

Efecto de distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas C:N:P:S en suelo y planta

Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias del Suelo.

Liliana Vega Jara

Ingeniera Agrónoma - Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Perú - 2010

Lugar de trabajo: Universidad de Buenos Aires



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

COMITÉ CONSEJERO

Director de Tesis

Flavio Hernán Gutiérrez Boem

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Magister Scientiae en Ciencias del Suelo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor of Philosophy (University of Kentucky, USA)

Co-director de Tesis

Gerardo Rubio

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor en Ciencias Agrarias (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Post-doctorado: Laboratory of Plant Nutrition (Penn State University)

JURADO DE TESIS

JURADO

Juan Alberto Galantini

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Sur, Argentina)

Magister Scientiae (Universidad Nacional del Sur, Argentina)

Doctor of Philosophy (Università degli Studi di Bari, Italia)

JURADO

Norma Graciela Boschetti

Licenciada en Edafología (Universidad Católica de Santa Fe, Argentina)

Magister Scientiae en Ciencias del Suelo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctora (Universidad da Coruña, España)

JURADO

Pablo Andrés Barbieri

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina)

Doctor en Ciencias Agrarias (Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina)

Fecha de defensa de la tesis: 10 de marzo de 2017

DEDICATORIA

A Dios porque es mi motor y motivo

A mis padres Rómulo y Tarcila a quienes admiro y considero verdaderos luchadores en la vida. Son los que me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en los intentos hasta alcanzar mis objetivos.

A mis hermanas Midiam, Carmen, Sara y Yubitza por su cariño y apoyo de siempre.

A mis sobrinas Jaris Daniela y Adhara princesitas que le dan sentido a mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A los que me dirigieron en esta tesis Dr. Flavio H. Gutiérrez Boem y Dr. Gerardo Rubio por su impecable don para enseñar, por su paciencia y orientación en todas las etapas de mi formación y por todo su apoyo, un agradecimiento sin límites.

A mis amigos Ricardo Navarro, Lucía Casali, Laura Beltrán, Marco Cueva, Ghina, Jhovana Escobar y Flor Kattia por compartir gratos momentos dentro y fuera de la EPG y, por su cariño de siempre, muchas gracias.

A mis amigas Esther, Giannina, Yurani, Hirma y Mónica que fueron pieza clave en los momentos más críticos durante mi estadía en Buenos Aires y por brindarme su amistad y cariño, muchas gracias.

A mis abuelos, tíos, y primos por su cariño y apoyo constante.

A mis compañeros becarios de la cátedra de Fertilidad y Fertilizantes Ana Graziano, Ana Muzlera, Matías Redel, Natalia Osinaga, Sonia, Claudio, Federico Gómez, José, Florencia Sucunza, Florencia de Marotte por su compañerismo y hospitalidad.

A Franco Permingeat por su colaboración en el muestreo a campo de los ensayos y la recolección de muestras.

A los docentes y no docentes de la cátedra de Fertilidad y Fertilizantes.

A mis maestros de la EPG Alberto Soriano, FAUBA.

A la Escuela para Graduados Alberto Soriano, FAUBA por darme la oportunidad de forjarme y avanzar profesionalmente.

A International Plant Nutrition Institute (IPNI - cono Sur) y CREA Sur de Santa Fe por las facilidades prestadas con los reportes y datos de la Red de ensayos.

A PRONABEC-PERÚ por solventar mi estadía en Buenos Aires.

A la UBA, CONICET y ANPCYT por la financiación de este trabajo.

Al voluntario olvidado...

DECLARACIÓN

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



FIRMA

ÍNDICE GENERAL

	Página
Dedicatoria.....	III
Agradecimiento.....	IV
Declaración.....	V
Índice general.....	VI
Índice de tablas.....	IX
Índice de figuras.....	X
Abreviaturas.....	XII
Resumen.....	XIII
Abstract.....	XIV
Capítulo 1. Introducción general	1
Problema objeto de la tesis	1
Antecedentes generales existentes.....	1
a. Rol de los fertilizantes en la producción agrícola.....	1
b. Rol de la fertilización en la dinámica de la MO.....	2
c. Rol de la MO en la dinámica de los nutrientes.....	2
d. Formas de nutrientes en el suelo.....	3
e. El valor de los ensayos de larga duración.....	3
f. Uso de la relación entre nutrientes y la estequiometría ecológica en contextos agrícolas.....	4
Objetivo general y organización de la Tesis.....	6
Capítulo 2. Efecto de los distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre los contenidos de C, N, P, S en el suelo y sus relaciones.....	8
Introducción.....	8
Objetivos	9
Hipótesis	9
Materiales y métodos.....	10
Tratamientos.....	10
Determinaciones analíticas.....	12
Cálculos y análisis estadísticos.....	12
Resultados.....	13
Efecto de la fertilización de largo plazo sobre las concentraciones de C, N, P y S total y en las fracciones del suelo.....	13
a. Carbono total y en las fracciones orgánicas particulada y resistente.....	13
b. Nitrógeno total y en la fracción lábil.....	18
c. Fósforo total y en la fracción lábil	21
d. Azufre total y en la fracción particulada y resistente.....	24
Efecto de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas entre C:N:P:S en las fracciones del suelo.....	28
1. Relación C:N:P:S en la fracción total.....	28
Relación C:N.....	28
Relación C:S.....	29
Relación N:S.....	29
Relación C:P.....	30
Relación N:P.....	31
Relación P:S.....	32

Relación C:N:P:S total	33
2. Relación C:N:P:S en la fracción lábil.....	33
Relación Nan:C _{total}	33
Relación Nan:C _{POM}	35
Relación Nan:C _{MOR}	35
Relación C _{MOP} :S _{MOP}	37
Relación C _{MOR} :S _{MOR}	37
Relación C _{MOP} :Nan:S _{MOP}	37
Discusión.....	38
Efecto de la fertilización de largo plazo sobre las concentraciones de C, N, P y S en las fracciones del suelo.....	38
a. Carbono total y en la fracción orgánica particulada y resistente.....	38
b. Nitrógeno total y en la fracción lábil.....	43
c. Fósforo total y en la fracción lábil	46
d. Azufre total y en la fracción orgánica particulada y resistente.....	48
Efecto de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas entre C:N:P:S total y en las fracciones del suelo.....	51
3. Relación C:N:P:S total.....	51
Relación C:N.....	51
Relación C:S.....	51
Relación N:S.....	52
Relación C:P.....	53
Relación N:P.....	55
Relación P:S.....	55
4. Relación C:N:P:S en la fracción lábil.....	56
Relación Nan:C _{total}	56
Relación Nan:C _{MOP}	57
Relación C _{MOP} :S _{MOP}	57
Conclusiones.....	58
Capítulo 3. Cambios en la concentración, exportación y estequiometría N:P:S en granos de soja por efecto de la fertilización continua.....	59
Introducción.....	59
1. Concentración y exportación de N, P y S en granos de soja.....	59
2. Relaciones estequiométricas N:P:S.....	60
Objetivos.....	61
Hipótesis.....	61
Materiales y métodos.....	61
Parcelas experimentales.....	61
Tratamientos.....	61
Determinaciones analíticas.....	62
Análisis de los granos.....	62
Cálculos y análisis estadísticos.....	62
Resultados.....	63
1. Rendimiento y concentración de N, P y S en granos.....	63
2. Exportación de N, P y S en granos.....	65
3. Relaciones estequiométricas N:P:S en granos de soja.....	67
Relación N:P en granos.....	67

Relación N:S en granos.....	69
Relación P:S en granos.....	71
Discusión.....	73
1. Rendimiento y concentración de N, P y S en granos	73
Rendimiento de granos.....	73
Concentración de N, P y S en granos.....	75
2. Exportación de N, P y S en granos	77
3. Relaciones estequiométricas N:P:S en granos de soja	79
Estequiometría N:P en granos.....	79
Estequiometría N:S en granos.....	81
Estequiometría P:S en granos.....	84
Conclusiones.....	85
Capítulo 4: Relación entre el contenido de nutrientes (Nitrógeno, Fósforo y Azufre) en el suelo y en el grano de soja.....	86
Introducción.....	86
Objetivo.....	87
Hipótesis.....	87
Materiales y métodos.....	87
Parcelas experimentales.....	87
Tratamientos.....	87
Análisis de suelo y grano.....	88
Análisis estadístico.....	88
Resultados.....	88
1. Relación entre concentración de P en grano y suelo.....	88
2. Relación entre concentración de S en grano y suelo.....	89
3. Análisis de Componentes principales.....	92
Discusión.....	93
1. Relación entre concentración de P en grano y P disponible en el suelo.....	93
2. Relación entre el S en el suelo y grano.....	93
3. Análisis de componentes principales (ACP).....	96
Conclusiones.....	98
Capítulo 5: Conclusiones generales y significado.....	99
Bibliografía.....	102

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1.....	10
Tabla 2.2.....	11
Tabla 2.3.....	13
Tabla 2.4.....	14
Tabla 2.5.....	16
Tabla 2.6.....	17
Tabla 2.7.....	18
Tabla 2.8.....	19
Tabla 2.9.....	21
Tabla 2.10.....	21
Tabla 2.11.....	23
Tabla 2.12.....	24
Tabla 2.13.....	24
Tabla 2.14.....	25
Tabla 2.15.....	26
Tabla 2.16.....	28
Tabla 2.17.....	33
Tabla 2.18.....	38
Tabla 3.1.....	63
Tabla 3.2.....	64
Tabla 3.6.....	68
Tabla 3.7.....	70
Tabla 3.8.....	72
Tabla 3.9.....	73
Tabla 4.1.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1.....	11
Figura 2.2.....	17
Figura 2.3.....	17
Figura 2.4.....	18
Figura 2.5.....	20
Figura 2.6.....	27
Figura 2.7.....	27
Figura 2.8.....	28
Figura 2.9.....	29
Figura 2.10.....	30
Figura 2.11.....	31
Figura 2.12.....	31
Figura 2.13.....	31
Figura 2.14.....	32
Figura 2.15.....	32
Figura 2.16.....	33
Figura 2.17.....	33
Figura 2.18.....	34
Figura 2.19.....	35
Figura 2.20.....	36
Figura 2.21.....	37
Figura 2.22.....	38
Figura 3.1.....	63
Figura 3.2.....	66
Figura 3.3.....	66
Figura 3.4.....	67
Figura 3.5.....	68
Figura 3.6.....	69
Figura 3.7.....	70
Figura 3.8.....	71
Figura 3.9.....	72
Figura 3.10.....	72
Figura 4.1.....	89
Figura 4.2.....	90
Figura 4.3.....	91
Figura 4.4.....	93
Figura A1.....	121
Figura A2.....	121
Figura A3.....	121
Figura A4.....	122
Figura A5.....	122
Figura A6.....	122
Figura A7.....	122
Figura A8.....	123

Figura A9123
 Figura A10123
 Figura A11124
 Figura A12124
 Figura A13124
 Figura A14124
 Figura A15124
 Figura A16125
 Figura A17125
 Figura A18125
 Figura A19125
 Figura A20125
 Figura A21126
 Figura A22126
 Figura A23126
 Figura A24126
 Figura A25127
 Figura A26127
 Figura A27127
 Figura A28127
 Figura A29128
 Figura A30128
 Figura A31128
 Figura A32128

ABREVIATURAS

N: Nitrógeno
C: Carbono
P: Fósforo
S: Azufre
K: Potasio
Mg: Magnesio
B: Boro
Cu: Cobre
Zn: Zinc
C_{total}: Carbono orgánico total
C_{MOP}: Carbono en la materia orgánica particulada, de tamaño mayor a 53µm
C_{MOR}: Carbono asociado a la materia orgánica resistente, de tamaño menor a 53µm
P_{total}: Fósforo total
P_{Bray 1}: Fósforo disponible
S_{total}: Azufre total
S_{MOP}: Azufre asociada a la materia orgánica particulada, de tamaño mayor a 53µm
S_{MOR}: Azufre asociado a la materia orgánica resistente, de tamaño menor a 53µm
MOS: Materia orgánica de suelos
MO: Materia orgánica
COS: Carbono orgánico de suelos
CO: Carbono orgánico
M-T/S: Rotación maíz-trigo/soja
M-S-T/S: Rotación maíz-soja-trigo/soja
SD: Siembra directa
LC: Labranza convencional
N-NH₄⁺: Nitrógeno de Amonio
NO: Nitrógeno orgánico
SO₄⁻²: Sulfato

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre los contenidos de carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S) en el suelo y sus relaciones estequiométricas, y cómo dichos efectos sobre el suelo se reflejan en los productos de cosecha, se llevó a cabo el presente estudio. Se analizaron muestras de suelo y grano de soja, de cinco sitios de la Red de Nutrición CREA de la Región Sur de Santa Fe luego de 14 años de recibir seis regímenes de fertilización continua (testigo, PS, NS, NP, NPS y completo). La fertilización con N, P y S aumentó el contenido de C_{total} (carbono orgánico total) en el sitio con mayor deficiencia en nutrientes. Los nutrientes cuyo ciclo y dinámica están estrechamente relacionados con el C (N_{total} y S_{total}) aumentaron ligeramente en todos los sitios por la fertilización. Las fracciones lábiles fueron las más sensibles a la fertilización. Las relaciones C:N:S en el suelo se mantuvieron estables con la fertilización. En los granos, las relaciones estequiométricas N:P:S cambiaron con el agregado de P y S, porque el contenido de estos nutrientes en granos aumentó cuando se fertilizó con P y S. El cambio fue mayor en S que en P frente al agregado de S o P como fertilizante. En el caso del P, su agregado continuo aumentó considerablemente los contenidos de P en las fracciones del suelo y el P disponible estuvo relacionado con la concentración de P en los granos. Los cambios observados en la composición de los granos pueden ser relevantes tanto por sus efectos sobre la calidad del producto, como por su posible uso como una herramienta para el diagnóstico de la fertilidad del suelo a través del análisis vegetal.

Palabras clave: Fertilización de cultivos – Carbono – Nitrógeno – Fósforo – Azufre – relaciones C:N:P:S en suelo – relaciones estequiométricas N:P:S en granos.

ABSTRACT

The objective of this Thesis was to evaluate the effect of long term fertilization regimes on soil carbon (C), nitrogen (N), phosphorus (P) and sulfur (S), and its stoichiometric relationships, and how these effects on the soil were reflected on harvested products. Soil and soybean grains samples were taken from five long term fertilization experiments (CREA Southern Region Santa Fe-IPNI-ASP) and analyzed, after 14 years of receiving six different fertilization treatments (control, PS, NS, NP, NPS and complete). Continuous fertilization with N, P and S for 14 years increased soil content of total C at the site with the highest nutrient deficiency. Those nutrients which its cycle and dynamics are closely related to the C (N_{total} and S_{total}) slightly increased at all sites due to fertilization. Labile fractions were most sensitive to fertilization. Stoichiometric relationships between C: N: S on the soil remained stable with fertilization. In the grains, stoichiometric relationships between N:P:S changed due to the addition of P and S. The P and S concentrations in grains increased with the addition of these nutrients as fertilizers. The change in concentration was higher with S than with P in grains. In the case of P, its addition considerably increased P content in soil fractions, and soil P availability was related to P concentrations of grains. The observed changes in grain composition may be relevant for its effects on grain quality, and its possible use as a tool for diagnosis of soil fertility through plant analysis.

Key Words: Crops fertilization – Carbon – Nitrogen – Phosphorus – Sulfur – C:N:P:S in soil – stoichiometric relationships of N:P:S in grains.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Problema objeto de la tesis

Actualmente, con la intensificación del uso del suelo y las prácticas de fertilización de los cultivos de grano, podría haber un efecto de la fertilización de los cultivos sobre los suelos que impliquen cambios en la disponibilidad de nutrientes, difíciles de evaluar en estudios de corto plazo. La presente tesis evalúa los efectos de la aplicación de distintos regímenes de fertilización con nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S) durante 14 años continuos sobre los contenidos de C, N, P y S del suelo y sus relaciones estequiométricas, y cómo dichas relaciones se reflejan en los productos de cosecha (granos). Conocer estos efectos de mediano plazo ayudaría a la toma de decisiones respecto de la fertilización de cultivos. Además, podría aportar al desarrollo de herramientas complementarias (utilizando análisis de suelos y granos) a los diagnósticos de fertilidad de los suelos de la región pampeana, en donde la fertilización de los cultivos se ha intensificado.

Antecedentes generales existentes

a. Rol de los fertilizantes en la producción agrícola

La producción mundial de alimentos debe aumentar en un 70% en 2050 para seguir el ritmo de la creciente demanda (Bruinsma, 2009). Para cumplir este desafío, la fertilización surge como alternativa para aliviar el efecto de la continua exportación de nutrientes, debido a su capacidad para reponer la fertilidad del suelo y mejorar la producción agrícola (Wu y Ma, 2015). Esa necesidad de producir más alimentos y el deterioro de la fertilidad natural de los suelos ha impulsado a la fertilización en forma continua por parte de los productores. Un informe reciente de la FAO (2015) pronostica un crecimiento del 1,8% anual del consumo de fertilizantes en el mundo, que podría bordear los 200 millones de toneladas para el año 2018, un 25% más que el registrado en 2008. Los nutrientes más demandados son el N, P y potasio (K). En la agricultura Argentina también se ha intensificado el uso de fertilizantes para cultivos extensivos. El consumo de fertilizantes tuvo un gran aumento en los últimos 15 años, pasando de 300 mil Mg en 1990 a más de 3 millones de Mg en el 2013 (Fertilizar, 2014a). En cuanto a su destino, en la campaña 2013/2014, el 82% de los fertilizantes fueron aplicados en cultivos de granos (28, 25 y 17% para soja, maíz y trigo, respectivamente) (Fertilizar, 2014b).

Pese a la generalizada adopción de la fertilización y al consecuente aumento de su consumo, existen estudios globales del contexto agrícola de la Argentina que muestran balances de nutrientes negativos cada vez mayores (Cruzate y Casas, 2012). Suñer *et al.* (2001) lo atribuyen a la agricultura continua sumada a las bajas reposiciones por la mayoría de los productores como las principales causas. Brihet (2015) estimó que en la campaña 2012/2013 hubo una reposición del 25% en N, 54% en P y del 28% en S, basado en el balance de los cuatro principales cultivos de grano (i.e. soja, trigo, maíz y girasol), estas bajas reposiciones explicarían dichos balances negativos. Existen varios trabajos en la región Pampeana que indican la variación de los balances de nutrientes con los cultivos y con la dosis de fertilización. Alvarez *et al.* (1995) sugieren que el cultivo de soja en algunos casos produce balances negativos de N, aun en situaciones con bajos rendimientos. Collino *et al.* (2015) muestran que los balances de N en el suelo dependen del rendimiento obtenido, y que la soja aporta por fijación biológica en promedio un 60% del N que

absorbe. Singh *et al.* (2003) sugiere sembrar cultivares de soja de mediana o larga duración que tienen menores índices de cosecha y exportan menos N, para aliviar dichos balances negativos. Ferraris *et al.* (2015) observaron en un ensayo de rotación con cultivos de maíz-soja-trigo/soja-cebada/soja durante 8 campañas, que las dosis de reposición más reconstrucción de PS permitieron obtener balances positivos de P y S en suelos, en tanto que el N del suelo presentó balances negativos. Cruzate y Casas (2012), por su parte indican que existen balances negativos de N, P y S del suelo debido a las bajas reposiciones tanto en cultivos de trigo, maíz y soja. La limitación de nutrientes como el P es más marcada en la provincia de Buenos Aires, Sur de Santa Fe y sudeste de Córdoba (Ciampitti *et al.*, 2011a), sin embargo en los suelos del sur y sudeste bonaerense se ha mantenido la concentración de $P_{\text{Bray 1}}$ gracias a la fertilización de enriquecimiento; lo que sugiere a la fertilización como una buena alternativa para lograr balances positivos de fósforo en los suelos (Sainz Rosas y Echeverría, 2008). Conocer los balances de nutrientes en un agro sistema resulta de utilidad para inferir cómo evolucionará su nivel en los suelos con los diferentes cultivos y fertilizaciones en el largo plazo.

b. Rol de la fertilización en la dinámica de la MO

La aplicación de fertilizantes en forma continua y el balance de los nutrientes agregados pueden modificar la proporción de los mismos en las diferentes fracciones del suelo. Dependiendo del balance global del nutriente en el sistema, su contenido en las fracciones lábiles puede incrementarse, generando un cambio en las condiciones de fertilidad del suelo (Ciampitti *et al.*, 2011a). Muchos estudios comparativos de largo plazo muestran que los sistemas donde existen adecuadas fertilizaciones tienden a acumular MO y C. Según el informe de la FAO (2002) el experimento a largo plazo más antiguo del mundo, Rothamsted (Inglaterra), mostró en algunos casos mantenimiento y en otras duplicaciones del C del suelo por medio de la fertilización en el largo plazo y la incorporación de residuos de cosecha. La fertilización nitrogenada tiene efectos positivos sobre el contenido de C en el suelo en los resultados del experimento de largo plazo (90 años) de Lauchstadt (Alemania). Resultados similares se observaron en un amplio espectro de suelos de la China, donde la fertilización con NPK mostró un incremento gradual de C en el largo plazo (Tian *et al.*, 2015). En otro contexto agrícola de La India, Purakayastha *et al.*, (2008) mostraron valores de incremento de carbono orgánico de suelos (COS) por efecto de fertilización con NPK en rotaciones que incluyeron a los cultivos de trigo, maíz y caupí. La misma tendencia muestran los estudios realizados por Kundu *et al.* (2007) en sistemas de rotación con trigo-soja por más de 30 años en Himalaya (La India). La fertilización continua pareciera ser eficaz en el mantenimiento de la MO del suelo (Wu *et al.*, 2003) y enriquecimiento con C principalmente de las fracciones lábiles (Yang *et al.*, 2012). Este pool actúa como fuente primaria de N mineralizable, S y P para las plantas (Haynes, 2005).

c. Rol de la MO en la dinámica de los nutrientes

En la materia orgánica del suelo se hallan dos fracciones con distinta dinámica de descomposición. Una fracción lenta o estable y otra fracción activa o lábil, al que algunos denominan Materia Orgánica Particulada (C_{MOP}) o Materia Orgánica Joven (MOJ) (Ciampitti *et al.*, 2011b). Las plantas toman los nutrientes de la fracción lábil, el cual se renueva constantemente a partir de los aportes de residuos y, en menor medida, de la fracción estable. El N y azufre (S) disponible se renuevan de la MO lábil de los suelos

(Haynes, 2005). La fracción estable es resistente a cualquier evento en el corto plazo y la lábil es bioquímicamente activa, no relacionada con los minerales. Ésta última posee tamaño de partículas entre 53 – 2000 μm (Elliott y Cambardella, 1991), muy sensible a cualquier tipo de manejo incluyendo la fertilización (Tong *et al.* 2014, Lou *et al.*, 2011). Por eso muchos investigadores usan a la fracción lábil como indicador de la calidad del suelo en lugar de la materia orgánica total (MOT) (Elliott y Cambardella, 1991; Cambardella *et al.*, 2001). Cambios en la fracción lábil pueden variar la respuesta de los cultivos a nuevos eventos de fertilización. En el Sur de Santa Fe y Córdoba, este fenómeno fue analizado en detalle para el P (Ciampitti *et al.*, 2011a,b,c) y parcialmente para el N (García *et al.* 2010). Existe poca información del comportamiento de otros nutrientes como S en dichas fracciones del suelo, por efectos de fertilización de largo plazo en la región pampeana. La dinámica del P aplicado con el fertilizante está más asociado a la fracción mineral del suelo, aunque una parte se puede incorporar a la MO (Boschetti *et al.*, 2003).

d. Formas de los nutrientes en el suelo

Cada nutriente tiene distintas fuentes de ingreso, trayectoria y salida del sistema suelo y se distribuyen de manera diferente entre las fracciones. Así, la fuente primaria del P en sistemas naturales es la roca madre y la fertilización en sistemas agrícolas (Rubio y Álvarez, 2010). Este nutriente en el suelo puede estar asociado al Ca, adsorbido en compuestos de Fe y Al en las superficies de las arcillas, acompañado con la MO y en forma extractable según la edad o desarrollo del suelo (Jun *et al.*, 2013). El P disponible para los cultivos es el adsorbido a la fase sólida en rápido equilibrio con el P en la solución del suelo. La fracción lábil de P orgánico también puede ser fuente de P para los cultivos (Wyngaard *et al.*, 2016) como consecuencia de la descomposición y mineralización de la fracción orgánica del suelo liberando iones ortofosfato a la solución del suelo. La exportación en granos constituye su principal salida. El ciclo del S en el agrosistema está gobernado por procesos biológicos y físico-químicos, con activa intervención de la biota del suelo (Haneklaus *et al.*, 2007). La fertilización ya sea con SO_4^{-2} o como S^0 son la principal fuente de ingreso y otros aportes menores como el riego, la contribución de las formas gaseosas no son significativos en la región pampeana. Una vez en el suelo puede encontrarse en forma iónica (SO_4^{-2}), adsorbidos o en solución. En general, el 95% del S en el suelo se encuentra en forma orgánica. Las formas minerales de S son móviles en el suelo, salvo en suelos ácidos (Scherer, 2001). Las principales salidas corresponden a la exportación con las cosechas, lixiviación y escurrimiento. Las mayores respuestas a su aplicación se han visto en situaciones con baja MO (Fontanetto *et al.*, 2011). El N por su lado posee un ciclo global y las principales fuentes para los cultivos son la fijación biológica, seguido de la fertilización y mineralización de la MO. En el suelo ocurren una serie de procesos que lo hacen disponible para las plantas, una vez mineralizado es muy móvil. Las salidas del agrosistema son mediante exportación con las cosechas, lixiviación, denitrificación y volatilización (Schlesinger y Bernhardt, 2013).

e. El valor de los ensayos de larga duración

Los experimentos de larga duración han sido y siguen siendo una herramienta de mucho valor en la generación de la tecnología que disponemos en el contexto agrícola. Son útiles para determinar si un manejo agrícola es sostenible, y capaces de servir como un sistema de alerta temprana para la detección de problemas que amenazan la productividad futura

(Berzsenyi y Gyórfy, 2000). Wander (2007) afirma que los ensayos de larga duración recuerdan el pasado y anticipan el futuro y, a través de su uso, se han logrado integrar y aplicar conocimientos de sistemas naturales a los sistemas agrícolas logrando generar métodos de producción apropiados para distintos contextos agrícolas. Así también Amthor (1998) señala a la fertilización como uno de los logros en el avance tecnológico para la obtención de aumentos en el rendimiento, basado en ensayos de largo plazo. Este proceso de adopción de tecnología es continua y la superación de los rendimientos promedio han sido cada vez mayores (Wander, 2007).

En los ensayos de larga duración cada parcela individual es un ambiente de estudio único, es como un laboratorio donde las comparaciones entre suelos y plantas pueden llevarse a cabo. Así muchos conocimientos obtenidos hasta la actualidad provienen de los ensayos de largo plazo. Los experimentos de Rothamsted son una muestra de estudios mundiales de sostenibilidad e impacto ambiental en la agricultura moderna, donde la MOS siempre ha sido el foco de atención para las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Kemmitt *et al.*, 2006). Actualmente la MOS se ha convertido en uno de los principales indicadores de la calidad del suelo y la agricultura sostenible (Cambardella *et al.*, 2001). Otro experimento de largo plazo conducido por el USDA-ARS y la Universidad de Científicos de Minesota, Rosemount entre uno de sus tantos aportes a la evolución del conocimiento en las ciencias agrarias, permitió cuantificar la dinámica de N y C en un agroecosistema mostrando los efectos de prácticas de labranza y residuos de cultivos sobre la MOS (Clapp *et al.*, 2000). Así también en Suecia lograron sentar bases para la dinámica y estabilización de la MO (Andrén *et al.*, 2007). En otro experimento de largo plazo en Uppsala, en Suecia Central, después de 40 años lograron demostrar el peligro de lixiviación y emisiones gaseosas de N con el uso de abono verde en grandes cantidades (Kirchmann *et al.*, 1987). Así como estos experimentos, existen muchos otros en el mundo sobre los cuales se ha construido el conocimiento de la ciencia del suelo con el aporte de ensayos en el tiempo, siempre orientados a la protección del suelo en un sentido amplio.

Experimentos de larga duración, con esquemas de fertilizaciones combinadas N, P y S (los tres nutrientes con mayor probabilidad de respuesta a la fertilización en la región pampeana), permiten hacer un análisis del efecto de largo plazo de las mismas sobre la partición del nutriente en el suelo y sobre la relación entre los tres nutrientes (García *et al.* 2010; Boxler *et al.* 2013). De esa manera, provee información para realizar una evaluación de la influencia de la fertilización continua sobre la producción y la fertilidad de los suelos.

f. Uso de la relación entre nutrientes y la estequiometría ecológica en contextos agrícolas

Cualquier cambio en contenido de nutrientes en las fracciones del suelo, significa cambios en las relaciones entre nutrientes. La fertilización agrícola puede cambiar los procesos de los ciclos biogeoquímicos elementales (Li *et al.*, 2013). Según Sadras (2006) se debe buscar estudiar de forma integrada a los nutrientes (e.g. relación entre nutrientes) porque generan mayor información que en forma individual. La mayoría de investigaciones usan la relación entre nutrientes para conocer el estado de alguno de ellos en el suelo. Sumner *et al.* (1977) usó la relación C:P para determinar el estado del P en los suelos, Tian *et al.*, (2010) usaron las relaciones C:N, C:P y N:P en un amplio espectro de suelos en China y sugirieron que el estudio de estas relaciones son útiles en la capa superficial, rica en materia orgánica, donde podrían usarse como indicadores del estado de los nutrientes del suelo. Wang *et al.* (2014)

estudió a las relaciones C:N, C:P y C:K para determinar el efecto de la aplicación de N, P y K en la composición de especies vegetales de pantanos y que esos cambios podrían afectar al ciclado de nutrientes. Otros investigadores como Gusewell *et al.*, (2003) usaron las relaciones entre nutrientes en el suelo como determinantes de la estructura de comunidades vegetales y detectaron que especies de crecimiento rápido abundaban en suelos con relaciones N:P bajos, y en situaciones contrarias predominaban especies de crecimiento lento. Así también, Koerselman y Meuleman (1996) indicaron que la relación N:P entre 14 y 16 son las óptimas en suelos de sistemas naturales, por debajo de ese rango de valores habría limitación de N y por encima, limitación de P. La relación N:P también fue estudiado en el contexto ambiental, que sirvió para observar consecuencias del cambio climático sobre la composición de estructuras vegetales (Sardans y Peñuelas, 2012; Peñuelas *et al.*, 2013 y Tian *et al.*, 2010). Poco se ha estudiado la variación de las relaciones C:N:P:S en el suelo por efecto de fertilización continua.

Una alternativa para diagnosticar la fertilidad del suelo es utilizar a la planta como indicador, utilizando el contenido de nutrientes tanto en términos absolutos como con la relación entre nutrientes en los tejidos vegetales. Las relaciones entre nutrientes son relevantes en aquellas zona agrícolas donde los cultivos están co-limitados por varios nutrientes (e.g. Sumner, 1977; Sattari *et al.*, 2014). Uno de los órganos más estables de la planta, en términos de contenido de nutrientes, es el grano, considerado como reservorio de nutrientes para la cohorte siguiente (Wardlaw, 1990). El análisis del contenido de nutrientes en los granos puede servir como herramienta complementaria al análisis de suelos para los diagnósticos de fertilidad (Correndo y García, 2012). El análisis de granos también provee información sobre la exportación de nutrientes y, en consecuencia, sobre el balance de nutrientes de distintos programas de fertilización. Hay quienes afirman que los nutrientes absorbidos por la planta se relacionan con la disponibilidad de los mismos en el suelo (Kerckhoff *et al.*, 2006) y otros que contrastan esa afirmación, al no encontrar relación significativa entre el suministro de nutrientes al suelo y la concentración de nutrientes en partes foliares, debido probablemente al efecto amortiguador de almacenamiento de nutrientes en las raíces (Browman *et al.*, 2003). Otros investigadores afirman que existen otras fuentes de variación como la disponibilidad del agua, rotaciones, tipo de labranza, manejo de malezas, manejo de inoculantes fijadores de N (Yang *et al.*, 2012). Sin embargo, sería una buena alternativa generar información que pueda esclarecer si los cambios en la disponibilidad de los nutrientes en el suelo debido a distintos manejos de fertilización se reflejan en la concentración individual de estos nutrientes y sus relaciones en los granos cosechados.

Desde el punto de vista del diagnóstico, las relaciones útiles entre nutrientes son las que cambian sólo con la deficiencia de un nutriente, permitiendo distinguir poblaciones deficientes de los que no lo son. En este sentido, algunos autores han señalado que la capacidad que tienen los cultivos de absorber nutrientes por encima de sus requerimientos (i.e. consumo de lujo) dependiendo de la disponibilidad relativa de los nutrientes en el suelo, lleva a una gran variabilidad en las relaciones entre nutrientes, los que podrían limitar su utilidad como indicadores (Lemarie y Gastal, 2009).

La estequiometría ecológica es una rama de la ecología que considera las relaciones cuantitativas de los elementos (e.g. nutrientes) en los seres vivos, y este concepto ha sido

utilizado en ecología para estudiar los cambios en las relaciones entre nutrientes a distintos niveles de organización en ecosistemas (Elser *et al.*, 2000a; 2000b). Estos estudios han puesto énfasis en la relaciones entre el C, N y P. Poco se ha estudiado de relaciones que involucren otros elementos (e.g. S). La utilización de esta herramienta ha permitido explicar procesos ecológicos de magnitud (Peñuelas *et al.*, 2013), cuyos principios podrían aplicarse en esquemas agrícolas. Las relaciones entre nutrientes (e. g. entre N:S) en tejidos vegetales fueron investigadas en muchas plantas hace más de 100 años por Liebig (1859) con lo cual logró reconocer la función de algunos nutrientes (e. g. N y S) en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estudios más recientes, plantean la posibilidad del uso de las relaciones estequiométricas entre nutrientes en granos (e. g. N:S) de trigo (Randall *et al.*, 1981), y soja (Hitsuda *et al.*, 2004, Salvagiotti *et al.*, 2012a) como herramientas para los diagnósticos de deficiencias azufradas en el suelo. También se podrían utilizar como indicadores de rendimientos en maíz (e. g. N:P) (Bélanger, 2011) ya que las bajas relaciones N:P podrían estar relacionados con los mayores rendimientos de cereales y oleaginosas (Sadras, 2006). El uso de las relaciones estequiométricas entre nutrientes también ha sido propuesto como herramienta de determinación de calidad de granos, por efecto de incremento de CO₂ en el ambiente con el actual cambio climático. Hogy *et al.* (2013) mostraron el efecto negativo del incremento de CO₂ sobre la calidad de granos de trigo, cuando las relaciones C:N en granos se incrementaban. Wang *et al.* (2011) muestra la misma tendencia en granos de arroz. Hao *et al.*, (2014) estudiaron el mismo efecto sobre los granos de leguminosas y afirman que este grupo de especies tendrían respuesta parcial al incremento de CO₂ por su capacidad de fijar N. Asimismo, se conoce que la relación N:S en granos de soja está relacionada con su calidad (Blagrove *et al.*, 1976; Gaylor y Sykes, 1985), ya que el contenido de aminoácidos azufrados suelen limitar el valor biológico de la proteína (Sexton *et al.*, 2002). Si la concentración de S en grano fuera sensible a cambios en su disponibilidad en el suelo, no sólo se podría utilizar la relación N:S como indicador de un deficiencia nutricional, sino que también podría mejorarse la calidad de la proteína en soja mediante el manejo de la fertilización.

Objetivo general y organización de la Tesis

En función del análisis de los antecedentes discutidos en secciones anteriores, se planteó como el **objetivo general** de la tesis, evaluar el efecto de los regímenes de fertilización de largo plazo en sistemas agrícolas sobre los contenidos y las relaciones estequiométricas de C:N:P:S en el suelo, y cómo dichos contenidos y relaciones se reflejan en los productos de cosecha.

Los **objetivos específicos** fueron:

1. Evaluar el efecto de los distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre: (i) los contenidos de C, N, P, S, totales y en la fracción lábil en el suelo y, (ii) las relaciones estequiometricas entre los nutrientes en estas formas.
2. Determinar el efecto de los regímenes de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas entre N, P, S en grano de soja y su relación con las del suelo.

La **hipótesis general** de la tesis fue que la fertilización de largo plazo con N, P, y S afectan las relaciones estequiométricas de dichos nutrientes en el suelo, y que estos cambios se reflejan en las del grano de soja

Las **hipótesis específicas** fueron:

1. El agregado continuo de los distintos regímenes de fertilización de largo plazo provoca mayores cambios en los contenidos de C, N, P, S en la fracción lábil que en total y, en consecuencia mayores cambios en las relaciones estequiométricas entre C, N, P y S en la fracción lábil.
2. El cambio de la fracción lábil de P y S en el suelo se refleja en la concentración de estos nutrientes en el grano de soja. Por el contrario, la concentración de N va a ser independiente de su disponibilidad en el suelo, ya que éste cultivo regula su asimilación a través de la fijación simbiótica.

Se organizó la tesis en 5 capítulos. En el primer capítulo se realizó una introducción general donde se abordó el problema objeto de la tesis y los antecedentes generales existentes. El segundo capítulo tuvo como objetivo evaluar el efecto de los distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre: (i) los contenidos de C, N, P, S, totales y en la fracción lábil en el suelo y, (ii) las relaciones entre los nutrientes en estas formas. En el tercer capítulo, se evaluaron los mismos efectos (fertilización continua) sobre: (a) el rendimiento y concentración de N, P y S en granos de soja, (b) la exportación de N, P y S por el cultivo de soja y, (c) las relaciones estequiométricas entre N, P, S en grano de soja. En el cuarto capítulo se analizó la relación que existe entre el contenido de N, P y S en los granos cosechados y las diferentes fracciones en el suelo como fuente de nutrientes para las plantas. Finalmente en el capítulo 5 se elaboraron las conclusiones generales y su significado.

Este estudio se llevó a cabo en cinco sitios experimentales de largo plazo de la Red de Nutrición CREA en el Sur de Santa Fe y Córdoba iniciada en el año 2000. Dos sitios pertenecen a la rotación maíz-trigo/soja (M-T/S) y tres sitios bajo la rotación maíz-soja-trigo/soja (M-S-T/S). Los tratamientos instalados en cada sitio es la combinación de N, P y S (e. g. Testigo sin fertilizar, PS, NS, NP, NPS y Completo (NPS+micronutrientes)) aplicados siempre sobre las mismas parcelas y, bajo el sistema de siembra directa (SD).

CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS DISTINTOS REGÍMENES DE FERTILIZACIÓN DE LARGO PLAZO SOBRE LOS CONTENIDOS DE C, N, P, S EN EL SUELO Y SUS RELACIONES

INTRODUCCIÓN

La fertilidad natural de los suelos sufre un deterioro debido a las largas historias agrícolas sin reposición de los nutrientes. Por ello, ha sido necesario el aporte de nutrientes tanto naturales como sintéticos para mantener la fertilidad del suelo (FAO y ITPS, 2015). En la región pampeana también se ha intensificado el uso agrícola del suelo y con ello el uso de fertilizantes (Fertilizar, 2014a). Actualmente, existe un efecto importante de la fertilización de los cultivos sobre los suelos que podría implicar cambios en la disponibilidad de nutrientes y cambios en los cálculos de requerimiento de fertilización de los cultivos.

El carbono y los nutrientes están en diferentes fracciones en el suelo, algunas son más sensibles que otras al uso del suelo (Diovisalvi *et al.* 2008), (Chan, 1997) y podrían ser sensibles a la fertilización. El contenido total (i. e. materia orgánica total) incluye básicamente a las fracciones lábil y el carbono orgánico resistente o fracción orgánica asociada a la fracción mineral (Cambardella y Elliott, 1992). Los niveles de carbono orgánico total (C_{total}) en el suelo reflejan el equilibrio a largo plazo del balance de carbono de los suelos. Varios trabajos han mostrado que los niveles de C_{total} están relacionados con la cantidad de fertilizantes y residuos orgánicos agregados al suelo (Cai y Qin, 2006; Lemke *et al.*, 2010; Hati *et al.*, 2007). Los cambios más rápidos se producen en las fracciones más lábiles de la MOS (Galantini *et al.* 2002). Esta fracción liviana o lábil está compuesta principalmente de restos vegetales, productos microbianos y de la microfauna (Dalai y Mayer, 1986; Janzen *et al.*, 1992) que le otorgan mayor actividad al suelo. Varios investigadores han sugerido usar la materia orgánica particulada como la fracción lábil más sensible a los distintos manejos del suelo (Cambardella y Elliott, 1992; Janzen *et al.*, 1992; Chan *et al.*, 1997). Por el contrario, la fracción resistente o mineral alberga a los nutrientes en sus formas no disponibles de difícil acceso para la actividad microbiana (Álvarez *et al.*, 2011).

La disponibilidad de algunos nutrientes está estrechamente relacionada con los contenidos de carbono orgánico del suelo (COS). El nitrógeno (N) y azufre (S) del suelo están regulados principalmente por la mineralización de la MOS. El fósforo (P) tiene una dinámica distinta a la del N y S, su disponibilidad está regulada por la fracción mineral, pero en situaciones donde no se fertiliza con P se hace importante el aporte proveniente de la MOS (O'Halloran *et al.*, 1987; Smeck, 1985). Respecto al N, más del 95% del nitrógeno total (N_{total}) es orgánico (NO) (Zhu, 1997), por lo que las variaciones de la MOS implican también cambios del N orgánico. Una forma de estimar la capacidad del suelo de suministrar N para las plantas es midiendo la cantidad de $N-NH_4^+$ producida por incubaciones anaeróbicas a corto plazo, el cual ha sido denominado nitrógeno potencialmente mineralizable (Nan). El Nan ha mostrado ser sensible a los sistemas de labranza (Genovese *et al.*, 2009; Fabrizzi *et al.*, 2003) y no existen evidencias de que sea sensible a la fertilización. En cuanto al P, su disponibilidad está regulada por reacciones biológicas y fisicoquímicas que se producen en el suelo (Boschetti *et al.*, 2003). El método de Bray y Kurtz (1945), que comúnmente se utiliza en la región pampeana para medir el P disponible, se relaciona con el rendimiento o la respuesta de los cultivos a la fertilización

fosforada (Rubio *et al.*, 2015). Este método mide el P de la fracción lábil del suelo y el P disponible en forma inorgánica en la solución del suelo que suele ser muy sensible al agregado de fertilizantes fosforados (Boschetti *et al.*, 2001). Por otro lado, aproximadamente el 98% del azufre total (S_{total}) es S orgánico (Mizuno *et al.*, 1990). En el suelo, el S es más móvil que el P y menos móvil que el N. Si bien la disponibilidad del N y S están regulados por la MOS, la distribución de sulfato en el perfil del suelo es distinta y más variable que la del NO_3 y la concentración de ambos no está relacionada (Gutiérrez Boem, 2015), porque tienen distintas dinámicas en el suelo. La distribución vertical de sulfatos ha dificultado los diagnósticos de disponibilidad de S en el suelo. Los intentos por simular lo que ocurre en el suelo han llevado a buscar, sin éxito, métodos de medición de S potencialmente mineralizable mediante incubaciones abiertas y cerradas (Gutiérrez Boem, 2015). El S en la materia orgánica particulada representa una fracción más lábil del S orgánico y podría servir como complemento al diagnóstico de fertilidad azufrada en los suelos. En la región pampeana se sabe poco sobre la variación del C, N, P y S en las fracciones del suelo por efecto de la fertilización de largo plazo.

El C, N, P y S en el suelo están estrechamente relacionados (Clavelnad y Liptzin, 2007; Mizuno *et al.*, 1990; Vitousek *et al.*, 2002). Walker *et al.* (1956) sugirió que estos nutrientes (i. e. C, N, P y S) se asocian en proporciones definidas en la MOS. Walker y Adams (1958) vieron una estrecha correlación entre el COS y el P orgánico en un análisis de 22 perfiles de suelos con pastizales. En la biomasa microbiana de los primeros 10 cm de suelos ricos en MO también se han visto relaciones estrechas entre el C, N y P (Claveland y Liptzin, 2007). El S de la capa arable está constituido por S orgánico como fracción principal por lo cual el C y S en el suelo también están asociados (Mizuno *et al.*, 1990). Otros autores han utilizado las relaciones entre C, N y S en el suelo para conocer el estado del S en el suelo (Bailey, 1985). Todos estos reportes sugieren que los cambios en MOS implican cambios en concentración del C, N, P y S en las distintas fracciones del suelo y, a su vez las relaciones entre los nutrientes también pueden variar. Estos cambios pueden afectar directamente a la disponibilidad de nutrientes para las plantas, a la actividad microbiana en el suelo así como a las estructuras de los ecosistemas terrestres (Claveland y Litzin, 2007; Sterner y Elser, 2002). Por lo cual se ha señalado a la MOS como el componente fundamental del sistema suelo porque define las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo. A su vez, la MOS es uno de los componentes más alterados por las distintas prácticas de manejo. Evaluar las relaciones entre el C, N, P y S en el suelo puede generar aportes importantes para conocer las tendencias de fertilidad de dichos suelos a futuro. Para lo cual, se hace necesario contar con ensayos de largo plazo porque los cambios en contenido de nutrientes debido a la fertilización son difíciles de detectar, ya que las variaciones son pequeñas y lentas en el espacio y en el tiempo.

Los **Objetivos** del presente capítulo fueron evaluar el efecto de distintos regímenes de fertilización de largo plazo con N, P y S sobre: (a) la distribución y concentración de nutrientes en la fracciones lábiles y no lábiles en el suelo y, (b) las relaciones estequiométricas entre C:N:P:S en el suelo.

La **Hipótesis** fue que el agregado continuo de N, P y S en forma de fertilizantes provoca cambios en los contenidos de C, N, P, S total y en la fracción lábil del suelo y, en consecuencia cambios en las relaciones estequiométricas entre ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la campaña 2000/2001, la Región Sur de Santa Fe del movimiento CREA implantó una red de ensayos a largo plazo (**Figura 1**) (García *et al.*, 2006). Uno de sus objetivos comunes desde un principio fue determinar las respuestas directas y residuales de los cultivos a la aplicación de N, P y S y así complementar a los métodos de diagnóstico de la fertilidad de suelos. En la actualidad esta red experimental cuenta con cinco sitios de ensayo en campos de agricultores bajo sistemas de siembra directa estabilizados: tres sitios bajo rotación maíz-soja-trigo/soja (M-S-T/S) (La Blanca, La Hansa y Lambaré), cuatro cultivos en tres años y, dos sitios bajo rotación maíz-trigo/soja (M-T/S) (Balducchi y San Alfredo), tres cultivos en dos años. En este trabajo, se analizaron suelos de todos los sitios. La evaluación de las distintas variables se realizó en la campaña 2013/14. La fecha de muestreo fue en los meses de mayo y junio del 2014, antes de la siembra de soja y trigo para el caso de soja de primera y segunda respectivamente. Los sitios seleccionados para este estudio tienen diferentes suelos e historias agrícolas (**Tablas 2.1 y 2.2**).

TABLA 2.1. Información de manejo y de sitio previo a la implementación de los ensayos en el año 2000 de la red de nutrición CREASur de Santa Fe (*).

Rotación	M-T/S			M-S-T/S	
Establecimiento	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
CREA	Teodelina	Santa Isabel	Gral. Baldissera	Amstrong-Montes de Oca	San Jorge-Las Rosas
Serie Suelo	Santa Isabel	Hughes	La Bélgica	Bustinza	El Trébol
Clasificación de suelos	Hapludol típico (1)	Argiudol típico (1)	Hapludol típico (2)	Argiudol ácuico (2)	Argiudol típico (2)
Labranza	Siembra directa				
Años agricultura	+ 60	15	12	+20	6

Tratamientos

En todos los sitios se establecieron seis tratamientos de fertilización en un diseño en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones en parcelas de 25-30 m de ancho y 65-70 m de largo. Los tratamientos se realizan anualmente siempre sobre las mismas parcelas. Los tratamientos utilizados son un Testigo sin fertilizar, distintas combinaciones de N, P y S (NP, NS, PS, NPS), y un tratamiento Completo con NPS más K, magnesio (Mg), boro (B), cobre (Cu) y zinc (Zn). Las dosis de nutrientes se deciden año a año estimándose a partir del rendimiento esperado del cultivo a fertilizar. El N se aplica solo en trigo y maíz, mas no al cultivo de soja de primera o segunda. El tratamiento PS recibió N en algunas ocasiones dado que las fuentes de P y/o S usadas contenían N. Se utilizan dosis de N no limitantes para alcanzar los rendimientos esperados, estimadas a partir de la información zonal. Para P y S, las aplicaciones se realizan con dosis estimadas para la reposición de la extracción de esos nutrientes en grano más un 10% de manera de aplicar más de lo extraído del suelo. La fertilización de trigo-soja se realiza en el trigo con N necesario para el trigo y, el P y el S necesarios para el trigo y la soja. Las dosis de K, Mg,

(1) Según INTA (1986), Carta de Suelos RA-Canals, INTA hoja Canals 3363-28, INTA hoja Sancti Spiritu 3563-5 y Serie Hughes.

(2) Según INTA (1986), Cartas de Suelos Series de Suelos La Bélgica, Bustinza, Los Cardos y Monte Buey.

(*) Según García *et al.* (2006).

B, Cu y Zn utilizadas son exploratorias a partir de bibliografía internacional (García *et al.*, 2006). Las fertilizaciones se aplican en pre siembra o siembra en mezclas físicas, incorporadas a la profundidad de siembra distanciada al menos 5 cm de las semillas para evitar efectos de toxicidad.

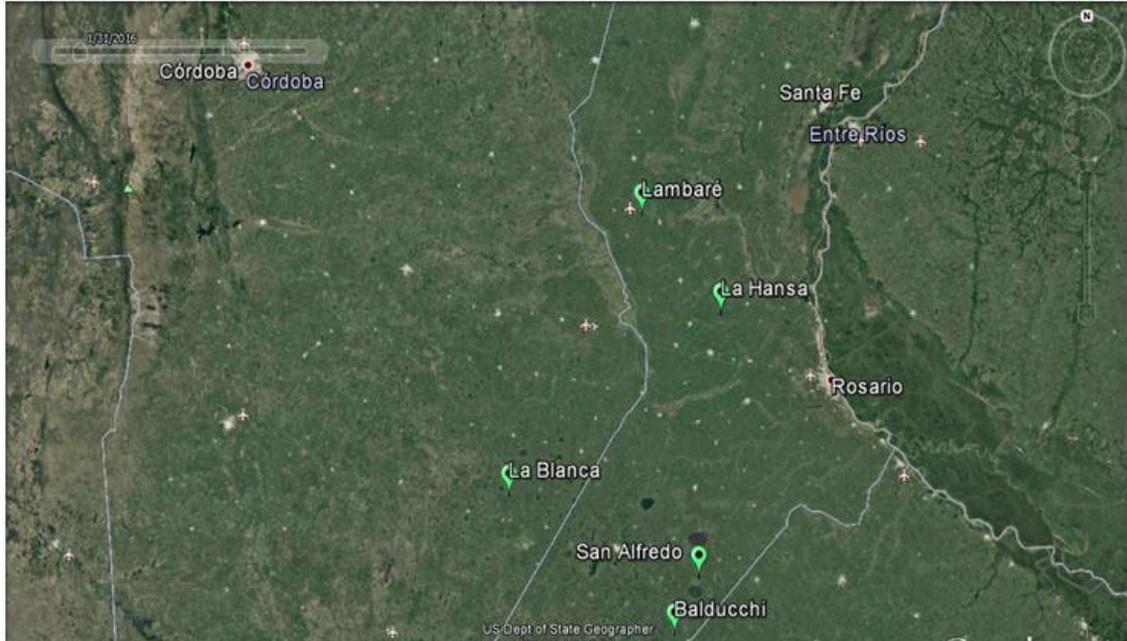


FIGURA 2.1. Ubicación de los sitios experimentales de la Red de nutrición de la región Crea Sur de Santa Fe.

TABLA 2.2. Análisis de suelo (0-20 cm) a la implantación de los ensayos en la campaña 2000/01 (previos a la siembra del maíz) para los cinco sitios (*).

Análisis	Unidad	Rotación M-T/S		Rotación M-S-T/S		
		Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
P Bray-1	mg kg ⁻¹	10,8	18,3	16,2	45,5	67,7
MO	%	2,6	3,6	2,6	2,2	3,4
pH	-	5,9	6,0	6,6	5,5	5,6
Ca	cmol kg ⁻¹	8,1	11,0	7,2	7,6	9,9
Mg	cmol kg ⁻¹	2,0	2,1	2,0	1,6	3,0
K	cmol kg ⁻¹	1,4	1,7	1,9	1,7	2,6
Na	cmol kg ⁻¹	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5
B	mg kg ⁻¹	0,7	0,8	1,1	0,9	1,2
Cu	mg kg ⁻¹	1,3	1,8	1,3	1,4	2,0
Zn	mg kg ⁻¹	1,8	1,7	1,7	0,8	0,9
Fe	mg/kg ⁻¹	90,0	105,0	71,0	86,0	76,0
Mn	mg kg ⁻¹	45,0	103,0	36,0	54,0	98,0
Arcilla	%	11,8	18,0	15,5	18,0	20,5
Limo	%	53,2	62,0	56,4	78,9	76,5
Arena	%	35,1	20,0	28,1	3,1	3,0

(*). Promedios de tres repeticiones según García *et al.*, 2006.

Determinaciones analíticas

Para la caracterización del suelo se tomó una muestra de suelo compuesta, en cada parcela haciendo 30 piques por parcela (3 parcelas por tratamiento) en tres profundidades: 0-5 5-10 y 10-20 cm. La toma de las muestras fue posterior a la cosecha de soja de primera (Lambaré, La Blanca, La Hansa) y soja de segunda (San Alfredo y Balducci), entre los meses de mayo y junio/2014. Las muestras fueron sometidas a los pre-tratamientos de secado al aire y tamizado por una malla de 2 mm. Luego se hicieron las siguientes determinaciones analíticas: Carbono orgánico total (C_{total}) mediante la técnica descrita por Walkley y Black (1934) considerando que el 77% del C_{total} es C fácilmente oxidable (factor de corrección=1,3), nitrógeno total (N_{total}) por digestión húmeda H_2SO_4 y H_2O_2 seguido de una colorimetría (Baethgen y Alley, 1989), fósforo total (P_{total}) por digestión húmeda con ácido nítrico y perclórico y la medición por colorimetría (Kuo, 1996), azufre total por digestión húmeda con ácido nítrico y perclórico, seguido de una medición turbidimétrica. Se midió el carbono en la materia orgánica particulada (C_{MOP}), para lo cual, en el método original de Cambardella y Elliott (1992) se reemplazó el hexametáfosfato de Na por Cloruro de Potasio al 0,05M (Salas *et al.*, 2003). Se dejó agitar por 15 horas a 150 rpm. El tamizado se realizó con un tamiz de 53 μm de diámetro, se recogió la fracción $>53 \mu m$, se la secó en estufa a 60° hasta peso constante, se pesó y se le determinó C por el método de Walkley y Black (1934). El Carbono en la fracción orgánica resistente (C_{MOR}) se calculó como la diferencia entre el C_{total} y el C_{MOP} . El Nitrógeno potencialmente mineralizable (Nan) fue medido después de una incubación anaeróbica de 5 gr de suelo en tubos de ensayo con tapa (150 x 16 mm) completados su volumen con agua destilada. Se cerraron herméticamente y se incubaron durante 7 días a 40°C. Finalizada la incubación, se adicionó igual volumen de KCl 4M que de agua destilada (Keeney y Bremner, 1966). Luego en erlenmeyers se dejó agitar por 30 minutos y se filtró para posteriormente determinar el $N-NH_4^+$ liberado por colorimetría (Baethgen y Alley, 1989). El P disponible fue medido por la extracción con una solución de Bray y Kurtz 1 (1945) seguido de una colorimetría (Kuo, 1996). Por último se midió el S en la materia orgánica particulada (S_{MOP}), después de separar la fracción particulada siguiendo la misma técnica descrita para C_{MOP} (Cambardella y Elliott, 1992; Salas *et al.*, 2003). El S_{MOP} se midió después de una digestión húmeda con ácido nítrico y perclórico sobre la fracción particulada (53 – 2000 μm) seguido de una medición turbidimétrica. El S en la fracción orgánica resistente (S_{MOR}) se calculó como la diferencia entre el S_{total} y el S_{MOP} .

Cálculos y análisis estadísticos

Se realizó un ANOVA general incluyendo como fuentes de variación a los sitios, tratamientos de fertilización y profundidades y, un ANOVA en el estrato de 0-20 cm utilizando como fuentes de variación a los sitios y tratamientos. Los ANOVA se hicieron para conocer el efecto de los regímenes de fertilización de largo plazo sobre las concentraciones de C, N, P y S en contenido total del suelo y, sobre las concentraciones de C_{MOP} , Nan, $P_{Bray 1}$ y S_{MOP} en el suelo. Los tratamientos se consideraron fijos, mientras que los sitios, profundidad, bloques y las interacciones dobles y triples fueron efectos aleatorios. Las diferencias significativas entre las medias fueron determinadas con un LSD a un nivel de significancia del 95%. Las relaciones estequiométricas entre el contenido total de C, N, P y S y lábil se realizaron mediante análisis de regresión lineal y se expresaron en

unidades de masa (i. e. kg C / kg N). Se compararon las distintas regresiones mediante test de F y, en los casos en que no fueron diferentes, las líneas de regresión para esos tratamientos se representaron con una sola función. No se incluyó la variable rotación en las comparaciones estadísticas, por lo que las comparaciones entre ambas rotaciones se consideran solo como descriptivas.

RESULTADOS

Efecto de fertilización de largo plazo sobre las concentraciones de C, N, P y S total y en las fracciones del suelo

a. Carbono y en las fracciones orgánicas particulada y resistente

El efecto de los tratamientos sobre el contenido de C_{total} varió con los sitios (interacción Sitio x Tratamiento significativa, $p < 0,01$). En cuatro de los cinco sitios no se vieron efectos significativos de los tratamientos en la capa de 0-20 cm, a excepción de Balducchi (**Tabla 2.3, Figura A1**). En Balducchi, los tratamientos Testigo, PS y NP tuvieron los más bajos contenidos de C_{total} . En este sitio el tratamiento Completo superó al Testigo en un 28%. (**Tabla 2.3**). El ANOVA del C_{total} en el estrato de 0-20 cm permitió distinguir el efecto significativo de la fertilización. El tratamiento Testigo tuvo el valor más bajo y el tratamiento Completo el más alto. La disminución del C_{total} en el estrato de 0-20 cm cuando no se fertilizó fue del 12% (Testigo vs Completo). En todos los sitios experimentales, los contenidos de C_{total} disminuyeron con la profundidad ($p < 0,01$) (**Tabla 2.3, Figura A1**). La reducción de C_{total} entre la capa de 0-5 cm y 5-10 cm fue de 31 - 32%. Entre los estratos de 5-10 cm y 10-20 cm fue de 8-10%. Las interacciones sitio x profundidad, tratamiento x profundidad y sitio x tratamiento x profundidad no fueron significativas (**Tabla 2.3**).

TABLA 2.3: Carbono orgánico total del suelo (c_{total}) (g C kg⁻¹) y valores *F* del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Experimentales	Prof. cm	Tratamientos						Prom
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	
Balducchi	0-5	16,5	16,8	19,8	18,5	21,7	20,4	18,9
	5-10	9,2	9,5	12,3	10,3	11,7	15,2	11,4
	10-20	9,1	9,2	11,3	9,7	11,8	13,1	10,7
	0-20	10,9b	11,2b	13,7a	12,1b	14,2a	15,4a	12,9D
San Alfredo	0-5	21,6	23,9	22,2	24,0	23,8	23,7	23,2
	5-10	16,6	17,1	16,3	15,9	14,8	17,7	16,4
	10-20	14,8	14,8	15,1	15,4	15,5	16,6	15,4
	0-20	16,9a	17,7a	17,1a	17,7a	17,4a	18,6a	17,6A
La Blanca	0-5	17,8	19,3	20,9	21,6	20,4	20,9	20,1
	5-10	11,4	13,5	12,6	13,2	13,3	13,0	12,9
	10-20	11,9	11,6	12,7	12,0	11,3	12,9	12,1
	0-20	13,2a	14,0a	14,7a	14,7a	14,1a	14,9a	14,3C
La Hansa	0-5	19,9	21,1	20,3	21,2	21,8	22,3	21,1
	5-10	14,2	14,3	13,9	15,0	14,7	14,3	14,4
	10-20	12,7	12,6	11,9	13,1	13,2	13,0	12,7
	0-20	14,9a	15,1a	14,5a	15,6a	16,7a	15,7a	15,3B
Lambaré	0-5	22,9	24,9	23,1	23,0	23,9	23,5	23,6
	5-10	15,2	15,9	14,9	15,9	16,3	16,6	15,8
	10-20	12,8	14,2	12,7	13,8	13,6	13,3	13,4
	0-20	15,9a	17,3a	15,8a	16,6a	16,8a	16,8a	16,5A

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (filas), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.3

	0-5	19,7	21,2	21,2	21,7	22,3	22,2	21,3a
Todos los sitios	5-10	13,3	14,1	13,9	14,1	14,4	15,4	14,0b
	10-20	12,3	12,5	12,7	12,8	13,1	13,8	12,7c
	0-20	14,4C	15,1BC	15,2BC	15,3ABC	15,7AB	16,3A	
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación	Valores F	p – valor	Fuentes de variación	Valores F	p-valor			
Sitio	52,61	<0,01	Sitio	27,46	<0,01			
Tratamiento	3,59	0,03	Tratamiento	2,83	0,04			
Sitio x Tratamiento	2,02	<0,01	Sitio x Tratamiento	0,95	0,54			
Profundidad	527,04	<0,01						
Sitio x Profundidad	1,91	0,11						
Tratamiento x Prof.	0,42	0,79						
Sitio x Trat. x Prof.	0,42	0,99						

La **Tabla 2.4** muestra los valores de C_{MOP} en el suelo. La interacción Sitio x Tratamiento significativa ($p=0,02$) indicó que el efecto de los tratamientos sobre los valores de C_{MOP} fue variable con los sitios. San Alfredo fue el sitio más rico en C_{MOP} , donde los tratamientos Completo, NPS y NP tuvieron las mayores concentraciones de C_{MOP} , el Completo superó al testigo en un 21%. En Balducchi, los tratamientos testigo y PS tuvieron los valores más bajos y, el valor más alto de C_{MOP} correspondió al tratamiento Completo. En La Blanca el tratamiento Completo fue el más rico en C_{MOP} , este sitio fue el más pobre en C_{MOP} . En los otros dos sitios (La Hansa y Lambaré) no se vieron efectos significativos de los tratamientos (**Tabla 2.4, Figura A3**).

