y R² (datos no mostrados) que los ajustados para masa total del suelo (Ecuaciones 4.1, 4.2, 4.3 y 4.5). Asimismo, COT_{MA} , COP_{MA} , COA_{MA} y NAN_{MA} (Tabla 4.1) presentaron el mismo comportamiento que COT_{MT} , COP_{MT} (Figura 4.8), COA_{MT} (datos no mostrados) y NAN_{MT} (Figura 4.10) al relacionarse con log ESP. Además, COT_{MA} , COP_{MA} , COA_{MA} y NAN_{MA} no se relacionaron con %IT ni con %AR.

Tabla 4.1: Coeficientes de correlación de Pearson (r) para caracterizar las asociaciones de carbono orgánico total, particulado y asociado a minerales, y nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados (COT_{MA}, COP_{MA}, COA_{MA} y NAN_{MA}, respectivamente) con proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíble (PSRG-FE, n=80) y con logaritmo del número de esporas de hongos micorrícicos cada 100 g de suelo (log ESP, n=17) en las tres profundidades analizadas (0-5, 5-20 y 0-20 cm). r_{PRIS}: r para pseudoprístinos (PRIS) (n=5), r_{LPA}: r para lotes de producción agrícola (LPA) (r=12), r_{TODOS}: r para PRIS más LPA, NC: variables no correlacionadas.

Profundidad	Variable	PSRG-FE	log ESP			
0-5 cm	COT _{MA}	0,75	0,75			
	COPMA	0,73	0,85			
	COA _{MA}	0,66	0,54			
	NANMA	0,68	0,81 (r _{TODOS}), NC (r _{PRIS}), 0,60 (r _{LPA})			
5-20 cm	COT _{MA}	0,47	0,55			
	COPMA	0,24	0,66			
	COAMA	0,44	NC			
	NANMA	0,32	0,56 (r _{todos}), NC (r _{pris}), NC (r _{lpa})			
0-20 cm	COT _{MA}	0,64	0,65			
	COP _{MA}	0,49	0,80			
	COA _{MA}	0,56	NC			
	NANMA	0,48	0,72 (r_{TODOS}), NC (r_{PRIS}), NC (r_{LPA})			

Es así que el NAN_{MA} no fue un mejor indicador de PSRG-FE, abundancia de HMA (medida a través del ESP) y actividad de HMA (medida a través de %IT y %AR) que NAN_{MT}. Estos resultados coinciden con lo demostrado en el Capítulo II (Sección 3.3.2), en el que NAN_{MA} presentó un comportamiento similar a NAN_{MT} en su relación con COT_{MT}, COP_{MT} y masaMA_{MV}. Esto se debe a que NAN_{MA} estuvo estrechamente correlacionado con NAN_{MT}, con coeficientes de correlación de Pearson entre 0,85 y 0,97 para las tres profundidades y los tres conjuntos de datos utilizados (Sección 4.3.1.1 (n=80), 4.3.1.2 (n=17) y 4.3.1.3 (n=11)).

4.4. Conclusión

Para las condiciones en las que se desarrolló este trabajo, los resultados obtenidos permitieron apoyar parcialmente la hipótesis i, dado que el NAN_{MT} se relacionó con el contenido de PSRG-FE, la abundancia de HMA, pero no con la colonización de raíces con HMA. No obstante, el desempeño del NAN_{MT} como indicador de variables microbiológicas fue inferior que el mostrado como indicador de salud bioquímica y física del suelo (Capítulo II). Por otro lado, se recopilaron evidencias suficientes para rechazar la hipótesis ii, dado que el NAN_{MA} no fue un mejor indicador de las variables microbiológicas que NAN_{MT}. Por lo tanto, debido a que la determinación de este último es más rápida y sencilla, la utilización de NAN_{MT} sería recomendable como método de rutina.

5. CAPÍTULO IV: NITRÓGENO MINERALIZADO EN ANAEROBIOSIS COMO INDICADOR DE LA NUTRICIÓN DE CEREALES DE INVIERNO

5.1. Introducción

Entre los principales factores que afectan la tasa de crecimiento y el rendimiento en grano de los cultivos se encuentran la temperatura, y la disponibilidad de agua y nutrientes (Abbate, 2017). De éstos, el nitrógeno (N) es uno de los que más influye sobre el crecimiento, el rendimiento y la calidad de los cultivos (Echeverría y Sainz Rozas, 2014). Por tal motivo, es importante considerar la capacidad de provisión de N del suelo en el diagnóstico de fertilidad nitrogenada y en la recomendación de fertilización con N. La disponibilidad de N en forma de nitrato (N-NO₃-) a la siembra de los cultivos ha sido frecuentemente utilizada para ello (Magdoff et al., 1984; Sainz Rozas et al., 2008). No obstante, dicha herramienta de diagnóstico no contempla en forma directa el aporte de N por mineralización desde el suelo durante el ciclo de los cultivos (García y Reussi Calvo, 2014). Los indicadores de la mineralización de N son muy importantes para conocer la capacidad de provisión de N del suelo y adecuar la fertilización nitrogenada. Uno de los indicadores más conocidos es el N potencialmente mineralizable (N_0). Sin embargo, las prolongadas incubaciones requeridas para su determinación (>200 días) impiden su uso como método de rutina para el diagnóstico de la fertilidad nitrogenada (Echeverría y Sainz Rozas, 2014).

Se han evaluado numerosos parámetros edáficos para ser utilizados como indicadores de la mineralización de N (Soon *et al.*, 2007; Schomberg *et al.*, 2009; Wyngaard *et al.*, 2018). Uno de ellos es el N mineralizado en anaerobiosis (NAN) en la masa total del suelo (NAN_{MT}) determinado con una incubación anaeróbica corta del suelo (*i.e.* 7 días) (Keeney, 1982). El NAN_{MT} se relaciona estrechamente con el N₀, por lo que ha sido propuesto como una alternativa rápida, sencilla y precisa para su estimación (Echeverría *et al.*, 2000; Schomberg *et al.*, 2009; Mariano *et al.*, 2013; Wyngaard *et al.*, 2018). Es así que el NAN_{MT} determinado en la capa arable (0-20 cm) es un adecuado indicador de la capacidad del suelo de proveer N, y para el sudeste bonaerense (SEB) se ha reportado que se relaciona con el rendimiento en grano de cultivos no fertilizados con N como maíz (*Zea mays* L.) (Domínguez *et al.*, 2013; Reussi Calvo, Wyngaard *et al.*, 2018) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Queirolo, 2018). La incorporación del NAN_{MT} determinado en 0-20 cm a los métodos de diagnóstico tradicionales que sólo contemplaban la disponibilidad de N-NO₃⁻ a la siembra del

cultivo, mejoró la capacidad predictiva del rendimiento en grano y de la respuesta a N en trigo (Reussi Calvo *et al.*, 2013; Reussi Calvo, Wyngaard *et al.*, 2018), y en maíz (Orcellet *et al.*, 2017). Esto ha permitido realizar recomendaciones más precisas y confiables de las dosis de fertilizante nitrogenado a aplicar, y realizar un uso eficiente y seguro de este insumo.

Para suelos del SEB, los macroagregados grandes (2-8 mm, MA) del suelo tienen un rol protagónico en su funcionamiento (Roldán *et al.*, 2014; Mandiola *et al.*, 2011; García *et al.*, 2020). Se ha reportado que la concentración de fracciones orgánicas como el carbono (C) orgánico total (COT) y particulado (COP) en los MA reflejan con mayor sensibilidad el efecto de las prácticas de manejo (Roldán *et al.*, 2014; Novelli *et al.*, 2017; Sithole *et al.*, 2019). Dado que el NAN_{MT} se relaciona estrechamente con el COT y el COP (Domínguez *et al.*, 2016; Capítulo II), el NAN en MA (NAN_{MA}) podría ser un mejor indicador que el NAN_{MT} de cambios en la capacidad del suelo de proveer N a los cultivos generados por el manejo del suelo. Así, el NAN_{MA} podría relacionarse mejor que el NAN_{MT} con aspectos productivos del cultivo (*i.e.* rendimiento en grano y acumulación de materia seca y N en biomasa aérea), permitiendo ajustar la dosis de fertilización nitrogenada de forma más precisa.

El fósforo (P) es otro de los principales nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas (García *et al.*, 2014). Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) tienen un importante rol en la nutrición fosforada de las plantas al establecer relaciones simbióticas con las raíces de éstas, en las que el hongo le suministra P a la planta y, a cambio, la planta le suministra compuestos carbonados al hongo (Cano, 2011). Se ha reportado que el aumento en la nutrición fosforada producida por los HMA se traduce en aumentos en el contenido de P en la planta, en el rendimiento en grano y en la biomasa aérea del cultivo (Pellegrino *et al.*, 2015). Dado que el NAN_{MT} y el NAN_{MA} están relacionados con parámetros que se asocian a la actividad y la abundancia de HMA en el suelo (Capítulo III), y que éstas son beneficiosas para los cultivos, NAN_{MT} y NAN_{MA} podrían ser indicadores de tales beneficios, relacionándose con el contenido de P en la planta. Hipótesis:

i) el NAN_{MT} se relaciona positivamente con: 1) el rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}), 2) la biomasa aérea total 0N (BA_{0N}), 3) el contenido de N total en planta 0N (NTP_{0N}), 4) el contenido de P total en planta (PTP), y 5) la respuesta en rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada (R_{TA}) en trigo y cebada,

ii) el NAN_{MA} se relaciona mejor con: 1) RG_{0N}, 2) BA_{0N}, 3) NTP_{0N}, 4) PTP y 5) R_{TA} que

el NAN_{MT} y, por lo tanto, NAN_{MA} es un mejor indicador de esas variables. Objetivos:

i) evaluar la relación de NAN_{MT} con RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N}, PTP y R_{TA},

ii) evaluar la relación de NAN_{MA} con RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N}, PTP y R_{TA}, en comparación con las de NAN_{MT}.

5.2. Materiales y métodos

El muestreo de suelos y el procesamiento de muestras de suelo se realizó de acuerdo con lo descripto en las Secciones 2.1 y 2.3.1 del Capítulo I, respectivamente, para las muestras A, B, C y D tomadas en los LPA. La realización de ensayos de fertilización nitrogenada y el muestreo de plantas se realizó según lo descripto en la Sección 2.2. En las muestras de suelo se determinó NAN_{MT} (2.4.1.1.4), fósforo (P) extractable (P_{EXT}) (2.4.1.1.5.), N en forma de nitrato (N-NO₃⁻, 2.4.1.1.6), proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles (PSRG-FE) (2.4.1.1.9), número de esporas de HMA cada 100 g de suelo (ESP) (2.4.1.1.0), porcentaje de raíces colonizadas con arbúsculos, vesículas e hifas de HMA (*i.e.* infección total, %IT) y con arbúsculos (%AR) (2.4.1.1.11), separación de MA (2.4.1.1.8) y NAN_{MA} (2.4.1.2). En las muestras de planta se determinó RG_{0N}, BA_{0N}, R_{TA}, NTP_{0N}, PTP en concentración (PTPc) y acumulado (PTPa) de acuerdo con lo descripto en la Sección 2.4.2. Se consideró la disponibilidad de agua para el cultivo de acuerdo con lo descripto en 2.4.2.4., y el análisis estadístico se realizó como lo describe la Sección 2.5.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Caracterización hídrica

La demanda de agua del cultivo de trigo es de aproximadamente 385 mm (Abbate, 2017) y la de cebada 389 mm (Liu *et al.*, 2013). El año 2016 fue considerado, en general, un año con restricciones hídricas para el SEB, dado que las precipitaciones durante el ciclo de crecimiento no cubrieron la demanda hídrica de los cereales de invierno en parte del territorio (Carpaneto y Lanzavecchia, 2016). Asimismo, en noviembre de ese año (*i.e.* período crítico de los cultivos), el agua útil almacenada estimada en el perfil del suelo en la región no superó el 30% (Carpaneto y Lanzavecchia, 2016). La menor disponibilidad de agua para los cultivos se reflejó en una reducción del rendimiento en grano promedio de los partidos involucrados en este trabajo (Figura 2.1, Capítulo I) (3857 kg ha⁻¹) de alrededor del 6% respecto a la media

de los últimos 15 años (4087 kg ha⁻¹) (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca [MAGyP], 2020). Considerando que el perfil del suelo se encontraba a capacidad de campo en el momento de la siembra de los cultivos (Queirolo, 2018), las precipitaciones ocurridas durante el ciclo de crecimiento (*i.e.* julio a diciembre) no fueron suficientes para cubrir la demanda total del cultivo en 10 de los 22 ensayos establecidos en 2016 (Figura 5.1a). En cambio, en el año 2018 (Figura 5.1b), la disponibilidad de agua durante el ciclo de crecimiento de trigo y cebada superó su demanda hídrica en los 8 ensayos, pudiendo ser considerado sin limitantes hídricas. Para ese año, el rendimiento en grano promedio de los partidos involucrados (Figura 2.1) fue 4614 kg ha⁻¹ superando a la media de los últimos 15 años (4240 kg ha⁻¹) en un 9% (MAGyP, 2020).



