

Trabajo científico - Manejo y Conservación de Suelos y Aguas. Riego y Drenaje

# LAS RAÍCES DE CULTIVOS DE COBERTURA MEJORAN LA AGREGACIÓN Y EL CARBONO ORGÁNICO DEL SUELO

Ileana Frasier<sup>1,2,\*</sup> (D), Silvina Beatriz Restovich<sup>3</sup> (D),

<sup>1</sup> Instituto de Suelos, CIRN-CNIA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Pergamino (Argentina)

#### RESUMEN

El objetivo del trabajo fue cuantificar la biomasa de raíces de diferentes especies de cultivos de cobertura (gramíneas, leguminosas y crucíferas) y establecer relaciones con las reservas de carbono orgánico del suelo (COS), el carbono orgánico particulado (COP), la estabilidad estructural (EE) y la concentración de proteínas "tipo glomalina". El estudio se desarrolló en un ensayo de larga duración, ubicado en INTA Pergamino, luego de 10 años de rotar soja (Glycine max (L.) Merr.) - maíz (Zea mays L.) con cultivos de cobertura bajo siembra directa, con y sin fertilización nitrogenada aplicada al maíz. Además, se incluyó un control sin cultivo de cobertura. El diseño experimental fue en bloques con parcelas divididas y tres repeticiones. Se cuantificó la biomasa aérea y de raíces de los cultivos de cobertura, el COS, COP, EE y la concentración de proteínas tipo glomalina a 0-5, 5-10 y 10-20 cm. Los resultados mostraron que la biomasa aérea producida por avena (Avena sativa L.) - vicia (Vicia villosa L.) y vicia (4260 kg ha<sup>-1</sup>) fue superior al resto de los tratamientos. La biomasa de raíces fue mayor en avena-vicia (1853 kg ha-1) respecto de avena (1428 kg ha-1) y de vicia (1517 kg ha<sup>-1</sup>). El resto de los cultivos de cobertura presentaron producciones intermedias. El 48 a 56% de la biomasa de raíces estuvo estratificada en los primeros 5 cm de suelo. Las raíces de los cultivos de cobertura explicaron los aumentos observados en el COP, el COS y la EE. Además, se comprobaron relaciones lineales entre las glomalinas, la EE y el COS en los primeros 0-5 cm de suelo. Estos resultados demuestran la importancia de diversificar los agroecosistemas simplificados con cultivos de cobertura con la finalidad de restaurar funciones y procesos del suelo claves para asegurar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas.

Palabras clave: glomalinas, carbono particulado, agroecosistemas, sustentabilidad

\* Autor de contacto: frasier.ileana@inta.gob.ar

Recibido: 29-01-25

Recibido con revisiones: 19-03-25

Aceptado: 19-03-25

Este artículo está bajo licencia internacional

La titularidad del derecho de autor/a es de los/as Autores/as.

83



# COVER CROP ROOTS IMPROVE SOIL AGGREGATION AND SOIL ORGANIC CARBON

## ABSTRACT

The aims of the study were to quantify the root biomass of different cover crops species (grasses, legumes and crucifers) and, to identify possible relationships between root biomass and soil organic carbon (SOC), particulate organic carbon (POC), aggregate stability (EE) and glomalin-related soil protein concentration. The study was carried out in a long-term trial at INTA Pergamino, after 10 years of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) - maize (*Zea mays* L.) rotation with cover crops under no-till, with and without nitrogen fertilization applied to the maize. Additionally, a control treatment without cover crop was included. The experimental design was in blocks with divided plots and three replicates. Aerial and root biomass of the different cover crops, and SOC, COP, EE and glomalin-related soil protein concentration were measured at 0-5, 5-10 and 10-20 cm. The results showed that the aerial biomass produced by oats (*Avena sativa* L.) - vetch (*Vicia villosa* L.) and vetch (4260 kg ha<sup>-1</sup>) was higher than the remaining treatments. Root biomass was higher in

oat-vetch (1853 kg ha<sup>-1</sup>) compared to oats (1428 kg ha<sup>-1</sup>) and vetch (1517 kg ha<sup>-1</sup>). The other cover crops showed intermediate values. Between 48 and 56% of the root biomass was stratified in the first 5 cm soil depth. Cover crop root biomass explained the increments observed in POC, SOC and EE. In addition, linear relationships between glomalin-related soil protein concentration, EE, and SOC were found at 0-5 cm depth. These results demonstrate the importance of diversifying simplified agroecosystems with cover crops to restore key soil functions and processes to ensure the sustainability of agroecosystems.

Keywords: glomalin, particulate carbon, agroecosystems, sustainability

#### INTRODUCCION

Los agroecosistemas están bajo una presión cada vez mayor debido a la necesidad de producir suficiente cantidad de alimentos y minimizar el impacto ambiental en un marco de variabilidad climática (Nazir et al., 2024). En este contexto, el alto potencial de los suelos agrícolas para secuestrar carbono (C) resulta ser un factor clave para aumentar las reservas de C orgánico del suelo (COS), mejorar la provisión de servicios ecosistémicos y contribuir con la mitigación del cambio climático (Lal, 2004; Schmidt et al., 2011; Lehmann y Kleber, 2015). No obstante, la utilización de este potencial requiere una adecuada comprensión de los procesos que conducen a la ganancia neta de COS como consecuencia de la implementación de prácticas restauradoras del mismo.

La complejidad de la composición química del COS y la diversidad de vías para su estabilización representan un gran desafío para la comprensión de su dinámica en los agroecosistemas (Poeplau et al., 2018). Los nuevos abordajes metodológicos, que han surgido en los últimos años, están permitiendo reevaluar los modelos conceptuales dando lugar a nuevas teorías emergentes (Lehmann y Kleber, 2015; Kirschbaum et al., 2020; Weng et al., 2021). Existe un consenso apoyado por numerosos trabajos de la literatura internacional que demuestra que los aportes de materia orgánica provenientes de las raíces contribuyen más eficientemente a la estabilización del COS que los residuos sobre la superficie del suelo (Rasse et al., 2005; Kätterer et al., 2011; Jackson et al., 2017) con un mayor tiempo de residencia en el suelo (Poeplau et al., 2021). Se proponen tres vías principales a través de las cuales las raíces de las plantas promueven la formación de COS: i) el aporte de biomasa de raíces (material muerto estructural) que favorece la acumulación de carbono orgánico particulado (COP) contribuyendo con la estabilidad de los agregados, ii) la liberación de compuestos orgánicos por rizodeposición y, iii) la estimulación de la microbiota edáfica por los exudados radicales. Estos últimos, que contribuyen con el aporte de compuestos orgánicos simples producto de su metabolismo, así como también, con su propia necromasa, los cuales pueden estabilizarse en la fracción mineral del suelo (Gale y Cambardella, 2000; Jastrow et al., 2007; Liang et al., 2017, 2019; Pausch y Kuzyakov, 2018; Sokol et al., 2019). Por lo tanto, la adopción de prácticas de manejo agrícolas que generen un incremento en las entradas de C derivadas principalmente de raíces y que promuevan una microbiota del suelo activa y diversa, tendrán un impacto positivo sobre las reservas de COS (Gregorich et al., 2015; Tiemann et al., 2015; Frasier et al., 2024).