En todos los sitios el C_{MOP} disminuyó con la profundidad (**Tabla 2.4, Figuras A5**). La interacción sitio x profundidad fue significativa ($p<0,001$), lo que indicó que el cambio de los niveles de C_{MOP} con la profundidad no fue el mismo en todos los sitios. La interacción tratamiento x profundidad fue significativa ($p=0,04$, **Tabla 2.4, Figura A4**). Las diferencias entre los tratamientos (promedio de todos los sitios) solo se observaron en el estrato de 0-5 cm, mientras que en los estratos más profundos no hubo diferencias (**Tabla 2.4**).

El ANOVA del C_{MOP} en el estrato de 0-20 cm de profundidad en cada sitio experimental permitió detectar efecto de los tratamientos de fertilización con N, P y S sobre el C_{MOP} sólo en Balducchi, San Alfredo y La Blanca. En estos sitios se registraron los valores más bajos en el tratamiento testigo y los más altos en los tratamientos NPS y Completo. En La Hansa y Lambaré no se vieron efectos de la fertilización sobre el C_{MOP} (**Figura A3**). La interacción Sitio x Tratamiento x Profundidad no fue significativa ($p=0,57$, **Tabla 2.4**).

TABLA 2.4: Carbono en la materia orgánica particulada (C_{MOP}) ($g C kg^{-1}$) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad (*).

Sitios	Prof.	Testigo	Trat.	NS	NP	NPS	Completo	Prom
Experimentales	cm		PS					
Balducchi	0-5	6,7	9,7	8,8	8,9	11,2	10,3	9,3a
	5-10	2,5	2,5	3,1	2,8	3,1	3,8	2,9e
	10-20	1,9	1,9	2,5	2,2	2,4	2,7	2,3f
	0-20	3,2c	4,0bc	4,2ab	4,0b	4,8ab	4,9a	4,2B
San Alfredo	0-5	7,3	10,5	10,0	10,4	10,5	9,9	9,8a
	5-10	3,9	4,5	5,0	4,9	4,7	4,9	4,7c
	10-20	3,7	3,3	2,9	4,2	4,3	3,9	3,7d
	0-20	4,7b	5,4ab	5,3ab	5,9a	5,9a	5,6a	5,5A

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P<0,05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.4.

La Blanca	0-5	7,4	7,6	7,4	7,3	7,7	9,2	7,8b
	5-10	3,2	3,2	3,1	2,8	3,2	3,3	3,1e
	10-20	2,0	2,3	2,4	1,9	2,3	2,3	2,2f
	0-20	3,7ab	3,9ab	3,8ab	3,4b	3,9ab	4,3a	3,8C
La Hansa	0-5	7,6	8,3	7,6	7,9	8,1	8,3	7,9b
	5-10	3,3	3,8	3,7	3,6	3,7	3,7	3,6d
	10-20	2,5	2,5	2,3	2,4	2,4	2,4	2,4f
	0-20	3,9a	4,3a	3,9a	4,1a	4,1a	4,2a	4,1BC
Lambaré	0-5	8,1	9,1	7,9	8,5	8,1	7,8	8,2b
	5-10	3,7	4,0	3,3	3,9	3,5	3,5	3,7d
	10-20	2,4	2,7	2,4	2,9	2,7	2,9	2,7ef
	0-20	4,1a	4,6a	4,0a	4,5a	4,2a	4,3a	4,3B
Todos los sitios	0-5	7,4c	8,9a	8,2b	8,5ab	9,0a	9,0a	8,5A
	5-10	3,3d	3,5d	3,6d	3,5d	3,6d	3,8d	3,5B
	10-20	2,4e	2,5e	2,5e	2,6e	2,7e	2,8e	2,6C
		3,9B	4,4A	4,2AB	4,3A	4,5A	4,6A	
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación		Valores F	p – valor		Fuente de variación	Valor F	p-valor	
Sitio		14,61	<0,01		Sitio	19,62	<0,01	
Tratamiento		3,17	0,03		Tratamiento	3,25	0,03	
Sitio x Tratamiento		1,78	0,03		Sitio x Tratamiento	1,13	0,35	
Profundidad		1330,20	<0,01					
Sitio x Profundidad		4,89	<0,01					
Tratamiento x Prof,		1,97	0,04					
Sitio x Trat, x Prof,		0,95	0,57					

El efecto global de la fertilización sobre el C_{MOR} no fue significativo ($p=0,24$), aunque hubo una interacción sitio x tratamiento significativa ($p<0,01$) (**Tabla 2.5**). Sólo en un sitio (Balducchi) se vieron valores de C_{MOR} más bajos en los tratamientos testigo, PS y NP.

Las concentraciones de C_{MOR} disminuyeron con la profundidad (**Tabla 2.5, Figura A6**), y su efecto varió con los sitios (interacción sitio x profundidad significativa, $p<0,01$). Las mayores reducciones de C_{MOR} con la profundidad se vieron en Lambaré, cuando pasamos del estrato 0-5 cm a 5-10 cm de profundidad disminuyó un 21% y, entre los estratos de 5-10 y 10-20 cm estas reducciones fueron del 11%. En Balducchi se vio menos estratificación del C_{MOR} , sólo disminuyó un 13% de C_{MOR} entre los estratos 0-5 cm y 5-10 cm de profundidad, y en el resto de las capas subyacentes no hubo disminución de C_{MOR} (**Tabla 2.5**).

El C_{MOR} estuvo menos estratificado en el estrato de 0-20 cm que el C_{MOP} y C_{total} (**Figura 2.2 y 2.3**). Cuando se realizaron los ANOVA del C_{MOR} en el estrato de 0-20 cm, en cada sitio se vieron efectos de los tratamientos de Fertilización solo en Balducchi donde los tratamientos Testigo, PS y NP tuvieron los valores más bajos. En los demás sitios no se vieron diferencias entre los tratamientos de fertilización (**Figura A7**). La interacción triple Sitio x Tratamiento x Profundidad no fue significativa (**Tabla 2.5**).

TABLA 2.5: Carbono en la materia orgánica resistente (C_{MOR}) ($g\ C\ kg^{-1}$) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad (*).

Sitios Experimentales	Prof. cm	Testigo	PS	NS	Trat. NP	NPS	Completo	Prom
Balducchi	0-5	9,9	7,1	10,9	9,5	10,5	10,1	9,7e
	5-10	6,8	6,9	9,2	7,5	8,6	11,4	8,4f
	10-20	7,2	7,3	8,7	7,5	9,4	10,4	8,4f
	0-20	7,7b	7,1b	9,4a	8,0b	9,5a	10,6a	8,7C
San Alfredo	0-5	14,3	13,5	12,2	13,6	13,4	13,8	13,5b
	5-10	12,6	12,6	11,2	10,9	10,1	12,8	11,7c
	10-20	11,1	11,6	12,1	11,2	11,2	12,7	11,6c
	0-20	12,3a	12,3a	11,9a	11,7a	11,5a	12,3a	12,1A
La Blanca	0-5	10,3	11,7	13,5	14,4	12,7	11,7	12,4c
	5-10	8,3	10,4	9,4	10,5	10,2	9,8	9,7e
	10-20	9,9	9,3	10,3	10,1	8,9	10,6	9,9de
	0-20	9,6a	10,2a	10,9a	11,3a	10,2a	10,7a	10,5B
La Hansa	0-5	12,3	12,8	12,7	13,3	13,7	13,9	13,1b
	5-10	10,9	10,4	10,2	11,4	11,1	10,6	10,8d
	10-20	10,2	10,0	9,6	10,7	10,8	10,6	10,3De
	0-20	10,9a	10,8a	10,5a	11,5a	11,6a	11,4a	11,1B
Lambaré	0-5	14,8	15,9	15,2	14,6	15,8	15,8	15,3a
	5-10	11,6	11,9	11,5	11,9	12,8	13,1	12,1c
	10-20	10,4	11,5	10,3	10,9	10,9	10,4	10,8d
	0-20	11,8a	12,7a	11,8a	12,1a	12,6a	12,4a	12,2A
Todos los sitios	0-5	12,2	12,1	12,9	13,0	13,2	13,0	12,7A
	5-10	9,8	10,3	10,2	10,4	10,6	11,4	10,5B
	10-20	9,7	9,8	10,1	10,0	10,2	10,8	10,1B
	0-20	10,3	10,5	10,8	10,9	11,0	11,5	10,9
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación		Valores F	p - valor		Fuente de variación		Valores F	p - valor
Sitio		27,23	<0,01		Sitio		26,07	<0,01
Tratamiento		1,47	0,24		Tratamiento		1,80	0,16
Sitio x Tratamiento		2,19	<0,01		Sitio x Tratamiento		1,04	0,44
Profundidad		79,82	<0,01					
Sitio x Profundidad		3,59	<0,01					
Tratamiento x Prof,		0,44	0,93					
Sitio x Trat, x Prof,		0,72	0,88					

La relación C_{MOP}/C_{total} disminuyó con los estratos de profundidad. En el estrato superficial (0-5 cm) el 40% del C_{total} fue el C_{MOP} , mientras que en los estratos de 5-10 y 10-20 cm estas relaciones fueron de 25% y 20% respectivamente (**Figura 2.3**). Los tratamientos de fertilización no cambiaron la proporción C_{MOP}/C_{total} en ninguno de los sitios y estratos (**Tabla 2.6**). Se vieron variaciones de dicha proporción en los sitios experimentales, Balducchi y San Alfredo presentaron las mayores proporciones C_{MOP}/C_{total} de 32% y 31% respectivamente, mientras que en los demás sitios el C_{MOP} fue entre 26% y 27% del C_{total} (**Tabla 2.6**).

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$.

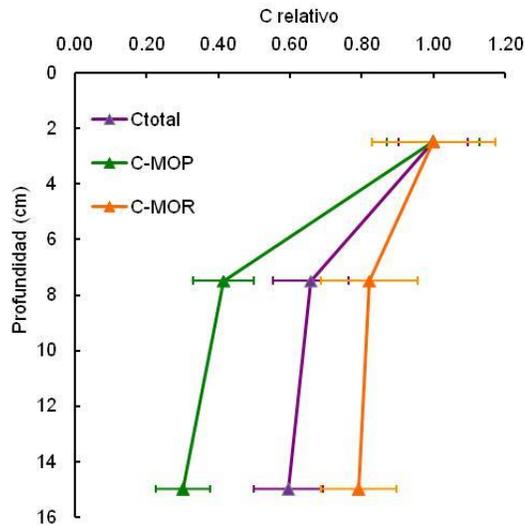


FIGURA 2.2: Distribución relativa de la concentración de C_{total} , C_{MOP} y C_{MOR} en el estrato superficial del suelo en la red de nutrición crea sur de santa fe, campaña 2013/2014. las barras son el error estándar.

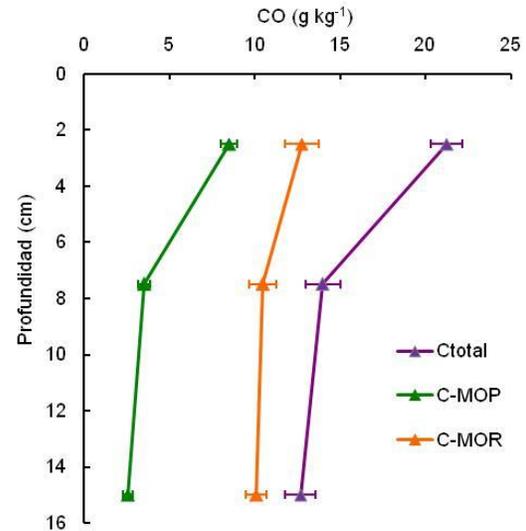


FIGURA 2.3: Distribución de la concentración de C_{total} , C_{MOP} y C_{MOR} en el estrato superficial del suelo en los sitios de la red de nutrición crea sur de santa fe, campaña 2013/2014. las barras son el error estándar.

TABLA 2.6: ANOVA y prueba LSD de la proporción C_{MOP}/C_{total} y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales a un nivel de $p < 0,05$.

Fuente de variación	ANOVA		Test LSD	
	Valores F	p - valor	Sitios (O.M)	Promedio
Sitio	14,2	<0,01	Balducchi	0,32 a
Tratamiento	0,74	0,60	San Alfredo	0,31 a
Sitio x Tratamiento	1,76	0,06	La Hansa	0,27 b
Profundidad	595,83	<0,01	La Blanca	0,27 b
Sitio x Profundidad	9,07	<0,01	Lambaré	0,26 b
Tratamiento x Prof,	1,14	0,33		
Sitio x Trat, x prof,	1,15	0,26		

El carbono en la materia orgánica resistente estuvo muy relacionado con la textura del suelo, en los primeros 20 cm. La fracción arcilla estuvo más relacionado con el C_{MOR} que arcilla+limo (**Figura 2.4**).

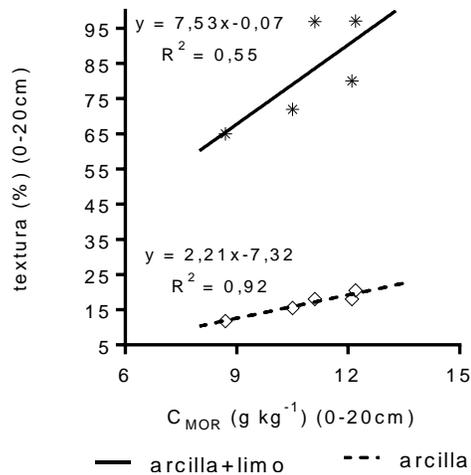


FIGURA 2.4: Relación entre la textura del suelo y el C_{MOR} a 20 cm de profundidad en los sitios experimentales de la Red de nutrición CREA Sur de Santa Fe. Campaña 2013/2014.

b. Nitrógeno total y en la fracción lábil

Catorce años de fertilización con N, P y S provocaron aumentos del nitrógeno total (N_{total}) en el estrato de 0-20 cm de profundidad ($p < 0,01$). El tratamiento completo tuvo mayores contenidos de N_{total} mientras que el testigo los más bajos en todos los sitios (**Tabla 2.7**). La interacción sitio x profundidad fue significativa ($p < 0,01$). En todos los sitios el contenido de N_{total} tendió a bajar con la profundidad, aunque este efecto fue variable con los sitios (**Figura A8, Tabla 2.7**). Las mayores reducciones de N total entre los estratos de 0-5 y 5-10 cm se vieron en Balducchi (38%) y, en Lambaré las mayores disminuciones de N_{total} entre los estratos 5-10 y 10-20 cm (23%) (**Tabla 2.7**). Los valores de N_{total} de cada capa no variaron con los tratamientos (interacción tratamiento x profundidad no significativa, $p = 0,63$). Tampoco se vieron interacción triple Sitio x tratamiento x profundidad ($p = 0,99$) (**Tabla 2.7**). El ANOVA de N_{total} en el estrato de 0-20 cm mostró efecto de los tratamientos de fertilización, el Testigo tuvo el valor más bajo, mientras que en los demás sitios no se vieron efectos de los tratamientos de fertilización (**Tabla 2.7**).

TABLA 2.7: Nitrógeno total (N_{total}) ($g N kg^{-1}$) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Experimentales	Prof. Cm	Tratamientos						Prom
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	
Balducchi	0-5	1,4	1,5	1,8	1,5	1,8	1,7	1,6c
	5-10	0,9	0,9	1,2	0,9	1,1	1,1	1,0f
	10-20	0,7	0,8	0,9	0,8	0,9	1,0	0,9g
	0-20	0,9	1,0	1,2	1,0	1,2	1,2	1,1 C
San Alfredo	0-5	1,9	2,0	1,9	2,2	2,1	1,8	1,9b
	5-10	1,3	1,5	1,5	1,2	1,3	1,4	1,4d
	10-20	1,3	1,3	1,3	1,4	1,5	1,5	1,4d
	0-20	1,4	1,5	1,5	1,5	1,6	1,6	1,5 A
La Blanca	0-5	1,7	1,9	1,9	1,9	1,9	1,8	1,9b
	5-10	1,2	1,3	1,4	1,4	1,3	1,4	1,3d
	10-20	1,1	1,0	1,1	1,1	1,2	1,2	1,2e
	0-20	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4 B

(* Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P < 0,05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.7

La Hansa	0-5	1,7	1,9	1,7	1,9	1,9	1,9	1,9b
	5-10	1,2	1,2	1,3	1,3	1,4	1,3	1,3d
	10-20	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1	1,2	1,1e
	0-20	1,3	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4	1,4 B
Lambaré	0-5	2,0	2,2	2,2	2,2	2,2	2,3	2,2a
	5-10	1,5	1,5	1,4	1,5	1,6	1,5	1,5c
	10-20	1,2	1,2	1,2	1,2	1,1	1,3	1,2e
	0-20	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,5 A
Todos los sitios	0-5	1,7	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9a
	5-10	1,2	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4	1,3b
	10-20	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1c
	0-20	1,3C	1,3B	1,4AB	1,4AB	1,4AB	1,4A	1,4
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación		Valores F	p - valor	Fuente de variación		Valores F	p - valor	
Sitio		61,36	<0,01	Sitio		66,36	<0,01	
Tratamiento		6,33	<0,01	Tratamiento		6,33	<0,01	
Sitio x Tratamiento		0,90	0,59	Sitio x Tratamiento		0,42	0,98	
Profundidad		484,79	<0,01					
Sitio x Profundidad		3,42	<0,01					
Tratamiento x Prof.		0,80	0,63					
Sitio x Trat. x Prof.		0,48	0,99					

Los tratamientos de fertilización con N, P y S no afectaron a las concentraciones de Nan en la capa de 0-20 cm de profundidad en ninguno de los sitios ($p=0,09$) (Tabla 2.8). El sitio más rico en Nan fue Lambaré, mientras que Balducchi el más pobre ($p<0,01$). El Nan disminuyó con la profundidad en todos los sitios (Figura A10). Estas concentraciones de los estratos a su vez variaron con los sitios (interacción sitio x profundidad significativa, $p<0,01$) (Tabla 2.8). Las mayores disminuciones de Nan entre las capas 0-5 y 5-10 cm de profundidad se vieron en La Hansa (74% de reducción), mientras que las mayores reducciones de Nan entre los estratos 5-10 y 10-20 cm se registraron en La Hansa y Lambaré (Tabla 2.8). La interacción sitio x tratamiento x profundidad no fue significativa (Tabla 2.8).

TABLA 2.8: Nitrógeno potencialmente mineralizable (Nan) (mg N kg^{-1}) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Exp.	Profundidad cm	Trat.						
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	Prom
Balducchi	0-5	78,9	85,1	78,7	68,4	75,0	82,2	78,1c
	5-10	15,3	12,7	13,9	9,8	11,4	15,3	13,1h
	10-20	9,5	8,8	11,9	10,3	10,6	11,6	10,5h
	0-20	28,3	28,9	29,1	24,7	26,9	30,2	28,0 D
San Alfredo	0-5	95,1	102,2	91,0	94,6	101,9	91,8	96,1b
	5-10	31,1	29,7	26,7	30,3	31,2	28,1	29,5f
	10-20	23,7	24,2	24,9	23,2	21,1	25,3	23,7f
	0-20	43,4	45,1	41,9	42,8	43,8	42,6	43,3 B
La Blanca	0-5	99,1	100,2	91,4	95,2	87,4	98,1	95,2b
	5-10	28,4	29,0	29,5	25,5	26,3	25,2	27,3f
	10-20	20,6	20,1	18,4	18,7	20,5	18,9	19,5g
	0-20	42,2	42,4	39,4	39,5	38,7	40,3	40,4 C

(*) Las letras diferentes entre profundidades (columna) y sitios(columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $p<0,05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.8

La Hansa	0-5	111,3	109,9	109,0	111,3	102,2	100,2	107,3a
	5-10	27,7	27,5	31,0	27,8	24,7	30,3	28,2f
	10-20	16,6	16,8	12,0	15,3	17,2	16,5	15,7g
	0-20	43,0	42,8	41,0	42,4	40,3	40,9	41,7 BC
Lambaré	0-5	111,3	113,4	116,1	110,7	105,4	110,7	111,3 ^a
	5-10	53,4	54,8	46,2	43,9	49,6	43,9	48,6d
	10-20	28,6	36,3	33,6	38,2	35,8	40,4	35,5e
	0-20	55,5	60,2	57,4	57,8	56,6	58,9	57,7 A
Todos los sitios	0-5	99,4	102,2	97,7	96,2	93,8	96,9	97,7 ^a
	5-10	31,2	30,8	29,7	27,3	28,5	28,6	29,3b
	10-20	19,5	21,0	19,8	20,9	21,0	22,4	20,8c
		50,0	51,3	49,1	48,1	47,8	49,3	
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación		Valores F	p - valor		Fuente de variación	Valores F	p - valor	
Sitio		211,42	<0,01		Sitio	416,47	<0,01	
Tratamiento		2,19	0,09		Tratamiento	2,56	0,06	
Sitio x Tratamiento		0,56	0,96		Sitio x Tratamiento	0,22	0,99	
Profundidad		2526,60	<0,01					
Sitio x Profundidad		7,29	<0,01					
Tratamiento x Prof,		0,77	0,66					
Sitio x Trat, x prof,		0,49	0,99					

La **Figura 2.5** muestra que el Nan estuvo más estratificado en profundidad que el N_{total} . La proporción Nan/N_{total} fue afectada por los tratamientos de fertilización y sitios. En el tratamiento Testigo el 3,4% del N_{total} fue Nan, mientras que en los demás tratamientos el 2,9 y 3% del N_{total} fue Nan (**Tabla 2,9**). En Lambaré se vio la mayor mineralización del N_{total} en relación a los demás sitios, en este sitio el 3,8% del N_{total} fue Nan, mientras que en Balducchi se vio el más bajo porcentaje de ésta relación (2,4%) (**Tabla 2,9**).

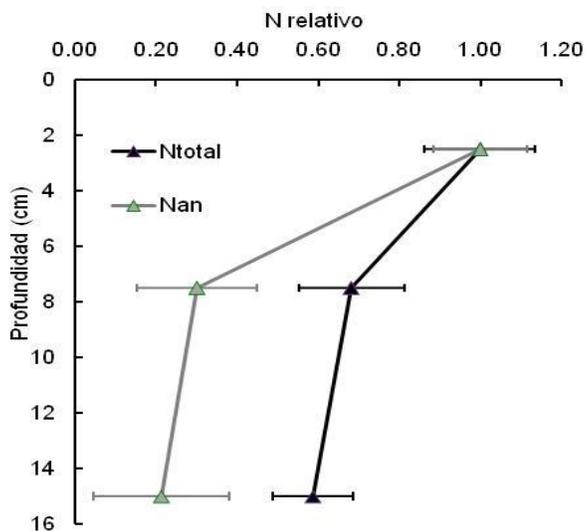


FIGURA 2.5: Distribución de la concentración de N_{total} y Nan en el estrato superficial de la red de nutrición creca sur de santa fe, campaña 2013/2014. Las barras son el error estándar.

TABLA 2.9: ANOVA y prueba LSD de proporción N_{an}/N_{total} y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales a un nivel de $p < 0,05$.

ANOVA – N_{an}/N_{total}			Test LSD			
F. V.	F-valor	p-valor	Tratamientos	Promedio	Sitios	Promedio
Sitio	82,88	<0,01	Testigo	0,034 a	Lambaré	0,038 a
Tratamiento	10,30	<0,01	PS	0,032 b	La Hansa	0,032 b
Sitio x Tratamiento	0,46	0,97	NS	0,030 c	La Blanca	0,030 c
Profundidad	824,41	<0,01	Completo	0,030 c	San Alfredo	0,029 c
Sitio x Profundidad	12,14	<0,01	NP	0,029 c	Balducci	0,024 d
Tratamiento x Prof.	1,68	0,09	NPS	0,029 c		
Sitio x Trat, x prof.	0,70	0,90				

c. Fósforo total y en la fracción lábil

En los tratamientos donde no se aplicó P como fertilizante, el P_{total} disminuyó en los tres estratos de profundidad (0-5, 5-10, 10-20 cm) y en todos los sitios (**Tabla 2.10**).

La concentración de P_{total} de un mismo tratamiento disminuyó con la profundidad, aunque este efecto varió con el tratamiento y los sitios experimentales (interacción sitio x tratamiento x profundidad significativa, $p < 0,01$). Sin embargo en todos los sitios experimentales se vio un patrón común. Los tratamientos Testigo y NS presentaron una menor estratificación en comparación con los tratamientos que fueron fertilizados con P (**Figura A11**). Si bien hubo interacción sitio x tratamiento significativo, $p < 0,01$, en la capa de 0-20 cm se vieron disminuciones de P_{total} entre el 11% y 21% por no fertilizar con P (NS vs NPS). Si bien, el patrón general en todos los sitios experimentales fue de disminución del P_{total} por falta de aplicar P como fertilizante, las diferencias más marcadas fueron en Balducci, mientras que en La Hansa se vio menor efecto del agregado de P sobre el contenido de P_{total} (menor diferencia entre los tratamientos NS y NPS) (**Figura A12 y A13**).

TABLA 2.10: Fósforo total (P_{total}) ($mg\ P\ kg^{-1}$) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales.

Sitios Exp.	Prof. Cm	Tratamientos						Promedio
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	
Balducci	0-5	368,0ef	555,7bc	389,0e	561,0b	572,7b	627,7a	512,3e
	5-10	321,0f	487,0c	368,0ef	556,7b	490,0c	509,3c	455,3g
	10-20	350,3ef	364,7ef	398,7e	385,7e	455,0cd	438,3d	398,8h
	0-20	347,3b	443,0a	388,3b	472,3a	493,0a	503,3a	441,2C
San Alfredo	0-5	521,5bc	638,0a	465,0cd	625,5a	582,0a	625,0a	574,7c
	5-10	456,0cd	512,0bc	426,5d	509,0bc	509,5bc	562,5b	495,9e
	10-20	496,0c	542,5b	431,5d	503,0bc	494,5c	492,5c	493,3e
	0-20	490,0ab	558,5a	439,0b	535,5a	520,0a	543,0a	514,3B
La Blanca	0-5	453,0bc	561,7a	476,7b	558,7a	587,0a	573,3a	535,1d
	5-10	481,7b	540,7ab	418,0c	547,3a	569,0a	552,0a	518,1de
	10-20	444,0c	485,7b	438,3c	482,7b	491,0b	472,7b	469,1fg
	0-20	455,7b	518,3a	443,0b	518,0a	535,0a	517,7a	497,9B

CONTINUACIÓN DE TABLA 2.10 (*)

La Hansa	0-5	459,3b	564,3a	445,0bc	547,0a	465,0b	548,3a	504,8e
	5-10	415,3c	472,3b	392,3c	491,0b	480,7b	468,7b	453,4g
	10-20	443,7bc	440,3bc	409,7c	491,7b	455,0b	442,7bc	447,2g
	0-20	440,3b	479,3a	414,0b	505,3a	464,0a	476,0a	463,2C
Lambaré	0-5	598,0b	673,3a	609,3b	689,7a	644,3ab	691,3a	651,0a
	5-10	600,3b	616,3b	507,0c	613,0b	636,0b	631,7b	600,7b
	10-20	507,3c	533,3c	416,3d	531,0c	542,3c	537,3c	511,3e
	0-20	553,0ab	589,0a	487,3b	591,3a	591,0a	599,3a	568,5A
Todos los sitios	0-5	478,2d	598,6a	477,0d	596,4a	570,2b	613,1a	555,6a
	5-10	454,9e	525,7c	422,4f	543,4c	537,0c	544,8c	504,7b
	10-20	448,3e	473,3d	418,9f	478,8d	487,6d	476,7d	463,9c
	0-20	457,3B	517,6A	434,3B	524,5A	520,6A	527,9A	497,0
ANOVA				ANOVA 0-20 cm				
Fuente de variación		Valores F		p – valor	Fuentes de variación	Valor-F		p – valor
Sitio		33,10		<0,01	Sitio	32,09		<0,01
Tratamiento		19,50		<0,01	Tratamiento	16,67		<0,01
Sitio x Tratamiento		3,97		<0,01	Sitio x Tratamiento	1,77		0,05
Profundidad		156,00		<0,01				
Sitio x Profundidad		7,56		<0,01				
Tratamiento x Prof,		6,07		<0,01				
Sitio x Trat, X Prof,		1,86		<0,01				

La **Tabla 2.11** muestra los valores de $P_{\text{Bray } 1}$ en el estrato de suelo de 0-20 cm. La fertilización con P aumentó los valores de $P_{\text{Bray } 1}$ en todos los sitios. Si bien, los máximos valores de $P_{\text{Bray } 1}$ se registraron en Lambaré y los menores niveles en Balducchi, San Alfredo y La Blanca, las mayores disminuciones de $P_{\text{Bray } 1}$ por no fertilizar con P se vieron en Balducchi (87%) y en Lambaré estas disminuciones fueron menores (61%, comparación entre el NS y NPS) (**Figura A16**).

La interacción tratamiento x profundidad fue significativa ($p < 0,01$) (**Tabla 2.11**). Los tratamientos que fueron fertilizados con P (PS, NP, NPS, Completo) presentaron mayor estratificación de $P_{\text{Bray } 1}$, Los tratamientos Testigo y NS presentaron caídas de $P_{\text{Bray } 1}$ menos pronunciadas con la profundidad. Cuando se pasó del estrato 0-5 cm al 5-10 cm, la reducción de $P_{\text{Bray } 1}$ fue de 43% y 31% para los tratamientos NS y NPS respectivamente. Sin embargo, cuando se pasó del estrato 5-10 a 10-20 cm los porcentajes de disminución fueron del 19% y 65% para los tratamientos NS y NPS respectivamente (**Figura A15**). La interacción sitio x profundidad fue significativa ($p < 0,01$) lo cual indica que el efecto de la profundidad sobre las concentraciones de $P_{\text{Bray } 1}$ fue variable con los sitios, aunque se observó un patrón de caída similar en todos los sitios (**Figura A15**). La interacción sitio x fertilización x profundidad no fue significativa ($P < 0,09$) (**Tabla 2.11**).

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P < 0,05$.

TABLA 2.11: Fósforo disponible ($P_{\text{Bray 1}}$) (mg P kg^{-1}) y valores F del efecto de sitio experimental, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*)

Sitios Experimentales	Profundidad cm	Tratamientos						Promo
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	
Balducchi	0-5	4,7	67,4	7,6	88,5	72,1	87,7	54,7b
	5-10	2,9	53,1	5,0	82,6	62,3	82,8	48,1c
	10-20	2,5	10,2	3,9	10,6	9,3	12,1	8,1h
	0-20	3,2c	35,2c	5,1c	48,1a	38,2b	48,7a	29,8 C
San Alfredo	0-5	6,4	62,5	11,5	77,3	84,3	65,5	51,3c
	5-10	4,6	39,0	6,1	38,8	41,7	51,1	30,2e
	10-20	3,6	15,4	4,4	15,6	13,7	16,6	11,5gh
	0-20	4,5b	33,1a	6,6b	36,9a	38,3a	37,4a	26,1 C
La Blanca	0-5	13,8	61,5	12,5	68,2	84,5	68,9	51,6c
	5-10	7,9	48,6	8,4	53,8	60,8	54,4	38,9d
	10-20	6,2	17,4	6,7	16,9	20,8	18,6	14,4d
	0-20	8,6b	36,3a	8,6b	38,9a	46,7a	40,1a	29,9BC
La Hansa	0-5	15,9	79,4	21,4	69,9	92,0	70,3	58,2b
	5-10	8,8	56,1	11,4	46,9	63,9	48,1	39,2d
	10-20	9,8	30,6	9,3	24,3	29,4	20,8	20,7f
	0-20	11,1c	49,2a	12,8c	41,4b	53,7a	40,0b	34,7 B
Lambaré	0-5	31,9	95,7	36,9	116,9	104,7	124,9	85,2a
	5-10	24,3	79,2	20,3	79,4	67,9	78,2	58,2b
	10-20	23,5	51,6	17,2	38,0	31,4	47,9	34,9de
	0-20	25,8c	69,5a	22,9c	68,1ab	58,9b	74,7a	53,3 A
Todos los sitios	0-5	15,1f	74,1b	18,4f	84,6a	87,8a	84,8a	60,8a
	5-10	10,1g	56,4d	10,5g	61,8cd	60,6cd	63,7c	43,9b
	10-20	9,5g	25,7e	8,6g	21,5e	21,4ef	23,7e	18,4c
		11,1B	44,7A	11,2B	46,7A	47,2A	48,2A	34,8
ANOVA			ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación	Valores F	p - valor	Fuente de variación	Valores F	p - valor			
Sitio	18,53	<0,01	Sitio	22,82	<0,01			
Tratamiento	63,32	<0,01	Tratamiento	53,66	<0,01			
Sitio x Tratamiento	4,64	<0,01	Sitio x Tratamiento	2,46	<0,01			
Profundidad	527,90	<0,01						
Sitio x Profundidad	6,99	<0,01						
Tratamiento x Prof,	38,63	<0,01						
Sitio x Trat, x prof,	1,35	0,09						

La proporción $P_{\text{Bray1}}/P_{\text{total}}$ fue afectada por los tratamientos de fertilización, así donde no se aplicó P como fertilizante (Testigo y NS) el $P_{\text{Bray 1}}$ fue un 2% y 3% del P_{total} y, en los demás tratamientos éste porcentaje varió entre 9 y 10%. Se vio diferencia entre sitios, el valor más alto de la relación $P_{\text{Bray1}}/P_{\text{total}}$ fue en Lambaré donde el 10% del P_{total} fue $P_{\text{Bray 1}}$ y el más bajo fue en San Alfredo (6%) (**Tabla 2.12**).

(*) Las letras diferentes entre profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $p < 0.05$.

TABLA 2.12: ANOVA y prueba LSD de proporción $P_{\text{Bray 1}}/P_{\text{total}}$ y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales a un nivel de $p < 0,05$.

ANOVA – P Bray 1/P _{total}			Test LSD			
Fuente de variación	Valores F	p - valor	Tratamientos (O.M)	Medias	Sitios (O. M)	Medias
Sitio	11,49	<0,01	NPS	0,10 a	Lambaré	0,10 a
Tratamiento	56,44	<0,01	Completo	0,09 a	La Hansa	0,08 b
Sitio x Tratamiento	4,59	0,09	NP	0,09 a	Balducchi	0,71 b
Profundidad	396,54	<0,01	OS	0,09 a	La Blanca	0,06 c
Sitio x Profundidad	6,82	0,01	NS	0,03 b	San Alfredo	0,06 c
Tratamiento x Prof,	30,72	<0,01	Testigo	0,02 b		
Sitio x Trat, x prof,	1,33	0,11				

d. Azufre total y en la fracción particulada y resistente

Los contenidos de S_{total} del tratamiento sin fertilizar (testigo) fue un 6% inferior a los fertilizados con NPS+micronutrientes (completo) en el estrato de 0-20 cm y, un 11% en el estrato de 0-5 cm (**Tabla 2.13**). San Alfredo y Lambaré fueron los sitios más ricos en S_{total} en los tres estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm), mientras que Balducchi el más pobre. En todos los sitios experimentales se vio una disminución del S_{total} con la profundidad ($p < 0,01$). Los contenidos de S_{total} disminuyeron con la profundidad, con algunas variaciones entre sitios experimentales (interacción sitio x profundidad significativa, **Figura A17**). Las interacciones dobles y triples no fueron significativas.

TABLA 2.13: Azufre total (s_{total}) en mg S kg^{-1} y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Experimentales	Profundidad Cm	Tratamientos						
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	Prom
Balducchi	0-5	291,9	323,8	345,3	331,9	409,9	366,3	344,9d
	5-10	260,9	232,7	265,3	243,6	276,5	279,6	359,8f
	10-20	255,5	249,8	259,1	243,4	250,9	261,2	253,3f
	0-20	265,9	264,0	282,2	265,6	297,1	292,1	277,8D
San Alfredo	0-5	371,1	455,1	416,3	427,4	432,7	419,5	420,4a
	5-10	325,7	332,1	345,5	343,1	351,5	361,7	343,2d
	10-20	325,3	335,8	338,1	350,2	350,8	359,8	343,3d
	0-20	336,9	364,7	359,5	367,8	371,4	375,2	362,6A
La Blanca	0-5	368,2	402,0	396,8	408,1	396,3	426,4	399,6b
	5-10	307,7	314,2	318,9	318,1	364,9	328,9	325,4d
	10-20	309,7	303,3	321,4	314,1	306,4	292,2	307,9de
	0-20	323,8	330,7	339,6	338,6	343,5	334,9	335,2B
La Hansa	0-5	350,3	374,0	379,2	361,2	375,3	369,2	368,2c
	5-10	319,4	318,5	326,2	314,9	317,3	318,5	319,1de
	10-20	306,5	309,5	304,7	303,5	306,5	297,8	304,8e
	0-20	320,7	327,9	328,7	320,8	326,4	320,7	324,2C
Lambaré	0-5	404,0	451,5	407,3	421,2	427,6	433,1	424,1a
	5-10	367,8	377,2	372,2	359,7	377,7	372,2	371,1c
	10-20	322,9	327,1	347,9	333,9	329,4	343,2	334,1d
	0-20	354,4	370,7	368,9	362,2	366,0	372,9	365,9A

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P < 0,05$.

CONTINUACIÓN DE TABLA 2.13

Todos los sitios	0-5	357,1	401,3	388,9	389,9	408,3	402,9	391,4a	
	5-10	316,2	314,9	325,6	315,9	337,6	332,1	323,7b	
	10-20	303,9	305,1	314,3	309,0	308,8	310,8	308,7c	
	0 - 20	320,3B	331,6A	335,8A	330,9A	340,9A	339,2A	333,1	
ANOVA				ANOVA 0-20 cm					
Fuente de variación		Valores F		p – valor		F. V.		Valores F	p-valor
Sitio		101,91		<0,01		Sitio		50,65	<0,01
Tratamiento		5,21		<0,01		Tratamiento		3,02	0,03
Sitio x Tratamiento		0,81		0,69		Sitio x Tratamiento		0,76	0,74
Profundidad		199,33		<0,01					
Sitio x Profundidad		2,15		0,03					
Tratamiento x Prof,		1,71		0,08					
Sitio x Trat, x Prof,		0,62		0,96					

Las concentraciones de azufre en la materia orgánica particulada (S_{MOP}) del tratamiento sin fertilizar (testigo) fue un 11% inferior al tratamiento completo en el estrato de 0-20 cm (Tabla 2.14). Cuando calculamos la disminución del S_{MOP} por no fertilizar en los primeros 5 cm del suelo, fue del 28% (testigo vs completo) (Tabla 2.14). La tendencia general en todos los sitios fue la disminución de S_{MOP} con la profundidad, aunque se observó un efecto del tratamiento sobre la relación de S_{MOP} con la profundidad (interacción tratamiento x profundidad significativa). El tratamiento testigo presentó una menor estratificación que los otros tratamientos. Cuando se compararon las reducciones de S_{MOP} entre las capas de 0-5 cm y 5-10 cm de los tratamientos testigo y completo fueron de 20% y 36% respectivamente. Las disminuciones de S_{MOP} entre las fracciones 5-10 y 10-20 cm de los tratamientos testigo y completo fueron de 4% y 11% respectivamente. Las interacciones sitio x tratamiento, sitio x profundidad y sitio x tratamiento x profundidad no fueron significativas (Tabla 2.14).

TABLA 2.14: Azufre en la materia orgánica particulada (S_{MOP}) (mg S kg^{-1}) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Exp.	Prof. Cm	Tratamientos						
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Completo	Prom
Balducchi	0-5	89,7	119,3	105,7	133,6	174,7	161,9	130,8
	5-10	105,6	88,5	102,6	98,5	99,5	90,7	97,6
	10-20	95,0	88,7	89,2	91,7	78,7	94,9	89,7
	0-20	96,3	96,3	96,7	103,9	107,9	110,6	101,9B
San Alfredo	0-5	100,4	157,1	123,8	109,7	144,9	138,3	129,0
	5-10	70,7	92,7	115,9	102,4	99,4	92,9	95,7
	10-20	76,9	89,7	102,1	97,9	89,9	71,6	88,1
	0-20	81,3	107,3	110,9	102,0	106,1	93,6	100,2B
La Blanca	0-5	114,7	145,6	142,2	142,7	160,4	148,1	142,3
	5-10	103,6	11,9	105,6	108,5	121,3	116,9	111,3
	10-20	99,4	100,3	114,4	80,9	82,1	87,5	94,1
	0-20	104,3	114,5	119,2	103,3	111,5	109,9	110,4A
La Hansa	0-5	97,7	101,1	108,5	103,0	109,4	126,9	107,8
	5-10	59,1	76,5	82,6	65,9	79,7	66,0	71,6
	10-20	61,4	64,6	61,9	59,9	71,0	69,2	64,7
	0-20	69,9	76,7	78,8	72,2	82,8	82,8	77,2C

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P < 0.05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.14

Lambaré	0-5	96,3	125,5	115,2	120,9	127,1	115,2	116,8		
	5-10	78,2	81,1	82,6	83,6	76,6	78,6	80,1		
	10-20	66,2	66,9	65,6	70,1	67,3	74,1	68,3		
	0-20	76,7	85,1	82,2	86,2	84,6	85,6	83,4C		
Todos los sitios	0-5	99,8c	129,7ab	119,1b	121,9b	143,3a	138,2a	125,3a		
	5-10	83,5cd	90,1cd	97,9c	91,8cd	95,3c	89,0cd	91,3b		
	10-20	79,8d	82,0d	86,6cd	80,1d	77,8d	79,4d	80,9c		
		85,7B	95,9A	97,6A	93,5A	98,6A	96,52A	94,6		
ANOVA				ANOVA 0-20 cm						
Fuente de variación		Valores F		p – valor		Fuentes de variación		Valores F		p-valor
Sitio		42,69		<0,01		Sitio		41,87		<0,01
Tratamiento		6,32		0,01		Tratamiento		3,68		0,02
Sitio x Tratamiento		0,47		0,97		Sitio x Tratamiento		0,379		0,99
Profundidad		85,46		<0,01						
Sitio x Profundidad		0,21		0,99						
Tratamiento x Prof,		2,19		0,02						
Sitio x Trat, x Prof,		0,67		0,93						

Las concentraciones de azufre en la materia orgánica resistente (S_{MOR}) no difirieron entre los distintos regímenes de fertilización en ninguno de los estratos de profundidad (Tabla 2.15). Sólo se observaron diferencias entre sitios, y efecto de la profundidad. El S_{MOR} disminuyó con la profundidad ($p < 0,01$) en todos los sitios. La reducción de S_{MOR} entre las capas de 0-5 cm y 5-10 cm fue del 13% y, entre las profundidades de 5-10 y 10-20 cm fue del 2% (Tabla 2.15). Las interacciones sitio x tratamiento, sitio x profundidad, tratamiento x profundidad y sitio x tratamiento x profundidad no fueron significativas (Tabla 2.15).

TABLA 2.15: Azufre en la materia orgánica resistente (S_{MOR}) ($g S kg^{-1}$) y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales (*).

Sitios Experimentales	Prof. Cm	Tratamientos						
		Testigo	PS	NS	NP	NPS	Comp leto	Prom
Balducchi	0-5	202,3	204,6	239,6	198,4	235,2	204,3	214,1
	5-10	155,3	144,2	162,7	145,1	177,0	188,8	162,2
	10-20	160,4	161,1	169,9	151,7	172,2	166,3	163,6
	0-20	169,6	167,7	185,5	161,7	189,2	181,5	175,9E
San Alfredo	0-5	270,7	297,9	292,5	317,8	287,7	281,2	291,3
	5-10	254,9	239,4	229,6	240,7	252,9	268,8	247,6
	10-20	248,4	246,1	235,9	252,2	260,8	288,2	255,3
	0-20	255,6	257,4	248,5	265,7	265,4	281,6	262,4B
La Blanca	0-5	253,4	256,4	254,6	265,4	235,9	278,3	257,3
	5-10	204,0	202,3	213,3	209,6	243,6	212,0	214,1
	10-20	210,3	203,1	206,9	233,2	224,3	204,7	213,8
	0-20	219,5	216,2	220,4	235,3	232,0	224,9	224,7D
La Hansa	0-5	252,6	272,9	270,6	258,1	265,9	242,4	260,4
	5-10	260,3	242,0	243,6	248,9	237,6	252,0	247,4
	10-20	245,1	244,9	242,8	243,6	235,4	228,6	240,1
	0-20	250,8	251,2	249,9	248,6	243,6	237,9	246,9C

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$.

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 2.15 (*)

Lambaré	0-5	307,7	326,1	292,2	300,2	300,5	317,4	307,3
	5-10	289,6	296,1	289,6	276,1	301,1	293,7	291,0
	10-20	256,7	260,3	282,4	263,9	262,1	269,1	265,7
	0-20	277,7	285,7	286,6	276,0	281,4	287,3	282,5A
Todos los sitios	0-5	257,3	271,6	269,9	267,9	265,0	264,7	266,1a
	5-10	232,8	224,8	227,7	224,1	242,3	243,1	232,5b
	10-20	224,2	223,1	227,6	228,9	230,9	231,4	227,7b
	0-20	234,6	235,6	238,2	237,5	242,3	242,6	238,5

ANOVA			ANOVA 0-20 cm		
Fuente de variación	Valores F	p – valor	Fuentes de variación	Valores F	p-valor
Sitio	153,99	<0,01	Sitio	145,16	<0,01
Tratamiento	0,83	0,54	Tratamiento	0,273	0,61
Sitio x Tratamiento	0,41	0,99	Sitio x Tratamiento	0,253	0,99
Profundidad	25,23	<0,01			
Sitio x Profundidad	1,22	0,29			
Tratamiento x Prof,	0,36	0,96			
Sitio x Trat, x Prof,	0,30	>0,99			

El S_{MOP} estuvo más estratificado que el S_{total} y S_{MOR} en el estrato de 0-20 cm (**Figura 2.6 y 2.7**). La caída de los contenidos de S_{MOP} fue más marcada entre los estratos de profundidad y el del S_{MOR} la menos estratificada (**Figura 2.6**). El porcentaje de S_{MOP}/S_{total} fue de 32% en promedio en el estrato de 0-5 cm y, en los estratos de 5-10 y 10-20 cm fueron de 29% y 27% respectivamente (**Figura 2.6**). Los tratamientos de fertilización no afectaron a esta proporción, sólo se vieron diferencias entre sitios (**Tabla 2.16**). Lambaré y La Hansa presentaron las más bajas proporciones (23 y 24% respectivamente), mientras que en Balducchi las más altas (37%).

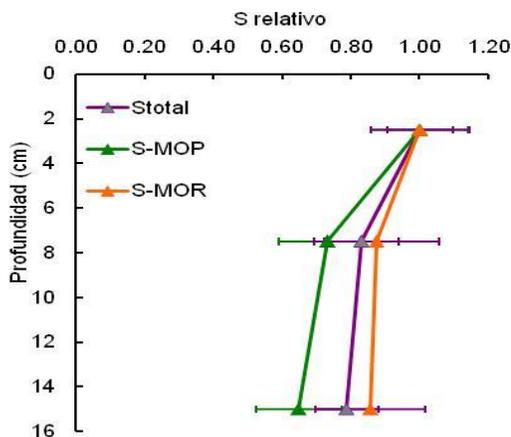


FIGURA 2.6: Concentración relativa de S_{total} , S_{MOP} y S_{MOR} a 0-20 cm. Las barras son el error estándar.

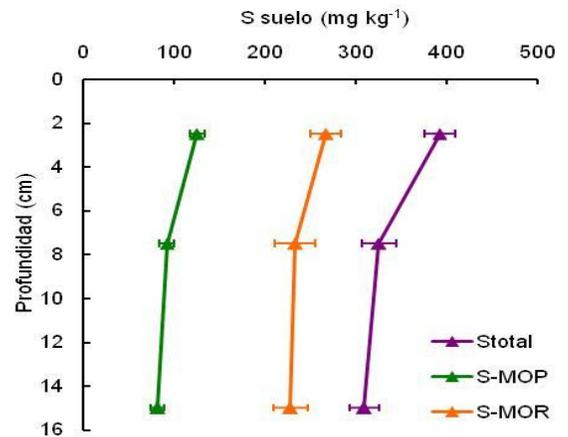


FIGURA 2.7: Concentración de S_{total} , S_{MOP} y S_{MOR} a 0-20 cm. Las barras son el error estándar.

(*) Las letras diferentes entre tratamientos (fila), profundidades (columna) y sitios (columna) corresponden a diferencias significativas a un nivel de $P < 0.05$.

TABLA 2.16: ANOVA y prueba LSD de proporción S_{MOP}/S_{total} y valores F del efecto de sitio, fertilización y profundidad en los sitios experimentales a un nivel de $p < 0,05$.

ANOVA - S_{MOP}/S_{total}			Test LSD	
Fuente de variación	Valores F	p - valor	Sitios (O.M)	Medias
Sitio	93,34	<0,01	Balducchi	0,37 a
Tratamiento	1,95	0,13	La Blanca	0,33 b
Sitio x Tratamiento	0,35	0,99	San Alfredo	0,28 c
Profundidad	10,72	<0,01	La Hansa	0,24 d
Sitio x Profundidad	0,75	0,65	Lambaré	023 d
Tratamiento x Prof,	0,86	0,57		
Sitio x Trat, x prof,	0,38	0,99		

Efecto de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas entre las formas de C:N:P:S en el suelo

1. Relación C:N:P:S total del suelo

Relación C:N

La concentración del N_{total} aumentó con el incremento del C_{total} de los suelos. El C y N total están estrechamente relacionados ($R^2=0,84$). Esta relación ($C_{total}:N_{total}$) fue de 11,1 en promedio de los tres estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm) (Figura A21). Si bien, el C_{total} y N_{total} aumentaron por efectos de la fertilización (Tablas 2.3 y 2.6), estos aumentos no cambiaron la relación $C_{total}:N_{total}$ (Figura 2.8). La Figura A22 muestra que la relación entre el C_{total} y N_{total} no variaron en los sitios experimentales. Lo cual indica que esta relación es muy estable en contenido total del suelo. Si bien, las concentraciones absolutas de C_{total} y N_{total} fueron mayores en el estrato superficial (0-5 cm) y disminuyeron con la profundidad, la relación entre estos dos nutrientes se mantuvo constante en toda la profundidad. Los valores de la relación entre el C_{total} y N_{total} variaron entre 8,4 y 14,5, el 50% de los datos estuvieron en el rango de 10,3 y 12,2 en todos los sitios y estratos de profundidad.

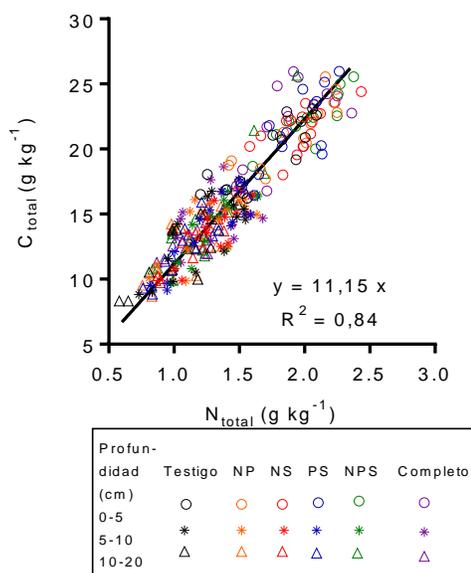


FIGURA 2.8: Relación entre concentración de C_{total} y N_{total} . La línea corresponde a la función de $C_{total}: N_{total}$ en todos los tratamientos de fertilización.

Relación C:S

El S_{total} se incrementó con el aumento del C_{total} en el suelo en todos los sitios y estratos de profundidad. En el estrato superficial (0-5 cm) se vieron relaciones $C_{total}:S_{total}$ más altas que en las capas 5-10 y 10-20 cm de profundidad. En estas dos últimas, la relación $C_{total}:S_{total}$ no fue diferente ($p=0,59$) (**Figura A23**). Cuando se pasó del estrato de 0-5 cm a los estratos subsiguientes (5-20 cm), la relación $C_{total}:S_{total}$ disminuyó en un 22% (bajó de 55 a 43) (**Figura A23**). El C_{total} y S_{total} correlacionaron mejor en los estratos inferiores (5-10, 10-20 cm) ($R^2=0,39$) y, en la capa superficial (0-5 cm) esta relación presentó un $R^2=0,25$.

En el estrato de 0-5 cm, los valores de la relación $C_{total}:S_{total}$ variaron entre 44 y 72 y, el rango intercuartil fue de 50 y 58. En los estratos de 5-10 y 10-20 cm el valor mínimo de $C_{total}:S_{total}$ fue de 27 y el máximo de 61, el 50% de los datos se ubicaron entre 38 y 61. Los tratamientos de fertilización no afectaron a la relación $C_{total}:S_{total}$ en ninguno de los estratos (**Figura 2.9**). La relación $C_{total}:S_{total}$ fue muy estable en los sitios (**Figura A24**).

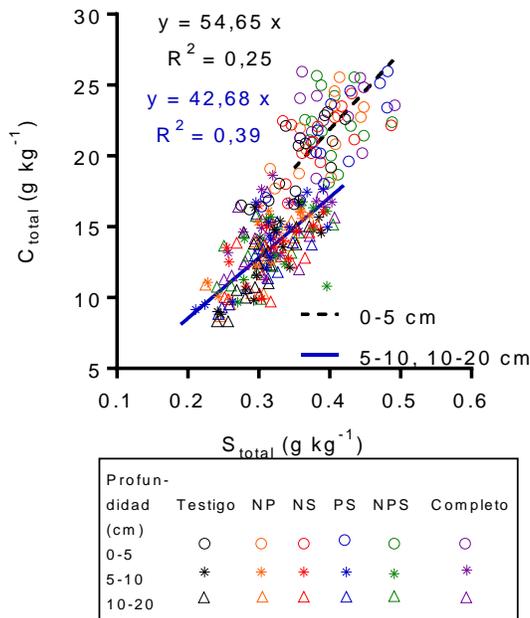


FIGURA 2.9: Relación entre concentración de C_{total} y S_{total} en los tratamientos de fertilización. La línea punteada corresponde a la función de $C_{total}:S_{total}$ en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la función de los estratos 5-10 y 10-20 cm.

Relación N:S

El N_{total} correlacionó de forma positiva con el S_{total} en el suelo. Esta relación fue más fuerte en los estratos subyacentes a 0-5 cm ($R^2=0,46$), mientras que en la capa superficial el R^2 fue del 26%. Los valores de la proporción $N_{total}:S_{total}$ fueron mayores en el estrato de 0-5 cm (promedio 4,9), mientras que el promedio en los estratos de 5-10 y 10-20 cm fue de 3,8 y sin diferencia significativa entre las dos capas más profundas ($p=0,60$) (**Figura A25**). Los valores de $N_{total}:S_{total}$ en los tres estratos de profundidad variaron entre 2,4 y 6,3, los valores más altos correspondieron al estrato superficial (**Figura A25**). Los tratamientos de fertilización no afectaron a la relación $N_{total}:S_{total}$ y tampoco varió entre los sitios experimentales (**Figuras 2.10 y A26**).

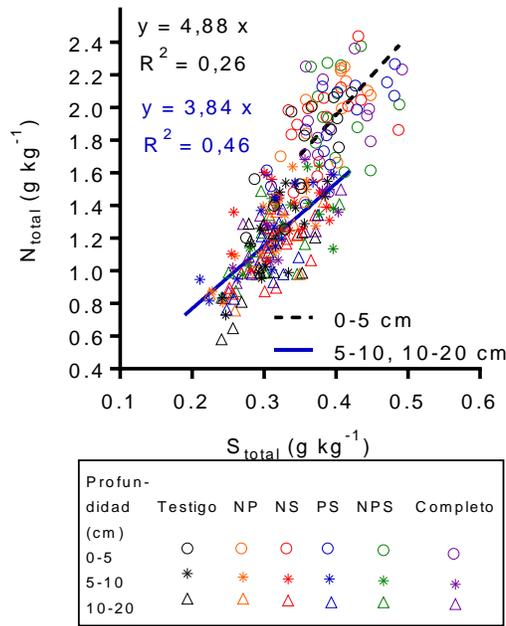


FIGURA 2.10: Relación entre concentración de N_{total} y S_{total} en los tratamientos de fertilización. La línea punteada corresponde a la función de $N_{total}:S_{total}$ en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la misma función de las capas de 5-10 y 10-20 cm.

Relación C:P

El P_{total} se incrementó cuando el C_{total} aumentó en el suelo. Los valores más altos de la relación $C_{total}:P_{total}$ se vieron en la capa de 0-5 cm y disminuyó con la profundidad (**Figura 2.11**). Cuando se pasó del estrato 0-5 cm a 5-20 cm, la relación $C_{total}:P_{total}$ disminuyó en un 28%, pasó de 38,2 a 27,7. En el estrato superficial (0-5 cm) el C_{total} y P_{total} estuvieron más correlacionados ($R^2=0,35$), mientras que en la capa de 5-20 cm la relación entre el C_{total} y P_{total} fue más débil ($R^2=0,17$) (**Figura 2.11**). El rango de valores de la relación $C_{total}:P_{total}$ en el estrato de 0-5 cm fue entre 28 y 58, en la capa de 5-20 cm de profundidad estos valores variaron entre 17 y 40. La **Figura 2.12** muestra que los tratamientos de fertilización con P afectaron a la relación $C_{total}:P_{total}$ sólo en el estrato superficial (0-5 cm), mientras que en el estrato de 5-20 cm no se vieron efectos de aplicar o no fertilizantes. Las relaciones $C_{total}:P_{total}$ no difirieron entre sitios en el estrato de 0-5 cm, mientras que en la capa de 5-20 cm de profundidad se vio dos agrupamientos. La Hansa y San Alfredo presentaron valores de $C_{total}:P_{total}$ más altos (promedio 31) y una débil relación entre el C_{total} y P_{total} . En el grupo de La Blanca, Balducchi y Lambaré la relación $C_{total}:P_{total}$ en promedio fue de 25,8 y, el C_{total} y P_{total} estuvieron más correlacionados ($R^2=0,45$) (**Figura 2.13**).

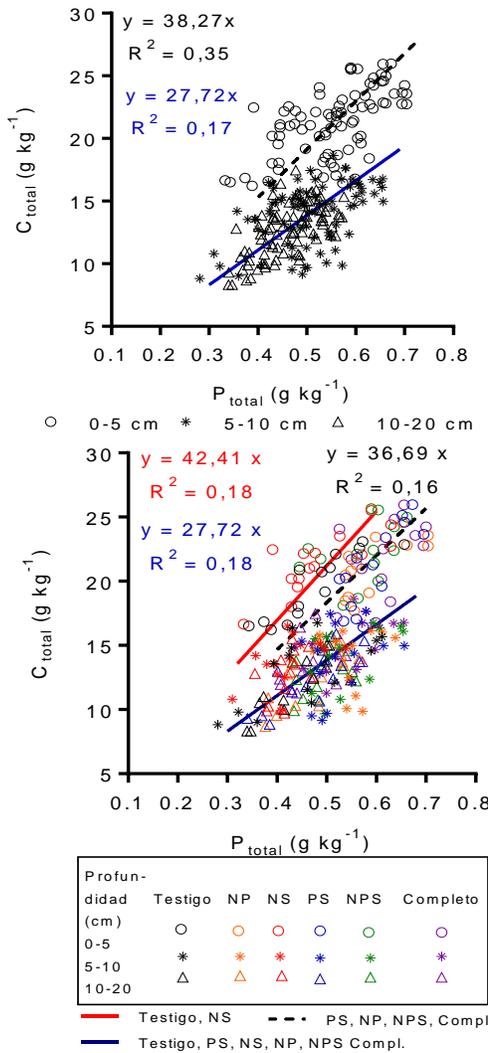


FIGURA 2.12: Relación entre concentración de C_{total} y P_{total} en los tratamientos. La línea roja corresponde a la función de $C_{total}:P_{total}$ de los tratamientos sin P en 0-5 cm. La línea negra punteada a la de los tratamientos con P en 0-5 cm. La línea azul a la función de todos los tratamientos en las capas de 5-10 y 10-20 cm.

FIGURA 2.11: Relación entre concentración de C_{total} y P_{total} . La línea punteada corresponde a la función de $C_{total}:P_{total}$ en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la misma función en las capas de 5-10 y 10-20 cm.

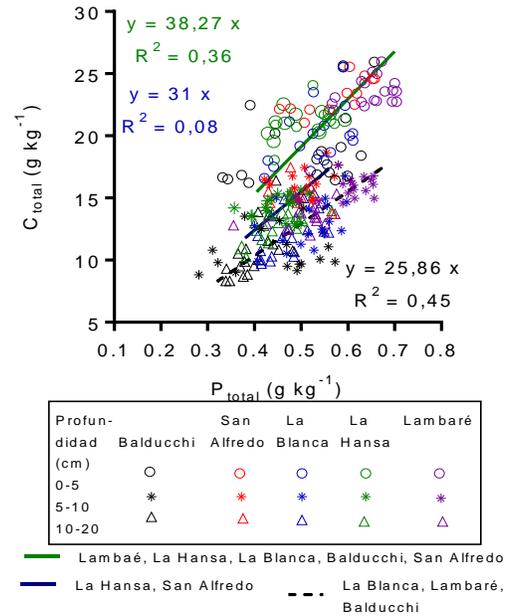


FIGURA 2.13: Relación entre concentración de C_{total} y P_{total} en los sitios. La línea negra es la función en todos los sitios en 0-5 cm. La línea azul es la misma función en La Hansa y San Alfredo en 5-20 cm y, La línea negra punteada a la de La Blanca, Lambaré y Balducchi en 5-10 y 10-20 cm.

