

Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Carrera de Ciencias Biológicas



**EVALUACIÓN DEL ESTADO DE SATURACIÓN DE LA FRACCIÓN MINERAL
DEL SUELO PARA LA INCORPORACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO EN
PASTIZALES DE LAS SIERRAS GRANDES DE CÓRDOBA**

Tesinista: Fernández Catinot, Franco Nicolás

Directora: Pérez Harguindeguy, Natalia

Codirectora: Vaieretti, María Victoria

**Lugar de trabajo: Cátedra de Biogeografía - Depto. Diversidad Biológica y
Ecología-FCEFyN & Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC)**

**EVALUACIÓN DEL ESTADO DE SATURACIÓN DE LA FRACCIÓN MINERAL
DEL SUELO PARA LA INCORPORACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO EN
PASTIZALES DE LAS SIERRAS GRANDES DE CÓRDOBA**

Tribunal Examinador:

- Dr. Jorge Martinez Firma:
- Dr. José Meriles Firma:
- Dr. Esteban Kowaljow Firma:

Calificación:

Fecha:

AGRADECIMIENTOS.

Al tribunal evaluador por su predisposición y compromiso en el desarrollo de este trabajo.

A mi directora Natalia Pérez Harguindeguy y a mi co-directora Victoria Vaieretti por acompañarme a lo largo de este proceso.

Al equipo de IMBIV que también me acompañó y ayudó en todo momento: Norma Gallardo, Sofía Pestoni, Fernanda Chiapero, Betania Naldini, Eugenia Sánchez-Díaz y tantxs más.

Por su ayuda directa e indirecta, a Nicolás Legnazzi, Mateo La Rosa, Francisco Cognigni, Manuel “Tito” Bonino, Javier Cambursano y Santiago Sosa.

ÍNDICE

Resumen	5
Introducción	7
Objetivo e Hipótesis	10
Área de estudio	11
Selección de los sitios de muestreo	11
Métodos para realizar el Objetivo específico 1	12
a-Fraccionamiento de la MOS y mediciones de textura	12
b-Estimación de la saturación mediante modelos teóricos	14
Metodología para realizar el Objetivo específico 2	15
a-Recolección de muestras de suelo	15
b-Estimación de la saturación mediante manipulaciones experimentales	16
Análisis estadísticos	17
Resultados	17
Evaluación de la saturación mediante modelos teóricos	17
Manipulaciones experimentales de suelos con agregado de hojarasca	21
Discusión	25
Evaluación de la saturación mediante modelos teóricos	25
Evaluación de la saturación mediante manipulaciones experimentales	28
Conclusión	31
Bibliografía	33
Anexo	40

Resumen

La materia orgánica del suelo (MOS) constituye el reservorio terrestre más importante de carbono (C) activo, y se considera uno de los más estables, por lo que es imperante preservarla, e incluso incrementarla, como una estrategia de mitigación del cambio climático. Entre los reservorios de CO (carbono orgánico) terrestre más importantes se destacan los suelos de los ecosistemas de pastizales, no sólo por su extensión a nivel mundial, sino también porque se consideran un reservorio relativamente estable. Estudios previos en los pastizales de las Sierras Grandes de Córdoba, muestran que distintas fisonomías de la vegetación difieren en la cantidad de materia muerta que aportan al suelo, pero esas diferencias no se traducen en diferencias en el contenido de CO en la MOS, al menos en los primeros 30 cm de profundidad. Asimismo, el contenido de CO de estos suelos es alto, comparados con el de otros pastizales templados. Así, se postula que estos suelos podrían estar saturados en su capacidad de retener CO en la fracción fina del suelo o materia orgánica asociada a minerales (MOAM). Para evaluar esta hipótesis, se utilizó la combinación de aproximaciones teóricas y experimentales. En primer lugar, estimamos la capacidad máxima de contener CO en la MOAM de los suelos de estos pastizales a partir de sus características texturales, utilizando diferentes modelos de estimación teórica. En segundo lugar, utilizamos manipulaciones experimentales del ingreso de materia muerta sobre suelos de la fisonomía de céspedes que se presumen saturados, respecto a suelos de la misma fisonomía que se presumen no saturados. La aplicación de aproximaciones teóricas evidenció que los suelos superficiales se encontrarían saturados, e incluso sobresaturados en su capacidad para retener CO en la fracción fina del suelo, mientras que los suelos a partir de los 5 cm de profundidad, podrían retener CO adicional en su fracción fina. Las aproximaciones experimentales, sin embargo, no mostraron evidencias consistentes de saturación, ya que ni los suelos más profundos acumularon CO en su MOAM, ni se registraron cambios en la fracción gruesa o materia orgánica particulada (MOP, la cual se asume no saturable) tanto de suelos superficiales como profundos. Es interesante destacar que tanto los suelos superficiales como profundos habrían perdido parte de su CO total, aunque no pudimos detectar de qué

fracción habría provenído esta pérdida. Proponemos que para evaluar de manera más apropiada la capacidad de los suelos de retener CO, es necesario que las aproximaciones a través de modelos teóricos contemplen las condiciones biofísicas del área de estudio, mientras que las aproximaciones experimentales deberían considerar períodos de incubación de mayor duración.

Palabras clave: Carbono, textura, saturación, materia orgánica asociada a minerales (MOAM), materia orgánica particulada (MOP), pastizales de montaña, céspedes de pastoreo

Introducción

La materia orgánica del suelo (MOS) constituye el reservorio terrestre más importante de carbono (C) activo, y se considera uno de los más estables, por lo que es imperante preservarla, e incluso incrementarla, como una estrategia de mitigación del cambio climático (Cotrufo et al. 2015, 2019). La MOS es un elemento fundamental para asegurar no sólo la fertilidad del suelo, sino también servicios ecosistémicos como la regulación hídrica y la protección contra la erosión, aspectos relevantes tanto para la conservación del suelo, como para el desarrollo de la agricultura sustentable (Six et al. 2006, Cagnarini et al. 2019). A pesar de su importancia, aún existen numerosos interrogantes sobre los procesos de formación y estabilización de la MOS (Castellano et al. 2015, Córdova et al. 2018, Lavallee et al. 2019). Esto se debe, en parte, a que la MOS no es un reservorio uniforme, sino que está compuesta por distintas fracciones que difieren tanto en su origen como en sus tasas de reciclado (Six et al. 2002, Sokol et al. 2019). Por un lado, la MOS que está asociada a las partículas minerales del suelo (materia orgánica asociada a minerales, MOAM), también denominada “fracción fina”, está compuesta principalmente por productos del metabolismo de los microorganismos, cuya materia prima es fundamentalmente la MO de origen vegetal más lábil. En este sentido, dichos productos dependen de la cantidad y calidad del material vegetal que ingresa al suelo (Córdova et al. 2018, Sokol et al. 2019). En esta fracción, la MO forma fuertes asociaciones con las superficies de las partículas minerales finas (arcilla y limo) y, debido a ellas, está más protegida de la mineralización por microorganismos y es más estable en el tiempo (Hassink 1997, Six et al. 2002, Lehmann & Kleber 2015). Por su parte, la MOS que forma parte de las moléculas orgánicas de mayor tamaño del suelo (materia orgánica particulada, MOP), también denominada “fracción gruesa” está conformada principalmente por derivados de residuos vegetales más recalcitrantes que se encuentran libres en la matriz del suelo, y está menos protegida de la actividad microbiana, y podría ser más fácilmente mineralizada y perderse del suelo (Six et al. 2002, Castellano et al. 2015, Fulton-Smith & Cotrufo 2019).

Entre los reservorios de C terrestre más importantes se destacan los suelos

de los ecosistemas de pastizales, no sólo por su extensión a nivel mundial, sino también porque se consideran un reservorio relativamente estable (Gang et al. 2014, Jackson et al. 2017). Sin embargo, en la actualidad, la mayor parte de los pastizales del mundo se encuentran bajo uso pastoril, el cual puede afectar la estabilidad de dicho reservorio de CO (Milchunas & Lauenroth 1993, Piñeiro et al. 2009, 2010). El pastoreo puede afectar de manera positiva o negativa el balance de CO del suelo, ya que puede disminuir el aporte por parte de la biomasa aérea, pero aumentar el asignado por el sistema radical, y aumentar/disminuir la tasa de mineralización de CO por parte de microorganismos (McNaughton 1983, Wilson et al. 2018, Sarquis et al. 2019). En los pastizales de la parte más alta de las Sierras Grandes de Córdoba, la cría de ganado doméstico de forma extensiva ha sido, y es actualmente la principal actividad productiva (Díaz et al. 1994). La selección diferencial de hábitats por parte del ganado promueve y mantiene comunidades vegetales con diferente estructura y composición de especies, principalmente, pajonales de vegetación corta, llamados céspedes (con mayor presión de pastoreo) y pajonales altos (con menor presión de pastoreo; Cingolani et al. 2003, von Müller et al. 2017). Estos distintos tipos de pajonales producen y aportan al suelo cantidades muy diferentes tanto de biomasa aérea como subterránea a lo largo de todo el año (Pucheta et al. 2004, Vaieretti et al. 2013, Sarquis et al. 2019, Ulla 2019, Vaieretti et al. 2021). Sin embargo, en un estudio reciente se observó que la cantidad de CO del suelo (COS) almacenado dentro de los primeros 30 cm de profundidad, fue similar entre estos pajonales (Vaieretti et al. 2021). Por otra parte, en el mismo trabajo, se registró que las cantidades de CO almacenado en el suelo fueron relativamente altas (en promedio 186 MgC ha^{-1} en los primeros 30 cm de profundidad) respecto a las de otros pastizales templados del mundo (Derner et al. 2006, Bagchi & Ritchie 2010). Estos resultados han llevado a proponer que los suelos de estos pastizales podrían, al menos a nivel superficial, haber llegado a su capacidad máxima de incorporar C a la MOS (es decir, estar saturados) independientemente de la cantidad o calidad de C que reciben a través de la hojarasca, tanto aérea como subterránea. Es decir, independientemente de la fisonomía de vegetación a la cual están asociados los suelos de estos pastizales.

La teoría de saturación de C en suelos, propone que la cantidad de MO que

está asociada a minerales (MOAM) en un suelo, depende de la cantidad de partículas minerales finas (limo y arcilla) presentes en ese suelo (Hassink 1997, Six et al. 2002, Feng et al. 2013, Castellano et al. 2015). Es decir, una vez que todas las partículas de limo y arcilla que contiene un suelo están asociadas a MO, ese suelo no puede acumular más CO en la MOAM. A partir de este enfoque, se ha propuesto el concepto de “déficit de saturación”, definido como la diferencia entre el punto teórico de saturación de un suelo, y su contenido actual de CO en la MOAM (Stewart et al. 2007). A medida que un suelo tiene mayor déficit de saturación, tiene mayor potencial de secuestro de CO en la MOAM (Stewart et al. 2008). Por su parte, la MOP no presentaría saturación ya que no está asociada a partículas minerales del suelo.