La inclusión de cultivos de cobertura en las secuencias agrícolas en combinación con la siembra directa ha demostrado ser una práctica efectiva para incrementar los niveles de COS en contraposición con los sistemas con largos periodos de barbechos (Poeplau y Don, 2015; Frasier et al., 2016; Restovich et al., 2022; Daryanto et al., 2020), mejorando la diversidad espacial y temporal de los agroecosistemas (Reiss y Drinkwater, 2018, 2022). La extensión del lapso temporal con cultivos de coberturas en reemplazo del barbecho promueve la presencia de raíces vivas y su rizodeposición durante gran parte del año, permitiendo un flujo continuo de C fijado por fotosíntesis al suelo (Griffiths et al., 2022). No obstante, la configuración espacial que adopte el sistema radical afectará la distribución del C derivado de las mismas dentro del suelo, la cual, estará fuertemente influenciada por la especie elegida, el tipo de suelo y la disponibilidad de agua y nutrientes (Smith, 2007; Frasier et al., 2019; Heuermann et al., 2019). Además, las raíces modifican la estructura del suelo para adaptarse a su crecimiento a través de una variedad de mecanismos que incluyen la penetración directa, el anclaje, la extracción de agua y la exudación de compuestos hacia la rizosfera (Jin et al., 2017). En términos generales, las gramíneas contribuirían con sistemas radicales fibrosos y en cabellera destacándose por su alta captación de nitratos, mejora en la porosidad del suelo y mayor estatificación en el perfil. En cambio, las leguminosas contribuirían con sistemas radicales más profundos con altos contenidos de N en sus tejidos debido a su capacidad de fijarlo biológicamente (Oderiz et al., 2017; Rampo et al., 2019; Gómez et al., 2020). Su incorporación en mezclas con gramíneas, además, ha demostrado ser potenciadora de los beneficios individuales de cada familia (Giacomini et al., 2003; Frasier et al., 2017).



Por último, las crucíferas, como el nabo forrajero (*Raphanus sativus* L.) y la colza (*Brassica napus* L.), con raíces pivotantes que pueden ser engrosadas o con ramificaciones laterales fibrosas, resultan promisorias como "descompactadores biológicos" (Chen y Weil, 2010), para la captación de nitratos (Dean y Weil, 2009; Gieske et al., 2016) y el control biológico de patógenos (Couëdel et al., 2018, 2019).

Por otra parte, la ocupación del suelo con raíces vivas durante gran parte del año proporciona un sistema más estable de huéspedes para los mutualistas obligados como son los hongos micorrícicos arbusculares que establecen simbiosis con un amplio rango de especies, excepto con las brasicáceas (Nieder y Benbi, 2008). Estos microorganismos producen una sustancia insoluble, detectada originalmente dentro de las paredes celulares de sus hifas durante la colonización activa de las raíces de las plantas, denominada operativamente como "proteínas del suelo relacionadas con la glomalina" que se encuentra presente en la materia orgánica del suelo (Holátko et al., 2021). Estas sustancias actúan como agentes aglutinantes promoviendo la formación de agregados estables al agua y contribuyendo al almacenamiento del COS (Jeewani et al., 2021; Rillig y Mummey, 2006; Wright y Upadhyaya, 1996). Por lo tanto, las características del sistema radicular y el microbioma asociado al mismo constituyen aspectos clave a estudiar para una mejor comprensión de la dinámica del COS (dos Reis Martins y Angers, 2015; Beidler et al., 2023).

La fertilización química es otra práctica habitual implementada en los sistemas agrícolas para maximizar la producción de granos por unidad de superficie y corregir posibles deficiencias nutricionales. Se ha hipotetizado que su impacto sobre las reservas de COS estaría asociado con un incremento en la productividad primaria de las plantas, que se vería reflejado en una mayor biomasa de raíces y disponibilidad de compuestos carbonados para la actividad biológica, favoreciendo la producción de compuestos derivados del metabolismo microbiano (Li et al., 2020; Hu et al., 2023). Sin embargo, el uso prolongado y excesivo de fertilizantes químicos puede conducir a reducciones del COS y a la degradación del suelo (Khan et al., 2007; Stockmann et al., 2013).

En base a estos antecedentes, el objetivo del trabajo fue cuantificar la biomasa de raíces de diferentes especies de cultivos de cobertura (gramíneas, leguminosas y crucíferas) y establecer relaciones con las reservas de COS, el COP, la estabilidad estructural (EE) y la abundancia de proteínas "tipo glomalina" luego de 10 años de efecto acumulado.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó sobre un ensayo de larga duración instalado en 2005 en la Estación Experimental Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (33° 51' S, 60° 40' W). El mismo involucra secuencias soja (*Glycine max* (L.) Merr.) - maíz (*Zea mays* L.) con cultivos de cobertura bajo siembra directa. Cada año (en la misma parcela) se sembraron diferentes especies de ciclo otoño-invernal como cultivo de cobertura: cebadilla criolla (*Bromus unioloides* L.), ryegrass (*Lolium multiflorum* L.), avena (*Avena sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), colza, nabo forrajero, vicia (*Vicia villosa* L.) y una mezcla de avena + vicia. Además, se incluyó un control sin cultivo de cobertura que se mantuvo libre de malezas utilizando control químico con glifosato (2,2 L ha<sup>-1</sup>). El diseño experimental es en bloques con parcelas divididas con tres repeticiones. Las parcelas principales (30 m × 10 m) corresponden al cultivo de cobertura y las subparcelas a la dosis del fertilizante nitrogenado (0 y 32 kg N ha<sup>-1</sup>) aplicado al cultivo de maíz. El ensayo se encuentra establecido sobre un Argiudol típico (USDA Soil Taxonomy, 2012) de la serie Pergamino, con un horizonte A franco limoso sin fase erosionada (<0,3% de pendiente) y un horizonte B argílico con 43,5% de arcilla. El clima del área de estudio es templado húmedo sin una estación seca, con una temperatura media anual es de 16,5 °C (Soriano et al., 1991, Hall et al., 1992) y precipitaciones promedio de 977 mm para el período 1910-2024 (base de datos de la red Agroclimatológica, INTA).

Al momento de la siembra, entre abril y mayo, los cultivos de cobertura y el tratamiento control se fertilizaron con 14,7 kg de  $P_2O_5$  ha<sup>-1</sup> (6,4 kg P ha<sup>-1</sup>) utilizando como fuente el superfosfato simple de calcio. El distanciamiento entre las líneas de siembra fue de 17.5 cm. La vicia se inoculó con *Rhizobium leguminosarum biovarviceae* inmediatamente antes de la siembra. El maíz, híbrido DK 747, y la soja, var. DM 4970, se sembraron en octubre y noviembre (fecha de primera siembra), en hileras espaciadas a 0,70 y 0,52 m de distancia, respectivamente. En la siembra, el maíz fue fertilizado con 31,5 kg de  $P_2O_5$  ha<sup>-1</sup> (13,7 kg P ha<sup>-1</sup>), y en la etapa  $V_{5-6}$  (Ritchie et al., 1982) la mitad de cada parcela (subparcela) fue fertilizada con 32 kg de N ha<sup>-1</sup> incorporada como urea entre líneas. La dosis de la fertilización con nitrógeno se determinó utilizando el método del balance, con el objetivo de obtener un rendimiento promedio de maíz de 9,0 Mg ha<sup>-1</sup>. El valor inicial de N-NO<sub>3</sub> al momento de la siembra de maíz fue de 110 kg ha<sup>-1</sup> en 0-60 cm de profundidad. La soja es

inoculada con *Bradyrhizobium* sp. pero no es fertilizada. Las fechas de siembra de maíz y soja (septiembre -octubre y noviembre, para el maíz y la soja, respectivamente) y la distribución de la lluvia definieron las fechas de finalización del ciclo de los cultivos de cobertura: antes del maíz, se secaron en invierno o principios de primavera (agosto-septiembre), mientras que antes de la soja, se secaron en primavera (octubre). El ciclo de los cultivos de cobertura se interrumpió con 3 a 4 L ha<sup>-1</sup> de glifosato (principio activo del 48%). El calendario de cultivos se presenta en Restovich et al. (2012).