Figura 5.1. Disponibilidad de agua (inicial más precipitaciones durante el ciclo) durante el periodo de crecimiento de los cultivos de trigo y cebada de 2016 (a) y de 2018 (b) en los ensayos. La línea punteada indica la demanda hídrica promedio de trigo y cebada (387 mm).

En la Tabla 5.1 se presentan los valores máximos, mínimos y promedios de RG_{0N} , BA_{0N}, R_{TA}, NTP_{0N}, proteína en grano con y 0N para trigo y cebada en los años 2016 y 2018, y PTPa sólo para 2018. Coincidentemente con los promedios regionales, en 2018, el valor promedio de RG_{0N} para trigo fue superior al del año 2016 (20,8% en trigo), lo que evidencia las diferencias en la disponibilidad de agua entre los dos años. El mayor RG_{0N} promedio del año 2018 estuvo acompañado de mayores valores promedios de BA_{0N} y NTP_{0N}. Tabla 5.1: Mínimos (Mín), máximos (Máx) y promedios (Prom) para rendimiento en grano sin fertilización con nitrógeno (N) (0N) y con fertilización nitrogenada (CON N) (RG_{0N} y RG_{CON N}, respectivamente), biomasa aérea total 0N y CON N (BA_{0N} y BA_{CON N}, respectivamente), respuesta en rendimiento en grano a fertilización con N (R_{TA}), y contenido de nitrógeno acumulado en planta entera 0N y CON N (NTP_{0N} y NTP_{CON N}), contenido de proteína en grano 0N y CON N y fósforo total acumulado en planta entera 0N (PTPa) para cebada y trigo en dos años. Promedios seguidos por letras mayúsculas iguales indican diferencias no significativas (P>0,05) entre 0N y CON N para cada cultivo y año.

	Año								
Variable medida	2016				2018				
en cultivo	n	Mín	Máx	Prom	n	Mín	Máx	Prom	
	Cebada								
RG_{0N} (kg ha ⁻¹)	36	2876	7801	4681B	3	4611	5695	5025A	
$RG_{CON N}$ (kg ha ⁻¹)	36	4095	8242	6235A	3	4940	7819	6144A	
BA _{0N} (kg ha⁻¹)	36	5595	14714	8793B	3	7695	10343	8762A	
BA _{CON N} (kg ha ⁻¹)	36	8933	18040	11889A	3	8971	13695	10940A	
R_{TA} (kg ha ⁻¹)	12	-19	2566	1363	1	1119	1119	1119	
NTP _{0N} (kg ha ⁻¹)	36	46,6	125,5	71,0B	3	54,0	67,8	59,0A	
NTP _{CON N} (kg ha ⁻¹)	36	46,1	111,0	78,3A	3	83,6	141,8	106,5A	
Proteína en grano _{0N} (kg 100kg ⁻¹)	36	6,5	10,3	8,0B	3	8,1	8,6	8,4A	
Proteína en grano CON N (kg 100kg ⁻¹)	36	7,1	11,1	9,0A	3	9,1	10,0	9,6A	
PTPa (kg ha ⁻¹)					3	16,0	25,3	20,0	
	Trigo								
RG_{0N} (kg ha ⁻¹)	30	1993	6691	4202B	21	2893	6736	5079B	
$RG_{CON N}$ (kg ha ⁻¹)	30	3269	9221	5161A	21	4524	10634	6738A	
BA_{0N} (kg ha ⁻¹)	30	5381	13676	10420B	21	7257	16000	12248B	
BA _{CON N} (kg ha⁻¹)	30	8794	19794	13015A	21	10324	21016	14491A	
R_{TA} (kg ha ⁻¹)	10	-428	3296	841	7	149	3618	1296	
NTP _{0N} (kg ha ⁻¹)	30	30,5	149,3	92,6B	21	66,0	166,7	110,8B	
NTP _{CON N} (kg ha ⁻¹)	30	56,6	161,0	94,1A	21	51,9	179,1	111,7A	
Proteína en granc	30	7,4	15,6	10,5B	21	8,3	11,9	10,5B	
Proteina en grano CON N (kg 100kg ⁻¹)	30	8,8	16,3	11,5A	21	9,8	16,2	11,8A	
PTPa (kg ha ⁻¹)					21	12,3	24,2	17,5	

Dado que la mineralización de N por parte del suelo y la absorción de N por los cultivos es fuertemente influenciada por la disponibilidad de agua, los 10 ensayos de 2016 que tuvieron limitaciones hídricas para el adecuado desarrollo del cultivo no fueron tomados en consideración en las relaciones entre NAN_{MT} y los parámetros que caracterizan la nutrición del cultivo. Además, la información de trigo y cebada fue analizada en conjunto debido a que ambos cereales de invierno presentan similar comportamiento frente a la mineralización de N (Reussi Calvo, Queirolo *et al.*, 2018). Así, para las relaciones en masa total del suelo y en macroagregados se consideraron 20 ensayos (12 en 2016 y 8 en 2018) en los que la disponibilidad de agua no fue limitante (Figura 5.1).

5.3.2. Masa total del suelo

El NAN_{MT} determinado en 0-5 y 0-20 cm de profundidad se correlacionó positivamente con el RG_{0N} y la BA_{0N}, aunque con coeficientes de correlación medios a bajos, y no estuvo correlacionado con el NTP_{0N} (Figura 5.2). El NAN_{MT} en 0-5 cm (Figura 5.2a, b) presentó menores coeficientes de correlación que el NAN_{MT} de 0-20 cm (Figura 5.2d, e) al relacionarse con RG_{0N} y BA_{0N}.

No obstante, para cada año de forma individual, las relaciones entre NAN_{MT} y RG_{0N}, BA_{0N} y NTP_{0N}, presentaron comportamientos diferentes. Para el año 2016, NAN_{MT} determinado en 0-5 y en 0-20 cm se relacionó positiva y linealmente con el RG_{0N} explicando sólo el 11 y el 27% de la variabilidad del RG_{0N}, respectivamente (datos no mostrados). Sólo NAN_{MT} en 0-20 cm estuvo correlacionado, aunque débilmente, con BA_{0N} (r=0,35) y NAN_{MT} en ninguna de las dos profundidades estuvo correlacionado con NTP_{0N} (datos no mostrados). Sin embargo, en el año 2018, el NAN_{MT} en 0-20 cm, como indicador de la mineralización de N durante el ciclo del cultivo, permitió explicar razonablemente bien la variabilidad del RG_{0N} mediante un modelo lineal-plateau (pseudo-R²=0,67, Figura 5.3d) y, en menor medida, la de BA_{0N} (pseudo-R²=0,39, Figura 5.3e) y NTP_{0N} (R²=0,48, Figura 5.3f). El RG_{0N} aumentó con el aumento de NAN_{MT} hasta un valor estimado de 58,2 mg kg⁻¹, a partir del cual, el RG_{0N} se estabilizó en 6057,8 kg ha⁻¹ (Figura 5.3d). La BA_{0N} en función de NAN_{MT} presentó un comportamiento similar a RG_{0N}, mostrando un punto de quiebre de NAN_{MT} de 57,1 mg kg⁻¹ (Figura 5.3e). El NAN_{MT} en 0-5 cm explicó en menor medida y con mayores valores de criterio de información de Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) el RG_{0N} (pseudo-R²=0,47, Figura 5.3a) y la BA_{0N} (pseudo- R^2 =0,32, Figura 5.3b), y de manera similar el NTP_{0N} (R²=0,48, Figura 5.3c). Por lo tanto, el NAN_{MT} determinado en 0-5 cm no mejoró la



capacidad de predicción de aquellos parámetros productivos de los cultivos respecto a NAN_{MT} en 0-20 cm.

Figura 5.2: Correlaciones entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en 0-5 cm (a, b, c) 0-20 cm (d, e, f) de profundidad y rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}) (a, d), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) (b, e) y contenido de N total en planta entera 0N (NTP_{0N}) (c, f) para trigo y cebada en ensayos sin déficit hídrico realizados en dos años. NC: variables no correlacionadas. n=60.

Lo observado indica que, en el año 2016, el efecto de la mineralización de N durante el ciclo del cultivo (indicado por el NAN_{MT}) podría haber quedado enmascarado por otros factores edáficos y/o meteorológicos limitantes, diferentes a la disponibilidad de agua, que podrían haber diferido del año 2018 y que no fueron controlados en este trabajo. En coincidencia con lo observado en 2018, otros autores reportaron para el SEB, relaciones lineales positivas entre el NAN_{MT} y el RG_{0N} de cebada (Queirolo, 2018) y trigo (Reussi Calvo *et al.*, 2013) en las que NAN_{MT} explicó el 45% y el 41% del RG_{0N}, respectivamente.



Figura 5.3: Relaciones entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en 0-5 cm (a, b, c) y 0-20 cm (d, e, f) y rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}) (a, d), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) (b, e) y contenido de N total acumulado en planta entera 0N (NTP_{0N}) (c, f) para el año 2018. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n=24.

NAN_{MT} 0-20 cm (mg kg⁻¹)

Contrariamente a lo esperado, NAN_{MT} no estuvo relacionado con R_{TA} en ninguno de los dos años (datos no mostrados). Dado que en el año 2018 el NAN_{MT} explicó razonablemente bien la variabilidad del RG_{0N} mediante el modelo considerado (Figura 5.3d), se esperaba algún tipo de relación negativa entre R_{TA} y NAN_{MT}. Si bien la dosis de fertilizante nitrogenado aplicado en cada ensayo fue la elegida por cada productor, los tratamientos fertilizados de los dos cultivos promediaron rendimientos en grano de 6738 kg ha⁻¹ (4524 a 10634 kg ha⁻¹) con un contenido promedio general para los dos cultivos de 11,6% de proteína. Considerando que el contenido de proteína en grano fue superior a 9,5%, es posible asumir que la dosis de fertilizante nitrogenado empleada por los productores fue de suficiencia para los cultivos (Barbieri et al., 2012). Por lo tanto, la ausencia de relación entre NAN_{MT} y R_{TA} no podría atribuirse a que la

fertilización realizada haya sido insuficiente. No obstante, otros factores como el potencial del ambiente (Bell *et al.*, 2013), el tipo de suelo y la temperatura media durante el ciclo del cultivo (Prystupa *et al.*, 2018) pueden haber afectado la R_{TA} y, por lo tanto, su relación con el NAN_{MT}.

Reussi Calvo *et al.* (2013), en condiciones meteorológicas similares a las del año 2018 y para un rango de NAN_{MT} similar al de este trabajo, propusieron un modelo de predicción del RG_{0N} de trigo a partir de NAN_{MT} y N-NO₃⁻ en el que NAN_{MT} explicó el 41% de la variabilidad del RG_{0N} y N-NO₃⁻ el 25%. En este trabajo, el contenido de N-NO₃⁻ a la siembra en el año 2018 presentó valores máximo, mínimo y promedio de 80,4, 36,1 y 55,0 kg ha⁻¹, respectivamente. Dicha variable no estuvo relacionada con NAN_{MT} (datos no mostrados), lo que coincide con lo observado por otros autores para la región pampeana (Reussi Calvo *et al.*, 2013; Orcellet *et al.*, 2017). Esto puede deberse a que el contenido de N-NO₃⁻ no depende sólo de la mineralización de N orgánico, sino de un balance entre la producción de N-NO₃⁻ a través de ese proceso y las pérdidas producidas por lavado, desnitrificación y/o inmovilización, procesos que están influenciados por las condiciones meteorológicas y las prácticas de manejo (Echeverría y Sainz Rozas, 2014).

Considerar un modelo con las variables predictoras N-NO₃⁻ y NAN_{MT} permitiría mejorar la explicación de la variabilidad del RG_{0N}, dado que contemplaría la disponibilidad de N mineral inicial y durante el ciclo para los cultivos. Sin embargo, el contenido de N-NO₃⁻ no estuvo correlacionado con RG_{0N}. Esto no coincide con lo reportado por otros autores que observaron relaciones lineales positivas, aunque débiles, entre RG_{0N} y N-NO₃⁻ en cebada (Queirolo, 2018) y trigo (Reussi Calvo *et al.*, 2013). En este trabajo no se logró ajustar ningún modelo que explicara el RG_{0N} con NAN_{MT} y N-NO₃⁻ como variables predictoras. Cabe aclarar que N-NO₃⁻ tampoco estuvo correlacionado con R_{TA}, pero sí con BA_{0N} (r=0,65) y NTP_{0N} (r=0,64).

El NAN_{MT} en 0-5 y, en mayor medida, el NAN_{MT} en 0-20 cm se relacionaron positivamente con el contenido de PTPa (Figura 5.4a, c, respectivamente) y no con la concentración de PTP (PTPc) (Figura 5.4b, d, respectivamente). Esto indicaría que no hubo una dilución de PTP aún frente a aumentos en la BA_{0N}, por lo tanto, diferentes mecanismos de suministro de P (mineralización, P_{EXT} y aportes desde horizontes subsuperficiales, entre otros) permitirán sostener la demanda del cultivo. Se esperaba una relación entre NAN_{MT} y PTPa a partir de una posible relación entre NAN_{MT} y el %AR y el %IT, y de la influencia de los HMA en la absorción de P. Sin embargo, en el Capítulo III (Figura 4.15) se observó ausencia de relación entre NAN_{MT} y %AR y entre NAN_{MT} y %IT, aunque NAN_{MT} sí se relacionó con otras variables asociadas a los HMA como el contenido de PSRG-FE (Figura 4.5) y el logaritmo decimal del ESP (log ESP, Figura 4.10).