Para evaluar el estado de saturación de C de un suelo, es decir si el mismo está saturado en su capacidad de contener C o cuán cercano está a esa capacidad, por un lado, se pueden utilizar estimaciones teóricas a partir de parámetros del suelo, como el contenido de arcilla y limo, y así calcular la cantidad máxima de CO que un suelo puede retener en la MOAM. Estas estimaciones se basan en el ajuste de distintas ecuaciones lineales ($y = ax + b$), donde la variable dependiente, y , es la cantidad máxima de CO que puede acumularse en la MOAM por unidad de suelo (g CO en MOAM kg^{-1} suelo), y la variable independiente, x , es la cantidad de partículas de la fracción fina (arcilla + limo) por unidad de suelo (g de la fracción fina $100 g^{-1}$ suelo; Hassink 1997, Six et al. 2002, Feng et al. 2013). Por otro lado, para corroborar si un suelo tiene capacidad de acumular CO en la MOAM y si el CO que posee es estable, se han propuesto enfoques experimentales que manipulan el ingreso de la materia muerta a suelos que se presumen saturados, y se comparan con los resultados de manipulaciones en suelos que se presumen no saturados (Stewart et al. 2008, 2009). De esta manera, se evalúa si existe acumulación o pérdida de COS, y cómo es la dinámica de la mineralización de C (a través de la cuantificación de la liberación de CO_2).

Con el fin de poner a prueba las ideas sobre la saturación de los suelos de pastizales de las Sierras Grandes de Córdoba, en el presente proyecto se utilizó la combinación de aproximaciones teóricas y experimentales descritas anteriormente a través de los siguientes objetivos e hipótesis.

Objetivo e Hipótesis

El **objetivo general** del proyecto fue evaluar la capacidad de los suelos de los pastizales de la parte alta de las Sierras Grandes de Córdoba para incorporar CO en la MOAM.

Los objetivos específicos del proyecto fueron:

Objetivo específico 1) Estimar la capacidad máxima de contener CO en la MOAM en los suelos de pastizales de la parte alta de las Sierras Grandes de Córdoba a partir de sus características texturales, utilizando diferentes modelos de estimación teórica.

Objetivo específico 2) Evaluar el estado de saturación de C de los suelos de los pastizales de la parte alta de las Sierras Grandes de Córdoba, utilizando sólo los suelos asociados a la fisonomía de céspedes, a partir de manipulaciones experimentales del ingreso de materia muerta sobre suelos que se presumen saturados, respecto a suelos que se presumen no saturados en su capacidad de incorporar CO en la MOAM.

Tal como se mencionó anteriormente, estudios previos en los pastizales de las Sierras Grandes de Córdoba, muestran que distintas fisonomías de la vegetación difieren en la cantidad de materia muerta que llega al suelo, pero esas diferencias no se traducen en diferencias en el contenido de CO en la MOS, al menos en los primeros 30 cm de profundidad. Asimismo, el contenido de CO de estos suelos es alto comparado con el de otros pastizales templados. Así, se postula que estos suelos están saturados en su capacidad de retener CO en la fracción fina del suelo (MOAM) en los primeros centímetros de profundidad. Por lo tanto, se espera que: 1) los valores de contenido de CO en la MOAM de los suelos de estos pastizales se encuentren en, o por encima de, la línea de regresión que indica el límite de saturación propuesta por los modelos teóricos; 2.1) el agregado de materia muerta a suelos superficiales (saturados) asociados a la fisonomía de céspedes, no genere cambios en el contenido de CO en la MOAM, pero sí podrían verse cambios en la MOP; y 2.2) el agregado de materia muerta en suelos (no saturados) asociados a la fisonomía de céspedes, genere cambios en el contenido de CO tanto en la MOAM como en la MOP.

Material y métodos

Área de estudio

Se trabajó sobre suelos de las comunidades de pastizales presentes en el piso superior de las Sierras de Córdoba (2100 m.s.n.m., 31°34' S, 64°50' O). En la región, la temperatura media anual es 8,5 °C y la precipitación media anual es de 900 mm, concentradas entre los meses de octubre y abril (Colladon et al. 2010). Los suelos son molisoles derivados de rocas graníticas y partículas de textura fina consecuencia de la erosión eólica del Cuaternario (Cabido et al. 1987). El paisaje es una planicie ondulada donde pueden encontrarse parches de rocas expuestas, bosques de *Polylepis australis* Bitter, y parches de céspedes de pastoreo dominados por especies de baja estatura (e.g. *Muhlenbergia peruviana* (P. Beauv.) Steud.), distribuidos en una matriz de pajonales dominados por gramíneas en penacho de gran porte como *Poa stuckertii* (Hack.) Parodi y *Deyeuxia hieronymi* (Hack.) Türpe (Cingolani et al. 2014, von Müller et al. 2017). Dentro del área de estudio, y particularmente en los potreros utilizados para cría de ganado, estas dos últimas fisonomías del pastizal son las más abundantes. Cargas ganaderas altas mantienen los parches de céspedes de pastoreo, mientras que con cargas medias a bajas dominan las comunidades de pajonales (Cingolani et al. 2013, Vaieretti et al. 2013, von Müller et al. 2017). Las fisonomías de pajonales tienen una alta productividad aérea y generan grandes cantidades de hojarasca durante la estación seca (otoño-invierno) pero tienen relativamente baja productividad y biomasa subterránea, mientras que los céspedes presentan el patrón opuesto (Pucheta et al. 2004, Sarquis et al. 2019, Vaieretti et al. 2021). A pesar de estas grandes diferencias en las comunidades vegetales, se ha registrado en estudios previos que el CO₂ acumulado en los primeros 30 cm de profundidad es similar en los suelos asociados a estas distintas fisonomías (Vaieretti et al. 2021).

Selección de los sitios de muestreo

Para llevar a cabo el primer objetivo, dentro del área de estudio seleccionamos parches de dos tipos de comunidades vegetales dominantes en el

piso superior de las Sierras Grandes de Córdoba: céspedes (dominados por herbáceas dicotiledóneas y graminoides bajas), y pajonales gruesos (dominados por la gramínea *Poa stuckertii*; Cingolani et al. 2003, Vaieretti et al. 2010, 2013). Para realizar la selección de los parches, primero identificamos 6 subáreas (con el fin de abarcar mayor extensión dentro del área de estudio), que incluían parches de céspedes y de pajonales gruesos. Las subáreas fueron seleccionadas intentando minimizar las diferencias en exposición, posición topográfica y pendiente entre ellas. Las subáreas, a su vez, se localizaron en las tres áreas protegidas presentes en la región, la Reserva Hídrica Provincial Pampa de Achala, la Reserva Nacional Quebrada del Condorito y el Parque Nacional Quebrada del Condorito, abarcando una superficie de aproximadamente 40 km² (Fig. 1). Dentro de cada una de estas subáreas, se seleccionaron 3 parches de céspedes y 3 parches de pajonales, dentro de los cuales se delimitó un sitio de 25 m².

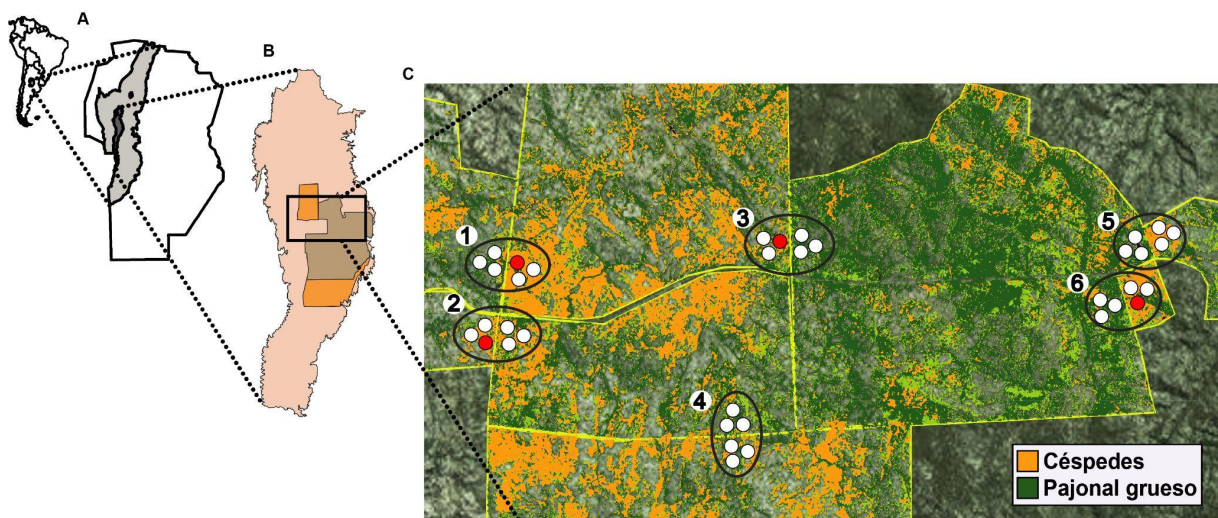


Fig. 1: **A)** Ubicación del área de estudio dentro de Córdoba, Argentina. **B)** Ubicación del área de estudio dentro de la Unidad de Conservación conformada por la Reserva Hídrica Provincial Pampa de Achala (rosa), la Reserva Nacional Quebrada del Condorito (naranja) y el Parque Nacional Quebrada del Condorito (marrón). **C)** Localización de las 6 subáreas (elipses negras, 1-6) con los sitios de muestreo (círculos blancos y rojos) dentro del área de estudio. Todos los círculos (tanto blancos como rojos) representan los sitios utilizados para llevar a cabo el primer objetivo (las aproximaciones teóricas), mientras que para llevar a cabo el objetivo 2 (los experimentos de laboratorio), sólo se utilizaron los destacados con rojo. Las líneas amarillas representan los alambrados que dividen los potreros dentro de las áreas protegidas. Los colores amarillo y verde representan la cobertura de céspedes y pajonales gruesos, respectivamente. Las áreas en gris representan otro tipo de cobertura.

Métodos para realizar el Objetivo específico 1

a-Fraccionamiento de la MOS y mediciones de textura

Dentro de cada sitio/parche de 25 m² tomamos 3 muestras compuestas de suelo, a diferentes intervalos de profundidad, usando un sacabocados de 4 cm de diámetro. Cada muestra compuesta estuvo integrada por 8, 4, y 4 submuestras (con el fin de sacar un volumen suficiente de suelo para todos los análisis), para 0–5 cm, 5–15 cm, y 15–30 cm de profundidad, respectivamente, obteniendo 108 muestras en total (6 sitios x 2 fisonomías x 3 muestras x 3 profundidades). Sin embargo, debido a problemas durante su procesamiento, finalmente se trabajó con 98 muestras en total (céspedes: 15 muestras para la profundidad 0-5, 5-15 y 15-30 cm, respectivamente; pajonales gruesos: 17 muestras para la profundidad 0-5 cm; y 18 muestras profundidad 5-15 y 15-30 cm, respectivamente). Trabajamos con un máximo de 30 cm de profundidad de suelo, debido a que es a esta profundidad en la cual se puede detectar mejor el efecto de la vegetación sobre el COS, y también porque podría incluir suelos saturados superficiales y suelos no saturados, más profundos (Stewart et al. 2008).