#### Determinaciones de vegetal y suelo

En agosto del año 2015, previo al momento del secado, se realizó el muestreo de la biomasa aérea y de raíces de los diferentes cultivos de cobertura. En cada subparcela se realizaron cortes de biomasa aérea utilizando un aro de 0,25 m<sup>2</sup>. Las muestras se secaron en estufa a 60 °C durante 72 h y se determinó su peso seco. La biomasa de raíces se determinó a partir de muestras de suelo recolectadas a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad utilizando monolitos de 0,035 m<sup>2</sup> colocados entre las líneas de siembra de los cultivos de cobertura (2 subreplicas por parcela) (Böhm, 1979). Para separar las raíces del suelo se utilizó una batería de tamices de 500 y 250 µm aplicándoles presión con un chorro de agua. Las raíces obtenidas se separaron manualmente de posibles impurezas utilizando una pinza metálica. Ninguna distinción se realizó entre raíces vivas y muertas. Las muestras tamizadas se colocaron en estufa a 60 °C por 24-48 h y luego fueron pesadas para determinar la materia seca de raíces. A partir de estos datos se calculó el cociente entre la biomasa de raíces y la biomasa aérea (R:S) para cada cultivo de cobertura.

Por otro lado, se extrajeron muestras de suelo a las mismas profundidades para determinar COS, COP, densidad aparente, EE y la concentración de proteínas tipo glomalina fácilmente extraíble. El COS se determinó por digestión húmeda mediante el método de Walkley-Black (Nelson y Sommers, 1982) y el COP mediante el método de Cambardella y Elliott (1992), reemplazando la dispersión química del método original mediante agitación mecánica del agua con bolitas de vidrio (Feller, 1979). La densidad aparente se determinó por el método del cilindro (58,9 cm<sup>3</sup>) (Burke et al., 1986) y se utilizó para calcular los stocks de COS. La EE se determinó mediante el tamizado en agua usando el método de Douglas y Goss (1982) con ligeras modificaciones. Se colocaron 10 gramos de agregados, entre 1-2 mm, a humedad de campo en un tamiz de 0,5 mm y se subieron y bajaron mecánicamente en el agua durante 5 minutos. Después del tamizado mecánico en el agua, se calculó el índice de estabilidad como la relación entre el peso seco de los agregados > 0,5 mm y el peso seco de los agregados de 1-2 mm, y se expresó como un porcentaje (Kemper, 1965). Se usaron agregados con un tamaño de 1-2 mm porque son más sensibles a los cambios de manejo (Rillig et al., 2002). La EE se clasificó como inestable (EE < 20%), moderadamente estable (EE: 20-40%) y estable (EE > 40%). Por último, se determinó la concentración de proteínas tipo glomalina fácilmente extraíbles como se describe en Wright y Upadhyaya (1996).

#### Análisis estadísticos

Los ANOVA para cada variable y profundidad se realizaron implementando modelos mixtos con el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2020). Se utilizó la especie (parcela principal), la fertilización (sub-parcela) y su interacción como factores fijos. Los bloques se utilizaron como factor aleatorio. Los valores medios se compararon mediante la prueba de la diferencia menos significativa (LSD) protegida de Fisher corregido por Bonferroni (P < 0,05). Se realizaron análisis de regresión lineal y no lineal para establecer relaciones entre las variables bajo estudio. Para la relación entre raíces y COS se utilizó un modelo no lineal de saturación de C descrito en Frasier et al. (2019).

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

# Efecto acumulado de 10 años de fertilización nitrogenada del maíz sobre la biomasa aérea y radical de los cultivos de cobertura

Después de 10 años de rotación, la producción de biomasa aérea y subterránea de los cultivos de cobertura no presentó interacción significativa entre las distintas especies evaluadas y la fertilización nitrogenada aplicada al cultivo de maíz (Figura 1a). La producción de biomasa aérea de los cultivos de cobertura fue superior en los tratamientos con fertilización nitrogenada (3247 kg ha<sup>-1</sup>) con respecto a los tratamientos no fertilizados (2733 kg ha<sup>-1</sup>). Por el contrario, la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura no mostró respuesta al tratamiento con fertilización, registrando un valor promedio de 1616 kg ha<sup>-1</sup> en los primeros 20 cm de suelo. En consecuencia, la relación raíz: parte aérea (R:S) resultó ser menor en los tratamientos con fertilización nitrogenada (F: 0,5) con respecto a los tratamientos sin fertilización (NF: 0,6). Estos resultados se corresponden con estudios previos que muestran que el incremento en la disponibilidad de N afecta, en mayor medida, el crecimiento de la parte aérea en comparación con el crecimiento de las raíces (Kudo-



yarova et al., 2015; Herrera y Stamp, 2015; Oldroyd y Leyser, 2020). Por el contrario, cuando este elemento es escaso, la respuesta generalmente observada es un incremento en el crecimiento de la raíz en busca del recurso limitante. Por lo tanto, una menor disponibilidad de N incrementa la relación R:S, promoviendo la absorción de N, la cual reduce la deficiencia de N vegetal (Herrera y Stamp, 2015). Por otro lado, las especies utilizadas como cultivos de cobertura mostraron diferencias en la producción de biomasa aérea y de raíces a 0-20 cm de profundidad (Figura 1b). La producción de biomasa aérea en avena-vicia y vicia (en promedio 4260 kg ha<sup>-1</sup>) fue superior al resto de los tratamientos. Dentro de las gramíneas evaluadas, la producción de avena fue mayor (3413 kg ha<sup>-1</sup>) que la de cebada, cebadilla y raigrás (2551 kg ha<sup>-1</sup>), las cuales no presentaron diferencias entre ellas, y su producción de biomasa aérea fue similar a las crucíferas (2167 kg ha<sup>-1</sup>). En general, la acumulación de biomasa aérea de los cultivos de cobertura oscila entre 2100 y 11100 kg ha<sup>-1</sup> y difiere en relación con la especie utilizada, al tiempo de crecimiento y a la disponibilidad hídrica (Restovich et al., 2012; 2022). La consociación avena con vicia mostró un incremento en la producción de biomasa aérea del 28% con respecto a la producción de avena. La presencia de leguminosas como la vicia, en consociación con otras especies, mejora la productividad de la mezcla a través del ingreso del N fijado biológicamente y la transferencia de N a la especie acompañante (Giacomini et al., 2003). Se han registrado valores de aporte de N por fijación biológica en vicia que varían entre 30 y 110 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> con incrementos del 10 al 38 % de la biomasa aérea cuando la vicia fue incluida en las mezclas (Sainju et al., 2005; Frasier et al., 2017; Enrico et al., 2020). Los resultados también muestran que la biomasa de raíces fue mayor en avena-vicia (1853 kg ha<sup>-1</sup>) con respecto a la biomasa de raíces de avena (1428 kg ha<sup>-1</sup>) y de vicia (1517 kg ha<sup>-1</sup>), y no se encontraron cambios en la relación R:S (promedio: 0,4) de estas especies solas o en mezclas. Es decir, que aumentó la productividad total de la mezcla (aérea y radical), lo que estaría sugiriendo una adecuada complementariedad entre ambas especies en la consociación (Li et al., 2013). Estos resultados se corresponden con estudios previos que muestran que la utilización de vicia en consociación con avena o centeno tiene un impacto positivo en la productividad aérea y subterránea de la mezcla (Frasier et al., 2016; Meza et al., 2022). Para el caso de las crucíferas evaluadas como cultivos de cobertura, las producciones de biomasa aérea fueron similares en ambas especies mientras que la biomasa de raíces de colza (1840 kg ha<sup>-1</sup>) fue mayor con respecto a la de nabo forrajero (1552 kg ha<sup>-1</sup>) y las dos especies presentaron una relación R:S similar (0,8). Gieske et al. (2016) registraron producciones de biomasa aérea y radical de nabo forrajero entre 670-2600 y 490-1130 kg ha-1, respectivamente, con índices de partición que variaron entre 0,35 a 0,73 según el año y sitio de estudio. Herrera y Stamp (2015) mencionan que la relación R:S en las crucíferas es más baja con niveles de N disponibles más altos. En nuestro estudio, los cultivos de cobertura no se fertilizan con N por lo que, en el caso de las crucíferas, altamente demandantes de este nutriente, podría explicar la mayor relación R:S encontrada. Por el contrario, cuando utilizamos leguminosas, como vicia, esta relación es menos variable (Herrera y Stamp, 2015).