Figura 5.4: Relación entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (NAN_{MT}) en 0-5 (a, b) y 0-20 cm (c, d) y fósforo total en planta entera 0N (PTP) acumulado (PTPa [a, c]) y en concentración (PTPc [b, d]) para el año 2018. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n = 24.

Por otro lado, contrariamente a lo esperado, %IT y %AR no estuvieron relacionados con PTP (*i.e.* PTPa y PTPc), ni con RG_{0N}, BA_{0N} y R_{TA} (datos no mostrados). Asimismo, el log ESP y PSRG-FE tampoco estuvieron relacionados con las variables medidas en los cultivos (datos no mostrados). Pellegrino *et al.* (2015) reportaron una asociación positiva entre el porcentaje de raíces colonizadas con HMA nativos del suelo y el rendimiento en grano y el contenido de PTP en trigo. Asimismo, se ha informado de un efecto positivo de los HMA sobre la biomasa aérea total (Duan *et al.*, 2015; Pellegrino *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2015) y el contenido de PTP (Duan *et al.*, 2015; Pellegrino *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2015). No obstante, en coincidencia con lo observado en este trabajo, otros autores han reportado ausencia de relación entre el porcentaje de raíces colonización micorrícica sobre el crecimiento y el rendimiento en grano de trigo y cebada (Li *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2011; Campos *et al.*, 2018; García de León *et al.*, 2020). Se ha informado que los cultivos de trigo y

cebada presentan una respuesta en crecimiento, rendimiento en grano y PTP a la micorrización muy variable, siendo generalmente baja y, a veces incluso, mostrando efectos negativos en el crecimiento de las plantas debido a una importante translocación de fotosintatos al hongo (Campos *et al.*, 2018). Además, si bien el trigo y la cebada son especies altamente micotróficas, dado que presentan sistemas radicales muy desarrollados (alta abundancia, densidad y longitud), los beneficios de la micorrización en la absorción de P no son tan evidentes como en especies vegetales con sistemas radicales poco desarrollados (Campos *et al.*, 2018). Asimismo, el efecto de la micorrización sobre el crecimiento y el rendimiento en grano es menos marcado en plantas crecidas en condiciones de campo y colonizadas con HMA nativos (*i.e.* no inoculadas) (Zhang *et al.*, 2019a).

Además, otros factores que no fueron controlados en este trabajo tienen influencia sobre el efecto de los HMA en los cultivos, como el cultivo antecesor inmediato (García González et al., 2016), la especie de HMA involucrada en la simbiosis (Duan et al., 2015; Pellegrino et al., 2015; Campos et al., 2018) y, principalmente, la concentración de P_{EXT} (Covacevich et al., 2007; Pellegrino et al., 2015; Campos et al., 2018). La absorción de P por la planta a través de la simbiosis micorrícica y la respuesta en crecimiento y rendimiento de trigo y cebada a la micorrización disminuyen con el incremento en la disponibilidad de P (Campos et al., 2018). Los suelos de los 8 ensayos de 2018 presentaron niveles de P_{EXT} entre 10,1 y 31,4 mg kg⁻¹, estando en 5 ensayos por encima del umbral establecido para trigo y cebada para alcanzar el rendimiento máximo económico (*i.e.* 18-20 mg kg⁻¹, García et al., 2014). Si bien se ha reportado que la colonización micorrícica disminuye con el aumento de PEXT hasta un nivel de 27 mg kg⁻¹, a partir del cual se estabiliza en un 10% (Covacevich et al., 2007), el %IT y el %AR fueron elevados (*i.e.* entre 65,1 y 78,2 %IT y entre 44,1 y 65,7 %AR, Capítulo III, Figura 4.12). Esto indica que los niveles de PEXT más altos del rango mencionado, no deprimieron la colonización micorrícica de las raíces de trigo y cebada, a pesar del costo energético que la simbiosis tiene para las plantas (García et al., 2015). La ausencia de colonización micorrícica en plantas capaces de establecer simbiosis con HMA, como el trigo y la cebada, es inusual en condiciones naturales, a pesar de los elevados niveles de PEXT (Campos et al., 2018). No obstante, la contribución de las micorrizas a la nutrición fosforada de las plantas es más evidente en suelos con deficiencias de P (García et al., 2014; Williams et al., 2017). En suelos con elevados niveles de PEXT, la disponibilidad de P para el cultivo es suficiente y los HMA pierden protagonismo en la nutrición fosforada de los cultivos. De esta manera,

como los beneficios de la planta se vuelven menos importantes al aumentar la fertilidad del suelo, la relación mutualista entre las raíces de las plantas y los HMA puede convertirse en una relación parasitaria, es decir que el hongo se convierte en un parásito de la planta hospedante (Cano, 2011), aunque la translocación de compuestos carbonados de la planta al hongo disminuye (Williams *et al.*, 2017).

Por lo tanto, los resultados observados sugieren que la relación entre NAN_{MT} y PTPa (Figura 5.4a, c) no podría ser atribuida al efecto de la simbiosis micorrícica en la absorción de P. El incremento en la BA_{0N} está asociado a un aumento en la demanda de P por el cultivo. El tipo de relación establecida entre NAN_{MT} y BA_{0N} (Figura 5.3b, e) y la relación positiva entre NAN_{MT} y PTPa (Figura 5.4a, c), y el hecho de que el PTPc se mantuviera constante con el aumento del NAN_{MT} (Figura 5.4b, d), indica que las distintas fuentes de P en el suelo fueron capaces de suministrar el P demandado por el cultivo para su crecimiento. Esto puede haberse debido a los relativamente elevados valores de P_{EXT} y, posiblemente también, a un aumento de la mineralización de P orgánico, asociada a un aumento de NAN_{MT}. La estrecha relación entre NAN_{MT} y la materia orgánica particulada (Domínguez *et al.*, 2016, Capítulo II, Figura 3.9) y, a su vez, de esta última con la mineralización de P orgánico (Wyngaard *et al.*, 2013, 2016) sugieren que un aumento de NAN_{MT} podría asociarse a una mayor disponibilidad de P para los cultivos.

5.3.3. Macroagregados

El NAN_{MA} estuvo positiva y estrechamente correlacionado con el NAN_{MT} tanto para los suelos de los ensayos del año 2016 (r=0,85 en 0-5 cm y r=0,81 en 0-20 cm) como para los del año 2018 (r=0,84 en 0-5 cm y r=0,87 en 0-20 cm). Esto sugiere que, de manera similar a lo observado en los Capítulos II (Sección 3.3.2) y III (Sección 4.3.2) en los que las relaciones de las variables medidas en el suelo con NAN_{MA} fueron similares a las obtenidas con NAN_{MT}, NAN_{MA} tendría el mismo comportamiento que NAN_{MT} al relacionarse con las variables medidas en los cultivos. El NAN_{MA} en 0-5 y 0-20 cm presentó relaciones similares con RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N} y PTPa para el año 2018 (Figura 5.5) que las obtenidas para NAN_{MT} (Figuras 5.3 y 5.4). Las relaciones entre NAN_{MA} en 0-5 cm y las variables de cultivos presentaron, en general, menores R² que las de NAN_{MA} en 0-20 cm con las mismas variables. Asimismo, de forma similar a NAN_{MT}, el NAN_{MA} tampoco estuvo relacionado con R_{TA} (datos no mostrados).

Los resultados indican que, en condiciones favorables para el desarrollo del cultivo, el NAN_{MA} sería un buen indicador de la capacidad del suelo de proveerle N durante el ciclo de crecimiento. El NAN_{MA} se relacionó algo mejor con BA_{0N} (mayor pseudo-R², menor AIC y BIC, Figura 5.5b, f) que NAN_{MT} (Figura 5.3b, e). Sin embargo, el NAN_{MA} no fue mejor indicador de RG_{0N} (menor pseudo-R², mayor AIC y BIC, Figura 5.5a, e) que NAN_{MT} (Figura 5.3a, d), que es la principal variable de interés agronómico. Asimismo, NAN_{MA} tampoco fue mejor indicador de NTP_{0N} (Figura 5.5c, g) y PTPa (Figura 5.5d, h) que NAN_{MT} (Figura 5.3c, f, para NTP_{0N} y Figura 5.4a, c para PTPa).



Figura 5.5: Relaciones entre nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en macroagregados de 2 a 8 mm (NAN_{MA}) en 0-5 (a, b, c, d) y 0-20 cm (e, f, g, h) y rendimiento en grano sin agregado de N (0N) (RG_{0N}) (a, e), biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) (b, f), y contenido de N (NTP_{0N}) (c, g) y fósforo total acumulado en planta entera 0N (PTPa) (d, h) para el año 2018. AIC: criterio de información de Akaike, BIC: criterio de información Bayesiano. n = 24.

5.4. Conclusión

Para las condiciones en las que se desarrolló este trabajo, los resultados obtenidos permitieron apoyar parcialmente la primera hipótesis, ya que el NAN_{MT} se relacionó con RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N} y PTP en determinadas condiciones edafo-climáticas (año 2018). No obstante, no se relacionó con R_{TA}. El NAN_{MT} explicó adecuadamente la variabilidad del RG_{0N}, lo que demuestra la importancia del NAN_{MT} como indicador de la capacidad del suelo de proveer N a los cultivos.

Respecto a la segunda hipótesis, los resultados permitieron apoyarla parcialmente, dado que NAN_{MA} se relacionó algo mejor con BA_{0N}. Sin embargo, NAN_{MA} no fue mejor indicador de NTP_{0N}, PTPa ni de RG_{0N} que el NAN_{MT}. Por ello, y considerando que el RG_{0N} es el parámetro de mayor importancia en los cultivos, y que NAN_{MT} explicó relativamente mejor el RG_{0N} que el NAN_{MA}, no sería necesario complejizar metodológicamente la determinación de NAN para reflejar de manera más precisa la capacidad del suelo de proveer N a los cultivos.

6. SÍNTESIS FINAL

En esta tesis se planteó como objetivo general evaluar la utilidad del nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis (NAN) determinado en la masa total del suelo (NAN_{MT}) y en macroagregados (NAN_{MA}) como indicador de salud edáfica (ISE). Para Molisoles del sudeste bonaerense (SEB), sin erosión ni riego, con texturas franco, franco arenosa, franco arcillo arenosa y franco arcillosa, el NANMT es un adecuado indicador de salud edáfica (ISE) para ser utilizado en monitoreos de rutina. Esta afirmación se fundamenta en que el NAN_{MT} cumple con todos los reguisitos para ser considerado un adecuado ISE descriptos por Doran y Parkin (1986). Los ISE son parámetros edáficos que deben ser sensibles a las prácticas de manejo (Doran y Parkin, 1986). El NAN_{MT} es sensible a las prácticas de manejo y a los cambios en el uso del suelo (Capítulo II, Domínguez et al., 2016; García et al., 2016; Rivero et al., 2020), indicando de esta manera cambios en la salud del suelo. Asimismo, el NAN_{MT} no presenta cambios estacionales de gran magnitud (Studdert et al., 2015) ni en respuesta a efectos de corto plazo que no modifican la salud del suelo (García et al., 2016). No obstante, además de lo mencionado, para que un parámetro edáfico pueda ser considerado un adecuado ISE para ser utilizado en monitoreos de rutina, debe ser sencillo y económico de determinar y fácil de interpretar (Doran y Parkin, 1986). La determinación del NAN_{MT} es sencilla, rápida y segura para el operario, tiene requerimientos mínimos de reactivos, económicos y fáciles de obtener, y de equipamiento básico para un laboratorio de suelos, dado que sólo debe determinarse N-NH4⁺. Es así que el NANMT es una metodología de fácil implementación para los laboratorios comerciales. Además, el NAN_{MT} es un parámetro que ya es determinado por muchos laboratorios de la Región Pampeana Argentina y los productores y asesores profesionales del sector agropecuario lo utilizan rutinariamente como herramienta para el diagnóstico de la fertilidad nitrogenada del suelo para ciertos cultivos. Asimismo, el resultado de NAN_{MT} es fácil de interpretar por quienes deben utilizarlo. Por último, un adecuado ISE debe relacionarse con otras propiedades edáficas y/o funciones del suelo (Doran y Parkin, 1986). Así, la relación del NAN_{MT} con otras propiedades y/o funciones del suelo es una de las características más importantes para ser utilizado como ISE (Figura 6.1). De esta manera, a partir de una medición sencilla y económica de un solo parámetro, puede inferirse de manera aproximada sobre el valor de otras variables del suelo sin la necesidad de medirlas para tener un diagnóstico temprano de la salud del suelo.