Las muestras recolectadas en el campo fueron trasladadas al laboratorio, donde cada muestra compuesta, de cada profundidad, fue homogenizada, tamizada (2 mm de malla) para extraer los restos de material vegetal y animal (tallos, raíces, invertebrados, etc.) que puedan haber sido recolectados con el suelo, y luego separada en submuestras para las distintas determinaciones que se detallan a continuación. Por un lado, sobre una submuestra de 5 g se determinó el contenido de humedad por el método gravimétrico (Jarrell et al. 1999). Por otro lado, una submuestra de 10 g se sometió a fraccionamiento físico para separar MOP y MOAM siguiendo la metodología propuesta por Duval et al. (2018) y Pestoni et al. (2020). Luego de este fraccionamiento, se determinó la proporción de ambas fracciones en el peso total de la submuestra, y se cuantificó su contenido de C utilizando el método de Walkley & Black (Nelson & Sommers 1996). Los análisis descritos en este párrafo fueron realizados por la Biol. Sofía Pestoni como parte de su tesis doctoral.

Por su parte, la proporción de arena y de arcilla+limo del suelo de todas las

muestras se estimó a partir de la diferencia entre el peso de cada fracción del suelo, y el de su respectiva MO. De esta manera, se puede conocer el peso de las partículas minerales de la fracción gruesa y fina del suelo, obteniendo así la cantidad de arena y de arcilla+limo que poseen, respectivamente. Además, en 32 submuestras de 10 g se determinó la textura a partir del método de la pipeta modificado (Indorante et al. 1990, Pestoni et al. 2020), y al compararlas, se corroboró que las estimaciones de las texturas fueron adecuadas (Fig. Supl. 1). Parte de estas determinaciones y estimaciones también fueron realizadas por la Biol. Sofía Pestoni como parte de su tesis doctoral. Todas las submuestras fueron secadas al aire hasta ser procesadas, excepto aquellas que se utilizaron para determinar el contenido de humedad gravimétrico, las cuales fueron analizadas lo antes posible con el fin de evitar la pérdida de humedad.

b-Estimación de la saturación mediante modelos teóricos

Una vez que se determinaron las texturas y el contenido de C en ambas fracciones de las muestras, se aplicaron 4 modelos distintos propuestos en la bibliografía: Hassink (1997); Six et al. (2002); Feng et al. (2013), para determinar la capacidad máxima de incorporar C en la MOAM en los suelos en estudio. Estos modelos estiman la capacidad máxima de CO que puede acumularse en la MOAM por unidad de suelo ($gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo}$) en función de la proporción de partículas de la fracción fina (arcilla+limo) por unidad de suelo ($g \text{ de la fracción fina } 100 g^{-1} \text{ suelo}$; Hassink 1997, Six et al. 2002).

Por un lado, los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002) surgen de la aplicación de regresiones lineales por el método de los mínimos cuadrados a suelos que fueron asumidos como saturados, por lo que tienen una base empírica.

Están dados por las ecuaciones [1] y [2], respectivamente:

$$gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo} = 0,37 * g \text{ de la fracción fina } 100 g^{-1} \text{ suelo} + 4,09 \quad [1]$$

$$gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo} = 0,21 * g \text{ de la fracción fina } 100 g^{-1} \text{ suelo} + 14,76 \quad [2]$$

Por su parte, Feng et al. (2013) proponen otros dos modelos. Por un lado, el Análisis de Línea Límite o Boundary Line Analysis (BL) es un método estadístico que define el límite superior de una variable dependiente cuando su respuesta es limitada ante una variable independiente (Webb 1972, Schnug et al. 1996, Schmidt et al. 2000, Milne et al. 2006). Así, los autores consideran como saturados a aquellos suelos cuyo contenido de CO en MOAM ($gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo}$) se encuentra por arriba del percentil 90 del conjunto de datos utilizados en su trabajo, y luego estiman el límite de saturación a partir del método de mínimos cuadrados. Así, se trata también de un modelo empírico, que está dado por la ecuación [3]:

$$gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo} = 0,84 * g \text{ de la fracción fina } 100 g^{-1} \text{ suelo} \quad [3]$$

Por último, el segundo modelo propuesto por Feng et al. (2013) es el modelo de Carga de CO u Organic C Loading (OCL), que calcula el límite de saturación del COS en base a la estimación de la máxima cantidad de CO que puede asociarse en forma de monocapa a 1 m² de área superficial de arcilla+limo (~1 mg C m⁻²; Mayer 1994). Dicha área superficial de un suelo varía de acuerdo al tipo de minerales que posea. En el trabajo de Feng et al. (2013) se consideran suelos que tienen distinta composición de arcillas. En base a ello, dado que hay evidencias que los suelos de nuestros sitios de estudio poseen arcillas 1:1, 2:1 y alofánicas, se utilizó el modelo OCL para arcillas 2:1, que corresponde al modelo más permisivo (es decir, el modelo entre los propuestos que predice una mayor capacidad de almacenamiento de CO en la MOAM del suelo) en cuanto al límite de saturación de C. Así, la ecuación usada en este modelo fue [4]:

$$gCO \text{ en MOAM } kg^{-1} \text{ suelo} = 0,80 * g \text{ de la fracción fina } 100 g^{-1} \text{ suelo} \quad [4]$$

Finalmente, comparamos los ajustes lineales obtenidos a partir de los cuatro modelos descritos, con los valores de contenido de CO en la MOAM determinados en las tres profundidades de suelo evaluadas, a través del método de mínimos cuadrados.

Metodología para realizar el Objetivo específico 2

a-Recolección de muestras de suelo

Se trabajó únicamente con suelos asociados a las comunidades de céspedes, debido a que son las comunidades que se encuentran bajo mayor presión de uso, por lo que serían más susceptibles a sufrir alteraciones o pérdidas de CO. Sobre la base de los modelos calculados para el Objetivo específico 1, se identificó a la profundidad 0-5 cm como aquella que estaba saturada en su capacidad de retener CO en la MOAM, y a la profundidad 15-30 cm como la que no lo estaba (ver Resultados Objetivo específico 1).

De los parches de céspedes seleccionados, sólo en cuatro de ellos (Fig. 1) se tomaron muestras de suelo para la determinación de fracciones y textura. Recolectamos una muestra compuesta (de 4-8 submuestras) con cilindro de 4 cm de diámetro, en las dos profundidades identificadas como saturadas y no saturadas en su capacidad de incorporar CO: 0-5 cm y 15-30 cm, respectivamente. Nuevamente, sobre una submuestra de 5 g se determinó el contenido de humedad por el método gravimétrico (Jarrell et al. 1999). Las muestras fueron homogeneizadas por profundidad y, para obtener los suelos que servirían como control y tratamiento, estas se dividieron en dos partes iguales de 50 g, que se colocaron en recipientes de aproximadamente 100 ml y se las llevó a capacidad de campo (47% de contenido de humedad, (Cassel & Nielsen 1986). Con el fin de estabilizar el suelo, dichas muestras fueron colocadas en heladera a 4°C durante un período de 3 días.

b-Estimación de la saturación mediante manipulaciones experimentales

A la mitad de los recipientes se les agregó y mezcló uniformemente 1 g de hojarasca de *Muhlenbergia peruviana* (gramínea nativa anual), aporte que representa el 50% del aporte relativo máximo registrado en el área de estudio (11,5 gC kg⁻¹ suelo; Vaieretti et al. 2013). Se utilizó esta especie ya que es abundante en las comunidades de céspedes del sitio de estudio, y a que posee una

descomponibilidad relativamente alta respecto a otras gramíneas del área de estudio (Poca et al. 2014, Vaieretti et al. 2013, 2018). La otra mitad de los recipientes no recibió agregado de hojarasca y funcionaron como control. Se trabajó con un número total de 16 muestras que corresponden a 2 tratamientos de agregado de CO (con y sin agregado de hojarasca), 2 profundidades de suelo (saturado y no saturado), 4 réplicas de cada tratamiento. Se construyeron microcosmos cerrados en los cuales se colocaron los distintos suelos a analizar, junto con un recipiente con agua para evitar la desecación, y a otro con NaOH 1M para medir la respiración microbiana potencial. Todas las muestras se incubaron a 25°C por 13 semanas, tiempo que consideramos pertinente dado que distintos estudios utilizan tiempos de incubación similares (Lavalle et al. 2018, Córdova et al 2018). Durante este periodo se midió la respiración microbiana potencial (Rice et al. 1996) y, al inicio y al final de la incubación, se determinó el contenido total de CO en la MOS y en las distintas fracciones a través del fraccionamiento físico y del método de Walkley & Black (Nelson & Sommers 1996). Cabe destacar que, en el actual contexto de pandemia, no estuvo disponible el agitador orbital Sontec OS 22 UP recomendado para la técnica de fraccionamiento del suelo (Pestoni et al. 2020), y se utilizó, en su lugar, un agitador de tipo lineal. El cambio de equipo habría generado una subestimación en los valores absolutos de la cantidad de fracción fina del suelo, principalmente en la profundidad 0-5 cm. Esto podría haber subestimado la cantidad de CO en MOAM por kilogramo de suelo. Sin embargo, dado que la hipótesis 2 se enfoca en el cambio relativo luego de la manipulación (adición de hojarasca) consideramos que la subestimación no afectaría su puesta a prueba.

Análisis estadísticos

En el contexto del objetivo 1 se comparó la estimación del máximo contenido de CO que puede retener la MOAM según cada modelo propuesto, con el CO medido a campo. Respecto al objetivo 2, se evaluaron diferencias de medias entre el CO en la MOAM y en la MOP del suelo inicial (suelos previos a la incubación), del control (sin agregado de materia muerta) y del tratamiento (con agregado de materia muerta), sobre suelos presumidos saturados y no saturados (i.e., suelos a distintas profundidades) al final de la incubación, mediante ANOVA a simple factor.

Finalmente, el CO₂ mineralizado acumulado al final del período de incubación para los suelos control y tratamiento, se evaluó una vez más mediante ANOVA a simple factor. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Infostat v. 2013 (Di Rienzo & Casanoves 2013).

Resultados

Evaluación de la saturación mediante modelos teóricos

En general, tal y como proponen los modelos, observamos que a medida que aumenta la cantidad de partículas finas en el suelo, aumenta el contenido de CO en la MOAM, patrón que se repite en las tres profundidades consideradas (Fig. 2 y Fig. 3). En la profundidad 0-5 cm, la mayor parte de los valores observados de CO en la fracción fina fueron similares o mayores a los máximos valores predichos por los modelos más permisivos (Análisis de la Línea Límite y Carga de CO, Feng et al. 2013), y fueron mayores, en casos duplicando o triplicando, a los máximos valores predichos por los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002; Fig. 2A). En la profundidad 5-15 cm, se observó que la mayor parte de los valores de CO en la fracción fina fueron similares al máximo predicho por los dos modelos más permisivos, y mayores a los predichos por los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002; Fig. 2B). Finalmente, en la profundidad 15-30 cm, la mayor parte de los valores de CO en la fracción fina se encontraron por debajo del máximo predicho por los modelos más permisivos, y fueron similares a los predichos por los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002; Fig. 2C). Tomando como referencia los modelos propuestos, los resultados obtenidos indican que los suelos de la profundidad 0-5 cm estarían saturados en su capacidad para estabilizar C en la MOAM, mientras que los suelos entre los 5-15 y 15-30 cm de profundidad aún se encontrarían por debajo del estado de saturación (insaturados).