Relación N:P

El N_{total} y P_{total} están relacionados de forma positiva en las capas de 0-5 y 5-20 cm (**Figura 2.14**). Los mayores valores de la relación $N_{total}:P_{total}$ se vieron en el estrato superficial de 0-5 cm un 37% superior a las capas de 5-10 y 10-20 cm y sin diferencia significativa entre los dos estratos inferiores ($p=0,06$) (**Figura 2.14**). Los valores de la relación $N_{total}:P_{total}$ variaron entre 1,5 y 5,1, en 50% de los valores se ubicó entre el rango de 2,3 y 3,2, siendo los mayores valores de esta relación en la capa superficial (0-5 cm) (**Figura 2.14**). El agregado de P como fertilizante disminuyó los valores de la relación $N_{total}:P_{total}$ en el estrato de 0-5 cm en 14% (pasó de 3,8 a 3,3), mientras que en la capa de 5-20 cm no fue significativo el efecto de aplicar o no P (**Figura 2.15**). La relación $N_{total}:P_{total}$ no varió significativamente entre los sitios en ninguno de los estratos de profundidad (**Figura A27**).

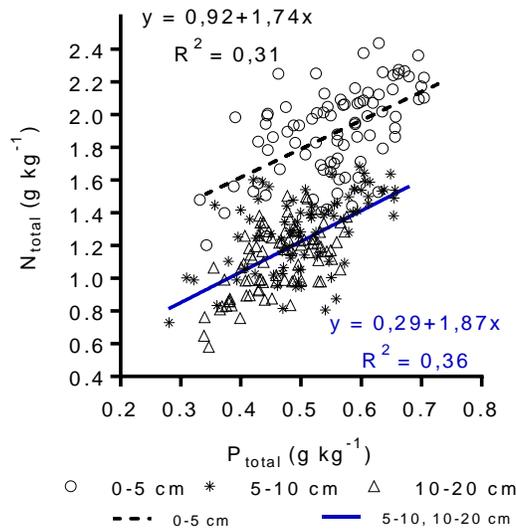


FIGURA 2.14: Relación entre concentración de N_{total} y P_{total} . La línea punteada corresponde a la función $N_{total}:P_{total}$ de la capa 0-5 cm. La línea azul a la de las capas 5-10 y 10-20 cm juntos.

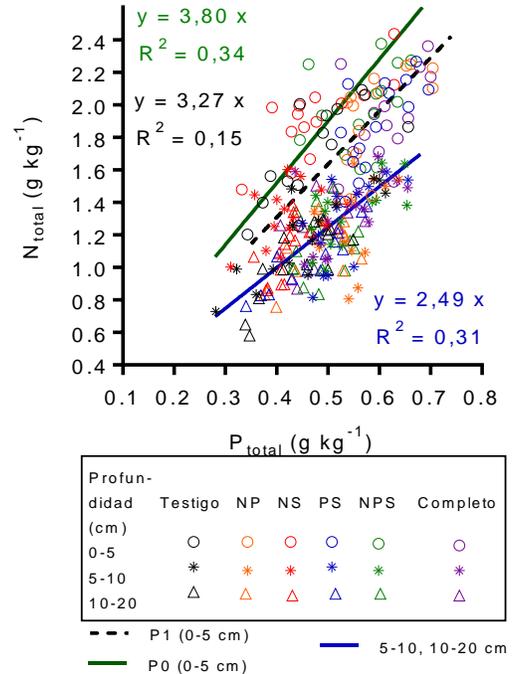


FIGURA 2.15: Relación entre concentración de N_{total} y P_{total} en los tratamientos. La línea verde corresponde a la función $N_{total}:P_{total}$ de los tratamientos sin P en la capa 0-5 cm. La línea punteada a la de los tratamientos con P en la capa de 0-5 cm. La línea azul a la función $N_{total}:P_{total}$ de todos los tratamientos en las capas 5-10 y 10-20 cm juntos.

Relación P:S

El S_{total} aumentó cuando el contenido de P_{total} subió en el suelo. No hubo diferencia significativa de la relación $P_{total}:S_{total}$ entre los estratos de profundidad ($p=0,46$) (**Figura 2.16**). En todo el estrato se vieron valores de la relación $P_{total}:S_{total}$ entre 0,9 y 2,5, siendo el rango intercuartil entre 1,4 y 1,7 (**Figura 2.16**). La aplicación de P como fertilizante, aumentó la relación $P_{total}:S_{total}$ en un 16% (pasó de 1,4 en los tratamientos Testigo y NS a 1,6 en los tratamientos con agregado de P) en los tres estratos de profundidad juntos (**Figura 2.17**). La relación entre el P_{total} y S_{total} fue más estrecha en los tratamientos sin P (Testigo y NS) ($R^2=0,34$), mientras que el agregado de P hizo ligeramente débil a la relación entre el P_{total} y S_{total} (**Figura 2.17**). La proporción $P_{total}:S_{total}$ no varió entre los sitios experimentales (**Figura A28**).

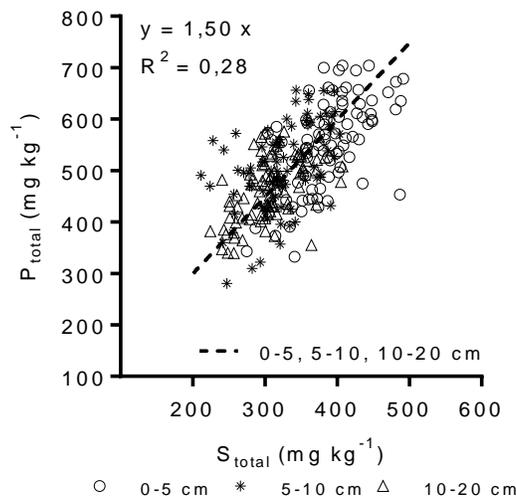


FIGURA 2.16: Relación entre concentración de P_{total} y S_{total} . La línea punteada corresponde a la función $P_{total}:S_{total}$ de las capas de 0-5, 5-10 y 10-20 cm.

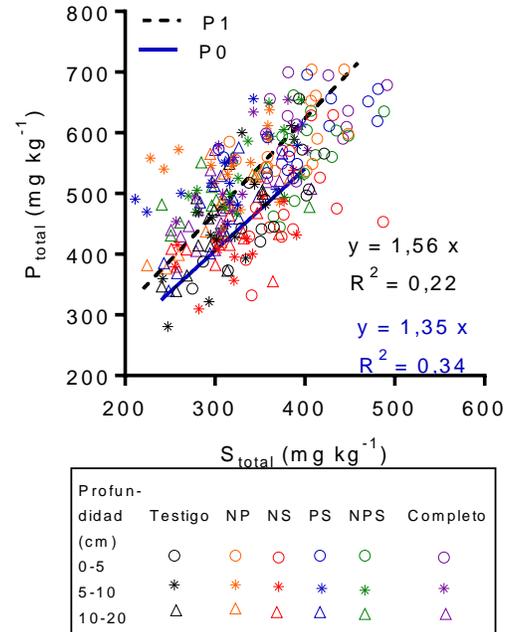


FIGURA 2.17: Relación entre concentración de P_{total} y S_{total} en los tratamientos de fertilización. La línea punteada corresponde a la función $P_{total}:S_{total}$ de los tratamientos sin p y la línea azul a la de los fertilizados con p en las capas 5-10 y 10-20 cm juntos.

Relación C:N:P:S total

Los valores de la relación C:N:P:S total variaron con los sitios y tratamientos de fertilización (**Tabla 2.17**). Todos los sitios presentaron valores parecidos, mientras que los tratamientos sin P (Testigo, NS) presentaron valores más bajos de P, mientras que el C, N y S fueron muy parecidos en todos los tratamientos (**Tabla 2.17**).

TABLA 2.17: Relación C:N:P:S en contenido total del suelo en los sitios experimentales y tratamientos de fertilización.

Sitio	C:N:P:S	Tratamientos	C:N:P:S
Balducchi	46 : 4,0 : 1,6 : 1	Testigo	44 : 3,9 : 1,4 : 1
San Alfredo	49 : 4,2 : 1,4 : 1	PS	45 : 4,0 : 1,6 : 1
La Blanca	42 : 4,0 : 1,5 : 1	NS	45 : 4,1 : 1,3 : 1
La Hansa	47 : 4,2 : 1,4 : 1	NP	46 : 4,1 : 1,6 : 1
Lambaré	45 : 4,1 : 1,6 : 1	NPS	46 : 4,1 : 1,5 : 1
		Completo	48 : 4,2 : 1,6 : 1

2. Relación C:N:P:S en la fracción lábil

Relación Nan:C_{total}

El Nan y el C_{total} se relacionaron de forma positiva ($p < 0,01$) (**Figura 2.18**). Los tratamientos de fertilización no afectaron a esta relación en ninguno de los estratos de profundidad. Sin embargo, se vieron distintas agrupaciones entre sitios. En la capa

superficial (0-5 cm) se vieron dos grupos de sitios. Por un lado, Lambaré, La Hansa y La Blanca que presentaron mayores valores de la relación Nan: C_{total} (mayor pendiente) y una débil relación entre el Nan y el C_{total} ($R^2=0,16$) (**Figura 2.18A**). Por otro lado, San Alfredo y Balducchi presentaron valores de Nan:MOS más bajos, en promedio un 11% menos que los demás sitios (menor pendiente) y una relación más estrecha entre el Nan y C_{total} ($R^2=0,40$) (**Figura 2.18A**). En la capa de 5-10 cm de profundidad se vio que el Nan y C_{total} no estuvieron relacionados en Lambaré, mientras que en los demás sitios hubo un importante aporte del C_{total} sobre el contenido del Nan ($R^2=0,39$) (**Figura 2.18B**). En la capa de 10-20 cm se vio el mismo patrón de agrupamiento de sitios, pero con mayor correlación entre el Nan y el C_{total} (mayor R^2) (**Figura 2.18C**).

Cuando se analizó la relación entre el Nan y C_{total} en el estrato de 0-20 cm se vio 3 grupos entre sitios. Por un lado, Lambaré que presentó mayor correlación entre el Nan y el C_{total} y los mayores valores de la relación Nan: C_{total} . Balducchi presentó los valores más bajos de la relación Nan: C_{total} y un R^2 algo parecido a Lambaré. Mientras que en los otros 3 sitios (La Hansa, La Blanca y San Alfredo) se vieron valores intermedios de la proporción Nan: C_{total} y una menor correlación ($R^2=0,25$) (**Figura 2.18D**).

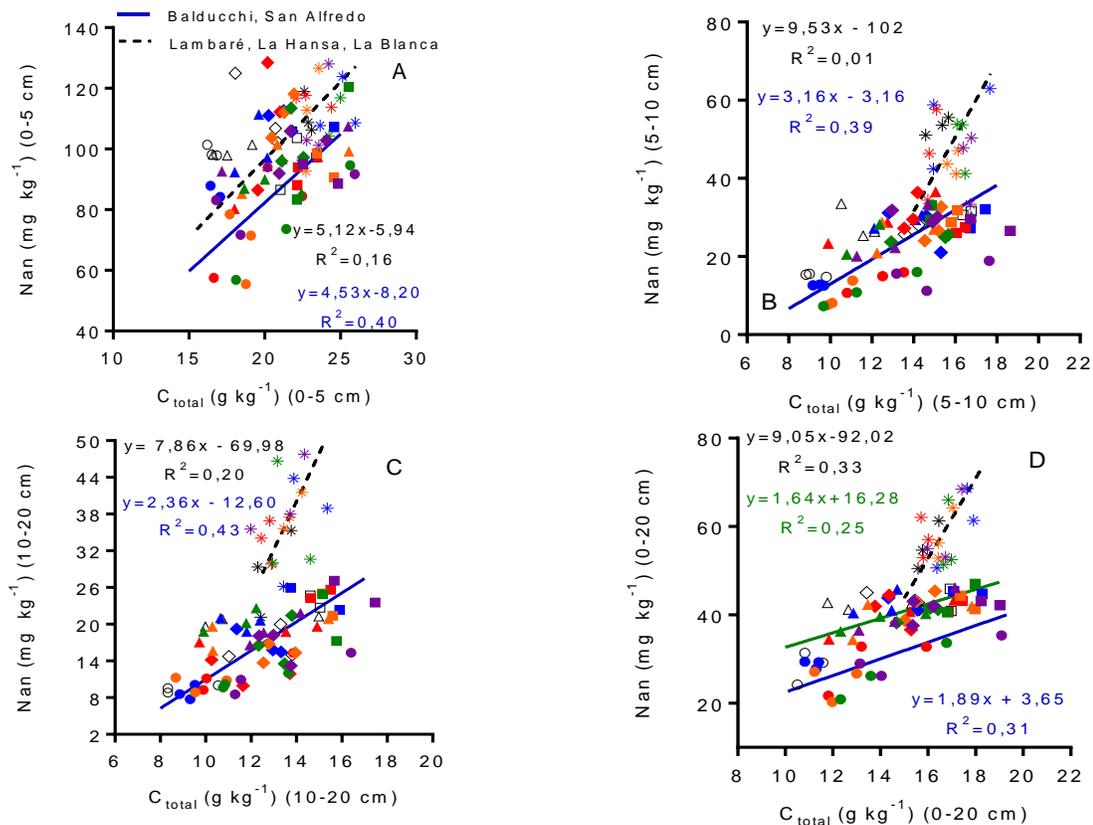


FIGURA 2.18: Relación entre concentración de Nan y el C_{total} en la capa de 0-5 cm (A), 5-10 cm (B), 10-20 cm (C) y (0-20 cm) (D). La línea punteada en B, C y D corresponde a la función de Nan: C_{total} en Lambaré. la línea azul en B y C a la de Balducchi, La Blanca, La Hansa y San Alfredo. la línea azul en d corresponde a la función en Balducchi y la verde a la función de La Hansa, La Blanca y San Alfredo.

	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

Relación Nan:C_{MOP}

No se vio relación entre el Nan y C_{MOP} en el estrato superficial (0-5 cm) (**Figura 2.19A**). En la capa de 5-10 cm se vieron leves relaciones entre el Nan y C_{MOP}, sólo en Balducchi el Nan y el C_{MOP} se relacionaron más ($R^2=0,23$) (**Figura 2.19B**). En la capa de 10-20 cm tampoco se vio relación entre el Nan y el C_{MOP} en Lambaré, sin embargo en los demás sitios agrupados mejoró la relación entre estas dos variables (**Figura 2.19C**). Cuando se analizó la relación entre el Nan y el C_{MOP} en el estrato de 0-20 cm no se vio ninguna relación (**Figura 2.19D**).

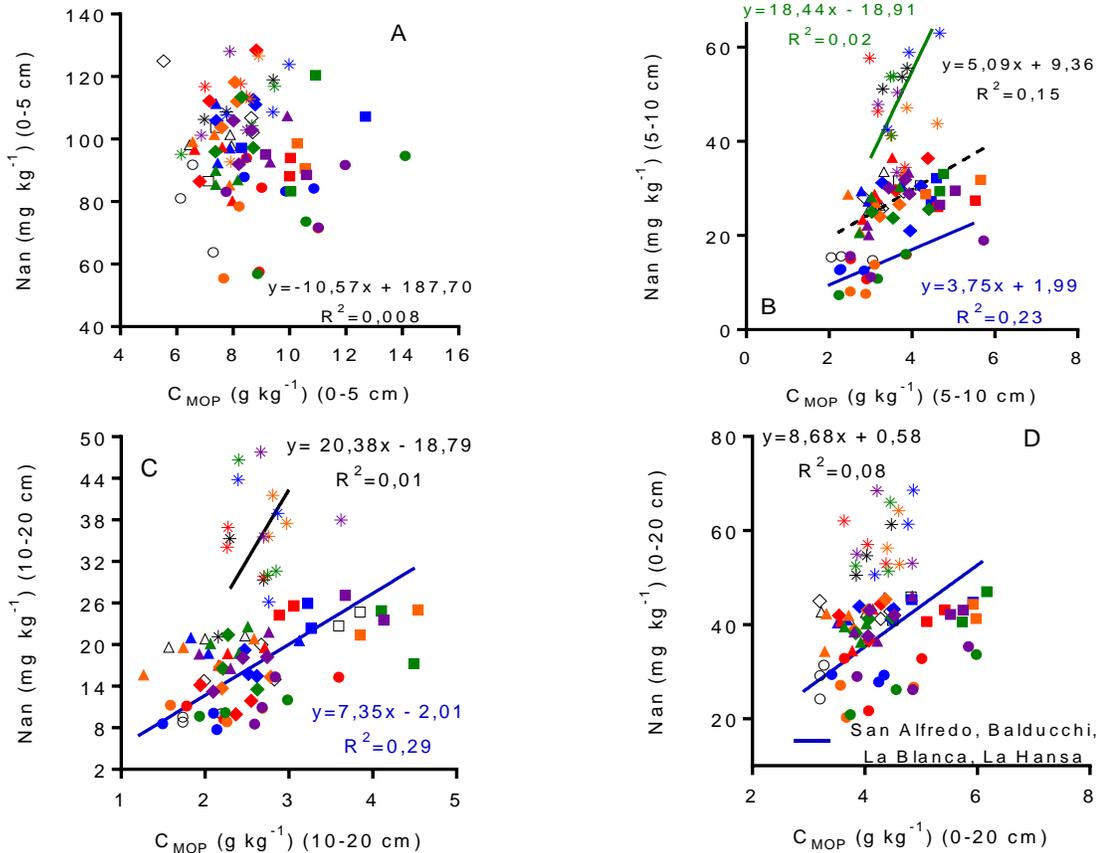


FIGURA 2.19: Relación entre concentración de Nan y el C_{MOP} en la capa de 0-5 cm (A), 5-10 cm. La línea verde es la función Nan: C_{MOP} en Lambaré. La línea azul a la de Balducchi y la línea punteada a la función de La Hansa, La Blanca y San Alfred (B), 10-20 cm. La línea negra es la función de Lambaré, la azul corresponde a La Hansa, La Blanca, San Alfredo y Balducch (C) y 0-20 cm (D).

Relación Nan:C_{MOR}

El C_{ROC} explicó el 34% del Nan en el estrato de 0-5 cm, donde no hubo efecto de los tratamientos ni sitios sobre la relación Nan:C_{MOR} (**Figura 2.20A**). En la capa de 5-10 cm se vio la misma tendencia que la capa superficial, sólo en Lambaré no se encontró relación entre el Nan y el C_{MOR} (**Figura 2.20B**). En el estrato de 10-20 cm mejoró la relación entre

el Nan y el C_{MOR} , los mayores valores de relación Nan: C_{MOR} y a la vez una relación más débil entre estas dos variables ($R^2=0,19$), mientras que en los otros cuatro sitios el Nan y el C_{MOR} estuvieron más relacionados y con valores más bajos de Nan: C_{MOR} (**Figura 2.20C**). Cuando se analizó esta relación (Nan: C_{MOR}) en la capa de 0-20 cm se evidenciaron 3 agrupamientos de los sitios. Por un lado, Lambaré, en donde el 30% del Nan fue explicado por el C_{MOR} y los valores de Nan: C_{MOR} fueron más altos. Un segundo grupo de sitios fueron La Hansa, La Blanca y San Alfredo en donde los valores de Nan: C_{MOR} fueron intermedios y el 20% del Nan estuvo explicado por el C_{MOR} y, el finalmente Balducchi que presentó un $R^2=0,32$ y valores más bajos de Nan: C_{MOR} (**Figura 2.20D**). El ajuste entre el Nan: C_{MOR} fue más estrecho que el Nan: C_{total} en la capa de 0-20 cm de profundidad en todos los sitios (**Figuras 2.18D y 2.20D**).

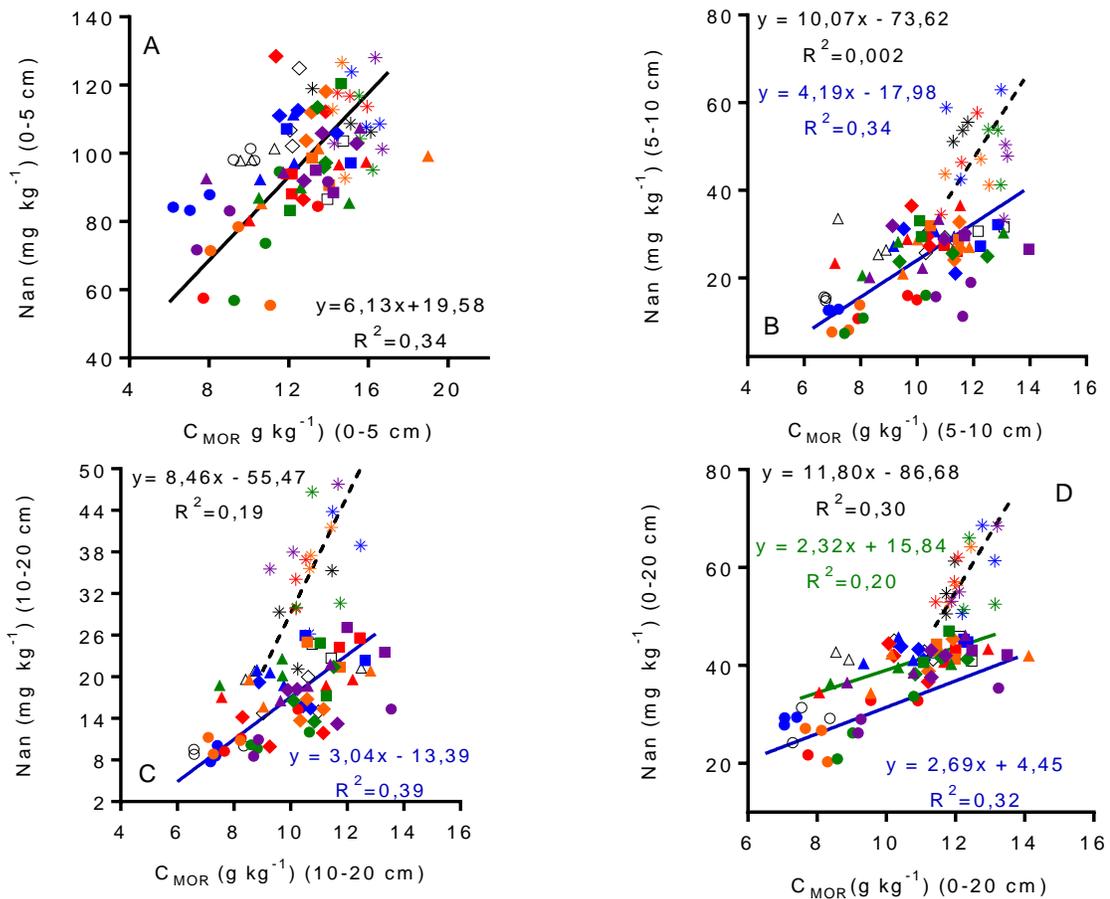


FIGURA 2.20: Relación entre concentración de Nan y el C_{MOR} en la capa de 0-5 cm (A), 5-10 cm (B), 10-20 cm (C), 0-20 cm (D). En B y C la línea punteada corresponde a la función en Lambaré y la azul a la de La Blanca, La Hansa, San Alfredo y Balducchi. En D, la línea punteada corresponde a la función de Nan: C_{ROC} en Lambaré. La línea verde a la de La Blanca, La Hansa y San Alfredo y, la azul a la función en Balducchi.

	Balducci	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

Relación C_{MOP} : S_{MOP}

En C y S en la materia orgánica particulada se relacionaron de forma positiva. Los mayores valores de $C_{MOP}:S_{MOP}$ se vieron en el estrato superficial (0-5 cm) y a la vez una menor relación en relación a las capas subyacentes (**Figura A29**). No se vio diferencia significativa de la relación $C_{MOP}:S_{MOP}$ entre los estratos 5-10 y 10-20 cm de profundidad. En esta capa los valores de las relaciones entre el C_{MOP} y el S_{MOP} fueron más bajas y más estrechas (**Figura A29**). No se vieron efectos significativos de los tratamientos de fertilización sobre la relación $C_{MOP}:S_{MOP}$ en ninguno de los estratos de profundidad (**Figura 2.21**). La relación entre el C_{MOP} y el S_{MOP} se mantuvieron constantes en todos los sitios (**Figura A30**).

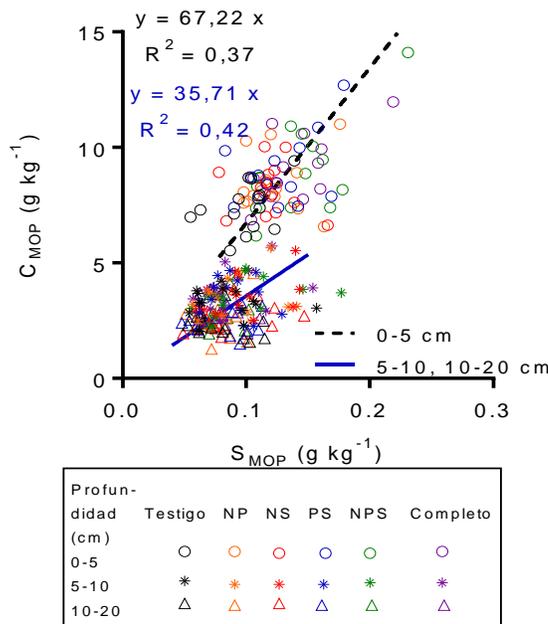


FIGURA 2.21: Relación entre concentración de C_{MOP} y el S_{MOP} en los tratamientos de fertilización. La línea punteada corresponde a la función de $C_{MOP}:S_{MOP}$ en la capa de 0-5 cm. La línea azul a la de los estratos de 5-10 y 10-20 cm.

Relación C_{MOR} : S_{MOR}

El C_{MOR} y S_{MOR} guardaron una débil relación ($R^2=0,15$) y sin diferencia significativa entre los estratos de profundidad (**Figura A31**). Como en el caso de la relación C:S en contenido total, no se vio efecto de los tratamientos de fertilización sobre la relación $C_{MOR}:S_{MOR}$ (**Figura 2.22**). A su vez, estas relaciones se mantuvieron constantes en todos los sitios experimentales (**Figura A32**). La concentración de C_{MOR} fue 46 veces más que el del S_{MOR} .

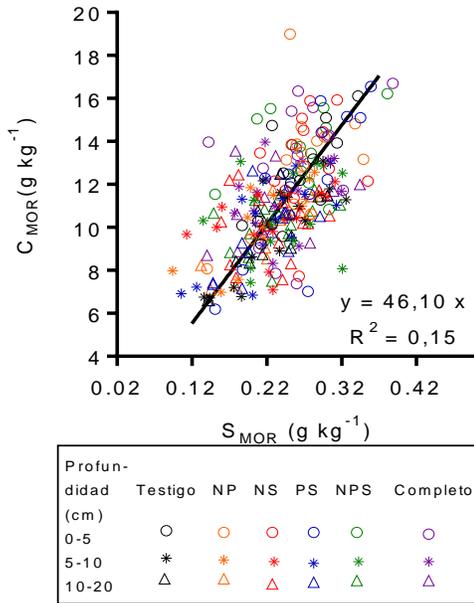


FIGURA 2.22: Relación entre concentración de C_{MOR} y el S_{MOR} en los tratamientos de fertilización. La línea corresponde a la función de $C_{MOR}:S_{MOR}$ en las tres capas (0-5, 5-10 y 10-20 cm).

Relación $C_{MOP} : Nan : S_{MOP}$

La relación C:N:S en la fracción lábil también fue variable con los sitios y tratamientos de fertilización (**Tabla 2.18**). En todos los sitios y tratamientos se vio que el C, N y S en la fracción lábil no fue muy variable.

TABLA 2.18: Relación C:N:P:S en la fracción lábil del suelo en los sitios experimentales y tratamientos de fertilización

Sitio	$C_{MOP}:Nan:S_{MOP}$	Tratamientos	$C_{MOP}:Nan:S_{MOP}$
Balducchi	42 : 0,3 : 1	Testigo	47 : 0,5 : 1
San Alfredo	55 : 0,4 : 1	PS	48 : 0,5 : 1
La Blanca	35 : 0,4 : 1	NS	45 : 0,5 : 1
La Hansa	54 : 0,5 : 1	NP	47 : 0,5 : 1
Lambaré	52 : 0,7 : 1	NPS	47 : 0,4 : 1
		Completo	48 : 0,5 : 1

DISCUSIÓN

Efecto de fertilización de largo plazo sobre las concentraciones totales de C, N, P y S y en las fracciones del suelo

a. Carbono total y en la fracción orgánica particulada y resistente

En todos los sitios experimentales se vio una tendencia común para estos parámetros. El C_{total} disminuyó por no reponer los nutrientes, aunque éste efecto sólo fue significativo en Balducchi, donde el tratamiento testigo fue el más pobre en C_{total} (**Tabla 2.3**). En un experimento de fertilización de Bad Lauchstadt (Alemania) también evaluaron efectos positivos de la fertilización especialmente del N sobre el contenido de C_{total} (Robert, 2002). Según Fabrizzi *et al.* (2003); Manna *et al.* (2007) y Buschiazzo *et al.* (2004) los factores

que afectan las concentraciones del COS son la fertilización, los años de agricultura, los tipos de rotación, los sistemas de labranza y otras características del suelo. La adecuada nutrición de los cultivos y la fertilidad de los suelos tienden a aumentar la MO porque un cultivo mejor nutrido incrementa los rendimientos y acumula mayor cantidad de residuos, con lo cual los aportes de C al suelo son mayores (García *et al.*, 2004). Zhu *et al.* (2015) también observaron que la fertilización de largo plazo tiende a aumentar el secuestro de COS proveniente de las raíces y residuos de cultivos mejor nutridos. La adecuada fertilización e irrigación de cultivos producen incrementos no solo de la MOS sino también de los rendimientos (Haynes, 2005). En otros suelos del mundo, con mayores historias agrícolas se han reportado mayores pérdidas de COS respecto a nuestros resultados por falta de fertilización. Robert (2002) informaron que en el experimento de Versailles (Francia) tras 50 años de agricultura sin reposición de nutrientes, el COS disminuyó un 60% y, en el experimento de Rothamsted disminuyó un 55% en tan solo 20 años de agricultura sin fertilización.

Los valores de C_{total} en el estrato de 0-20 cm del suelo en todos los sitios experimentales tuvieron un promedio general de $15,1 \text{ g C kg}^{-1}$, el 50% de los datos se ubicaron entre $13,4$ y $16,8 \text{ g C kg}^{-1}$ (**Tabla 2.3**). Díaz Zorita (1999) registraron variaciones de C_{total} en suelos del noreste de Buenos Aires entre $14,5$ y 26 g C kg^{-1} en la capa de 0-30 cm de profundidad. Similar a nuestros resultados ellos vieron mayores concentraciones de C_{total} en la superficie de los suelos con SD, asociado a la redistribución en profundidad de los residuos de cosecha. Los resultados del ANOVA indicaron que las reducciones de C_{total} por no fertilizar fueron significativas sólo en Balducchi y, en los demás sitios aunque tendieron a disminuir, no fueron estadísticamente significativas (**Tabla 2.3**). Esto puede ser debido a que las mayores respuestas a la fertilización se vieron en Balducchi (García *et al.*, 2004, 2006; Boxler *et al.*, 2014). Así como también, en términos absolutos, Balducchi presentó el mayor balance acumulado de C_{total} después de 14 años (Sucunza *et al.*, 2016). También se pueden atribuir a las diferentes historias agrícolas, textura y otras características de los suelos en los sitios experimentales. Según Gregorich *et al.* (1994) el cambio de C_{total} depende principalmente de los niveles iniciales del C en el suelo más que el manejo inducido. Sin embargo, en este estudio Balducchi presentó C_{total} en 15% mayor que en La Hansa (sitio con MO inicial más bajo) cuando se implantaron los ensayos en el año 2000/01 (**Tabla 2.2**). Los niveles actuales de fertilidad del suelo indican a Balducchi como el más deficiente en C y La Hansa ha mantenido concentraciones de C_{total} en 15% superior a Balducchi. Esto podría indicar que la textura del suelo es un factor importante que determina la fertilidad del mismo en el largo plazo además de su estado inicial y el afecto antrópico. El contenido de la fracción arcilla+limo en Balducchi es un 33% menor que en La Hansa (**Tabla 2.2**). Lambaré es el sitio más rico en arcillas y Balducchi el más arenoso. En cuanto a los contenidos de (arcilla+limo), Lambaré tiene un 97%, mientras que Balducchi posee sólo un 68% de dicha fracción (**Tabla 2.2**). Buschiazzo *et al.* (2004), Quiroga y Buschiazzo (1988) y Galantini *et al.* (2004) mostraron relaciones positivas entre la fracción arcilla+limo y contenidos de C_{total} en suelos de la región pampeana. Buschiazzo *et al.* (1991) y Van Veen y Kuikman (1990) afirmaron que en los suelos de fracciones más finas, el tamaño pequeño de los poros del suelo protege a la MO de la acción de los microorganismos. Por lo cual, la arcilla crea una barrera física de protección de la MO evitando la rápida descomposición por los microorganismos (Azlan *et al.*, 2012), así también producen alto grado de humificación por su capacidad de retención hídrica

(Buschiazzo *et al.*, 1991, 2004). Altos niveles de actividad biológica en un suelo requieren una significativa cantidad de MOS así como humedad adecuada. Quiroga y Buschiazzo (1988) también evaluaron el efecto positivo de las arcillas y MOS sobre la actividad microbiana en los primeros 20 cm de estrato del suelo en la región semiárida de Argentina. Por lo tanto, la textura de los suelos también juega un papel importante en el secuestro del C en el largo plazo. En suelos arenosos, la presencia de grandes poros disminuye la capacidad de retener agua y de mantener la humedad para el crecimiento microbiano (Hassink *et al.*, 1993a). Hevia *et al.* (2003) vieron disminuciones entre 56 y 59% de C_{total} en suelos arenosos después de 30 años de agricultura, mientras que en suelos de texturas finas estas pérdidas solo fueron de 12 -32%. Burke *et al.* (1989) también vieron correlaciones positivas entre el contenido de arcillas en el suelo y la MO en suelos con pastizales en EE. UU. Resultados generados de modelos de formación de MO también han subrayado la relación positiva entre la textura fina del suelo y la acumulación del C_{total} (Rastetter y Shaver, 1992). Nuestros resultados también señalan a la textura de los suelos como un factor importante sobre los niveles de fertilidad de éstos en el largo plazo (i. e. contenido de C), ya que Balducchi es el sitio con menor arcilla, por lo tanto la concentración de MOP es mayor, y al ser el sistema de cultivo SD el cambio entre estratos se hace mucho más importante.

Por otro lado, está documentado que los años de agricultura y el contenido de MOS se relacionan negativamente, dichas relaciones son visibles en el largo plazo (Genovese *et al.*, 2009, Reussi Calvo *et al.*, 2013 y Eiza *et al.*, 2005; Divito *et al.*, 2011). Studdert *et al.* (2000) estudiaron suelos de tipo Argiudol típico y Paleudol Petrocálcico en Balcarce, Argentina después de 11 años de agricultura bajo labranza convencional, sin aplicar fertilización nitrogenada el COS se redujo de 8,8 a 4,1 g kg⁻¹. La MOS es esencial para sostener la agricultura. El humus históricamente se ha equiparado con la fertilidad inherente del suelo (Wander, 2004) sobre el cual se ha basado la producción de los cultivos. Si bien, existen entradas de C con los residuos de cosecha, las salidas también son importantes. Por lo cual, la degradación de los suelos se hacen más evidentes en el largo del plazo. Los resultados en este estudio también sugieren que la agricultura continua sin el agregado de fertilizantes tiende a empobrecer los suelos en contenidos de C. Vale resaltar la importancia de la fertilización sobre los niveles de C de los suelos en el largo plazo.

Los cultivos de las rotaciones en nuestros ensayos experimentales son M-T/S y M-S-T/S y no se vio ningún patrón de diferenciación en contenidos de C_{total} entre ambas rotaciones (**Tabla 2.3, Figuras A1 y A2**). Según García *et al.* (2004) las rotaciones de cultivos con gramíneas producen mayores aumentos de la MOS porque éstos tienen mayores crecimientos cuando se fertilizan y, en consecuencia existe mayores retornos de los residuos de cosecha. Studert (2000) vieron que las pérdidas de CO del suelo aumentaron cuando la soja estuvo presente en las rotaciones y disminuyeron con la presencia del maíz, ellos vieron este fenómeno en situaciones de suelos fertilizados con N. Lo atribuyeron a la cantidad diferencial de entrada de residuos de cosecha proveniente de ambos cultivos. Otros estudios de los efectos de rotaciones sobre el C_{total} estuvieron interaccionadas por los sistemas de labranza y tipos de fertilización con lo cual no se pudieron diferenciar el efecto puro de las rotaciones sobre el C_{total} (Eiza *et al.*, 2005). Se necesitarían experimentos de mayor tiempo para conocer cómo los tipos de rotación afectan a la fertilidad de los suelos.

Los niveles de C_{total} disminuyeron con la profundidad en todos los sitios experimentales (**Tabla 2.3, Figura A1**). Los suelos menos perturbados en general tienden a mantener más estables los niveles de C (Robinson *et al.*, 1996), por lo que en sistemas con SD es frecuente que haya mayor acumulación de C en superficie mientras que con LC no ocurre lo mismo (Álvarez *et al.*, 2011). Otros autores también informaron que la MOS se concentra más en la superficie en sistemas con SD (García *et al.*, 2004; Eiza *et al.* 2005; Díaz Zorita, 1999; Wander, 2004).

En 3 de los 5 sitios disminuyó el C_{MOP} en el estrato de 0-20 cm por no reponer los nutrientes tras 14 años de cultivo. Estos efectos fueron más pronunciados en los primeros 5 cm del suelo (**Tabla 2.4**). En el estrato de 0-20 cm, la disminución de C_{MOP} por no fertilizar (testigo) fue del 33%, 17% y 15% respecto al tratamiento Completo en Balducchi, San Alfredo y La Blanca respectivamente (**Tabla 2.4**). Vale aclarar que la reducción del C_{total} por no reponer nutrientes en la misma capa en Balducchi fue del 29% (**Tabla 2.3**). Lo cual indica que la fracción más sensible a la fertilización fue la particulada concordando con los reportes de Haynes (1999), Gregorich (1994) y otros. Por lo cual, se podría usar esta fracción como herramienta más sensible a los cambios por efectos de fertilización en distintos suelos.

La interacción sitio x tratamiento significativa indica que el C_{MOP} de los tratamientos varió con los sitios (**Tabla 2.4**). En dos de los cinco sitios (Lambaré y La Hansa) no se vio efecto significativo de la fertilización sobre el C_{MOP} en el estrato de 0-20 cm (**Tabla 2.4**). Lo cual es atribuible a los altos contenidos de arcilla+limo en Lambaré y La Hansa. Vale resaltar que Lambaré tiene un 97% de esta fracción y La Hansa un 96,9% (**Tabla 2.2**) mientras que en los otros tres sitios, el contenido de dicha fracción varió entre 65 y 71,9%. Está documentado que los poros pequeños de las fracciones finas del suelo protegen al COS del ataque microbiano (Buschiazzo *et al.*, 1991; Ladd *et al.*, 1990 y Van Veen y Kuikman, 1990). Esto sumado a las altas concentraciones de C y nutrientes en estos sitios habrían impedido ver efectos significativos de la fertilización sobre los contenidos de C_{MOP} en Lambaré y La Hansa. Por lo cual, Kong *et al.* (2007) indicaron que el C asociado a las fracciones arcilla+limo refleja la capacidad de retención y disponibilidad de nutrientes del suelo por mayor tiempo. Además, suelos con relativamente altos niveles de MO requieren perturbaciones prolongadas e intensas para mostrar una degradación significativa en comparación con los suelos que inicialmente tenían contenidos bajos de MO (Gregorich *et al.*, 1994). Los resultados de esta tesis apoyan dichas afirmaciones, ya que en la **Figura 2.4** se puede ver que la fracción más fina del suelo (arcilla) estabiliza los materiales orgánicos más transformados (C_{MOR}), que contribuye a un mayor secuestro de C en el suelo. En este estudio la fracción C_{MOR} guardó mayor relación con el contenido de arcilla que con la fracción arcilla+limo (**Figura 2.4**). Lo cual sugiere que la composición textural de los suelos es un factor importante para su fertilidad en el largo plazo. Suelos más arenosos, tienden a mineralizar más C y por consiguiente tienden a perder más C_{MOP} que cuando no se fertiliza. La textura arenosa en Balducchi sumado a la mayor degradación de la MOS habrían generado las mayores diferencias en C_{MOP} entre los tratamientos testigo y completo (**Figura A3 y A5**). En el sudeste de la provincia de Buenos Aires, Fabrizzi *et al.* (2003) también vieron que los efectos de fertilizar o no eran más visibles en un suelo degradado en relación a un suelo no degradado. Las diferencias en C_{MOP} de los tratamientos de

fertilización en Balducchi, La Blanca y San Alfredo indican que la degradación de estos suelos empieza a detectarse.

La interacción sitio x profundidad significativa indica que los contenidos de C_{MOP} en cada estrato varió con los sitios. Sin embargo, la tendencia general fue de disminución del C_{MOP} con la profundidad en todos los sitios (**Figura A5**). Lo cual es razonable en sistemas de cultivo bajo SD porque el C_{MOP} es la fracción recientemente incorporado al suelo con los restos de cosecha, que se acumulan mayormente en superficie. Vale resaltar que el sistema de SD genera mayor estratificación de C_{MOP} entre los estratos superficiales de suelos degradados. Lo cual se vio en Balducchi, donde el 68% de C_{MOP} se redujo cuando se pasó del estrato de 0-5 cm a 5-10 cm, mientras que en los otros sitios estas reducciones fueron entre 52 y 60% (**Figura A5**). Las disminuciones de C_{MOP} entre las capas 5-10 y 10-20 cm variaron entre el 20 a 33% en todos los sitios (**Tabla 2.4 y Figura A5**). Muchos autores han utilizado la fracción lábil del COS para identificar efectos tempranos en MOS que se harían evidentes en el largo plazo (Anderson *et al.*, 1981; Ladd *et al.*, 1977; Gregorich *et al.*, 1994). Algunos han utilizado esta fracción para determinar los efectos de los sistemas de labranza sobre el C_{total} (Mandiola *et al.*, 2011; Reussi Calvo *et al.*, 2014). Sin embargo, son escasos los trabajos que usaron esta fracción para ver los efectos de los distintos regímenes de fertilización con N, P y S aplicados siempre sobre las mismas parcelas en el largo plazo. Nuestros resultados sugieren la importancia de agregar fertilizantes en forma equilibrada para evitar pérdidas C en la fracción estable y lábil, lo cual es un indicador importante de la fertilidad de los suelos. La variación de la MOS implica mayormente variación en la capacidad de proveer N y S a los cultivos (Echeverría *et al.*, 1994; Scherer, 2001; Dominguez *et al.*, 2001) porque estos dos nutrientes provienen principalmente de la mineralización de la MOS. Otros investigadores también han visto relación entre la capacidad de mineralizar C (Alvarez y Alvarez, 2000) y N (Manlay *et al.*, 2007) con el contenido de C en las fracciones lábiles. La formación del pool lábil del suelo requiere presencia de biomasa microbiana el cual correlaciona con el C_{MOP} (McLauchlan y Hobbie, 2004). Por lo tanto, el C_{MOP} también es importante tanto para la provisión de nutrientes como en el ciclado de los mismos.

La relación C_{MOP}/C_{total} también disminuyó con la profundidad. El 40% del C_{total} estuvo compuesta por el C_{MOP} en los primeros 5 cm de profundidad, en los estratos de 5-10 y 10-20 cm estas relaciones fueron de 25% y 20% respectivamente (**Figura 2.3**). Álvarez *et al.* (2011) también vieron mayores proporciones de C_{MOP}/C_{total} en superficies bajo siembra directa. Cambardella y Elliott (1992) reportaron un valor de 39% de C_{MOP} del C_{total} en un suelo con 20 años de laboreo, mientras que en un suelo sin labranza vieron que el 18 a 25% del C_{total} estaba formado por el C_{MOP} . Fabrizzi *et al.* (2003) lo atribuyen a la falta de perturbación mecánica del suelo que permite mayor acumulación de C y mineralización de éste en superficie. La relación C_{MOP}/C_{total} no fue afectada por la fertilización, sin embargo se vio que en Balducchi y San Alfredo (de rotación corta) hubo mayor porcentaje de C_{MOP} respecto de C_{total} (**Tabla 2.6**). Lo cual es atribuible a la mayor descomposición de los residuos de cosecha provenientes de cultivos antecesores en los sitios de rotación corta.

Las **Figuras 2.2 y 2.3** muestran la estratificación del C total y sus dos fracciones (i. e. particulada y mineral). La fracción orgánica particulada (C_{MOP}) estuvo más estratificada con la profundidad tanto en términos absolutos como relativos, en tanto que el C_{MOR} fue la

de menor estratificación. Estos resultados son consistentes con aquellos reportados por Franzluebbbers (2002) quien usó la misma metodología para calcular estratificación de C (i. e. división del CO del estrato superficial sobre las capas subyacentes del suelo). Con lo cual vieron mayor estratificación del CO en superficie bajo SD que con LC, efecto que no logró discriminar usando concentraciones absolutas de C. Franzluebbbers (2002) propuso utilizar la tasa de estratificación como indicador de la calidad del suelo que es traducida en una mejor infiltración del agua en la profundidad, mayor estabilidad de agregados, abundante suministro de nutrientes de liberación lenta unidos a la MO y un suministro de alimentos para los organismos del suelo. Franzluebbbers y Arrshad (1997) sugirieron que el incremento de las relaciones de estratificación del CO se debe a las buenas entradas de C con los cultivos al acumularse éstos en superficie. Nuestros resultados muestran que la fertilización sumada al sistema de siembra directa ha permitido una mayor estratificación de las fracciones del C en el estrato de 0-20 cm.

b. Nitrógeno total y en la fracción lábil

La falta de reposición con N, P y S disminuyó las concentraciones de N_{total} en el estrato de 0-20 cm del suelo (**Tabla 2.7**). La disminución de N_{total} por no fertilizar (testigo) respecto al tratamiento completo fue del 12% en este estrato. Varios investigadores han informado de los efectos de la fertilización sobre el NOS y el N_{total} (Yang *et al.*, 2015; Keeney y Bremner, 1964; Wang *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 2014). Contrariamente a nuestros resultados, Xiao-Tang *et al.* (2006) vieron que la fertilización fosforada por 15 años no afectó al N_{total} , solo vieron efectos positivos de aplicar N. En este estudio se vieron aumentos del N_{total} como respuesta al agregado del N, P y S como fertilizantes durante 14 años (**Tabla 2.7**). Lo cual puede ser atribuible al mayor crecimiento de las plantas por aplicaciones de dichos nutrientes que generaron mayores rastrojos y son fuentes del N. Existen evidencias que la agricultura sin fertilización agota el N del suelo porque la entrada de residuos es baja (Domínguez *et al.*, 2001; Genovese *et al.*, 2009). Xiao-Tang *et al.* (2006) mostraron que la entrada de rastrojos al suelo está estrechamente relacionada con el N_{total} . Nuestros resultados también mostraron que hubo respuestas en rendimiento al agregado de N, P y S como fertilizantes (resultados del capítulo 2), así como el N_{total} respondió a la fertilización con dichos nutrientes sugiriendo que hubo mayores entradas de rastrojo cuando se fertilizó. En un ensayo en el sudeste de la provincia de Buenos Aires donde el suelo presentaba importantes contenidos de N_{total} , vieron que la fertilización continua por 10 años no afectó al N_{total} (Diovisalvi *et al.*, 2008). Sin embargo, en otro suelo con mayor deficiencia en nutrientes en la China vieron aumentos significativos del N_{total} en los primeros 20 cm del suelo como resultado de la fertilización por 15 años (Xiao-Tang *et al.*, 2006). Estos reportes y nuestros resultados sugieren que la fertilización es importante para aumentar el contenido de N_{total} lo cual puede resultar más importante en suelos con baja fertilidad.

El N_{total} varió con los sitios experimentales y siguió el mismo patrón que el C_{total} (**Tabla 2.3 y 2.7**, $p < 0,001$). En el estrato de 0-20 cm, Balducchi fue el más pobre en N_{total} , mientras que Lambaré y San Alfredo los más ricos (**Figura A8**). Buschiazio *et al.* (1991) en 3 sitios de la región semiárida pampeana también registraron valores de N_{total} entre 1,1 en suelos arenosos y, de 1,3 $g\ kg^{-1}$ en suelos de texturas finas ambos cultivados por más de 50 años sin fertilización, coincidiendo con nuestros resultados, ya que Balducchi es el más arenoso

y Lambaré junto con San Alfredo tienen texturas más finas. En todos los sitios se vio un patrón común de disminución de N_{total} en el estrato de 0-20 cm por no reponer los nutrientes. Cuando se compararon los tratamientos testigo y Completo en este estrato, se vio una reducción de N_{total} de un 12% por falta de fertilizar. Esto es explicado porque el N_{total} del suelo proviene de los residuos de cosecha. Halvorson *et al.* (1999) reportaron que el N de los residuos y el N_{total} del suelo correlacionaron de forma positiva en el estrato de 0-7,5 cm, después de 11 campañas tras fertilizar con N de forma continua. Thomsen y Christensen (2004) también vieron que el C del suelo y el almacenamiento de N en el suelo se incrementan linealmente con el aumento de los restos de cultivos después de 18 años de incorporar paja de granos anualmente. Constantin *et al.* (2010) también vieron relaciones positivas entre las entradas de C y N a través de la biomasa procedente de los restos de cultivos después de 13 a 17 años de rotación en tres suelos distintos. En otro ensayo de más de 10 años de fertilización, los bajos niveles de N agregado como fertilizante en una rotación de maíz y maíz-soja generó menos biomasa vegetal y entradas más pequeñas de C y N a través de los residuos de cosecha (Omay *et al.*, 1997). Tiessen y Stewart (1983) también informaron pérdidas de 34% de C y 29% de N_{total} por efectos de cultivo continuo sin fertilizar después de más de 60 años. Lo cual fue explicado por la mayor labilidad de la fracción orgánica de suelos de textura gruesa al estar menos protegida, haciéndolo susceptible a la degradación a lo largo de los años de agricultura (Burke *et al.* 1989). Los factores que afectan al C_{total} afectarían también al N_{total} en los suelos.

Las concentraciones de N_{total} disminuyeron con la profundidad, estas concentraciones en cada estrato del suelo varió con los sitios (interacción sitio x profundidad significativa) (**Tabla 2.7, Figura A8**). El N_{total} en sistemas bajo SD tiende a disminuir con la profundidad (e.g. 0-30 cm) (Du *et al.*, 2010), lo cual es atribuible a la presencia de rastrojos en superficie, menor disturbio del suelo, mayor humedad, menor temperatura y mayor actividad biológica en superficie con los sistemas en SD (Blevins y Frye, 1993). La SD produce estratificación de CO en el perfil debido a la supresión de la mezcla del suelo con el laboreo y presencia de residuos en superficie (Dolan *et al.*, 2006). Qin *et al.* (2006) vieron mayor densidad de longitud de raíces del cultivo de maíz en la capa 0-5 cm, pero menos densidad de raíces a profundidades inferiores a 10 cm en sistemas bajo SD. Si bien, la contribución de raíces es baja para el almacenamiento del COS en comparación con la de los residuos del cultivo (Du *et al.*, 2010) ambos aportes suman y determinan la distribución del COS en el perfil del suelo. Por otro lado, en el estrato de 0-20 cm de profundidad, los valores de N_{total} en Lambaré (sitio más rico en N_{total}) variaron entre 1,4 y 1,7 g kg⁻¹, el promedio fue de 1,5 g kg⁻¹. Sin embargo, en Balducchi (pobre en N_{total}) fueron menores las variaciones de N_{total} (entre 0,8 y 1,4 g kg⁻¹), el promedio fue de 1,1 g N_{total} kg⁻¹.

La falta de reposición con N, P y S durante 14 años no cambió el contenido de N potencialmente mineralizable (Nan) en ninguno de los tres estratos de profundidad (**Tabla 2.8**). Los resultados obtenidos concuerdan con varios trabajos de literatura en los cuales el Nan aparece como un indicador sensible a los sistemas de labranza pero no de los tratamientos de fertilización (Genovese *et al.*, 2009; Fabrizzi *et al.*, 2003; Diovisalvi *et al.*, 2008; Omay *et al.*, 1997; Tang *et al.*, 2006). Por lo cual, algunos investigadores han sugerido que se debe incrementar la MO si se desea aumentar la disponibilidad de N (Manna *et al.*, 2007). En nuestro estudio, el tipo de labranza homogénea (SD) en todos los sitios, y la ausencia de aplicación de N al cultivo de soja sumado a la mayor frecuencia de

este cultivo en las rotaciones pudo haber causado que las diferencias en los aportes de C al suelo entre los tratamientos no hayan sido lo suficientemente grandes como para provocar una diferencia en contenidos de Nan.

La concentración de Nan fue distinta en los sitios experimentales ($p < 0,01$, **Tabla 2.8**, **Figura A10**). Se vio una tendencia de disminución del Nan con la profundidad. Los contenidos de Nan en los estratos variaron con los sitios (interacción sitio x profundidad significativa $p < 0,01$). Lambaré fue el más rico en Nan, mientras que Balducchi el más pobre en los tres estratos analizados (0-5, 5-10 y 10-20 cm). La misma tendencia se vio en los contenidos de N_{total} y C_{total} . Lo que sugiere que las diferencias en Nan entre los sitios son atribuibles a las diferencias en N_{total} y C_{total} . Carter (2002) y Fabrizzi *et al.* (2003) han señalado al Nan como indicador más temprano de los efectos de manejo sobre las propiedades del suelo. Por el contrario, en nuestro estudio, otras variables del suelo fueron afectadas por los tratamientos (C_{total} , C_{MOP}), y el Nan no lo fue. Los resultados más bajos en Balducchi (promedio $33,9 \text{ mg kg}^{-1}$) y los más altos en Lambaré (promedio $65,1 \text{ mg kg}^{-1}$) son atribuibles a la distribución del N_{total} y C_{total} en estos sitios que siguen la misma tendencia. Lo cual sugiere que el Nan está relacionado con la MOS, ya que proviene de mineralización del N orgánico. Los contenidos de MO sumado a las condiciones ambientales apropiados para la actividad microbiana favorecen a la mineralización y la consiguiente disponibilidad de N (Manna *et al.*, 2007).

La secuencia de cultivos de ambas rotaciones tampoco afectó a las concentraciones de Nan (**Figura A10**), coincidiendo con los reportes de Gregorutti *et al.* (2014) y Omay *et al.* (1997) en varias rotaciones que incluyeron a los cultivos de soja, maíz y trigo. La **Tabla 2.8** incluye valores de Nan en el estrato de 0-20 cm entre $20,3$ y $68,6 \text{ mg kg}^{-1}$, el 50% de los datos estuvieron entre $36,2$ y $45,7 \text{ mg kg}^{-1}$. Estos valores se encuentran dentro del rango reportado por Reussi Calvo *et al.* (2014) quienes mostraron valores de Nan entre 12 y 260 mg kg^{-1} siendo mayores en el este que en el oeste de la provincia de Buenos Aires. Benitende *et al.* (2007) también informaron valores de Nan promedio de 183 mg kg^{-1} y 104 mg kg^{-1} para suelos Argiudoles ácuicos y vérticos de Entre Ríos. Fabrizzi *et al.* (2003) informaron concentraciones de Nan bajo el sistema SD en promedio de $61,5 \text{ mg kg}^{-1}$ y bajo labranza convencional (LC) de $24,2 \text{ mg kg}^{-1}$, lo cual indica que tanto el C_{total} como el Nan son afectados por el manejo del suelo. Sharifi y Zebarth (2008) obtuvieron valores de Nan entre 129 y 225 kg ha^{-1} en 4 experimentos de largo plazo de EE.UU, ellos también informaron que este pool de N era principalmente afectado por las prácticas de labranza. Por el contrario, Diovisalvi *et al.* (2008) evaluaron ensayos con una secuencia de rotación de maíz-girasol-trigo, bajo SD y LC y tratamientos de fertilización con y sin N por 10 años consecutivos, ellos informaron que el Nan no difería con los sistemas de labranza, tampoco vieron efectos del agregado de N. Sin embargo, algunos investigadores como Eiza *et al.* (2005) afirman que las diferencias de contenido de MOS por los distintos manejos son detectables en el largo plazo.

La estratificación del Nan fue mayor que el de N_{total} en el estrato de 0-20 cm (**Figura 2.5**). Si bien, ambas variables disminuyeron con la profundidad, la reducción del Nan entre los estratos 0-5 y 5-10 cm fue un 38% más que el N_{total} y, un 37% más entre los estratos de 5-10 y 10-20 cm de profundidad (**Figura 2.5**). Esta mayor estratificación del Nan se puede atribuir a una mayor actividad microbiana en superficie que condujo a una mayor mineralización del N, sumado a una mayor entrada de residuos en superficie.

La fertilización con N, P y S afectó a la relación N_{an}/N_{total} en la capa de 0 – 20 cm, el tratamiento Testigo presentó la proporción ligeramente más alta que los demás tratamientos (**Tabla 2.9**). Lo cual puede deberse a la menor calidad y cantidad de las fracciones orgánicas lábiles cuando no se fertilizó, que conllevan a la mayor disminución del N_{total} de los suelos. Vale aclarar que la mineralización den N_{total} de los suelos varía con las fracciones orgánicas lábiles y dependen de la cantidad y calidad de la MOS, además de las condiciones de humedad y temperatura para su transformación. En este estudio, el cultivo previo en todos los casos fue soja de primera y de segunda, porque se muestrearon posterior a la cosecha de la campaña 2013/2014.

c. Fósforo total y en la fracción lábil

La concentración de P_{total} en el suelo disminuyó por no reponer este nutriente como fertilizante y, fue variable con los tratamientos, estratos de profundidad y sitios experimentales (interacción sitio x tratamiento x profundidad significativa, $p < 0,01$) (**Tabla 2.10**). Las mayores concentraciones se vieron en superficie y disminuyeron con la profundidad en todos los sitios. Estos resultados podrían ser explicados porque la fertilización es aplicada en los primeros 3 a 5 cm de profundidad en el suelo y por la baja movilidad del P en el suelo (Damon *et al.*, 2014), sumado al mayor aporte de la fracción orgánica en superficie. Por otro lado, hubo diferencias significativas entre los tratamientos con y sin P sobre la concentración de P_{total} en la capa de 0-20 cm del suelo. Las mayores diferencias entre los tratamientos NPS y NS se vieron en Balducchi (21%) mientras que en la Hansa hubo menos diferencia (11%) y, en los otros 3 sitios variaron entre 16 y 18% (**Figura A12, Tabla 2.10**). Estas variaciones en magnitud de P_{total} pueden ser debidas a los menores contenidos de P inicial y actual en Balducchi respecto al resto de los sitios. Rubio *et al.* (2015) reportaron que no existe relación entre la textura del suelo y el nivel de P_{total} en lotes agrícolas de la región pampeana. Ellos mostraron valores de P_{total} muy altos o muy bajos en suelos pampeanos y regiones vecinas de texturas diversas (entre ~ 100 y ~ 800 mg kg^{-1} en estratos de 0-10 y 0-20 cm respectivamente de suelos pampeanos y regiones vecinas). Los valores de P_{total} en el estrato de 0-20 cm medidos en estos ensayos también variaron entre 326 y 618 mg P kg^{-1} .

Los niveles de P disponible ($P_{Bray 1}$) disminuyeron cuando no se agregó P como fertilizante en los tres estratos de profundidad (0-5 cm, 5-10 cm, 10-20 cm) (**Figura A14, Tabla 2.11**). La forma de aplicación del fertilizante fosforado podría explicar el mayor aumento de su agregado como fertilizante en el estrato de 0-5 cm, ya que se incorporaron a profundidades de 3 a 5 cm aproximadamente. El mayor contenido de la fracción orgánica en superficie, también pudo haber aportado a aumentar los niveles de $P_{Bray 1}$ en superficie. Dick *et al.* (1991) reportaron que el sistema de SD permite que los nutrientes como el P se concentren en las capas superficiales, sin observarse efectos negativos de este fenómeno sobre la productividad de los cultivos.

En la capa de 0-20 cm, los tratamientos sin P (Testigo y NS) presentaron valores promedios de $P_{Bray 1}$ de 11 mg P kg^{-1} (**Tabla 2.11**) y los tratamientos con P agregado (PS, NP, NPS, Completo) estuvieron entre 45 y 48 mg P kg^{-1} . Los valores de los tratamientos sin P están por debajo a los umbrales críticos de P disponible para los rendimientos del cultivo de soja en la región pampeana que son de 9-16 mg P kg^{-1} (Ferraris *et al.*, 2002, Gutierrez Boem *et al.*, 2010). Estos resultados sugieren que la agricultura continua sin fertilizar con P provoca

disminuciones importantes que limitan seriamente la nutrición fosforada de las plantas. La fertilización es la única alternativa si se quiere mantener los niveles de $P_{\text{Bray 1}}$ por encima de los umbrales críticos.