Figura 6.1: Nitrógeno (N) mineralizado en anaerobiosis en la masa total del suelo (MT) (NAN_{MT}) en 0-20 cm, como indicador de propiedades edáficas. En sombreado gris se indican las relaciones observadas en esta Tesis entre NAN_{MT} y diferentes propiedades (COT_{MT}: carbono orgánico [CO] total en MT, COP_{MT}: CO particulado en MT, EA: estabilidad de agregados, PSRG-FE: proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles, log ESP: logaritmo decimal del número de esporas de hongos micorrícicos, RG_{0N}: rendimiento en grano sin fertilización con N [0N], BA_{0N}: biomasa aérea total ON, NTP_{0N}: N total acumulado en planta entera ON, PTPa: fósforo total acumulado en planta entera 0N). Sin sombreado gris (*¹ y *²) se muestran las relaciones tomadas de la bibliografía entre NAN_{MT} y N₀ (N potencialmente mineralizable, Carciochi *et al.*, 2009) y S₀ (azufre potencialmente mineralizable, Carciochi *et al.*, 2018). R²: coeficientes de determinación (o pseudo-R²) y r: coeficientes de correlación de Pearson.

En el Capítulo II de esta Tesis, se observó que el NAN_{MT} se relacionó estrechamente con el carbono (C) orgánico total y el particulado de la masa total del suelo (COT_{MT} y COP_{MT} , respectivamente) en 0-5 y 0-20 cm (Figura 6.1) de profundidad, confirmando

lo reportado previamente por otros autores en un rango de situaciones edafo-climáticas muy estrecho (Domínguez *et al.*, 2016; Rivero *et al.*, 2018). Así, el NAN_{MT} puede ser utilizado como indicador de dos variables bioquímicas, el COT_{MT} y el COP_{MT}, que están estrechamente relacionadas con todas las funciones del suelo (Lal, 2010). Aumentos de NAN_{MT} indicaron aumentos de COT_{MT} y de COP_{MT} tanto en lotes de producción agrícola (LPA) como en pseudoprístinos (PRIS). Los aumentos fueron de 0,2 g kg⁻¹ para COT_{MT} y de 0,1 g kg⁻¹ para COP_{MT} por cada unidad de aumento de NAN_{MT}, tanto en 0-5 como en 0-20 cm.

El NAN_{MT} se relacionó estrechamente con la estabilidad de agregados (EA) en 0-5 y en 0-20 cm (Figura 6.1, Capítulo II). La EA define la salud física del suelo (Aparicio y Costa, 2007) dado que se relaciona con la arquitectura del sistema poroso, la densidad aparente y la infiltración (Rabot *et al.*, 2018). Además, la EA influye sobre otras propiedades como la resistencia a la erosión, el ciclado de nutrientes, la protección de la materia orgánica y la penetración de las raíces (Rabot *et al.*, 2018). Sin embargo, a pesar de la importancia de la EA, dada la complejidad de la toma de muestras y la determinación, la metodología de la EA no es realizada por los laboratorios comerciales. Así, el NAN_{MT} puede ser usado como un adecuado indicador de la salud física del suelo y permitiría diagnosticar problemas en ciertas funciones edáficas que, en general, no son monitoreadas en los sistemas de producción. Un aumento de NAN_{MT} indicó un aumento de la EA para suelos del SEB (García *et al.*, 2020), tanto en LPA como en PRIS. La masaMA_{MV} aumentó 0,2 g (100 g)⁻¹ en 0-5 cm y 0,4 g (100 g)⁻¹ en 0-20 cm por cada unidad de aumento de NAN_{MT}.

En el Capítulo III se observó que el NAN_{MT} se relacionó con parámetros asociados a la actividad y la abundancia de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) como el contenido de proteínas del suelo relacionadas a glomalina fácilmente extraíbles (PSRG-FE) y el número de esporas de HMA (ESP) (Figura 6.1), aunque no se relacionó con el porcentaje de raíces colonizadas con HMA. De esta manera, el NAN_{MT} es también un indicador de un aspecto de la salud microbiológica del suelo, lo que contribuye a mejorar su desempeño como ISE. Los HMA son importantes factores de la salud del suelo a través de su efecto sobre la fisiología de la planta, las interacciones ecológicas del suelo, y su contribución al secuestro de C y la estructura (Rillig, 2004). Por ello, es importante el monitoreo de la abundancia y la actividad de HMA nativos. Sin embargo, éste no es realizado por actores del sector agropecuario. Además, los métodos de estimación de la abundancia de HMA suelen ser tediosos y

subjetivos, lo que lleva a resultados erróneos y poco precisos (Nichols y Wright, 2004), mientras que la determinación de PSRG-FE es poco precisa (Rosier *et al.*, 2006) y costosa. Si bien el desempeño de NAN_{MT} como indicador del contenido de PSRG-FE y de la abundancia de HMA fue inferior al que presentó como indicador del COT_{MT}, el COP_{MT} y la EA, el NAN_{MT} permitiría inferir también, aunque de manera aproximada, sobre el contenido de PSRG-FE y la abundancia de HMA. No obstante, debe considerarse que en la capa de 0-20 cm, donde frecuentemente los productores realizan la determinación de NAN_{MT}, las relaciones mencionadas fueron más débiles (Figura 6.1) que en la capa superficial (0-5 cm, Capítulo III).

Dado que la salud del suelo es uno de los numerosos factores que limitan la productividad de los cultivos, es importante que un ISE se relacione también con parámetros que caractericen aspectos productivos de aquéllos. En el Capítulo IV de esta Tesis, se observó que el NAN_{MT} en 0-20 cm (Figura 6.1), y en menor medida el NAN_{MT} en 0-5 cm, se relacionó con el rendimiento en grano sin fertilización con N (0N) (RG_{0N}), la biomasa aérea total 0N (BA_{0N}) y el contenido total acumulado en planta entera de N y de fósforo (P) (NTP_{0N} y PTPa, respectivamente) en cereales de invierno. Esto confirma que el NAN_{MT}, como indicador de la mineralización de N, dada su estrecha relación con el N potencialmente mineralizable (N₀) (Figura 6.1, Schomberg *et al.*, 2009), es un adecuado indicador de la capacidad del suelo de proveer N a los cultivos. Además, la relación observada entre PTPa y NAN_{MT} sugiere que este último podría ser también un indicador de la capacidad de proveer P a los cultivos. Sin embargo, contrariamente a lo esperado, NAN_{MT} no se relacionó con respuesta en rendimiento en grano a la fertilización nitrogenada (R_{TA}).

Si bien el NAN_{MA} estuvo relacionado con COT_{MT} , COP_{MT} , EA, PSRG-FE, log ESP, RG_{0N}, BA_{0N}, NTP_{0N} y PTPa no fue mejor indicador de la salud bioquímica, física y microbiológica del suelo ni de la productividad de los cereales de invierno que el NAN_{MT}. Los resultados obtenidos son promisorios ya que demuestran que con una determinación sencilla en la masa total del suelo, que ya es realizada por muchos laboratorios comerciales, es suficiente para tener un diagnóstico preciso del estatus de diferentes aspectos de la salud edáfica.

De esta manera, un parámetro que frecuentemente utilizan los productores y/o asesores agropecuarios con el único objetivo de diagnosticar la fertilidad del suelo (Reussi Calvo *et al.*, 2013, Reussi Calvo, Wyngaard *et al.*, 2018; Orcellet *et al.*, 2017; Carciochi *et al.*, 2018), podrá ser utilizado también para el seguimiento rutinario de posibles cambios en otros aspectos de la salud edáfica (Figura 6.1). Los modelos

desarrollados en esta Tesis para predecir el contenido de COT_{MT} y de COP_{MT} y la EA a partir del NAN_{MT} (Capítulo II) brindarán un diagnóstico temprano y preliminar de la salud del suelo a través de la estimación de esas variables, sin la necesidad de medirlas en forma rutinaria. Esto proveería información rápida, sencilla y sin costo adicional para permitir la planificación de prácticas de manejo para mejorar o mantener la salud del suelo, ya que todas aquellas prácticas que condujeran a incrementar el NAN_{MT}, incrementarían también el COT_{MT}, el COP_{MT} y la EA. Adicionalmente, las relaciones observadas entre NAN_{MT} y aspectos asociados a la actividad y abundancia de HMA, contribuyen a la evaluación del estatus de un aspecto microbiológico de la salud edáfica.

Futuras investigaciones deberían evaluar el desempeño del NAN_{MT} como ISE en un rango más amplio de situaciones edáficas (i.e. textura y situaciones de manejo). Además, es necesario continuar y ampliar la evaluación de las relaciones entre NAN_{MT} y aspectos asociados con los HMA, en lo que respecta a otras fracciones de PSRG así como otras metodologías para su cuantificación, y la abundancia y la actividad de HMA evaluada en un mayor número de situaciones de manejo y de tipos de suelo. Asimismo, sería deseable poder relacionar NAN_{MT} con otros aspectos microbiológicos postulados como ISE que son de difícil determinación para su uso rutinario (respiración, actividad enzimática, biomasa microbiana, entre otros). Del mismo modo, relaciones entre NAN_{MT} y otras variables físicas y bioquímicas asociadas a la salud del suelo, así como el uso de índices funcionales que incluyan al NAN_{MT} podrían ser evaluados para sumar atributos que caractericen el desempeño del NAN_{MT} como ISE. Además, para la planificación y toma de decisiones de prácticas de manejo que conduzcan a una mejora de la salud del suelo, sería importante contar con un umbral de NAN_{MT} por debajo del cual, las funciones del suelo se verían afectadas y en qué magnitud, afectando la provisión adecuada de servicios ecosistémicos.

7. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA GENERADA

7.1. Revistas científicas con referato

- García, G.V.; Tourn, S.N.; Roldán, M.F.; Mandiola, M.; Studdert, G.A. 2020. Simplifying the determination of aggregate stability indicators of Mollisols. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 51:481-490. DOI: 10.1080/00103624.2020.1717513.
- García, G.V.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; San Martino, S.; Covacevich, F.; Studdert, G.A. 2020. Soil survey reveals a positive relationship between aggregate stability and anaerobic mineralizable nitrogen. Ecol. Ind. 117, 106640. DOI: 10.1016/j.ecolind.2020.106640.
- García, G.V.; Campos, M.E.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; San Martino, S.; Covacevich, F.; Studdert, G.A. 2021. Anaerobically mineralized nitrogen within macroaggregates as a soil health indicator. Catena 198:105034. DOI: 10.1016/j.catena.2020.105034

7.2. Contribuciones en congresos científicos

7.2.1. Nacionales

- García, G.V.; Studdert, G.A.; San Martino, S.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Covacevich, F. 2018. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis como indicador de la estabilidad de agregados. En: Actas 26° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Tucumán, Argentina, mayo 2018. En CD.
- García, G.V.; Studdert, G.A.; San Martino, S.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Covacevich, F. 2018. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados como indicador de salud edáfica. En: Actas 26° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Tucumán, Argentina, mayo 2018. En CD.
- Studdert, G.A.; García, G.V.; Crespo, C.; Tourn, S.N.; Rivero, C.; Barraco, M.R.; Barbieri P.A.; Wyngaard, N. 2020. Validación de un modelo para predecir la estabilidad de agregados a partir del nitrógeno mineralizado en anaerobiosis. En: Actas 27° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Corrientes, Argentina, octubre 2020. En CD.
- García, G.V.; Covacevich, F.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo N.I.; San Martino, S.; Studdert, G.A. 2020. Glomalina, ¿un factor determinante de la estabilidad de agregados en suelos del sudeste bonaerense? En: Actas 27° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Corrientes, Argentina, octubre 2020. En CD.
- García, G.V.; Covacevich, F.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo N.I.; San Martino, S.; Studdert, G.A. 2020. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis, ¿un indicador del contenido de glomalina? En: Actas 27° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Corrientes, Argentina, octubre 2020. En CD.
- García, G.V.; Reussi Calvo N.I.; Wyngaard, N.; Covacevich, F.; San Martino, S.; Studdert, G.A. 2020. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados como indicador de la provisión de nitrógeno del suelo. En: Actas 27° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Corrientes, Argentina, octubre 2020. En CD.

7.2.2. Internacionales

García, G.V.; San Martino, S.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Covacevich, F.; Studdert, G.A. 2019. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis: ¿un indicador de la

estabilidad de agregados? En: Actas 22° Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Montevideo, Uruguay, octubre 2019. En CD.

- García, G.V.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Covacevich, F.; Studdert, G.A. 2019. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis en macroagregados como indicador de salud edáfica. En: Actas 22° Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Montevideo, Uruguay, octubre 2019. En CD.
- García, G.V.; Campos, M.E.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Studdert, G.A. 2019. Carbono orgánico particulado de los macroagregados: ¿un mejor indicador de la estabilidad de agregados que el de la masa total del suelo? En: Actas 22° Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Montevideo, Uruguay, octubre 2019. En CD.
- García, G.V.; Tourn, S.N., Roldán, M.F.; Mandiola, M.; Studdert, G.A. 2019. Dos indicadores sencillos para predecir la estabilidad de agregados. En: Actas 22° Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Montevideo, Uruguay, octubre 2019. En CD.