La pendiente resultante de la regresión lineal obtenida entre el contenido de CO en la MOAM y el contenido de partículas finas del suelo fue más pronunciada en los suelos de la profundidad 0-5 cm (1,014; Fig. 3A), seguidos por los suelos de la profundidad 5-15 cm (0,743; Fig. 3B), y finalmente, las menos pronunciadas en la

profundidad 15-30 cm (0,537; Fig. 3C). Las pendientes de los suelos más superficiales fueron incluso mayores que las propuestas en los modelos más permisivos (0,84, Análisis de Línea Límite, y 0,80, Carga de CO; Feng et al. 2013), lo que implica que los suelos del sitio de estudio pueden almacenar más CO en la MOAM que el máximo estimado por dichos modelos propuestos.

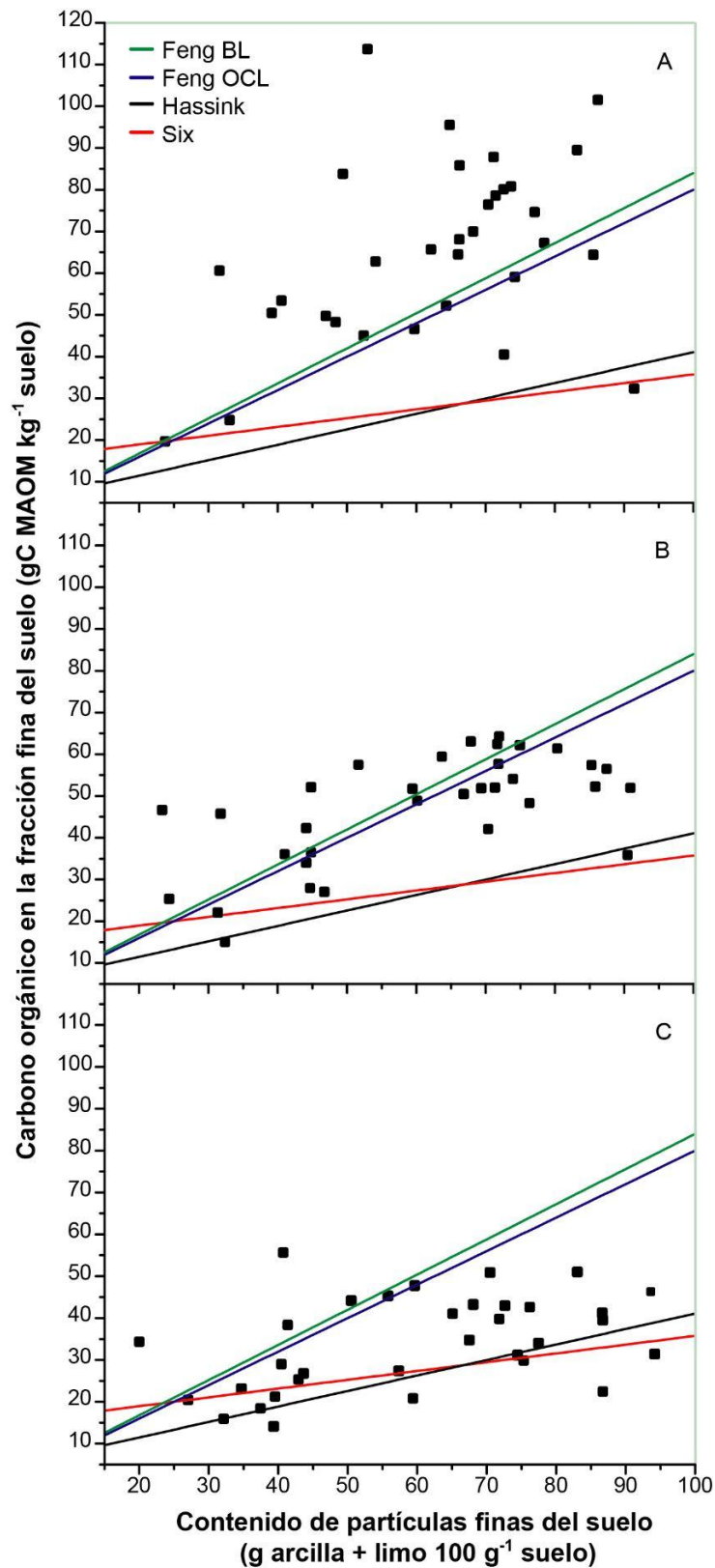


Fig. 2: Contenido de C orgánico en la fracción fina del suelo en A) la profundidad 0-5 cm, B) 5-15 cm y C) 15-30 cm, en función del contenido de partículas finas del suelo. Las líneas sólidas representan los valores de C máximo predicho bajo los modelos de Análisis de Línea Límite, Feng et al. (2013)=Feng BL; Carga de CO, Feng et al. (2013)=Feng OCL; Hassink (1997)=Hassink; y Six et al. (2002)=Six.

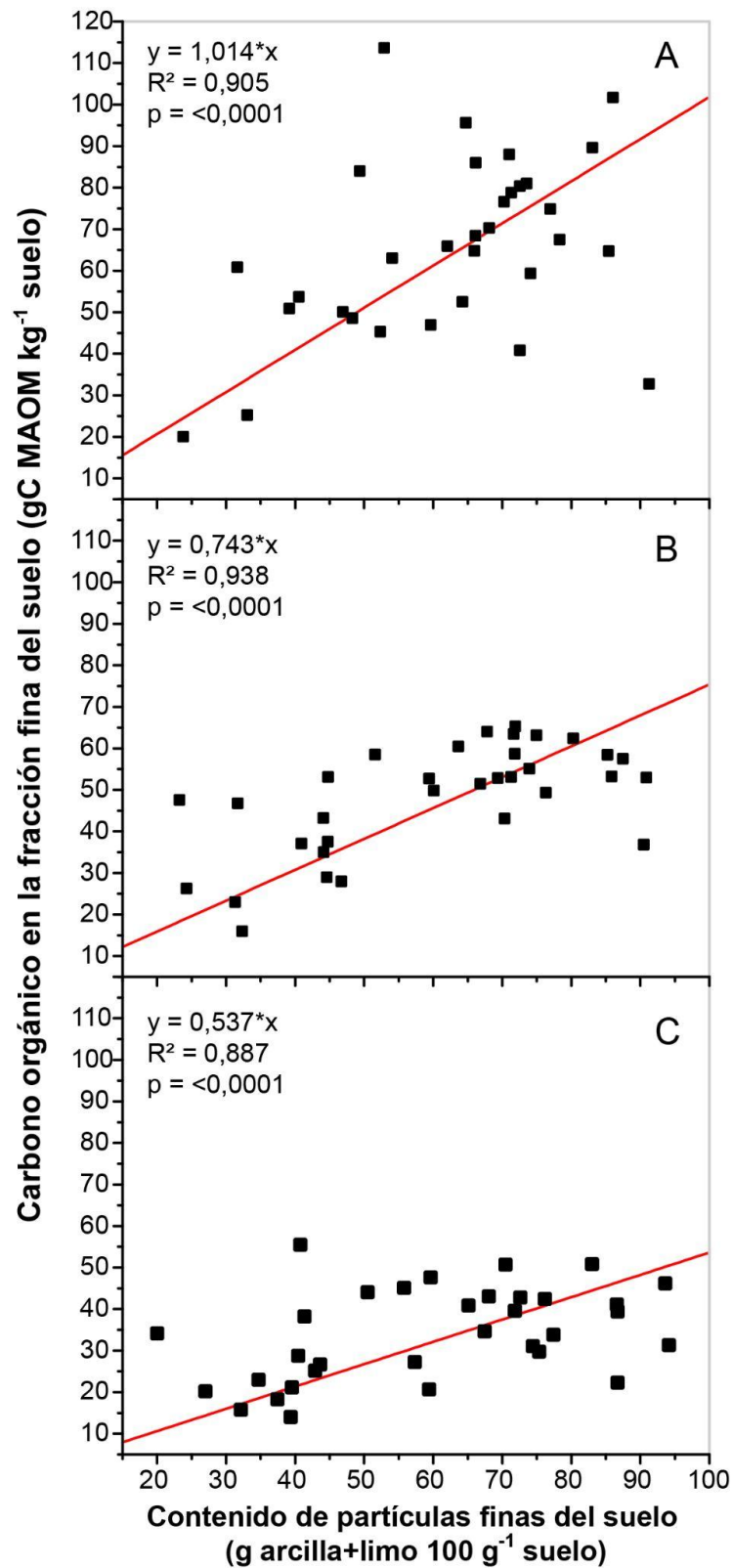


Fig. 3: Ajustes lineales por método de mínimos cuadrados del **contenido de C orgánico en la fracción fina del suelo**, en función del **contenido de partículas finas del suelo** en **A)** la profundidad 0-5 cm, **B)** 5-15 cm y **C)** 15-30 cm. Se muestran las ecuaciones que describen dichos ajustes lineales, el R^2 , y los p-valores para cada caso.

Manipulaciones experimentales de suelos con agregado de hojarasca

Luego de las 13 semanas de incubación, en los suelos de la profundidad 0-5 cm se observó una disminución del 23% del contenido de CO total en los suelos con agregado de hojarasca finales (posteriores a la incubación) respecto a los suelos iniciales (previos a la incubación), mientras que el contenido de CO total de los suelos control se mantuvo constante (Tabla 2). Por su parte, en los suelos de la profundidad 15-30 cm se observó una pérdida del 22% del CO total en los suelos con agregado de hojarasca finales respecto a los iniciales, mientras que para los suelos control la pérdida representó el 13% de su CO total inicial.

Tabla 2: Contenido **inicial** (previo a la incubación) y **final** (posterior a la incubación) de **CO total** del suelo, en suelos **control** y con **agregado de hojarasca**, para la profundidad **0-5 cm** y **15-30 cm** (valores medios (ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y p. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos iniciales y finales ($p < 0,05$), para cada profundidad y tratamiento separadamente.

Profundidad (cm)	Tratamiento	CO total (gCO kg ⁻¹ suelo)			
		Inicial	Final	F	p
0-5	Control	111,2 (16,6)a	89,2 (7,6)a	4,59	0,12
	Agregado de hojarasca	122,8(16,7)a	94,8 (13,5)b	74,57	0,003
15-30	Control	44,4(3,5)a	38,4(3,8)b	47,07	0,006
	Agregado de hojarasca	55,9(3,8)a	43,1(2,5)b	32,91	0,01

A diferencia del patrón observado para el CO total, no se observaron cambios

significativos en el contenido de CO en ninguna de las fracciones de la MO (MOAM y MOP) entre los suelos control y los suelos con agregado de hojarasca, como así tampoco entre éstos respecto al suelo inicial (Tabla 3). Esta falta de diferencias se observó para las dos profundidades de suelo seleccionadas, 0-5 y 15-30 cm. La concentración de CO en cada fracción por unidad de fracción en el suelo, tampoco presentó diferencias significativas entre los suelos iniciales, control y con agregado de hojarasca, para ambas profundidades seleccionadas (Tabla Supl. 1).

Tabla 3: Contenido de CO en la fracción fina (**MOAM**) y gruesa (**MOP**) del suelo, en las profundidades **0-5 y 15-30 cm**, para suelo **inicial** (previo a la incubación), y **final** (posterior a la incubación): **control**, y con **agregado de broza** (valores medios (ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y p. Letras diferentes indican diferencias significativas entre el suelo inicial, control, y con agregado de hojarasca ($p < 0,05$), para cada profundidad y para cada fracción separadamente..