La magnitud de los efectos de la fertilización fosforada varió entre los sitios experimentales (interacción sitio x tratamiento significativa, **Tabla 2.11**). Estas diferentes respuestas al agregado de P entre sitios podrían obedecer a las diferentes en pH, contenidos iniciales de P en el suelo y texturas de los suelos. Si bien, los máximos valores de $P_{\text{Bray 1}}$ se registraron en Lambaré y los menores en Balducchi, San Alfredo y La Blanca (sitios con mayores pH, **Tabla 2.2**), las mayores disminuciones de $P_{\text{Bray 1}}$ por no fertilizar con P se vieron en Balducchi (87%). En Lambaré estas disminuciones fueron menores (61%) (Comparación entre el NS y NPS) (**Figura A16**). Rubio *et al.* (2008) vieron que suelos con pH más altos presataban valores menores del coeficiente b (capacidad de retención de P), lo que podría explicar los valores más bajos de $P_{\text{Bray 1}}$ vistos en Balducchi, San Alfredo y La Blanca (**Tabla 2.11**). Además existen evidencias de que la ausencia de fertilización produce mayores disminuciones de nutrientes en suelos arenosos que en suelos con texturas finas (Buschiazzo *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 1988). Balducchi es el sitio con mayor historia agrícola, el más arenoso y con el más bajo contenido inicial de $P_{\text{Bray 1}}$ (10,8 mg P kg⁻¹). En contraposición, Lambaré tiene corta historia agrícola, sólo tiene un 3% de arena y algo superior a 20% de arcilla y los contenidos iniciales de $P_{\text{Bray 1}}$ fueron de 67 mg kg en promedio en el momento de la implantación de los ensayos en el año 2000 (**Tablas 2.1 y 2.2**). La retención de P en los suelos es una secuencia continua de precipitación y adsorción en superficies reactivas como las arcillas y complejos orgánicos. El uso agrícola acelera esta secuencia de reacciones de adsorción, desorción, precipitación y solubilización (Deubel *et al.*, 2005; Zamuner y Culot, 1999). Por lo cual, los poros finos de los suelos más arcillosos juegan el papel de amortiguar esas reacciones así como proteger a las fracciones orgánicas de P de la acción microbiana (Van Veen y Kuikman, 1990; Hassink *et al.*, 1993a). Según nuestros resultados, las disminuciones más importantes del P en la región pampeana serían consecuencias de la agricultura continua y más pronunciada en suelos arenosos con pH altos. Havlin *et al.* (1999) también informaron que el suelo arenoso tiene menos capacidad reguladora de P (libera más P) y se reduce marcadamente este nutriente por la acción del cultivo, mientras que un suelo arcilloso tiene mayor capacidad de regular y liberar P. Existen evidencias que agregados continuos de P durante 8 años producen aumentos de P en el pool total (Zheng *et al.*, 2002), y 6 años continuos de aplicar P incrementa el P lábil en el estrato de 0 a 20 cm (Ciampitti *et al.*, 2011c). Por lo tanto, es razonable que 14 años de fertilización continua con P haya modificado las composiciones iniciales de P disponible en estos sitios.

Concentraciones de $P_{\text{Bray 1}}$ de los tratamientos fueron variables con la profundidad (**Tabla 2.9**). Los tratamientos que fueron fertilizados con P (PS, NP, NPS, Completo) presentaron mayor estratificación de $P_{\text{Bray 1}}$ en el estrato de 0-20 cm y, disminuyeron abruptamente con la profundidad. Los tratamientos sin P (Testigo y NS) presentaron caídas de $P_{\text{Bray 1}}$ menos pronunciadas con la profundidad (**Figura A14**). Este fenómeno podría ser explicado por el sistema de siembra SD en todos los sitios y por el mayor efecto localizado de los fertilizantes, sumado a los mayores aportes de las fracciones orgánicas lábiles en superficie. Dick *et al.* (1991) reportaron que el sistema de SD da lugar a una mayor estratificación de los nutrientes en el perfil, hallándose mayores contenidos en superficie cerca de los sitios donde se aplicaron los fertilizantes.

La relación $P_{\text{Bray 1}}/P_{\text{total}}$ fue afectada por el agregado de P como fertilizante, los tratamientos Tstigo y NS (sin P) presentaron las más bajas relaciones (**Tabla 2.12**). La proporción $P_{\text{Bray 1}}/P_{\text{total}}$ también varió con los sitios, siendo Lambaré donde hubo mayor proporción (9,6%) (**Tabla 2.12**). Éstos resultados son atribuibles al efecto residual del agregado de P como nutriente en el largo plazo, es razonable que en situaciones más ricas de P_{total} haya mayor liberación del P a la solución del suelo.

d. Azufre total y en la fracción orgánica particulada y resistente

El tratamiento testigo fue inferior al Completo en el estrato de 0-20 cm y, en el de 0-5 cm fue mayor esa diferencia (**Tabla 2.13**). Salomon *et al.* (2003) vieron variaciones en cantidad y calidad del S orgánico por efectos de la agricultura especialmente en capas cercanas a la superficie. Se sabe que el S_{total} está compuesto de S orgánico, S soluble y S en la fracción intercambiable (Freney y Williams, 1983). Alrededor del 98% del S_{total} del suelo es S orgánico (Bloem, 1998). En la región pampeana también observaron que el 97% y 98% del S_{total} es el S orgánico (Mizuno *et al.*, 1990; Mizuno, 1986). Esta fracción orgánica proviene de los residuos de plantas, animales y microorganismos del suelo (Freney, 1986). En este estudio, la fertilización con N, P y S a los cultivos de trigo, maíz y soja en las rotaciones durante 14 años consecutivos habría aumentado las entradas de residuos de cosechas y en consecuencia un mayor contenido de S orgánico, con lo cual hubo aumento del S_{total} producto de la fertilización. Scherer (2009) mostró una correlación entre S_{total} del suelo con el COS y N_{total} , ya que el S así como el N proviene de la MOS. Larson *et al.* (1972) vieron que el aumento de concentración del S orgánico del suelo es proporcional con la cantidad de residuos orgánicos incorporados por 11 años consecutivos. Wang *et al.* (2006) también observaron correlación entre las concentraciones de S orgánico en el suelo con el C_{total} y, las variaciones de S_{total} la atribuyen a las variaciones de MOS resultantes de los tipos de vegetación, clima y suelo. En este estudio, las variaciones de S_{total} en los sitios experimentales se podrían atribuir a las cantidades diferenciales de las entradas de residuos vegetales al sistema suelo con los distintos cultivos de las rotaciones.

En todos los sitios las mayores concentraciones de S_{total} se vieron en el estrato de 0-5 cm y disminuyó con la profundidad con un patrón muy parecido al del C_{total} (**Figura A17**). Esto podría ser debido a la incorporación de residuos de cosecha en superficie ya que el sistema de labranza en estos ensayos es SD. Freney y Williams (1983) también vieron mayores concentraciones de S orgánico en los estratos superficiales de suelos agrícolas y en las capas subyacentes predominaba en S inorgánico. Williams *et al.* (190) también informaron que la mineralización de la MOS es la principal fuente de S que requieren las plantas. En nuestro estudio, el S_{total} siguió el mismo patrón que el C_{total} en el estrato de 0-20 cm. San Alfredo y Lambaré (sitios más ricos en C_{total}) fueron los más ricos en S_{total} y Balducchi el más pobre (**Figura A18**). Lo cual sugiere que el S_{total} está relacionado con el C_{total} concordante con los resultados obtenidos por Scherer (2009) y Larson *et al.* (1972). Mizuno *et al.* (1990) también mostraron correlación entre el S_{total} y CO con un $R^2=0,95$. Wang *et al.* (2006) informaron que las variaciones de S orgánico en un amplio rango de suelos por las diferencias en vegetación, clima y tipos de suelo e indicaron que los residuos devueltos al suelo son fuente importante de S orgánico. Otra fuente de variación de la concentración de S_{total} en suelos pueden ser los distintos niveles de producción obtenidos durante los últimos 14 años de rotación, los que habrían aportado distintas cantidades de residuos dependiendo

de la fertilidad en cada sitio. Es decir, en situaciones de mayor rendimiento habría mayores aportes con C al suelo. En este estudio, los niveles actuales de S_{total} en los distintos sitios obedecen a la agricultura continua y los niveles de MOS.

El rango de valores de S_{total} en los cinco sitios experimentales y estratos de profundidad de 0-5, 5-10 y 10-20 cm fue entre 211 y 491 mg S_{total} kg⁻¹. Los mayores valores correspondieron al estrato de 0-5 cm, donde el promedio fue de 389 mg S_{total} kg⁻¹. Estos valores son muy similares a los que informaron Mizuno *et al.* (1990), quienes señalaron rangos entre 205 y 363 mg S_{total} kg⁻¹ en los horizontes superficiales y sub superficiales de Molisoles de la provincia de Buenos Aires. Ortiz (1980) también informaron valores entre 205 y 363 mg S_{total} kg⁻¹ en suelos de la provincia de Buenos Aires. Estos trabajos y nuestros resultados sugieren que el mantenimiento y recuperación del S_{total} en los suelos se pueden lograr con una adecuada fertilización y mantenimiento de la MOS, del cual también depende la fertilidad azufrada.

La concentración de S_{MOP} es la fracción más lábil de S en el suelo, del cual se renueva el SO_4^{2-} en la solución por mineralización. La fracción particulada ha sido señalada como la más sensible a los distintos manejos, lo cual podría incluir a la fertilización. Esta fracción está compuesta de residuos de cultivos y productos intermedios de la humificación (Cambardella y Elliott, 1992). En este estudio, tras fertilizar con N, P y S por 14 años consecutivos se vieron aumentos del S_{MOP} en el estrato de 0-20 cm (**Tabla 2.14**). Como era de esperarse, la fracción particulada fue más sensible que el S_{total} a los cambios producidos por el agregado de fertilizantes (**Tabla 2.14**). La disminución de S_{MOP} por no fertilizar en el estrato de 0-5 cm fue de 28%, mientras que en el estrato de 0-20 cm esta disminución fue del 11% (**Tabla 2.14**). La cual puede ser explicado por la mayor actividad microbiana en superficie, así como por un mayor aporte de residuos en superficie con el sistema de cultivo SD concordando con los resultados obtenidos por Eiza (2005). La tendencia general del S_{MOP} en todos los sitios, fue de disminución a medida que avanza en profundidad en los suelos (**Tabla 2.14**). En la provincia de Buenos Aires, Mizuno *et al.* (1990) informaron que las diferentes fracciones de S (S ligado al C y ésteres de S) disminuyen con la profundidad. La concentración de nutrientes en la fracción particulada es usado en algunos casos como indicador temprano de los efectos que se producirían en el largo plazo (Fabrizzi *et al.*, 2003). El conocimiento de la dinámica de la fracción más lábil del suelo pueden contribuir a los diagnósticos de fertilización azufrada y a la toma de decisiones respecto a qué prácticas implementar para obtener rendimientos satisfactorios. La mayor sensibilidad del contenido de S en la fracción particulada del suelo por efectos de la fertilización es coincidente con los reportes de C_{MOP} informados por Janzen *et al.* (1998) y Fabrizzi *et al.* (2003) quienes mostraron que la fracción liviana representa mejor las diferencias en la MO producida por las diferentes prácticas de manejo. Según Janzen *et al.* (1998) la acumulación de C y nutrientes en la fracción lábil en respuesta a los manejos pueden ser atribuidos principalmente a las diferencias en la acumulación de materiales orgánicos lábiles parcialmente descompuestos. Eiza *et al.* (2005) vieron que las diferencias entre el C_{MOP} y C_{total} fueron poco definidas en el estrato de 5-20 cm. Nuestros resultados también indican que la sensibilidad del S_{MOP} a la fertilización con N, P y S disminuye con la profundidad siguiendo el mismo patrón que el C_{MOP} .

El sitio más rico en S_{MOP} fue La Blanca y los más pobres fueron Lambaré y La Hansa (**Tabla 2.14**). Por el contrario el contenido de S_{total} fue mayor en San Alfredo y Lambaré y,

menor en Balducchi (**Tabla 2.13**). Estos resultados sugieren que los contenidos de S_{total} no son indicadores de la capacidad de proveer S disponible para las plantas. Ghani *et al.* (1991) reportaron que la mineralización del S tiene menos relación con las propiedades del suelo y con los contenidos de C_{total} en relación a otros nutrientes como el N. Lo cual indica que no se puede usar el S_{total} para predecir la disponibilidad de SO_4^{-2} en solución.

Los valores de S_{MOP} de un mismo estrato fue variable con los tratamientos de fertilización (interacción tratamiento x profundidad significativa, $p=0,02$, **Tabla 2.14**). Lo cual es razonable, porque los distintos regímenes de fertilización habrían provocado diferencias en S_{total} y actividad microbiana en los suelos, esto sumado a las diferencias en contenido de MOS entre los sitios, así como las características texturales de los suelos habrían provocado diferencias en S_{MOP} en los estratos del suelo.

La falta de reposición de nutrientes no afectó a la concentración de S en la materia orgánica resistente (S_{MOR}), pero fue distinto entre los sitios y estratos de profundidad (**Tabla 2.15**).

En Lambaré se vieron los mayores contenidos de S_{MOR} y los más bajos en Balducchi.

Por otro lado, la proporción de S_{MOP} del S_{total} en el estrato de 0-5 cm fue de 32%, y en los estratos de 5-10 y 10-20 cm fueron de 29% y 27% respectivamente, que se podría atribuir a dinámica de la descomposición mayor en superficie. Cuando se comparó la estratificación de las 3 formas de S en el suelo (i. e. S_{total} , S_{MOP} y S_{MOR}) se vio que el S_{MOP} estuvo más estratificado que el S_{total} y S_{MOR} en el estrato de 0-20 cm (**Figura 2.6 y 2.7**). La estratificación de S total y fracciones en la profundidad siguió el mismo patrón que las del C. Aunque el S_{MOP} presentó mayor estratificación, no fueron grandes las diferencias en concentración cuando se comparó con el S_{total} . El S en la fracción orgánica resistente fue la menos estratificada (**Figura 2.6 y 2.7**). Esta fracción de S es la que se encuentra en la fracción más fina del suelo (arcilla+ limo y restos orgánicos finos), en donde no se vieron grandes reducciones de S cuando se pasó de una capa a otra en el suelo. Lo cual sugiere que la capacidad de retención y secuestro de S en el suelo no es muy variable en el estrato de 0-20 cm. La relación S_{MOP}/S_{total} se mantuvo constante con la fertilización, sólo se vieron variaciones entre sitios (**Tabla 2.16**). En Balducchi el 37% del S_{total} fue S_{MOP} , mientras que el valor más bajo fue en Lambaré (23%) (**Tabla 2.16**). Éstos resultados siguieron la misma tendencia de la relación C_{MOP}/C_{total} (**Tabla 2.6**), lo cual es razonable, ya que la dinámica de ambos nutrientes están muy relacionados.

Efecto de fertilización de largo plazo sobre las relaciones estequiométricas entre C:N:P:S total y en las fracciones del suelo

1. Relación C:N:P:S total

Relación C:N

La relación $C_{total}:N_{total}$ fue constante a lo largo de los estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm), tratamientos y sitios ($R^2=0,84$) (**Figuras 2.8, A21 y A22**). La MOS contiene alrededor del 98% de N del suelo por lo cual es razonable que el C y N guarden relación entre sí (Álvarez *et al.*, 2015). Está documentado en la literatura internacional y local respecto a la estabilidad de la relación C:N en los estratos superficiales (e. g. 0-7.5 cm, 7.5 – 15 cm y 0-20 cm) en distintas situaciones de fertilización continua (Li *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015; Fabrizzi *et al.*, 2003). La interacción del N con el C influye fuertemente en el ciclo del C en el suelo (Janssens *et al.*, 2010). El C es la principal fuente de N y reserva

para la actividad microbiana de los suelos (Manlay *et al.*, 2007). Por lo cual, determinar la relación $C_{total}:N_{total}$ podría proveer información sobre la capacidad de retener C y mineralización de la MOS. Factores que afectan a la MOS también podrían afectar la actividad microbiana (O'Halloran *et al.*, 1987) que generar cambios en la relación $C_{total}:N_{total}$. Wan *et al.* (2014) utilizaron la relación C:N en suelos para conocer la estructura de la comunidad microbiana del cual dependen los procesos de mineralización y disponibilidad de nutrientes. Williams *et al.* (1960) utilizaron la relación $C_{total}:N_{total}$ en 10 suelos con lo cual lograron diferenciar 5 grupos de materiales parentales de suelos. Según estos investigadores, la diferencia de la relación $C_{total}:N_{total}$ entre suelos de distintos sitios podría ser indicador de la diferente composición de la materia orgánica de los suelos. Otros autores destacaron que los sistemas de siembra directa y en plazos más largos tienden podrían cambiar los valores de esta relación C:N a valores más altos debido a la acumulación y retención del C más que de N (Paustian *et al.*, 1997; Robinson *et al.* 1996). Sin embargo, en otro ensayo tras 23 años de cultivo sin fertilizar vieron que la relación C:N se redujo de 12,7 a 11,9 (Li *et al.*, 2013). Lo cual sugiere la importancia de la fertilización para mantener los niveles de C y la mineralización del N en los suelos.

La relación C:N en contenido total se mantuvo estable en los distintos sitios pese a las diferencias texturales e historias agrícolas (**Figura A22**). Contrariamente a nuestros resultados, algunos autores han señalado que esta relación C:N tiende a disminuir con la disminución del tamaño de las partículas (Buschiazzo *et al.*, 2001; Álvarez *et al.*, 2015; Tiessen y Stewart, 1983). En suelos con texturas gruesas y largas historias agrícolas la relación C:N podrían ser más altas debido a la fácil descomposición de la materia orgánica de los suelos y a la mayor disponibilidad de N (Buschiazzo *et al.*, 2001; Tiessen y Stewart, 1983). Nuestros resultados indicaron que los años de agricultura ni la textura afectaron a dicha relación (C:N), sugiriendo similar composición de la MOS en los sitios experimentales es parecida.

Los valores de la relación entre el C:N en contenido total variaron entre 8,4 y 14,5, el 50% de los datos estuvieron en el rango de 10,3 y 12,2 en todos los sitios y estratos de profundidad (**Figuras A21 y A22**). Los reportes de dicha relación (C:N) en la mayoría de suelos de la región pampeana mostraron valores entre 10 y 12 (Álvarez *et al.*, 2015; Domínguez *et al.*, 2009 y Fabrizzi *et al.*, 2003). En sitios con mayor MOS como en la pampa arenosa y ondulada, la relación C:N tiende a subir y, en la región semiárida pampeana a disminuir a 9,5 (Álvarez *et al.* 2015). Domínguez *et al.* (2009) informaron valores de C:N asociado a la fracción orgánica de 12,2 a 12,4 y, en la fracción particulada relaciones C:N entre 13,6 a 15,4. Reportes internacionales también mostraron valores de la relación C:N en contenido total entre 9 y 14 (Kowalenko y Lowe, 1975; Yang *et al.*, 2015; Tabatabai y Bremner, 1972). Estos reportes y nuestros resultados indican que los suelos tienen la capacidad de retener $C_{total} \sim 10$ veces más que el N_{total} .

Relación C:S

En la **Figura 2.9** se puede ver que el S_{total} y C_{total} del suelo están relacionados. El R^2 de esta relación fue mucho menor que el observado para la relación C:N, siendo de 0,25 en el estrato superficial (0-5 cm) y de 0,39 en los otros estratos (5-10 y 10-20 cm). Sin embargo, en el ajuste entre en C_{total} y N_{total} se observó un R^2 de 0,84 (**Figura 2.8**). Este cambio en la relación C:S con la profundidad podría ser debido a que el C y el S no están relacionados de

manera fija, el cambio relativo de estos nutrientes es diferente en relación al C:N. Por lo cual, algunos investigadores han señalado que el N y S no necesariamente están asociados a los mismos componentes orgánicos del suelo, porque ambos nutrientes tienen distinta dinámica en el suelo (Maynard *et al.*, 1983). Hace más de 20 años atrás, Mizuno *et al.* (1990) vieron alta correlación del S_{total} con el C orgánico en los suelos de la provincia de Buenos Aires ($R^2=0,95$). Whintehed (1964) y Freney y Stevenson (1966) afirmaron que las relaciones medias de C:N:S para suelos de diferentes partes del mundo son notablemente similares. Nuestros resultados muestran que es más fuerte la relación entre el C y el N que con S en contenido total.

Los valores de la relación $C_{total}:S_{total}$ fueron más altos en el estrato de 0-5 cm y disminuyó en 22% con respecto a la capa de 5-20 cm (bajó de 54,65 a 42,68) (**Figura A23**). Estos resultados son concordantes con los informados por Mizuno *et al.* (1990) y Ortiz (1980) que midieron una disminución de esta relación ($C_{total}:S_{total}$) con la profundidad. Esto es razonable porque los contenidos de S están relacionados con la MOS, por lo que sus valores disminuyen conforme lo hace el C_{total} . El sistema de cultivo sin labranzas provocó una mayor estratificación del C_{total} en la profundidad del suelo y con ello el S_{total} . Álvarez *et al.* (2015) señalaron que la mayor parte de S están en la MO (90-98%) y ésta (MOS) contiene aproximadamente un 0,5% de S, es decir una relación C:S alrededor de 100. Por su lado Mizuno *et al.* (1990) informaron valores de esta relación (C:S) menores a 100 en suelos de la región pampeana. Los resultados obtenidos en esta investigación se ubicaron dentro del rango de valores reportados para la región pampeana (i. e. $C_{total}:S_{total}$ entre 27 y 61).

Si bien, se vieron efectos de fertilización sobre las concentraciones de C_{total} y S_{total} (**Tabla 2.3 y 2.13**), estos tratamientos no afectaron a la relación $C_{total}:S_{total}$ en el suelo (**Figura 2.9**), lo cual sugiere la estabilización de esta relación con la fertilización. La **Figura A24** muestra que la relación $C_{total}:S_{total}$ se mantuvo sin diferencia en los sitios experimentales. Esta similitud de la relación $C_{total}:S_{total}$ sugiere que la MOS en todos los sitios tienen similares composiciones en S_{total} concordante con lo reportado por Williams *et al.* (1960). Otros autores sugirieron que suelos con diferencia en la relación C:S podrían obedecer a las diferencias en material parental y factores de formación del suelo como clima, vegetación, intensidad de lixiviación, drenaje y temperatura, diferencias en cultivos y prácticas de labranza (Walker y Adams, 1958; Walker y Adams, 1959; Williams *et al.*, 1960). Sin embargo, los resultados de este estudio sugieren que los años de agricultura, textura de suelos, tipos de rotación M-S-T/S y M-T/S, los regímenes de fertilización con N, P y S por 14 años consecutivos no son factores que podrían afectar a las relaciones $C_{total}:S_{total}$ en los suelos.

Relación N: S

La fertilización con N, P y S por 14 años consecutivos tampoco afectó a la relación N:S en contenido total y no varió con los sitios experimentales (**Figuras 2.10 y A26**). Es razonable que haya relación entre el N y S en contenido total del suelo ya que ambos incluyen también la fracción orgánica de los nutrientes. La literatura internacional también documentó que el N y el S en contenido total están muy relacionados con el C (Harper, 1959; Tabatabai y Bremner, 1972). En la capa superficial (0-5 cm) se vio un $R^2=0,26$ mientras que en el estrato de 5-20 cm fue de 0,46 (**Figura A25**). Esto podría ser atribuible a la mayor presencia de residuos sin descomposición en superficie, mientras que en los

estratos subyacentes habría menos residuos. Algunos autores han afirmado que en suelos con texturas finas las concentraciones de N y S en contenido total tienden a ser mayores y, podría aumentar la relación N:S debido a la mayor actividad microbiana que mineraliza la MOS (Galantini *et al.*, 2004). En este estudio no se vio efecto de la textura sobre dicha relación, sugiriendo similar composición de la MOS en los sitios experimentales. Sin embargo, se podría ver el efecto de la textura en un mayor plazo de cultivo, así como la capacidad de proveer nutrientes (i. e. N y S) podrían ser alteradas dependiendo del manejo y prácticas de fertilización.

Los valores de la relación N:S total fueron mayores en superficie (0-5 cm), los cuales disminuyeron en 21% al pasar a la capa de 5-20 cm (bajó de 4,9 a 3,8) (**Figura A25**). La misma tendencia de disminución con la profundidad se vio también para el C_{total} . Por lo cual, es razonable que la relación $N_{total}:S_{total}$ haya seguido el mismo patrón ya que ambos nutrientes provienen de la mineralización de la MOS. Kowalenko y Lows (1975) sugirieron que las altas relaciones N:S en superficie podrían reflejar la rápida lixiviación del S y un movimiento más lento del N o la inmovilización del S por los microorganismos en el estrato superficial. No existen estudios más precisos de las causas que dieron lugar a estas variaciones de $N_{total}:S_{total}$ en la profundidad del suelo.

Cuando comparamos los valores de las relaciones $N_{total}:S_{total}$ con los valores de $C_{total}:S_{total}$ ó $C_{total}:N_{total}$, vemos que las relaciones $N_{total}:S_{total}$ son mucho más bajas (**Figuras 2.8, 2.9 y 2.10**). Así también, los valores de concentración de N_{total} y S_{total} en el suelo son más bajos que el C_{total} , lo cual provocó el incremento de las relaciones $C_{total}:S_{total}$ y $C_{total}:N_{total}$ (**Figuras 2.8, 2.9 y 2.10**). En la región pampeana los valores de la relación N:S en la materia orgánica varían entre 5,3 y 19 (Álvarez *et al.*, 2015). Nuestros resultados son muy inferiores a este rango de valores porque se relacionó al N y S en contenido total del suelo que incluyó las fracciones orgánica e inorgánica, mientras que Álvarez *et al.* (2015) vieron la relación entre el N y S sólo en la materia orgánica. Por otro lado, desde hace más de 30 años hubo intentos de diagnosticar el estado del S en el suelo utilizando la relación N:S en suelos. Bailey (1985) informó que el S_{total} y N_{total} del suelo disminuyó con la profundidad en 17 suelos de Canadá. Ellos usaron la relación N:S para describir el estado del S en los suelos con lo cual determinaron valores críticos de dicha relación. Según sus resultados, suelos con valores de N:S inferiores a 6 tendrían alto potencial de suministro de S, los que tenían alrededor de 8,7 serían de baja fertilidad y con posibles deficiencias de S y, los que tenían valores superiores a 12 tendrían deficiencias de S. En otros suelos del mundo también reportaron valores de la relación N:S en la materia orgánica de 7,6 en Oklahoma (Harper, 1959), de 8 en Australia (Williams y Steinberg, 1958), de 7,5 en Nueva Zelanda (Walker y Adams, 1958), de 6,5 en Iowa (Tabatabai y Bremner, 1972).

Relación C:P

El C y P estuvieron más relacionados en superficie, así también los valores más altos de esta relación (C:P) se vieron en este estrato (0-5 cm) que en el estrato más profundo (5-20 cm) (**Figura 2.11**). El patrón de disminución con la profundidad es similar al del C_{total} (**Tabla 2.3**) concordando con los reportes de otros investigadores (García *et al.*, 2004; Eiza, 2005; Dick *et al.*, 1991). Boschetti *et al.* (2003) afirmaron que dependiendo de la génesis y del estado de evolución del suelo, la disponibilidad del P está regulada por las fracciones orgánicas de fósforo lábil y moderadamente lábil así como por las inorgánicas. Por lo cual

es razonable que el C y el P se relacionen en contenido total del suelo porque ésta incluye las formas orgánicas e inorgánicas. Reportes de la relación C:P en la materia orgánica en la región pampeana indicaron un promedio de 160 (Rubio *et al.*, 2015). En este estudio se obtuvieron valores de la relación C:P más bajos porque se analizó esta relación en el contenido total (i. e. orgánica más inorgánica) sugiriendo la predominancia de la fracción inorgánica del P en estos suelos. Bui y Henderson (2013) establecieron valores críticos de esta relación (C:P) en la materia orgánica e indicaron que la mineralización neta del C se produce cuando la relación C:P en la MO es <200 , valores de $C:P > 300$ da lugar a la inmovilización y valores intermedios entre 200 y 300 implica pocos cambios en la concentración de P soluble. Sin embargo, no existen reportes de valores umbrales de esta relación (C:P) en contenido total del suelo.

El agregado continuo de P como fertilizante afectó a las relaciones $C_{total}:P_{total}$ sólo en la capa superficial (0-5 cm) y, en los estratos inferiores no se vieron efectos significativos sobre dicha relación (**Figura 2.12**). Los valores de la relación C:P en contenido total fueron mayores en situaciones de limitación de P (NS y testigo), mientras que cuando se aplicó P con los tratamientos PS, NP, NPS y Completo estas relaciones disminuyeron en un 13% (**Figura 2.12**). Esto puede ser debido a la forma de aplicación del fertilizante fosforado ya que se incorporaron a profundidades de 3 a 5 cm aproximadamente. Los tratamientos sin P agregado (Testigo y NS) fueron inferiores en contenido de P_{total} en todo el estrato y más pronunciado en el estrato de 0-5 cm (**Tabla 2.11**). Por lo cual, es razonable que el $C_{total}:P_{total}$ disminuya con el agregado de P como fertilizante. Li *et al.* (2013) también vieron que la aplicación continua de P por 6 años provocó disminuciones de las relaciones C:P y N:P en el suelo sugiriendo que el agregado de P en el largo plazo induce a la limitación de C y N. Este efecto podría ser resultado del aumento de la descomposición del C orgánico del suelo mediante el aumento de la respiración del suelo (Bradford *et al.*, 2008). Por lo cual, existen afirmaciones que altos contenidos de P conlleva a una relación negativa entre el N y P en los ecosistemas microbianos sugiriendo que la mayor disponibilidad de P en los microorganismos estimula la inmovilización del N (Li *et al.*, 2013). Estos efectos podrían influir en el ciclado del N y C en los suelos. Ciampitti *et al.* (2011b) también informaron que la aplicación continua de P en los suelos conlleva al mayor uso de residuos vegetales y absorción de C y N por los microorganismos favoreciendo el secuestro de C y N. Nuestros resultados sugieren que en la capa superficial (0-5 cm) podría ser más pronunciado el secuestro del C por los microorganismos con el agregado continuo de P.

En el estrato superficial (0-5 cm) no se vieron diferencias de la relación $C_{total}:P_{total}$ entre sitios, mientras que en la capa subyacente de 5-20 cm estas diferencias fueron significativas. En La Hansa y San Alfredo los valores de la relación $C_{total}:P_{total}$ fueron más altos (promedio 31) y con $R^2=0,08$. Sin embargo, en La Blanca, Balducchi y Lambaré el R^2 fue 0,45. Esta relación (C:P) en el suelo es muy variable debido a que gran parte de la variación y acumulación de P no depende de los compuestos orgánicos (Williams *et al.*, 1960). El promedio de $C_{total}:P_{total}$ en estos últimos sitios fue un 17% inferior a los primeros (26) (**Figura 2.13**). Lo cual indica que existen diferencias en la capacidad de mineralizar P a partir de la materia orgánica en estos suelos, porque los fenómenos que ocurren en el suelo obedecen a las actividades enzimáticas y bioquímicas donde los microorganismos participan activamente (Hall *et al.*, 2011). El uso de la relación C:P en contenido total podría ser una herramienta útil para predecir el ciclado del C y P, así como la producción de

biomasa microbiana en los distintos suelos como afirmaron también Allen y Gillooly (2009) y Hall *et al.* (2011). El uso de esta relación (C:P) también podría ser útil como indicador de los balances de C y P en estos suelos (Bradford *et al.*, 2008).

Relación N:P

Los resultados de la **Figura 2.14** indican que el N_{total} y P_{total} se relacionaron menos en superficie que en los estratos subsuperficiales (menos R^2 en el estrato de 0-5 cm). Esto puede ser explicado por la acumulación de P debido a la fertilización en superficie. Se sabe que el P a diferencia del N es retenido por el suelo muy cerca donde se aplica. Dick *et al.* (1991) también observaron mayores concentraciones de P en superficie cuando agregaban fertilizantes fosforados. Los tratamientos sin P agregados (Testigo y NS) provocaron el aumento de las relaciones $N_{total}:P_{total}$ en 16% solo en el estrato superficial (0-5 cm). Sin embargo, en los estratos más profundos (5-10 y 10-20 cm) no se vieron efectos del agregado de fertilizantes (**Figura 2.15**). La limitación de P no sólo aumentó la relación $N_{total}:P_{total}$ en la capa superficial sino que hizo la relación más fuerte (R^2 más alto) (**Figura 2.15**). Este fenómeno fue significativo en el estrato superficial cerca al sitio donde se fertilizó, en los primeros 3 a 5 cm del suelo. Este aspecto, sumado a la alta residualidad del P en el suelo serían los factores que explicarían las mayores relaciones $N_{total}:P_{total}$ en superficie. No se vieron diferencias de la relación $N_{total}:P_{total}$ entre los sitios experimentales en ninguno de los estratos de profundidad (**Figura A27**), lo cual sugiere que la composición cualitativa del N_{total} y P_{total} son parecidas en todos los sitios estudiados. El rango de valores de $N_{total}:P_{total}$ fue de 2,4 a 5,1 en la capa de 0-5 cm y, en el estrato de 0-20 cm fue de 1,5 a 4,1. La literatura internacional indica que esta relación (N:P) en suelos es muy variable por la variabilidad de P con los distintos tipos de suelo. Bui y Henderson (2013) informaron valores de N:P en la materia orgánica de suelos de Australia en el rango de 2 a 43. Ellos afirmaron que las estructuras vegetales en el suelo están en función a la disponibilidad de P en los suelos, lo cual puede afectar fuertemente a los ciclos biogeoquímicos del P en el suelo. Lambers *et al.* (2010) vieron correlación entre la relación N:P del suelo con las de las plantas y, sugirieron usarla como herramienta complementaria a los diagnósticos de la fertilidad fosforada.

Relación P:S

La relación entre el P y el S en contenido total fue débil ($R^2=0,28$) y no se modificó por la profundidad (**Figura 2.16**). Sin embargo dicha relación (P:S) fue afectada por la aplicación de fósforo (**Figura 2.17**). En los tratamientos sin P (Testigo y NS) disminuyeron la relación $P_{total}:S_{total}$ en un 13% en los tres estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm) e hicieron ligeramente más fuerte la relación (mayor R^2). El agregado de S como fertilizante no afectó a esta relación porque la capacidad de adsorción de S del suelo es mucho menor que el del P (Freney y Williams, 1983). El S agregado tiene baja residualidad en el suelo, mientras que el P interacciona más con la fracción sólida del suelo. El efecto residual del agregado de P puede durar varios años (Berardo *et al.*, 1993). Estos reportes podrían explicar el aumento de la relación $P_{total}:S_{total}$ con el agregado de P como fertilizante. La relación ($P_{total}:S_{total}$) fue muy estable en los sitios experimentales (**Figura A28**).

La **Tabla 2.17** corrobora la importancia de la fertilización para aumentar los niveles de C_{total} en el suelo, mientras que el N, P y S total no tienen grandes cambios.

2. Relación C:N:P:S en la fracción lábil

Relación Nan:C_{total}

El Nan y el C_{total} se relacionaron (**Figura 2.18**). Lo cual es razonable porque el Nan es un estimador de la mineralización de la MOS y se ha reportado que está altamente correlacionado con el contenido de C del suelo (Sharifi y Zebarth, 2008; Genovese, 2009; Reussi Calvo et al., 2014). Contrariamente, Sainz Rosas *et al.* (2008) estudiaron 26 suelos de la zona de Balcarce donde encontraron que el C_{total} no se relacionó con el Nan. No se observaron efectos de los tratamientos de fertilización con N, P y S sobre esta relación en ningún estrato. Esto se vio más pronunciado solo en el estrato de 0-5 cm donde el testigo fue inferior en C_{total} (**Tabla 2.3**), dicho efecto no fue significativo sobre la relación Nan:C_{total}. Está documentado que los cambios más notables en contenido de MOS y Nan se pueden ver por efectos de manejo y años de agricultura (Genovese *et al.*, 2009, Reussi Calvo *et al.*, 2013 y Eiza *et al.*, 2005; Divito *et al.*, 2011), por el contrario no hay reportes de los efectos puros de la fertilización sobre la MO y por consiguiente sobre el Nan. En este estudio, el sistema de labranza fue SD en todos los sitios y la frecuencia del cultivo de soja en las rotaciones pudieron haber impedido las diferencias significativas del contenido del Nan con los tratamientos. Marriott y Wander (2006) y Sainz Rosas *et al.* (2008) también afirmaron que el Nan no es una fracción que varía en paralelo con los contenidos de MOS. La mineralización de la MOS también depende de las condiciones ambientales favorables para la actividad de la biomasa microbiana (humedad y temperatura). Por lo cual no se pueden predecir la capacidad de un suelo de mineralizar N solamente a partir de los análisis de MOS total, ya que cada suelo es distinto en composición y calidad de MOS.

En este estudio se vio variabilidad de la relación entre el Nan y el C_{total} entre los distintos estratos. En el estrato superficial (0-5 cm), la relación fue más débil que en los otros dos estratos (**Figura 17A, B y C**). Esto podría deberse a que la composición de la MOS en el estrato superficial es más heterogénea que en los estratos subsuperficiales, con una mayor y más variable proporción de su fracción lábil, que es la que se mineraliza durante la incubación corta.

Cuando se analizó la relación entre el Nan y el C_{total} en la capa de 0-20 cm se vio diferencia significativa entre los sitios. Lambaré presentó un R² algo superior a los demás sitios y valores más altos de Nan:C_{total}. El grupo de sitios que incluyeron a La Hansa, La Blanca y San Alfredo presentaron un menor ajuste entre el Nan y el C_{total}, mientras que en Balducchi se vieron los valores más bajos de la relación Nan:C_{total} y, un R² algo muy parecido a Lambaré. Pese a que los sitios más ricos en C_{total} fueron San Alfredo y Lambaré (**Tabla 2.3**) no se vieron los mayores contenidos de Nan en San Alfredo, sino sólo en Lambaré (**Tabla 2.8**), lo cual se refleja en la relación Nan: C_{total} en la **Figura 2.18**. Estos resultados sugieren que en los distintos sitios, la fracción lábil de la MOS era distinta, por lo que el contenido de MOS no es indicador suficiente para predecir la capacidad de proveer N disponible en los suelos. Si bien, se vieron suelos con similar relación entre el C, N, S total (C:N, C:S y N:S) (similar composición de la MOS), estos suelos tienen distinta capacidad de mineralizar N (Nan), lo que sugiere que las relaciones entre el C, N y S total no son buenos indicadores de esta capacidad. Por otro lado, existirían otros factores como la textura, pH, y el contenido de MO lábil que juegan papeles importantes en la

mineralización de la MOS más allá de los contenidos totales de MOS (Baath y Anderson, 2003).

Relación Nan:C_{MOP}

El Nan y el C_{MOP} no se relacionaron en la capa de 0-5 cm (**Figura 2.19A**) y, muy ligera relación en la capa subsuperficial de 5-10 cm, aunque más pronunciado en Balducchi ($R^2=0,23$) (**Figura 2.19B**). En el estrato subsiguiente (10-20 cm) mejoró esta relación en cuatro de los cinco sitios ($R^2=0,29$), pero en Lambaré no fue significativa dicha relación (**Figura 2.19C**). Cuando se analizó la relación Nan:C_{MOP} en el estrato de 0-20 cm no hubo asociación entre el Nan y el C_{MOP} en ningún sitio (**Figura 2.19D**). Esto podría sugerir que la fuente principal de la mineralización del N es la MOS menos lábil. Franzluebbbers y Arshad (1997) informaron que las grandes fluctuaciones de humedad y temperatura afectan a la capacidad de mineralización del COS. La falta de relación entre el Nan y C_{MOP} en este estudio podría ser debido a que la mineralización del C_{POM} no solo depende de su cantidad, sino también de su calidad, ya que el momento del muestreo fue posterior a la cosecha, el cultivo antecesor fue el mismo en todos los casos (soja de soja de primera y segunda). Contrariamente a nuestros resultados, Chan (1997) vieron que el Nan y el C_{MOP} estuvieron muy correlacionados en suelos vertisoles en China después de 4 años de pasturas (donde hubo una alta actividad microbiana), por lo que sugirieron a la fracción particulada como la más importante para la disponibilidad del N y, que las pasturas permiten restaurar y mantener el C_{MOP}. Fabrizzi et al. (2003) también vieron que el C de la MOP correlacionó estrechamente con el Nan en suelos Molisoles de la Argentina, sugirieron que el Nan proviene de la mineralización de la MOP. Nuestros resultados podrían indicar que la calidad y cantidad de C_{POM} afectan significativamente la relación Nan: C_{MOP}.

Relación C_{MOP}: S_{MOP}

Se vio una relación entre el C y S en la materia orgánica particulada y más estrechas que en contenido total (mayor R^2) (**Figuras 2.9 y 2.21**). Por otro lado, hubo diferencia de la relación C_{MOP}:S_{MOP} entre los estratos de profundidad. Los mayores valores correspondieron a la capa superficial (0-5 cm) y, en los estratos de 5-10 y 10-20 cm no hubo diferencia significativa (**Figura A29**). Además, se vio que en la capa superficial fue más variable esta relación (menor R^2). Esto sugiere que la MOP en superficie podría ser relativamente más joven que la de los estratos subyacentes, y por lo tanto tener una menor concentración de S. Otra posible causa es que la MOP de los primeros 5 cm provenga de residuos distintos que la de estratos inferiores (mayor contribución de residuos aéreos).

Los tratamientos de fertilización no cambiaron las relaciones C_{MOP}:S_{MOP} en el suelo (**Figura 2.21**). Estos resultados sugieren la estabilidad de esta relación frente a los manejos como la fertilización. Por lo tanto, no es un indicador de deficiencia azufrada, ya que en varios de estos sitios se observaron respuestas positivas a la fertilización azufrada a excepción de Lambaré y La Hansa (Boxler et al., 2014). Los efectos más marcados sobre la fracción lábil del suelo (i. e. actividad microbiana, C_{MOP} o MO soluble) han sido vistos por el manejo de los suelos (tipo de labranza) (Campbell *et al.*, 1999a). Banerjee *et al.* (1993) señalaron que cuando el S se convierte en un factor limitante, ya sea porque hay bajas concentraciones en el suelo o porque existe mayor absorción de la planta, la relación C:S de la biomasa microbiana puede alcanzar valores entre 80 y 100. Pero no existen valores umbrales de esta

relación ($C_{MOP}:S_{MOP}$) que hayan sido propuestos como indicadores de diagnóstico de la fertilidad azufrada para los cultivos. Tampoco se vio diferencias de la relación $C_{MOP}:S_{MOP}$ entre los sitios (**Figura A30**).

La relación C:N:S en la fracción lábil fue muy parecida en los sitios y tratamientos (**Tabla 2.18**). Estos resultados se pueden atribuir al aumento del COS por aporte de restos de cosecha provenientes de los cultivos antecesores y como el N y S están muy relacionados al C, los cambios (en N y S) siguieron el patrón del C cuando se fertilizó.

CONCLUSIONES

- a. La fertilización continua con N, P y S por 14 años aumentó los contenidos totales de C y los nutrientes que están estrechamente relacionados a este (i. e. N y S), estos efectos en el C_{total} fueron solo en Balducchi (sitio con mayor deficiencia en nutrientes y el que más respondió en rendimiento a la fertilización). Vale destacar que el S_{total} y N_{total} fueron sensibles al agregado de P y S como fertilizantes además del N, en todos los sitios.
- b. El C_{MOP} fue más sensible a la fertilización con N, P y S respecto al C_{total} en 3 de los 5 sitios, así como el agregado continuo de P por 14 años provocó incrementos más pronunciados del $P_{Bray 1}$ respecto al P_{total} en todos los sitios.
- c. Las relaciones C:N y C:S no cambiaron con el agregado de estos dos nutrientes (N y S) es decir la MOS no se enriqueció con N o S por el solo hecho de agregarlos, porque los cambios en el carbono del suelo requieren muchos años (estas relaciones no cambiaron con los tratamientos).
- d. La fertilización continua con P disminuyó las relaciones C:P y N:P en superficie (0-5 cm) y aumentó la relación P:S en la capa de 0-20 cm por lo que en el largo plazo el agregado de este nutriente podría cambiar la dinámica del C, N y S.
- e. La capacidad de mineralización de N de los suelos (N_{an}) no fue afectada por la fertilización, pero estuvo fuertemente relacionada con el contenido de C_{total} . Sin embargo, esta relación $N_{an}:C_{total}$ varió con los sitios, lo cual sugiere diferencias en la calidad de la MOS entre sitios, pero sin ser afectada por los tratamientos dentro de cada sitio.
- f. La relación C:S, incluso en la MOP, no fue afectada por los tratamientos, por lo que no parece ser un indicador de la capacidad del suelo de proveer S a los cultivos.
- g. Las evidencias de los resultados nos permitió aceptar la hipótesis planteada porque el agregado continuo de N, P y S en forma de fertilizantes provocó cambios en los contenidos de C, N, P, S en contenido total y lábil del suelo. Sin embargo, las relaciones estequiométricas que cambiaron fueron solo por efecto del agregado de P (i.e. C:P, N:P y P:S), y no por la incorporación de N y S.

CAPÍTULO 3: CAMBIOS EN LA CONCENTRACIÓN, EXPORTACIÓN Y ESTEQUIOMETRÍA N:P:S EN GRANOS DE SOJA POR EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN CONTINUA

INTRODUCCIÓN

1. Concentración y exportación de N, P y S en granos de soja

La intensificación de la agricultura aumentó el uso de fertilizantes, rendimientos y con ello la mayor exportación de nutrientes con los productos cosechados en muchas regiones del mundo. En los últimos 50 años, en la agricultura argentina también se sucedieron grandes aumentos de la producción, principalmente de los cultivos de trigo, maíz, soja y girasol. Lo cual ha generado la disminución en contenido de C y nutrientes en el suelo. Los nutrientes más limitantes para los cultivos de grano en esta región (i. e. Pampeana) son el N, P y S (García *et al.* 2010). Otra de las razones es el mayor uso agrícola de los suelos. Sólo en la campaña 2015/16 se sembraron más de 20 millones de ha de soja en la Argentina, con un rendimiento promedio de 3000 kg ha⁻¹ (Corina y Terré, 2016). Los trabajos de balances nutricionales en esta región agrícola han informado que los saldos de nutrientes en el suelo están siendo negativos (i. e. N, P y S) (Urricarriet y Lavado, 1999). No así, el K aunque es absorbido por las plantas en grandes cantidades, su exportación en los granos es bajo, por lo cual se ha mantenido la oferta de este nutriente en los suelos (Conti *et al.*, 1993).

Los requerimientos específicos de los cultivos deben ser satisfechos para incrementar los rendimientos. Agua, radiación y nutrientes son los principales requerimientos a ser cubiertos (García, 2004). El cultivo de soja, por su contenido proteico en los granos es muy exigente en nutrientes. Los granos de este cultivo contienen aproximadamente el 40% de proteínas (Abbasi *et al.*, 2008) debido a ello sus requerimiento de N son elevados (Del Pozo *et al.*, 2000). Cuando los niveles de agua y nutrientes son adecuados, la absorción de nutrientes también depende de la radiación, temperatura y la demanda del cultivo (Varenes *et al.*, 2002). Los reportes de requerimientos nutricionales de este cultivo en la región pampeana indican que necesita 80 kg N para producir 1 Mg de grano, del cual el 75% es destinado al grano (i. e. promedio de exportación 60 kg N Mg⁻¹ de grano) (Salvagiotti *et al.*, 2008). Este cultivo también requiere de 8 kg de P y 6 kg de S para producir 1 Mg de grano, el índice de cosecha para estos nutrientes son de 70% y 53% respectivamente. Es decir, la exportación por Mg de grano cosechado es en promedio de 5,6 kg de P y 3,2 kg S (Salvagiotti *et al.*, 2012a; Gutiérrez Boem, 2015). Existe una relación positiva entre los nutrientes absorbidos por los cultivos y el rendimiento. Salvagiotti *et al.* (2008) informaron que existe relación positiva entre la cantidad de N absorbido por el cultivo de soja y el rendimiento. El P y S también están involucrados con la generación de materia seca (i. e. rendimiento) (Hussain *et al.*, 2011; Sexton *et al.*, 1998). Por lo tanto, los niveles de exportación de nutrientes también dependen de los rendimientos.

El valor nutricional de los granos de soja está dado por la cantidad y calidad de los nutrientes que éstos pueden almacenar. El principal uso de la soja es como forraje animal, especialmente para los animales no rumiantes (aves de corral y cerdos) por ser una excelente fuente de proteínas. Vale aclarar que la mayor proporción de N orgánico en los granos está constituido de proteínas (Geider y La Roche, 2002). El contenido de proteínas en granos de soja varía desde un 35 a 50% dependiendo del cultivar y condiciones de

crecimiento (Krishnan, 2008). Si bien, la soja contiene altos niveles de proteínas, la calidad de éstas se ven afectadas por las bajas concentraciones de aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína en las proteínas (Sexton *et al.*, 2002). Por lo cual Salvagiotti *et al.* (2012a) reportaron que la concentración relativa de la relación N:S en granos determinan el valor de las proteínas. Otros autores también informaron que aplicaciones de S mejoran la calidad proteica de los granos, en situaciones de limitación de S se han visto que los aminoácidos no azufrados gobiernan en los granos, los cuales disminuyen la calidad proteica de los mismos (Blagrove *et al.*, 1976). Por el contrario, la concentración de P en granos de soja no es muy relevante desde el punto de vista de la nutrición animal. Cuando los animales consumen granos de soja con exceso de P se constituye en un problema ambiental porque puede dar lugar a la eutrofización de las aguas subterráneas a partir de las excretas animales. Por lo cual, el mejoramiento genético ha ideado una variedad de soja con altos niveles de proteína, ricos en aminoácidos azufrados y con bajos contenidos de P en los granos (Krishnan, 2008).

2. Relaciones estequiométricas N:P:S

Los nutrientes que suelen limitar la producción en muchos contextos agrícolas del mundo son el N y el P. En los últimos años se le ha dado especial atención también al S porque ha empezado ser limitante en muchos suelos incluyendo la región pampeana (Cordone y Martínez, 2001). Este elemento es esencial para las plantas tanto como el P (Scherer, 2001). El papel de cada uno de estos nutrientes en la fisiología vegetal no se puede sustituir. El N requiere para el desarrollo del área foliar (Mahajan *et al.*, 2012), es componente de la clorofila, ADN y ARN (Hellal y Abdelhamid, 2013) e incrementa la fotosíntesis y absorción de nutrientes para generar el aumento de la materia seca y los rendimientos (Mahajan *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2005). El P aumenta la conductividad hidráulica del sistema radical, también se ha visto que favorece a la expansión celular junto con el N y, en el cultivo de leguminosas puede favorecer la fijación biológica de N (Radin y Eidenbock, 1984; Singh *et al.*, 2005, Schulze *et al.*, 2006). El S es componente de la nitrogenasa, enzima encargada de promover la fijación de N y es constituyente de los aminoácidos azufrados metionina y cisteína que le proveen calidad a las proteínas en granos de leguminosas (Hellal y Abdelhamid, 2013, Sexton *et al.*, 1998), el S también favorece la absorción de otros nutrientes como N, P, K y Ca (Nasreen y Farid, 2006).

El C, N, P y S están fuertemente ligados en su funcionamiento bioquímico en los vegetales (Agren, 2004; Güsewell, 2004) y su equilibrio influye sobre el comportamiento de las plantas (Sardans, Rivas y Peñuelas, 2012; Ye *et al.*, 2014). El uso de la estequiometría C:N:P ha servido para explicar muchos fenómenos de la biología a partir de los mecanismos biomoleculares a organismos enteros (Elser *et al.*, 2000b; Gusewell *et al.*, 2004; Claveland y Liptzin, 2007), así también ha ayudado explicar los diversos efectos del cambio global sobre la disponibilidad de nutrientes y la estequiometría en el sistema suelo-planta (Sardans *et al.*, 2012). Existen trabajos a diferentes escalas donde usaron las relaciones C:N:P en el suelo, biomasa microbiana y plantas (Claveland y Lipzin, 2007; Ye *et al.*, 2014) con lo cual han logrado conocer la limitación de nutrientes en diversos ecosistemas. Así, la estequiometría ecológica ha sido una herramienta de gran alcance en la ecología y biología que bien puede ser aplicable en contextos agrícolas.

La agricultura continua, el manejo y la fertilización pueden alterar la concentración de los nutrientes en suelo y en la planta, y en consecuencia las relaciones estequiométricas entre nutrientes también pueden variar. La estequiometría en plantas es el resultado de la necesidad fisiológica por almacenar nutrientes en la vacuola para mantener constante sus funciones durante periodos de limitación de nutrientes (Matzek y Vitousek, 2009). Un amplio rango de datos mundiales de plantas superiores han demostrado que las tasas metabólicas obedecen a variaciones estequiométricas entre nutrientes (e. g. N:P) (Wright *et al.*, 2004). Algunos investigadores han propuesto usar relaciones estequiométricas entre estos nutrientes para reconocer suelos deficientes en S (Salvagiotti *et al.*, 2012a; Divito *et al.*, 2015; Blake-Kalff *et al.*, 2000). La estequiometría C:N:P de un organismo también puede ser influenciado por los cambios ocurridos en el medio ambiente (Güsewell *et al.*, 2003). Muchos trabajos centrados en estequiometría de N y P en plantas terrestres revelaron que estas relaciones entre nutrientes se ven afectados por factores tales como la fertilidad del suelo y las condiciones ambientales (Güsewell, 2004, Reich y Oleksyn, 2004). Los cambios de estequiometría entre nutrientes en los productos cosechados por efectos de fertilización continua y manejo no han sido bien estudiados. Elucidar estos cambios en los granos de soja podrían ser herramientas útiles como complemento de los diagnósticos de fertilidad de los suelos.

Los **objetivos** fueron determinar efecto de los regímenes de fertilización de largo plazo sobre: a- el rendimiento y concentración de N, P y S en granos de soja, b- la exportación de N, P y S por el cultivo de soja, y c- las relaciones estequiométricas entre N, P y S en granos de soja.

Las **hipótesis** son que la fertilización con P y S afecta a la concentración de estos nutrientes en el grano de soja. Por el contrario, la concentración de N es independiente de la fertilización, ya que el cultivo regula su asimilación a través de la fijación simbiótica. Las relaciones estequiométricas entre N:P:S en granos varían con la fertilización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Parcelas experimentales

El estudio se llevó a cabo en los cinco ensayos de la Red de Nutrición del CREA de la Región Sur de Santa Fe. Esta red de ensayos se estableció en la campaña agrícola 2000/01 (Boxler *et al.*, 2014). Los sitios experimentales fueron La Blanca, La Hansa, Lambaré, San Alfredo y Balducchi con diferentes historias agrícolas (**Tabla 2.1 del capítulo 2**). El tipo de labranza en todos los sitios fue en siembra directa (SD). Las propiedades químicas de los suelos en estudio se encuentran detalladas en la sección de Materiales y Métodos del capítulo 1. En este capítulo se detallan los resultados obtenidos de los análisis de granos de soja de primera y de segunda catorce años después de la aplicación continua con los distintos regímenes de fertilización con N, P y S.

Tratamientos

En cada sitio se instalaron seis tratamientos de fertilización, con un diseño en bloques completos aleatorizados (DBCA) con tres repeticiones en cuatro sitios (Lambaré, La Blanca, La Hansa, Balducchi) y dos repeticiones en San Alfredo. Para este estudio se usaron los seis tratamientos que fueron combinaciones de N, P y S: testigo sin fertilizar, NP, NS, PS, NPS y Completo (NPS+micronutrientes). Todas las parcelas recibieron

aplicaciones continuas de N, P y S, los nutrientes más limitantes en la zona. Las fuentes de fertilizantes y las dosis aplicados en la campaña 2013/14 están indicadas en las tablas 2.2 y 2.3 en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 1. El tamaño de cada parcela siempre fue de 25-30 m de ancho y 65-70 m de largo.

Determinaciones analíticas

Análisis de los granos

Se muestrearon granos de soja de primera y segunda de la campaña 2013/14 en todos los sitios, se secaron en estufa a 60°C. Luego se molieron y tamizaron con una malla de 1 mm. Las concentraciones de N, P y S en granos se determinaron de la siguiente manera: Se realizó una digestión húmeda con H₂SO₄ y H₂O₂ (Richards, 1993) seguido de una colorimetría (Baethgen y Alley, 1989) para determinar la concentración de N en granos. El P en granos se determinó mediante digestión con H₂SO₄ y H₂O₂ (Richards, 1993) y la medición con colorimetría usando molibdato - ácido ascórbico (Kuo, 1996). El S en granos se determinó mediante digestión húmeda con HNO₃ y HClO₄, seguido de una medición turbidimétrica de la concentración de S en el digesto (San Martín *et al.*, 1986).

Cálculos y análisis estadísticos

Los ANOVA de rendimiento, concentración y exportación de N, P y S en granos se analizaron para cada sitio por separado, porque hubo heterogeneidad de varianzas entre sitios para el caso de rendimiento (Kuehl, 2001) y las diferencias significativas fueron determinadas a un nivel de significancia del 5% usando la prueba de LSD. La exportación de N, P y S en grano se calculó a partir de los datos de concentraciones de dichos nutrientes en granos y los rendimientos por parcela. Se hicieron análisis de regresión lineal simple entre las variables contenido de N, P y S en grano (kg ha⁻¹) y los rendimientos de grano en kg ha⁻¹, para evaluar los efectos de los regímenes de fertilización sobre las exportaciones de estos nutrientes en los granos. Se compararon las distintas regresiones mediante test de F (Kuehl, 2001) y, en los casos en que no fueron diferentes, la relación para esos tratamientos se representó con una sola función. El supuesto de homogeneidad de varianzas se evaluó comparando los cuadrados medios del error de cada función mediante una prueba de F.

Las relaciones estequiométricas entre N:P, N:S y P:S en granos se ajustaron utilizando una función potencial y su forma logarítmica. Estas relaciones nacen a partir de hacer el supuesto de que cualquiera de las dos variables de X ó Y (representa a los elementos de interés N, P ó S) se relacionan entre sí. La ecuación potencial usada fue: $Y = a X^b$ y, la ecuación en su forma logarítmica tuvo la siguiente forma: $\log Y = \log a + b * \log X$, esto con el fin de preservar la simple proporcionalidad de la "hipótesis estequiométrica". Donde: "Y" (variable dependiente), "X" (variable independiente) que pueden ser el contenido de N, S ó P en granos, "a" es la ordenada de origen y, "b" es el exponente de escala o pendiente. Las líneas se ajustaron utilizando el método de ejes principales estandarizados (SMA) utilizando el Software SMART (Warton *et al.*, 2006). Este método considera los residuales de cada punto respecto de la línea de ajuste en las direcciones de X e Y, y minimiza las sumas de las áreas triangulares entre la línea ajustada y cada punto. La línea ajustada por este método no cambia al permutar las variables Y y X (es decir, la pendiente de Y vs. X es la recíproca de la pendiente de X vs. Y). Éstas relaciones se calcularon en base a las masas de los elementos (kg N/kg P).

RESULTADOS

1. Rendimiento y concentración de N, P y S en granos

Los rendimientos de granos fueron variables con los sitios y tratamientos ($p < 0,001$). Los rendimientos estuvieron entre 2464 y 6126 kg ha⁻¹ (**Figura 1**). Se observó una disminución de los rendimientos cuando no se fertilizó con N, P y S en todos los sitios. El tratamiento con rendimientos más bajos fue el Testigo y los de mejor rendimiento fueron NPS y Completo. La disminución de rendimiento del tratamiento Testigo respecto del NPS varió entre 10 y 40% en los sitios (**Figura 1**). En Lambaré se vio mayor rendimiento (promedio 5918 kg ha⁻¹), mientras que en los otros cuatro sitios el rendimiento promedio fue entre 3325 y 3951 kg ha⁻¹. En dos de los cinco sitios, se vio el efecto más marcado de los tratamientos NPS y Completo (Balducci y La Blanca). Estos dos sitios presentaron deficiencias nutricionales más importantes, con una caída de los rendimientos del 41%, y una interacción positiva entre los nutrientes agregados (**Tabla 1**). En La Hansa y Lambaré sólo el Testigo fue inferior a los demás tratamientos, y las disminuciones del rendimiento por no aplicar de N, P y S fueron de 19% y 11% respectivamente (**Figura 1**).

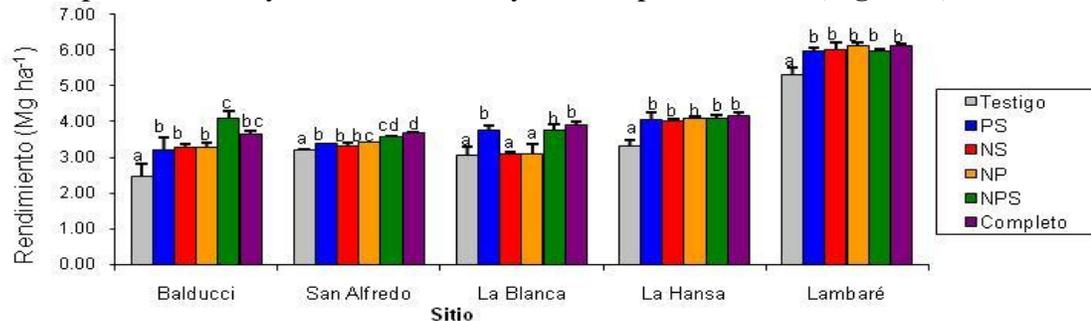


FIGURA 3.1. Rendimiento (Mg ha⁻¹) del cultivo en cada sitio, las comparaciones fueron dentro de cada sitio*

TABLA 3.1. Rendimientos (Mg ha⁻¹) de soja en los sitios y tratamientos. Promedio de tres repeticiones. Interacción entre N, P y S en cada sitio de la red de nutrición Crea Sur de Santa Fe. Soja. Campaña 2013/14*.

Tratamiento	Sitio				
	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	2464 c	3198 d	3056 b	3309 b	5311 b
PS	3218 b	3392 bc	3747 a	4045 a	5962 a
NS	3260 b	3328 cd	3096 b	4001 a	6007 a
NP	3268 b	3427 bc	3103 b	4093 a	6126 a
NPS	4089 a	3558 ab	3762 a	4094 a	5984 a
Completo	3648 ab	3672 a	3885 a	4166 a	6117 a
ANOVA					
Trat. (valor <i>p</i>)	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01
DMS	0,60	0,12	0,54	0,33	0,37
CV	10,00	2,02	8,65	4,61	3,44
INTERACCIÓN N, P y S					
(NPS-PS)N	870,34	166,00	15,00	48,34	22,66
(NPS-NS)P	828,34	229,50	666,33	93,00	-22,67
(NPS-NP)S	820,67	131,00	659,33	0,67	-142,00
N+P+S	2519,35	526,50	1340,66	142,01	-142,01
NPS-Testigo	1624,34	359,50	705,67	785,00	673,00
Contraste					
N+P+S vs. NPS-T	895,01	167,00	634,99	-642,99	-815,01
valor <i>p</i>	0,13	0,28	0,22	0,05	0,03

(*) Los cambios de letras indican diferencia significativamente al nivel de significancia de 5%.