**Figura 1.** Biomasa aérea, radical (0-20 cm) y la partición raíz: parte aérea (R:S) de secuencias de cultivos con historia de fertilización nitrogenada al maíz (F: fertilizado; NF: no fertilizado) (a) y de los diferentes cultivos de cobertura luego de 10 años de inclusión en la secuencia soja-maíz (b). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05).

**Figure 1.** Aerial and root biomass (0-20 cm), and root to shoot ratio (R:S) of crop sequences as a function of nitrogen fertilization history (F: fertilized; NF: non fertilized) (a) and of different cover crops after 10 years of their inclusion in soybean-maize crop sequences (b). Different letters indicate significant differences between treatments (P < 0.05).

Al analizar la distribución de raíces en el suelo, se observó que los cultivos de cobertura presentaron un 48 a 56% de su biomasa de raíces estratificada en los primeros 5 cm de suelo, sin efecto significativo asociado al tratamiento de fertilización nitrogenada aplicada al maíz (P < 0.1441) (Figura 2). Los resultados muestran que avena-vicia, colza, cebadilla y raigrás presentaron los valores más altos de biomasa de raíces sin diferencias entre sí (983 kg ha<sup>-1</sup>) en los primeros 0-5 cm de suelo. Para el caso de avena, nabo forrajero y vicia, se observaron valores intermedios (785 kg ha<sup>-1</sup>), mientras que la cebada fue la especie con menor producción de raíces (584 kg ha<sup>-1</sup>). Las diferencias entre especies de cultivos de cobertura también se evidenciaron en la abundancia de raíces a 5-10 cm de profundidad. Avena-vicia, raigrás, colza y nabo forrajero presentaron mayor biomasa de raíces (361 kg ha<sup>-1</sup>). Por el contrario, no se observaron diferencias en la cantidad de raíces de los diferentes cultivos de cobertura a 10-20 cm de profundidad (379 kg ha<sup>-1</sup>).



■0-5 cm ■5-10 cm ≥ 10-20 cm

**Figura 2.** Distribución de la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de una misma profundidad (P < 0.05).

**Figure 2.** Cover crop root biomass at 0-5, 5-10 and 10-20 cm soil depth. Different letters indicate significant differences between treatments within each depth (P < 0.05).



### Contribución de las raíces a la agregación del suelo y las reservas de COS

Luego de 10 años de efecto acumulado, la especie utilizada como cultivo de cobertura y la profundidad fueron los factores determinantes de las diferencias encontradas en las reservas de COS. Los resultados evidencian que la secuencia soja-maíz que incluyó avena-vicia y vicia como cultivos de cobertura presentaron mayores valores en los contenidos de COS en relación con la misma secuencia sin cultivos de cobertura en los primeros 0-5 cm de profundidad (Figura 3). En correspondencia con estos resultados, Restovich et al. (2019) encontraron tasas promedio de acumulación de COS en dichos tratamientos del orden de 0,5 Mg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> luego de 6 años de efectos acumulados.



**Figura 3.** Carbono orgánico del suelo (Mg ha<sup>-1</sup>) a 0-5, 5-10 y 10-20 cm de profundidad luego de 10 años de efectos acumulados de inclusión de cultivos de cobertura en la secuencia soja-maíz. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada profundidad de suelo (P < 0.05).

**Figure 3.** Soil organic carbon (Mg ha<sup>-1</sup>) at 0-5, 5-10 and 10-20 cm depth after 10 years of cover crop inclusion in the soybean-maize crop sequence. Different letters indicate significant differences between treatments within each soil depth (P < 0.05).

Este efecto positivo en las reservas de COS por la inclusión de vicia, sola o en mezcla, como cultivo de cobertura también ha sido evidenciado en trabajos previos (Frasier et al., 2016; Mukumbareza et al., 2016; Restovich et al., 2019). Se ha propuesto que el aporte extra de N vía fijación biológica contribuiría más eficientemente a la formación de COS (dos Reis Martins y Angers, 2015; Poirier et al., 2018). Sin embargo, el efecto de la calidad de estos residuos sobre la estabilización del COS estaría modulado por el grado de saturación de C del suelo, el cual afectaría la eficiencia de acumulación del C derivado de los residuos (Castellano et al., 2018). Al respecto, las raíces explicaron variaciones en el COS ajustándose a un modelo de incrementos decrecientes hasta alcanzar un nivel máximo de 15,6 Mg ha-1 para la profundidad de 0-5 cm dado principalmente por el tratamiento con avena-vicia (Figura 4). Este comportamiento ha sido observado previamente en suelos de la región semiárida pampeana (Frasier et al., 2019) y se asemejaría al concepto de saturación de C de Six et al. (2002). Este modelo conceptual propone que la capacidad de un suelo para estabilizar C puede estar limitada por la textura con relación a los aportes de C al suelo (Stewart et al., 2008; Frasier et al., 2019). Sin embargo, la valoración del grado de saturación del suelo también involucra el estudio del comportamiento de la fracción asociada a minerales lo cual excede a los objetivos de este trabajo (Six et al., 2024). En cambio, por debajo de los 0-5 cm de profundidad, no se encontraron cambios en las reservas de COS en comparación con el tratamiento sin cultivos de cobertura (Figura 3). Estos resultados estarían explicados por el sistema de mínima remoción del suelo (siembra directa) que favorece una mayor estratificación del C en el suelo (Ogle et al., 2012; Witzgall et al., 2021).





**Figura 4.** Relación entre la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y el carbono orgánico del suelo (COS; Mg ha<sup>-1</sup>) a 0-5 cm de profundidad luego de 10 años de su inclusión en la secuencia soja-maíz bajo siembra directa.

**Figure 4.** Relationship between cover crop root biomass and soil organic carbon (COS, Mg ha<sup>-1</sup>) at 0-5 cm soil depth after 10 years of the inclusion of cover crops in a soybean-maize crop sequence under no-till.