Profundidad (cm)	CO en fracciones del suelo (gCO en fracción kg ⁻¹ suelo)	Inicial		Final		
		Suelo inicial	Control	Agregado de hojarasca	F	p
0-5	MOAM	30,7 (2,63)a	36,9 (5,20)a	23,6 (4,59)a	1,76	0,25
	MOP	69,9 (3,50)a	60,9 (3,07)a	67,3 (3,73)a	0,60	0,58
15-30	MOAM	30,1 (3,39)a	27,8 (4,51)a	25,8 (4,97)a	0,76	0,51
	MOP	11,5 (1,06)a	9,0 (4,23)a	16,3 (1,88)a	3,86	0,08

Con respecto a la respiración potencial, encontramos que el agregado de broza aumentó significativamente la liberación de CO₂ para ambas profundidades analizadas, respecto a sus respectivos controles (Tabla 4 y Fig. 4A). Los suelos de la profundidad 0-5 cm liberaron mayor cantidad total de CO₂ respecto a los de la profundidad 15-30 cm, para ambos tratamientos (Tabla Supl. 2). Sin embargo, el incremento en la liberación de CO₂ generado por el agregado de hojarasca, comparado con su respectivo control, fue proporcionalmente menor en los suelos superficiales (que respiraron 0,6 veces más que el control) respecto a los suelos de mayor profundidad (que respiraron 4,5 veces más que el control, (Tabla 2 y Tabla 3).

Finalmente, la cantidad de CO liberado a partir de la respiración microbiana potencial relativa a la cantidad de CO inicial, para ambas profundidades, fue mayor en los suelos que tuvieron agregado de hojarasca (Tabla 4 y Fig. 4B).

Tabla 4: Respiración microbiana potencial acumulada (g CO kg⁻¹ suelo) y **relativa** al CO total inicial del suelo (g CO g⁻¹ CO) luego de 13 semanas de incubación, para los **suelos control** y con **agregado de hojarasca**, para la profundidad **0-5 cm** y **15-30 cm** (valores medios (ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y p. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

Profundidad (cm)	CO acumulado liberado por respiración	Control	Agregado de broza	F	p
0-5	CO liberado (g CO kg ⁻¹ suelo)	3,29 (0,15)a	5,27(0,10)b	736,32	0,0001
	CO relativo liberado (g CO g ⁻¹ CO suelo)	0,11 (0,01)a'	0,16 (0,02)b'	64,73	0,004
15-30	CO liberado (g CO kg ⁻¹ suelo)	0,73 (0,09)a''	4,05 (0,36)b''	54,77	0,005
	CO relativo liberado (g CO g ⁻¹ CO suelo)	0,06 (0,01)a'''	0,27 (0,02)b'''	46,15	0,006

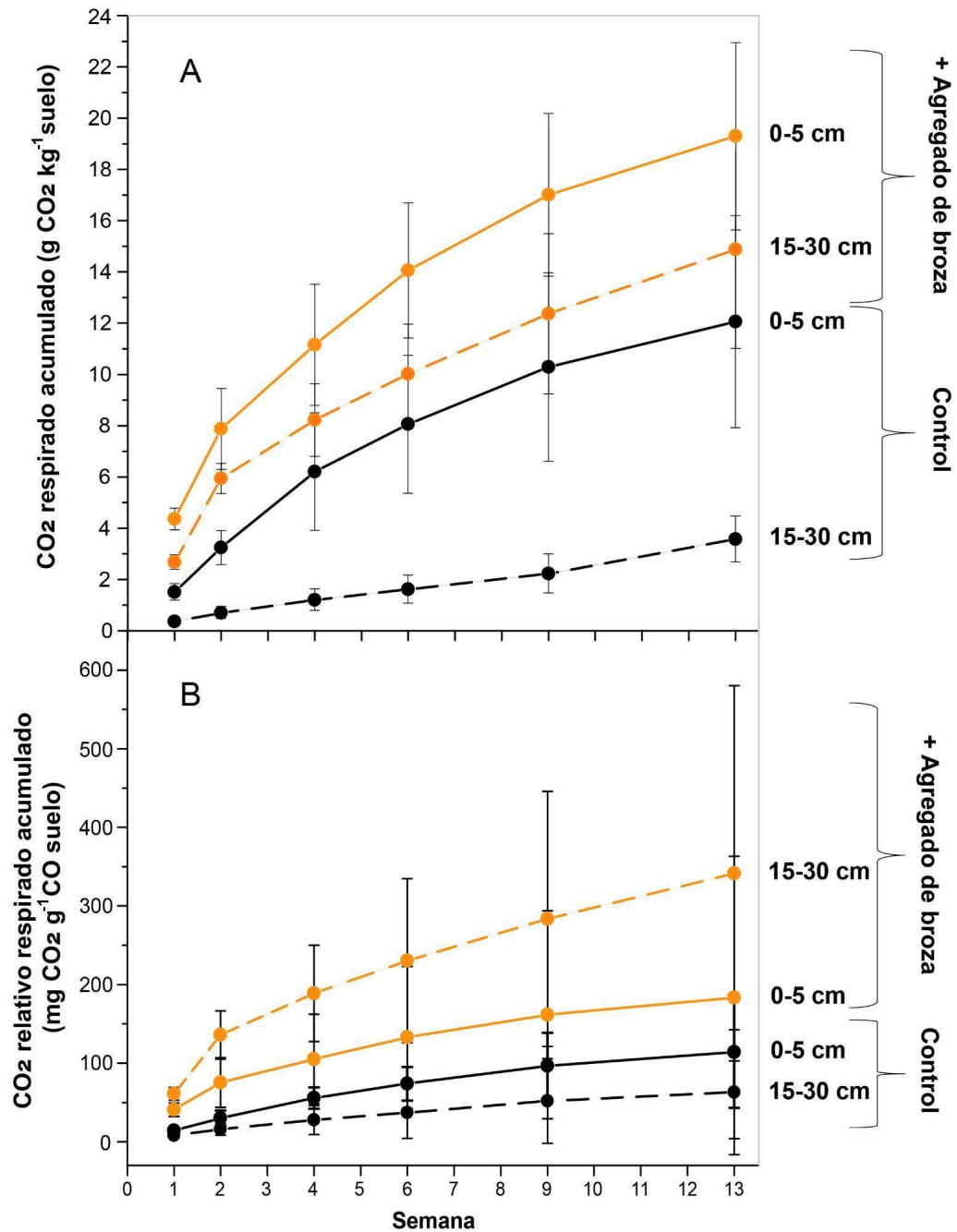


Fig. 4: A) Respiración microbiana potencial luego de 13 semanas de incubación, para el control y el tratamiento de la profundidad 0-5 cm y 15-30 cm respectivamente, medida como el flujo acumulado de CO₂ (g CO₂ kg⁻¹ suelo) B) Respiración microbiana potencial relativa al CO inicial del suelo luego de 13 semanas de incubación, para el control y el tratamiento de la profundidad 0-5 cm y 15-30 cm respectivamente, medida como el flujo acumulado de CO₂ por gramo de CO (mg CO₂ g⁻¹ CO suelo).

Discusión

Evaluación de la saturación mediante modelos teóricos

Se ha propuesto que la cantidad máxima de CO que puede estabilizarse en la MOAM, también denominada capacidad protectora de un suelo, depende de la cantidad de partículas de arcilla y limo (Hassink & Whitmore 1997). Esto se debe a que la fracción fina funciona como un indicador de la superficie mineral disponible con capacidad de tener interacciones con el COS (Angers et al. 2011). En el presente trabajo observamos que, tal como predice la teoría de saturación, a medida que hubo mayor cantidad de partículas finas en el suelo, aumentó el contenido de CO en la fracción fina del mismo (Hassink & Whitmore 1997). El patrón observado, que se mantuvo incluso en suelos que no estarían saturados, se debería a que los suelos con mayor cantidad de partículas finas tienen mayor potencial de estabilizar CO en la MOAM. Debido a ello, dichos suelos, al tener un mayor déficit de saturación, pueden estabilizar CO de forma más eficiente respecto a suelos con menor déficit de saturación. Estos últimos, tienen una menor probabilidad de encuentro entre sus escasas superficies disponibles restantes y la MO potencialmente estabilizable, por lo que estabilizan menor cantidad de CO en la MOAM por unidad de CO que ingresa a ellos.

La aplicación de los modelos teóricos confirmó lo propuesto por estudios previos (Sarquis et al. 2019, Pestoni et al. 2020, Vaieretti et al. 2021), y apoyaría nuestra primera hipótesis en cuanto a que los suelos de la profundidad 0-5 cm se encontrarían saturados en su capacidad de almacenar CO en la fracción fina. En algunos casos el contenido de CO en la MOAM fue más alto que el contenido máximo de CO predicho por dichos modelos, es decir, se observó sobresaturación. Los mayores niveles de sobresaturación se observaron con los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002), los cuales fueron los modelos menos permisivos. En concordancia con nuestros resultados, se ha observado en numerosos estudios que

los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002) subestiman la capacidad máxima de un suelo de estabilizar CO en la MOAM (Angers et al. 2011, Feng et al. 2013, Wiesmeier et al. 2014, Beare et al. 2014, Di et al. 2017). Por un lado, esto puede deberse a que dichos modelos ignoran la influencia del tipo de mineralogía del suelo sobre la MOAM, la cual puede cambiar la capacidad protectora del suelo (Beare et al. 2014, Di et al. 2017). Por otro lado, podría ser que los suelos a partir de los cuales los modelos de Hassink (1997) y Six et al. (2002) fueron construidos, no se hayan encontrado realmente saturados en su capacidad de estabilizar CO en la fracción fina. En ambos estudios, se realizaron meta-análisis de datos publicados, en los cuales se estimó la capacidad protectora asumiendo que los suelos se encontraban saturados (Hassink 1997, Six et al. 2002, Feng et al. 2013, Beare et al. 2014, Barré et al. 2017). En este sentido, es posible que los suelos considerados aún hayan poseído capacidad protectora y, por esa razón, subestimen la cantidad de CO en la fracción fina de suelos saturados, en particular en los casos en los que los suelos poseen alto contenido de CO.