El ANOVA de concentración de N en granos nos permitió detectar que esta variable no fue afectada por los tratamientos ($p=0,52$). La diferencia entre sitios fue significativa ($p<0,01$) (**Tabla 3.2**). La Blanca y Lambaré presentaron los valores más bajos, 16% y 13% respectivamente menores que Balducchi (sitio con mayores concentraciones de N en granos). En estos dos sitios (La Blanca y Lambaré) los valores de concentración de N en granos variaron entre 53,4 y 69,1 g N kg⁻¹, y con un rango intercuartil de 59,1 y 62,6 g N kg⁻¹. En los otros tres sitios los valores de concentración de N en granos fueron desde 62,9 a 81,3 g N kg⁻¹ donde los mayores valores correspondieron a Balducchi (**Tabla 3.2**). La concentración de N en granos fue independiente del rendimiento ($R^2: \sim 0,02$) (**Figura 3.2B**). Se observaron efectos significativos del agregado de P como fertilizante sobre la concentración de P en granos. Los tratamientos sin el agregado de P (Testigo y NS) presentaron valores entre 15% y 13% respectivamente inferiores al tratamiento NPS. La fuente de variación Sitio también fue significativa ($p=0,01$) y hubo interacción Sitio x Tratamiento ($p<0,01$). Los valores de concentración de P en granos variaron entre 3,7 y 6,7 g P kg⁻¹ (**Tabla 3.2**). La concentración de P en granos fue independiente del rendimiento (**Figura 3.3B**).

El agregado de S como fertilizante provocó mayores concentraciones de S en los granos. Los tratamientos Testigo y NP presentaron valores más bajos (entre 1,8 y 2,9 g S kg⁻¹) mientras que las situaciones en las que se fertilizó con S (NS, PS, NPS y Completo) la concentración de S en granos oscilaron entre 2,6 y 3,6 g S kg⁻¹, el 50% de los datos variaron entre 2,9 y 3,1 g S kg⁻¹. Se vieron diferencias significativas de concentración de S en granos entre sitios ($p=0,01$) (**Tabla 3.2**), La Hansa presentó valores más bajos, 14% menos que en La Blanca (sitio con mayores contenidos de S en granos). La interacción sitio x tratamiento fue significativa ($p=0,04$), lo cual indica que el efecto de los tratamientos no fue el mismo en todos los sitios. Pese a la significancia de esta interacción existen patrones de variación comunes. En todos los sitios los tratamientos Testigo y NP tuvieron valores inferiores a los tratamientos con S (PS, NS, NPS y Completo). En Lambaré y La Hansa, el tratamiento Testigo fue incluso de 18 y 12% respectivamente menor que el tratamiento NP (**Tabla 3.2**). La concentración de S en granos fue independiente del rendimiento (**Figura 3.4B**).

TABLA 3.2. Concentración de N, P y S en granos en los sitios experimentales y análisis de varianza, valor F y *valor-p* utilizando un modelo mixto. Se incluyó “num gl” y “den gl” como numerador y denominador de los grados de libertad respectivamente, el num gl fue el mismo para las variables evaluadas *.

Tratamiento	Concentración de N en grano (g N kg ⁻¹)					Prom
	Sitios					
	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré	
<i>Testigo</i>	69,9	69,8	62,8	72,6	63,7	67,6
<i>PS</i>	68,3	70,2	61,4	69,9	60,3	65,7
<i>NS</i>	73,8	66,0	60,1	75,3	60,3	67,2
<i>NP</i>	68,1	67,7	57,9	67,9	64,4	65,0
<i>NPS</i>	74,9	67,4	59,4	68,4	60,6	66,0
<i>Completo</i>	71,7	67,9	58,9	71,1	61,9	66,2
promedio	71,1 A	68,2 A	60,1 B	70,9 A	61,9 B	

CONTINUACIÓN DE TABLA 3.2 (*)

ANOVA						
Fuentes de Variación	Num gl	Den gl	Valor F	Valor p		
Sitio	4	20	32,24	<0,01		
Tratamiento	5	20	0,87	0,52		
Sitio x Tratamiento	20	46	1,55	0,11		
Concentración de P en grano (g P kg ⁻¹)						
Tratamiento	Sitios					Promedio
	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré	
<i>Testigo</i>	4,0 ^b	5,7 ^b	4,6 ^b	5,5 ^a	5,6 ^a	5,0B
<i>PS</i>	5,5 ^a	6,4 ^a	5,9 ^a	5,7 ^a	5,8 ^a	5,8A
<i>NS</i>	4,2 ^b	5,6 ^b	4,9 ^b	5,4 ^a	5,7 ^a	5,1B
<i>NP</i>	5,9 ^a	6,6 ^a	5,9 ^a	5,6 ^a	5,9 ^a	5,9A
<i>NPS</i>	6,1 ^a	6,4 ^a	5,9 ^a	5,6 ^a	5,8 ^a	5,9A
<i>Completo</i>	5,6 ^a	6,0 ^{ab}	5,8 ^a	5,6 ^a	5,7 ^a	5,7A
<i>promedio</i>	5,2C	6,1A	5,5BC	5,6BC	5,7AB	
ANOVA						
Fuentes de Variación	Num gl	Den gl	Valor F	Valor p		
Sitio	4	20	3,97	0,01		
Tratamiento	5	20	5,94	<0,01		
Sitio x Tratamiento	20	46	2,95	<0,01		
Concentración de S en grano (g S kg ⁻¹)						
Tratamiento	Sitios					Promedio
	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré	
<i>Testigo</i>	2,1 ^b	2,8 ^b	2,8 ^b	1,9 ^c	2,2 ^c	2,4B
<i>PS</i>	3,1 ^a	3,1 ^a	3,1 ^a	2,8 ^a	2,9 ^a	3,0A
<i>NS</i>	3,0 ^a	3,1 ^a	2,8 ^b	2,8 ^a	2,9 ^a	2,9A
<i>NP</i>	2,2 ^b	2,6 ^b	2,7 ^b	2,2 ^b	2,6 ^b	2,4B
<i>NPS</i>	3,2 ^a	3,0 ^a	3,1 ^a	2,8 ^a	3,0 ^a	3,0A
<i>Completo</i>	3,0 ^a	2,9 ^{ab}	3,2 ^a	2,9 ^a	2,9 ^a	2,9A
<i>promedio</i>	2,8AB	2,9A	2,9A	2,6B	2,8AB	
ANOVA						
Fuentes de Variación	Num gl	Den gl	Valor F	Valor p		
Sitio	4	20	3,97	0,01		
Tratamiento	5	20	14,63	<0,01		
Sitio x Tratamiento	20	46	5,48	<0,01		

3. Exportación de N, P y S en granos

La fertilización con N en los cultivos antecesores de la soja no aumentó la exportación de N en granos. La exportación fue en promedio de 56,4 kg N Mg⁻¹ de grano ($R^2=0,92$) (**Figura 3.2A**), lo que indica que esta variable es relativamente estable con los distintos regímenes de fertilización.

El agregado de P como fertilizante aumentó ligeramente las exportaciones de P en granos en un 9,5%, varió de 4,6 kg P Mg⁻¹ en los tratamientos sin P agregado (Testigo y NS) a 5 kg P Mg⁻¹ en los tratamientos con P agregado (NP, PS, NPS y Completo) (**Figura 3.3A**).

(*) Los cambios de letras indican diferencia significativamente al nivel de probabilidad de 5%.

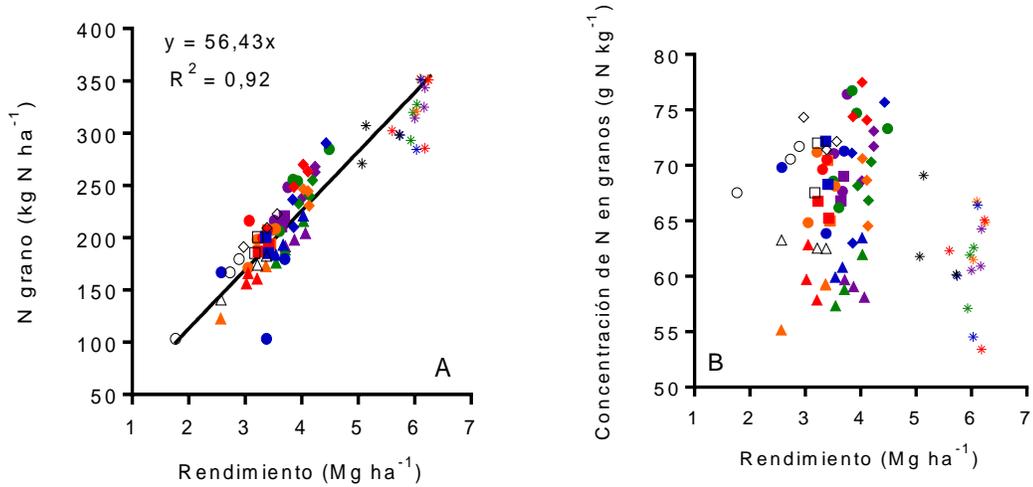


FIGURA 3.2: (A) Relación entre exportación de N en granos y rendimiento del cultivo de soja. La línea corresponde a la función de todos los tratamientos. (B) Falta de relación entre la concentración de N en granos y rendimiento.

	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

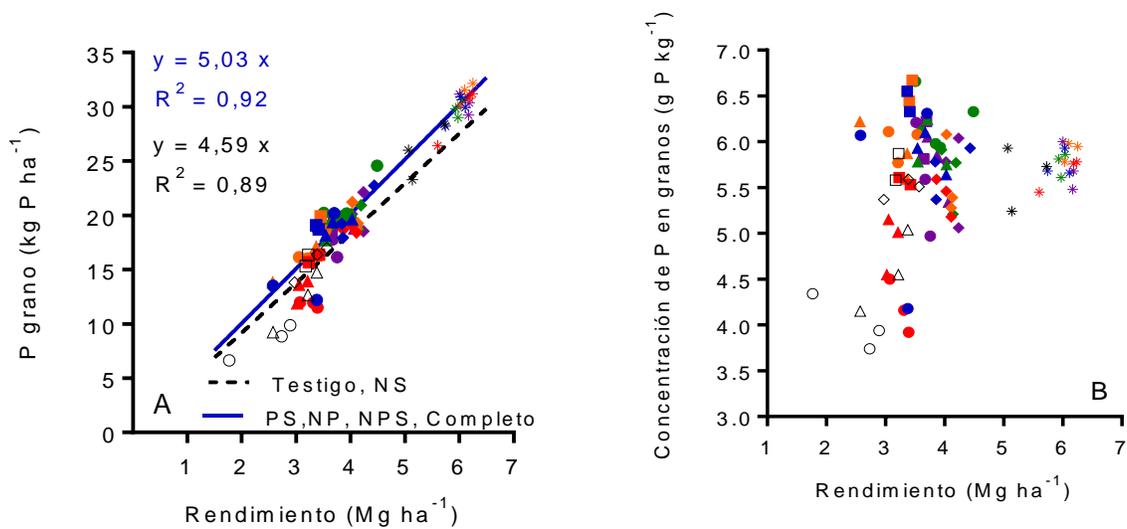


FIGURA 3.3: (A) Relación entre exportación de P en granos y rendimiento del cultivo de soja. La línea negra punteada corresponde a la función de tratamientos sin fertilizar con P y la línea azul llena a los fertilizados con P. (B) concentración de P en granos en función del rendimiento.

	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

La exportación de S en granos fue la más sensible al manejo de la fertilización. El agregado de S aumentó la exportación de S en granos por Mg en un 23%. Aumentó de 2,1 kg S Mg⁻¹ en los tratamientos sin S (Testigo y NP) a 2,6 kg S Mg⁻¹ en los tratamientos con agregado de S (PS, NS, NPS, Completo) (**Figura 3.4A**).

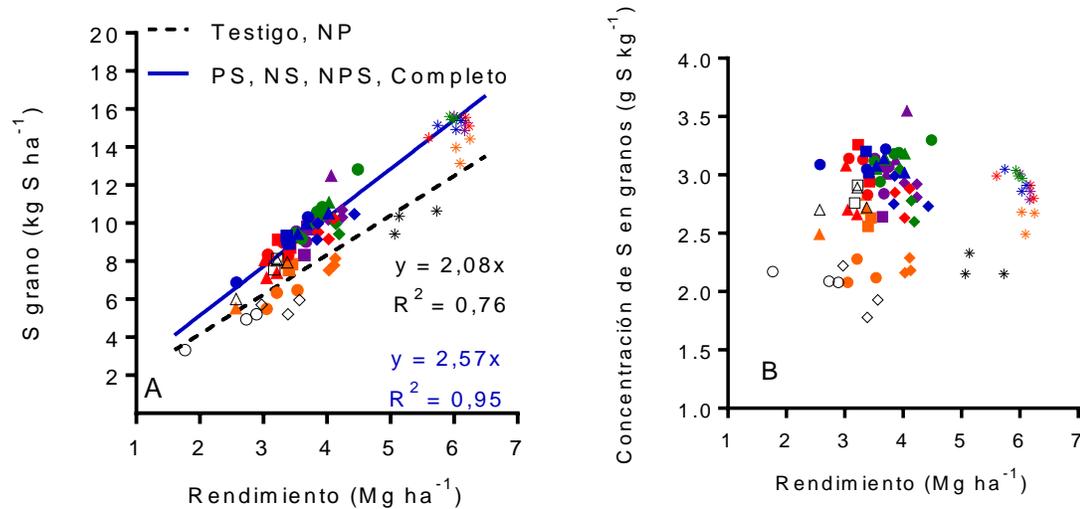


FIGURA 3.4: (A) Relación entre exportación de S en granos y rendimiento del cultivo de soja. La línea negra punteada corresponde a la función de los no fertilizados con S y la línea azul llena los fertilizados con S. (B) Falta de relación entre la concentración de granos y rendimiento.

3. Relaciones estequiométricas N:P:S en granos de soja

Relación N:P en granos

La fertilización con P disminuyó las relaciones N:P en granos hasta en un 30% (**Figuras 3.5 y 3.6A**). Gran parte de este cambio estuvo explicado por los aumentos en contenido de P en granos (19%), ya que el N en los granos sólo se incrementó en un 7% por efectos de la aplicación continua con P. Lambaré (sitio con mayor rendimiento) tuvo las más bajas relaciones N:P (promedio 10,8) y sin diferencias entre los tratamientos. Balducchi (sitio con menor rendimiento) mostró los valores más altos (promedio 14,09). En cuatro de los cinco sitios (sin incluir a Lambaré), el agregado continuo de P bajó las relaciones N:P (**Figura 3.5**). Se observaron efectos significativos del nivel de P en los coeficientes alométricos (pendiente e intersección) obtenidos de las relaciones del contenido de N y P en granos de soja de los cinco sitios experimentales ($p < 0,01$, **Tabla 3.3**).

La relación N:P en grano estuvo asociado al contenido de P en granos en los sitios experimentales. En Lambaré (sitio con mayor contenido de P en el suelo, resultados del capítulo 2) las curvaturas de la relación N:P separaron menos a los tratamientos con y sin P (**Figuras 3.6A y B**). La función log N grano y log P grano ilustra con mayor claridad la

diferencia entre los tratamientos y éstas diferencias estuvieron dadas por la fertilización fosforada (**Figuras 3.6B**). Por lo cual, la relación entre N y P podría ser representada por dos funciones, una que involucra a los tratamientos sin P agregado (Testigo y NS) y otra a los tratamientos que fueron fertilizados con P (PS, NP, NPS y Completo) (**Tabla 3.3**). La relación N:P en granos tuvo una ligera relación inversa con el rendimiento ($R^2=0,15$, **Figura 3.6C**).

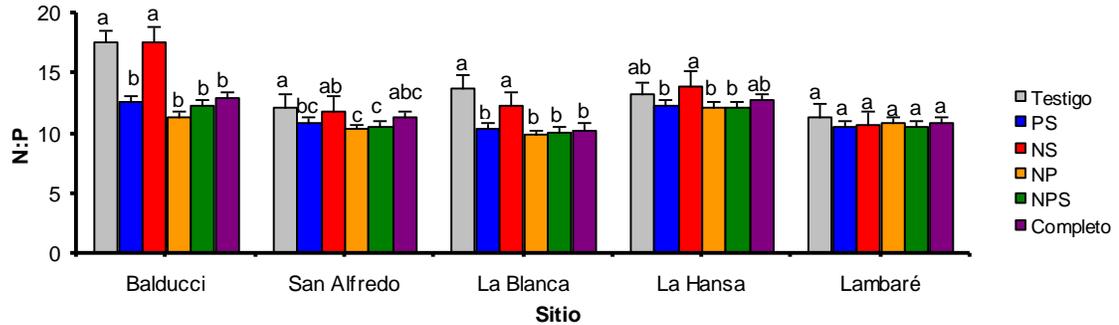


FIGURA 3.5: Relación N:P granos entre los tratamientos en todos los sitios. Cambios de letra implican diferencias significativas determinadas mediante LSD a un nivel de 5% en cada sitio

TABLA 3.6: ANOVA de Relación N:P granos y contraste entre los tratamientos sin P vs con P.

ANOVA					
	Fuente de variación		Valor F	Valor <i>p</i>	
	Sitio		10,30	<0,01	
	Tratamiento		5,51	<0,01	
	Sitio x tratamiento		2,99	<0,01	
Contraste NS+T vs PS+NP+NPS+Completo	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Valor <i>p</i>	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,44

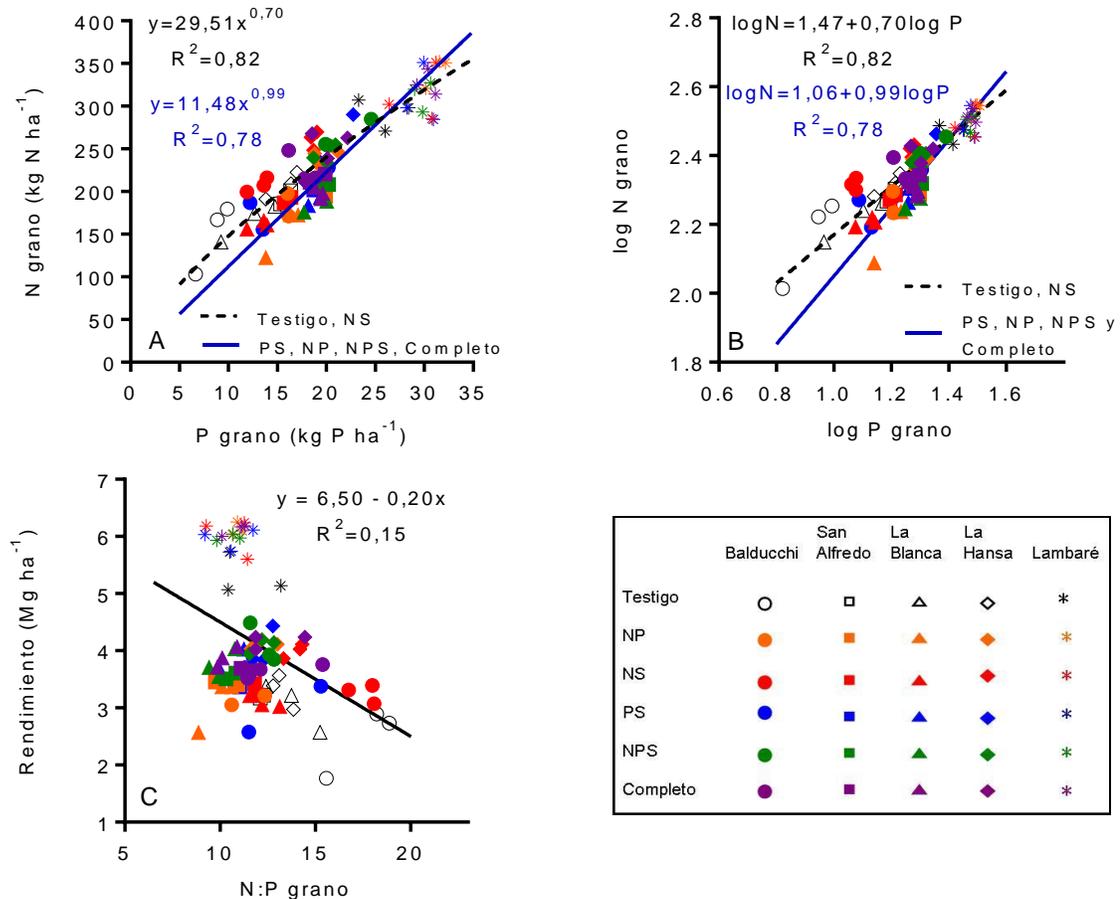


FIGURA 3.6: (A) Relación entre N y P en granos de soja, la línea negra punteada corresponde a la función potencial de los tratamientos sin fertilizar con P y la línea azul llena al de los fertilizados con P. (B) Relación entre N y P en granos de soja, la línea negra punteada corresponde a la función logarítmica de los tratamientos sin fertilizar con P y la línea azul llena al de los fertilizados con P. (C) Relación entre el rendimiento y N:P en grano, la línea corresponde a la función de todos los sitios y tratamientos.

Relación N:S en granos

La fertilización con S provocó aumentos en el contenido de S en grano (23%, **Figura 3.4A**) y, por lo tanto, cambios en la relación N:S (**Figura 3.8A**). La caída de la relación N:S con el agregado de S como fertilizante se explica por la mayor sensibilidad de la concentración de S en grano al manejo de la fertilización, comparado con la concentración de N en grano (**Figura 3.2A y 4A**). En Balducchi, La Hansa y Lambaré se observaron los mayores efectos de la aplicación del S sobre la relación N:S en los granos (**Figura 3.7**). La función log N y log S en grano graficadas en la **Figura 3.8B** revelan mejor la relación entre el contenido de N y S en grano que la escala potencial. Se usó la función logarítmica con el fin de preservar la proporcionalidad de la "hipótesis estequiométrica" entre el N y S en los granos. Vale aclarar que isometría (pendiente ~1) es cuando la función se encuentra muy cerca de la línea 1:1 y alometrías positiva (pendiente >1) por encima de la línea 1:1 y negativa (pendiente <1) por debajo de la línea 1:1. El contenido de N vs S ajustados con la escala logarítmica muestran un notable ajuste (R^2 : 0,71 y 0,73). No existe efecto significativo del nivel de S en las pendientes obtenidas de esta relación, pero existe diferencia entre los valores de las ordenadas del origen de los tratamientos que no se fertilizaron con S respecto

de los que recibieron S (**Tabla 3.3**). Por lo cual, el contenido de N y S en granos también se podrían representar por dos funciones, una que involucra a los tratamientos sin agregado de S (Testigo y NP) con ordenada de origen de 1,50, y otra con el grupo de tratamientos que recibieron S (NS, PS, NPS y Completo) con ordenada de origen de 1,41. Ambas funciones con la misma pendiente ($b=0,93$), lo que implica que dada una cantidad de N en grano, la cantidad de S en grano de los tratamientos donde se agregó azufre fue un 25% mayor que en los tratamientos donde no se agregó S (**Figura 3.8A**). El rendimiento y la relación N:S en granos no estuvieron relacionados (**Figura 3.8C**).

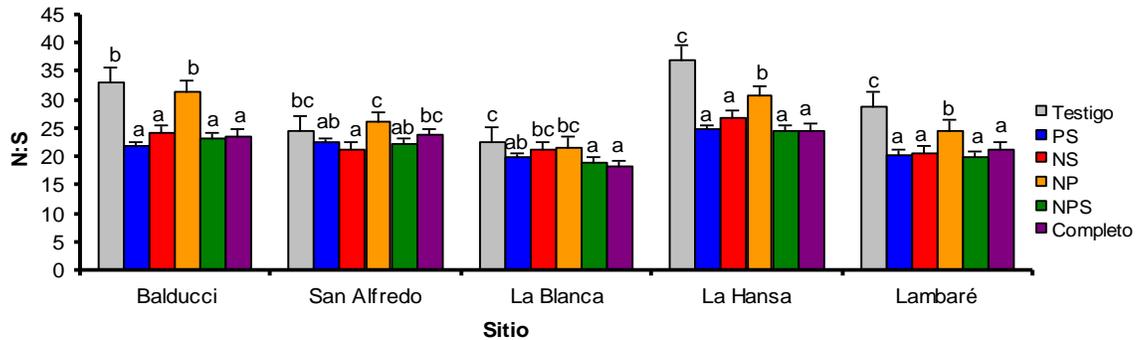


FIGURA 3.7: Relación N:S granos entre los tratamientos en todos los sitios. Cambios de letra implican diferencias significativas determinadas mediante lsd a un nivel de 5% en cada sitio.

TABLA 3.7: ANOVA de Relación N:P granos y contraste entre los tratamientos sin S vs con S.

	ANOVA				
	Fuente de variación	Valor F	Valor p		
	Sitio	55,40	<0,01		
	Tratamiento	44,77	<0,01		
	Sitio x tratamiento	3,74	<0,01		
Contraste NS+T vs PS+NP+NPS+Completo	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Valor p	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

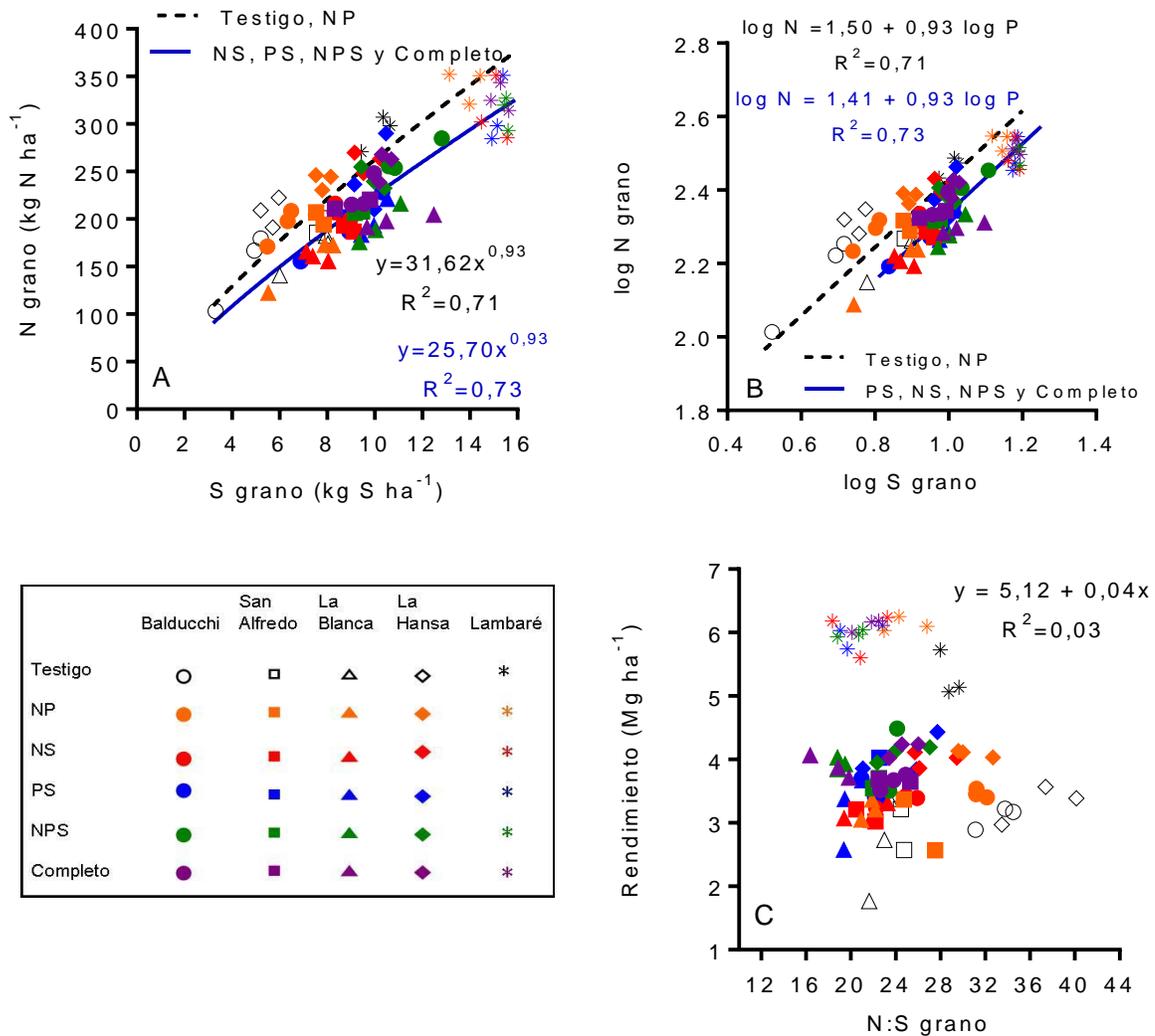


FIGURA 3.8: (A) Relación entre N y S en granos de soja, la línea negra punteada corresponde a la función potencial de los tratamientos sin S y la línea azul llena a la función de regresión de los fertilizados con S. (B) relación entre N y S en granos de soja, la línea negra punteada corresponde a la función logarítmica de los tratamientos sin S y la línea azul llena a la función de los fertilizados con S. (C) Falta de relación entre N:S en granos y rendimiento en todos los tratamientos.

Relación P:S en grano

La fertilización de largo plazo con S generó aumentos en la concentración de S en granos del 23%, mientras que la fertilización con P generó un aumento de concentración de P en granos de 9,5%. La mayor sensibilidad del contenido de P en granos explica que los cambios en la relación P:S se deban más al agregado o no de S, que al de P (**Figura 3.10A**). Analizando todos los sitios juntos los tratamientos se agruparon según se haya o no agregado S (i.e. una función para los tratamientos sin S y otra para los tratamientos con S) (**Figura 3.10A**). No se observaron diferencias importantes entre sitios (**Figura 3.9**), sin embargo el contenido de P y S en granos se relacionaron isométricamente ($b \sim 1$) tanto en el grupo de tratamientos con agregado de S como en el grupo de tratamientos sin S (**Tabla 3.3** y **Figura 3.10B**). Solo se vieron diferencias en la ordenada de origen de ambos grupos de tratamientos.

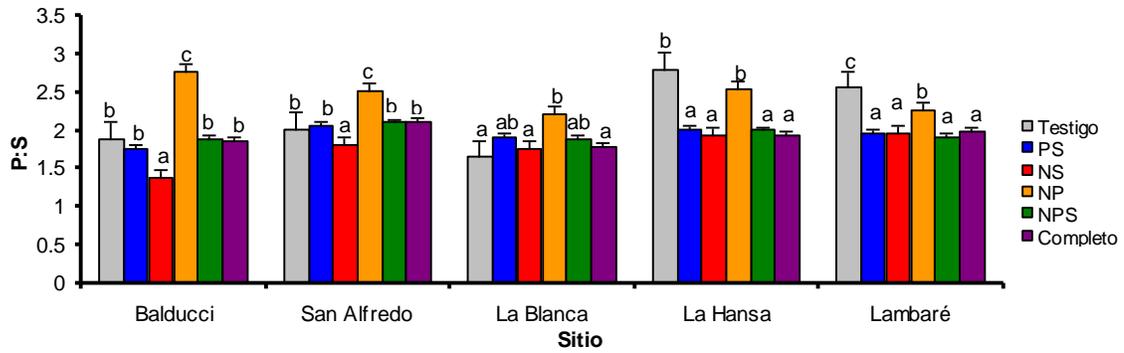


FIGURA 3.9: Relación P:S granos entre los tratamientos en todos los sitios. Cambios de letra implican diferencias significativas determinadas mediante LSD a un nivel de 5% en cada sitio.

TABLA 3.8: ANOVA de Relación P:S granos y contraste entre los tratamientos sin S vs con S.

ANOVA					
Fuente de variación	Valor F	Valor p			
Sitio	10,59	<0,01			
Tratamiento	24,70	<0,01			
Sitio x tratamiento	4,54	<0,01			

Contraste NP+T vs PS+NS+NPS+Completo	Balducci	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Valor p	<0,01	<0,01	0,41	<0,01	<0,01

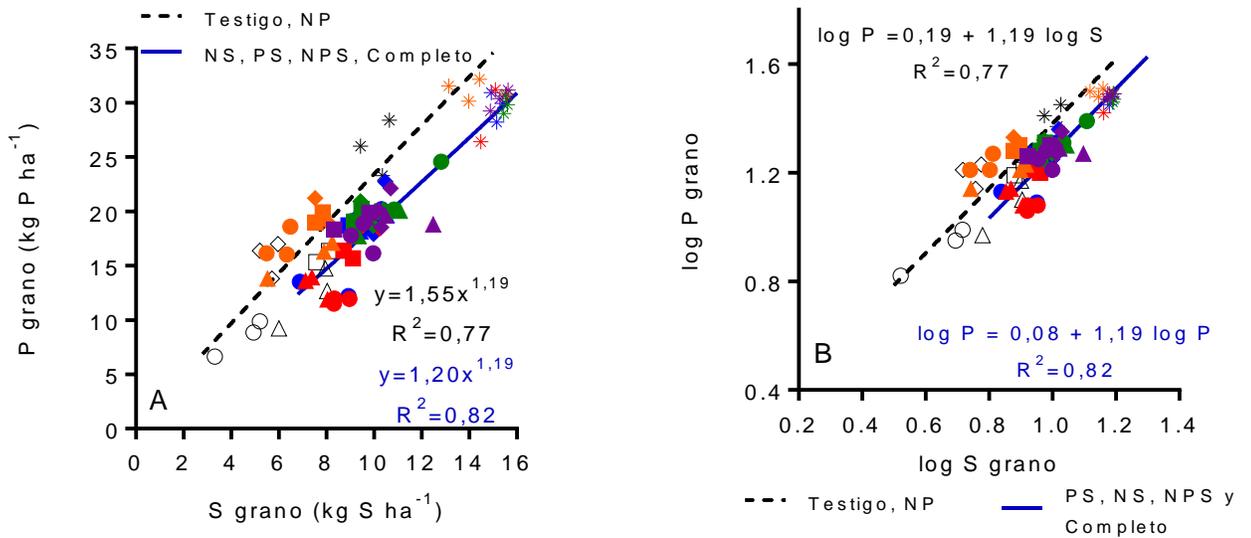


FIGURA 3.10: (A) Relación entre exportación de P y S en granos de soja. La línea negra punteada corresponde a la función de los tratamientos sin S y la línea azul llena a la función de los fertilizados con S. (B) Relación entre exportación de P y S en granos de soja. La línea negra punteada es la función logarítmica de los tratamientos sin fertilizar con S y la línea azul llena a la función de los fertilizados con S.

	Balducci	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

TABLA 3.9: Parámetros de función de líneas log mostrados en las figuras 3.6B, 3.8B, 3.10B usando SMA para las relaciones entre contenido de N, P y S en grano. Los grupos 0 (tratamientos control i. e. situaciones sin aplicación de P ó S) vs grupos 1 (tratamientos fertilizados con P ó S). Prueba de Wald indica las entradas en “log a” entre los grupos.

Relaciones estequiométricas	Grupo de datos	R ²	Comparación común			Comparación de líneas con pendiente común		
			B	log a	p-Valor*	b	log a	p-Valor**
N vs P	P0	0,82	0,71	1,47	<0,01	---	---	---
	P1	0,78	0,99	1,06				
N vs S	S0	0,71	0,89	1,54	0,57	0,93	1,50	<0,05
	S1	0,73	0,96	1,39			1,41	
P vs S	S0	0,77	1,16	0,22	0,69	1,19	0,19	<0,05
	S1	0,82	1,21	0,06			0,08	

DISCUSIÓN

1. Rendimiento y concentración de N, P y S en granos

Rendimiento de granos

El diseño experimental y los resultados de rendimiento no permitieron establecer con certeza qué nutriente limitó más frecuentemente el rendimiento. Aunque los cambios en la concentración de nutrientes en granos sugieren que el P y S fueron los nutrientes más limitantes, lo cual concuerda con los antecedentes en esta región, donde se ha observado respuestas positivas en rendimiento al agregado de P y S. Sin embargo, no se fertiliza con N al cultivo de la soja. Existen varios estudios que reportaron respuestas positivas del cultivo de soja a la fertilización fosfatada produciendo aumentos en rendimiento y N total en granos (Kamara *et al.*, 2012; Ogoke *et al.*, 2003; Kamara *et al.*, 2008). Según Leegood *et al.* (1985) la deficiencia de P reduce la fotosíntesis debido a la disminución de la exportación de P-triosa del cloroplasto al citosol y, a la reducción de la Rubisco (Rao y Terry, 1995). La eficiencia del cultivo de soja para fijar N también puede ser afectada por la limitación de este nutriente en el suelo (Kamara *et al.*, 2008). Vandamme *et al.* (2013) reportaron que la aplicación de P al cultivo de soja aumentó significativamente la densidad y longitud de la raíz así como la materia seca. Algunos investigadores mostraron que el P agregado como fertilizante aumenta la expansión foliar y conductividad hidráulica del sistema radical (Radin y Eidenbock, 1984). Garside y Fulton (1986) informaron que la aplicación de P aumentó el número de vainas planta⁻¹ y por consiguiente el rendimiento. En cuanto a la fertilización nitrogenada, en la región pampeana no recomiendan aplicar N directamente al cultivo de soja, porque no hay evidencias de que esta práctica aumente el rendimiento. Kamara *et al.* (2012) no vieron aumentos de rendimiento de granos con la aplicación de N directamente al cultivo de soja, por el contrario la fertilización con P incrementó el rendimiento hasta un 66%. Por su lado, la aplicación de S ha demostrado ser una herramienta importante para mejorar los rendimientos (Cordone y Martinez, 2001). Antecedentes de respuesta a la fertilización azufrada en la región pampeana y el resto del mundo han demostrado que el rendimiento de soja puede verse afectado negativamente por la limitación del S y estas respuestas son más frecuentes en suelos con bajos contenidos de MOS. Gutiérrez Boem *et al.* (2007) vieron que el componente más importante del

(*) p-valor para comparación de valores de b

(**) p-valor para comparación las ordenadas de origen (log a) usando una pendiente

rendimiento, número de granos m^{-2} disminuye marcadamente ante la limitación del S. Otros autores también informaron respuestas al agregado de S en la región pampeana (Martínez y Cordone, 1998; Cordone y Martínez, 2001). En el centro sur de Santa Fe se han visto respuestas al S tanto en cultivos de soja de primera (aplicación directa de S) y de segunda (fertilización con S al cultivo antecesor, generalmente trigo) (García, 2004). Scherer (2001) también informaron que deficiencias del S disminuyen los rendimientos en leguminosas y otras especies de cultivos. Mascagni *et al.* (2008) registraron respuestas al agregado de S en el cultivo de trigo. Las respuestas al S se producen cuando la concentración de MO del suelo es $<20 \text{ g kg}^{-1}$, en cuyo caso el efecto de P no supera al del S en estas situaciones (Kaiser y Kim, 2013). Vale resaltar que actualmente el S es un elemento limitante en muchos sistemas agrícolas del mundo (Mascagni *et al.*, 2008; Divito *et al.*, 2015) incluyendo a la región pampeana (Salvagiotti *et al.*, 2012a). Nuestros resultados sugieren que la fertilización con P y S serían más importantes para incrementar el rendimiento del cultivo de soja, ya que el N fue provisto por fijación biológica.

El ANOVA de rendimiento de granos en cada sitio evidencia que el efecto de la fertilización no fue el mismo en todos los sitios experimentales. Las diferencias de rendimiento entre los tratamientos NPS y PS en Balducchi y San Alfredo (soja de segunda) sugieren que hubo respuesta significativa al N. Salvagiotti *et al.* (2012b) reportaron respuestas más frecuentes a la fertilización en soja de segunda. Las diferencias de rendimiento entre NPS y NS ó PS muestran que en tres de los cinco sitios hubo respuesta a P y S (i. e. Balducchi, San Alfredo y La Blanca). En Lambaré y La Hansa sólo el Testigo fue inferior a los demás tratamientos sugiriendo una falta de respuesta significativa al N, P y S (**Tabla 3.1**). Lo cual puede indicar que éstos sitios no están colimitados por N, P y S, la diferencia del Testigo puede ser debido a una degradación del suelo en CO que condujo a un menor crecimiento vegetal con lo cual hubo menos aporte de C proveniente de los residuos de cosecha sumando las deficiencias nutricionales. Los análisis de suelo en los sitios mostraron que la concentración de $\text{P}_{\text{Bray 1}}$ en el estrato de 0-20 cm del tratamiento NS en Balducchi, San Alfredo y La Hansa fueron los más bajos (5,11; 6,58 y 8,60 ppm respectivamente) mientras que el mismo tratamiento (NS) en La Hansa y Lambaré alcanzaron valores de 12,82 y 22,88 ppm respectivamente (Resultados del **capítulo 2**). Los valores de P Bray 1 en estos dos últimos sitios están muy por encima del umbral crítico en la región pampeana, que son de 9-16 ppm (Ferraris *et al.*, 2002, Gutiérrez Boem *et al.*, 2010). Lambaré, La Hansa y San Alfredo son los sitios menos laboreados en relación a Balducchi. Por lo cual, las mayores respuestas a N, P y S y, la mayor interacción positiva entre N, P y S se vieron en Balducchi (**Tabla 3.1**). Varios investigadores informaron que la probabilidad de obtener respuesta al agregado de S se da en situaciones de bajos contenidos de MOS, antecedentes de no aplicación de S, suelos ligeros y erosionados (Kaiser y Kim, 2013; Salvagiotti *et al.*, 2012a) coincidiendo con nuestros resultados.

Hay algunos trabajos que recomiendan realizar aplicaciones combinadas de S e inoculantes para incrementar los rendimientos (Hussain *et al.*, 2011) debido a que el S es parte de la leg-hemoglobina, componente de los nódulos, encargados de fijar N en leguminosas (Hitsuda *et al.*, 2004; Scherer *et al.*, 2008; Varin *et al.*, 2009) aumentando así los rendimientos y contenidos de proteína en granos, lo cual también podría favorecer los mayores retornos de C al suelo (i. e. turnover de restos de cosecha). Otros investigadores también informaron que existe sinergismo entre el N y S en soja (Salvagiotti *et al.*, 2009; Sharma y Sharma, 2014). Singh *et al.* (2005) por su lado afirmaron que existe interacción

entre el N y el P en el cultivo de soja porque el P tiene efectos directos sobre la nodulación (i. e. ganancia de N) y rendimiento. Chapin (1991) indicó que la limitación de N reduce el potencial de absorción de fosfato por las raíces, y un estrés de fosfato reduce el potencial de absorción de N, es decir estos dos elementos están estrechamente relacionados. Las diferencias de rendimiento entre sitios experimentales también pueden obedecer a las diferencias de uso de suelos, ya que Balducchi es el más laboreado y Lambaré tiene menos años de agricultura.

Las precipitaciones fueron abundantes durante todo el ciclo del cultivo (octubre-marzo), con menor registro en diciembre, pero con excesos hacia el final del ciclo por las lluvias registradas desde fines de enero hasta mediados de marzo (Boxler *et al.*, 2014). Los sitios con soja de primera fueron Lambaré, La Hansa y La Blanca. Los rendimientos en Lambaré alcanzaron el récord de soja de primera, en La Blanca, fueron más bajos que las últimas campañas, mientras que en La Hansa los rendimientos se mantuvieron estables comparados con campañas previas (Boxler *et al.*, 2014). En los sitios con soja de segunda (Balducchi y San Alfredo) también se vieron rendimientos cercanos al promedio (Boxler *et al.*, 2014), obviamente los rendimientos fueron menores en soja de segunda.

Concentración de N, P y S en granos

La concentración de N en granos de soja no cambió cuando no se repuso los nutrientes mediante la fertilización, mientras que la diferencia entre sitios fue significativa (**Tabla 3.2A**). Singh *et al.* (2003) indicaron que existen rizobios nativos en el suelo encargados de promover la fijación biológica de N una vez que las plantas del cultivo se hayan establecido. El N de los suelos se hace importante para el cultivo sólo en las primeras etapas de crecimiento (Fabre y Planchon, 2000). Varios trabajos reportaron que más del 50% del N absorbido por el cultivo de soja proviene de la fijación biológica (Álvarez *et al.*, 1995; Collino *et al.*, 2015), lo cual varía con el tipo de cultivar, factores ambientales y la fertilidad de los suelos (Álvarez *et al.*, 1995). Por lo cual, es razonable que los regímenes de fertilización no hayan afectado al contenido de N en granos ya que este cultivo cubre sus requerimientos de N mediante la fijación biológica. Las diferencias entre sitios podrían obedecer a los efectos de las distintas características ambientales (temperatura y disponibilidad de agua), químicas y físicas de los suelos que influyeron sobre la exportación de N en granos (Sinclair, 1986). En Lambaré y La Blanca las concentraciones de N en grano fueron más bajas. Lo cual sugiere que los granos de soja de estos sitios tuvieron bajas concentraciones de proteínas.

Los valores de concentración de N en granos variaron entre 57,9 y 75,3 g N kg⁻¹. El 50% de los casos se ubicaron entre 61,1 y 70 g N kg⁻¹ (**Tabla 3.3A**). Salvagiotti *et al.* (2008) informaron datos de un estudio de meta-análisis de 61 estudios de soja donde mostraron que el 50% de la variación de concentración de N en granos se ubicaron en un rango de 60 a 67,5 g N kg⁻¹, en promedio 63,4 g N kg⁻¹. Los resultados en este estudio superaron ligeramente a los obtenidos por Salvagiotti *et al.* (2008). Se demostró también que la concentración de N en granos es constante y no varía con el rendimiento (**Figura 3.2B**) coincidiendo con los resultados de Kinugasa *et al.* (2012).

La concentración de P en granos de los tratamientos de fertilización fue variable con los sitios experimentales (interacción sitio x tratamiento significativa, **Tabla 3.2**). Está documentado que el agregado continuo de P en el suelo conduce a aumentos del P total y

lábil en el suelo (Zheng *et al.*, 2002; Ciampitti *et al.*, 2011c) lo que explica la mayor disponibilidad de este nutriente que se obtuvo cuando se fertilizó con P (NP, PS, NPS y Completo). Barrow (1980) indicó que la fertilización fosforada produce los mayores efectos residuales en el suelo porque los iones fosfatos tienen mayor capacidad de adsorción en las arcillas en comparación a los SO_4^- y NO_3^- . Ante una mayor disponibilidad de P en el suelo, la planta pudo absorber y destinar más P a los granos (**Tabla 3.2**). En situaciones limitantes de P en el suelo (Testigo y NS), las concentraciones de P en granos fueron inferiores (5,0 y 5,1 g P kg⁻¹ respectivamente). La interacción doble sitio x tratamiento significativa podría atribuirse a las variaciones en contenido de P en los sitios, así Lambaré fue el más rico en P, mientras que Balducchi el más pobre (Resultados del capítulo 2). Sin embargo, aunque en distintas magnitudes en todos los sitios se vio el mismo patrón de sensibilidad del cultivo de la soja al agregado de este nutriente como fertilizante.

La concentración de S en granos fue afectada por los tratamientos de fertilización ($p < 0,01$). La falta de reposición de S provocó mermas en concentración este nutriente en los granos, así la disminución del S en granos por no fertilizar (Testigo) fue de 21% respecto al tratamiento Completo (**Tabla 3.2**). Las diferencias de contenido de S en granos entre sitios también fue significativa ($p = 0,01$). Hitsuda *et al.* (2004) informaron que la concentración de S en granos baja con la disminución de la tasa de S aplicado. Lo cual sugiere que este cultivo es sensible al agregado de S, consistente con nuestros resultados. Ellos clasificaron la concentración de S en granos como deficiente ($< 1,5$ g kg⁻¹), muy bajo (1,5 – 2,0 g kg⁻¹), bajo (2 – 2,3 g kg⁻¹) y normal ($\geq 2,3$ g kg⁻¹). Kaiser y Kim (2013) también informaron un umbral de 3,3 g S kg⁻¹ en granos de soja. Divito *et al.* (2015) determinaron como umbral crítico 3,9 g S kg⁻¹ de grano en la región pampeana. Los resultados de concentración de S en este estudio variaron entre 2,8 y 3,2 g S kg⁻¹ en los tratamientos fertilizados con S (PS, NS, NPS y Completo) y, en situaciones sin agregado de S (Testigo y NP) estos valores estuvieron entre 2,1 a 2,6 g S kg⁻¹. Lo cual sugiere un umbral de 2,7 g S kg⁻¹ superior a lo reportado por Hitsuda *et al.* (2004), pero muy inferior a lo informado por Divito *et al.* (2015). Vale aclarar que Divito *et al.* (2015) observaron una débil relación entre en rendimiento relativo y la concentración de S en granos ($R^2 = 0,12$). Esto sugiere que los umbrales de concentración de S informados por Hitsuda *et al.* (2004) no son válidos en nuestra región como también sugirieron Salvaggiotti *et al.* (2012a). Por otro lado, Sexton *et al.* (1998) afirmaron que el periodo más importante de exportación de S en granos ocurre en el estado reproductivo. Sunarpi y Anderson (1997) también mostraron que el 87% del S de granos fue absorbido durante el llenado de granos. Es razonable que en nuestros ensayos la fertilización con S haya permitido una mayor disponibilidad de este nutriente en el suelo durante el ciclo de cultivo, lo cual provocó una mayor absorción y destino de S a los granos en situaciones de mayor disponibilidad.

La interacción sitio x tratamiento significativa ($p < 0,05$) sugiere que hubo diferencia de los efectos de fertilización en los sitios. Existen patrones comunes en todos los sitios. La concentración de S fue menor en los tratamientos Testigo y NP comparado con los tratamientos NPS y PS en todos los sitios. El tratamiento NS en La Blanca marcó la diferencia entre los sitios porque fue estadísticamente igual al Testigo pese a que se agregó S como fertilizante. Sin embargo, este tratamiento (NS) en los otros cuatro sitios alcanzó valores mayores al Testigo y NP (tratamientos sin S). Los resultados vistos en La Blanca se podrían atribuir a la baja residualidad del nutriente agregado por ser un suelo arenoso y

altas precipitaciones (resultados del capítulo 1). Vale resaltar que en San Alfredo se vieron los mayores valores de concentración de S en granos y en Balducchi los más bajos. Esto es atribuible a las diferencias en contenido de MOS entre estos sitios, los resultados mostrados en el Capítulo 1 indican a San Alfredo como el más rico y a Balducchi como el más pobre en MOS. Lo cual sugiere que la MOS fue una fuente importante de S además del fertilizante agregado concordante con los resultados de Kaiser y Kim (2013).

Figuras 3.2B, 3.3B y 3.4B sugieren que la concentración de nutrientes en granos (i. e. N, P y S) son independientes del rendimiento. Sale y Campbell (1980) también informaron que la concentración de nutrientes en peso seco durante el desarrollo de los granos es independiente de la acumulación de materia seca.

El diseño experimental no permitió conocer cuál de los nutrientes aportaron más al aumento en rendimiento de granos. Sin embargo, el agregado de S podría aumentar la calidad de los granos de soja, porque aumenta la concentración de los aminoácidos azufrados que le dan mayor valor a la proteína del grano, mientras que el agregado de P produce aumentos en concentración de P en granos, que puede ser un peligro ambiental.

2. Exportación de N, P y S en granos

La falta de fertilización con N a los cultivos antecesores a la soja no generó cambios en la exportación de N en granos (**Figura 3.2A**) ya que la concentración de N en granos tampoco varió (**Tabla 3.2**), ya que este cultivo fija N de la atmósfera. Nuestros resultados también muestran una relación lineal, positiva y muy estrecha entre el rendimiento y el contenido de N en granos (i. e. relación C:N) ($R^2=0,92$; **Figura 3.2A**). Agren (2004) también informaron que la relación entre el C y el N en especies autótrofas es positiva y lineal. Por lo cual, el rendimiento de granos es proporcional a la asignación de N a la planta (Hirose *et al.*, 2005). Si bien, la fertilización con N a los cultivos antecesores de la soja no aumentó la concentración de N en granos, hubo respuesta significativa al agregado de N en dos de los cinco sitios (San Alfredo y Balducchi) (**Tabla 3.1**). A mayores rendimientos las exportaciones de N en granos fueron más altas (**Figura 3.2A**). Así, en Lambaré (sitio con mayor rendimiento) la exportación de N en granos varió entre 271 y 352 kg N ha⁻¹ (i. e. en promedio 53,4 kg N Mg⁻¹) en los otros cuatro sitios las exportaciones de N variaron entre 103 y 290 kg N ha⁻¹ (i. e. en promedio 58,7 kg N Mg⁻¹). Los reportes de requerimientos nutricionales del cultivo de soja en la región pampeana indican que el cultivo requiere 80 kg de N para producir 1 Mg de grano, del cual el 75% es exportado a los granos (i. e. ~ 60 kg N Mg⁻¹) (Salvagiotti *et al.*, 2008) algo parecido al reporte de Hammond *et al.* (1951) que afirman que el 80% del N total de la planta es destinado a los granos. Nuestros resultados fueron ligeramente inferiores a los obtenidos por Salvagiotti *et al.* (2008). Así también se demostró que la exportación de N en granos es proporcional al rendimiento alcanzado. Kinugasa (2012) informaron que los granos tienen una concentración constante de nutrientes, por lo que a mayores rendimientos existen mayores salidas de nutrientes con los productos cosechados.

La **Figura 3.3A** muestra que la exportación de P en granos disminuyó cuando no se agregó este nutriente como fertilizante. Los efectos de la fertilización continua con P durante 14 años aumentaron la disponibilidad de P en el estrato de 0-20 cm de profundidad (resultados del **capítulo 1**), con lo cual el cultivo absorbió y destinó más P a los granos. Gutiérrez Boem y Thomas (1999) e Israel *et al* (2007) también informaron que la concentración de P

en granos de soja aumenta con la disponibilidad del P. Bonnie *et al.* (1982) informaron que la concentración de P en hojas también aumenta con una mayor disponibilidad en el suelo. En otro experimento de corto plazo Jia y Gray (2007) vieron que cuando no se fertilizó con P, la menor disponibilidad de P en el suelo y afectó al área foliar de las plantas. Esto puede afectar la oferta de asimilados para los granos traduciendo en pérdida de materia seca (Devi *et al.*, 2012). Estos antecedentes y los resultados obtenidos en este trabajo remarcan que la concentración de P en grano es sensible a la nutrición fosforada y que podría ser utilizada como un indicador para monitorear un programa de fertilización.

La exportación de P en granos fue distinta entre sitios experimentales ($p < 0,01$). En San Alfredo hubo mayor exportación de P en granos ($5,3 \text{ kg P Mg}^{-1}$) mientras que Balducchi presentó el valor promedio más bajo de exportación de P ($4,5 \text{ kg P Mg}^{-1}$), ambos sitios correspondientes a la rotación corta (T-M/S). Estos resultados son atribuibles a las diferencias en rendimiento ya que la concentración de P en granos no difirió entre sitios (**Figura 3.3A, Tabla 3.3**). Nuestros valores obtenidos en exportación de P en granos son algo inferiores a los reportes en la región pampeana. En esta región, Gutiérrez Boem (2015) informaron que este cultivo necesita 8 kg de P para producir 1 Mg de grano, del cual el 70% es destinado a los granos (i. e. exporta $5,6 \text{ kg P Mg}^{-1}$).

En cuanto a la exportación de S en granos, la **Figura 3.4A** muestra que el contenido de S en grano fue la más sensible al manejo de la fertilización con S. Aumentó de $2,1 \text{ kg S Mg}^{-1}$ en los tratamientos sin S (Testigo y NP) a $2,3 \text{ kg S Mg}^{-1}$ en los tratamientos con S agregado (PS, NS, NPS, Completo) lo que significa un 19% de aumento. Estos resultados sugieren que la soja es altamente sensible al agregado de S como fertilizante. Así como el P, el contenido de S en granos también podría ser utilizado como un indicador para monitorear un programa de fertilización. Salvagiotti *et al.* (2012a) indicaron que este cultivo requiere 6 kg de S por Mg de grano, con un 53% de índice de cosecha, es decir $3,2 \text{ kg}$ de S es exportado con 1 Mg de grano. Nuestros resultados son algo inferiores a dichos valores, lo cual sugiere que el S está siendo limitante en la región pampeana y, el valor proteico de los granos podría estar siendo afectado. El S también ayuda a mejorar la absorción de nutrientes como N, P, K y Ca (Nasreen y Farid, 2006). Salvagiotti y Miralles (2008) mostraron que el S aumenta la absorción de N debido a los incrementos en biomasa con el cual el cultivo tiene mayor captura y uso eficiente de la radiación. Otros autores también señalaron que la concentración de S en granos está relacionada con la composición de la proteína, una mayor concentración de S implica mayor proporción de aminoácidos azufrados como metionina y cisteína (Krishnan, 2008; Jan *et al.*, 2002). Hitsuda *et al.* (2004) vieron relación entre el rendimiento y la concentración de S en granos en suelos deficientes en S. En la región pampeana se han visto aumentos de la concentración de S en granos de trigo y soja con el agregado de este nutriente (Reussi, Echeverría y Rozas, 2011; Salvagiotti *et al.*, 2012a). Estos resultados son atribuibles a las deficiencias generalizadas de S en esta región. Por lo cual Divito *et al.* (2013) indicaron que la fertilización con S podría ser necesaria para mejorar la calidad del grano así como el rendimiento concordando con nuestros resultados.

El ANOVA de concentración de S en granos mostró interacción significativa Sitio x Tratamiento ($p < 0,01$). Es decir el efecto de la fertilización sobre la concentración de S en granos fue variable con los sitios. Cuando se compararon las diferencias entre los

tratamientos NPS y NP se vieron que en Balducchi y La Hansa fueron mayores las concentración de S en granos con el agregado del S (1,0 y 0,6 g S kg⁻¹ respectivamente) y en Lambaré se vio la más baja diferencia entre estos tratamientos (0,3 g S kg⁻¹). Estas variaciones entre sitios son atribuibles a las diferencias en concentración de C y nutrientes entre los suelos. Balducchi presentó las mayores deficiencias en C y nutrientes mientras que Lambaré no estuvo colimitado por los nutrientes (interacción NPS negativa, **Tabla 3.1**).

3. Relaciones estequiométricas N:P:S en granos de soja

Estequiometría N:P en granos

La disminución de las relaciones N:P en granos de soja fue explicada por los aumentos en contenido de P en granos (**Figura 3.6A**). Esto podría atribuirse al aumento de P disponible en el suelo con el agregado de fertilizantes fosforados (Resultados del **capítulo 2**), permitiendo una mayor absorción y exportación de P. Mientras que el N en grano es estable debido a la capacidad de fijación biológica del cultivo de soja. Por definición, la relación N:P es una función directa de la exportación de N e inversa de la exportación de P en granos. Por lo cual, es razonable que las relaciones N:P en granos disminuyan con el agregado de P como fertilizante. Se ha demostrado que la relación N:P de la planta y del suelo están fuertemente relacionados (Fan *et al.*, 2015) por lo cual ante una mayor disponibilidad de P en el suelo las plantas de soja pudieron haber absorbido y destinado más P a los granos. El contenido de C y nutrientes en los granos reflejan la disponibilidad de recursos durante el ciclo del cultivo. Por lo cual, la relación N:P en granos podría ser el resultado de los procesos metabólicos ocurridos en la planta durante el ciclo de cultivo. Una de las biomoléculas que domina la estequiometría N:P en las células vegetales son los ácidos nucleicos debido a su alto contenido de N y P (Elser *et al.*, 1996). Sterner y Elser (2002) demostraron que el contenido de P es más variable que el N en los ácidos nucleicos. Lo cual tiene efectos directos sobre algunas funciones como el crecimiento y fotosíntesis de las plantas (Sardans *et al.*, 2012; Jia y Gray, 2007). Dordas (2009) informaron que la removilización de N y P a partir de tejidos vegetativos son muy importantes para el desarrollo del grano, la fertilización puede afectar a la materia seca y acumulación de N y P en los granos. Fan *et al.* (2015) observaron que en situaciones de limitación de nutrientes la estequiometría N:P en plantas se relaciona fuertemente con el crecimiento. Sin embargo, es difícil detectar este fenómeno en situaciones donde no hay limitación de nutrientes porque existe la probabilidad de consumo de lujo (Elser *et al.*, 2010). Sólo en situaciones de deficiencia de P (i. e. alto N:P en plantas) han informado probabilidad de respuesta a la fertilización con P (Gusewell *et al.*, 2003). Nuestros resultados también sugieren que en cultivos que tienen capacidad de fijar N como la soja, el nutriente que gobierna la estequiometría N:P en granos es el P y que en situaciones donde no existe colimitación de nutrientes (i. e. Lambaré, **Figura 3.5**) esta relación no es afectada por el agregado de P como fertilizante. Gusewell *et al.* (2003) usaron la concentración de nutrientes individuales en plantas (i. e. N ó P) con lo cual no lograron diferenciar poblaciones con limitación de nutrientes, sin embargo la relación N:P en plantas fue mejor predictor de las respuestas a N ó P. Los resultados de este estudio también sugieren que la relación N:P en granos podría ser un buen indicador del estado nutricional del suelo (e. g. P) que permita formular estrategias de fertilización del cultivo de soja.

La **Figura 3.6C** muestra una leve relación inversa entre N:P grano y el rendimiento ($R^2=0,15$). Lambaré (sitio con mayor rendimiento) presentó los valores más bajos de relación N:P en granos (promedio 10,7) y los valores más altos de N:P en granos se vieron en Balducchi (sitio con menor rendimiento, promedio 14,1). Esta leve tendencia de relación inversa entre N:P grano y rendimiento puede ser explicado por las diferencias en disponibilidad de P del suelo entre los sitios (mayor en Lambaré y menor en Balducchi, Resultados del capítulo 2). La **Figura 3.5** muestra que la relación N:P en grano de los tratamientos sin P (Testigo y NS) en Lambaré no se distinguen de los fertilizados con P, mientras que en Balducchi existe diferencia significativa de esta relación entre los dos grupos de tratamientos (i. e. fertilizados con P y sin fertilizar con P). En situaciones de disponibilidad de P las plantas pudieron haber absorbido más P y destinado a los granos. No se vio el efecto del N porque no se aplica este nutriente al cultivo de soja, debido a su capacidad de fijarla.

