

Aporte de la fijación biológica de nitrógeno a la emisión de N₂O desde el suelo con cultivo de soja

Vanina R.N. Cosentino^{1,2,*}, Lucrecia Noemí Brutti^{1,2}, Gabriela Civeira¹ y Miguel A. Taboada^{1,3}

Introducción

El óxido nitroso (N₂O) es el principal gas de efecto invernadero (GEI) emitido desde el sector agrícola y posee un poder de calentamiento global 310 veces mayor al del CO₂ para un marco de periodo de 100 años (IPCC, 2006). La producción biológica del N₂O en el suelo se genera por dos vías: la nitrificación y la desnitrificación. Ambos procesos microbianos se encuentran afectados por la disponibilidad de nitrógeno (N), la temperatura, el contenido hídrico y la concentración de oxígeno (O₂) en el suelo, entre otros factores (Jensen et al., 2012).

La soja (*Glycine max* L. Merrill.) es el principal cultivo de la Argentina, con una superficie sembrada que supera las 18 millones de hectáreas y una producción de 48.8 millones de toneladas para la campaña 2010/11 (INDEC, 2014). Actualmente, la emisión de un GEI como el N₂O, presenta elevada relevancia político-económica para nuestro país. Dado que Argentina es un país productor y exportador de commodities y biodiesel de soja, las medidas impuestas sobre este cultivo por la Unión Europea y sus estados miembros afectan la importación y comercialización del cultivo de soja desde países como el nuestro. Esto ocurre, mediante las Directivas 2009/30/CE y 98/70/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, a partir de las cuales se introduce un mecanismo para controlar y reducir las emisiones de GEI, que incluyen la cuantificación de la emisión de N₂O a partir del cultivo de soja (European Commission, 2013).

Por otra parte, a diferencia de los cultivos no leguminosos, en los cuales el aporte de fertilizantes nitrogenados es una fuente importante de emisión de N₂O, en los leguminosos como la soja se considera que la emisión proviene principalmente de la descomposición de sus residuos, del proceso de rizodeposición y del proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN) (Jensen, 1996). Este último proceso era considerado hasta hace poco un factor de emisión de N₂O (IPCC, 1996), pero el mismo IPCC lo ha excluido de sus directrices de inventario a partir de las normas IPCC (2006). Ello se debió a que se consideró que no había evidencia científica suficiente para incluir a la FBN como fuente de N₂O (Rochette y Janzen, 2005; Yang y Cai, 2005). Sin embargo, Cosentino et al. (2013) observaron, en un ensayo realizado a campo, tasas de emisión de N₂O desde el cultivo de soja en el estadio cercano a floración que no pudieron ser explicadas por las principales variables reguladoras de la emisión de N₂O (concentración de NO₃⁻, porcentaje del espacio poroso lleno de agua y temperatura). Este resultado generó la

necesidad de buscar las causas de este incremento en la emisión de N₂O durante este estadio del cultivo.

El proceso de FBN puede participar en la emisión de N₂O desde la zona cercana a la raíz, dado a que aumenta el contenido de N en el suelo que queda disponible y puede ser liberado a la atmósfera como N₂O (Snyder et al., 2009). El proceso de FBN comienza aproximadamente 30 días después de la siembra, aumenta hasta alcanzar su máximo aporte durante el periodo reproductivo y cae durante el llenado de grano (Zapata et al., 1987). Sey et al. (2010) observaron que el 78% de las emisiones de N₂O emitidas durante el ciclo de vida del cultivo de soja ocurre durante la etapa de crecimiento vegetativo.

En la actualidad se continua discutiendo si el proceso de FBN aumenta o no la emisión de N₂O desde la rizósfera de los cultivos leguminosos (Rochette y Janzen, 2005; Jantalia et al., 2008; Jensen et al., 2012). Más aún, existe controversia acerca del grado de verosimilitud de la emisión de N₂O desde cultivos leguminosos, calculadas usando los factores de emisión por defecto del IPCC (IPCC, 1996, 2001). Es por ello que es relevante saber en qué medida esta metodología sobrestima o subestima los valores de emisión de N₂O. El objetivo del presente trabajo fue analizar comparativamente la emisión de N₂O desde cultivos de soja con y sin FBN, para dar respuesta al interrogante planteado por resultados previos observados por Cosentino et al. (2013), quienes observaron alta emisión de N₂O desde el suelo con cultivo de soja, en el estadio cercano a la floración.