7.3. Artículos de divulgación

- García, G.V. 2018. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis como indicador de salud edáfica. Ciencia en Red, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Provincia de Buenos Aires.
- García, G.V.; Studdert, G.A. 2018. ¿Conocemos el estado de salud de nuestro suelo? ¿Y si se le hacemos una "revisión médica"? Visión Rural 25:25-27.
- García, G.V.; Studdert, G.A. 2018. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis como indicador de salud edáfica. [en línea] Conciencia, Espacio de Investigación, Secretaría de Ciencia y Técnica, FCA, UNMdP. <<u>http://fca.mdp.edu.ar/sitio/wpcontent/uploads/2018/11/TCC002-Nitrogeno-anaerobiosis-Garcia-Studdert.pdf</u>> [consulta: 04 noviembre 2018].
- García, G.V.; Studdert, G.A.; San Martino, S.; Wyngaard, N.; Reussi Calvo, N.I.; Covacevich, F. 2018. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis como indicador de la estabilidad de agregados. [en línea] Nuestro Suelo. <<u>http://www.suelos.org.ar/sitio/wp-content/uploads/2018/12/revista-web.pdf</u>> [consulta: 15 noviembre 2018].
- García, G.V.; Studdert, G.A. 2018. El NAN, un aliado para monitorear la salud de los suelos en el sudeste bonaerense. Red de innovadores 168:18-21.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abbate, P.E. 2017. Bases ecofisiológicas del manejo del cultivo de trigo en la región pampeana. En: Divito, G.A.; García, F.O. (eds.) Manual del Cultivo de Trigo. Acassuso, Buenos Aires, Argentina: International Plant Nutrition Institute, pp 33-52.
- Adhikari, K.; Hartemink, A.E. 2016. Linking soils to ecosystem services A global review. Geoderma 262:101-111. DOI: 10.1016/j.geoderma.2015.08.009.
- Agostini, M.A.; Studdert, G.A.; Domínguez, G.F. 2012. Relación entre el cambio en el diámetro medio de agregados y el carbono orgánico y sus fracciones. En: Actas 19° Congreso Latinoamericano y 23° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Mar del Plata, Argentina, abril 2012.
- Agostini, M.A.; Monterubbianesi, M.G.; Studdert, G.A.; Maurette, S. 2014. Un método simple y práctico para la determinación de densidad aparente. Ciencia del Suelo. 32:171-176.
- Aparicio, V.C.; Costa, J.L. 2007. Soil quality indicators under continuous cropping systems in the Argentinean Pampas. Soil Tillage Res. 96:155-165. DOI: 10.1016/j.still.2007.05.006.
- Arshad, M.A.; Martin, S. 2002. Identifying critical limits for soil quality indicators in agroecosystems. Agric. Ecosyst. Environ. 88:153-160. DOI: 10.1016/S0167-8809(01)00252-3.
- Batallanez, E. 1972. Capacidad de almacenaje de humedad para cuatro series de suelos del S.E. de la Provincia de Buenos Aires. Tesis Ingeniero Agrónomo. Balcarce, Buenos Aires, Argentina: Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Mar del Plata. 72 p.
- Barbieri, P.A.; Echeverría, H.E.; Sainz Rozas, H.R. 2012. Alternatives for nitrogen diagnosis for wheat with different yield potentials in the humid pampas of Argentina. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 43:1512-1522. DOI: 10.1080/00103624.2012.675388.
- Becerra, A.; Cabello, M.; Zak, M.; Bartoloni, N. 2009. Arbuscular mycorrhizae of dominant plant species in Yungas forests, Argentina. Mycologia 101:612-621. DOI: 10.3852/08-176.
- Bedini, S.; Avio, L.; Argese, E.; Giovannetti, M. 2007. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. Agric., Ecosyst. Environ. 120:463-466. DOI: 10.1016/j.agee.2006.09.010.
- Bedini, S.; Pellegrino, E.; Avio, L.; Pellegrini, S.; Bazzoffi, P.; Argese, E.; Giovannetti, M. 2009. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. Soil Biol. Biochem. 4:1491-1496. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.04.005.
- Bedini, S.; Avio, L; Sbrana, C.; Turrini, A.; Migliorini, P.; Vazzana, C.; Giovannetti, M. 2013. Mycorrhizal activity and diversity in a long-term organic Mediterranean agroecosystem. Biol Fertil Soils. DOI: 10.1007/s00374-012-0770-6.
- Bell, M.J.; Strong, W.; Elliott, D.; Walker, C. 2013. Soil nitrogen-crop response calibration relationships and criteria for winter cereal crops grown in Australia. Crop Pasture Sci. 64:442–460. DOI: 10.1071/CP12431.
- Bethlenfalvay, G.J.; Linderman, R.G. 1992. Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Madison, WI: ASA.CSSA.SSSA. ASA Special Publication; 54. 124 p.

- Blanco-Canqui, H.; Schlegel, A.J.; Heer, W.F. 2011. Soil-profile distribution of carbon and associated properties in no-till along a precipitation gradient in the central Great Plains. Agric. Ecosyst. Environ. 144:107-116. DOI: 10.1016/j.agee.2011.07.004.
- Bremner, J.M.; Mulvaney, Y.C. 1982. Nitrogen total. In: Page, A.L. (ed). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. (2nd ed.). Madison, WI: ASA.SSSA. Agronomy Monograph 9. pp. 595-624.
- Bronick, C.J.; Lal, R. 2005. Soil structure and management: a review. Geoderma 124:3-22. DOI: 10.1016/j.geoderma.2004.03.005.
- Brundrett, M.C. 2008. Mycorrhizal Associations: The Web Resource. Section 10. Methods for Identifying Mycorrhizas Recuperado de http://mycorrhizas.info/method.html.
- Cambardella, C.A.; Elliott, E.T. 1992. Particulate soil organic matter. Changes across a grassland cultivation sequence. Soil Sci. Soc. Am. J. 56:777-783. DOI: 10.2136/sssaj1992.03615995005600030017x.
- Cambardella, C.; Elliott, E. 1993. Carbon and nitrogen distribution in aggregates from cultivated and native grassland soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 57:1071-1076. DOI: 10.2136/sssaj1993.03615995005700040032x.
- Campos, P.; Borie, F.; Cornejo, P.; López-Ráez, J.A.; López-García, A.; Seguel, A. 2018. Phosphorus acquisition efficiency related to root traits: is mycorrhizal symbiosis a key factor to wheat and barley cropping? Front. Plant Sci. 9:752. DOI: 10.3389/fpls.2018.00752.
- Cano, M.A. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. Rev. U.D.C.A. Act. Div. Cient. 14:15-31.
- Carciochi, W.D.; Wyngaard N.; Divito, G.A.; Cabrera, M.L; Reussi Calvo, N.I.; Echeverría, H.E. 2018. A comparison of indexes to estimate corn S uptake and S mineralization in the field. Biol. Fert. Soils 54:349-362. DOI: 10.1007/s00374-018-1266-9.
- Carpaneto, B.; Lanzavecchia, L. 2016. Informe agropecuario mensual. INTA Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. RIAN N°122. 12 p.
- Chaplot, V.; Cooper, M. 2015. Soil aggregate stability to predict organic carbon outputs from soils. Geoderma 243-244:205-213. DOI: 10.1016/j.geoderma.2014.12.013.
- Chenu, C.; Cosentino, D. 2007. Microbial regulation of soil structural dynamics. In: Ritz, K.; Young, I. (eds.). The Architecture and Biology of Soils: Life in Inner Space. Wallingford, Oxfordshire, Reino Unido: CABI, pp. 37-70.
- Chenu, C.; Le Bissonais, Y.; Arrouays, D. 2000. Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. Soil Sci. Soc. Am. J. 64:1479-1486. DOI: 10.2136/sssaj2000.6441479x.
- Christensen, B.T. 2001. Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. Europ. J. Soil Sci. 52:345-353. DOI: 10.1046/j.1365-2389.2001.00417.x.
- Cosentino, D.; Chenu, C.; Le Bissonnais, I. 2006. Aggregate stability and microbial community dynamics under drying-wetting cycles in a silt loam soil. Soil Biol. Biochem. 38:2053-2062. DOI: 10.1016/j.soilbio.2005.12.022.
- Covacevich, F.; Consolo, F.V. 2014. Manual de protocolos. Herramientas para el estudio y manipulación de hongos micorrícicos arbusculares y *Trichoderma*. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de Mar del Plata. 115 p.

- Covacevich, F.; Echeverría, H.E. 2000. Caracterización química y biológica de un Hapludol bajo diferentes manejos. Ciencia del Suelo 18:144-148.
- Covacevich, F; Vargas Gil, S. 2014. Aporte de los microorganismos edáficos a la nutrición vegetal. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. (2ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 101-129.
- Covacevich, F.; Marino, M.A.; Echeverría, H.E. 2006. The phosphorus source determines the arbuscular mycorrhizal potential and the native mycorrhizal colonization of tall fescue and wheatgrass. Europ. J. Soil Biol. 42:127-138. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2005.12.002.
- Covacevich, F.; Echeverría, H.; Aguirrezabal, L.A.N. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization of field and glasshousegrown spring wheat from Argentina. Appl. Soil Ecol. 35:1-9. DOI: 10.1016/j.apsoil.2006.06.001.
- Covacevich, F.; Sainz Rozas, H.; Barbieri, P.; Echeverría, H. 2008. Crecimiento y micorrización arbuscular nativa de trigo en siembra directa bajo distintas formas de colocación de fósforo. Ciencia del Suelo 26:169-175.
- Covacevich, F.; Eyherabide, M.; Sainz Rozas, H.; Echeverría, H.E. 2012. Características químicas determinan la capacidad micotrófica arbuscular de suelos agrícolas y prístinos de Buenos Aires (Argentina). Ciencia del Suelo 30:119-128.
- De Oliveira Ferreira, A.; De Moraes Sá, J.C.; Lal, R.; Tivet, F.; Briedis, C.; Inagaki, T.M.; ...; Romaniwa, J. 2018. Macroaggregation and soil organic carbon restoration in a highly weathered brazilian Oxisol after two decades under no-till. Sci. Total Environ. 621:1559-1567. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.072.
- Diovisalvi, N.V.; Studdert, G.A.; Reussi-Calvo, N.I.; Domínguez, G.F.; Berardo, A. 2014. Estimating soil particulate organic carbon through total soil organic carbon content. Ciencia del Suelo 32:85-94.
- Dolan, M.S.; Clapp, C.E.; Allmaras, R.R.; Baker, J.M.; Molina, J. 2006. Soil organic carbon and nitrogen in a Minnesota soil as related to tillage, residue and nitrogen management. Soil Tillage Res. 89:221-231. DOI: 10.1016/j.still.2005.07.015.
- Domínguez, G.F.; Studdert, G.A.; Cozzoli, M.V.; Diovisalvi, N.V. 2006. Relación entre el nitrógeno potencialmente mineralizable y el rendimiento de maíz. En: Actas 22° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Salta-Jujuy, Argentina, septiembre 2006.
- Domínguez, G.F.; Diovisalvi, N.V.; Studdert, G.A.; Monterubbianesi, M.G. 2009. Soil organic C and N fractions under continuous cropping with contrasting tillage systems on mollisols of the southeastern pampas. Soil Tillage Res. 102:93-100. DOI: 10.1016/j.still.2008.07.020.
- Domínguez, G.F.; García, G.V.; Studdert, G.A.; Agostini, M.A.; Tourn, S.N.; Domingo, M.N. 2016. Is anaerobic mineralizable nitrogen suitable as soil quality/health indicator? Spanish J. Soil Sci. 6:82-97. DOI: 10.3232/SJSS.2016.V6.N2.01.
- Doran, J.W. 2002. Soil health and global sustainability: translating science into practice. Agric. Ecosyst. Environ. 88:119-127. DOI: 10.1016/S0167-8809(01)00246-8.
- Doran, J.W.; Parkin, T.B. 1996. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In: Doran, J.W.; Jones, A.J. (eds.) Methods for assessing soil quality. Madison, WI: Soil Sci. Soc. Am.; SSSA Special Publication N° 49, pp. 25-37.