La **Figura 3.5** muestra un patrón general de la relación N:P en grano en cuatro de los cinco sitios (a excepción de Lambaré) donde los tratamientos sin P (Testigo y NS) siempre tuvieron las más altas relaciones N:P en grano mientras que en los otros tratamientos fertilizados con P (PS, NP, NPS y Completo) tuvieron más bajas y no hubo diferencia significativa de la relación N:P en granos. Lo cual sugiere que esta relación (i. e. N:P en grano) fue muy estable entre los sitios y podría ser usado como indicador de la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Para reducir las dimensiones entre los sitios y ver la relación entre el contenido de N y P en granos se ajustaron las líneas alométricas de los tratamientos con la función $\log N \text{ grano}$ y $\log P \text{ grano}$ (**Figura 3.6B**). El análisis alométrico mostró una clara agrupación de los tratamientos con y sin P, resultado consistente con varios reportes en tejidos vegetales (Gusewell, Koerselman y Verhoeven, 2003; Koerselman y Meuleman, 1996). Esta relación también fue informada por varios investigadores, por lo que se han establecido relaciones N:P óptimas para algunos cultivos (With *et al.*, 1999; Diuvenbooden *et al.*, 1996) que podrían servir como una herramienta en las recomendaciones de fertilización. La relación N:P puede reflejar la dinámica del balance de nutrientes y la limitación de nutrientes (e. g. P) en el suelo (Koerselman y Meuleman, 1996; Gusewell *et al.*, 2004).

La fertilización con P además de producir cambios en la relación N:P, hizo esta relación ligeramente más débil (bajó de $R^2=0,82$ en tratamientos sin P a $R^2=0,78$ en tratamientos con agregado de P) (**Figura 3.6A**). Esto podría explicarse porque en situaciones donde los nutrientes (especialmente el P) no son limitantes la planta pudo absorber y almacenar nutrientes que no desempeña un papel activo (consumo de lujo) (Elser *et al.*, 2010) con lo cual disminuye ligeramente su relación con el N exportado en granos. Este fenómeno fue reportado también para la hipótesis de la tasa crecimiento (correlación negativa entre N:P y la tasa de crecimiento) lo cual ha sido probada sólo en situaciones de limitación de nutrientes (Elser *et al.*, 2010). Vale resaltar que en la **Figura 3.6B** las pendientes de ambas curvas fueron marcadamente influenciadas por la riqueza en P de Lambaré (sitio con mayor rendimiento y contenido de P Bray 1). Las relaciones N:P en grano en Lambaré no discrimina a los tratamientos con y sin agregado de P. Lo cual generó que se vea isometría entre N y P en los tratamientos con P (NP, PS, NPS y Completo) y, alometría negativa entre el N y P en los tratamientos sin P. Salvagiotti *et al.* (2012a) reportaron que el N y P en granos de soja fueron isométricos (i. e. exponente igual a 1) tanto en los tratamientos con y

sin el agregado de P. Niklas y Coob (2006) evaluaron hojas de varias especies vegetales y vieron que el N y P presentaban exponente menor a 1 (alometría negativa). Las concentraciones de N y P son variables en los tejidos vegetales y pueden tener contenidos muy diferentes en los granos donde todas sus funciones fisiológicas están paralizadas (Salvagiotti *et al.* 2012a). Además la acumulación de fitato en los granos de leguminosas pueden alterar las relaciones N:P en estos tejidos por lo que resulta complejo proponer relaciones N:P optimas para las leguminosas (Sadras, 2006). Los resultados de diferencia de pendiente entre los tratamientos con y sin P en este estudio no se pueden atribuir a la limitación de P, sino a las riquezas de P de los sitios. Por su lado, Ogoke *et al.* (2003) vieron que el N total en los granos de soja se incrementó en un 40-47% cuando se aplicó P. Sardans, Rivas y Peñuelas (2012) y Agren (2004) informaron que la deficiencia de P afecta a la mecánica del ribosoma, disminuyendo la producción de proteínas. Vale aclarar que la mayor proporción de N orgánico está constituido de proteínas (Geider y La Roche, 2002). Los valores de las relaciones N:P en granos en este trabajo variaron entre 10 y 14 (**Figura 3.5**). Algo superior al reporte de Sadras (2006) que informó un promedio de N:P de 8,7 en leguminosas de alto rendimiento que incluyeron cultivos de *Pisum sativum*, *Phaseolus radiatus*, *Lens culinaris* y *Glycine max*. Elser *et al.* (2000a) informaron valores entre 12 y 13 de relación N:P en tejidos vegetales de plantas terrestres. Geider y La Roche (2002) reportaron un valor promedio de 16 en plantas acuáticas. Los pocos trabajos de relaciones estequiométricas entre N:P han sido desarrollados en distintas partes vegetativas por lo que no son comparables con nuestros resultados. En este estudio se expresaron las relaciones N:P en unidades de masa (i. e. kg N / kg P, **Figura 3.6A**) para facilitar la comparación de nuestros resultados con la literatura. Sterner y Elser (2002) expresaron estas relaciones como unidades de masa (g N/g P) y como relaciones atómicas (mol N/mol P). Ellos indicaron que las relaciones molares se usa comúnmente en trabajos fisiológicos porque reflejan relaciones estequiométricas reales.

Estequiometría N:S en granos

La fertilización azufrada produjo aumentos en exportación de S en granos en un 23%, mientras que no se vieron efectos de la fertilización sobre la exportación de N en granos (**Figuras 3.2A y 3.4A**). La relación N:S en granos disminuyó con el agregado de S (**Figura 3.8A**). Está documentado que el suministro de nutrientes aumenta la capacidad de fijación del N en leguminosas. Aplicaciones azufradas influyen sobre la nodulación y el metabolismo de N (Varin *et al.*, 2009), mientras que el nitrato del suelo y el N de la fijación biológica son importantes para maximizar los rendimientos (Fabre y Planchon 2000). La mayor proporción de N orgánico está constituido de proteínas (Geider y La Roche, 2002) y, el 80% del S orgánico se encuentra incorporado en las proteínas (Sexton *et al.*, 2002). Las leguminosas son fuente importante de proteínas (Sharma y Sharma, 2014). Estos cultivos tienen alta demanda de S porque las proteínas de los granos contienen aminoácidos ricos en S como la cisteína y metionina que le confieren calidad proteica a los granos (Sexton *et al.*, 2002), en situaciones limitantes de S predominan otros aminoácidos no azufrados (Blagrove *et al.*, 1976; Sexton *et al.*, 2002). Arora y Luthra (1971) también vieron que los aminoácidos que contienen S correlacionan positiva y significativamente con el contenido de S en las hojas de soja en todas las etapas de crecimiento. La composición de aminoácidos de los granos de soja puede variar dependiendo del nutriente disponible para el cultivo. Otros cultivos como la colza (Finlayson *et al.*, 1969), *Lupinus angustifolius*

(Blagrove *et al.*, 1976) y trigo (Blake-Kalff *et al.*, 2000) también mostraron ser sensibles al agregado de S. La relación N:S en tejidos vegetales fue investigado en muchas plantas hace más de 100 años por Liebig (1859), con lo cual logró reconocer la función del S en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estudios más recientes, plantean la posibilidad de usar esta la relación (i. e. N:S) para reconocer suelos deficientes en S (Salvagiotti *et al.*, 2012a; Divito *et al.*, 2015; Blake-Kalff *et al.*, 2000). Estos trabajos (i. e. relación N:S en granos) fueron realizados en el cultivo de trigo (Randall *et al.*, 1981; Reussi Calvo *et al.*, 2011) y soja (Salvagiotti *et al.*, 2012a; Divito *et al.*, 2015). Gaylor y Sykes (1985) sugirieron usar el contenido de S en granos como indicador más adecuado para evaluar el estado del S en el suelo, ya que los análisis de suelo no han demostrado ser herramientas útiles para los diagnósticos de fertilización azufrada. Nuestros resultados también sugieren que la estequiometría N:S en granos puede ser una herramienta complementaria a los diagnósticos de fertilización azufrada en el cultivo de soja.

Gran parte de la relación N:S en granos estuvo explicado por la concentración de S en granos ($R^2=0,76$; resultados no mostrados). Esto reitera la sensibilidad del cultivo de soja a la fertilización azufrada. Los tratamientos que recibieron S (NS, PS, NPS y Completo) tuvieron las más bajas relaciones N:S en granos, mientras que en situaciones contrarias las relaciones N:S en granos fueron altas. Sin embargo, la concentración de N en granos tuvo menor relación con el N:S en granos (resultados no mostrados). Los valores de N en granos fueron muy parecidos entre los tratamientos, sólo se vieron diferencias en la relación N:S entre los tratamientos con y sin S (**Figura 3.8A**). Estos resultados sugieren que la deficiencia de S no tuvo importantes efectos sobre la concentración de N en granos (i. e. fijación de N) pero podría haber afectado a la calidad de las proteínas. Arora y Luthra (1971) también vieron en un ensayo en macetas que la deficiencia de S no afectó a la fijación de N, pero evitó la conversión de N en proteínas en granos de *Phaseolus aureus L.* La **Figura 3.8C** muestra que la relación N:S en granos fue independiente del rendimiento ($R^2=0,03$). Lo cual sugiere que esta relación (N:S grano) podría estar más relacionada con la calidad proteica de los granos más allá de los rendimientos obtenidos.

El ANOVA de la relación N:S en granos muestra diferencia entre sitios y tratamientos, así como la interacción doble Sitio x Fertilización fue significativa ($p<0,01$) (**Figura 3.7**). Los efectos de la fertilización sobre las relaciones N:S en granos variaron con los sitios. En todos los sitios se vieron que la falta de fertilización con S (i. e. Testigo y NP) aumentaron los valores de las relaciones N:S en grano mientras que en los demás tratamientos (PS, NS, NPS y Completo) las relaciones N:S no difirieron entre sí. Lo cual demuestra la estabilidad de esta relación con los sitios. Cuando se compararon las diferencias de la relación N:S en grano entre los tratamientos NPS y NP en los sitios, se vieron que las mayores disminuciones de la relación N:S en grano fueron en Balducchi y La Hansa (-26% y -20% respectivamente) mientras que en La Blanca y San Alfredo las magnitudes de disminución de la relación N:S en granos con el agregado de S fueron menores (-12% y -15% respectivamente). Estas diferencias de efectos del agregado de S sobre las relaciones N:S en grano entre los sitios es el resultado de las distintas disponibilidades de S entre los sitios. Lo cual se corroboró con un ANOVA de las relaciones N:S en grano excluyendo a los tratamientos sin S (Testigo y NP) donde se vieron diferencias entre sitios altamente significativas ($p<0,01$) (resultados no mostrados). La Blanca y Lambaré tuvieron las más bajas relaciones N:S en grano (i. e. mayores contenidos de S en grano) mientras que en La

Hansa y Balducchi estas relaciones fueron las más altas, siendo éstos los sitios más limitantes en S fueron La Hansa y Balducchi. En este estudio, asumiendo que los tratamientos a los que se agregó S (NS, PS, NPS y Completo) no tuvieron deficiencias de este nutriente, y los cultivos tuvieron relaciones N:S de 20-25 (**Figura 3.7**), se puede tomar este rango como valores de referencia para cultivos bien provistos de S. Granos de soja con relaciones N:S mayores sugerirían cultivos deficientes en S. Salvagiotti *et al.* (2012a) reportaron como valor crítico de la relación N:S en granos de soja de 22 para identificar sitios deficientes en S. Por su lado, Divito *et al.* (2015) reportaron como valor crítico de N:S en granos de soja de 13,5. Sexton *et al.* (1998) indicaron un valor crítico de N:S en cotiledones de granos de soja de 20 a 25. Dijkshoorn y Van Wijk (1967) informaron como valor umbral de la relación N:S de 40 en partes enteras en diferentes leguminosas. Los valores de la relación N:S en grano en los sitios experimentales superaron a los valores críticos establecidos en la región pampeana, lo que sugiere que la calidad de las proteínas de soja puede estar siendo afectadas por deficiencias de S en el suelo en estos sitios. Otros investigadores también reportaron valores críticos de N:S en granos de trigo de 13 y 17 (Randall *et al.*, 1981; Reussi Calvo *et al.*, 2011) y 14 para los granos de arroz (Randall *et al.*, 2003).

En cuatro de los cinco sitios (sin incluir a Lambaré) las exportaciones de N en granos no fueron distintas entre sí. Por el contrario, las menores exportaciones de S en granos se vieron en La Hansa y Balducchi. Las diferencias de relación N:S en grano entre los sitios sigue el mismo patrón (i. e. mayores relaciones N:S grano en La Hansa y Balducchi) sugiriendo el mayor peso de la variable contenido de S en grano sobre la relación N:S grano. Además, estos dos sitios (La Hansa y Balducchi) tuvieron los valores más bajos de S_{total} en suelos (resultado del capítulo 1) lo cual explicaría la menor exportación de S a los granos en estos sitios.

Se fijó función log N grano y log S en granos (**Figura 3.8B**) para reducir las dimensiones de los sitios experimentales y describir la relación entre las variables contenido de N y S en granos, donde los tratamientos se agruparon en dos, según se aplicaron o no S. Los tratamientos sin el agregado de S (Testigo y NP) presentaron los valores más altos de la relación N:S. El agregado de S como fertilizante cambió un coeficiente alométrico (intersección), mientras que la pendiente no fue afectada. La pendiente de los tratamientos (i. e. sin S y con S) fue muy cercano a 1 (0,93) lo cual indica que el contenido de N y S son isométricos en los granos de soja. Esto sugiere que el agregado de S pudo haber favorecido a la exportación de N (i. e. fijación biológica de N). Campbell (1999) informaron que el S es constituyente clave de las enzimas en el metabolismo de N. Benton y Peters (2004) también vieron asociación de las enzimas responsables de la fijación biológica de N con el S. Las deficiencias de S pueden alterar la proporcionalidad entre el N y S en granos por la acumulación de proteínas no azufradas (Sexton *et al.*, 1998), lo cual fue evidente en nuestros ensayos. Salvagiotti *et al.* (2012a) también vieron que el N y el S eran isométricos (pendiente 1,05) tanto en situaciones con y sin el agregado de S. Ellos informaron que la fertilización con S aumentó la intersección de 1,22 (en sitios sin el agregado de S) a 1,28 en sitios con agregado de S. Similar a nuestros resultados, el agregado de S afectó a la ordenada de origen de la estequiometría N:S en grano pero no a la pendiente. Desde hace varias décadas, muchos estudios en diferentes leguminosas han mostrado que el contenido de aminoácidos azufrados componentes de la proteína bajan marcadamente cuando hay deficiencias de S (Blagrove *et al.*, 1976; Gaylor y Sykes, 1985; Hitsuda *et al.*, 2004). Por lo

cual la relación N:S puede ser un buen indicador del valor proteico de los granos más allá de los rendimientos alcanzados. Sexton (2002) y Sexton *et al.* (1998) afirmaron que el metabolismo de N y S están vinculados, por lo tanto el uso de la relación N:S es mejor herramienta que considerar sólo concentraciones de S en granos. Si bien, el mejoramiento genético busca diseñar una planta de soja con alta capacidad de asimilación y almacenamiento de S en las proteínas (Krishnan, 2005), la limitación de este elemento en los suelos puede constituirse un problema de mayor importancia incluso para el mejoramiento genético. Los resultados observados en estos experimentos con fertilización de largo plazo sugieren que la fertilización puede ser una herramienta para mejorar la calidad proteica de los granos.

Estequiometría P:S en granos

El agregado de S provocó mayores aumentos en concentración de este nutriente en granos que el agregado de P, lo que a su vez provocó cambios en la relación P:S en granos (**figura 3.10A**). Si bien, el P cumple muchas funciones algunas de ellas son ayudar al crecimiento y fotosíntesis de las plantas (Jia y Gray., 2007; Singh *et al.*, 2005) y, el del S son favorecer a la nodulación y la calidad proteica en los granos (Varin *et al.*, 2009). En este estudio el cultivo de soja fue más sensible a deficiencias azufradas que fosfatadas. La mayor sensibilidad al agregado de S podría ser debido a la mayor deficiencia de S en los sitios experimentales. Cuando se compararon los valores de concentración de P en grano entre los tratamientos NPS y NS se vio un aumento significativo de la concentración de P en grano por fertilizar con P en tres de los cinco sitios (Balducci, San Alfredo y La Blanca) (**Tabla 3.2**). Sin embargo, el aumento de las concentraciones de S en grano por efecto de agregar S como fertilizante se vio en todos los sitios (i. e. diferencia significativa de concentración de S en grano entre los tratamientos NPS y NP) (**Tabla 3.2**). Las mayores magnitudes de deficiencia en S en el suelo ocasionaron mayores cambios en la relación N:S grano que en N:P grano. El P y el S cumplen roles esenciales en el cultivo. El S por ser componente de la nitrogenasa, su limitación puede afectar al tamaño y número de nódulos además de disminuir la concentración de aminoácidos azufrados en las proteínas de los granos (Divito y Sadras, 2014). Existen también trabajos que sugieren que las deficiencias de P disminuye el tamaño de los nódulos encargados de la fijación de N atmosférico por el efecto negativo sobre la actividad de la nitrogenasa (Ribet y Drevon, 1995; Giller y Cadisch, 1995).

La **Figura 3.10B** muestra que el contenido de P y S en los granos de soja son isométricos (pendiente ~ 1). Lo cual indica que ambos nutrientes en el grano son relativamente constantes coincidiendo con los resultados obtenidos por Salvagiotti *et al.* (2012a). Ellos informaron que tanto en los tratamientos fertilizados con S y sin S las constantes alométricas (pendiente e intersección) entre el contenido de P y S en granos no cambiaron y, obtuvieron una pendiente de 0,96. En nuestros ensayos, la fertilización con S disminuyó el valor de la intersección (bajó de 0,19 a 0,08) (**Tabla 3.3A y Figura 3.10B**). Esto podría indicar que la limitación severa de S aumenta las relaciones P:S en granos (i. e. mayor P en granos). No se observaron diferencias importantes de P:S grano entre sitios (**figura 3.9**), sin embargo los tratamientos que rindieron más (NPS y Completo) tuvieron valores intermedias (**Figura 3.9**).

CONCLUSIONES

- a. Los rendimientos de granos aumentaron por efecto de fertilización con N, P y S, las mayores respuestas a la fertilización se produjeron en sitios con mayores deficiencias nutricionales en el suelo.
- b. Los distintos regímenes de fertilización cambiaron la concentración de P y S en el grano y, por lo tanto, su exportación. La concentración de nutriente que mostró mayor sensibilidad al manejo de la fertilización fue la de S.
- c. Los granos de soja no cambiaron su contenido de N (i.e. proteína) y, por lo tanto, la exportación de N por efectos de fertilización continuada con N, P y S, no fue afectada.
- d. La fertilización continua de largo plazo con P y S cambió las relaciones entre N:P, N:S y P:S en los granos, mientras que las aplicaciones con N no influyeron de forma significativa. Tanto la relación N:P como la N:S tendieron a bajar levemente con el aumento de los rendimientos. La sensibilidad de la concentración de S y de la relación N:S al agregado de S como fertilizante, sugiere que la fertilización azufrada puede ser una herramienta para modificar la composición de la proteína del grano de soja (i.e. mayor proporción de aminoácidos azufrados), y mejorar así su valor nutricional.

CAPÍTULO 4: RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES (NITRÓGENO, FÓSFORO Y AZUFRE) EN EL SUELO Y EN EL GRANO DE SOJA

INTRODUCCIÓN

La soja es el cultivo más importante en la agricultura Argentina. En relación a otros cultivos, los requerimientos de nutrientes son elevados (Marchener, 1995). Para alcanzar 1 Mg de grano, requiere alrededor de 80 kg N, 8 kg de P y 6 kg de S (Salvagiotti *et al.*, 2004; Salvagiotti *et al.*, 2012a; Gutiérrez Boem, 2015). La fertilización del cultivo de soja ha aumentado en los últimos años, y existen evidencias en la región pampeana de respuestas al agregado de P y S (Ciampitti *et al.*, 2011c; Divito *et al.*, 2015). Las respuestas del cultivo de soja al agregado de nutrientes (i.e. P y S) dependen principalmente del nivel de disponibilidad de los mismos en el suelo y de otros factores del suelo, del cultivo y del manejo de la fertilización (Zamuner y Culot, 1999; Damon *et al.*, 2014; Divito y Sadras, 2014). Algunos trabajos de diagnóstico de fertilidad del cultivo de soja en la región pampeana han establecido umbrales críticos de $P_{\text{Bray 1}}$ entre 9 y 16 mg kg⁻¹ (Ferraris *et al.*, 2002, Gutiérrez Boem *et al.*, 2010). Suelos con disponibilidad de P por debajo de dichos valores pueden responder a la fertilización fosforada. Sin embargo, no existen métodos de diagnóstico de la fertilidad azufrada basado en análisis de suelos. Se han observado respuestas al agregado de S en suelos degradados, con mayores historias agrícolas y bajos contenidos de MO, principalmente en el centro y sur de Santa Fe y sudeste de Córdoba (Martinez y Cordone, 1998). Si bien en el país, existen claros indicios de los ambientes de respuesta a la fertilización azufrada, no ha sido posible hasta la fecha elaborar un sistema de diagnóstico que permita identificar suelos limitantes en S. Situación similar se observa en Europa (Scherer, 2001). Una posible explicación de la carencia de un sistema consistente de diagnóstico y de niveles críticos de S en el suelo es la muy variable presencia de azufre como sulfato por debajo de la profundidad de muestreo habitual (Russi *et al.*, 2012). Por otro lado, el cultivo de soja no requiere fertilización con N porque cubre gran parte de sus requerimientos con N proveniente de la fijación biológica (Gutiérrez Boem y Salvagiotti, 2014). Considerando los elevados requerimientos nutricionales de este cultivo es importante conocer la relación que existe entre el P y S exportado en los granos y las concentraciones en las distintas fracciones del suelo.

El análisis vegetal ha sido una herramienta útil como indicador de la fertilidad de los suelos. Evaluar la concentración de los nutrientes en el grano integra todos los factores que han afectado su crecimiento (i. e. disponibilidad de ese nutriente en el suelo, condiciones climáticas, manejo entre otros) (Randall *et al.*, 1981). La exportación de nutrientes se encuentra en equilibrio con la absorción de nutrientes del suelo y ese equilibrio depende de la disponibilidad de los nutrientes en el suelo. Se ha dicho que la fracción lábil del suelo es muy sensible a los manejos (Tong *et al.*, 2014; Lou *et al.*, 2011), esto podría incluir a la fertilización. Esta fracción (i.e. particulada) es muy activa por lo que muchos investigadores la han señalado como la que alberga a los nutrientes disponibles para las plantas. Cambios en esta fracción pueden variar la respuesta de los cultivos a la fertilización. Ciampitti *et al.* (2011a, b, c) analizó este fenómeno para el P y García *et al.* (2010) parcialmente para el N en el sur de Santa Fe y Córdoba. Sin embargo, son escasos

los estudios que han analizado el contenido de S en las fracciones del suelo (i. e. total, particulada y resistente) y su relación con el S exportado en granos.

El objetivo de este capítulo fue conocer la relación entre la concentración de nutrientes (N, P y S) en los granos de soja y las diferentes formas en el suelo como fuente de nutrientes para las plantas, en situaciones de fertilización continua.

La hipótesis fue que la aplicación continua de N, P y S incrementa la concentración de P y S en las fracciones lábiles del suelo y en consecuencia en los granos de soja. Por el contrario, las concentraciones de N en los granos de soja son reguladas por la fijación biológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Parcelas experimentales

El estudio se llevó a cabo en cinco ensayos de la Red de Nutrición del CREA, ASP e IPNI de la Región Sur de Santa Fe, iniciados en la campaña agrícola 2000-2001 (García *et al.*, 2006). Hasta la actualidad se han mantenido cinco de los once sitios experimentales instalados, Lambaré, La Hansa y La Blanca pertenecen a la rotación larga (M-S-T/S), Balducchi y San Alfredo a la rotación corta (M-T/S). Estos sitios tenían diferentes texturas, manejos de suelo e historia agrícola al momento de la instalación de los ensayos. Las propiedades químicas de los suelos en este estudio se pueden consultar en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 2. El tipo de labranza siempre fue siembra directa. Se usó maquinaria de productor en todos los casos.

Tratamientos

El diseño experimental en todos los sitios fue el de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones, a excepción de San Alfredo donde hubo dos repeticiones. Los tratamientos de fertilización se realizaron anualmente siempre sobre las mismas parcelas en todos los ensayos. Los seis tratamientos establecidos fueron los mismos en los cinco sitios. Todas las parcelas recibieron aplicaciones continuas de N, P y S en sus diferentes combinaciones, es decir los regímenes fueron: Testigo, PS, NS, NP, NPS y Completo (NPS+micronutrientes). La fertilización nitrogenada aplicada a los cultivos de trigo y maíz durante 14 años fue calculada en base al rendimiento objetivo, de acuerdo a los modelos zonales, la fuente utilizada siempre fue la urea (46-0-0). En la campaña 2013-2014 se aplicó la dosis de N de 14 y 102 kg N ha⁻¹ en las rotaciones M-S-T/S y M-T/S respectivamente (Boxler *et al.*, 2014). La fuente de fertilización fosforada aplicado anualmente fue fosfato monoamónico (12-52-0). En la campaña 2013-2014 se aplicó 30 kg P ha⁻¹ y 44 kg P ha⁻¹ para las rotaciones M-S-T/S y M-T/S respectivamente (Boxler *et al.*, 2014). La fuente de azufre fue sulfato de calcio granulado (10%S), en las rotaciones M-S-T/S y M-T/S se aplicaron 18 y 21 kg S ha⁻¹ respectivamente en la campaña en estudio (2013-2014) (García *et al.*, 2006; Boxler *et al.*, 2014). En el caso del P y S las dosis fueron calculadas considerando la de reposición más un 10% de mantenimiento. Mayores detalles se pueden consultar en la sección de Materiales y Métodos de los capítulos 2 y 3.

Análisis de suelo y grano

Se determinó el contenido de C y nutrientes (N, P y S) en las diferentes formas en el suelo (total, fracción particulada y disponible) de tres estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm). Se midieron también las concentraciones de N, P y S en granos de soja. Las técnicas de análisis de suelo y grano están descritas en la sección de materiales y métodos de los capítulos 2 y 3.

Análisis estadístico

Las relaciones entre la concentración de nutrientes en grano y en el suelo se analizó mediante análisis de regresión. Se realizó también un análisis de componentes principales (ACP) con todas las variables medidas en granos y en el contenido total y en las diferentes fracciones del suelo con un criterio de clasificación de los tratamientos de fertilización. Se usaron los programas estadísticos Table curve 2D v5.01, Statistix 9 y GraphPad Prism 6.

RESULTADOS

1. Relación entre concentración de P en grano y suelo

La concentración de P en granos y el P disponible en el suelo ($P_{\text{Bray } 1}$) estuvieron muy relacionados ($R^2=0,48$) (**Figura 4.1A**). A mayores contenidos de P disponible aumentó la concentración de P en los granos hasta el punto de inflexión de $18,1 \text{ mg P kg}^{-1}$ en suelo y $5,9 \text{ mg P kg}^{-1}$ en granos, a partir del cual las concentraciones de P en granos no estuvieron relacionadas con la concentración de P disponible en el suelo (**Figura 4.1A**). La proporción N:P en granos también guardó estrecha relación inversa con el P disponible en el suelo ($P_{\text{Bray } 1}$) ($R^2=0,50$) (**Figura 4.1B**). La relación N:P en granos tiene relación inversa de la concentración de P en granos y una relación directa del contenido de N en granos. Esta relación (N:P) en granos disminuyó con el aumento de disponibilidad de P ($P_{\text{Bray } 1}$) en los primeros 20 cm del suelo hasta un punto de inflexión de $16,3 \text{ mg P kg}^{-1}$ a un 90% de la proporción N:P en granos en el plateau. A partir de este valor de disponibilidad, la relación N:P en granos fue constante (**Figura 4.1B**).

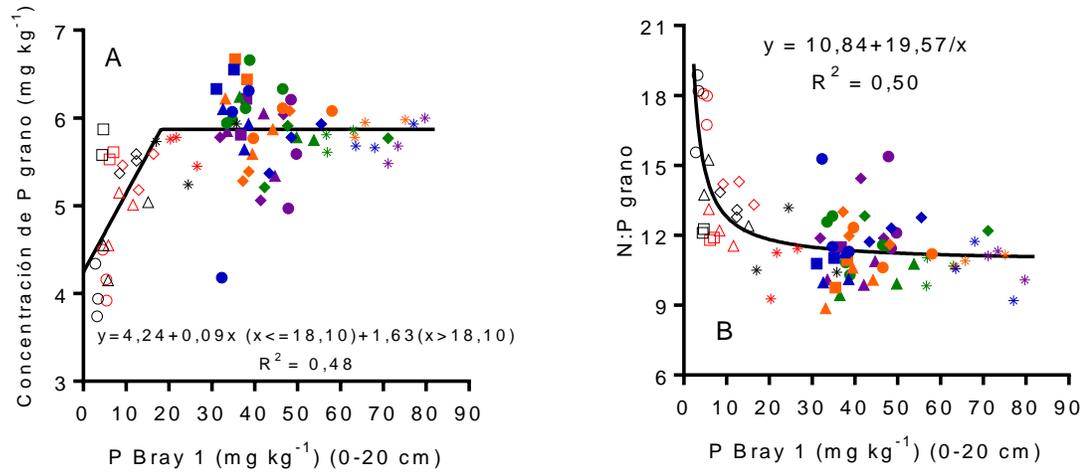
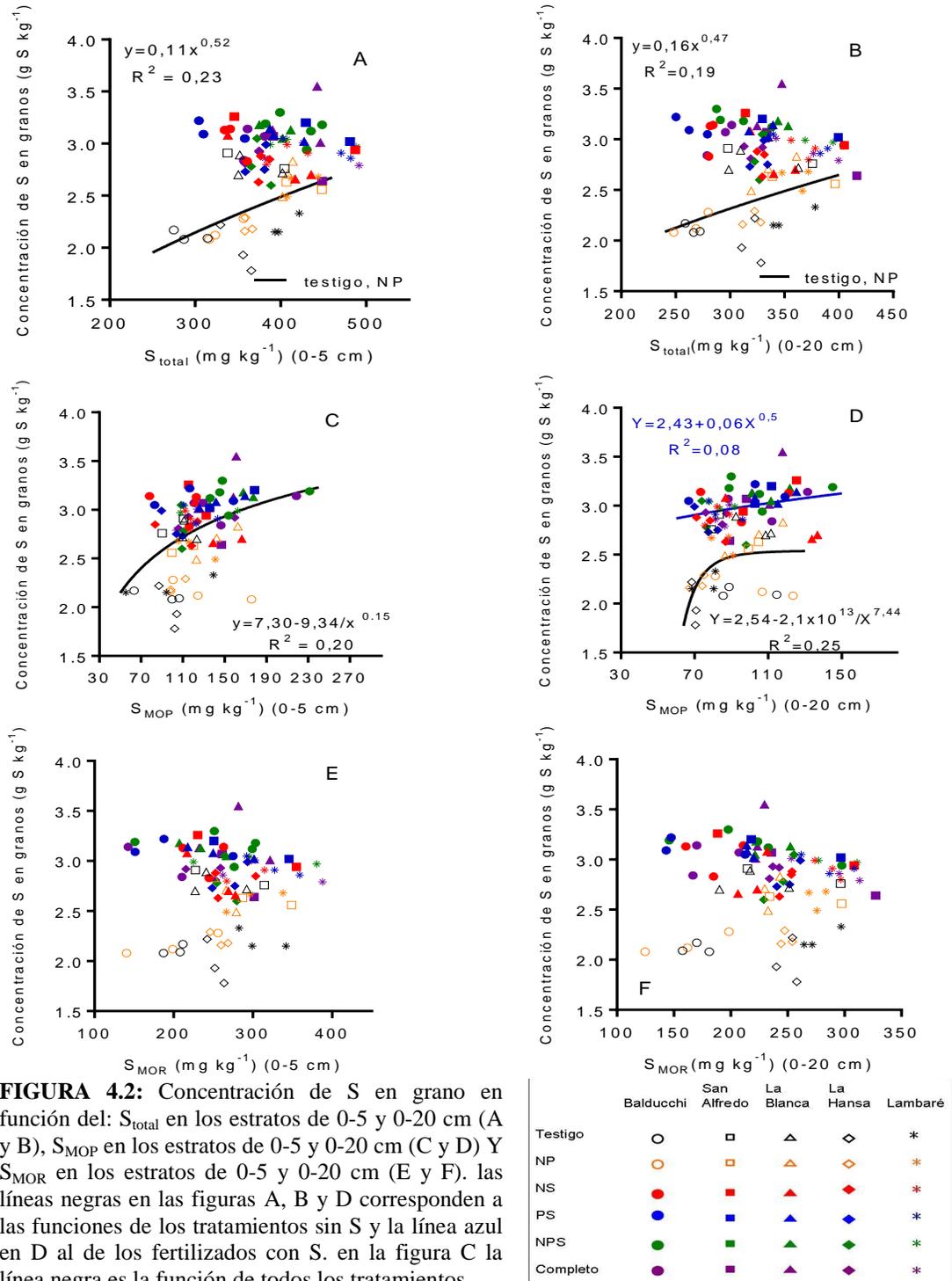


FIGURA 4.1: Concentración de P en grano de soja en función de $P_{\text{Bray 1}}$ (A), Relación N:P en granos en función del $P_{\text{Bray 1}}$ (B).

	Balducchi	San Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	●	■	▲	◆	*
NS	○	□	△	◇	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

2. Relación entre concentración de S en grano y suelo

La concentración de S en granos no mostró una clara relación con los contenidos de S en las diferentes formas (**Figura 4.2**). En el estrato de 0-5 cm se observó una débil relación entre el S_{total} y el contenido de S en granos de los tratamientos que no recibieron S (Testigo y NP), mientras que en los demás tratamientos que se agregaron S no fue significativa dicha relación (**Figura 4.2A**). En el mismo estrato (0-5 cm) se observó que el S_{MOP} guardó una débil relación con el S en granos de todos los tratamientos ($R^2=0,20$). La fracción de S en la materia orgánica resistente (S_{ROC}) no explicó el contenido de S en granos de forma significativa (**Figuras 4.2C y E**). Cuando se analiza la misma relación (concentración de S en granos y S en el suelo) en la capa de 0-20 cm se observó que el S_{total} y S_{MOP} explicaron un 19 y 25% respectivamente de la concentración de S en granos en situaciones donde no se fertilizó con S (testigo y NP), pero en los tratamientos que recibieron S como fertilizante (NS, PS, NPS, Completo) dicha relación fue muy débil (**Figuras 4.2B y D**). El S_{ROC} no guardó ninguna relación con el contenido de S en granos en los 20 cm superficiales del suelo (**Figura 4.2F**).



La **Figura 4.3** muestra la relación entre la proporción N:S en granos en función al contenido de S del suelo. Los contenidos de S total del suelo se relacionaron ligeramente y de forma inversa con la proporción de N:S en granos tanto en las capas de 0-5 como de 0-20 cm de profundidad, en todos los tratamientos de fertilización ($R^2=0,23$ y $0,11$ respectivamente) en donde se ajustaron funciones de tipo potencial (**Figuras 4.3A y B**). El

S_{MOP} también se relacionó de forma inversa con la proporción N:S en granos en los estratos de 0-5 y 0-20 cm de profundidad en donde se ajustó una función de tipo $y=a+b/x^c$ con un $R^2=0,17$ (Figuras 4.3C y D). En tanto que el S en la fracción orgánica resistente (S_{MOR}) no guardó ninguna relación con la variable N:S en granos en ninguno de los estratos de profundidad (Figuras 4.3E y F).

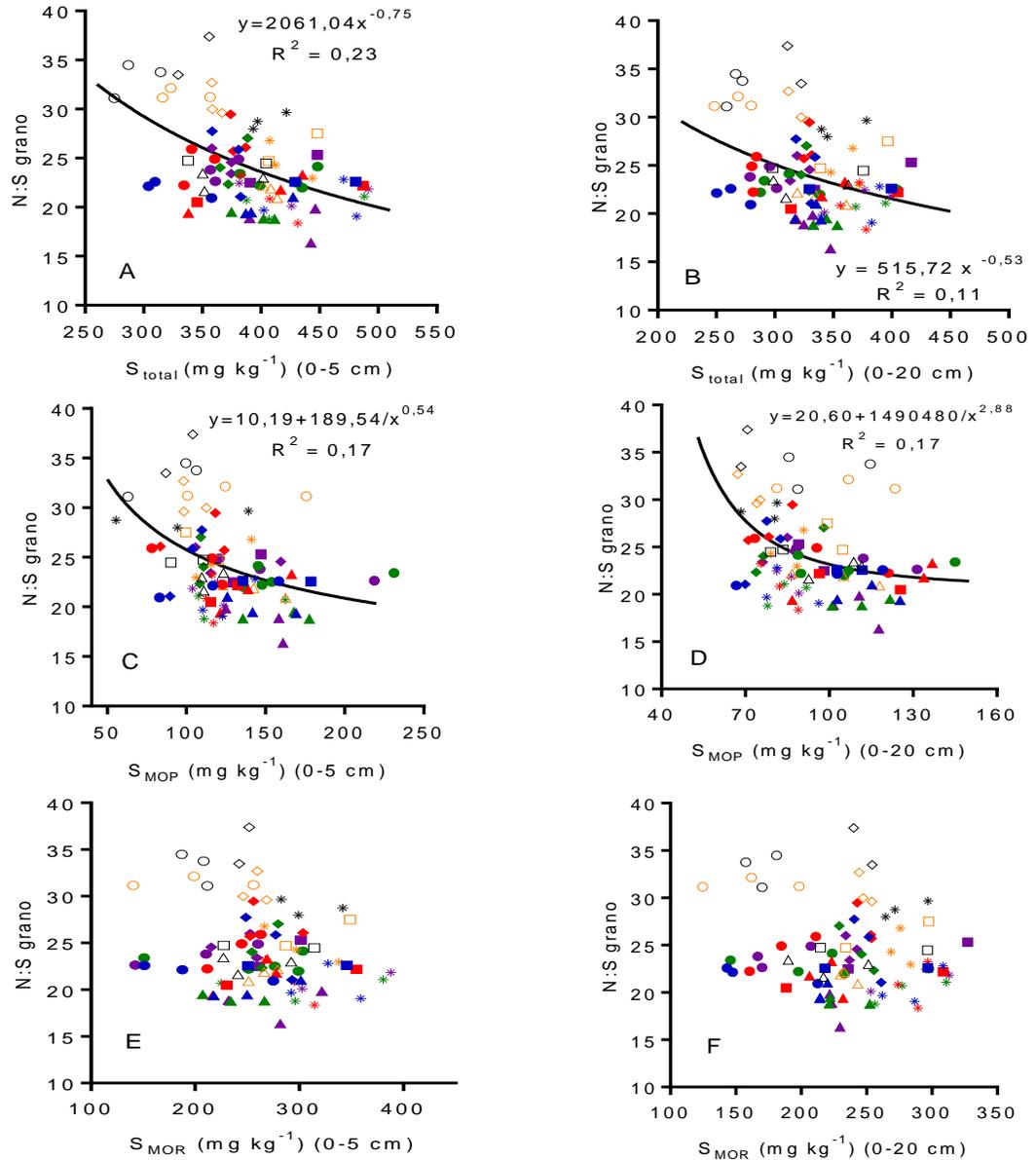


FIGURA 4.3: Relación N:S en grano en función del: S_{total} en los estratos de 0-5 y 0-20 cm (A y B), S_{MOP} en los estratos de 0-5 y 0-20 cm (C y D) y S_{MOR} en los estratos de 0-5 y 0-20 cm (E y F). Las líneas negras corresponden a la función de todos los tratamientos.

	San Balducchi	La Alfredo	La Blanca	La Hansa	Lambaré
Testigo	○	□	△	◇	*
NP	○	□	△	◇	*
NS	●	■	▲	◆	*
PS	●	■	▲	◆	*
NPS	●	■	▲	◆	*
Completo	●	■	▲	◆	*

3. Análisis de Componentes Principales

Con los parámetros que se muestran en la Tabla 1 se realizó el análisis de componentes principales (ACP), donde el criterio de clasificación fue los tratamientos de fertilización (**Figura 4.4**). A partir de este análisis estadístico se obtuvo el gráfico biplot (**Figura 4.4**). La variación de la información explicada por la componente 1 (CP1) y componente 2 (CP2) es del 67,7% y 17,4% respectivamente, acumulando el plano determinado por las dos primeras componentes (CP1 y CP2) el 85,1% de la información (**Figura 4.4**). Del análisis del mismo se observa que el componente principal 1 (CP1) separa en distintos cuadrantes los parámetros S_{total} , C_{PMOP} , C_{total} , N_{total} , rendimiento, S_{MOP} , C_{MOR} , S_{MOP} y S_{MOR} ponderados positivamente mientras que la concentración de N en granos fue ponderado de forma negativa (**Tabla 4.1**). En este eje (CP1), los tratamientos Completo y NPS mostraron mayor relación con las variables S_{total} , C_{MOP} , C_{total} , N_{total} , rendimiento, S_{MOP} , S_{MOR} , C_{MOR} , S_{MOP} y S_{MOR} . El tratamiento testigo, sin embargo presentó bajos contenidos de C y nutrientes en las diferentes fracciones del suelo. También el más bajo rendimiento y concentraciones de S más bajas se vieron en este tratamiento (**Figura 4.4**). La segunda componente (CP2) separa en distintos cuadrantes los parámetros concentración de P en granos, $P_{Bray 1}$ y P_{total} que se ponderaron de forma negativa, mientras que la concentración de N en granos lo fue de forma positiva (**Tabla 4.1**). En este eje (CP2), los tratamientos PS y NP estuvieron explicados por el $P_{Bray 1}$, P_{total} y concentración de P en granos y, el tratamiento NS fue principalmente explicado por la concentración de N en granos (**Figura 4.4**).

TABLA 4.1: Valores de correlación entre los componentes principales y las variables medidas en el suelo y en grano (*).

Variables	Unidades	CP1	CP2
S_{MOP} (0-20 cm)	mg kg ⁻¹	0,88	0,28
S_{MOR} (0-20 cm)	mg kg ⁻¹	0,82	0,49
S_{total} (0-20 cm)	mg kg ⁻¹	0,91	0,39
C_{MOP} (0-20 cm)	g kg ⁻¹	0,99	-0,06
C_{total} (0-20 cm)	g kg ⁻¹	0,94	0,15
C_{MOR} (0-20 cm)	g kg ⁻¹	0,85	0,27
Nan (0-20 cm)	mg kg ⁻¹	-0,20	-0,33
N_{total} (0-20 cm)	g kg ⁻¹	0,94	0,24
P_{total} (0-20 cm)	g kg ⁻¹	0,73	-0,65
$P_{Bray 1}$ (0-20 cm)	mg kg ⁻¹	0,81	-0,57
Rendimiento	t ha ⁻¹	0,99	0,01
Concentración de N en grano	g kg ⁻¹	-0,63	0,69
Concentración de P en grano	g kg ⁻¹	0,77	-0,60
Concentración de S en grano	g kg ⁻¹	0,72	0,32

(*) S_{MOP} : azufre en la fracción orgánica particulada; S_{MOR} : azufre en la materia orgánica resistente; S_{total} : azufre en la fracción total; C_{MOP} : carbono en la fracción orgánica particulada; C_{total} : carbono en la fracción total; C_{MOR} : carbono en la materia orgánica resistente; Nan : Nitrógeno potencialmente mineralizable; N_{total} : nitrógeno en la fracción total; P_{total} : fósforo en la fracción total; $P_{Bray 1}$: fósforo Bray 1.

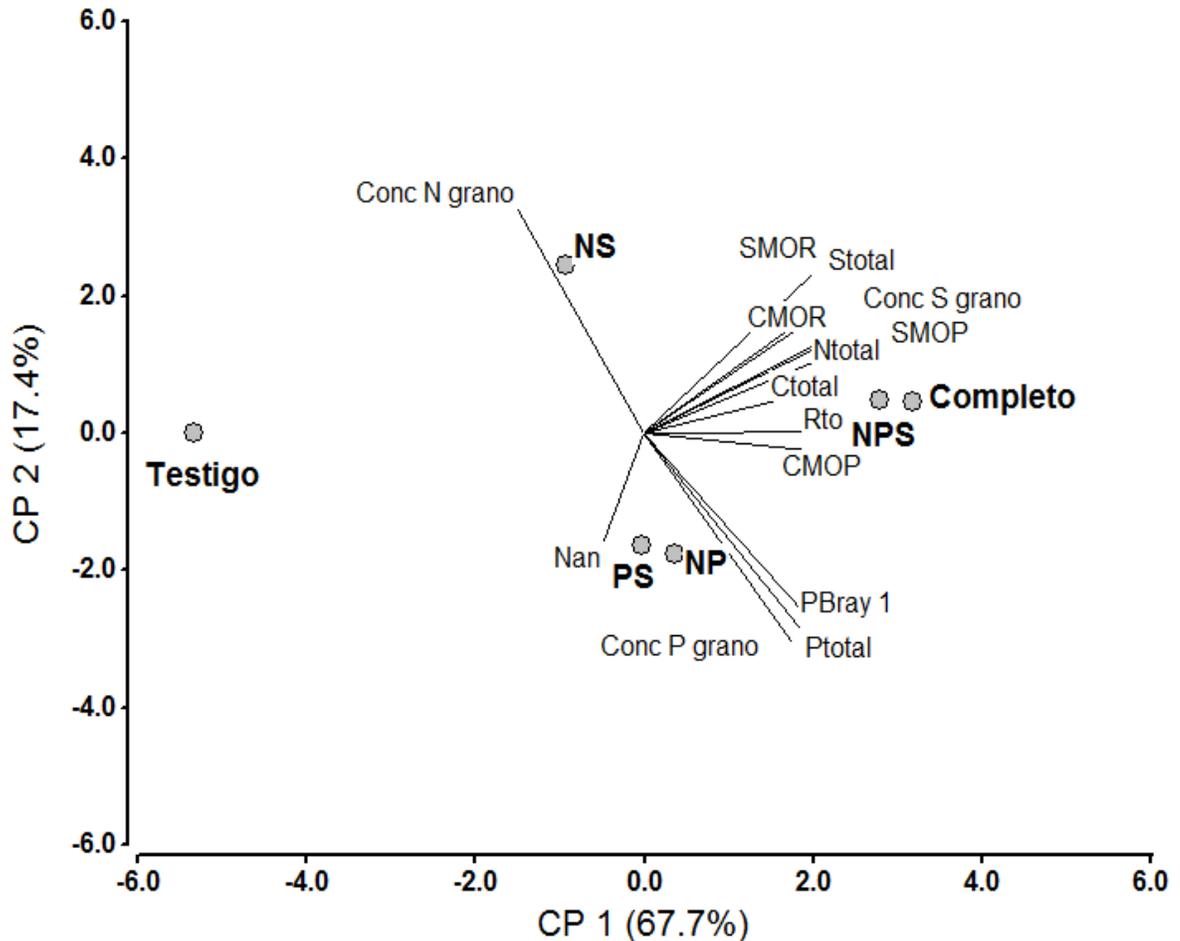


FIGURA 4.4: Análisis de componentes principales. Los vectores indican el peso relativo de cada variable sobre los ejes: El C_{total} , C_{MOP} , C_{MOR} , N_{total} , Nan , P_{total} , $P_{Bray 1}$, S_{total} , S_{MOP} , S_{MOR} , rendimiento, conc N grano, conc P grano y conc S grano. Los círculos son los tratamientos de fertilización: Testigo, PS, NS, NP, NPS y completo (NPS+micronutrientes) (*).

DISCUSIÓN

1. Relación entre concentración de P en grano y P disponible en el suelo

El cultivo de soja fue sensible a la aplicación de P como fertilizante (**Figura 4.1A**). Es razonable que en situaciones donde el P es limitante la planta sea más sensible al P disponible en el suelo. En varios ensayos de largo plazo en Iowa, Krueger *et al.* (2013) reportaron aumentos en la concentración de P en granos de soja en respuesta al agregado de P como fertilizante. Ellos informaron que los tratamientos sin P sólo exportaron en promedio $3,9 \text{ g P kg}^{-1}$ en granos, pero los que recibieron 28 y $58 \text{ kg P ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ alcanzaron valores de exportación de 5,5 y $5,6 \text{ g P kg}^{-1}$ respectivamente. Otro ensayo en invernáculo mostró alta correlación entre las concentraciones de P en granos de soja y la fertilización fosfatada (Soliman y Farah, 1985). La sensibilidad de los cultivos al P ha sido estudiada por muchos investigadores que afirmaron que existe mayor absorción y exportación del P cuanto mayor es la disponibilidad de este nutriente en el suelo (Hanway y Olson, 1980; Fredeen *et al.*, 1989; Ahiabor *et al.*, 2014). El valor umbral de P disponible en su relación

(*) S_{MOP} : azufre en la fracción orgánica particulada; S_{MOR} : azufre en la materia orgánica resistente; S_{total} : azufre en la fracción total; C_{MOP} : carbono en la fracción orgánica particulada; C_{total} : carbono en la fracción total; C_{MOR} : carbono en la materia orgánica resistente; Nan : Nitrógeno potencialmente mineralizable; N_{total} : nitrógeno en la fracción total; P_{total} : fósforo en la fracción total; $P_{Bray 1}$: fósforo Bray 1.

con la concentración de P en granos fue de $18,1 \text{ mg P kg}^{-1}$ (**Figura 4.1A**). Este valor de disponibilidad de P en el suelo es ligeramente superior a los umbrales críticos de P disponible para los rendimientos del cultivo de soja en la región pampeana, que son de $9\text{-}16 \text{ mg P kg}^{-1}$ (Ferraris *et al.*, 2002, Gutiérrez Boem *et al.*, 2010). Estos resultados sugieren que no hay consumo de lujo de P cuando la disponibilidad de P en el suelo es muy alta. Por encima de 18 mg P kg^{-1} la probabilidad de aumentar la exportación de P por aumentos en la concentración de P en el suelo es baja. Por debajo de 18 mg P kg^{-1} existe probabilidad que la planta siga destinando P a los granos en respuesta a aplicaciones de P como fertilizante. El valor de inflexión que corresponde a la concentración de P en granos fue de $5,9 \text{ g P kg}^{-1}$ ($\approx 5,9 \text{ kg Mg}^{-1}$) a partir de este valor dejó de aumentar la concentración de P en los granos (**Figura 4.1A**). Los reportes de exportación de P por tonelada de grano cosechado en la región pampeana son similares a los resultados de este trabajo ($\sim 5,6 \text{ kg P Mg}^{-1}$) (Salvagiotti *et al.*, 2012a). Esta asociación entre la disponibilidad de P en el suelo y la concentración de P en los granos sugiere que el análisis de granos podría ser una herramienta complementaria a los análisis de suelo en los diagnósticos de fertilidad fosforada. Lo cual se podría utilizar para conocer qué fracciones orgánicas en el suelo son las más fácilmente mineralizables.

La relación N:P en granos de soja estuvo relacionado de forma inversa con la disponibilidad de P en el suelo ($P_{\text{Bray 1}}$) (**Figura 4.1B**). La proporción N:P en granos es una proporción inversa de la concentración de P y una función directa del contenido de N en granos. La sensibilidad de esta relación al agregado de P como fertilizante podría ser explicado porque el N en los granos proviene principalmente de la fijación biológica en tanto que el P es absorbido de la fracción disponible del suelo. La proporción N:P en granos disminuyó con el aumento del $P_{\text{Bray 1}}$ en los primeros 20 cm del suelo hasta un punto de inflexión de $16,3 \text{ mg } P_{\text{Bray 1}} \text{ kg}^{-1}$ y relación N:P en grano de 12,0 (al 90% del valor de N:P grano) (**Figura 4.1B**). A partir de estos valores la relación N:P en granos se mantuvo constante. Por lo tanto, la concentración de P y la relación N:P en granos en función del $P_{\text{Bray 1}}$ en el suelo resultaron como valor umbral de $P_{\text{Bray 1}}$ de 18 y 16 mg kg^{-1} respectivamente.

Por otro lado, se vio como valor umbral de la relación N:P en granos de 12. Valores de la proporción N:P en granos por encima de dicho umbral podrían indicar limitación de P, por el contrario los que se ubican por debajo de este umbral indicarían buena disponibilidad de P en el suelo. Estos resultados sugieren realizar mayores estudios utilizando análisis de granos, que podrían aportar a los diagnósticos de la fertilidad fosforada en el cultivo de soja. Existen otros trabajos que lograron determinar valores umbrales del contenido de P en otras partes vegetativas de la planta de soja. Así, Small y Ohlrogge (1973) informaron una gama de suficiencia de P para las hojas superiores de la planta de soja de $2,6 \text{ a } 5,0 \text{ mg g}^{-1}$. Mediciones del contenido de P en granos podrían ser más confiables que las partes vegetativas de la planta porque los granos son tejidos más estables que integran las condiciones de disponibilidad de nutrientes en el suelo, condiciones climáticas, manejo y otros factores ocurridos durante el crecimiento del cultivo (Correndo *et al.*, 2012), ya que se toman las muestras en el momento de la cosecha. El análisis de granos se podría usar para elucidar qué fracciones del suelo son las más lábiles, aparte del P disponible que solo contiene la fracción extractable.

2. Relación entre el S en suelo y grano

La relación entre la concentración de S en el grano en función del contenido de S total y en las fracciones orgánicas particulada y resistente en el suelo no fueron muy estrechas (**Figura 4.2**). Diversos experimentos de campo e invernáculo tampoco han podido establecer relaciones estrechas entre la cantidad de S que es absorbido por la planta y distintas formas de S en el suelo (Scherer, 2009). La naturaleza química de los compuestos de S en la materia orgánica del suelo es compleja y hasta la actualidad no se ha definido ningún método de diagnóstico de fertilidad azufrada mediante el análisis de suelos. Existen estudios que afirman que en el suelo existen dos grupos de S orgánico cuyas propiedades y comportamiento son diferentes y no definidos con claridad (Freney *et al.*, 1983). El S orgánico compuesto principalmente por ésteres (C-O-S) y el S orgánico unido directamente al C (C-S) (Scherer, 2001). Se considera al S orgánico compuesto por ésteres como la fracción más lábil del suelo. Sin embargo no han visto relaciones con el S absorbido por la planta (Tabatabai, 1996), los resultados de este estudio también indicaron lo mismo. Tanto en el estrato de 0-5 cm como en el de 0-20 cm del suelo, las relaciones entre el contenido de S en grano fueron débiles con el S_{total} o S_{MOP} (**Figuras 4.2A, B, C y D**) y, no se observó ninguna relación con el S_{MOR} (**Figuras 4.2E y F**). Estos resultados se podrían atribuir a que la MOS es la principal limitante de la disponibilidad de S para las plantas. Contrariamente a nuestros resultados, en varios experimentos de campo en la India observaron que el contenido de S en la materia seca de los cultivos aumentó cuando se aplicó S como fertilizante (Bose *et al.*, 2009). Vale resaltar que el S_{MOP} , si bien es más lábil, es una fracción muy grande del S del suelo en este estudio (el porcentaje de S_{MOP} del S_{total} fue de 32% en promedio en el estrato de 0-5 cm y, en los estratos de 5-10 y 10-20 cm fueron de 29% y 27% respectivamente, **Resultados del capítulo 2**). Esta relación S_{MOP}/S_{total} es mucho más de lo que se mineraliza durante el ciclo de un cultivo, o de los que absorbe un cultivo (6 kg S t^{-1} , Gutiérrez Boem, 2015). Esto sugiere la necesidad de desarrollar métodos de medición de S en las fracciones del suelo más relacionadas con el S absorbido por un cultivo. El S_{MOP} por ser la fracción más lábil podría contener el S absorbible por la planta, sin embargo debido por la complejidad de la dinámica de S en el suelo, no es posible medir con exactitud la cantidad que puede llegar a absorber la planta durante el periodo de cultivo. El S_{total} tampoco resultó buena herramienta de diagnóstico de disponibilidad de S. Por otro lado, está documentado que la fracción orgánica resistente (S_{MOR}) alberga a los nutrientes en forma no disponible, son de difícil acceso para la actividad microbiana (Haynes, 2005). Los pocos trabajos que han logrado correlacionar el S absorbido por las plantas con el S orgánico total se han limitado casi exclusivamente a los estudios en maceta utilizando suelos lixiviados, degradados y, utilizando otros métodos de análisis (e. g. extracción con hidróxido de Na 0,1 N y otros) (Bardsley *et al.* 1960; Spencer *et al.*, 1960, Williams *et al.*, 1959). Por lo tanto, la fiabilidad de la relación entre el contenido de S en las fracciones del suelo y en grano está limitada por la compleja dinámica que cumple el S en el suelo.

La **figura 4.3** muestra la relación que existe entre los contenidos de S en el contenido total y en las diferentes fracciones del suelo y la proporción N:S en granos de soja. En la capa de 0-5 cm de profundidad se vio que el S_{total} y S_{MOP} de todos los tratamientos se relacionaron ligeramente de forma inversa con la proporción N:S en los granos ($R^2=0,23$ y $0,17$ respectivamente, **Figuras 4.3A y C**) mientras que el S_{MOR} no guardó ningún tipo de

relación con el contenido de S en los granos (**Figura 4.3E**). La proporción N:S en granos es la función inversa del contenido de S en los granos, por lo cual es razonable que dicha relación (N:S grano) disminuya con el aumento del contenido de S en el suelo. El contenido de N en los granos proviene principalmente de la fijación biológica (Salvagiotti *et al.*, 2012a) en tanto que el S es absorbido de en forma de SO_4 de la solución del suelo (Frenay y Williams, 1983). Sin embargo, las mediciones de S en las fracciones orgánicas del suelo no han logrado explicar los contenidos de S en los granos de soja, estas ligeras relaciones se deben más a las concentraciones de S en los granos que al contenido de S medido en el suelo (**Figuras 4.3A y C**). En la literatura internacional también han informado distintos criterios para evaluar la disponibilidad de S para las plantas. Las conclusiones es que los análisis de suelos no han podido relacionarse con las respuestas al S ni con los rendimientos del cultivo incluso en situaciones donde se vieron respuestas a su agregado (Scherer, 2001). Los resultados en este estudio permitieron observar que el análisis de granos separó a los tratamientos con y sin agregado de S, mientras que el análisis de suelos no mostró grandes diferencias entre dichos tratamientos (con y sin S). Salvagiotti *et al.* (2012a) y Divito *et al.* (2015) también mostraron que los análisis de plantas parecieran ser superiores a los análisis de suelos en la evaluación del estado nutricional de S de los suelos. Sin embargo, la desventaja de usar a análisis de plantas es que proporciona información demasiado tarde para ser de valor para el productor cuando el cultivo está crecido (Bailey, 1985). Por lo tanto, se sugiere medir S en los granos cosechados y no las formas de S del suelo por ser el análisis que mejor expresa los grupos de tratamientos con y sin limitación de S.

No se vio una relación estrecha entre el contenido de N en granos y N en las distintas formas en el suelo (resultados no mostrados), lo cual es razonable para el caso del cultivo de soja, ya que las leguminosas cubren sus requerimientos nitrogenados principalmente mediante la fijación biológica.

3. Análisis de componentes principales (ACP)

El análisis de componentes principales con criterio de clasificación de los tratamientos de fertilización permitió determinar que el CP1 y CP2 explicaron el 85,1% de la variabilidad de los datos (**Figura 4.4**). Del cual, el CP1 explicó el 67,7% de la variabilidad (**Figura 4.4**). En el primer eje se pudo distinguir claramente que las variables que están relacionadas con la MOS (i. e. C_{MOP} , C_{total} , N_{total} , C_{MOR} , S_{MOP} , S_{MOR}), la concentración de S en granos y el rendimiento fueron ponderados positivamente. Los tratamientos NPS y Completo tuvieron los valores más altos de todas estas variables (**Figura 4.4**). Esto podría ser explicado porque la mejor nutrición de los cultivos con N, P y S juntos permitió incrementar los rendimientos de los cultivos y acumular una mayor cantidad de residuos y por ende un mayor aporte de C al suelo durante los 14 años de fertilización continua (García *et al.*, 2004). En Oxisoles del sur de Brasil también vieron que el C orgánico del suelo aumentó con la cantidad de residuos aportados (Sá *et al.*, 2001) y en consecuencia mejoró la disponibilidad de N y S. Es esperable que la MOS aumente con la cantidad de los residuos vegetales devueltos al sistema suelo (Haynes, 2005; Manna *et al.*, 2007; Wander, 2004). Las variables C_{total} , N_{total} , C_{MOR} , S_{MOP} , S_{MOR} están estrechamente relacionadas con la MOS porque ésta es el componente principal de C, N y S del suelo. Catorce años de fertilización continua con N, P y S habrían generado mayores crecimientos de los cultivos y con ello el aporte de C, N y S en las distintas fracciones del suelo. En esas condiciones, en la campaña

2013-2014 los tratamientos NPS y Completo tuvieron los más altos niveles de rendimiento. La concentración de S en granos de los tratamientos NPS y Completo fueron mayores probablemente debido a la mayor cantidad de MOS de donde se mineralizó el S. El contenido de S en los granos fue independiente del agregado o no de S como fertilizante. Así, los tratamientos PS y NS no estuvieron estrechamente relacionados con esta variable pese a haberseles aplicado fertilización azufrada por 14 años continuados. Esto sugiere que la fracción orgánica del suelo es la que regula la disponibilidad de S para las plantas en el largo plazo.