Materiales y métodos

Sitio experimental y muestreo

Se trabajó en el campo experimental del INTA Castelar, provincia de Buenos Aires, Argentina (34° 36' 49" S, 58° 39' 31" O) en cultivos de soja sembrados en un suelo Argiudol Vértico de la Serie Hurlingham. El suelo de estudio esta compuesto por un horizonte A de 19 cm de profundidad, el cual presenta estructura en bloques subangulares, gruesos, débiles que se deshacen bajo leve presión en agregados granulares finos, porosos. La textura superficial del suelo es franco arcillo limosa (30% arcilla, 49% de limo y 21% de arena), con un porcentaje de carbono orgánico de 2.29% en el horizonte A, seguido de un horizonte BA que va desde los 19 a los 30 cm, un horizonte Bt1 entre los 30 y 60, seguido de un Bt2 entre los 60 y los 90 cm, un horizonte BC que se extiende desde los 90 hasta los 125 cm y finalmente un horizonte Ck entre los 125 y los 145 cm (Castiglioni et al., 2005).

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

² Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (FAUBA)

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

* Autor de contacto. Correo electrónico: cosentino.vanina@inta.gob.ar

Se realizó un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, cuyos tratamientos fueron dos variedades de soja genéticamente modificadas (tratamientos): variedad nodulante (LAE 0176403) y variedad no nodulante (LAE 0176402). La siembra se realizó el 27 de octubre de 2011, con una densidad aproximada de 40 plantas m⁻², y se regó al momento de la siembra para homogeneizar la emergencia de las plántulas. En los casos en que fue necesario, el cultivo fue regado y se realizaron las prácticas de manejo necesarias para evitar la pérdida total o parcial del cultivo por adversidades fitosanitarias. Con el fin de evitar el aporte de la emisión de N₂O por la descomposición, tanto de la parte aérea como de las raíces, el ensayo se finalizó antes del estadio de madurez fisiológica (R₇) ya que esta etapa suele estar acompañada de la caída de las hojas.

Para la determinación de emisiones de N₂O, se trabajó con cámaras cerradas, no ventiladas rectangulares de 0.13 m² de área y 0.13 m de altura. De acuerdo con los criterios de Rochette y Eriksen-Hamel (2008), las cámaras están formadas por dos partes: i) una base de hierro, la cual fue anclada al suelo 24 h antes de realizar la colecta del gas y con una inserción al suelo mayor a 5 cm, y ii) una parte plástica (la cámara propiamente dicha) que se coloca al momento de la toma de las muestras y es removida una vez terminada la colecta del N₂O.

Las cámaras fueron ubicadas a una distancia aproximada de cinco metros entre sí y colocadas de manera tal de obtener de N₂O procedentes tanto del surco como del entresurco del cultivo. Del interior de cada una de las cámaras se tomaron tres muestras de N₂O para calcular la emisión y verificar la linealidad en la misma. Las muestras de N₂O fueron extraídas utilizando una bomba de vacío a los 0, 20 y 40 minutos luego de la colocación de la parte superior de la cámara (cámara plástica). Las muestras de N₂O fueron luego inyectadas en viales (frascos sellados) de 25 mL. Las mediciones de flujo fueron realizadas por triplicado dentro de cada tratamiento. Las muestras de N₂O fueron colectadas en el horario de la mañana (9 - 12 a.m.), ya que mejor representa la emisión de N₂O media diaria para la zona de estudio (Cosentino et al., 2012).

Determinaciones

La concentración de N₂O dentro de cada frasco fue determinada mediante el uso de un cromatógrafo de gases GC 6890 Agilent Technologies Network (Agilent Network GC System, ÁECD). El flujo de N₂O desde el suelo hacia la atmósfera se calculó mediante la siguiente **Ec. 1**:

$$f = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{m}{V_m} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde $\Delta C/\Delta t$ es el cambio en la concentración de N₂O dentro la cámara durante el tiempo de incubación (Δt), V es el volumen de la cámara (16.7 dm³), A es el área

de suelo cubierta por la cámara (0.13 m²), m es el peso molecular de N₂O y V_m es el volumen molar N₂O. El flujo de gas se calculó como el incremento en la concentración de N₂O durante el periodo de incubación.