- Driver, J.D.; Holben, W.E.; Rillig, M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 37:101-106. DOI: 10.1016/j.soilbio.2004.06.011.
- Drobnik, T.; Greiner, L.; Keller, A.; Grêt-Regamey, A. 2018. Soil quality indicators -From soil functions to ecosystem services. Ecol. Ind. 94:151-169. DOI: 10.1016/j.ecolind.2018.06.052.
- Durán, A.; Morrás, H.; Studdert, G.; Xiaobing, L. 2011. Distribution, Properties, Land Use and Management of Mollisols in South America. Chin. Geogra. Sci. 21:511-530. DOI: 10.1007/s11769-011-0000-0.
- Duval, M.E.; Galantini, J.A.; Iglesias, J.O.; Canelo, S.; Martínez, J.M.; Wall, L. 2013. Analysis of organic fractions as indicators of soil quality under natural and cultivated systems. Soil Tillage Res. 131:11-19. DOI: 10.1016/j.still.2013.03.001.
- Duval, M.E.; Galantini, J.A.; Martínez, J.M.; López, F.M.; Wall, L.G. 2015. Evaluación de la calidad física de los suelos de la región pampeana: efecto de las prácticas de manejo. Ciencias Agronómicas XXV:033-043.
- Echeverría, H.E.; Sainz Rozas, H.R. 2014. Nitrógeno. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. (2ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 189-228.
- Echeverría, H.E.; San Martín, N.F.; Bergonzi, R. 2000. Métodos rápidos de estimación de nitrógeno potencialmente mineralizable en suelos. Ciencia del Suelo 18:9-16.
- Ellert, B.; Janzen, H.; Vandenbygaart, A.; Bremer, E. 2007. Measuring change in soil organic carbon storage. In: Carter, M.; Gregorich, E (eds.), Soil Sampling Methods of Analysis. (2nd ed.). Boca Raton, Florida, EEUU: CRC Press. pp. 25-38.
- Erktan, A.; Cécillon, L.; Graf, F.; Roumet, C.; Legout, C.; Rey, F. 2016. Increase in soil aggregate stability along a Mediterranean successional gradient in severely eroded gully bed ecosystems: combined effects of soil, root traits and plant community characteristics. Plant Soil. 398:121-137. DOI: 10.1016/j.geoderma.2016.02.025.
- Ezawa, T.; Yamamoto, K.; Yoshida, S. 2000. Species composition and spore density of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under different conditions of Pfertility as revealed by soybean trap culture. Soil Sci. Plant Nut. 46:291-297. DOI: 10.1080/00380768.2000.10408785.
- Ferrero Holtz, E.W.; Giuffré, L.; Ciarlo, E.; Moreno, G. 2019. Glomalin related soil protein (GRSP) content and their relationship with structure stability of soil aggregates from Carlos Casares, Argentina. J. Agric. Vet. Sci. 12:21-25. DOI: 10.9790/2380-1203032125.
- Fine, A.K.; Van Es, H.M.; Schindelbeck, R.R. 2017. Statistics, scoring functions, and regional analysis of a comprehensive soil health database. Soil Sci. Soc. Am. J. 81:589-601. DOI: 10.2136/sssaj2016.09.0286.
- Fokom, R.; Adamou, S.; Teugwa, M.C.; Begoude Boyogueno, A.D.; Nana, W.L.; Ngonkeu, M.E.L.; …; Amvam Zollo, P.H. 2012. Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. Soil Tillage Res. 120:69-75. DOI: 10.1016/j.still.2011.11.004.
- Franzluebbers, A. 2002. Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. Soil Tillage Res. 66:95-106. DOI: 10.1016/S0167-1987(02)00018-1.
- Franzluebbers, A.J.; Stuedemann, J.A. 2009. Soil profile organic carbon and total nitrogen during 12 years of pasture management in the Southern Piedmont USA. Agric. Ecosyst. Environ. 129:28–36. DOI: 10.1016/j.agee.2008.06.013.

- Galantini, J.A.; Senesi, N.; Brunetti, G.; Rosell, R. 2004. Influence of texture on organic matter distribution and quality and nitrogen and sulphur status in semiarid Pampean grassland soils of Argentina. Geoderma 123:143–152. DOI: 10.1016/j.geoderma.2004.02.008.
- Gao, Y.; Zong, J.; Que, H.; Zhou, Z.; Xiao, M.; Chen, S. 2017. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi increases glomalin related soil protein content and PAH removal in soils planted with *Medicago sativa* L. Soil Biol. Biochem. 115:148-151. DOI: 10.1016/j.soilbio.2017.08.023.
- García, F.O.; Reussi Calvo, N.I. 2014. Trigo. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. (2ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 401-434.
- García, F.O.; Picone, L.I.; Ciampitti, I.A. 2014. Fósforo. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. (2ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 229-264.
- García, G.V.; Studdert, G.A.; Domingo, M.N.; Domínguez, G.F. 2016. Nitrógeno mineralizado en anaerobiosis: relación con sistemas de cultivo de agricultura continua. Ciencia del Suelo 34:127-138.
- García, G.V.; Tourn, S.N.; Roldán, M.F.; Mandiola, M.; Studdert, G.A. 2020. Simplifying the determination of aggregate stability indicators of Mollisols. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 51, 481-490. DOI: 10.1080/00103624.2020.1717513.
- García, S.; Pezzani, F.; Rodríguez, A.; Del Pino, A. 2015. Micorrizas en gramíneas nativas: efecto de la fertilización fosfatada a largo plazo. Agrociencia Uruguay 20:7-16.
- García De León, D.; Vahter, T.; Zobel, M.; Koppel, M.; Edesi, L.; Davison, J.; ...; Öpik, M. 2020. Different wheat cultivars exhibit variable responses to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi from organic and conventional farms. Plos One 15, e0233878. DOI: 10.1371/journal.pone.0233878.
- García González, I.; Quemada, M.; Gabriel, J.L.; Hontoria, C. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal activity responses to winter cover crops in a sunflower and maize cropping system. Appl. Soil Ecol. 102:10-18. DOI: 10.1016/j.apsoil.2016.02.006.
- Gee, G.W.; Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. In: Blake, G.R.; Hartge, K.H. (eds.) Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods Agronomy Monograph 9. (2nd ed.). Madison, Wi.: ASA.SSSA, pp. 383-411.
- Gispert, M.; Emran, M.; Pardini, G.; Doni, S.; Ceccanti, B. 2013. The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity, glomalin content and aggregate stability. Geoderma 202-203:51-61. DOI: 10.1016/j.geoderma.2013.03.012.
- Goss, M.J.; Kay, B.D. 2005. Soil aggregation. In: Zobel, R.W.; Wright, S.F. (eds.) Roots and soil management: interactions between roots and the soil. Madison, WI.; ASA. SSSA. Agronomy Monograph; 48, pp. 163-180.
- Gregorich, E.G.; Beare, M.H.; McKim, U.F.; Skjemstad, J.O. 2006. Chemical and biological characteristics of physically uncomplexed organic matter. Soil Sci. Soc. Am. J. 70:975-985. DOI: 10.2136/sssaj2005.0116.
- Gregorutti, V.C.; Novelli, L.E.; Melchiori, R.J.M.; Ormaechea, M.V.; Caviglia, O.P. 2013. Nitrógeno incubado en anaerobiosis y su relación con el nitrógeno orgánico en diferentes fracciones. Ciencia del Suelo 31:1-11.

- Haynes, R.J.; Beare, M.H. 1997. Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions. Soil Biol. Biochem. 29:1647-1653. DOI: 10.1016/S0038-0717(97)00078-3.
- Haynes, R.J.; Francis, G.S. 1993. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. J. Soil Sci. 44:665-675. DOI: 10.1111/j.1365-2389.1993.tb02331.x.
- Haynes, R.J.; Swift, R.S.; Stephen, R.C. 1991. Influence of mixed cropping rotations (pasture-arable) on organic matter content, water stable aggregation and clod porosity in a group of soils. Soil Tillage Res. 19:77-87. DOI: 10.1016/0167-1987(91)90111-A.
- He, J.D.; Chi, G.G.; Zou, Y.N.; Shu, B.; Wu, Q.S.; Srivastava, A.K.; Kuča, K. 2020. Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in trifoliate orange. Appl. Soil Ecol. 154:103592. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103592.
- He, X.; Li, Y.; Zhao, L. 2010. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. in Mu Us sandland, China. Soil Biol. Biochem. 42:1313-1319. DOI: 10.1016/j.soilbio.2010.03.022.
- Hurisso, T.T.; Moebius-Clune, D.J.; Culman, S.W.; Moebius-Clune, B.N.; Thies, J.E.; Van Es; H.M. 2018. Soil protein as a rapid soil health indicator of potentially available organic nitrogen. Agric. Environ. Lett. 3:180006. DOI: 10.2134/ael2018.02.0006.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). 2009. Esquema 2 de norma IRAM-SAGPyA 29570-1. Determinación de fósforo extraíble en suelos Parte 1 Método Bray y Kurtz 1 modificado (extracción con solución de fluoruro de amonio ácido clorhídrico).
- Jamiołkowska, A.; Księżniak, A.; Gałązka, A.; Hetman, B.; Kopacki, M.; Skwaryło-Bednarz, B. 2017. Impact of abiotic factors on development of the community of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil: a review. Int. Agrophys. 32:133-140. DOI: 10.1515/intag-2016-0090.
- Janzen, H.H. 2006. The soil carbon dilemma: shall we hoard it or use it? Soil Biol. Biochem. 38:419-424. DOI: 10.1016/j.soilbio.2005.10.008.
- Kay, B.D. 1990. Rates of change of soil structure under different cropping systems. Adv. Soil Sci. 12:1-52. DOI: 10.1007/978-1-4612-3316-9_1
- Keeney, D.R. 1982. Nitrogen-availability indexes. In Page, A.L. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. (2nd ed.). Madison, WI: ASA.SSSA. Agronomy Monograph; 9, pp. 643-698.
- Keeney, D.R.; Nelson, D.W. 1982. Nitrogen inorganic forms. In: Page, A.L. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. (2nd ed.). Madison, WI: ASA, SSSA. Agronomy Monograph; 9. pp. 643-698.
- Khakpour, O.; Khara, J. 2012. Spore density and root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in some species in the northwest of Iran. Intl. Res. J. Appl. Basic. Sci. 3(5):977-982.
- King, A.E.; Congreves, K.A.; Deen, B.; Dunfield, K.E.; Voroney, R.P.; Wagner-Riddle, C. 2019. Quantifying the relationships between soil fraction mass, fraction carbon, and total soil carbon to assess mechanisms of physical protection. Soil Biol. Biochem. 135:95-107. DOI: 10.1016/j.soilbio.2019.04.019.
- Lal, R. 2010. Enhancing eco-efficiency in agro-ecosystems through soil carbon sequestration. Crop Sci. 50(Suppl.):S-120-S-131. DOI: 10.2135/cropsci2010.01.0012.