Por otro lado, la concentración de N en granos presentó una ponderación negativa en el CP1 e independiente de las demás variables (**Figura 4.4**). La nutrición nitrogenada en el cultivo de soja como en otras leguminosas proviene de la fijación biológica y de la asimilación del N mineral. En la región pampeana, más del 50% del N absorbido por el cultivo de soja proviene de la fijación biológica (Collino *et al.*, 2015). Las dos fuentes de nutrición nitrogenada en leguminosas (fijación biológica y N mineral) son antagónicas (Fabre *et al.*, 2000). En suelos donde el contenido de nitrato es alto, la fijación biológica suele ser más baja, lo cual podría explicar la mayor asociación del tratamiento testigo con la concentración de N en granos. Por el contrario, las variables relacionadas con el contenido de MOS, concentración de S y rendimiento fueron las más bajas en el tratamiento testigo (**Figura 4.4**). En situaciones de limitación de nutrientes, el C del suelo tiende a disminuir en el largo plazo debido al menor aporte de los residuos de cosecha. Existen muchas evidencias que en situaciones de limitación de nutrientes, las plantas tienen menor crecimiento, y con ello el COS disminuye, lo cual se hace visible en el largo plazo (Robert, 2002; Zhu *et al.*, 2015; Gregory y Drury, 1996).

El eje 2 (CP2) explicó el 17,4% de la variabilidad de los resultados (**Figura 4.4**). La variable concentración de N en granos tuvo la mayor ponderación de forma positiva y no estuvo asociada a ninguna característica del suelo evaluada. El tratamiento NS estuvo explicado principalmente por ésta. La fijación biológica de N hace que la concentración de N de los granos no esté asociada a características del suelo. El contenido del N en los granos también depende de las condiciones ambientales durante el llenado de granos (temperatura y disponibilidad de agua) (Divito y Sadras, 2014).

En el mismo eje (CP2) las variables $P_{\text{Bray } 1}$, P_{total} y concentración de P en granos estuvieron ponderadas negativamente, a su vez estas variables estuvieron estrechamente asociadas con los tratamientos PS y NP (**Figura 4.4**). La fertilización fosforada genera mayores contenidos de P total y disponible en el suelo (Ciampitti *et al.*, 2011b; Salas *et al.*, 2003). Ante una mayor disponibilidad de P en el suelo, la planta absorbe y destina más P a los granos. Varios investigadores han demostrado que el P exportado en los granos se relaciona estrechamente con el P disponible del suelo (Salvagiotti *et al.*, 2004; Varennes *et al.*, 2002; Rubio *et al.*, 2015). Por el contrario, el tratamiento NS y testigo tuvieron las más bajas concentraciones de P_{total} , $P_{\text{Bray } 1}$ y contenido de P en los granos por no aplicar P como fertilizante. En la **Figura 4.4** también se puede ver que el Nan no está asociado a ninguna otra variable, ni con la MOS lo cual sugiere que el contenido de la MOS no es un buen predictor de la capacidad de mineralización de N de los suelos como lo sugirieron Diovsalvi *et al.* (2010a). El ACP permitió corroborar los resultados obtenidos en los capítulos anteriores, que la fertilización produjo aumentos en rendimiento y con ello el C y nutrientes del suelo también aumentaron. Por el contrario, la falta de fertilización provocó

disminuciones del C y nutrientes que están relacionados a esta (i. e. N y S) tanto en las formas lábiles como totales. El agregado de P aumentó los niveles de P total y lábil del suelo. La concentración de P y S a los granos fueron sensibles a su agregado como fertilizantes, no así la concentración de N en granos que no estuvo relacionado con las demás variables.

CONCLUSIONES

- a. La concentración de P en los granos de soja tendió a aumentar con la disponibilidad de P en el suelo hasta un punto crítico de $P_{\text{Bray } 1}$ de 18 mg P kg^{-1} a partir del cual las concentraciones de P en granos fueron constantes. Estos resultados evidencian que no hubo consumo de P por encima de ese valor de disponibilidad. Se sugiere un valor de 12 como umbral de la relación N:P en granos soja y un valor de concentración de P en granos de $5,9 \text{ mg kg}^{-1}$.
- b. El agregado de S como fertilizante incrementó el contenido de S en los granos de soja. Se vio una baja relación de las variables S_{total} y S_{MOP} con el contenido de S y la proporción N:S en los granos, indicando la falta de sensibilidad del análisis de S_{MOP} como indicador de disponibilidad de este elemento.
- c. El análisis del grano discriminó mejor que el análisis del suelo situaciones donde se aplicaron fertilizantes azufrados. Lo cual sugiere que el análisis vegetal puede ser una mejor herramienta en los diagnósticos de la fertilidad azufrada.
- d. La sensibilidad de la concentración de S y P en grano ante el agregado de fertilizantes sugiere que la fertilización puede ser una herramienta para modificar la composición de nutrientes en la fracción disponible en el suelo y la composición del grano de soja.
- e. La evidencia experimental nos permitió aceptar la hipótesis planteada ya que la aplicación continua de N, P y S incrementó la concentración de P y S en las fracciones lábiles del suelo y en consecuencia en los granos. Por el contrario, la concentración de N en los granos de soja es regulada por la fijación biológica.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES GENERALES Y SIGNIFICADO

En este trabajo se utilizaron ensayos de largo plazo en suelos con distintos niveles de fertilidad inicial e historias agrícolas a los cuales se les aplicó N, P y S como fertilizantes durante catorce años consecutivos.

En el primer capítulo se realizó una introducción general con los problemas objeto de la tesis, antecedentes generales existentes, objetivos e hipótesis.

En el segundo capítulo se abordó el estudio del efecto de la fertilización sobre los contenidos de C, N, P y S en el suelo, así como las relaciones entre ellos, asociándolos con los principales factores que se consideraban a priori responsables de estas variaciones. En el tercer capítulo de la tesis se evaluaron los efectos de los distintos regímenes de fertilización sobre los contenidos de N, P y S en los granos del cultivos de soja y las relaciones estequiométricas entre estos tres nutrientes. Finalmente, en el cuarto capítulo, se exploraron las relaciones entre los efectos sobre el suelo y sobre los granos del cultivo.

Los resultados del capítulo 2 nos permitieron observar que la fertilización continua con N, P y S por 14 años aumentó significativamente el contenido del C_{total} solo en el sitio con menor nivel inicial de C del suelo (Balducchi) y aumentó las concentraciones de N_{total} y S_{total} (nutrientes que están estrechamente relacionados con el C) en todos los sitios. Las mayores respuestas en rendimiento al agregado de N, P y S también se vieron en Balducchi (García *et al.*, 2006; Boxler *et al.*, 2014). Estos reportes y nuestros resultados indican que los suelos con mayores historias agrícolas y con menores contenidos de MO son las que más respuesta en C_{total} tienen ante los tratamientos de fertilización continuada tienen debido a las mayores respuestas en rendimiento y probablemente al mayor retorno de restos de cosecha cuando se agregaron fertilizantes. El agregado de N y S como fertilizantes tuvieron poco efecto sobre el contenido de los mismos en el suelo, probablemente debido a que su acumulación depende de la acumulación de C en el suelo. Las relaciones C:N, C:S y N:S en el contenido total del suelo no fueron afectadas por los tratamientos de fertilización, es decir, el agregado de N y S en forma continua no provocó un enriquecimiento relativo en estos nutrientes de la materia orgánica del suelo. El caso del P fue distinto porque su dinámica tiene un componente inorgánico muy importante. El aporte de P por la fertilización tuvo un efecto marcado tanto en el contenido total y como en el lábil. En situaciones donde se agregó P hubo mayor acumulación en superficie y mayor estratificación de P en el estrato de 0-20 cm en el suelo. Esta acumulación del P agregado afectó también a las relaciones entre nutrientes tanto en contenido total como lábil en las que estuvo involucrado el P (i.e. C:P, N:P y P:S). Sería interesante complementar este estudio con la evaluación de los efectos de fertilizar en el largo plazo sobre el P orgánico (total y lábil) y su relación con los demás nutrientes en esas dos fracciones. Por otro lado, existen muchos reportes que indican que el N_{total} es muy sensible a la fertilización nitrogenada, en este estudio se vio que el N_{total} aumentó con el C_{total} en respuesta al agregado de N, P y S como fertilizantes. Como era esperable, las fracciones lábiles de P fueron las más sensibles a la fertilización (i.e. $P_{Bray 1}$, C_{MOP} , S_{MOP}) que las menos lábiles (P_{total} , C_{total} y S_{total}). La fracción del N lábil (Nan), sin embargo, no fue sensible a la aplicación de fertilizantes. Las variaciones en la relación Nan: C_{total} entre los sitios sugirió que la mineralización depende de la calidad de la MOS en los suelos, por lo que no se puede usar como indicador de la capacidad de proveer N sólo al contenido de la MOS. La

calidad de la MOS está dado por la cantidad y tipo de residuos que se aportan al suelo, por lo que muchos investigadores recomiendan tomar en cuenta la relación C:N de los residuos para conocer el aporte o disminución del C y nutrientes en el suelo. En este estudio, es esperable que la calidad de la MOS haya variado en los sitios por las diferencias en rendimiento, cultivos, cantidad y calidad de los residuos aportados al suelo con lo cual la capacidad de mineralizar N de la MOS también fue distinta. Una fuente de variación de la calidad de la MOS podría ser la rotación de los cultivos. Sería interesante ver el efecto de ambas rotaciones (M-S-T/S y M-T/S) sobre la MOS y contenido de nutrientes en un plazo mayor. La relación C:S en las fracciones total y particulada no fueron afectadas por la fertilización. La evidencia experimental nos permitió aceptar la hipótesis que el agregado continuo de N, P y S en forma de fertilizantes provoca cambios en los contenidos totales como lábiles de C, N, P, S y, en consecuencia cambios en las relaciones estequiométricas entre ellos.

En el tercer capítulo, se determinó el efecto de los regímenes de fertilización de largo plazo sobre el rendimiento y concentración de N, P y S y, las relaciones estequiométricas entre estos nutrientes en granos de soja. La evidencia experimental nos permitió aceptar la hipótesis planteada que la fertilización con P y S afecta a la concentración de estos nutrientes en el grano de soja. Por el contrario, la concentración de N es independiente de la fertilización, por lo que estaría regulada principalmente por la fijación simbiótica. Las relaciones estequiométricas entre N:P:S en granos varían con la fertilización. Los resultados demostraron que hubo mejora en el rendimiento de soja por efectos de la fertilización con N, P y S, vale aclarar que el N se aplicó a los cultivos de trigo y maíz en ambas rotaciones. En todos los sitios, las concentraciones de P y S en los granos también aumentaron cuando se agregaron estos nutrientes como fertilizantes, esto sumado al aumento de los rendimientos permitió una mayor exportación de los mismos en situaciones fertilizadas con P y S. La concentración de S en granos demostró ser sensible a su agregado como fertilizante. El agregado de S como fertilizante permitió que los granos tengan mayores contenidos de S, por lo que se presume que aumentaron los aminoácidos azufrados en la proteína, mejorando así su valor proteico (contenido de cisteína y metionina). Por otro lado, aunque se vieron aumentos en rendimiento, los granos de soja no cambiaron su contenido de N (i. e. proteína), y por tanto, la exportación de N por efectos de la fertilización continuada con N, P y S. Existen muchas evidencias que más de la mitad del N que asimila el cultivo de soja provienen de la fijación biológica, pero la calidad de las proteínas pueden disminuir por deficiencias de S en el suelo. Las relaciones entre nutrientes en los granos (N:P, N:S y P:S) cambiaron con el agregado de fertilizantes fosforados y azufrados, mientras que aplicaciones de N en los cultivos de las rotaciones no influyeron de forma significativa. Tanto la relación N:P y N:S tendieron a bajar levemente con el aumento de los rendimientos. La sensibilidad de la concentración de S y de la relación N:S al agregado de S como fertilizante, sugiere que la fertilización puede ser una herramienta para modificar la composición de la proteína del grano de soja (i.e. mayor proporción de aminoácidos azufrados), y mejorar así su valor nutricional. Sin embargo, sería interesante estudiar dichos efectos sobre otros cultivos de las rotaciones (granos de maíz y trigo), para conocer los efectos de la fertilización de largo plazo sobre la calidad de los granos del maíz y trigo y, distinguir las diferencias entre las rotaciones corta y larga.

Los resultados del capítulo 4 permitieron, en primer lugar, establecer la relación entre la concentración de P en granos y en la fracción disponible en el suelo ($P_{\text{Bray 1}}$). El valor de $P_{\text{Bray 1}}$ en el suelo por debajo del cual disminuye la concentración de P en el grano fue muy parecido a los valores críticos reportados en la región pampeana. Los valores de contenido de P en granos ($5,9 \text{ mg kg}^{-1}$) y relación N:P en granos (12,0) cuando la disponibilidad en el suelo es superior a los valores críticos, no fueron reportados en la zona en estudio con anterioridad. Esta información podría constituir un aporte para futuras investigaciones donde se use la planta como indicador de la fertilidad fosforada de los suelos para el cultivo de soja. Por otro lado, fue imposible lograr establecer relaciones claras entre la concentración de S en las fracciones del suelo y la concentración de S en grano. Estos resultados sugieren que las fracciones de S medidas no son buenas indicadores de su disponibilidad para el cultivo. El análisis del grano discriminó mejor que el análisis del suelo, situaciones donde se aplicaron fertilizantes azufrados, sugiriendo que el análisis vegetal es una mejor herramienta para diagnosticar de la fertilidad azufrada. Sería interesante conocer si dichos efectos se pueden ver en los otros cultivos de las rotaciones (trigo y maíz). Estos resultados nos permitieron aceptar la hipótesis planteada: la aplicación continua de N, P y S incrementa el contenido de P y S en las fracciones lábiles del suelo y en consecuencia en los granos. Por el contrario, los contenidos de N en los granos son regulados por la fijación biológica.

En forma general, para sintetizar los resultados obtenidos en la tesis, podemos decir que los distintos regímenes de fertilización produjeron pequeños cambios en el contenido de C del suelo y los nutrientes cuya dinámica está más asociada al C (i.e. N y S). Por otro lado, el P del suelo, con un componente mineral muy importante en su dinámica, reflejó el efecto de la fertilización tanto en su contenido total como en su fracción inorgánica lábil. La fertilización produjo también cambios en la concentración de P y S en los granos y su relación con el N. Estos cambios en la composición de los granos pueden ser relevante tanto por sus efectos sobre la calidad del producto, como por su posible uso como una herramienta para el diagnóstico de la fertilidad del suelo a través del análisis vegetal.

El manejo de la fertilización en suelos de uso agrícola continuo tiene consecuencias tanto sobre las formas de los nutrientes en el suelo como sobre los cultivos, aspectos difíciles de evaluar en estudios de corto plazo. Los balances negativos de nutrientes y carbono conllevan a una degradación del suelo, en cuanto a su capacidad de proveer nutrientes a los cultivos, lo que se detecta primero en las fracciones lábiles. Estos cambios en las fracciones lábiles y totales de los nutrientes del suelo se reflejan en el cultivo, no sólo en su productividad, sino también en algunas características relacionadas con la calidad de la proteína.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, K.; Majeed, A.; Sadiq, A y Khan, S. R.** 2008. Application of Bradyrhizobium japonicum and Phosphorus Fertilization Improved Growth, Yield and Nodulation of Soybean in the Sub-humid Hilly Region of Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. *Plant Prod. Sci.* 11(3): 368-376 (2008).
- Agren, G.** 2004. The C:N:P stoichiometry of autotrophs – theory and observations. *Ecology Letters* 7:185-191.
- Ahiabor, B.; Lamptey, S.; Yeboah, S. y Bahari, V.** 2014. Application of Phosphorus Fertilizer on soybean (*Glycine max* L.) inoculated with Rhizobium and its Economic Implication to Farmers. *Am. J. of Exp. Agr.* 4(11): 1420-1434.
- Allen, A. P. y Gillooly J. F.** 2009. Towards an integration of ecological stoichiometry and the metabolic theory of ecology to better understand nutrient cycling. *Ecology Letters* 12: 369–384.
- Álvarez, C. R.; Costantini, O. A.; Bono, A.; Taboada, M. A.; Gutiérrez Boem, F. H.; Fernández, P. L. y Prystupa, P.** 2011. Distribution and vertical stratification of carbon and nitrogen in soil under different managements in the pampean region of Argentina. *R. Bras. Ci. Solo*, 35:1985-1994.
- Álvarez, R.; Steinbach, H. y De Paepe, J. L.** 2015. Nitrógeno. En: *Fertilidad de suelos y Fertilización en la región Pampeana*. Editorial Facultad de Agronomía, UBA. ISBN 978-987-3738-03-6. Pag. 93-146.
- Álvarez, R.** 2015. La fertilidad de los suelos pampeanos. En: *Fertilidad de suelos y Fertilización en la región Pampeana*. Editorial Facultad de Agronomía, UBA. ISBN 978-987-3738-03-6. Pag. 9-16.
- Alvarez, R. y Alvarez, C. A.** 2000. Soil organic matter pools and their associations with carbon mineralization kinetics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:184-189.
- Alvarez, R.; Lemcoff, J. H. y Merzari, A. H.** 1995. Balance de nitrógeno en un suelo cultivado con soja. *Sci Soil.* 13: 38-40.
- Amthor, J. S.** 1998. Perspective on the relative insignificance of increasing CO₂ concentration to crop yield. *Field Crops Res.* 58:109–127
- Anderson, D. W.; Sagger, S.; Bettany, J. R. y Stewart, J. W B.** 1981. Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter: I. The nature and distribution of forms of carbon, nitrogen and sulfur. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45:767-772.
- Andrén, O.; Kihara, J.; Bationo, A.; Vanlauwe, B. y Kätterer, T.** 2007. Soil climate and decomposer activity in sub-Saharan Africa estimated from standard weather station data – a simple climate index for soil carbon balance calculations. *Ambio* 36:379-386
- Arora, S. K. y Luthra, Y. P.** 1971. Relationship between sulphur content of leaf with methionine, cysteine and cysteine contents in the seeds of *Phaseolus aureus* L. as affected by s, p, and n application. *Plant and Soil* 34, 91-96 .
- Azlan, A.; Aweng, E. R.; Ibrahim, C. O. y Noorhaidah, A.** 2012. Correlation between Soil Organic Matter, Total Organic Matter and Water Content with Climate and Depths of Soil at Different Land use in Kelantan, Malaysia. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 16 (4) 353-358.
- Baath, E. y Anderson, T. H.** 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and plfa-based techniques. *Soil Biol. Biochem.* 35: 955–963.

- Baethgen, W. E. y Alley, M. M.** 1989. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digest. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 20: 961-969.
- Bailey, L. D.** 1985. The sulphur status of eastern Canadian prairie soils: The relationship of sulphur, nitrogen and organic carbon. *Can. J. Soil Sci.* 65 179- 186.
- Banerjee, M. R.; Chapman, S. J. y Killham, K.** 1993. Factors influencing the determination of microbial biomass sulphur in soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 24, 939-950.
- Bardsley, C. E. y Lancaster, J. D.** 1960. Determination of reserve sulfur and soluble sulfates in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 24:265-268.
- Barrow, N. J.** 1980. Evaluation and utilization of residual phosphorus in soils. En: FE Khasawneh, EC Sample and EJ Kamprath (Eds). *The role of phosphorus in agriculture.* ASA-CSSA-SSA. Madison USA.
- Bélangier, G.; Claessens, A. y Ziadi, N.** 2011. Grain N and P relationships in maize. *Field Crops Research.* 126:1-7.
- Benintende, M C; Benintende, S. M.; Sterren, M. A.; Musante, C.; Saluzzio, M. y De Battista, J. J.** 2007. Modelo para estimar la capacidad de aporte de nitrógeno del suelo. *Agriscientia* 24:97-101.
- Benton, P. M. C. y Peters, J. W.,** 2004. The structures of the nitrogenase proteins and stabilized complexes. In: Smith, B.E., Richards, R.L., Newton, W.E. (Eds.), *Catalysts for Nitrogen Fixation. Nitrogenases, Relevant Chemical Models and Commercial Processes.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 77-96
- Berardo, A.,**1993. Aspectos generales de fertilización y manejo de trigo en el área de influencia de la Estación Experimental de INTA-Balcarce. Unidad Integrada Fac. de Cs.Agrarias UNMdP-EERA Balcarce. 58 pp.
- Berzsenyi, Z. y Gyórfy, B. D.** 2000. Lap. Effect of crop rotation and fertilisation on maize and wheat yields and yield stability in a long-term experiment. *Euro. J. Agr.* 13: 225-224.
- Blagrove, R. J.; Gillespie, J. M. y Randall, P. J.** 1976. Effect of sulphur supply on the seed globulin composition of *Lupinus angustifolius*. *Aust. J. Plant Physiol.* 3: 173-184.
- Blake-Kalff, M.M.A.; Hawkesford, M. J.; Zhao, F. J. y McGrath, S. P.** 2000. Diagnosing sulfur deficiency in field-grown oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil* 225, 95-107.
- Blevins R. L. y Frye, W. W.** 1993. Conservation tillage: an ecological approach to soil management. *Adv. Agr.* 51:33-78.
- Bloem, E. M.** 1998. Scewefel-Bilanz von Agrarokosystemen unter besonderer Berücksichtigung hydrologischer und bodenphysikalischer Standorteigenschaften. Vol. 192, 156 pp.
- Bonnie, A. T. P.; Mason, W. K. y Taylor, H. M.** 1982. Responses of soybeans to two row spacings and two soil water levels. iii. Concentration, accumulation and translocation of 12 elements. *Field Crops Research* 5: 31-43.
- Boschetti, C. E.; Quintero, R. A.; Benavidez, R. A. y Giuffre, L.** 2001. Destino del fósforo proveniente de diferentes fuentes de fertilizante fosfatado en suelos de la provincia de Entre Ríos. *Rev. Cientif. Agropecuaria* 5: 23-30.
- Boschetti, C. E.; Quintero, R. A.; Benavidez, R. A. y Giuffre, L.** 2003. Cuantificación de las fracciones orgánicas e inorgánicas de fósforo en suelos de la Mesopotamia argentina. *Sci. Soil* 21(1):1.8.

- Bose, N.; Nik, S. K. y Das, D. K.** 2009. Evaluation of nitrosulf and elemental sulphur on growth and yield of rapeseed (*Brassica campestris* L.) in India. *Agron. and Soil Sci.* 55 (1):79-90.
- Bowman, W. D.; Bowman, W. D.; Bahn, L. y Damm, M.** 2003. Alpine landscape variation in foliar nitrogen and phosphorus concentrations and the relation to soil nitrogen and phosphorus availability. *Arct. Antarct. Alp. Res.* 35:144–149.
- Boxler M.** 2013. El manejo de nutrientes según los asesores. Simposio Fertilizar, Rosario. Disponible on line en: <http://www.fertilizar.org.ar>.
- Boxler, M. et al.** 2014. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. Resultados de la campaña 2013/2014. IPNI. Disponible on-line en: <http://lacs.ipni.net/topic/research>.
- Boxler, M.; García, F. O.; Correndo, A.; Gallo, S.; Pozzi, R.; Bauschen, F.; Reussi Calvo, N. y Berardo, A.** 2014. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. Resultados de la campaña 2013/2014. IPNI. Disponible on-line en: <http://lacs.ipni.net/topic/research>.
- Bradford, M. A.; Fierer, N. y Reynolds, J. F.** 2008. Soil carbon stocks in experimental mesocosms are dependent on the rate of labile carbon, nitrogen and phosphorus inputs to soils. *Functional Ecol.* 22: 964–974.
- Bray, R. H. y Kurtz, L. T.** 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorous in soil. *Soil Sci.* 134:376–380.
- Brihet, J. M.** 2015. Producción de granos y adopción de tecnología en Argentina. Simposio Fertilizar 2015. p. 49-54.
- Bruinsma, J.,** 2009. The resource outlook to 2050: by howmuch do land, water, and crop yields need to increase by 2050? In: Bruinsma, J. (Ed.), *Expert Meeting on How to Feed the World in 2050*. FAO, Rome, Italy (Available at [www.fao.org/fileadmin/ templates/](http://www.fao.org/fileadmin/templates/)).
- Bui, E. N. y Henderson, B. L.** 2013. C:N:P stoichiometry in Australian soils with respect to vegetation and environmental factors. *Plant Soil* 373:553–568.
- Burke, I. C.; Yonker, C. M.; Parton, W. J.; Cole, C. V.; Flach, K. y Schimel, D. S.** 1989. Texture, Climate, and Cultivation Effects on Soil Organic Matter Content in U.S. Grassland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53:800-805.
- Buschiazzo, D. E.** 1988. Estudio sobre la tosca. Parte II: Evidencias de un movimiento descendente del carbonato. Características micromorfológicas. *Sci Soil*, vol 6, N°2, 44-49.
- Buschiazzo, D. E.; Estelrich, H. D.; Aimarr, S. B.; Viglizzo, E. y Babinec, F. J.** 2004. Soil texture and tree coverage influence on organic matter. *J. Range Manage* 57: 511-516.
- Buschiazzo, D. E.; Hevia, G. G.; Hepper, E. N.; Urioste, A.; Bono, A. A. y Babinec, F.** 1991. Organic C, N and P in size fractions of virgin and cultivated soils of the semi-arid pampa of Argentina. *J. Arid Env.* 48: 501–508.
- Buschiazzo, D.; Hevia, G.; Hepper, E.; Urioste, A.; Bono, A. A. y Babinec, F.** 2001. Organic C, N and P in size fractions of virgin and cultivated soils of the semi-arid pampa of Argentina. *J. Arid Env.* 48: 501–508.
- Buschiazzo, D.E.; Quiroga, A. R. y Stahr, K.** 1991. Patterns of organic matter distribution in soils of the semiarid Argentinean Pampas. *Z. Pflanzenernähr.* 154: 437 -441.
- Cai, Z. C. y Qin, S. W.** 2006. Dynamics of crop yields andsoilorganic carbonina long-term fertilization experiment in the Huang-Hui-Hai Plain of China. *Geoderma* 136, 708–715.
- Cambardella, C. A.; Gajda, A. M.; Doran, J. W.; Wienhold, B. J. y Kettler, T. A.** 2001. Estimation of particulate and total organic matter by weight loss-on-ignition. In: *Assessment Methods for Soil Carbon*. Chapter 24. EE. UU. Lewis Publishers. Edited by R. Lal. p. 349-359.

- Cambardella, C.A. y Elliott, E. T.** 1992. Particulate soil organic matter changes across a grass-land cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 56: 777-783.
- Campbell, C. A.; Biederbeck, V. O.; Wen, G.; Zentner, R. P.; Schoenau, J. y Hahn, D.** 1999a. Seasonal trends in selected soil biochemical attributes: Effects of crop rotation in the semiarid prairie. *Can. J. Soil Sci.* 79:73–84.
- Campbell, W. H.** 1999. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. *Ann. Rev. Plant Phys.* 50, 277–303.
- Carter, M. R.** 2002. Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions. *Agron. J.* 94: 38-47.
- Chan, K. Y.** 1997. Consequences of changes in particulate organic carbon in vertisols under pasture and cropping. *Soil sci. soc. Am. J.* 61:1376-1382.
- Chapin, F. S. III.** 1991 Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. In *Response of plants to multiple stresses*. Eds. H A Mooney, W E Winner and E J Pell. pp 67–88. Academic Press, San Diego.
- Ciampitti, I. A.; Garcia, F. O.; Piccone, L. E. y Rubio, G.** 2011b. Soil Carbon and Phosphorus Pools in Field Crop Rotations in Pampean Soils of Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 616-625.
- Ciampitti, I. A.; L. I. Picone; Rubio, G. y García, F. O.** 2011c. Pathways of Phosphorous Fraction Dynamics in Field Crop Rotations of the Pampas of Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 3: 918-926.
- Ciampitti, I. A.; Piccone, L. E.; Garcia, F. O. y Rubio, G.** 2011a. Phosphorus Budget and Soil Extractable Dynamics in Field Crop Rotations in Mollisols. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 131-142.
- Clapp, C. E.; Allmaras, R. R.; Layese, M. F.; Linden, D. R. y Dowdy, R. H.** 2000. Soil organic carbon and ¹³C abundance as related to tillage, crop residue, and nitrogen fertiliser under continuous corn management in Minnesota. *Soil Till. Res.* 55:127- 142.
- Claveland, C. C. y Liptzin, D.** 2007. C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass?. *Biogeochemistry* 85:235–252 DOI 10.1007/s10533-007-9132-0 SYNTHESIS.
- Collino, D. J.; Salvagiotti, F.; Peticari, A.; Piccinetti, C.; Ovando, G.; Urquiaga, S. y Racca, R. W.** 2015. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors. *Plant Soil.* 392:239–252.
- Constantin, J.; Mary, B.; Laurent, F.; Aubrion, G; Fontaine, A.; Kerveillant, P. y Beaudoin, N.** 2010. Effects of catch crops, no till and reduced nitrogen fertilization on nitrogen leaching and balance in three long-term experiments. *Agric. Ecosyst. Environ.* 135:268–278.
- Conti, M. E.; de la Horra, A. M.; Effroii, D.; Jimenez, M. P.** 1993. Alteración producida en la relación cantidad-intensidad de potasio (QII) de algunos suelos argentinos afectados por laboreo continuo. *Agrochimica* 37: 351-358.
- Cordone, G. y Martínez, F.** 2001. Efecto de la aplicación de azufre y distintas dosis de nitrógeno sobre el rendimiento del doble cultivo trigo/soja. *Informaciones agronómicas, INPOFOS*, 13: 14-16.
- Corina, S. y Terré, E.** 2016. Argentina, granero del mundo. *Commodities. Bolsa de Comercio Rosario. DIEE N° Ed. 1773.* Disponible en: www.bcr.com.ar.
- Correndo, A. y García, F. O.** 2012. Concentración de nutrientes en planta como herramienta de diagnóstico: cultivos extensivos. *IPNI. AA N° 14.*

- Cruzate, A. y Casas, R.** 2012. Extracción y balance de nutrientes en los suelos agrícolas de la Argentina. *Fertilizar INTA*. 8:7-13.
- Dalal, R. y Mayer, R. J.** 1986. Long-term trends in fertility of soil under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. III. Distribution and kinetics of soil organic carbon in particle-size fractions. *Aust. J. Soil Res.* 24:293-300.
- Damon, P. M.; Bowden, B.; Rose, T. y Rengel, Z.** 2014. Crop residue contributions to phosphorus pools in agricultural soils: A review. *Soil Biol. & Bioch.* 74:127-137.
- Del Pozo, A.; Garnier, E. y Aronson, J.** 2000. Contrasted nitrogen utilization in annual C3 grass and legume crops: Physiological explorations and ecological considerations. *Acta Oecologica* 21 (1) (2000) 79–89.
- Deubel, A. y Merbach, W.** 2005. Influence of Microorganisms on Phosphorus Bioavailability in Soils. *Soil Biol.* 3: 177-191.
- Devi, K. N.; Khomba, L. N.; Sumarjit, M.; Basanta, S. y Khamba, K.** 2012. Influence of Sulphur and Boron Fertilization on Yield, Quality, Nutrient Uptake and Economics of Soybean (*Glycine max*) under Upland Conditions. *J. Agr. Sci.* 4 (4). ISSN 1916-9752.
- Díaz Zorita, M.; Buschiazzo, D. E. y Peinemann, N.** 1999. Soil organic matter and wheat productivity in the semiarid Argentinian Pampas. *Agron. J.* 91:276 -279.
- Dick, W A; McCoy, E. L.; Edwards, W. M. y Lal, R.** 1991. Continuous application of no-tillage to Ohio soils. *Agron. J.* 83:65-73.
- Dijkshoorn, W. y Van Wijk, A. L.** 1967. The sulphur requirements of plants as evidenced by the sulphur–nitrogen ratio in the organic matter, a review of published data. *Plant Soil* 26, 129–157.
- Diovisalvi, N. V.; Studdert, G. A.; Domínguez, G. F. y Eiza, M. J.** 2008. Fracciones de Carbono y Nitrógeno orgánicos y Nitrógeno anaeróbicos bajo agricultura continua con dos sistemas de labranza. *Sci. Soil.* 26(1):1-11.
- Diovisalvi, N.; Studdert, G. A.; Reussi Calvo, N. I. y Domínguez, G. F.** 2010. Relación entre el contenido de carbono orgánico particulado y total en suelos con diferente textura. XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Actas 2 pág. Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Divito G.A.; H. R. Sainz Rozas; H. E. Echeverría y N. Wyngaard.** 2013. Long-Term Sulfur Fertilization: Effects on Crops and Residual Effects in a No-Till System of Argentinean Pampas. *Commun. in Soil Sci. and Pl. Anal.* 44:1800-1813.
- Divito, G A; Sainz Rozas, H. R.; Echeverría, H. E.; Studdert, G. A. y Wyngaard, N.** 2011. Long term nitrogen fertilization: Soil propriety changes in an Argentinean Pampas soil under no tillage. *Soil & Till. Res.* 114: 117-126.
- Divito, G. A. y Sadras, V. O.** 2014. How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis. *Field Crops Res.* 156 (2014) 161–171.
- Divito, G. A.; Echeverría, H. E.; Andrade, F. H. y Sadras, V. O.** 2015. Diagnosis of S deficiency in soybean crops: Performance of S and N:S determinations in leaf, shoot and seed. *Field Crops Res.* 180 (2015) 167–175.
- Dolan, M.S.; Clapp, C. E; Allmaras, R. R.; Baker, J. M. y Molina, J. A. E.** 2006. Soil organic carbon and nitrogen in a Minnesota soil as related to tillage, residue and nitrogen management. *Soil Tillage Res.* 89:221–231.
- Domínguez, G. F.; Diovisalvi, N. V.; Studdert, G. A. y Monterubbianesi, M. G.** 2009. Soil organic C and N fractions under continuous cropping with contrasting tillage systems on mollisols of the southeastern Pampas. *Soil & Till. Res.* 102: 93–100.

- Domínguez, G. F.; Studdert, G. A.; Echeverría, H. E. y Andrade, F. H.** 2001. Sistema de cultivo y nutrición nitrogenada en maíz. *Sci Soil*. 19: 47-56.
- Dordas, C.** 2009. Dry matter, nitrogen and phosphorus accumulation, partitioning and remobilization as affected by N and P fertilization and source-sink relations. *Eur. J. Agron.* 30, 129–139.
- Du, Z.; Ren, T. y Hu, C.** 2010. Tillage and Residue Removal Effects on Soil Carbon and Nitrogen Storage in the North China Plain. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 74:196–202.
- Duivenbooden, N.V.; Wit, C.T.D. y Keulen, H. V.** 1996. Nitrogen, phosphorus and potassium relations in five major cereals reviewed in respect to fertilizer recommendations using simulation modelling. *Fert. Res.* 44, 37–49.
- Echeverría, H. E.; Bergonzi, R. y Ferrari, J.** 1994. Un modelo para estimar la mineralización de nitrógeno en suelos del Sudeste de la Provincia de Buenos Aires. *Sci Soil* 12: 56-62.
- Eiza, M J.; Fioriti, N.; Studdert, G. A. y Echeverría, H. E.** 2005. Fracciones de carbono orgánico en la capa arable: Efecto de los sistemas de cultivo and de la fertilización nitrogenada. *Sci Soil* 23:59–67.
- Elliott E.T. y Cambardella, C. A.** 1991. Physical separation of soil organic matter. *Agriculture. Ecos. & Env.* 34: 407-419.
- Elser J.J.; Sterner, R. W.; Gorokhova, E.; Fagan, W. F.; Markow, T. A.; Cotner, J. B.; Harrison, J. F.; Hobbie, S. F.; Odell, G. M. y Weider, L. W.** 2000b. Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecol. Lett.* 3:540-550.
- Elser, J. J.; Fagan, W. F.; Denno, R. F.; Dobberfuhl D. R.; Folarin, A.; Huberty, A.; Interlandi, S.; Kilham, S. S.; McCauley, E.; Schulz, K. L.; Siemann, E. H. y Sterner, R. W.** 2000a. Nutritional constraints in terrestrial and freshwater foodwebs. *Nature* 408:578-280.
- Elser, J. J.; Fagan, W. F.; Kerkhoff, A. J.; Swenson, N. G. y Enquist, B. J.** 2010. Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change. *New Phytol.* 186: 593–608.
- Elser, J.J.; Dobberfuhl, D. R.; MacKay, N. A. y Schampel, J. H.** 1996. Organism Size, Life History, and N:P Stoichiometry. *BioScience* 46 (9): 674-684.
- Fabre, F. y Planchon, C.** 2000. Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean *Plant Sci.* 152 (17): 51 – 58.
- Fabrizzi, K. P.; Morón, A. y García, F. O.** 2003. Soil carbon and nitrogen organic fractions in degraded vs. non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:1831–1841.
- Fan, H.; Wu, J.; Liu, W.; Yuan, Y.; Hu, L. y Cai, Q.** 2015. Linkages of plant and soil C:N:P stoichiometry and their relationships to forest growth in subtropical plantations. *Plant Soil* DOI 10.1007/s11104-015-2444-2.
- FAO y ITPS.** 2015. Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy. ISBN 978-92-5-109004-6.
- FAO.** 2002. Captura de Carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra. En: Informes sobre recursos mundiales de suelos 96. Capítulo 12. Instituto nacional de recherche agronomique. ISSN 1020-430-X.
- FAO.** 2015. El uso de fertilizantes en 2018. 1 p. (<http://www.fao.org/news/story>).

- Ferraris, G. N.; Toribio, M.; Falconi, R. y Couretot, L.** 2015. Efectos de diferentes estrategias de fertilización sobre los rendimientos, el balance de nutrientes y su disponibilidad en los suelos en el largo plazo. Simposio Fertilizar 2015. p. 137-142.
- Ferraris, G. ; Gutiérrez Boem, F. H. y Echeverría, H.** 2002. Respuesta a la fertilización en el cultivo de soja de primera. IDIA XXI, año II, no. 3, diciembre, pp. 52-58.
- Fertilizar AC.** 2014a. Evolución del Consumo de Fertilizantes en Argentina. 1p. (www.fertilizar.org.ar).
- Fertilizar AC.** 2014b. Consumo de Fertilizantes, Campaña 2013/2014. 1 p. (www.fertilizar.org.ar).
- Fontanetto, H.; Keller, O.; Sillón, M.; Albrecht, J.; Giailevra, D.; Negro, C. y Belotti, L.** 2011. Manejo de la fertilización de la soja en regiones templadas. Información Técnica Cultivos de Verano. Campaña 2011. INTA-EEAR. Publicación Miscelánea N° 121.
- Franzluebbbers, A. J.** 2002. Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. *Soil & Till. R.* 66: 95–106.
- Franzluebbbers, A. J. y Arshad, M. A.** 1997. Particulate organic carbon content and potential mineralization as affected by tillage and texture. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:1382-1386.
- Fredeen, A. L.; Medhusudana, R. y Terry, N.** 1989. Influence of Phosphorus Nutrition on Growth and Carbon Partitioning in Glycine max. *Pant Physio.* 89: 225-230.
- Freeborn, J. R.; Holshouser, D. L.; Alley, M. M.; Powell, N. L. y Orcutt, D. M.** 2001. Soybean Yield Response to Reproductive Stage Soil-Applied Nitrogen and Foliar-Applied Boron. *Agron. J.* 93:1200–1209.
- Freney, J. R.** 1986. Forms and reactions of organic sulphur compounds in soils. In: Tahatabai MA (ed) Sulphur in agriculture. *Agronomy 27*, Am Soc Agron, Madison, Wisconsin, pp 207-232.
- Freney, J. R. y Stevenson, F. J.** 1966. Organic sulfur transformations in soil. *Soil Sci.* 101:307-316.
- Freney, J. R. y Williams, C. H.** 1983. The sulphuer cycle in soil. The Global Biogeochemical Sulphur cycle. Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE). Pp. 129-201.
- Galantini, J. A.; Rosell, R.A. ; Brunetti, G. y Senesi, N.** 2002. Dinámica y calidad de las fracciones orgánicas de un Haplustol durante la rotación trigo-leguminosas. *Sci Soil* 20(1):17-26.
- Galantini, J. A.; Senesi, N.; Brunetti, G. y Rosell, R.** 2004. Influence of texture on organic matter distribution and quality and nitrogen and sulphur status in semiarid Pampean grassland soils of Argentina. *Geod.* 123: 143–152.
- García F.O.; Boxler, M.; Minteguiaga, J.; Pozzi, R.; Firpo, L.; Deza Marin, G. y Berardo, A.** 2006. La Red de Nutrición de la Región CREA Sur de Santa Fe – Resultados y Conclusiones de los primeros seis años 2000-2005. AACREA 2006.
- García, F. O.** 2004. Soja: Criterios para la fertilización del cultivo. INPOFOS/PPI/PPIC Cono Sur. 13 p.
- García, F. M.; Boxler, J.; Minteguiaga, R.; Pozzi, L.; Firpo, I.; Ciampitti, A. Correndo, F.; Bauschen, A.; Berardo y N. Reussi Calvo.** 2010. La red de nutrición de la región CREA sur de Santa Fe. Resultados y conclusiones de los primeros diez años 2000-2009. AACREA, Buenos Aires, 64p.
- Garside, A. L. y Fulton, M. C.** 1986. Response of irrigated soybean (Glycine max) to phosphorus on an alkaline cracking clay in semiarid tropical. *Aus. J. Exp. Agr.* 26:115–122.

- Gaylor, G. C. y Sykes, G. E.** 1985. Effects of nutritional stress on the storage proteins of soybeans. *Plant Physiol.*, 78 (1985), pp. 582–585.
- Geider, R. y J. La Roche.** 2002. Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.* 37:1, 1-17.
- Genovese, M. F.; Echeverría, H. E. y Sttudent, G.** 2009. Nitrógeno de amino-azúcares en suelos: calibración y relación con el nitrógeno incubado anaeróbico. *Sci Soil* 27(2): 225-236.
- Ghani, A.; McLaren, R. G. y Swift, R. S.** 1991. Sulphur mineralization in some New Zeland soils. *Biol Fertil Soils* 11:68-74.
- Giller, K. E. y Cadisch, G.** 1995. Future benefits from biological nitrogen fixation: An ecological approach to agriculture. *Plant and Soil* 174: 255-277.
- Gregorich, E. G.; Carter, M. R.; Angers, D. A.; Monreal, C. M. y Ellert, B. H.** 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Can. J. Soil Sci.* 74: 367-385.
- Gregorutti, V. C.; Novelli, L. E.; Miguel, R. J.; Ormaechea, M. V. y Caviglia, O. P.** 2014. Nitrógeno incubado en anaerobiosis y su relación con el nitrógeno orgánico en diferentes fracciones. *Sci Soil.* 32(1):41-51.
- Gregory, E. y Drury, C.** 1996. Fertilizer increases corn yield and soil organic matter. *Better Crops* 80(4): 3-5. Potash and Phosphate Institute. Norcross, Georgia, EE.UU.
- Güsewell, S.** 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytol.* (2004) 164 : 243–266.
- Güsewell, S.; Koerselman, W. y Verhoeven, J. T. A.** 2003. Biomass N:P ratios as indicators of nutrient limitation for plant populations in wetlands. *Ecol. Appl.* 13: 372–384.
- Gutiérrez Boem F. H.; Prystupa, P. y Ferraris, G.** 2007. Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. *J. Pl. Nutr.* 30:93-104.
- Gutiérrez Boem, F. H. y Thomas, G. W.** 1999. Phosphorus nutrition and water deficits in field-grown soybeans. *Plant & Soil* 207: 87–96.
- Gutiérrez Boem, F. H.** 2015. Regulación y diagnóstico de la disponibilidad de azufre. En: *Fertilidad de suelos y Fertilización en la región Pampeana.* Editorial Facultad de Agronomía, UBA. ISBN 978-987-3738-03-6. Pag. 165-175.
- Gutiérrez Boem, F. H. y Salvagiotti, S.** 2014. Soja. En: H.E. Echeverría y F.O. García (eds.) 'Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos', 2ª ed., Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina, pp. 479-508
- Gutiérrez Boem, F.H.; García, F. O. y Boxler, M.** 2010. ¿Qué tan distintos son los niveles críticos de fósforo disponible para soja, maíz y trigo? XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, mayo-junio, Rosario.
- Hall, E. K.; Maixner, F.; Franklin, O.; Daims, H. y Richter, A.** 2011. Linking microbial and ecosystem ecology using ecological stoichiometry: A synthesis of conceptual and empirical approaches. *Ecosyst.* 14: 261–273.
- Havlin, J. L.; Beaton, J. D.; Tisdale, S.L.; Nelson W. L.** 1999. Phosphorus (p. 154-195) In: *Soil fertility and fertilizers. An Introduction to Nutrient management.* Sixth edition. Prentice Hall, New Jersey, USA, 499 p.
- Halvorson, A. D.; Reule, C. A. y Follet, R. F.** 1999. Nitrogen Fertilization Effects on Soil Carbon and Nitrogen in a Dryland Cropping System. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:912–917.
- Hammond, L. C.; Black, C. A. y Norman, A. G.** 1951. Nutrient Uptake by Soybeans on Two Iowa Soils. *Research Bulletin* 384. Ames, Iowa.

- Haneklaus, S.; Bloem, E. y Schnug, E.** 2007. Sulfur interactions in crop ecosystems. Sulfur in plants an ecological perspective. *Pl. Ecoph.* 6: 17–58.
- Hanway, J. J. y Olson, R. A.** 1980. Phosphate nutrition of corn, sorghum, soybean an small grains. In: Khasawneh, sample, Kamprath eds. *The Role of Phosphorus in Agriculture.*
- Hao, X.; Gao, J.; Han, X.; Ma, Z.; Merchant, A.; Ju, H.; Li, P.; Yang W.; Gao, Z. y Lin, E.** 2014. Effects of open-air elevated atmospheric CO₂ concentration on yield quality of soybean (*Glycine max L. Merr.*). *Agr. Ecos.Env.* 192: 80-84.
- Harper, H. J.** 1959. Sulphur content of Oklahoma soils, rainfall and atmosphere. *Oklahoma Agric. Exp. Sta. Bull.* B-536.
- Hassink, J.; Bouwman, L.A.; Zwart, K.B. y Brussaard, L.** 1993a. Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 25, 47–55.
- Hassink, J.; Bouwman, L. A.; Zwart, K. B.; Bloem, J. y Brussaard, L.** 1993b. Relationships between soil texture, physical protection of organic matter, soil biota, and C and N mineralization in grassland soils. *Geod.* 57: 105–128.
- Hati, K.M.; Swarup, S.; Dwivedi, A. K.; Misra, A. K. y Bandyopadhyay, K. K.** 2007. Changes in soil physical properties and organic carbon status at the topsoil horizon of a vertisol of central India after 28 years of continuous cropping, fertilization and manuring. *Ag. Ecos. Env.* 119, 127–134.
- Haynes, R. J.** 1999. Labile organic matter fractions and aggregate stability under short-term, grass-based leys. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1821–1830.
- Haynes, R. J.** 2005. Labile organic matter fractions as Central components of the quality of agricultural soils:an overview. *Adv. Agr.* 85: 221-268.
- Hellal, F. y Abdelhamid, M.** 2013. Nutrient management practices for enhancing soybean (*Glycine max L.*) production. *Acta biol. Colomb.*, 18(2):239-250.
- Hevia, G. G.; Buschiazzo, D. E; Hepper, E. N.; Urioste, A. M. y Antón, E. L.** 2003. Organic matter in size fractions of soils of the semiarid Argentina. Effects of climate, soil texture and management. *Geod.* 116: 265–277.
- Hirose, T.** 2005. Development of the Monsi-Saeki Theory on Canopy Structure and Function. *Annals of Botany* 95: 483–494.
- Hitsuda, K.; Sfredo, G. J. y Klepker, D.** 2004. Diagnosis of Sulfur in soybean using sedes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:1445–1451.
- Hogy, P; Brunnbauer, M.; Koehler, P.; Schwadorf, K.; Breuer, J.; Franzaring, J.; Zhunusbayeva, D. y Fangmeier, A.** 2013. Grain quality characteristics of spring wheat (*Triticum aestivum*) as affected by free-air CO₂ enrichment. 2013. *Env. Exp. Bot.* 88:11-18.
- Hussain, K.; Islam, M.; Siddique, M. T.; Hayat, R. y Mohsan, S.** 2011. Soybean growth and nitrogen fixation as affected by sulfur fertilization and inoculation under rainfed conditions in Pakistan. *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 951–955.
- Israel, D. W.; Kwanyuen, P.; Burton, J. W. y Walker, D. R.** 2007. Response of low seed Phytic Acid Soybeans to Increases in External Phosphorus Supply. *Crop Sc. Soc.Am.* 47:2036-2046.
- Jan, A.; Khan, N.; Khan, N.; Khan, I. A. y Khattak, B.** 2002. Chemical composition of canola as affected by nitrogen and sulphur. *Asian J. Plant Sci.*, 1: 519–521.
- Janssens, I. A.; Dieleman, W. y Luysaert, S.** 2010. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nat. Geosci.* 3, 315–322.

- Janzen, H. H.; Campbell, S. A.; Brandi, S. A.; Lafond, G. P. y Townley-Smith, L.** 1992. Light-fraction organic matter in soil from long term crop rotations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:-1799-1806.
- Janzen, H. H.; Campbell, C. A.; Izaurrealde, R. C.; Ellert, B. H.; Juma, N.; McGill, W. B. y Zentner, R. P.** 1998. Management effects on soil C storage on the Canadian Prairies. *Soil Till. Res.* 47:181- 195.
- Jia, Y. S. y Gray, V. M.** 2007. The influence N and P supply on the short-term responses to elevated CO₂ in faba bean (*Vicia faba* L). *S. Afr. J. Bot.* 73: 466–470.
- Jun, Z.; Yanhong, W.; Jorg, P.; Haijian, B.; Dong, Y.; Shouqin, S.; Luoji, S. y Hongyang, S.** 2013. Changes of soil phosphorus speciation along a 120-year soil chronosequence in the Hailuoguo Glacier retreat area (Gongga Mountain, SW China). *Geod.* 195–196: 251–259.
- Kaiser, D. E. y Kim, K. I.** 2013. Soybean Response to Sulfur Fertilizer Applied as a Broadcast or Starter Using Replicated Strip Trials. *Agron. J.* 105:1189–1198.
- Kamara, A. Y.; Kwari, J.; Ekeleme, F.; Omoigui, L. y Aboidoo, R.** 2008. Effect of phosphorus application and soybean cultivar on grain and dry matter yield of subsequent maize in the tropical savannas of north-eastern Nigeria. *Afr. J. of Biotech.* 7 (15): 2593-2599.
- Kamara, A. Y.; Ekelemes, F.; Omoigui, L. O. y Ajeigbe, H. A.** 2012. Phosphorus and nitrogen fertilization of soybean in the Nigerian Savanna. *Expl Agric.* 48 (1): 39–48.
- Keeney, D. R. y Bremner, J. M.** 1964. Effect of Cultivation on the Nitrogen Distribution in Soils. *Journal paper.* Vol. 28, 25:653-656.
- Keeney, D. R. y Bremner, J. M.** 1966. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. *Agron. J.* 58:498–503.
- Kemmitt, S. J.; Goulding, K. W. T.; Wright, D. y Jones, D. L.** 2006. pH regulation of soil carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biol. Bioch.* 38: 898-911.
- Kerkhoff, A. J.; Fagan, W. F.; Elser, J. J. y Enquist, B. J.** 2006. Phylogenetic and growth form variation in the scaling of nitrogen and phosphorus in the seed plants. *Am. Nat.* 168:103–122.
- Kinugasa, T.; Sato, T.; Oikawa, S. y Hirose, T.** 2012. Demand and supply of N in seed production of soybean (*Glycine max*) at different N fertilization levels after flowerin. *J Plant Res* 125:275–281.
- Kirchmann, H.; Gerzabek, M. y Pichlmayer, F.** 1987. Response of Soil C, N and S to Manure Amendments in the Ultuna Long-term Organic Matter Experiment. Scientific registration no.: 990 Symposium no.: 12 Presentation: Poster.
- Koerselman, W. y Meuleman, A. F. M.** 1996. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *J. Appl. Ecol.* 33: 1441-145.
- Kong, A. Y.; Fonte, S. J.; Van Kessel, C. y Six, J.** 2007. Soil aggregates control N cycling efficiency in long-term conventional and alternative cropping systems. *Nutr. Cycl. Agroec.* 79:45–58.
- Kowalenko, C. G. y Lows, L. E.** 1975. Mineralization of sulfur from four soils and its relationship to soil carbon, nitrogen and phosphorus. *Can. J. Soil Sci.* 55:9-14.
- Krishnah, H. B.** 2008. Improving the sulphur-containing amino acids of soybean to enhance its nutritional value in animal feed. American Society of agronomy. *Crop Science Society of America.* 677. USA. ISBN: 978-0-89118-186-6.
- Krishnan, H.B.; Bennett, J. O.; Kim, W.; Krishnan, A. H. y Mawhinney, T. P.** 2005. Nitrogen lowers the sulfur amino acid content of soybean (*Glycine max* L. Merr.) by

regulating the accumulation of Bowman–Birk protease inhibitor. *J. Agric. Food Chem.* 53:6347–6354. doi:10.1021/jf050510i.

Krueger, K.; Goggi, A. S.; Mallarino, A. P. y Mullen, R. E. 2013. Phosphorus and Potassium Fertilization Effects on Soybean Seed Quality and Composition. *Crop Sci.* 53:602–610.

Kuehl, R. 2001. Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. Traducido del libro *Design of Experiments* 2nd ed., publicado en inglés por Duxbury.Thomson learning. México. ISBN 970-686-048-7.

Kumar, P.A.; Parry, M. A.; Mitchell, R. A. C.; Altaf, A. y Abrol, Y. P. 2002. Photosynthesis and nitrogen use efficiency. In: Foyer, C.H., Noctor, G. (Eds.), *Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 23–34.

Kundu, S.; Bhattacharyya, R.; BN-Ved Prakash Ghosh y Gupta, H. S. 2007. Carbon sequestration and the relationship between addition and carbon storage in rainfed soybean - wheat rotation in a sandy loam soil of the Indian Himalayas. *El suelo de labranza Res.* 92: 87-95.

Kuo, S. 1996. Phosphorus. En: D.L. Sparks (ed.). *Methods of soil analysis, part 3, chemical methods*, SSSA-ASA. 869-919.

Ladd, J. N.; Amato, M. y Parsons, J. W. 1977. Studies of nitrogen immobilization and mineralization in calcareous soils. 111. Concentration and distribution of nitrogen derived from soil biomass. In “*Soil Organic Matter Studies*”, Vol. 1, pp. 301–311. International Atomic Energy Agency, Vienna.

Ladd, J. N.; Amato, M.; Jocteur-Monrozier, L. y Van Gestal' M. 1990. Soil microhabitats and carbon and nitrogen metabolism' *Trans. Int. Cong. Soil Sci.* Kyoto, Japan. III: 82-87.

Lambers, H.; Brundrett, M. C.; Raven, J. A. y Hopper, S. D. 2010. Plant mineral nutrition in ancient landscapes: high plant species diversity on infertile soils is linked to functional diversity for nutritional strategies. *Pl. Soil* 334:11–31.

Larson, W. E.; Clapp, C. E.; Pierce, W. H. y Mochoran, V. B. 1972. Effects of increasing amounts of organic residues on continuous corn: II. Organic carbon, nitrogen, phosphorus, and sulfur. *Agron. J.* 64, 205–208.

Leegood, R. C; Walker, D. A. y Foyer, C. H. 1985. Regulation of the Benson–Calvin cycle. In: Barber N, Barker R (eds) *Photosyn- thetic mechanisms and the environment*, Elsevier, Amsterdam, pp 189–258.

Lemaire, G. y Gastal, F. 2009. Quantifying crop responses to nitrogen deficiency and avenues to improve nitrogen use efficiency. In: *Crop Physiology Applications for Genetic Improvement and Agronomy*.16: 171–211.

Lemke, R.L.; VandenBygaart, A. J.; Campbell, C. A.; Lafond, G. P. y Grant, B. 2010. Crop residue removal and fertilizer N: effects on soil organic carbon in a long-term crop rotation experiment on a Udic Boroll.*Agriculture, Ecos.Env.* 135,42–51.

Li, X.; Wang, H.; Gan, S.; Jiang, D.; Tian, G. y Zhang, Z. 2013.Eco-Stoichiometric Alterations in Paddy Soil Ecosystem Driven by Phosphorus Application.*PLOS ONE*.8:1-11.

Liebig, J. 1859. *Letters on Modern Agriculture*, Blyth, J. (ed.). Pp. 220-222. Walton and Maberly, London. Edited by John Blyth. United States of America. pág.1-318.

- Liebig, M. A.; Varvel, G. E.; Doran, J. W. y Wienhold, B. J.** 2002. Crop sequence and nitrogen fertilization effects on soil properties in the western corn belt. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:596-601.
- Loewy, T.; Bergh, R. y Ron, M. M.** 2008. Contenido de azufre y relación N:S en grano de trigo en el centro sur y sudeste bonaerense. XXI Congreso Argentino de la ciencia del suelo-Semiárido: un desafío para la Ciencia del Suelo. 13 al 16 de mayo de 2008 Potrero de los Funes (San Luis), Argentina.
- Lou, Y.; Wang, J. y Wenju, L.** 2011. Impacts of 22-year organic and inorganic N managements on soil organic C fractions in a maize field, northeast China. *Catena*. 87: 386–390.
- Mahajan, G.; Chauhan, B. S.; Timsina, J.; Singh, P. P. y Singh, K.** 2012. Crop performance and water- and nitrogen-use efficiencies in dry-seeded rice in response to irrigation and fertilizer amounts in northwest India. *Field Crops R.* 134 (2012) 59–70.
- Mandiola, M.; Studdert, G. A.; Domínguez, G. F. y Videla, C. C.** 2011. Organic matter fraction distribution in aggregate sizes of a Mollisol under contrasting managements. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 11:41-57.
- Manlay R.J.; Feller, C. y Swift, M. J.** 2007. Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agr. Ecosyst. Environ.* 119:217-233.
- Manna, M C.; Swarup, A.; Wanjari, R. H.; Mishra, B. y Shahi, D. K.** 2007. Long-term fertilization, manure and liming effects on soil organic matter and crop yields. *Soil Till. Res.* 94 (2): 397–409.
- Marriott, E. E. y Wander, M. M.** 2006. Total and labile soil organic matter in organic and conventional farming systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 950-959.
- Marschner, H.** 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, second ed. Academic Press, London.
- Martínez, F. y Cordone, G.** 1998. Fertilización azufrada en soja. Jornada de Azufre. UEEA INTA Casilda. Santa Fe. Setiembre 1988
- Mascagni, H.J.; Harrison, S. A. y Padgett, G. B.** 2008. Influence of Sulfur Fertility on Wheat Yield Performance on Alluvial and Upland Soils, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 39:13-14, 2133-2145.
- Matzek, V. y Vitousek, P. M.** 2009. N : P stoichiometry and protein : RNA ratios in vascular plants: an evaluation of the growth-rate hypothesis. *Ecol. Lett.* 12: 765–771.
- Maynard, D. G.; Stewart, W. B. y Bettany, J. R.** 1983. Sulfur and nitrogen mineralization in soils compared using two incubation techniques. *Soil Biol. Biochem.* 15, 251–256.
- McLauchlan, K. y Hobbie, S.** 2004. Comparison of labile soil organic matter fractionation techniques. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 68:1616-1625.
- Mendes, I. C.; Hungria, M. y Vargas, M. A. T.** 2003. Soybean response to starter nitrogen and Bradyrhizobium inoculation on a cerrado oxisol under no-tillage and conventional tillage systems. *BR. R. Bras. Sci Soil*, 27: 81-87.
- Mizuno, I. B.** 1986. Azufre en suelos argentine. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria XL (1985-1986):*5-11.
- Mizuno, I.; B. de Lafailer y L. G. de López Camelo.** 1990. Caracterización del azufre en algunos molisoles de la provincia de Buenos Aires. *Sci Soil* 8(2):111-117.
- Nasreen, S. y Farid, A. T. M.** 2006. Sulphur uptake and yield of soybean as influenced by sulphur fertilization. *Pakistan J. Agric. Res.* Vol. 19 N° 4,2006.

- Niklas, K.J. y Cobb, E.D.** 2006. Biomass partitioning and leaf N,P-stoichiometry: comparisons between tree and herbaceous current-year shoots. *Plant Cell Environ.* 29, 2030–2042.
- O’Halloran, I. P.; Stewart, J. W. B. y Kachanoski, R. G.** 1987. Influence of texture and management practices on the forms and distribution of soil phosphorus. *Can. J. Soil Sci.* 76: 147-163.
- Ogoke, I. J.; Carsky, R. J.; Togun, A. O. y Dashiell, K.** 2003. Effect of P fertilizer application on N balance of soybean crop in the guinea savanna of Nigeria. *Ag. Ecos. Env.* 100: 153–159.
- Omay, A. B.; Rice, C. W.; Maddux, L. D. y Gordon, W. B.** 1997. Changes in soil microbial and chemical properties under long-term crop rotation and fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 1672–1678.
- Ortiz, R. E.** 1980. Contenido de diversas formas de S orgánico en suelos de la precordillera patagónica. *Actas del IX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo* 1:255-266.
- Paustian, K.; Collins, H. P. y Paul, E. A.** 1997. Management controls on soil carbon. In: Paul, E.A. (Ed.), *Soil Organic Matter in Temperate Agroeco- systems*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 15–49.
- Peñuelas, J.; Benjamin, P.; Sardans, J.; Ciais, P.; Van der Velde, M.; Bopp, L.; Boucher, O.; Godderis, Y.; Hinsinger, P.; Llusia, J.; Nardin, E.; Vicca, S.; Obersteiner, M. y Janssens, I. A.** 2013. Human-induced nitrogen–phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. *Nat Commun.* 4: 2934.
- Purakayastha, T.J.; Rudrappa, L.; Singh, D.; Swarup, A. y Bhadraray, S.** 2008. Long-term impact of fertilizers on soil organic carbon pools and sequestration rates in maize–wheat–cowpea cropping system. *Geod.* 144 (1–2): 370–378.
- Qin, R.; Stamp, P. y Richner, W.** 2006. Impact of tillage on maize rooting in a Cambisol and Luvisol in Switzerland. *Soil Till. Res.* 85:50–61.
- Quiroga, A. R. y Buschiazzo, D. E.** 1988. Correlaciones entre parámetros hídricos, densidad aparente y contenidos de materia orgánica con granulometría en suelos de la Región Semiárida Pampeana Central. *Actas XII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, Corrientes*.
- Radin, J. W. y Eidenbock, M. P.** 1984. Hydraulic Conductance as a Factor Limiting Leaf Expansion of Phosphorus-Deficient Cotton Plants. *Plant Physiol.* 75, 372-377.
- Randall, P.J.; Freney, J. R. y Spencer, K.** 2003. Diagnosing sulfur deficiency in rice by grain analysis. *Nutr. Cycl. Agroec.* 65: 211–219, 2003.
- Randall, P.J.; Spencer, K. y Kerry, J. R.** 1981. Sulfur and nitrogen fertilizer effects on wheat. I. Concentration of sulfur and nitrogen, and the nitrogen to sulfur ratio in grain, in relation to the yield response. *Aust. J. Agric. Res.* 32: 203-212.
- Rao I. M. y Terry, N.** 1995. Leaf phosphate status, photosynthesis, and carbon partitioning in sugar beet IV. Changes with time following increased supply of phosphate to low-phosphate plants. *Plant Physiol* 107:1313–1321
- Rastetter, E. B. y Shaver, G.R.** 1992. A model of multiple-element limitation for acclimating vegetation. *Ecology* 73:1157–1174.
- Reich, P. B. y Oleksyn, J.** 2004. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* 101, 11001–11006.
- Reussi Calvo, N I; Sainz Rozas, H.; Echeverría, H. y Berardo, A.** 2013. Contribution of anaerobically incubated Nitrogen to the diagnosis of Nitrogen Status in spring wheat. *Soil Fertility & Crop Nutrition. Agron. J.* 105:321–328.