Los resultados también muestran una relación lineal y positiva entre la biomasa de raíces y el COP (Figura 5). Este es un indicador sensible a los cambios en el manejo del suelo (Wander, 2004) y, por ende, dependiente de los aportes de residuos tanto aéreos como de raíces (Puget y Drinkwater, 2001; Kong y Six, 2010). Estudios previos han evidenciado incrementos en la fracción particulada en respuesta a la inclusión de cultivos de cobertura debido al importante volumen de residuos que ingresan al sistema (Duval et al., 2016; Restovich et al., 2019), y los derivados de las raíces (Dos Santos et al., 2011; Frasier et al., 2016, 2024).



Figura 5. Relación entre la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y el carbono orgánico particulado (COP) luego de 10 años de su inclusión en la secuencia soja-maíz bajo siembra directa.

Figure 5. Relationship between cover crop root biomass and particulate organic carbon (COP) after 10 years of the inclusion cover crops in a soybean-maize crop sequence under no-till.

Los resultados de este estudio indican que tanto la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura como las reservas de C no tuvieron cambios asociados a la fertilización del maíz luego de 10 años de efectos acumulados. En Restovich et al. (2019) observaron, que luego de 6 años de efectos acumulados en estos mismos tratamientos, la fertilización nitrogenada aplicada al maíz explicó la acumulación de COS en los primeros 5 cm del suelo asociado con el incremento en el rendimiento del maíz fertilizado. No obstante, en este estudio los resultados podrían estar asociados a la baja productividad de los maíces registrada posterior a ese período (rendimiento < 5,0 Mg ha<sup>-1</sup>) como consecuencia de las bajas precipitaciones.

Las raíces pueden liberar una gran variedad de compuestos orgánicos como parte del proceso de rizodeposición, que puede ser equivalente al 50% del contenido de C de la biomasa de raíces (Jones et al., 2009). Estos compuestos actúan como agentes aglutinantes en la agregación de partículas minerales del suelo favoreciendo la formación y estabilización de los microagregados (Shahzad et al., 2015). Además, las raíces finas enredan y conectan los microagregados entre sí, formando macroagregados más grandes (Jastrow et al., 1998; Six, 2004). En ese sentido, los resultados muestran una relación lineal y positiva entre la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y la EE del suelo en los primeros 0-5 cm de suelo, explicando el 50% de las variaciones encontradas en este índice (Figura 6). En Restovich et al. (2019), encontraron que después de seis años de rotación soja-maíz con cultivos de cobertura, la EE aumentó a 43,1% (estable) respecto de los valores iniciales del ensayo (18,8%; inestable).



Figura 6. Relación entre la biomasa de raíces de los cultivos de cobertura y la estabilidad estructural del suelo a 0-5 cm de profundidad luego de 10 años de su inclusión en la secuencia soja-maíz bajo siembra directa.

Figure 6. Relationship between cover crop root biomass and soil structural stability index at 0-5 cm soil depth after 10 years of the inclusion of cover crops in a soybean-maize crop sequence under no-till.

Por otro lado, la liberación de exudados radicales durante el crecimiento de las plantas interviene en el "diálogo" entre la raíz y la microbiota edáfica estimulando su actividad, y por ende, la liberación de productos orgánicos precursores del COS (Denef y Six, 2006; Six y Paustian, 2014). En este sentido, los hongos micorrícicos arbusculares liberan unas proteínas "tipo glomalinas" que promueven la formación de agregados estables (Fokom et al., 2012; Rillig et al., 2017). Los resultados del presente estudio muestran una relación lineal y positiva entre las glomalinas, la EE y el COS en los primeros 0-5 cm de suelo (Figura 7). Restovich et al. (2019) también observaron una mejora en la agregación del suelo debido al efecto cementante de la glomalina luego de 6 años de inclusión de cultivos de cobertura en la secuencia soja-maíz en ausencia de la fertilización con N. Esto estuvo asociado a una mayor abundancia de micorrizas en las parcelas sin aportes de fertilización nitrogenada (Garcia-Parisi et al., 2023), sugiriendo que la importancia relativa de los diferentes agentes cementantes que promueven la EE en el suelo puede variar a lo largo del tiempo y con el manejo.

40 30 EE (%) 20 10 y= 8.15x + 7.10 R<sup>2</sup>=0.22; p=0.0009 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 Glomalinas (mg g suelo-1) avena-vicia cebada cebadilla avena colza nabo raigras vicia 20 16 COS (Mg ha-1) 12 8 y= 2.01x + 9.8 R2=0.42; p<0.0001 4 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 Glomalinas (mg g suelo-1) avena avena-vicia cebada cebadilla colza nabo raigras vicia

Figura 7. Relación entre la concentración de glomalinas, la estabilidad estructural del suelo (a) y el carbono orgánico del suelo (b) a 0-5 cm de profundidad luego de 10 años de inclusión de diferentes cultivos de cobertura en la secuencia soja-maíz bajo siembra directa.

**Figure 7.** Relationship between glomalin-related soil proteins concentration, soil structural stability (a) and soil organic carbon (b) at 0-5 cm soil depth after 10 years of cover crop inclusion in a soybean-maize crop sequence under no-till.

### CONCLUSIONES

En este estudio, evaluamos la biomasa de raíces de diferentes de cultivos de cobertura introducidos en secuencias maíz-soja luego de 10 años de efectos acumulados. Demostramos que reemplazar los largos períodos de barbecho con las raíces vivas de los cultivos de cobertura se incrementaron las reservas de COS, particularmente cuando se incluyó vicia y avena-vicia. Además, las distintas especies de cultivos de cobertura aumentaron la estabilidad de agregados en el espesor superior del suelo (0-5 cm) explicado por

a)

b)



sus raíces y el efecto cementante de las glomalinas. Estos resultados demuestran la importancia de diversificar los agroecosistemas simplificados con cultivos de cobertura (especies monoespecíficas y mezcla gramínea+leguminosa), con la finalidad de restaurar funciones y procesos del suelo claves para asegurar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas en el largo plazo.

#### AGRADECIMIENTOS

El financiamiento de esta investigación fue otorgado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Argentina) a través de los proyectos 2019-RIST-E1-I503-001, 2023-PE-L02-I010, 2023-PD-L03-I094, 2023-PD-L02-I132 y 2023-PD-L03-I093. Las autoras agradecen a Leticia García, Jimena Dalpiaz y Leandro Hanuch por la asistencia de laboratorio y a Diego Colombini y Fabio Villalba por la asistencia de campo.