- Lal, R. 2015. The soil-peace nexus: our common future. Soil Sci. Plant Nut. 1-13. DOI: 10.1080/00380768.2015.1065166.
- Lal, R. 2018. Digging deeper: A holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems. Global Change Biol. 24:3285-3301. DOI: 10.1111/gcb.14054.
- Li, H.Y.; Zhu, Y.G.; Marschner, P.; Smith, F.A.; Smith, S.E. 2005. Wheat responses to arbuscular mycorrhizal fungi in a highly calcareous soil differ from those of clover, and change with plant development and P supply. Plant Soil 277:221-232. DOI: 10.1007/s11104-005-7082-7.
- Li, J.F.; Zhang, Y.; Zhao, Z.W. 2007. Arbuscular mycorrhizal colonization and spore density across different land-use types in a hot and arid ecosystem, Southwest China. J. Plant Nutr. Soil Sci. 170:419-425. DOI: 10.1002/jpln.200625034.
- Li, S.; Gu, X.; Zhuang, J.; An, T.; Pei, J.; Xie, H.; …; Wang, J. 2016. Distribution and storage of crop residue carbon in aggregates and its contribution to organic carbon of soil with low fertility. Soil Tillage Res. 155:199-206. DOI: 10.1016/j.still.2015.08.009.
- Liu, H.; Wang, X.; Liang, C.; Ai, Z.; Wu, Y.; Xu, H.; ...; Liu, G. 2020. Glomalin-related soil protein affects soil aggregation and recovery of soil nutrient following natural revegetation on the Loess Plateau. Geoderma 357:113921. DOI: 10.1016/j.geoderma.2019.113921.
- Liu, Z; Yao, X.; Yu, C.; Zhong, Z. 2013. Assessing crop water demand and deficit for the growth of spring highland barley in Tibet, China. J. Alternative Agric. 12:541-551. DOI: 10.1016/S2095-3119(13)60255-5.
- Lozano Sánchez, J.D.; Armbrecht, I. Montoya Lerma, J. 2015. Hongos formadores de micorrizas arbusculares y su efecto sobre la estructura de los suelos en fincas con manejos agroecológicos e intensivos. Acta Agron. 64: 289-296. DOI: 10.15446/acag.v64n4.46045.
- Luo, Z.; Baldock, J.; Wang, E. 2017. Modelling the dynamic physical protection of soil organic carbon: insights into carbon predictions and explanation of the priming effect. Global Change Biol. 23:5273-5283. DOI: 10.1111/gcb.13793.
- Magdoff, F.R.; Ross, D.; Amadon, J. 1984. A soil test for nitrogen availability to maize. Soil Sci. Soc. Am. J. 48:1301-1304. DOI:10.2136/ sssaj1984.03615995004800060020x.
- Magliano, P.N.; Prystupa, P.; Gutiérrez Boem, F.H. 2014. Protein content of grains of different size fractions in malting barley. J. Inst. Brew. 120:347–352. DOI: 10.1002/jib.161.
- Mandiola, M.; Studdert, G.A.; Domínguez, G.F.; Videla, C.C. 2011. Organic matter distribution in aggregate sizes of a mollisol under contrasting managements. J. Soil Sci. Plant Nut. 11:41-57.
- Mariano, E.; Trivelin, P.C.O; Leite, J.M.; Megda, M.X.V.; Otto, R.; Franco, H.C.J. 2013. Incubation methods for assessing mineralizable nitrogen in soils under sugarcane. R. Bras. Ci. Solo 37:450-461. DOI: 10.1590/S0100-06832013000200016.
- McNally, S.R.; Laughlin, D.C.; Rutledge, S; Dodd, M.B.; Six, J.; Schipper, L.A. 2015. Root carbon inputs under moderately diverse sward and conventional ryegrassclover pasture: implications for soil carbon sequestration. Plant Soil. 392:289-299. DOI: 10.1007/s11104-015-2463-z.
- Miller. R.M.; Jastrow, J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik, Y.; Douds Jr. D. D. (eds.) Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Dordrecht, Países Bajos: Kluwer Academic, pp. 3-18.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP). 2020. Agricultura-Estimaciones Agrícolas. Datos Agricultura, Ganadería y Pesca. [Dataset] Recuperado de: https://datos.magyp.gob.ar/dataset/estimaciones-agricolas.
- Nautiyal, P.; Rajput, R.; Pandey, D.; Arunachalam, K.; Arunachalam, A. 2019. Role of glomalin in soil carbon storage and its variation across land uses in temperate Himalayan regime. Biocatal. Agric. Biotech. 21:101311. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101311.
- Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Page, A.L. (ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. (2nd ed.). Madison, WI: ASA. SSSA. Agronomy Monograph; 9 ,pp. 539-579.
- Nichols, K.A.; Wright, S.F. 2004. Contributions of fungi to soil organic matter in agroecosystems. In: Magdoff, K.; Weil, R.R. (eds.) Soil organic matter in sustainable agriculture. Boca Raton, Florida, EEUU: CRC Press, pp. 179-198.
- Nichols, K.A.; Wright, S.F. 2005. Comparison of glomalin and humic acid in eight native U.S. soils. Soil. Sci. 170:985-997. DOI: 10.1097/01.ss.0000198618.06975.3c.
- Novelli, L.E.; Caviglia, O.P.; Wilson, M.G.; Sasal, M.C. 2013. Land use intensity and cropping sequence effects on aggregate stability and C storage in a Vertisol and a Mollisol. Geoderma 195-196:260-267. DOI: 10.1016/j.geoderma.2012.12.013.
- Novelli, L.E.; Caviglia, O.P.; Piñeiro, G. 2017. Increased cropping intensity improves crop residue inputs to the soil and aggregate-associated soil organic carbon stocks. Soil Tillage Res. 165:128-136. DOI: 10.1016/j.still.2016.08.008.
- Orcellet, J.M.; Reussi Calvo, N.I.; Sainz Rozas, H.R.; Wyngaard, N.; Echeverría, H.E. 2017. Anaerobically incubated nitrogen improved nitrogen diagnosis in corn. Agron. J. 109:291-298. DOI: 10.2134/agronj2016.02.0115.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2020. Objetivos de desarrollo sostenible. Recuperado de: http://www.fao.org/sustainable-development-goals/goals/es/
- Pagano, M.C.; Duarte, N.F.; Azevedo Corrêa, E.J. 2020. Effect of crop and grassland management on mycorrhizal fungi and soil aggregation. Appl. Soil Ecol. 147:103385. DOI: 10.1016/j.apsoil.2019.103385.
- Pellegrino, E.; Öpik, M.; Bonari, E.; Ercoli, L. 2015. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. Soil Biol. Biochem. 84:210-217. DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.02.020.
- Plante, A.F.; Conant, R.T.; Stewart, C.E.; Paustian, K.; Six, J. 2006. Impact of soil texture on the distribution of soil organic matter in physical and chemical fractions. Soil Sci. Soc. Am. J. 70:287-296. DOI: 10.2136/sssaj2004.0363.
- Powlson, D.S.; Gregory, P.J.; Whalley, W.R.; Quinton, J.N.; Hopkins, D.W.; Whitmore, A.P.; ...; Goulding, K.W.T. 2011. Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. Food Policy 36:S72-S87. DOI: 10.1016/j.foodpol.2010.11.025.
- Powlson, D.S.; Stirling, C.M.; Jat, M.L.; Gerard, B.G.; Palm, C.A.; Sanchez, P.A.; Cassman, K.G. 2014. Limited potential of no-till agriculture for climate change mitigation. Nature Climate Ch. 4:678-683. DOI: 10.1038/NCLIMATE2292.

- Preger, A.C.; Rillig, M.C.; Johns, A.R.; Du Preez, C.C.; Lobe, I.; Amelung, W. 2007. Losses of glomalin-related soil protein under prolonged arable cropping: a chronosequence study in sandy soils of the South African Highveld. Soil Biol. Biochem. 39:445-453. DOI: 10.1016/j.soilbio.2006.08.014.
- Prystupa, P.; Ferraris, G.; Ventimiglia, L; Loewy, T.; Couretot, L.; R. Bergh, R.; ...; Gutiérrez Boem, F.H. 2018. Environmental control of malting barley response to nitrogen in the Pampas, Argentina. Int. J. Plant Prod. 12:127–137. DOI: 10.1007/s42106-018-0013-3.
- Puget, P.; Lal, R. 2005. Soil organic carbon and nitrogen in a Mollisol in central Ohio as affected by tillage and land use. Soil Tillage Res. 80:201-213. DOI: 10.1016/j.still.2004.03.018.
- Queirolo, I. 2018. Manejo del nitrógeno para incrementar la eficiencia de uso y la calidad en cebada cervecera. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Mar del Plata Facultad de Ciencias Agrarias: Balcarce, Buenos Aires. 62 p.
- Quiroga, R.A.; Studdert, G.A. 2014. Manejo del suelo e intensificación agrícola: agua y materia orgánica, dos aspectos clave. En: Echeverría, H.E.; García, F.O. (eds). Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. (2ª ed.). Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA, pp. 73-100.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from https://www.R- project.org/.
- Rabot, E.; Wiesmeier, M.; Schlüter, S.; Vogel, H.J. 2018. Soil structure as an indicator of soil functions: a review. Geoderma 314:122-137. DOI: 10.1016/j.geoderma.2017.11.009.
- Rashid, M.I.; Mujawar, L.H.; Shahzad, T.; Almeelbi, T.; Ismail, I.M.I.; Oves. M. 2013. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. Microbiological Res. 183:26-41. DOI: 10.1016/j.micres.2015.11.007.
- Rasmussen, C.; Throckmorton, H.; Liles, G.; Heckman, K.; Meding, S.; Horwath, W.R. 2018. Controls on soil organic carbon partitioning and stabilization in the California Sierra Nevada. Soil Systems 41:1-18. DOI: 10.3390/soilsystems2030041.
- Reussi Calvo, N.I.; Sainz Rozas, H.; Echeverría, H.E.; Berardo, A. 2013. Contribution of anaerobically incubated nitrogen to the diagnosis of nitrogen status in spring wheat. Agron. J. 105:1-8. DOI: 10.2134/agronj2012.0287.
- Reussi Calvo, N.I.; Queirolo, I.; Sainz Rozas, H.; Prystupa, P.; Diovisalvi, N.; Divito, G.; Echeverría, H. 2018. ¿Es similar la respuesta de trigo y cebada al aporte de nitrógeno por mineralización? Actas 26° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Tucumán, Argentina. Mayo de 2018.
- Reussi Calvo, N.I.; Wyngaard, N.; Orcellet, J.M.; Sainz-Rozas, H.R.; Echeverría, H.E. 2018. Predicting field-apparent nitrogen mineralization from anaerobically incubated nitrogen. Soil Sci. Soc. Am. J. 82:502-508. DOI: 10.2136/sssaj2017.11.0395.
- Rhee, K.C. 2001. Determination of total nitrogen. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. 00: B1.2.1-B1.2.9. DOI: 10.1002/0471142913.fab0102s00.
- Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. Can. J. Soil. Sci. 84:355-363. DOI: 10.4141/S04-003.
- Rillig, M.; Wright, S.F.; Kimball, B.A.; Pinter, P.J.; Wall, G.W.; Ottman, M.J.; Leavitt, S.W. 2001. Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable

aggregates in a Sorghum field: a possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. Glob. Change Biol. 7:333-337. DOI: 10.1046/j.1365-2486.2001.00404.x.

- Rillig, M.C.; Wright, S.F.; Nichols, K.A.; Schmidt, W.F.; Torn, M.S. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. Plant Soil 233:167-177. DOI: 10.1023/A:1010364221169.
- Rillig, M.C.; Wright, S.F.; Eviner, V.T. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. Plant Soil 238:325-333. DOI: 10.1023/A:1014483303813.
- Rillig, M.C.; Ramsey, P.W.; Morris, S.; Paul, E.A. 2003. Glomalin, an arbuscularmycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. Plant Soil 253:293-299. DOI: 10.1023/A:1024807820579.
- Rivero, C.; Tourn, S.N.; García, G.V.; Videla, C.C.; Domínguez, G.F.; Studdert, G.A. 2020. Nitrogen mineralized in anaerobiosis as indicator of soil aggregate stability. Agron. J. 112:592-607. DOI: 10.1002/agj2.20056.
- Rodriguez, S.; Baeza, M.C.; García, G.V.; Domínguez, G.F.; Clemente, N.L.; Studdert, G.A. 2020. Carbono extraíble en agua caliente como indicador de salud de molisoles del Sudeste Bonaerense. Ciencia del Suelo 38:149-161.
- Roldán, M.F.; Studdert, G.A.; Videla, C.C.; Picone, L.; San Martino, S. 2012a. Cambios de distribución de las fracciones de carbono orgánico en agregados del suelo en relación a su situación prístina. En: Actas 19° Congreso Latinoamericano y 23° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Mar del Plata, Argentina, abril 2012.
- Roldán, M.F.; Studdert, G.A.; Videla, C.C.; Picone, L.; San Martino, S. 2012b. Fracciones de carbono orgánico por tamaños de agregados en dos suelos bajo manejos contrastantes. En: Actas 19° Congreso Latinoamericano y 23° Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Mar del Plata, Argentina, abril 2012.
- Roldán, M.F.; Studdert, G.; Videla, C.C.; San Martino, S.; Picone, L.I. 2014. Distribución de tamaño y estabilidad de agregados en molisoles bajo labranzas contrastantes. Ciencia del Suelo 32:247-257.
- Rosier, C.L.; Hoye, A.T.; Rillig, M.C. 2006. Glomalin-related soil protein: Assessment of current detection and quantification tools. Soil Biol. Biochem. 38:2205-2211. DOI: 10.1016/j.soilbio.2006.01.021.
- Rubio, G.; Pereyra, F.X.; Taboada, M.A. 2019. Soils of the Pampean Region. In: Rubio, G.; Lavado, R.S.; Pereyra, F.X. (eds.) The Soils of Argentina. Cham, Suiza: Springer Int. Publ., pp 81-100.
- Sainz Rozas, H.; Calviño, P.A.; Echeverría, H.E.; Barbieri, P.A.; Redolatti, M. 2008. Contribution of anaerobically mineralized nitrogen to the reliability of planting or presidedress soil nitrogen test in maize. Agron. J. 100:1020-1025. DOI: 10.2134/agronj2007.0077.
- Sainz Rozas, H.R.; Echeverría, H.E.; Angelini, H.P. 2011. Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de la Regiones Pampeana y Extrapampeana Argentina. Inf. Agronómicas. 2:6-12.
- Šarapatka, B.; Alvarado-Solano, D.P.; Čižmár, D. 2019. Can glomalin content be used as an indicator for erosion damage to soil and related changes in organic matter characteristics and nutrients? Catena 181:104078. DOI: 10.1016/j.catena.2019.104078.
- Sarker, J.R.; Singh, B.P.; Cowie, A.L.; Fang, Y.; Collins, D.; Badgery, W.; Dalal, R.C. 2018. Agricultural management practices impacted carbon and nutrient concentrations in soil aggregates, with minimal influence on aggregate stability and

total carbon and nutrient stocks in contrasting soils. Soil Tillage Res. 178:209-223. DOI: 10.1016/j.still.2017.12.019.