- Reussi Calvo, N.; Echeverria, H. y Sainz Rozas, H.** 2011. Diagnosing sulfur deficiency in spring red wheat: plant analysis. *J. Plant Nutr.* 34, 573–589.
- Reussi Calvo, N.; Calandroni, M.; Studdert, G.; Gabria, F.; Diovisalvi, N. y Berardo, A.** 2014. Nitrógeno incubado en anaerobiosis y materia orgánica en suelos agrícolas de Buenos Aires. XXIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Actas 9 pág. Bahía Blanca, Argentina 5-9 de mayo.
- Ribet, J. y Drevon, J. J.** 1995. Increase in permeability to oxygen and in oxygen uptake of soybean nodules under limiting phosphorus nutrition. - *Physiol. Plant*, 94: 298-304.
- Richards, J. E.** 1993. Soil Sampling and Methods of Analysis, Chapter 15. Chemical Characterization of plant tissue. Edited by M. R. Carter, Ed. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. ISBN 0-87371-861-5.
- Robert, M.** 2002. Captura de Carbono en los Suelos para un mejor manejo de la tierra. Informes sobre recursos mundiales de suelos. FAO. ISSN 1020-430-X.
- Robinson, C. A.; Cruse, R. M. y Ghaffarzadeh, M.** 1996. Cropping system and nitrogen effects on Mollisol organic carbón. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60:264-269.
- Rubio G.; Roberto, A. y Steinbach, H.** 2015. Fósforo del suelo en agroecosistemas. En: Fertilidad de suelos y Fertilización en la región Pampeana. Editorial Facultad de Agronomía, UBA. ISBN 978-987-3738-03-6. Pag. 147-164.
- Rubio, G. y Álvarez, C. R.** 2010. Fósforo: dinámica y evaluación en agroecosistemas. En: Fertilidad de suelos. Caracterización y manejo en la región pampeana. Ed. Fac. Agr. Bs. As.- ISBN 978-950-29-1234-9.
- Russi, D.; Gutiérrez Boem, F. H.; Prystupa, P.; Rubio, G. y Acierne, S. R.** 2012. Distribución vertical de sulfatos en suelos de pampa ondulada y pampa interior. XXIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, 16-20 abril, Mar del Plata.
- Sá J.C.M.; Cerri, C.; Dick, W.; Lal, R.; Venske Filho, S.; Piccolo, M. y Feigl, B.** 2001. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a brazilian oxisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65:1486-1499.
- Sadras, V. O.** 2006. The N:P stoichiometry of cereal, grain legume and oilseed crops. *Field Crops R.* 95(1): 13–29.
- Sainz Rosas, H. y Echeverria, H.** 2008. Relevamiento de la concentración de fósforo asimilable en suelos agrícolas de la región pampeana y extrapampeana. Actas CD XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. San Luis. AACS. Version CD.
- Sainz Rosas, H.; Calviño, P. A.; Echeverría, H. E.; Barbieri, P. A. y 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.
- Salas, A.M.; Elliott, E.; Westfall, D.; Cole, C. y Six, J.** 2003. The role of particulate organic matter in phosphorus cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:181–189.
- Sale, P.W.G. y Campbell, L. C.** 1980. Patterns of mineral nutrient accumulation in soybean seed. *Field Crops R.* 3: 157—163.
- Salvagiotti F.; Ferraris, G.; Quiroga, A.; Barraco, M.; Vivas, H.; Prystupa, P.; Echeverría, H. y Gutiérrez Boem, F. G.** 2012a. Identifying sulfur deficient fields by using sulfur content; N:S ratio and nutrient stoichiometric relationships in soybean seeds. *Field Crops R.* 135:107-115.
- Salvagiotti F.; Ferraris, G.; Quiroga, A.; Barraco, M.; Vivas, H.; Prystupa, P. y Echeverría, H.; Sardans, J. y Peñuelas, J.** 2012b. The role of plants in the effects of global change on nutrient availability and stoichiometry in the plant–soil system. *Plant Physiology* October 2012 pp.112.208785.

- Salvagiotti F.; Cassman, K. G.; Specht, J. E.; Walters, D. T.; Weiss, A. y Dobermann, A.** 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: a review. *Field Crops Res.* 108:1–13.
- Salvagiotti, F. y Miralles, D. J.** 2008. Radiation interception, biomass production and grain yield as affected by the interaction of nitrogen and sulfur fertilization in wheat. *Eur. J. Agron.* 28, 282–290.
- Salvagiotti, F.; Gerster, G.; Bacigalppo, S.; Castellarín, J.; Galarza, J.; Gonzáles, N.; Gudelj, V.; Novello, O.; Pedrol, H. y Vallone, P.** 2004. Efectos residuales y directos de fósforo y azufre en el rendimiento de soja de segunda. *Sci Soil* 22(2): 92-101.
- Salvagiotti, F.; Castellarín, J. M.; Miralles, D. J. y Pedrol, H. M.** 2009. Sulfur fertilization improves nitrogen use efficiency in wheat by increasing nitrogen uptake. *Field Crops Res.* 113: 170–177.
- San Martín, N. F.; Navarro, C. A. y Echeverría, H. E.** 1986. Determinación de azufre total en material vegetal. *IDIA.* 457-462: 40-45. (Editado en 1991).
- Sardans, J. y Peñuelas, J.** 2012. The Role of Plants in the Effects of Global Change on Nutrient Availability and Stoichiometry in the Plant-Soil System. *Plant Phy.* 160: 1741–1761.
- Sardans, J.; Rivas-Ubach, A. y Peñuelas, J.** 2012. The C:N:P stoichiometry of organisms and ecosystems in a changing world: A review and perspectives. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 14 (2012) 33– 47.
- Sattari, S. Z.; Van Ittersum, M. K.; Bouwman, A. F.; Smit, A. L. y Janssen, B. H.** 2014. Crop yield response to soil fertility and N, P, K inputs in different environments: Testing and improving the QUEFTS model. *Field Crops Res.* 157:35-46.
- Scherer, H. W.** 2001. Review Sulphur in crop production — invited paper. *Eur. J Agr.* 14: 81–111.
- Scherer, H. W.** 2009. Sulfur in soils. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172: 326–335.
- Scherer, H. W.; Pacyna, S.; Spoth, K. R. y Schulz, M.** 2008. Low levels of ferredoxin, ATP and leghemoglobin contribute to limited nitrogen fixation of peas (*Pisum sativum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) under S deficiency conditions. *Biol. Fert. Soils* 44: 909-916.
- Schlesinger, W. H. y Bernhardt, E. S.** 2013. Biogeochemistry: An analysis of global change. Chapter 12: The Global Cycles of Nitrogen and Phosphorus. 3rd edición. China. British Library. 665 pág.
- Schulze, J.; Temple, G.; Temple, S. J.; Beschow, H. y Vance, C. P.** 2006. Nitrogen fixation by white lupin under phosphorus deficiency. *Ann. Bot.* 98:731– 740.
- Sexton, P. J.; Paek, N. C. y Shibles, R. M.** 1998. Effects of nitrogen source and timing of sulfur deficiency on seed yield and expression of 11S and 7S seed storage proteins of soybean. *Field Crops Res.* 59: 1-8.
- Sexton, P. J.; Paek, N. C.; Naeve, S. L. y Shibles, R. M.** 2002. Sulfur metabolism and protein quality of soybean. In: *Quality improvement in field crops.* 1st ed. (Eds: Basra, AS; Randhawa, LS) The Haworth Press. 5: 285-308.
- Sharifi, B. y Zebarth, J.** 2008. Response of potentially mineralizable soil Nitrogen and Indices of Nitrogen Available to tillage system. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 72:1124-1131.
- Sharma, A. y Sharma, S.** 2014. Effect of Nitrogen and Sulphur Nutrition on Nitrogen assimilating Enzymes in Soybean Roots and Nodules. *Inter. J. Agr., Env. & Biot.:* 7(3): 471-480.

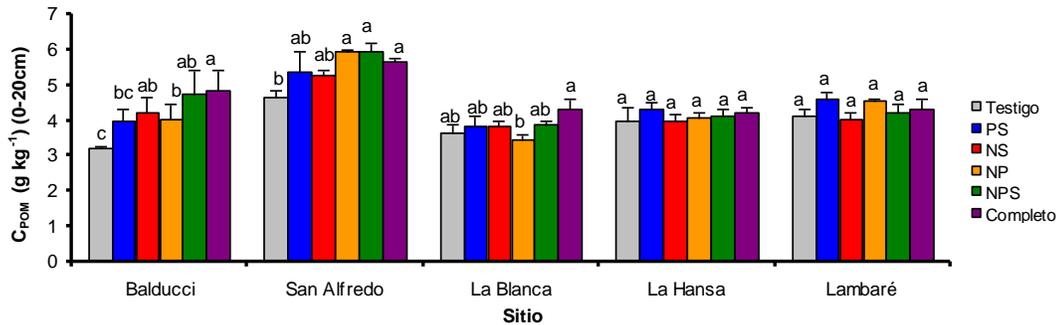
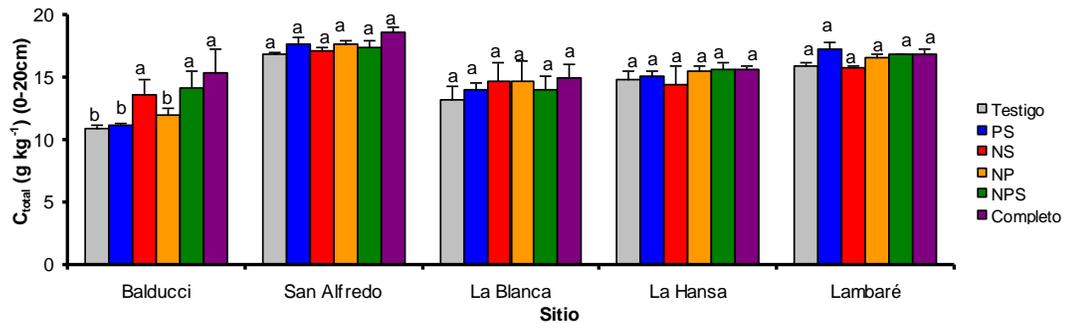
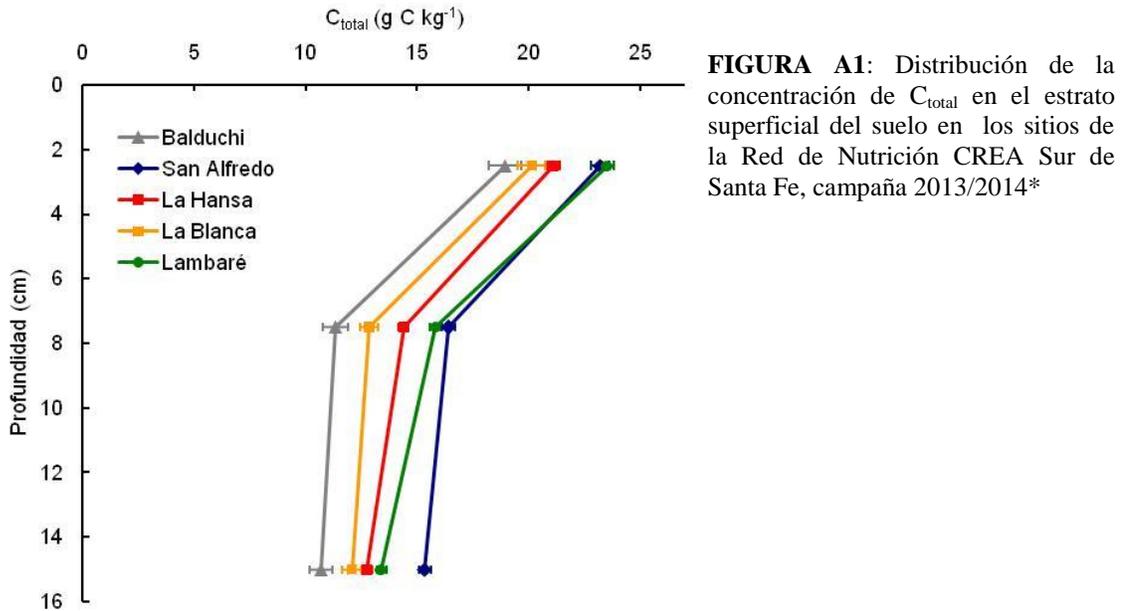
- Sinclair, T. R.** 1986. Water and nitrogen limitations in soybean grain production. I. Model development. *Field Crops Res.*, 15: 125-141.
- Singh, A.; Carsky, R. J.; Lucas, E. O. y Dashiell, K.** 2003. Soil N balance as affected by soybean maturity class in the Guinea savanna of Nigeria. *Agr. Ecos. Env.* 100: 231–240.
- Singh, K. K.; Srinivasarao, Ch y Ali, M.** 2005. Root Growth, Nodulation, Grain Yield, and Phosphorus Use Efficiency of Lentil as Influenced by Phosphorus, Irrigation, and Inoculation. *Soil Sci. Pl. Anal.* 36: 1919–1929.
- Skjemstad J.O.; Spouncer, L. R.; Cowie, B. y Swift, R. S.** 2004. Calibration of the Rothamsted organic carbon turnover model (RothC ver. 26.3), using measurable soil organic carbon pools. *Austr. J. Soil Res.* 42: 79–88.
- Small, H. G. y Ohlrogge, A. J.** 1973. Plant analysis as an aid in fertilizing soybeans and peanuts. In *Soil testing and plant analysis*. Eds. LMWalsh and J D Beaton. pp 315–327. SSSA, Madison.
- Smeck, N. E.** 1985. Phosphorus dynamics in soils and landscapes. *Geoderma* 36: 185-199.
- Soliman, M. F. y Farah, M. A.** 1985. Effect of phosphorus, nitrogen-fertilization and foliar applied manganese on yield and nutrient concentration of soybean. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 16:361–374.
- Solomon, D.; Lehmann, J. y Martinez, C. E.** 2003. Sulfur K-edge X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy as a tool for understanding S dynamics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1721–1731.
- Spencer, K. y Freney, J. R.** 1960. A comparison of several procedures for estimating the sulfur status of soils. *Australian. J. Agr. Res.* 11:948-959.
- Sterner, R. W. y Elser, J. J.** 2002. *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton, New Jersey.
- Studdert, G. y Echverría, H. E.** 2000. Crop rotations and nitrogen fertilization to manage soil organic carbon dynamics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1496-1503.
- Studert, G. A; Carabaca, L.S y Echeverría, H.E.** 2000. Estimación del nitrógeno mineralizado para un cultivo de trigo en distintas secuencias de cultivo. *Sci. Suelo* 18 (1): 17-27.
- Sucunza, F. A.; Gutiérrez Boem, F. H.; García, F. O.; Boxler, M. y G. Rubio.** 2016. Fertilización de largo plazo en el norte de la región pampeana: balance de fósforo y dinámica de extracción. XV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Actas 15 pág. Río Cuarto, Argentina 27 de junio al 1 de julio.
- Sumner, M. E.** 1977. Preliminary N, P and K foliar diagnostic norms for soybeans. *Agronomy Journal.* 69: 226-230.
- Sunarpi, A. y Anderson, J. W.** 1996. Distribution and redistribution of sulfur supplied as (35S) sulfate to roots during vegetative growth of soybean. *Plant Physiol.* 110, 1151–1157.
- Suñer, L. G.; Galantini, J. A.; Rosell, R. A. y Chamadoira, M. D.** 2001. Cambio en el contenido de formas de fósforo en suelos de la región semiárida pampeana cultivados con trigo (*Triticum aestivum*) *Rev. Fac. Agron., La Plata.* 104:113-119.
- Tabatabai, M. A.** 1996. Sulfur. En D. L. Sparks (ed) *Methods of soil analysis Part 3, Chemical methods*, SSSA, Madison, WI, USA, pp. 921-960.
- Tabatabai, M. A. y Bremner, J.M.** 1972. Forms of sulphur and carbon, nitrogen and sulphur relationships in Iowa soils. *Soil Sci.* 114: 380-386.
- Tang, J. X.; Liu, X. J.; Zhang, F. S. y Christie, P.** 2006. Effect of Long-Term Fertilization on Organic Nitrogen Forms in a Calcareous Alluvial Soil on the North China Plain. *Pedosphere.* 16(2):224-229. p. 67-102.

- Thomsen, I. K. y Christensen, B. T.** 2004. Yields of wheat and soil carbon and nitrogen contents following long-term incorporation of barley straw and ryegrass catch crops. *Soil Use Manage.* 20:432–438.
- Tian, H.; Chen, G.; Zhang, C.; Melillo, J. M.; Charles y Hall, A.S.** 2010. Pattern and variation of C:N:P in the soils of China: a synthesis of observational data. *Biogeoquímica.* 98: 139-151.
- Tian, K.; Zhao, Y.; Xu, X.; Hai, N.; Huang, B. y Deng, W.** 2015. Effects of long-term fertilization and residue management on soil organic carbon changes in paddy soils of China: A meta-analysis. *Agr. Ecosys. Env.* 204: 40–50.
- Tiessen, H. y Stewart, J. W. B.** 1983. Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter: II. Cultivation effects on organic matter composition in size. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47:509-514.
- Tong, X.; Xu, M.; Wang, X.; Bhattacharyya, R.; Zhang, W. y Cong, R.** 2014. Long-term fertilization effects on organic carbon fractions in a red soil of China. *Catena* 113: 251-259.
- Urricariet, S. y Lavado, R. S.** 1999. Indicadores de deterioro en suelos de la pampa ondulada. *Sci Soil* 17(1):37-44.
- Van Veen, J. A. y Kuikman, P. J.** 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeo- chemistry* 11: 213–233.
- Vandamme, E.; Renkens, M.; Pypers, P.; Smolders, E.; Vanlauwe, B. y Merckx, R.** 2013. Root hairs explain P uptake efficiency of soybean genotypes grown in a P-deficient Ferralsol. *Plant Soil* 369:269–282.
- Varenes, A.; de Melo-Abreu, J. P. y Ferreira, M. E.** 2002. Predicting the concentration and uptake of nitrogen, phosphorus and potassium by field-grown green beans under non-limiting conditions. *Eur. J. of Agr.* 17 (2002) 63–72.
- Varin, S.; Leveel, B.; Lavenant, S. L. y Cliquet, J. B.** 2009. Does the white clover response to sulphur availability correspond to phenotypic or ontogenetic plasticity?. *Acta Oecologica* 35: 452–457.
- Vitousek, P. M.; Hattenschwiler, S; Olander, L. y Allison, S.** 2002. Nitrogen and nature. *Ambio* 31:97–101.
- Walker, T. W. y Adams, A. F. R.** 1958. Studies on organic matter. I. Influence of phosphorus content of parent materials on accumulations of carbon, nitrogen, sulfur and organic phosphorus in grassland soils. *Soil Sci.* 85: 307-318.
- Walker, T. W. y Adams, A. F. R.** 1959. Studies on soil organic matter: 2. Influence of increased leaching at various stages of weathering on leaves of carbon, nitrogen, sulfur and organic and total phosphorus. *Soil Sci.* 87:1-10.
- Walker, T. W.; Adams, A. F. R. y Orchiston, H. D.** 1956. The effect of levels of calcium sulphate on the yield and composition of a grass and clover pasture. *Plant Soil* 7, 290–300.
- Walkley, A. y Black, I. A.** 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-37.
- Wander, M.** 2004. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. Pp. 67-102. In: K Magdoff & RR Weil (eds.) *Soil organic matter in sustainable agriculture.* CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU.
- Wander, M.** 2007. Los suelos no mienten: Verdades dichas a través de ensayos de larga duración (<http://www.engormix.com>).

- Wang, J.; Solomon, D.; Lehmann, J.; Zhang, X. y Amelung, W.** 2006. Soil organic sulfur forms and dynamics in the Great Plains of North America as influenced by long-term cultivation and climate. *Geod.* 133, 160–172.
- Wang, M.; Meaghan, T.; Murphy, T. y Moore, T. R.** 2014. Nutrient resorption of two evergreen shrubs in response to long-term fertilization in a bog. *Oecologia* 174:365–377.
- Wang, W.; Meaghan, T. y Moore, T. R.** 2014. Responses of soil nutrient concentrations and stoichiometry to different human land uses in a subtropical tidal wetland. *Geod.* 232–234: 459–470.
- Wang, Y.; Cai, D. T. y Hi, R. H.** 1991. The availability of residual fertilizer nitrogen and its relationship with residual nitrogen forms and distribution in soil. *Acta Pedologica Sinica* (in Chinese). 30(1): 19-25.
- Wang, Y.; Frei, M.; Song, Q. y Yang, L.** 2011. The impact of atmospheric CO₂ concentration enrichment on rice quality – A research review. *Acta Ecologica Sinica.* 31 (6): 277-282.
- Wardlaw, I.** 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytol.* 116: 341-381.
- Warton, D. I.; Wright, I. J.; Falster, D. S. y Westoby, M.** 2006. Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biol. Rev.* 81: 259–291.
- Whitehead, D. C.** 1964. Soil and plant nutrition aspects of the sulphur cycle. *Soils Fert.* 27:1-8.
- Williams, C. H. y Steinbergs, A.** 1959. Soil sulfur fractions as chemical indices. *Australian J. Agr. Res.* 10:340-352.
- Williams, C. H.; Williams, E. G. y Scott, N. M.** 1960. Carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in some Scottish soils. *J. Soil Sci.* 11: 334-346.
- Williams, C. J. y Steinbergs, A.** 1958. Sulphur and phosphorus in some eastern Australian soils. *Aust. J. Agric. Res.*9: 483-491.
- Witt, C.; Dobermann, A.; Abdulrachman, S.; Gines, H. C.; Guanghuo, W.; Nagarajan, R.; Satawatananont, S.; Thuc Son, P. S; Tan, L.; Van Tiem, G. C.; Simbahan, D. y Olk, C.** 1999. Internal nutrient efficiencies of irrigated lowland rice in tropical and subtropical Asia. *Field Crops Res.* 63, 113–138.
- Wright, I. J.; Reich, P. B. y Westoby, M.** 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821–827.
- Wu, T.; Schoenau, J. J.; Li, F.; Qian, P.; Malhi, S. S.; Shi, Y. y Xu, F.** 2003. Influence of cultivation and fertilization on total organic carbon and carbon fractions in soils from the Loess Plateau of China. *Soil Till. Res.* 77: 59–68.
- Wu, W. y Ma, B.** 2015. Integrated nutrient management (INM) for sustaining crop productivity and reducing environmental impact: A review. *Sci. Total Environment.* 512-513: 415-427.
- Wyngaard, N.; Cabrera, M.L.; Jarosch, K.A. y Bünemann, E.K.** 2016. Phosphorus in the coarse soil fraction is related to soil organic phosphorus mineralization measured by isotopic dilution. *Soil Biol. Bioch.* 96, 107–118.
- Xiao-Tang, J.; Xue-Jun, L.; Fu-Suo, Z. y Christie, P.** 2006. Effect of Long-Term Fertilization on Organic Nitrogen Forms in a Calcareous Alluvial Soil on the North China Plain. *Pedosphere* 16(2): 224-229.
- Yang, J.; Gao, W. y Ren, S.** 2015. Long-term effects of combined application of chemical nitrogen with organic materials on crop yields, soil organic carbon and total nitrogen in fluvo-aquic soil. 151: 67-74.

- Yang, X. M.; Drury, C. F.; Wander, M. M. y Kay, B. D.** 2008. Evaluating the effect of tillage on carbon sequestration using the minimum detectable difference concept. *Pedosphere*. 18(4): 421–430.
- Yang, X.; Ren, W.; Sun, B. y Zhang, S.** 2012. Effects of contrasting soil management regimes on total and labile soil organic carbon fractions in a loess soil in China. *Geoderma*. 177–178: 49–56.
- Ye, Y; Liang, X.; Chen, Y.; Li, L.; Ji, Y. y Zhu, C.** 2014. Carbon, Nitrogen and Phosphorus Accumulation and Partitioning, and C:N:P Stoichiometry in Late-Season Rice under Different Water and Nitrogen Managements. *PLoS ONE* 9(7): e101776. doi:10.1371/journal.pone.0101776
- Zamuner E. y Culot, J. P.** 1999. Efecto de la fertilización en la capacidad de sorción de fósforo. *Prod. Prot. Veg.* 14(1-2):107-116.
- Zhang, H.; Thompson, M. L. y Sandor, J. A.** 1988. Compositional differences in organic matter among cultivated and uncultivated Argiudolls and Hapludalfs derived from loess. *Soil Science Society of America Journal*, 52: 216-222.
- Zhang, J. J.; Li, H.; Gao, H. J.; Zhu, P.; Gao, Q. y Wang, L. C.** 2014. Effects of long-term fertilization and cropping regimes on total nitrogen and organic nitrogen forms in a Mollisol of Northeast China. *Plant Soil Environ.* Vol 60, 12:544-549.
- Zheng, Z. ; Simard, R. R. y Lafond, J. Parent.** 2002. Pathways of soil phosphorus transformations after 8 years of cultivation under contrasting cropping practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:999–1007.
- Zhu, L.; Li, J.; Tao, B. y Hu, N.** 2015. Effect of different fertilization modes on soil organic carbon sequestration in paddy fields in South China: A meta-analysis. *Ecological Indicators* 53:144-153.
- Zhu, Z. L.** 1997. Fate and Management of Fertilizer Nitrogen in Agroecosystem. In Zhu, Z. L., Wen, Q. X. and Freney, J. R. (eds.) *Nitrogen in Soils of China*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London. pp. 239-279.

ANEXO



(*) Los cambios de letra indican diferencia significativa entre tratamientos en cada sitio ($p > 0,05$) y las barras son el error estándar.

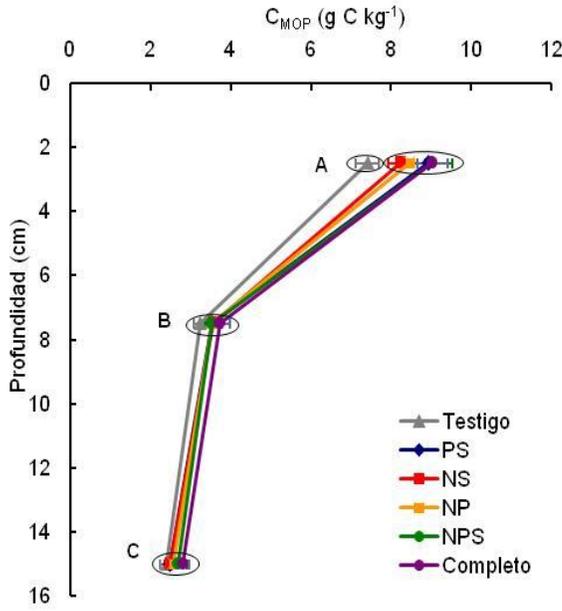


FIGURA A4: Distribución de la concentración de C_{MOP} en el estrato superficial del suelo en los tratamientos de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014.

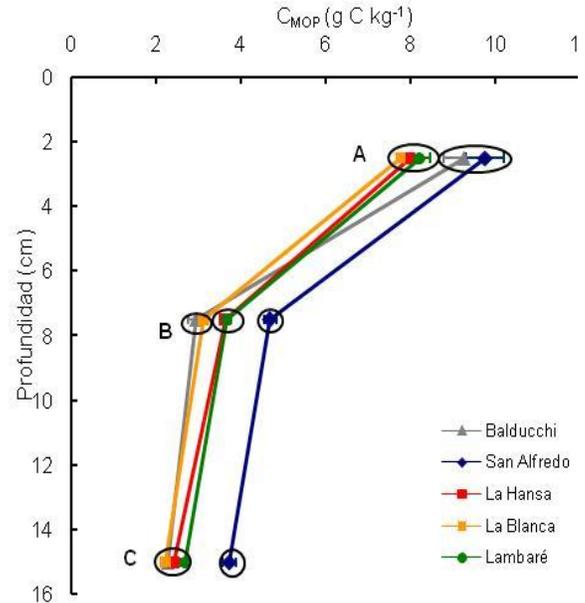


FIGURA A5: Distribución de la concentración de C_{MOP} en el estrato superficial del suelo en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014.

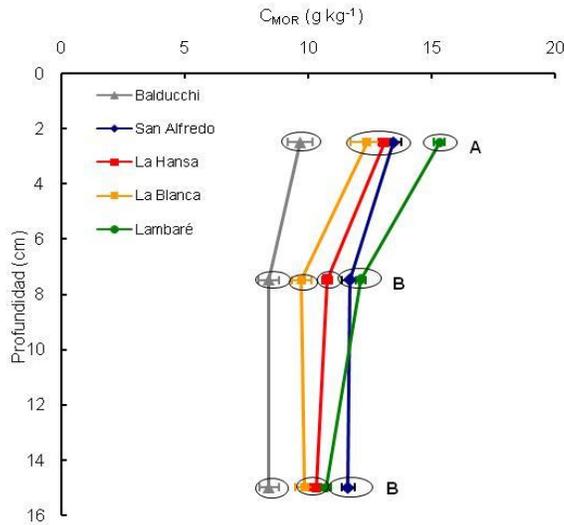


FIGURA A6: Distribución de la concentración de C_{MOR} en el estrato superficial del suelo en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014.

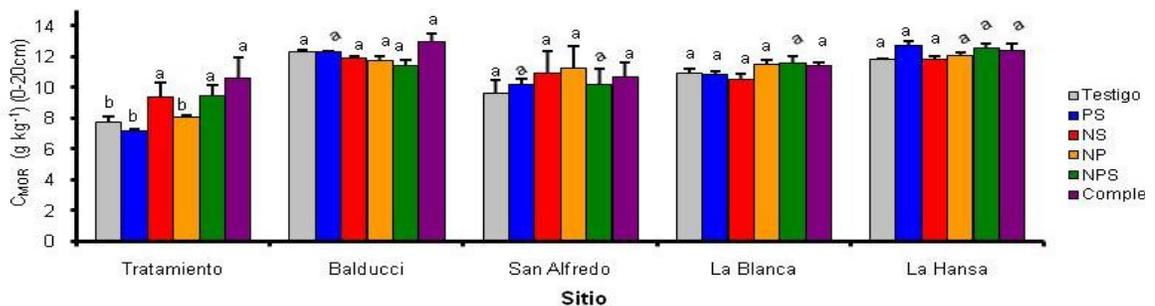


FIGURA A7: Concentración de C_{MOR} a 0-20 cm en los sitios de la Red CREA Sur de Santa Fe**.

(*) Los círculos encierran sitios que no son diferentes significativamente ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar. Los cambios de letra indican diferencia significativa entre estratos de profundidad.

(**) Los cambios de letra son diferencia significativa entre tratamientos en cada sitio ($p > 0.05$) y las barras son el error

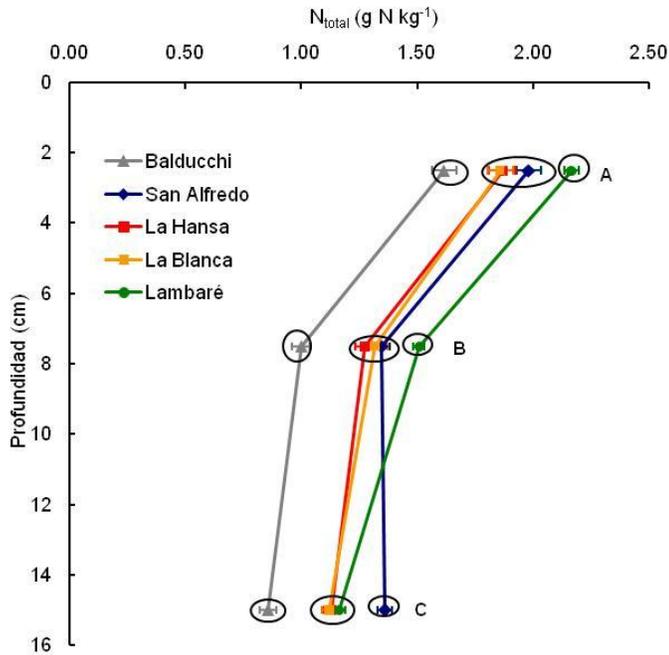


FIGURA A8: Distribución de la concentración de N_{total} en el estrato superficial en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014*.

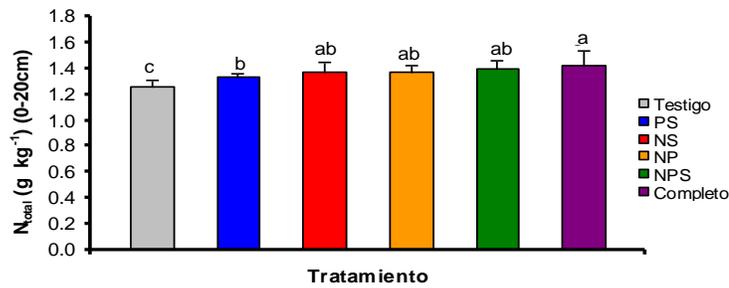


FIGURA A9: Concentración de N_{total} a 0-20 cm de los tratamientos de fertilización de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014**.

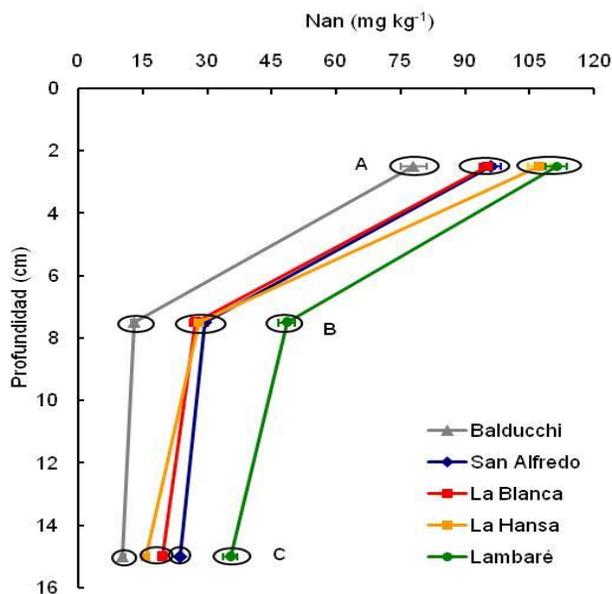


FIGURA A10: Distribución de la concentración de Nan en el estrato superficial en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014*.

(*) Los círculos encierran sitios que no son diferentes significativamente ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar. Los cambios de letra indican diferencia significativa entre estratos de profundidad.

(**) Los cambios de letra son diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar.

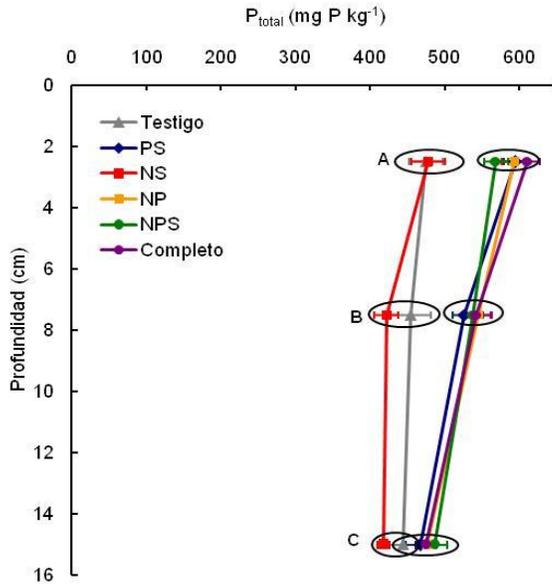


FIGURA A11: Distribución de la concentración de P_{total} en el estrato superficial en los tratamientos de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014*.

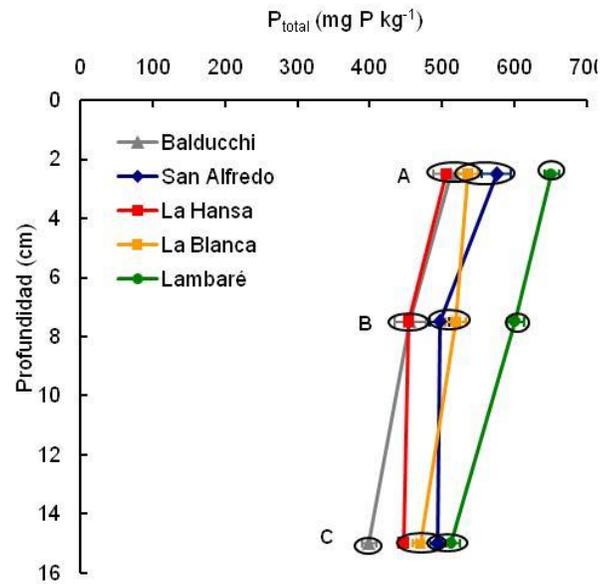


FIGURA A12: Distribución de la concentración del P_{total} en el estrato superficial en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014*.

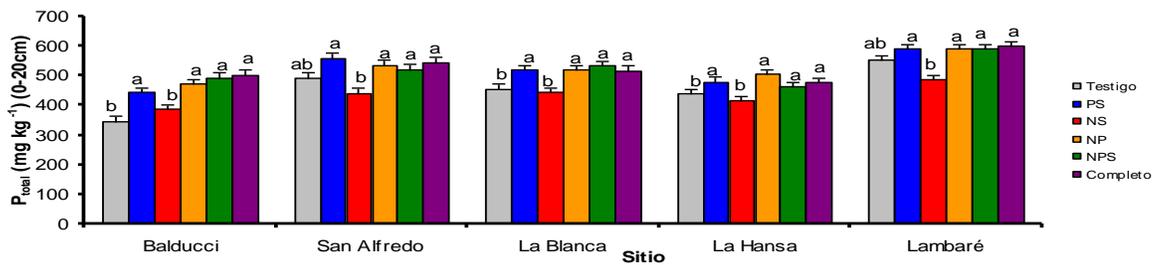


FIGURA A13: Concentración de P_{total} a 0-20 cm en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014**.

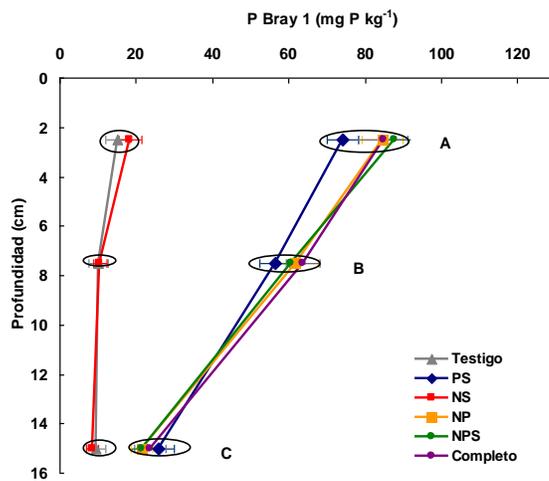


FIGURA A14: Distribución de la concentración de $P_{Bray 1}$ en el estrato superficial en los tratamientos*.

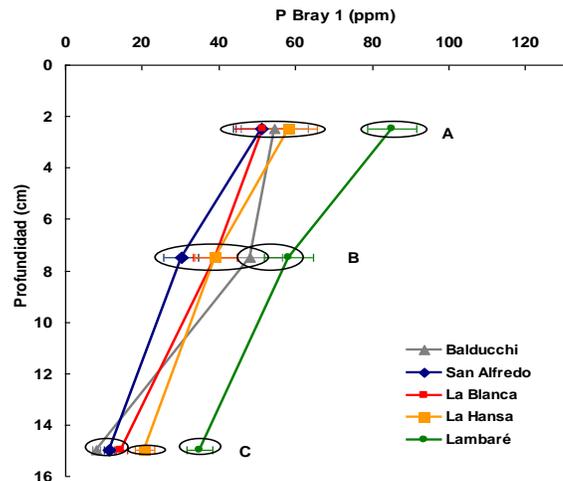


FIGURA A15: Distribución de la concentración de $P_{Bray 1}$ en el estrato superficial en los sitios*.

(*) Los círculos encierran tratamientos que no son diferentes significativamente ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar. Los cambios de letra indican diferencia significativa entre estratos de profundidad.
 (**) Los cambios de letra son diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada sitio ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar.

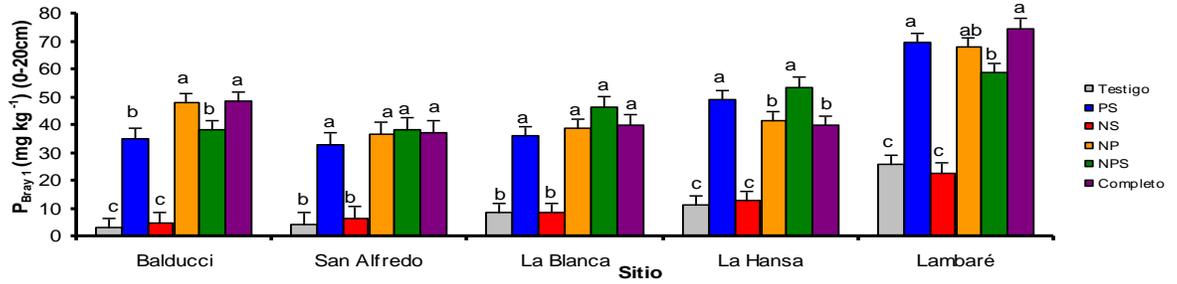


FIGURA A16: Concentración de P_{Bray1} a 0-20 cm en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Sta Fe**.

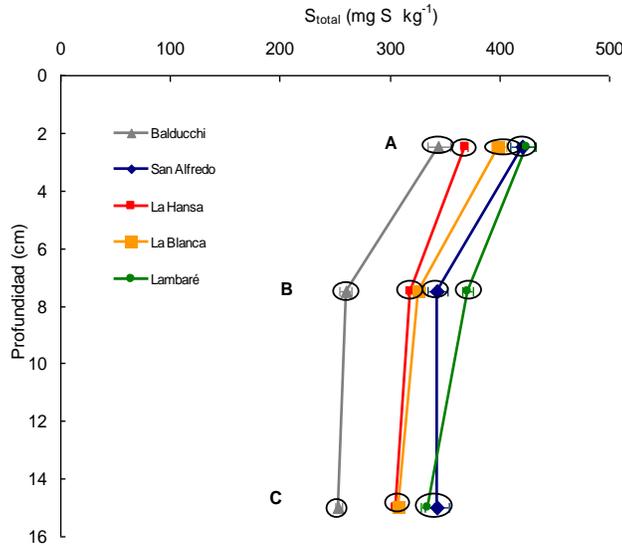


FIGURA A17: Distribución de la concentración de S_{total} en el estrato superficial en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe *.

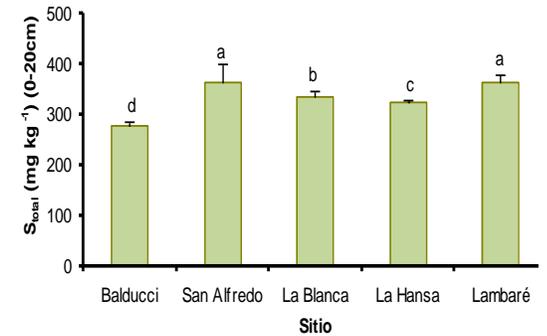


FIGURA A18: Concentración de S_{total} en el estrato superficial en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe ***.

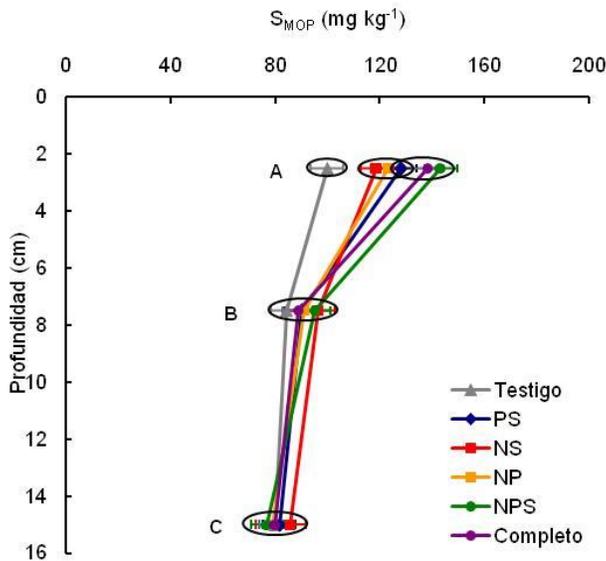


FIGURA A19: Distribución de la concentración de S_{MOP} en el suelo en los tratamientos de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe *.

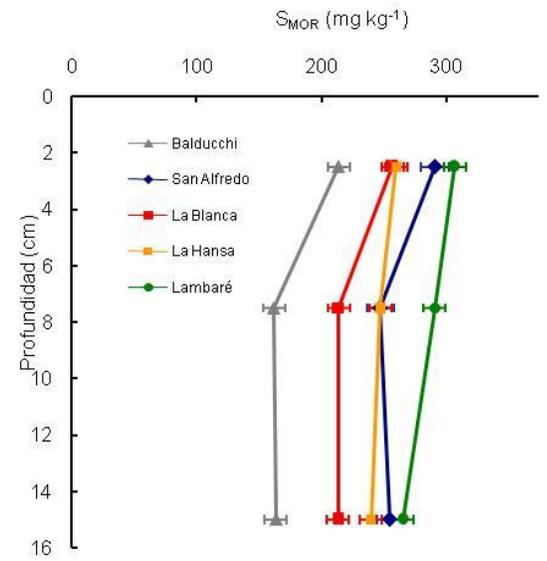


FIGURA A20: Distribución de la concentración de S_{MOR} a 0-20 cm en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe *.

(*) Los círculos encierran tratamientos que no son diferentes significativamente ($p > 0,05$) y las barras son el error estándar. Los cambios de letra indican diferencia significativa entre estratos de profundidad.

(**) Los cambios de letra son diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada sitio ($p > 0,05$) y las barras son el error estándar.

(***) Los cambios de letra son diferencias entre sitios experimentales ($p < 0,05$) y las barras el error estándar.

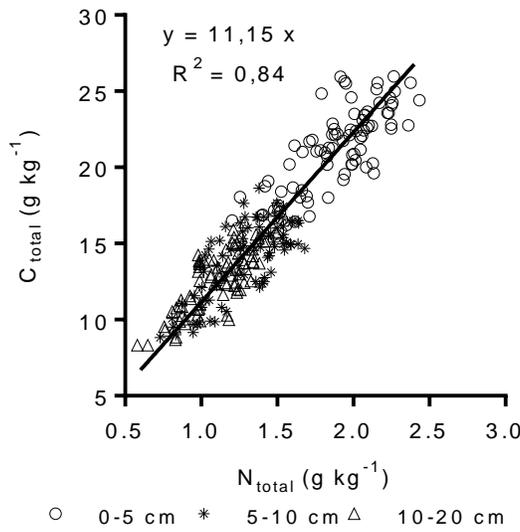


FIGURA A21: Relación entre concentración de C_{total} y N_{total} . La línea corresponde a la función de C_{total} : N_{total} en todas las profundidades evaluadas.

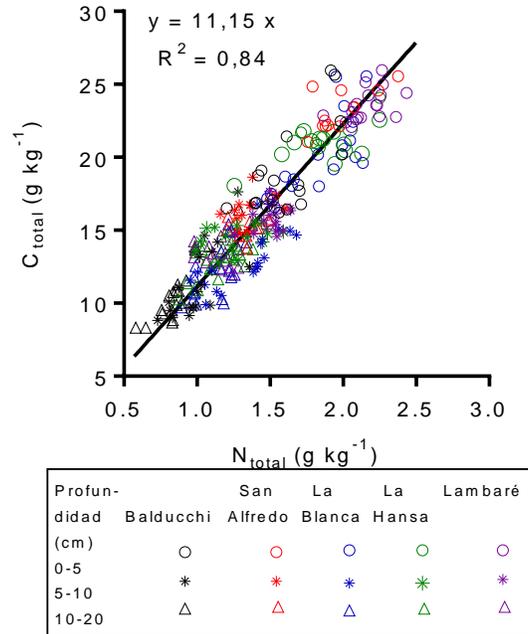


FIGURA A22: Relación entre concentración de C_{total} y N_{total} . La línea corresponde a la función de C_{total} : N_{total} en todos los sitios experimentales.

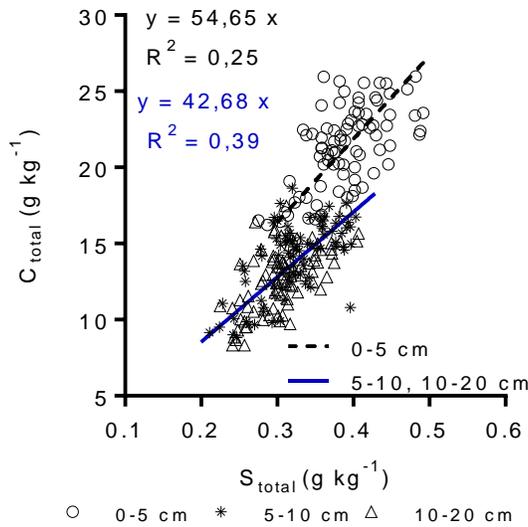


FIGURA A23: Relación entre concentración de C_{total} y S_{total} . La línea punteada corresponde a la función de C_{total} : S_{total} en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la función de los estratos 5-10 y 10-20 cm.

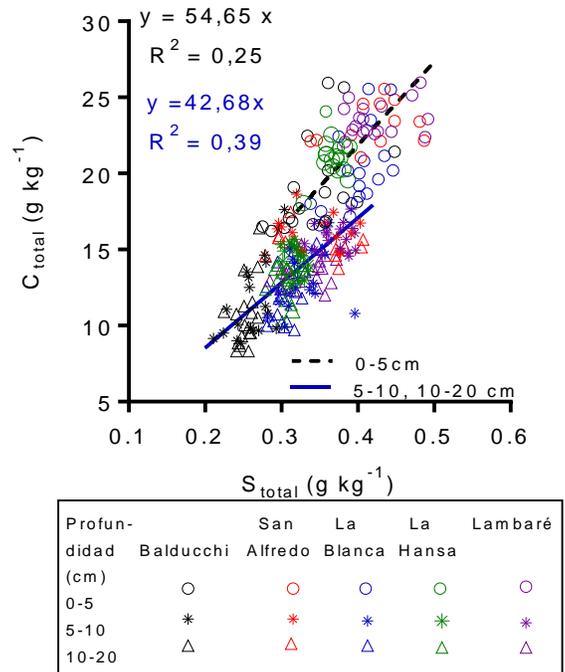


FIGURA A24: Relación entre concentración de C_{total} y S_{total} en los sitios experimentales. La línea punteada corresponde a la función de C_{total} : S_{total} en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la función de los estratos 5-10 y 10-20 cm.

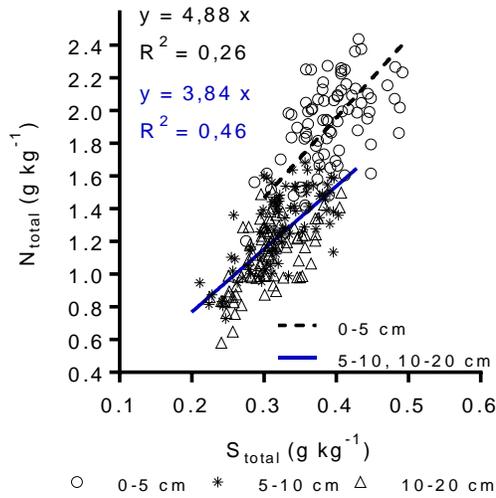


FIGURA A25: Relación entre concentración de N_{total} y S_{total} . La línea punteada corresponde a la función de $N_{total}:S_{total}$ en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la función $N_{total}:S_{total}$ de las capas de 5-10 y 10-20 cm.

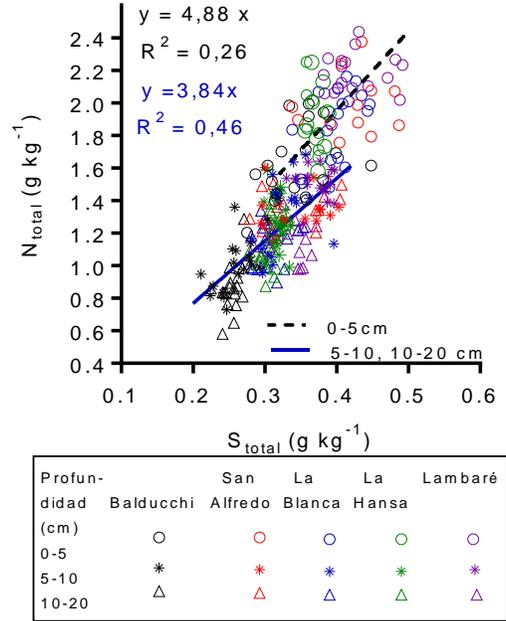


FIGURA A26: Relación entre concentración de N_{total} y S_{total} en los sitios experimentales. La línea punteada corresponde a la función de $N_{total}:S_{total}$ en la capa de 0-5 cm y la línea azul a la función $N_{total}:S_{total}$ de las capas de 5-10 y 10-20 cm.

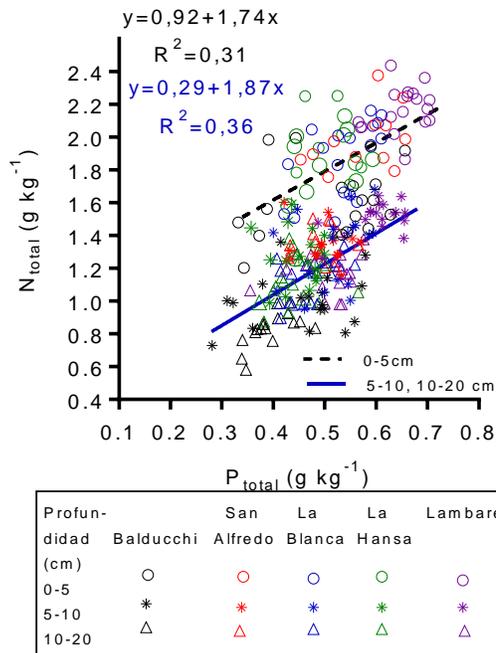


FIGURA A27: Relación entre concentración de N_{total} y P_{total} en los sitios experimentales. La línea punteada corresponde a la función $N_{total}:P_{total}$ de la capa 0-5 cm, la línea azul a la de las capas 5-10 y 10-20 cm juntos.

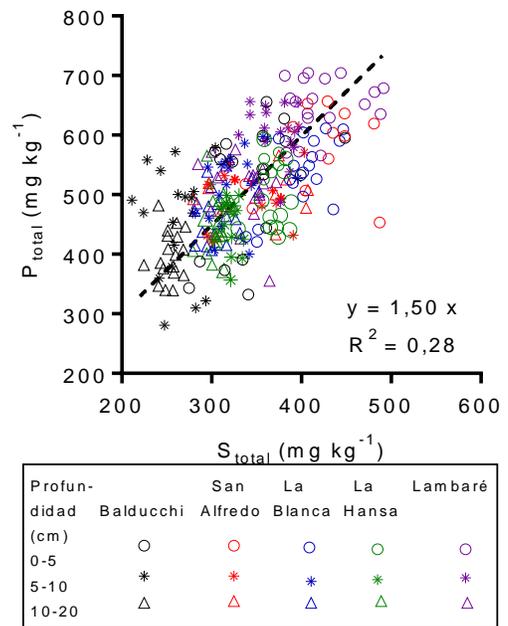


FIGURA A28: Relación entre concentración de P_{total} y S_{total} en los sitios experimentales. La línea punteada corresponde a la función $P_{total}:S_{total}$ de las capas de 0-5, 5-10 y 10-20 cm.

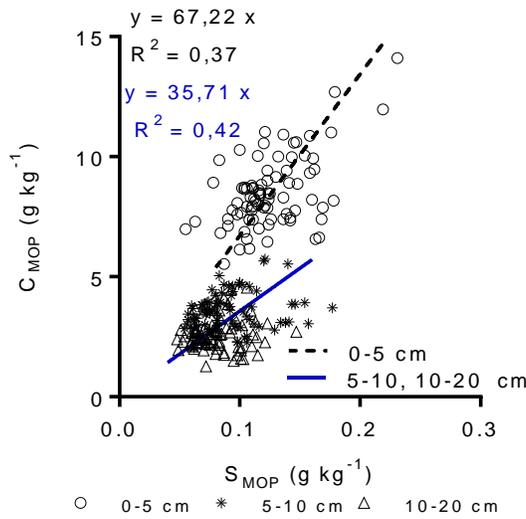


FIGURA A29: Relación entre concentración de C_{MOP} y el S_{MOP} en los estratos de profundidad. La línea punteada corresponde a la función de $C_{MOP}:S_{MOP}$ en la capa de 0-5 cm. La línea azul a la de los estratos de 5-10 y 10-20 cm.

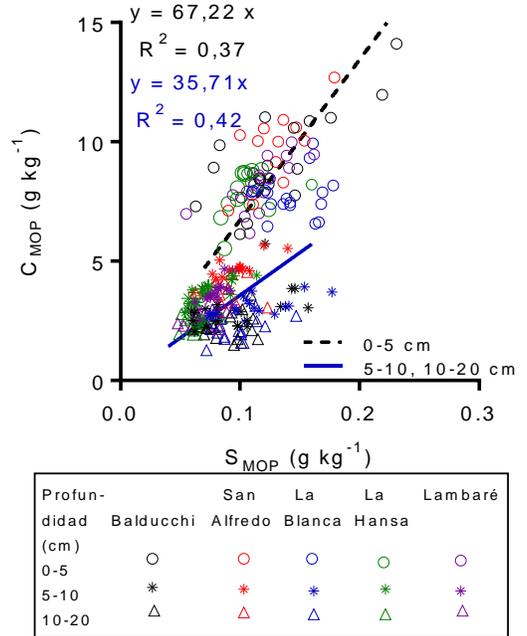


FIGURA A30: Relación entre concentración de C_{MOP} y el S_{MOP} en los sitios. La línea punteada corresponde a la función de $C_{MOP}:S_{MOP}$ en 0-5 cm. La línea azul a la de los estratos de 5-10 y 10-20 cm.

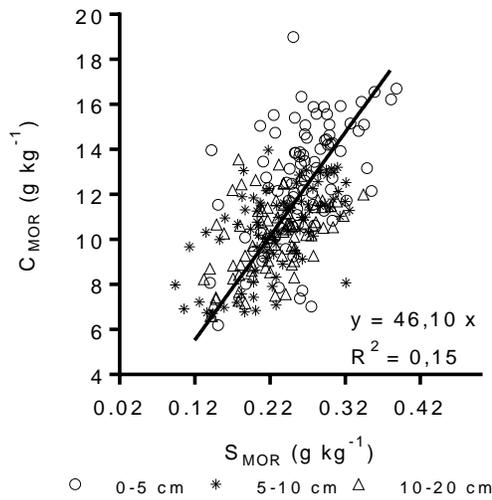


FIGURA A31: Relación entre concentración de C_{MOR} y S_{MOR} en los estratos de profundidad. La línea corresponde a la función de $C_{MOR}:S_{MOR}$ en las tres capas (0-5, 5-10 y 10-20 cm).

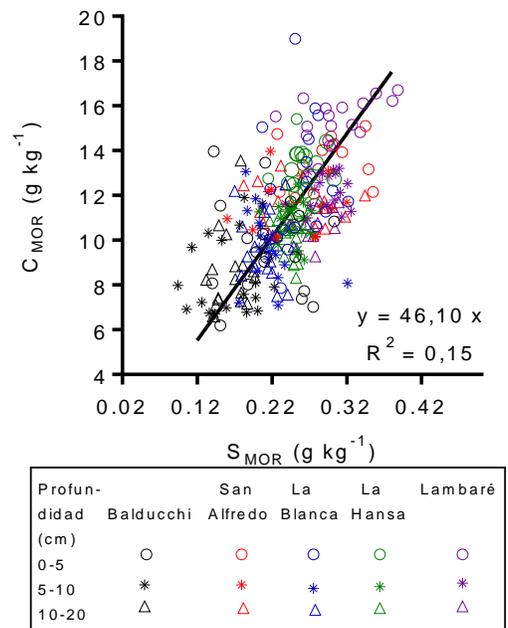


FIGURA A32: Relación entre concentración de C_{MOR} y S_{MOR} en los sitios experimentales. La línea corresponde a la función de $C_{MOR}:S_{MOR}$ en las tres capas (0-5, 5-10 y 10-20 cm).