El hecho de haber encontrado las menores diferencias entre los valores reales de CO de los suelos analizados y las estimaciones del modelo de Análisis de Línea Límite (Feng et al. 2013), se deberían a que este modelo evita los suelos insaturados al sólo utilizar aquellos suelos con los contenidos de CO más altos. Cabe destacar que, aún con dichas correcciones, y al igual que para el modelo de Carga de CO (Feng et al. 2013), hubo casos en los que el CO determinado en la MOAM de los suelos del área de estudio duplicó el máximo predicho por los modelos (Fig. 2A). Así, el modelo más permisivo (Análisis de Línea Límite, Feng et al. 2013) subestimó en un 17% la capacidad de almacenar CO en la MOAM de dichos suelos. Esta subestimación puede deberse a que, si bien el Análisis de Línea Límite (Feng et al. 2013) tiene en cuenta la mineralogía del suelo, por ejemplo si el suelo posee arcillas tipo 1:1 o 2:1, no tiene en cuenta otras variables importantes, como el pH del suelo, o la presencia de partículas alofánicas o alumínicas, con alta capacidad de retener CO. Del mismo modo, el modelo de Carga de CO (Feng et al. 2013), a pesar de ser un modelo mecanístico, es decir, no basado en mediciones empíricas, sólo toma como variable independiente la presencia de arcillas tipo 2:1. En los suelos del sitio de estudio se ha detectado la presencia de arcillas 1:1, 2:1 y alofánicas

(Gallardo, datos no publicados), las cuales modifican fuertemente la capacidad protectora del suelo (Beare et al. 2014). Las partículas alofánicas pueden interactuar estrechamente con el COS debido a su alta área superficial (Parfitt 2009), y en suelos en los que se las ha detectado, se han observado altos niveles de CO en la fracción fina ($\sim 100 \text{ gC kg}^{-1}$ suelo; Beare et al. 2014). Además, el modelo de Carga de CO (Feng et al. 2013), asume que el CO que puede asociarse a las partículas finas del suelo lo hace en forma de una monocapa continua (Keil et al. 1994, Mayer 1994, Feng et al. 2013), mientras que se ha demostrado que la MO se distribuye en forma de bultos discretos e irregulares (Mayer & Xing 2001, Wagai et al. 2009), lo que podría aumentar la capacidad del suelo de estabilizar CO en la fracción fina. Asimismo, se ha observado que el contenido de COS disminuye a medida que el pH aumenta (Beare et al. 2014). Esto puede deberse a que el pH del suelo afecta la actividad e identidad de las comunidades microbianas (Lavalle et al. 2019), predominando las vías de descomposición microbiana a pH alcalinos (Beare et al. 2014). Además, valores de pH altos en suelo pueden producir la desorción de la MOS de la superficie de ciertas partículas minerales (Beare et al. 2014), haciéndola fácilmente mineralizable. En el área de estudio se han observado valores de pH ácidos ($\sim 4,9$; Cingolani et al. 2003, Vaieretti et al. 2010), lo que podría beneficiar la retención de altos niveles de COS. Es imprescindible, en este sentido, el uso de modelos que, como los propuestos por Beare et al. (2014), utilicen otras variables además de la cantidad de partículas finas del suelo, como el pH y la presencia de partículas alofánicas, para la obtención de mejores estimaciones.

Finalmente, y también en concordancia con nuestras hipótesis, los suelos de las profundidades 5-15 cm y 15-30 cm poseen menor cantidad de CO en la MOAM respecto a la profundidad 0-5 cm (Tabla Supl. 3; Fig. 1 y Fig. 2). Dado que no se diferenciaron de los suelos superficiales en la proporción de partículas finas por unidad de suelo, se puede establecer que poseen un mayor déficit de saturación, y podrían considerarse insaturados. Este es un patrón común, dado que generalmente el aporte de biomasa vegetal disminuye a mayor profundidad. Además, es consistente con lo obtenido por Beare et al. (2014), quienes también hallaron que los suelos más profundos no difieren en su proporción de partículas finas, pero sí poseen menor contenido de CO y, como consecuencia, presentan déficits de

saturación mayores.

Evaluación de la saturación mediante manipulaciones experimentales

Tal como se mencionó en la introducción, además de los modelos teóricos, la evaluación de la capacidad de acumular CO en la fracción fina del suelo puede realizarse mediante la manipulación del ingreso de la materia muerta a suelos que se presumen saturados, y la comparación de su respuesta con la de suelos que se presumen no saturados (Stewart et al. 2008; 2009; Lavalley et al. 2018). La ventaja de esta aproximación es que en la respuesta evaluada se integran todos los controles de la capacidad de un suelo de retener CO en la MOAM que se mencionaron en la primera parte de la discusión, que no son tenidos en cuenta por la mayoría de los modelos. Los resultados de las manipulaciones realizadas en los suelos asociados a la fisonomía de céspedes del área de estudio, al no detectar un incremento consistente en el CO total ni en el de las fracciones en las que se encuentra, a diferencia de las aproximaciones teóricas, no brindaron evidencias de saturación en esos suelos. Específicamente, en parcial coincidencia con nuestra hipótesis 2.1, no se observó un cambio en el contenido de CO de la MOAM en los suelos superficiales, que se asumían como saturados, luego del agregado de hojarasca. Este resultado confirmaría que dichos suelos no son capaces de retener más CO en la MOAM. Sin embargo, el hecho de que luego de la manipulación tampoco haya habido cambios en la MOP en los suelos de la misma profundidad, a pesar de no estar sujeta a saturación (Six et al. 2002, Stewart et al. 2008, Castellano et al. 2015, Lavalley et al. 2019), contradice parcialmente la misma hipótesis 2.1. En el mismo sentido, la falta de respuesta al agregado de hojarasca por parte de la fracción fina de los suelos que se presumen no saturados (profundidad 15-30 cm), en contradicción con nuestra hipótesis 2.2, también plantea dudas acerca de la interpretación del primer resultado. En conjunto, los resultados de las manipulaciones podrían indicar que el tiempo de incubación fue insuficiente para producir la formación de cantidades significativas de MOS en cualquiera de sus fracciones. Esto es consistente con la presencia de residuos del material vegetal

adicionado sin descomponer que se observaron al final de las incubaciones (Fig. 5). Si bien hay estudios que utilizan tiempos de incubación relativamente cortos, similares al de este trabajo (por ejemplo, los utilizados en Lavalle et al. 2018, Córdova et al 2018), períodos de incubación más prolongados (por ejemplo, los utilizados en Gentile & Six 2011, Fulton-Smith & Cotrufo 2019), podrían permitir detectar de mejor manera los cambios en el contenido de CO en la MOAM. Teniendo esto en cuenta, en forma paralela al presente experimento se dispuso otro conjunto de muestras bajo un período de incubación mayor, con el objetivo de evaluar si existen cambios en las fracciones de la MOS en un plazo mayor. Por otra parte, otro factor que podría haber influido sobre el proceso de estabilización de CO en la MOAM es el concepto de matriz de estabilización-eficiencia microbiana (MEMS; Cotrufo et al. 2013, Castellano et al. 2015). Este modelo propone que, si bien los procesos de formación de la MOP y MOAM se dan en paralelo y a lo largo de todo el proceso de descomposición biótica, éstos ocurren tanto en función del estado de saturación del suelo, como de la calidad del sustrato vegetal (Cotrufo et al. 2013, Castellano et al. 2015). De este modo, por un lado, suelos con un déficit de saturación bajo, como los del sitio de estudio, tienen una baja eficiencia de formación de MOAM, lo que beneficia la formación de MOP. Por otro lado, los sustratos vegetales de alta calidad aportan compuestos lábiles que llevan principalmente a la formación de MOAM, mientras que sustratos de baja calidad promoverían la formación de MOP. La especie adicionada (*Muhlenbergia peruviana*) tiene valores medios de calidad, debido principalmente a su alta concentración de hemicelulosa (Poca et al. 2014). En este sentido, y tomando en cuenta el bajo déficit de saturación de los suelos analizados, es posible que sólo una pequeña parte de la hojarasca adicionada haya contribuido a la formación de MOAM. Bajo este punto de vista, la incorporación combinada de especies de mejor y peor calidad en estudios futuros, podría asegurar la formación de ambas fracciones de la MOS bajo tiempos de incubación suficientes.

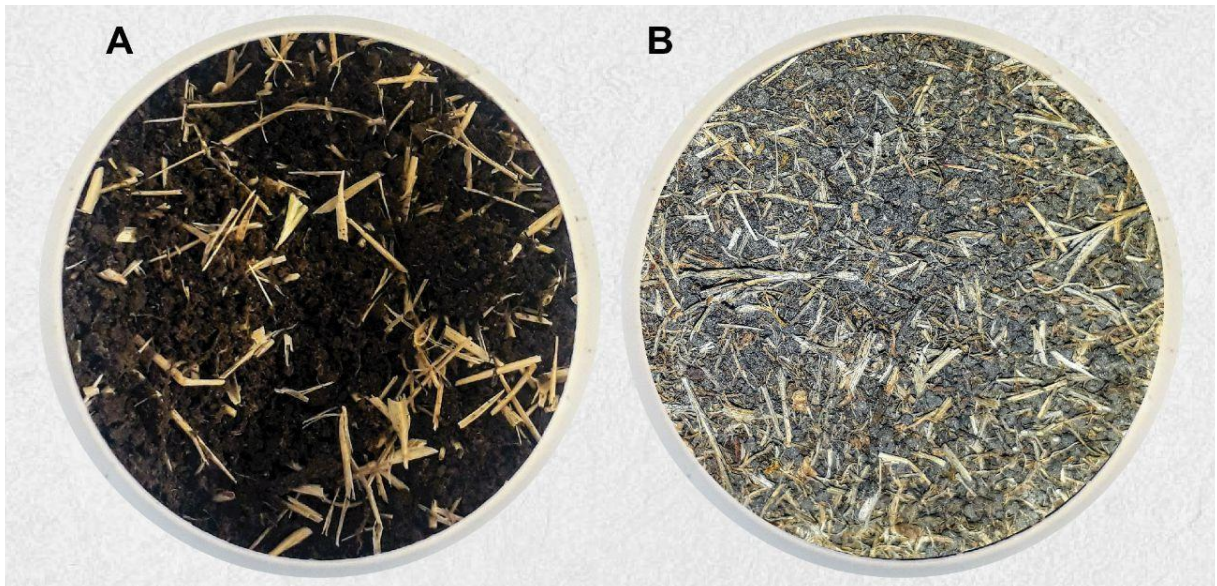


Fig. 5: Suelos con agregado de hojarasca **A)** previo al inicio de las incubaciones y **B)** posterior a las incubaciones (Las diferencias de color son debidas a los distintos contenidos de humedad de cada muestra).

Finalmente, los resultados de las determinaciones de respiraciones microbiana potencial en conjunto con los resultados de cambios en el CO total indican que los suelos no solo no estarían acumulando CO, sino que podrían estar perdiéndolo como resultado de la estimulación de la respiración microbiana que produjo el agregado de hojarasca. Esto puede evidenciarse no solo en la consistente disminución en el CO total en las dos profundidades, sino que la pérdida parece ser más marcada en los suelos más profundos, que poseen menos CO. La estimulación de la actividad microbiana como producto del agregado de hojarasca habría producido la mineralización no solo de parte del CO de esa materia muerta, sino que habría estimulado la liberación de parte del CO del suelo (Sayer et al. 2007, 2011, Schimel & Weintraub 2003, Sulzman et al. 2005). La cantidad de CO mineralizado es menor a la cantidad de CO agregado en forma de hojarasca, por lo que los suelos analizados aún no habrían sufrido un efecto cebador propiamente dicho (o priming; Blagodatskaya & Kuzyakov 2008, Hamer & Marschner 2005, Kuzyakov et al. 2000). Sin embargo, no se puede descartar que con tiempos de incubación mayores, en los cuales la hojarasca sufra un mayor nivel de descomposición, la estimulación de la actividad microbiana produzca un efecto cebador. Lamentablemente, la pérdida del

CO total no pudo ser detectada a nivel de las fracciones, por lo que no sabemos si la estimulación afectó más a la MOP o a la MOAM. Tal como se mencionó en la introducción, podría esperarse que la MOP haya sido la más sensible a la manipulación, ya que se encuentra libre, a diferencia de la MOAM que se encuentra protegida por su asociación a partículas minerales (Hassink 1997, Six et al. 2002, von Lützow et al. 2007, Lavallo et al. 2019). En estudios futuros, una aproximación a partir del uso de isótopos estables podría permitirnos conocer qué fracciones de la MOS estarían actuando como fuente y sumidero de CO. Dado que la vegetación dominante del área de estudio es de tipo C3 (Silva et al. 2011), la incubación con agregado de hojarasca de vegetación de tipo C4 nos permitiría establecer qué fracciones y en qué nivel están incorporando o perdiendo CO (Gerzabek, 1998).