#### **REFERENCIAS**

Beidler, K. V., Benson, M. C., Craig, M. E., Oh, Y. y Phillips, R. P. (2023). Effects of root litter traits on soil organic matter dynamics depend on decay stage and root branching order. Soil Biology and Biochemistry 180, 109008. <u>https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109008</u>

Böhm, W. (1979). Methods of Studying Root Systems. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

- Burke, W., Gabriels, D. y Bouma, J. (1986). Soil structure assessment. AA Balkema, Rotterdam.
- Cambardella, C.A. y Elliott, E.T. (1992). Particulate Soil Organic-Matter Changes across a Grassland Cultivation Sequence. Soil Science Society of America Journal, 56(3), 777. https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600030017x
- Chen, G. y Weil, R.R. 2010. Penetration of cover crop roots through compacted soils. *Plant and Soil*, 331(1), 31–43. <u>https://doi.org/10.1007/s11104-009-0223-7</u>
- Couëdel, A., Alletto, L., Kirkegaard, J. y Justes É. (2018). Crucifer glucosinolate production in legume-crucifer cover crop mixtures. *Europe*an Journal of Agronomy, 96, 22–33. https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.02.007
- Couëdel, A., Kirkegaard, J., Alletto, L. y Justes, É. (2019). Crucifer-legume cover crop mixtures for biocontrol: Toward a new multi-service paradigm. Advances in Agronomy, 157, 55–139. https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.05.0031
- Daryanto, S., Wang, L. y Jacinthe, P.A. (2020). No-till is challenged: Complementary management is crucial to improve its environmental benefits under a changing climate. *Geography and Sustainability*, 1(3), 229–232. https://doi.org/10.1016/j.geosus.2020.09.003
- Dean, J.E. y Weil, R.R. (2009). Brassica Cover Crops for Nitrogen Retention in the Mid-Atlantic Coastal Plain. *Journal of Environmental Quality*, 38(2), 520–528. https://doi.org/10.2134/jeq2008.0066
- Denef, K. y Six, J. (2006). Contributions of incorporated residue and living roots to aggregate-associated and microbial carbon in two soils with different clay mineralogy. European Journal of Soil Science, 57(6), 774–786. https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00762.x
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. (2020). Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- dos Reis Martins, M., and D.A. Angers. (2015). Different plant types for different soil ecosystem services. Geoderma, 237, 266–269. https:// doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.09.013
- Dos Santos, N. Z., Dieckow, J., Bayer, C., Molin, R., Favaretto, N., Pauletti, V. y Pivaet, J. T. (2011). Forages, cover crops and related shoot and root additions in no-till rotations to C sequestration in a subtropical Ferralsol. Soil Tillage Research, 111(2), 208–218. <u>http://doi.org/10.1016/j.still.2010.10.006</u>
- Douglas, J. T. y Goss, M. J. (1982). Stability and organic matter content of surface soil aggregates under different methods of cultivation and in grassland. Soil Tillage Research, 2(2), 155–175. <u>https://doi.org/10.1016/0167-1987(82)90023-X</u>
- Duval, M. E., Galantini, J. A., Capurro, J. E. y Martinez, J. M. (2016). Winter cover crops in soybean monoculture: Effects on soil organic carbon and its fractions. Soil Tillage Research, 161, 95–105. <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2016.04.006</u>
- Enrico, J. M., Piccinetti, C. F., Barraco, M., Agosti, M. B., Eclesia, R. P. y Salvagiotti, F. (2020). Biological nitrogen fixation in field pea and vetch: Response to inoculation and residual effect on maize in the Pampean region. *European Journal of Agronomy*, *115*, 1–10. <u>https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126016</u>
- Feller, C. (1979). Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique du soil. Application aux sols tropicaux à textures grossières, très pauvres en humus. *Cahiers ORSTOM série Pédologie*, Paris, 17, 339-346.
- Fokom, R., Adamou, S., Teugwa, M. C., Begoude Boyogueno, A. D., Nana, W. L., Ngonkeu, M. E. L., Tchameni, N. S., Nwaga D., Tsala Ndzomo, G. y 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 Research, 120, 69–75. <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2011.11.004</u>
- Frasier, I., Barbero, F. M., Pérez-Brandan, C., Gómez, M. F., Fernández, R., Quiroga, A. R., Posse-Beaulieu, G., Restovich, S., Meriles, J., Serri, D. L., Figuerola, E. L. M., Noellemeyer, E. y Vargas-Gil, S. (2024). Roots are the key for soil C restoration: A comparison of land management in the semiarid Argentinean Pampa. Soil Tillage Research, 235, 105918. <u>https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105918</u>

Frasier, I., Noellemeyer, I., Amiotti, N. y Quiroga, A. R. (2017). Vetch-rye biculture is a sustainable alternative for enhanced nitrogen availabili-



ty and low leaching losses in a no-till cover crop system. Field Crops Research, 214, 104-112. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.08.016

- Frasier, I., Quiroga, A. R., Fernández, R., Álvarez, C., Gómez, M. F., Scherger, E., Gilli, A. y Noellemeyer, E. (2019). Soil type, land-use and -management as drivers of root-C inputs and soil C storage in the semiarid pampa region, Argentina. Soil Tillage Research, 192, 134–143. https://doi.org/10.1016/j.still.2019.05.010
- Frasier, I., Quiroga, A. R. y Noellemeyer, E. (2016). Effect of different cover crops on C and N cycling in sorghum NT systems. Science of the Total Environment, 562, 628–639. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitoteny.2016.04.058
- Gale, W. y Cambardella, C. (2000). Carbon dynamics of surface residue-and root-derived organic matter under simulated no-till. Soil Science Society of America, 64(1), 190-195. https://doi.org/10.2136/sssaj2000.641190x
- Giacomini, S.J., Aita, C. y Vendruscolo, E. R. O. (2003). Materia seca, relaÇÃo C/N e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de plantas de cobertura do solo. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 27, 325–334. https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000200012
- Gieske, M. F., Ackroyd, V. J., Baas, D. G., Mutch, D. R., Wyse, D. L., Durganet, B. R. (2016). Brassica cover crop effects on nitrogen availability and oat and corn yield. *Agronomy Journal*, 108(1), 151–161. https://doi.org/10.2134/agronj2015.0119
- Gómez, M. F., Noellemeyer, E. y Frasier, I. (2020). Dinámica de raíces y actividad biológica en secuencias de cultivos en dos tipos de suelo de la región semiárida central. *Ciencia del Suelo*, 38(1), 56-71. http://orcid.org/0000-0002-6979-8933
- Gregorich, E., Janzen, H. H., Helgason, B. y Ellert, B. (2015). Chapter Two Nitrogenous Gas Emissions from Soils and Greenhouse Gas Effects. Advances in Agronomy, 132, 39–74. https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.02.004
- Griffiths, M., Delory, B. M., Jawahir, V., Wong, K. M., Bagnall, G. C., Dowd, T. G., Nusinow, D. A., Miller, A. J. y Topp, C. (2022). Optimisation of root traits to provide enhanced ecosystem services in agricultural systems: A focus on cover crops. *Plant, Cell and Environment*, 45(3), 751–770. https://doi.org/10.1111/pce.14247
- Herrera, J. M. y Stamp, P. (2015). Nitrogen Management Effects on Root Systems: A Synthesis and Future Needs. En D. Timlin, y L. R. Ahuja (Eds.) Enhancing Understanding and Quantification of Soil-Root Growth Interactions, 4, 67–91. <u>https://doi.org/10.2134/advagricsyst-model4.c4</u>
- Heuermann, D., Gentsch, N., Boy, J., Schweneker, D., Feuerstein, U., Groß, J., Bauer, B., Guggenberger, G. y vonWirén, N. (2019). Interspecific competition among catch crops modifies vertical root biomass distribution and nitrate scavenging in soils. *Nature Research, Scientific Reports*, 9(1), 11531. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-019-48060-0</u>
- Holátko, J., Brtnický, M., Kučerík, J., Kotianová, M., Elbl, J., Kintl, A., Kynický, J., Benada, O., Datta, R. y Jansa, J. (2021). Glomalin Truths, myths, and the future of this elusive soil glycoprotein. Soil Biology and Biochemistry, 153, 108116. <u>https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108116</u>
- Hu, J., Du, M., Chen, J., Tie, L., Zhou, S., Buckeridge, K. M., Cornelissen, J. H. C., Huang, C. y Kuzyakov, Y. (2023). Microbial necromass under global change and implications for soil organic matter. *Global Change Biology*, 29(12), 3503–3515. <u>https://doi.org/10.1111/gcb.16676</u>
- Jackson, R.B., Lajtha, K., Crow, S.E., Hugelius, G., Kramer, M. G. y Piñeiro, G. (2017). The ecology of soil carbon: pools, vulnerabilities, and biotic and abiotic controls. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics, 48, 419–445. <u>https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054234</u>
- Jastrow, J. D., Amonette, J. E. y Bailey, V. L. (2007). Mechanisms controlling soil carbon turnover and their potential application for enhancing carbon sequestration. *Climatic Change*, 80(1–2), 5–23. https://doi.org/10.1007/s10584-006-9178-3
- Jastrow, J. D., Miller, R. M. y Lussenhop, J. (1998). Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. Soil Biology and Biochemistry, 30(7), 905–916. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00207-1
- Jeewani, P.H., Luo, Y., Yu, G., Fu, Y., He, X., Van Zwieten, L., Liang, C., Kumar, A., He. Y., Kuzyakov, Y., Qin, H., Guggenberger G. y Xu, J. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi and goethite promote carbon sequestration via hyphal-aggregate mineral interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, *162*, 108417. <u>https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108417</u>
- Jin, K., White, P. J., Whalley, W. R., Shen, J. y Shi, L. (2017). Shaping an Optimal Soil by Root–Soil Interaction. Trends in Plant Science, 22(10), 823–829. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.07.008
- Jones, D. L., Nguyen, C. y Finlay, R.D. (2009). Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil*, 321(1-2), 5-33. https://doi.org/10.1007/s11104-009-9925-0
- Kätterer, T., Bolinder, M. A., Andrén, O., Kirchmann, H. y Menichetti, L. (2011). Roots contribute more to refractory soil organic matter than above-ground crop residues, as revealed by a long-term field experiment. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 141*(1–2), 184–192. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.02.029
- Khan, S.A., Mulvaney, R. L., Ellsworth, T. R. y Boast, C. W. (2007). The Myth of Nitrogen Fertilization for Soil Carbon Sequestration. Journal of Environmental Quality, 36(6), 1821–1832. https://doi.org/10.2134/jeq2007.0099
- Kirschbaum, M. U. F., Moinet, G. Y. K., Hedley, C. B., Beare, M. H. y McNally, S. R. (2020). A conceptual model of carbon stabilisation based on patterns observed in different soils. Soil Biology and Biochemistry, 141, 107683. <u>https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107683</u>
- Kong, A. Y. Y. y Six, J. (2010). Tracing Root vs. Residue Carbon into Soils from Conventional and Alternative Cropping Systems. Soil Science Society of America Journal, 74(4), 1201–1210. <u>https://doi.org/10.2136/sssaj2009.0346</u>
- Kudoyarova, G. R., Dodd, I. C., Veselov, D. S., Rothwell, S. A. y Veselov, S. Y. (2015). Common and specific responses to availability of mineral nutrients and water. *Journal of Experimental Botany*, 66(8), 2133–2144. <u>https://doi.org/10.1093/jxb/erv017</u>



- Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. Geoderma, 123(1-2), 1-22. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.032
- Lehmann, J. y Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 1–9. <a href="https://doi.org/10.1038/na-ture16069">https://doi.org/10.1038/na-ture16069</a>
- Li, J., Zhang, X., Luo, J., Lindsey, S., Zhou, F., Xie, H., Li, Y., Zhu, P., Wang, L., Shi, Y., He, H. y Zhang, X. (2020). Differential accumulation of microbial necromass and plant lignin in synthetic versus organic fertilizer-amended soil. Soil Biology and Biochemistry, 149, 107967. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107967
- Liang, C., Amelung, W., Lehmann, J. y Kästner, M. (2019). Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter. *Global Change Biology*, 25(11), 3578–3590. <u>https://doi.org/10.1111/gcb.14781</u>
- Liang, C., Schimel, J. P. y Jastrow, J. D. (2017). The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. Nature Microbiology, 2, 17105. <u>https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.105</u>
- Meza, K., Vanek, S.J., Sueldo, Y., Olivera, E., Ccanto, R., Scurrah, M. y Fonte, S. J. (2022). Grass–Legume Mixtures show potential to Increase above-and belowground biomass production for Andean Forage-Based Fallows. Agronomy, 12(1), 142. <u>https://doi.org/10.3390/agronomy12010142</u>
- Mukumbareza, C., Muchaonyerwa, P. y Chiduza, C. (2016). Bicultures of oat (Avena sativa L.) and grazing vetch (Vicia dasycarpa L.) cover crops increase contents of carbon pools and activities of selected enzymes in a loam soil under warm temperate conditions. Soil Science and Plant Nutrition, 62(5–6), 447–455. https://doi.org/10.1080/00380768.2016.1206833
- Nazir, M. J., Li, G., Nazir, M. M., Zulfiqar, F., Siddique, K. H. M., Iqbal, B. y Du, D. (2024). Harnessing soil carbon sequestration to address climate change challenges in agriculture. Soil Tillage Research, 237, 105959. <u>https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105959</u>
- Nelson, D. W. y Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon and organic matter. En A. Page, R. H. Miller y D. R. Keeney, , (Eds.) Methods of soils analysis, part II (pp 539-577). A merican Society of Agronomy, Soil Science Society of America.
- Nieder, R., y Benbi, D. K. (2008). Organic Matter and Soil quality. En R. Nieder, R. y D. K. Benbi, (Eds.) Carbon and Nitrogen in the terrestrial Environment. Springer Science & Business media B.V. (pp 113-135). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8433-1\_4
- Oderiz, A., Uhaldegaray, M., Frasier, I., Quiroga, A. R., Amiotti, N. y Zalba, P. (2017). Raíces de cultivos de cobertura: cantidad, distribución e influencia sobre el N mineral. *Ciencia del Suelo*, 35(2), 249–258. https://www.ojs.suelos.org.ar/index.php/cds/article/view/305
- Ogle, S.M., Swan, A. y Paustian, K. (2012). No-till management impacts on crop productivity, carbon input and soil carbon sequestration. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 149, 37–49. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.010*
- Oldroyd, G. E. D. y Leyser, O. (2020). A plant's diet, surviving in a variable nutrient environment. Science, 368(6486), eaba0196. https://doi. org/10.1126/science.aba0196
- Pausch, J. y Kuzyakov, Y. (2018). Carbon input by roots into the soil: Quantification of rhizodeposition from root to ecosystem scale. *Global Change Biology*, 24(1), 1–12. https://doi.org/10.1111/gcb.13850
- Poeplau, C. y Don, A. (2015). Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops A meta-analysis. Agriculture, Ecosystems & Environments, 200, 33–41. http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2014.10.024
- Poeplau, C., A. Don, and F. Schneider. (2021). Roots are key to increasing the mean residence time of organic carbon entering temperate agricultural soils. *Global Change Biology*, 27(19), 4921–4934. <u>https://doi.org/10.1111/gcb.15787</u>
- Poeplau, C., Don, A., Six, J., Kaiser, M., Benbi, D., Chenu, D., Cotrufo, M. F., Derrien, D., Gioacchini, P., Grand, S., Gregorich. D., Griepentrog, M., Gunina, A., Haddix, M., Kuzyakov, Y., Kühnel, A., Macdonald, L. M., Soong, J., Trigalet, S., Vermeire, M. L., ..., Nieder, R. (2018). Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils – A comprehensive method comparison. Soil Biolology and Biochemistry, 125, 10-26. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.025
- Poirier, V., Roumet, C. y Munson, A. D. (2018). The root of the matter: Linking root traits and soil organic matter stabilization processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 246–259. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.02.016
- Puget, P. y Drinkwater, L. E. (2001). Short-term dynamics of root- and shoot-derived carbon from a Leguminous Green Manure. Soil Science Society of America Journal, 65(3), 771–779. https://doi.org/10.2136/sssaj2001.653771x
- Rampo, M., Gómez, M. F., Barraco, M., Lobos, M., Miranda, W., Girón, P., Álvarez, C. y Frasier, I. (2019). Efecto de la inclusión de centeno como cultivo de cobertura sobre la dinámica de residuos aéreos y raíces en secuencias con soja. Actas VI Congreso nacional de ecología y biología de suelos (pp. 234-238), 15 al 19 de septiembre de 2019, Puerto Iguazú, Misiones.
- Rasse, D. P., Rumpel, C. y Dignac, M. F. (2005). Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant and Soil*, 269(1–2), 341–356. https://doi.org/10.1007/s11104-004-0907-y
- Reiss, E. R. y Drinkwater, L. E. (2018). Cultivar mixtures: A meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological* Applications, 28(1), 62–77. <u>https://doi.org/10.1002/eap.1629</u>
- Reiss, E. R. y Drinkwater, L. E. (2022). Promoting enhanced ecosystem services from cover crops using intra- and interspecific diversity. *Agriculture, Ecosystems, & Environment, 323,* 107583. <u>https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107586</u>
- Restovich, S. B., Andriulo, A. E., Armas-Herrera, C. M., Beribe, M. J. y Portela, S. I. 2019. Combining cover crops and low nitrogen fertilization improves soil supporting functions. *Plant and Soil*, 442, 401–417. http://doi.org/10.1007/s11104-019-04205-8