- Schomberg, H.H.; Wietholter, S.; Griffin, T.S.; Reeves, D.W.; Cabrera, M.L.; Fisher, D.S. 2009. Assessing indices for predicting potential nitrogen mineralization in soils under different management systems. Soil Sci. Soc. Am. J. 73:1575-1586. DOI: 10.2136/sssaj2008.0303.
- Scott, D.A.; Baer, S.G.; Blair, J.M. 2017. Recovery and relative influence of root, microbial, and structural properties of soil on physically sequestered carbon stocks in restored grassland. Soil Sci. Soc. Am. J. 81:50-60. DOI: 10.1016/j.geoderma.2014.12.013.
- Sharma, S.K.; Ramesh, A.; Sharma, M.P.; Joshi, O.P.; Govaerts, B.; Steenwerth, K.L.; Karlen, D.L. 2010. Microbial Community Structure and Diversity as Indicators for Evaluating Soil Quality. In: Lichtfouse, E. (ed.) Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture. Sustainable Agriculture Reviews, vol 5. Dordrecht, Suiza: Springer, pp. 317-358.
- Sharma, M.P.; Reddy, U.G.; Adholeya, A. 2011. Response of arbuscular mycorrhizal fungi on wheat (*Triticum aestivum* L.) grown conventionally and on beds in a sandy loam soil. Indian J. Microbiol. 51:384-389. DOI: 10.1007/s12088-011-0134-1.
- Sigma-Aldrich. 2019. Bradford reagent. Technical Bulletin. Recuperado de: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/b6916bul.pdf.
- Singh, A.K.; Rai, A.; Singh, N. 2016. Effect of long term land use systems on fractions of glomalin and soil organic carbon in the Indo-Gangetic plain. Geoderma 277:41-50. DOI: 10.1016/j.geoderma.2016.05.004.
- Siqueira, J.O.; Sylvia, D.M.; Gibson, J.; Hubbell, D.H. 1985. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Can. J. Microbiol. 31:965-972. DOI: 10.1139/m85-183.
- Sithole, N.J.; Magwaza, L.S.; Thibaud, G.R. 2019. Long-term impact of no-till conservation agriculture and N-fertilizer on soil aggregate stability, infiltration and distribution of C in different size fractions. Soil Tillage Res. DOI: 190:147-156. 10.1016/j.still.2019.03.004.
- Sivakumar, N. 2013. Effect of edaphic factors and seasonal variation on spore density and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in sugarcane fields. Ann Microbiol. 63:151-160. DOI: 10.1007/s13213-012-0455-2.
- Six, J.; Paustian, K. 2014. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. Soil Biol. Biochem. 68:A4-A9. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.06.014.
- Six, J.; Elliott, E.T.; Paustian, K.; Doran, J.W. 1998. Aggregation and soil organic matter accumulation in cultivated and native grassland soils. Soil. Sci. Soc. Am. J. 62:1367-1377. DOI: 10.2136/sssaj1998.03615995006200050032x.
- Six, J.; Elliott, E.T.; Paustian, K. 2000. Soil structure and soil organic matter: II. A normalized stability index and the effect of mineralogy. Soil. Sci. Soc. Am. J. 64:1042-1049. DOI: 10.2136/sssaj2000.6431042x.
- Six, J.; Conant, R.T.; Paul, E.A.; Paustian, K. 2002. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. Plant Soil. 241:155-176. DOI: 10.1023/A:1016125726789.

- Six, J.; Bossuyt, H.; Degryze, S.; Denef, K. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. Soil Tillage Res. 79:7-31. DOI: 10.1016/j.still.2004.03.008.
- Smith, S.E.; Manjarrez, M.; Stonor, R.; Mcneill, A.; Smith, F.A. 2015. Indigenous arbuscular mycorrhizal (AM) fungi contribute to wheat phosphate uptake in a semiarid field environment, shown by tracking with radioactive phosphorus. Appl. Soil Ecol. 96:68-74. DOI: 10.1016/j.apsoil.2015.07.002.
- Soil Survey Staff. 2014. Keys to soil taxonomy. 12th ed. Washington, DC, EEUU: USDA, Natural Resources Conservation Service. 372 p.
- Soon, Y.K.; Haq, A.; Arshad, M.A. 2007. Sensitivity of nitrogen mineralization indicators to crop and soil management. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 38:2029-2043. DOI: 10.1080/00103620701548688.
- Stanford, G.; Smith, S.J. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 36:465-472. DOI: 10.2136/sssaj1972.03615995003600030029x.
- Steinberg, P.D.; Rillig, M.C. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. Soil Biol. Biochem. 35:191-194. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00249-3.
- Stevens, W.B.; Sainju, U.M.; Caesar Tonthat, T.; Iversen, W.M. 2015. Malt barley yield and quality affected by irrigation, tillage, crop rotation, and nitrogen fertilization. Agron. J. 107:2107–2119. DOI: 10.2134/agronj15.0027.
- Studdert, G.A.; Echeverría, H. 2000. Crop rotations and nitrogen fertilization to manage soil organic carbon dynamics. Soil Sci. Soc. Am. J. 64:1496-1503. DOI: 10.2136/sssaj2000.6441496x.
- Studdert, G.A.; Echeverría, H.; Casanovas, E.M. 1997. Crop-pasture rotation for sustaining the quality and productivity of a Typic Argiudoll. Soil Sci. Soc. Am. J. 61:1466-1472. DOI: 10.2136/sssaj1997.03615995006100050026x.
- Studdert, G.A.; Domínguez, G.F.; Agostini, M.A.; Monterubbianesi, M.G. 2010. Cropping systems to manage Southeastern Pampas' Mollisol health. I. organic C and mineralizable N. In: Liu, X.; Song, C.; Cruse, R. M.; Huffman, T. (eds.) New advances in research and management of world Mollisols. Proceedings "International symposium on soil quality and management of world Mollisols", Harbin, Heilongjiang, R.P. China, julio 2010. pp. 199-200.
- Studdert, G.A.; Domínguez, G.F.; Zagame, M.C.; Carabaca, J.C. 2015. Variación estacional de carbono orgánico particulado y nitrógeno anaeróbico. Ciencia del Suelo 33:65-78.
- Studdert, G.A.; Domingo, M.N.; García, G.V.; Monterubbianesi, M.G.; Domínguez, G.F. 2017. Carbono orgánico del suelo bajo sistemas de cultivo contrastantes y su relación con la capacidad de proveer nitrógeno. Ciencia del Suelo 35:285-299.
- Thougnon Islas, A.J.; Eyherabidea, M.; Echeverría, H.E.; Sainz Rozas, H.N.; Covacevich, F. 2014. Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrícicos nativos de suelos de la provincia de Buenos Aires con manejo contrastante. Rev. Argent. Microbiol. 46:133-143. DOI: 10.1016/S0325-7541(14)70062-8.
- Thougnon Islas, A.J.; Hernandez Guijarro, K.; Eyherabide, M.; Sainz Rozas, H.; Echeverría, H.E.; Covacevich, F. 2016. Can soil properties and agricultural land use affect arbuscular mycorrhizal fungal communities indigenous from the Argentinean Pampas soils? Appl. Soil Ecol. 101:47-56. DOI: 10.1016/j.apsoil.2016.01.005.

- Tisdall, J.M.; Oades, J.M. 1982. Organic matter-stable aggregates in soils. J. Soil. Sci. 33:141-163. DOI: 10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x.
- Toledo, D.M.; Galantini, J.A.; Dalurzo, H.C.; Vázquez, S.; Bollero, G. 2013a. Methods for assessing the effects of land-use changes on soil carbon stocks. Soil Sci. Soc. Am. J. 77:1542-1552.
- Toledo, D.M.; Galantini, J.A.; Ferreccio, E.; Arzuaga, S.; Giménez, L; Vázquez, S. 2013b. Indicadores e índices de calidad en suelos rojos bajo sistemas naturales y cultivados. Ciencia del Suelo 31:201-212.
- Tourn, S.N.; Videla, C.C.; Studdert, G.A. 2019. Ecological agriculture intensification through crop-pasture rotations does improve aggregation of southeastern-Pampas Mollisols. Soil Tillage Res. 195:104411. DOI: 10.1016/j.still.2019.104411.
- Treseder, K.K. 2013. The extent of mycorrhizal colonization of roots and its influence on plant growth and phosphorus content. Plant Soil. 371:1-13. DOI: 10.1007/s11104-013-1681-5.
- Videla, C.; Pazos, A.; Trivelin, P.C.; Echeverría, H.E.; Studdert, G.A. 2005. Mineralización bruta de nitrógeno bajo labranza convencional, siembra directa y pastura. Ciencia del Suelo 23:133-144.
- Walinga, L.; Van Der Lee, J.J.; Houba, V.J.G.; Van Vark, W.; Novozamsky, I. 1995. Plant Analysis Manual. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 258 p.
- Wander, M. 2004. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. In: Magdoff, K.; Weil, R.R. (eds.) Soil organic matter in sustainable agriculture. Boca Raton, Florida, EEUU: CRC Press, pp. 67-102.
- Wander, M.; Nissen, T. 2004. Value of soil organic carbon in agricultural lands. Mitig. Adapt. Strateg. Global Ch. 9:417-431. DOI: 10.1023/B:MITI.0000038847.30124.77.
- Welemariam, M.; Kebede, F.; Bedadi, B.; Birhane, E. 2018. Effect of community-based soil and water conservation practices on soil glomalin, aggregate size distribution, aggregate stability and aggregate-associated organic carbon in northern highlands of Ethiopia. Agric. Food Secur. 7:42. DOI: 10.1186/s40066-018-0193-1
- Williams, A.; Manoharan, L.; Rosenstock, N.P.; Olsson, P.A.; Hedlund, K. 2017. Longterm agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange. New Phytologist 213:874-885. DOI: 10.1111/nph.14196.
- Wright, S.F. 2005. Management of arbuscular mycorrhizal fungi. In: Zobel, R.W.; Wright, S.F. (eds.) Roots and soil management: interactions between roots and the soil. Madison, WI: ASA.SSSA. Agronomy Monograph; 48, pp. 183-197.
- Wright, S.F.; Anderson, R.L. 2000. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. Biol Fertil. Soils 31:249-253. DOI: 10.1007/s003740050653.
- Wright, S.F.; Upadhyaya, A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. 161:575-586.
- Wright, S.F.; Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil 198:97-107. DOI: 10.1023/A:1004347701584.
- Wright, S.F.; Franke-Snyder, M.; Morton, J.B.; Upadhyaya, A. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. Plant Soil 181:193-203. DOI: 10.1007/BF00012053.

- Wright, S.F.; Starr, J.L.; Paltineanu, I.C. 1999. Changes in aggregate stability and concentration of glomalin during tillage management transition. Soil Sci. Soc. Am. J. 63:1825-1829. DOI: 10.2136/sssaj1999.6361825x.
- Wu, Q.S.; Huang, Y.M.; Li, Y.; Nasrullah; He, X.H. 2014. Contribution of arbuscular mycorrhizas to glomalin-related soil protein, soil organic carbon and aggregate stability in citrus rhizosphere. Int. J. Agric. Biol. 16:207-212.
- Wyngaard, N.; Vidaurreta, A.; Echeverría, H.E.; Picone, L.I. 2013. dynamics of phosphorus and carbon in the soil particulate fraction under different management practices. Soil Sci. Soc. Am. J. 77:1584-1590. DOI:10.2136/sssaj2013.04.0137.
- Wyngaard, N.; Cabrera, M.L.; Jarosch, K.A.; Bünemann, E.K. 2016. Phosphorus in the coarse soil fraction is related to soil organic phosphorus mineralization measured by isotopic dilution. Soil Biol. Biochem. 96:107e118. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.01.022.
- Wyngaard, N.; Cabrera, M.L.; Shober, A.; Kanwar, R. 2018. Fertilization strategy can affect the estimation of soil nitrogen mineralization potential with chemical methods. Plant Soil 432:75-89. DOI: 10.1007/s11104-018-3786-3.
- Xu, P.; Liang, L.Z.; Dong, X.Y.; Sheng, R.F. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on aggregate stability of a clay soil inoculating with two different host plants. Acta Agric. Scand., Section B-Soil Plant Sci. 65:23-29. DOI: 10.1080/09064710.2014.960887.
- Yang, Y.; He, C.; Huang, L.; Ban, Y.; Tang, M. 2017. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on glomalin-related soil protein distribution, aggregate stability and their relationships with soil properties at different soil depths in lead-zinc contaminated area. Plos One 12:e0182264. DOI: 10.1371/journal.pone.0182264.
- Zangaro, W.; Rostirola, L.V.; De Souza, P.B.; De Almeida Alves, R.; Lescano, L.E.A.M.; Rondina, A.B.L.; ...; Carrenho, R. 2013. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. Mycorrhiza 23:221-233. DOI: 10.1007/s00572-012-0464-9.
- Zhang, J.; Tang, X.; Zhong, S.; Yin, G.; Gao, Y.; He, X. 2017. Recalcitrant carbon components in glomalin-related soil protein facilitate soil organic carbon preservation in tropical forests. Scientific Reports 7:2391. DOI: 0.1038/s41598-017-02486-6.
- Zhang, S.; Lehmann, A.; Zheng, W.; You, Z.; Rillig, M.C. 2019a. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta-analysis. New Phytologist 222:543-555. DOI: 10.1111/nph.15570.
- Zhang, Z.; Mallik, A.; Zhang, J.; Huang, Y.; Zhou, L. 2019b. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on inoculated seedling growth and rhizosphere soil aggregates. Soil Tillage Res. 194:104340. DOI: 10.1016/S1002-0160(11)60193-8.
- Zhong, Z.; Wang, W.; Wang, Q.; Wu, Y.; Wang, H.; Pei, Z. 2017. Glomalin amount and compositional variation, and their associations with soil properties in farmland, northeastern China. J. Plant Nutr. Soil Sci. 180:563-575. DOI: 10.1002/jpln.201600579.
- Zou, Y.N.; Srivastava, A.K.; Ni, Q.D.; Wu, Q.S. 2015. Disruption of mycorrhizal extraradical mycelium and changes in leaf water status and soil aggregate stability in root box-grown trifoliate orange. Front. Microbiol.6:203.2016. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00203.