Conjuntamente con la toma del gas, se midió la temperatura del aire a la sombra sobre la superficie del suelo y la temperatura del suelo cercano a las cámaras a los 0.10 m de profundidad. Luego del muestreo del N₂O, se colectaron muestras de suelo al costado de las cámaras para determinar la concentración de N-NO₃⁻ por colorimetría (Keeney y Nelson, 1982), luego de la reducción del nitrato a nitrito a partir de la extracción con una solución de CuSO₄ (Jackson, 1958) sobre las muestras de suelo húmedo. Se determinó la densidad aparente (Dap) por el método del cilindro (100 cm³, 0.05 m de diámetro) y el contenido hídrico gravimétrico (CHg) por secado en estufa a 105 °C. A partir de los valores de Dap y densidad de partícula (Dp) se calculó la porosidad total (PT), suponiendo una Dp de 2.65 Mg m⁻³ y el contenido de hídrico volumétrico (CHv) usando las **Ec. 2 y 3**.

$$PT (\%) = 1 - (Dap / Dp) * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

$$CHv (\%) = CHg * Dap * 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

El porcentaje del espacio poroso lleno de agua (EPLLA, %) se calculó a partir de los valores de PT y CHv utilizando la **Ec. 4**.

$$EPLLA (\%) = PT (\%) / CHv (\%) \quad (\text{ec. 4})$$

Se realizó un análisis de regresión para verificar la linealidad de la emisión de N₂O desde el suelo durante el tiempo de muestreo del gas. Se realizaron regresiones lineales de la emisión de N₂O en función del contenido de nitrato del suelo y del EPLLA, y se analizaron las diferencias entre medias por medio de sus varianzas (ANOVA). Todos los análisis se realizaron mediante la utilización del programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2010).

Resultados

Previo a la realización del primer muestreo se corroboró la presencia de nódulos en las plantas correspondientes al tratamiento nodulante, y su ausencia en las no nodulantes. Los tratamientos no presentaron diferencias visibles en el tamaño de las plantas y estadio fenológico hasta los 54 días después de la siembra (DDS). Las diferencias recién comenzaron a percibirse a partir de los 75 DDS, momento en que las plantas correspondientes al tratamiento nodulante presentaron mayor tamaño y una coloración verde más intensa.

El suelo del ensayo presentó un valor de Dap de 1.43 Mg m⁻³, el cual fue significativamente ($p < 0.05$) superior al observado en suelos cercanos no cultivados (1.2 Mg m⁻³). El EPLLA siempre superó el 40% y no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). La temperatura del suelo siempre superó los 22 °C (**Figura 1**). La altura promedio final para el cultivo de soja nodulante

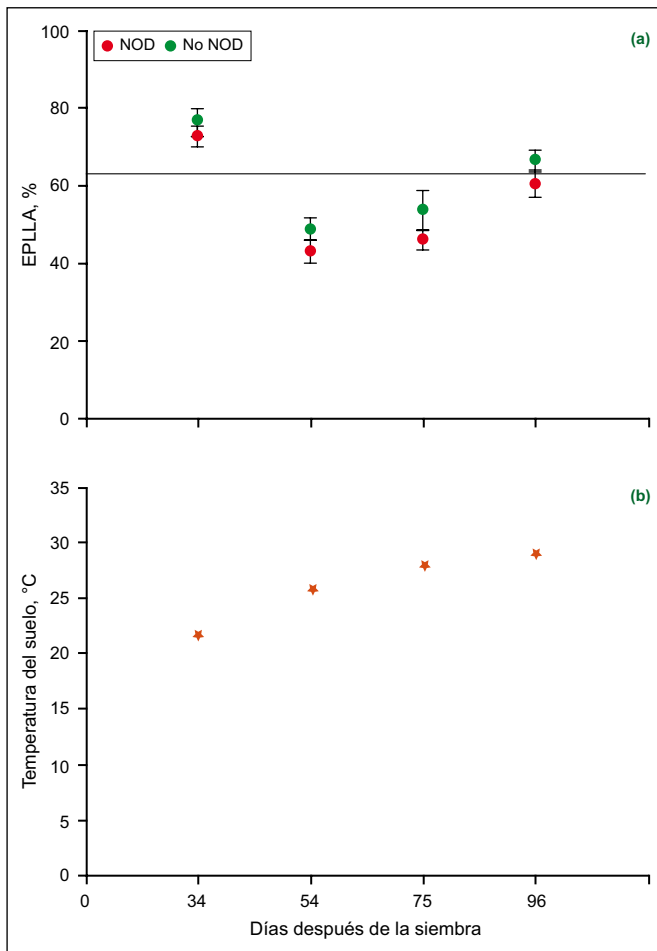


Figura 1. (a) Espacio poroso lleno de agua (EPLLA) expresado en porcentaje en plantas nodulantes (círculos llenos) y en no nodulantes (círculos vacíos) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. La línea continua representa el 65 % del EPLLA, (b) Temperatura del suelo para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. Las barras verticales representan el desvío estándar.

fue 0.8 m, llegando a cubrir por completo el entresurco, mientras que la del cultivo de soja no nodulante fue de 0.7 m y no cubrió completamente el entresurco.