Conclusión

En concordancia con trabajos anteriores realizados en el área de estudio, en el presente trabajo se observó que los pastizales de las Sierras Grandes de Córdoba poseen altos niveles de CO en sus suelos, particularmente a nivel superficial. Gran parte de este CO forma parte de la fracción fina del suelo, la cual se considera un reservorio sumamente estable. La aplicación de aproximaciones teóricas evidenció que dichos suelos se encontrarían bajo condiciones de saturación, e incluso sobresaturados en su capacidad de estabilizar CO en la fracción fina del suelo a nivel superficial (dentro de los primeros 15 cm de profundidad). En particular, la sobresaturación encontrada apunta a la necesidad de incorporar en los modelos teóricos, variables adicionales que consideren las características de los suelos que les permiten acumular más CO que lo que consideran los modelos clásicos.

Por otra parte, los resultados de las manipulaciones experimentales de agregado de hojarasca no fueron consistentes con la interpretación de los resultados de los modelos teóricos. Por un lado, la ausencia de cambios en el contenido de CO en la MOAM y en la MOP, tanto en los suelos que se asumían saturados como en los que no luego del agregado de hojarasca, no corrobora que los suelos superficiales estén saturados y los más profundos no. Por otro lado, estos resultados

plantean la necesidad de mantener las manipulaciones durante tiempos más prolongados para que exista la posibilidad de detectar cambios. Sumado a lo anterior, las pérdidas de CO total detectadas (en el suelo y al evaluar la respiración) sugieren que las manipulaciones incluso podrían haber estimulado la pérdida de CO en lugar de su acumulación.

Al margen de nuestras conclusiones respecto a cómo mejorar futuras aproximaciones teóricas y experimentales, nuestros resultados muestran una primera aproximación a la evaluación del estado de saturación y de la estabilidad del reservorio de CO en los suelos de los pastizales del área de estudio. Esto contribuye a la comprensión de los distintos mecanismos de formación, estabilización y pérdida de la MO en sus distintas fracciones. Trabajos previos han evaluado patrones generales en el contenido de CO (Vaieretti et al. 2021) en relación a cambios en la vegetación y en el uso del suelo. Comprender la dinámica y la estabilidad de dichos patrones, así como comprender los mecanismos que determinan el balance de la MOS, es fundamental para poder predecir las consecuencias de los distintos manejos en el área de estudio, particularmente en el actual contexto de cambio climático.

Bibliografía

- Angers DA, Arrouays D, Saby NPA, Walter C (2011) Estimating and mapping the carbon saturation deficit of French agricultural topsoils. *Soil Use Manag* 27:448–45.
- Bagchi S, Ritchie ME (2010) Introduced grazers can restrict potential soil carbon sequestration through impacts on plant community composition. *Ecol. Lett.* 13, 959–68.
- Barré P, Angers D, Basile-Doelsch I, Bispo A, Cécillon L et al. (2017). Ideas and perspectives: Can we use the soil carbon saturation deficit to quantitatively assess the soil carbon storage potential, or should we explore other strategies? *Biogeosciences Discussions*. 1-12.
- Beare MH, McNeill SJ, Curtin D, Parfitt RL, Jones HS et al. (2014) Estimating the organic carbon stabilization capacity and saturation deficit of soils: a New Zealand case study. *Biogeochemistry*, 120, 71-87, 2014.
- Blagodatskaya E, Kuzyakov Y (2008) Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review. *Biol Fertil Soils* 45, 115–131.
- Cabido M, Breimer R, Vega G (1987) Plant communities and associated soil types in a high plateau of the Córdoba mountains, central Argentina. *Mt Res Dev* 7:25–42.
- Cagnarini C, Blyth E, Emmett BA, Evans CD, Griffiths RI, et al. (2019) Zones of influence for soil organic matter dynamics: A conceptual framework for data and models. *Glob Change Biol.* 25: 3996– 4007.
- Cassel DK, Nielsen DR (1986) Field Capacity and Available Water Capacity. In *Methods of Soil Analysis*, A. Klute (Ed.).
- Castellano M, Kaye J, Lin H, Schmidt J (2015) Linking Carbon Saturation Concepts to Nitrogen Saturation and Retention. *Ecosystems* 15: 175–187.
- Cingolani AM, Cabido MR, Renison D, Solís NV (2003) Combined effects of environment and grazing on vegetation structure in Argentine granite grasslands. *Journal of Vegetation Science*, 14: 223-232.
- Cingolani AM, Vaieretti MV, Giorgis MA, La Torre N, Whitworth-Hulse JI, Renison D (2013) Can livestock and fires convert the sub-tropical mountain rangelands of central Argentina into a rocky desert?. *The Rangeland Journal* 35, 285-297.

- Cingolani AM, Vaieretti MV, Giorgis MA, Poca M, Tecco PA, Gurvich DE (2014) Can livestock grazing maintain landscape diversity and stability in an ecosystem that evolved with wild herbivores? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 16, 143–153.
- Colladon L, Felici GS, Pazos I (2010) Anuario pluviométrico 2005–2010. Cuenca del Río San Antonio. Sistema del Río Suquía - Provincia de Córdoba. INA y CIRSA, Córdoba.
- Córdova SC, Olk DC, Dietzel RN, Mueller KE, Archontoulis SV, et al. (2018) Plant litter quality affects the accumulation rate, composition, and stability of mineral-associated soil organic matter. *Soil Biol Biochem* 125: 115–124.
- Cotrufo MF, Wallenstein M, Boot MC, Deneff K, Paul EA (2013) The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: Do labile plant inputs form stable soil organic matter? *Glob. Change Biol.* 19, 988995.
- Cotrufo M, Soong J, Horton A, Campbell EE, Haddix ML, et al. (2015) Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geosci* 8, 776–779.
- Cotrufo MF, Ranalli MG, Haddix ML, Six J, Lugato E (2019) Soil carbon storage informed by particulate and mineral-associated organic matter. *Nat. Geosci.* 12, 989–994.
- Di J, Feng W, Zhang W, Cai A, Xu M (2017) Soil organic carbon saturation deficit under primary agricultural managements across major croplands in China, *Ecosystem Health and Sustainability*, 3:7, 1364047.
- Di Rienzo JA, Casanoves F (2013) Grupo InfoStat, FCA, UNC, Argentina.
- Díaz S, Acosta A, Cabido M (1994) Community structure in montane grasslands of central Argentina in relation to land use. *J. Veg. Sci.* 5, 483–488.
- Derner JD, Boutton TW, Briske DD (2006) Grazing and ecosystem carbon storage in the North American Great Plains. *Plant Soil* 28, 77–90.
- Duval ME, Galantini JA, Martínez JM, Limbozzi F (2018) Labile soil organic carbon for assessing soil quality: influence of management practices and edaphic conditions. *Catena* 171: 316-326.
- Feng W, Plante AF, Six J (2013) Improving estimates of maximal organic carbon stabilization by fine soil particles. *Biogeochemistry* 112, 81–93.
- Fulton-Smith S, Cotrufo MF (2019) Pathways of soil organic matter formation from above and belowground inputs in a *Sorghum bicolor* bioenergy crop. *GCB Bioenergy* 11:

971– 987.

- Gang C, Zhou W, Chen Y, Wang Z, Sun Z, et al. (2014) Quantitative assessment of the contributions of climate change and human activities on global grassland degradation. *Environ Earth Sci* 72: 4273–4282.
- Gentile R, Vanlauwe B, Six J (2011) Litter quality impacts short- but not long-term soil carbon dynamics in soil aggregate fractions. *Ecol Appl.* 21(3):695-703.
- Hamer U, Marschner B (2005) Priming effects in different soil types induced by fructose, alanine, oxalic acid and catechol additions. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 445-454.
- Hassink J (1997) The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant and Soil* 191, 77–87.
- Hassink J, Whitmore AP (1997) A model of the physical protection of organic matter in soils. *Soil Sci Soc Am J* 61:131–139.
- Indorante SJ, RD Hamme, PG Koenig, LR Follmer (1990) Particle-size analysis by a modified pipette procedure. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54(2): 560-563.
- Jackson RB, Lajtha K, Crow SE, Hugelius G, Kramer MG, et al. (2017) The Ecology of Soil Carbon: Pools, Vulnerabilities, and Biotic and Abiotic Controls. *Ann Rev Ecol Evol Syst* 48: 419-445.
- Jarrell WM, Armstrong DE, Grigal DF, Kelly EF, Monger HC, et al. (1999) Soil water and temperature status. In: Robertson PG, Coleman DA, Bledsoe CS, Sollins P (ed), *Standard soil methods for long-term ecological research*. Oxford University Press, Oxford, 63–64.
- Keil RG, Tsamakis E, Fuh CB, Giddings JC, Hedges JI (1994) Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments—hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. *Geochim Cosmochim Acta* 58(2):879–893.
- Kuzyakov Y, Friedel JK, Stahr K (2000) Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(11), 1485-1498.
- Lavallee JM, Conant RT, Paul EA et al. (2018) Incorporation of shoot versus root-derived ¹³C and ¹⁵N into mineral-associated organic matter fractions: results of a soil slurry incubation with dual-labelled plant material. *Biogeochemistry* 137, 379–393.
- Lavallee JM, Soong JL, Cotrufo MF (2019) Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st

- century. *Glob Change Biol* 26: 261– 273.
- Lehmann J, Kleber M (2015) The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528: 60–68.
- Mayer LM (1994) Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chem Geol* 114(3–4):347–363.
- Mayer LM, Xing BS (2001) Organic matter-surface area relationships in acid soils. *Soil Sci Soc Am J* 65(1):250–258
- McNaughton SJ (1983) Serengeti Grassland Ecology. *Ecol Monog* 53: 291-320.
- Milchunas DG, Lauenroth WK (1993) Quantitative effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecological Monographs* 63: 327–366.
- Milne AE, Wheeler HC, Lark RM (2006) On testing biological data for the presence of a boundary. *Ann Appl Biol* 149(2):213–222.
- Nelson DW, Sommers LE (1996) Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: *Methods of Soil Analysis. Part 3 – Chemical Methods* (ed. D. L. Sparks) pp. 961–1010. Chapter 34. ASA, SSSA, CSSA, MadisonWI.
- Parfitt RL (2009) Allophane and imogolite: role in soil biogeochemical processes. *Clay Miner* 44:135–155
- Pestoni S, Gallardo N, Pérez-Harguindeguy N, Kowaljow E (2020) Influencia del método de dispersión en el fraccionamiento físico de un suelo de Argentina central. *Cienc Suelo* 38: 187-191.
- Piñeiro G, Paruelo JM, Jobbágy EG, Jackson RB, Oesterheld M (2009) Grazing effects on belowground C and N stocks along a network of cattle enclosures in temperate and subtropical grasslands of South America. *Global Biogeochem Cycles* 23: 1–14.
- Piñeiro G, Paruelo JM, Oesterheld M, Jobbágy EG. (2010) Pathways of Grazing Effects on Soil Organic Carbon and Nitrogen. *Rang Ecol Manag* 63: 109–119.
- Poca M, Pérez-Harguindeguy N, Vaieretti MV, Cingolani AM (2014). Descomposición y calidad físico-química foliar de 24 especies dominantes de los pastizales de altura de las sierras de Córdoba, Argentina. *Ecología austral*, 24(2), 249-257.
- Pucheta E, Bonamici I, Cabido M, Díaz S (2004) Below-ground biomass and productivity of a grazed site and a neighbouring ungrazed enclosure in a grassland in central Argentina. *Austral Ecol* 29:201–208.
- Rice CM, Moorman TB, Beare M (1996) Role of microbial biomass carbon and nitrogen in