- Restovich, S. B., Andriulo, A. E. y Portela, S. I. 2012. Introduction of cover crops in a maize–soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics. *Field Crops Research*, *128*, 62–70. <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.012</u>
- Restovich, S. B., Andriulo, A. E. y Portela, S. I. (2022). Cover crop mixtures increase ecosystem multifunctionality in summer crop rotations with low N fertilization. Agronomy for Sustainable Development, 42(2), 19. https://doi.org/10.1007/s13593-021-00750-8
- Rillig, M. C., Muller, L. A. H. y Lehmann, A. (2017). Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. ISME Journal, 11(9), 1943–1948. <u>https://doi.org/10.1038/ismej.2017.56</u>
- Rillig, M. C. y Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. New Phytologist, 171, 41-53. http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x
- Rillig, M. C., Wright, S. F. y Eviner, V. T. (2002). The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil*, 238, 325–333. http://doi.org/10.1023/a:1014483303813
- Ritchie, S. W., Hanway, J. J. y Benson, G. O. (1982). How a corn plant develops. Lowa State University of Science and Technology. Cooperative extension service Ames, Iowa. Special report 48.
- Sainju, U. M., Whitehead, W. F. y Singh, B.P. (2005). Biculture Legume–Cereal Cover Crops for Enhanced Biomass Yield and Carbon and Nitrogen. Agronomy Journal, 97, 1403–1412. http://doi.org/10.2134/agronj2004.0274
- Schmidt, M. W. I., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. A. C., Nannipieri, P., Rasse, D. P., Weiner, S. y Trumbore, S. E. (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478(7367), 49–56. https://doi.org/10.1038/nature10386
- Shahzad, T., Chenu, C., Genet, P., Barot, S., Perveen, N., Mougin, C. y Fontaine, S. (2015). Contribution of exudates, arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 146–155. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.09.023
- Six, J. (2004). A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. Soil Tillage Research, 79(1), 7–31. http://doi.org/10.1016/j.still.2004.03.008
- Six, J., y Paustian, K. (2014). Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. Soil Biology and Biochemistry, 68, A4-A9. http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.06.014
- Six, J., Conant, R. T., Paul, E. A., y Paustian, K. (2002). Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil*, 241, 155–176. https://doi.org/10.1023/A:1016125726789.
- Six, J., Doetterl, S., Laub, M., Müller, C.R. y Van de Broek, M. (2024). The six rights of how and when to test for soil C saturation. SOIL 10, 275–279. https://doi.org/10.5194/soil-10-275-2024.
- Smith, F.A. (2007). Plant roots. Growth, activity and interaction with soils. Annals of Botany, 100(1), 151–152. <a href="https://doi.org/10.1093/aob/mcm099">https://doi.org/10.1093/aob/mcm099</a>

Soil Survey Staff. (2012). Keys to Soil Taxonomy. 12th ed. USDA NRCS.

- Sokol, N. W., Sanderman, J. y Bradford, M. A. (2019). Pathways of mineral-associated soil organic matter formation: Integrating the role of plant carbon source, chemistry, and point of entry. *Global Change Biology*, 25(1), 12–24. https://doi.org/10.1111/gcb.14482
- Stewart, C. E., Plante, A.F., Paustian, K., Conant, R. T. y Six, J. (2008). Soil Carbon Saturation: Linking Concept and Measurable Carbon Pools. Soil Science Society of America Journal, 72(2), 379. https://doi.org/10.2136/sssaj2007.0104
- Stockmann, U., Adams, M. A., Crawford, J. W., Field, D. J., Henakaarchchi, N., Jenkins, M., Minasny, B., McBratney, A. B., de Remy de Courcelles, V., Singh, K., Wheeler, I., Abbott, L., Angers, D. A., Baldock, J., Bird, M. B., Bookes, P. C., Chenu, C., Jastrow, J. D., Lal, R., Lehmann, J., ..., Zimmermannet, M. (2013). The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. Agriculture, Ecosystems & Environment, 164(2013), 80–99. http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2012.10.001
- Tiemann, L. K., Grandy, A. S., Atkinson, A. A., Marin-Spiotta, E. y Mcdaniel, M. D. (2015). Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. *Ecology Letters*, *18*(8), 761–771. <u>https://doi.org/10.1111/ele.12453</u>
- Wander, M. (2004). Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. In: Magdoff, F. y Weil, R. (Eds), Soil organic matter in sustainable agriculture. (pp. 67–102). CRC Press, Inc.
- Weng, Z., Lehmann, J., Van Zwieten, L., Joseph, S., Archanjo, B. S., Cowie, B., Thomsen, L., Tobin, M. J., Vongsvivut, J., Klein, A., Doolette, C. L., Hou, H., Mueller, C. W., Lombi, E. y Kopittke, P. M. (2021). Probing the nature of soil organic matter. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(22), 1–22. <u>https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1980346</u>
- Witzgall, K., Vidal, A., Schubert, D. I., Höschen, C., Schweizer, S. A., Buegger, F., Pouteau, V., Chenu, C. y Mueller, C. W. (2021). Particulate organic matter as a functional soil component for persistent soil organic carbon. *Nature Communications*, 12(1), 4115. <u>https://doi.org/10.1038/s41467-021-24192-8</u>
- Wright, S. F. y Upadhyaya, A. (1996). Extraction of an abundant an unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Science, 161(9), 575–586. https://doi.org/10.1097/00010694-199609000-00003.