- soil quality. En Doran JW y Jones AJ (eds). *Methods for assessing soil quality*, SSSA N°49, Madison, Wisconsin, USA pp 203-214.
- Rasse DP, Rumpel C, Dignac MF (2005) Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. *Plant Soil* 269: 341–356.
- Sarquis A, Pestoni S, Cingolani AM, Pérez Harguindeguy N (2019) Physiognomic changes in response to herbivory increase carbon allocation to roots in a temperate grassland of central Argentina. *Plant Ecol* 220: 699-709.
- Sayer EJ, Powers JS, Tanner EV (2007) Increased litterfall in tropical forests boosts the transfer of soil CO₂ to the atmosphere. *PLoS One*,2(12), e1299.
- Sayer EJ, Heard MS, Grant HK, Marthews TR, Tanner EV (2011) Soil carbon release enhanced by increased tropical forest litterfall. *Nature Climate Change*, 1(6), 304 307.
- Schimel JP, Weintraub MN (2003) The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(4), 549 563.
- Schnug E, Heym J, Achwan F (1996) Establishing critical values for soil and plant analysis by means of the boundary line development system (BOLIDES). *Commun Soil Sci Plant Anal* 27(13–14):2739–2748.
- Schmidt U, Thöni H, Kaupenjohann M (2000) Using a boundary line approach to analyze N₂O flux data from agricultural soils. *Nutr Cycl Agroecosyst* 57(2):119–129.
- Silva L, Giorgis M, Anand M, Enrico L, Pérez-Harguindeguy N et al. (2011) Evidence of shift in C₄ species range in central Argentina during the late Holocene. *Plant and Soil*. 349. 261-279.
- Six J, Conant RT, Paul EA, Paustian K (2002) Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant Soil* 241: 155-176.
- Six J, Frey D, Thiet RK, Batten KM (2006) Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Sci Soc Am J* 70: 555–569.
- Sulzman EW, Brant JB, Bowden RD, Lajtha K (2005). Contribution of aboveground litter, belowground litter, and rhizosphere respiration to total soil CO₂ efflux in an old growth coniferous forest. *Biogeochemistry*, 73(1), 231 256.
- Stewart CE, Paustian K, Conant RT, Plante AF, Six J (2007) Soil C saturation: concept, evidence, and evaluation. *Biogeochemistry* 86, 19–31.
- Stewart CE, Plante AF, Paustian K, Conant RT, Six J (2008) Soil Carbon Saturation: Linking

- Concept and Measurable Carbon Pools. *Soil Sci Soc Am J* 72: 379-392.
- Stewart CE, Paustian K, Conant R, Plante A, Six J (2009) Soil carbon saturation: Implications for measurable carbon pool dynamics in long-term incubations. *Soil Biology & Biochemistry - SOIL BIOL BIOCHEM.* 41. 357-366.
- Sokol NW, Kuebbing SE, Karlsen-Ayala E, Bradford MA (2019) Evidence for the primacy of living root inputs, not root or shoot litter, in forming soil organic carbon. *New Phytol* 221: 233-246.
- Ulla S (2019) Efecto de la fisonomía de la vegetación producto del disturbio sobre la dinámica de la biomasa subterránea en un pastizal de las Sierras Grandes de Córdoba (Argentina). Tesina de Grado. Carrera Cs. Biológicas - FCEFyN - UNC.
- Vaieretti MV, Cingolani AM, Pérez-Harguindeguy N, Gurvich DE, Cabido M (2010) Does decomposition of standard materials differ among grassland patches maintained by livestock? *Austral Ecol.* 35, 935–53.
- Vaieretti MV, Cingolani AM, Pérez-Harguindeguy N, Cabido M (2013) Effects of differential grazing on decomposition rate and nitrogen availability in a productive mountain grassland. *Plant Soil* 371, 675–91.
- Vaieretti M, Iamamoto S, Pérez-Harguindeguy N, Cingolani A (2018) Livestock grazing affects microclimate conditions for decomposition process through changes in vegetation structure in mountain grasslands. *Acta Oecologica.* 91. 101-107.
- Vaieretti MV, Conti G, Poca M, Kowaljow E, Gorné L, et al. (2021) Plant and soil carbon stocks in grassland patches maintained by extensive grazing in the highlands of central Argentina. *Austral Ecol* 46: 374-386.
- Villarino SH, Pinto P, Jackson RB, Piñeiro G (2021) Plant rhizodeposition: A key factor for soil organic matter formation in stable fractions. *Sci Adv* 7,eabd3176.
- von Lütow M, Kögel-Knabner I, Ekschmitt K, Flessa H, Guggenberger G, et al. (2007). SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 2183–2207.
- von Müller AR, Renison D, Cingolani AM (2017) Cattle landscape selectivity is influenced by ecological and management factors in a heterogeneous mountain rangeland. *Rangel. J.* 39, 1–14.
- Wagai R, Mayer LM, Kitayama K (2009) Extent and nature of organic coverage of soil mineral surfaces assessed by a gas sorption approach. *Geoderma* 149(1–2):152–160.

- Webb RA (1972) Use of boundary line in analysis of biological data. *J Horticult Sci Biotechnol* 47(3):309–320.
- Wiesmeier M, Urbanski L, Hobbey E, Lang B, Lützow M et al. (2019) Soil organic carbon storage as a key function of soils - A review of drivers and indicators at various scales. *Geoderma*. 333. 149-162.
- Wilson CH, Strickland MS, Hutchings JA, Bianchi TS, Flory SL (2018) Grazing enhances belowground carbon allocation, microbial biomass, and soil carbon in a subtropical grassland. *Global Change Biol* 24: 2997–3009.

Anexo

Fig. Suplementaria 1: Proporción de partículas finas del suelo medida con el método de la pipeta modificado (Indorante et al. 1990, Pestoni et al. 2020) en función de la proporción estimada de partículas finas del suelo (calculada a partir de las diferencias entre el peso de cada fracción del suelo, y el peso de su respectiva MO), para céspedes y pajonales gruesos.

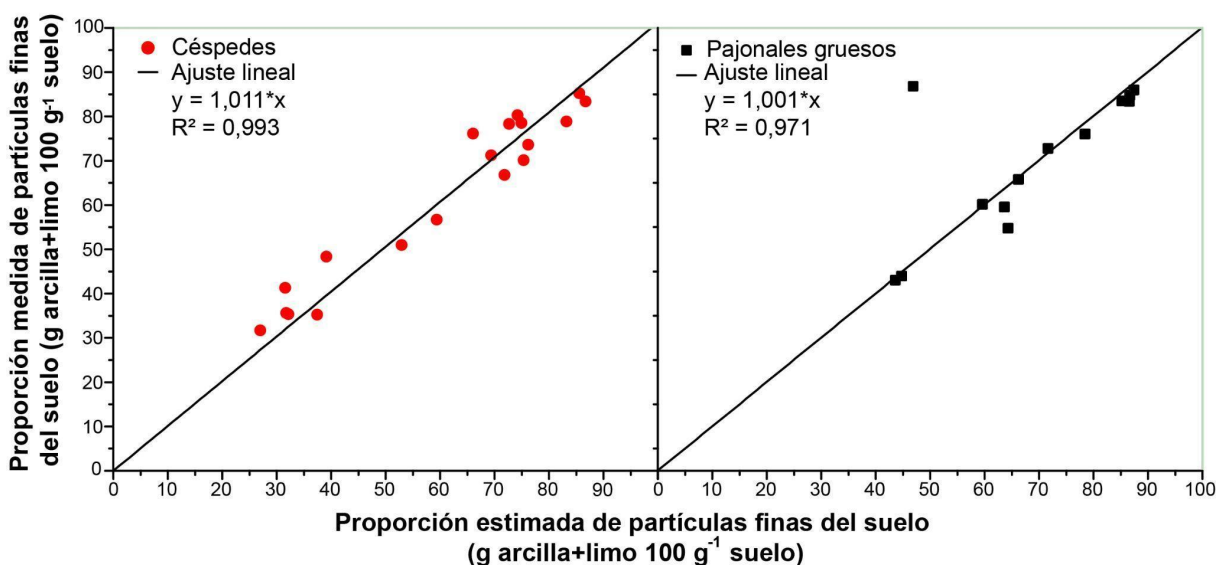


Tabla Suplementaria 1: Concentración de carbono orgánico (gCO en fracción kg⁻¹ fracción) en cada fracción del suelo para las profundidades 0-5 cm y 15-30 cm (valores medios(ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y P. Letras diferentes indican diferencias significativas en la concentración de Carbono orgánico entre los distintos tratamientos.

CO en fracciones del suelo (gCO en fracción kg ⁻¹ fracción)		Inicial		Final			
Profundidad	Fracción	Suelo Inicial	Control	Agregado de hojarasca	F	p	
0-5 cm	MOP	106,4 (7,8)a	100,6 (9,1)a	95,2 (6,2)a	3,01	0,12	
	MOAM	87,8 (5,0)a	89,1 (8,6)a	80,8 (6,7)a	4,54	0,063	
15-30 cm	MOP	27,9 (4,2)a	35,2 (19,1)a	37,1 (5,0)a	0,27	0,77	
	MOAM	51,4 (5,1)a	49,0 (5,2)a	50,2 (9,8)a	0,06	0,94	

Tabla Suplementaria 2: Respiración microbiana potencial acumulada (g CO kg^{-1} suelo) luego de 13 semanas de incubación, para los **suelos control** y con **agregado de hojarasca**, para la profundidad **0-5 cm** y **15-30 cm** (valores medios (ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y p. Letras diferentes indican diferencias significativas entre profundidades.

CO acumulado liberado por respiración	Profundidad (cm)		F	p
	0-5	15-30		
Control	3,29 (0,15)a	0,73(0,09)b	175,52	0,0009
Agregado de hojarasca	5,27 (0,36)a'	4,05 (0,11)b'	11,99	0,04

Tabla Suplementaria 3: Contenido de carbono orgánico ($\text{gCO en MOAM kg}^{-1}$ suelo) en la fracción fina del suelo para las profundidades **0-5 cm**, **5-15 cm** y **15-30 cm** (valores medios(ee); n=4). Se muestran los estadísticos F y P. Letras diferentes indican diferencias significativas en el contenido de Carbono orgánico entre las distintas profundidades.

CO en la fracción fina del suelo (gCO en MOAM kg^{-1} fracción)	Profundidad (cm)			F	p
	0-5	5-15	15-30		
	65,30 (3,84)a	46,93 (2,28)b	34,14 (1,95)c	32,54	<0,0001