La concentración de $N-NO_3^-$ del suelo disminuyó en ambos tratamientos hasta los 75 DDS. A partir de ese momento, la concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo con cultivo nodulante se mantuvo constante hasta la cuarta fecha de muestreo (96 DDS), mientras la concentración de $N-NO_3^-$ del suelo con cultivo no nodulante continuó disminuyendo (**Figura 2**).

La emisión de N_2O varió entre 15 y $-9 \mu g N_2O-N m^{-2} h^{-1}$. Sólo a los 96 DDS se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la emisión de N_2O entre los tratamientos, con valores de emisión mayores en el tratamiento con planta no nodulantes (**Figura 3**).

La emisión de N_2O presentó una relación positiva y significativa ($p > 0.05$) con la concentración de $N-NO_3^-$ del suelo para el tratamiento con cultivo nodulante ($R^2 = 0.46$), no así con el cultivo no nodulante (**Figura 4**). En el caso de EPLLA, hubo una relación positiva con la emisión de N_2O

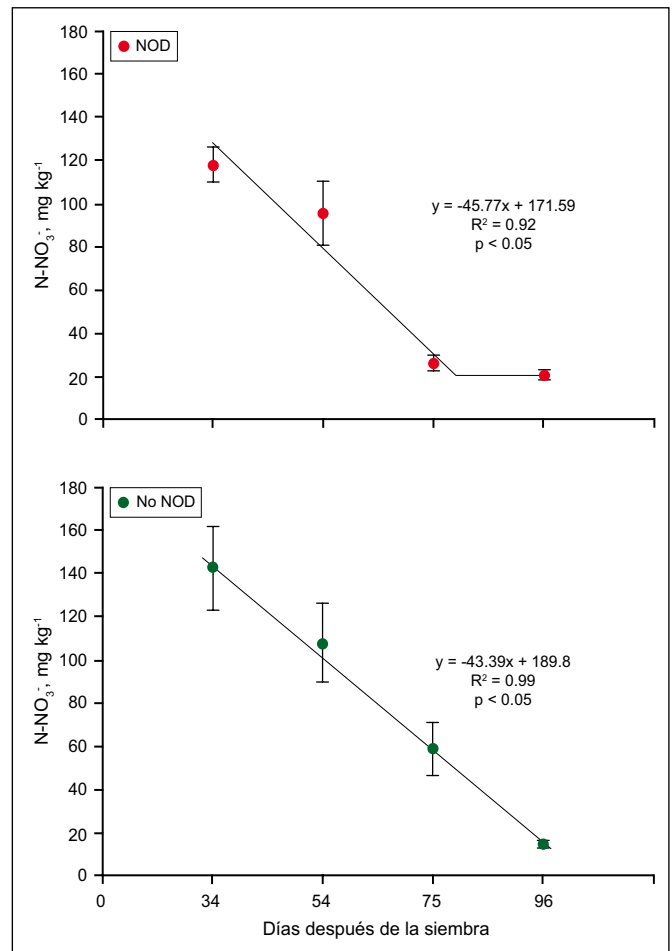


Figura 2. Concentración de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo en plantas nodulantes (círculos rojos) y en no nodulantes (círculos verdes) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. Las barras verticales representan el desvío estándar.

para el tratamiento nodulante ($R^2 = 0.318$), y una relación positiva y significativa ($p > 0.05$) con el tratamiento no nodulante ($R^2 = 0.71$, **Figura 5**).

Discusión

A excepción de la última fecha de muestreo, donde el tratamiento con cultivo no nodulante emitió más N_2O que el tratamiento con cultivo nodulante, los valores de emisión de N_2O del presente ensayo no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Esto indica que la presencia de nódulos fijadores per se no afectó la cantidad de N_2O emitida durante el crecimiento del cultivo de soja. Estos resultados difieren de los hallados por Ghosh et al. (2002), quienes observaron mayor emisión de N_2O desde cultivos leguminosos en relación a cultivos no leguminosos. Esta mayor emisión de N_2O fue atribuida a la presencia de exudados ricos en N que estimulan la actividad microbiana y promueven el consumo de oxígeno, generando así micrositios de anaerobiosis temporal en el suelo que favorecen el proceso de desnitrificación (Siddique et al., 2012). Ello no sucedió en el presente ensayo, en el cual la utilización de plantas de soja no nodulante permite asemejar su comportamiento respecto al N a las especies no leguminosas.

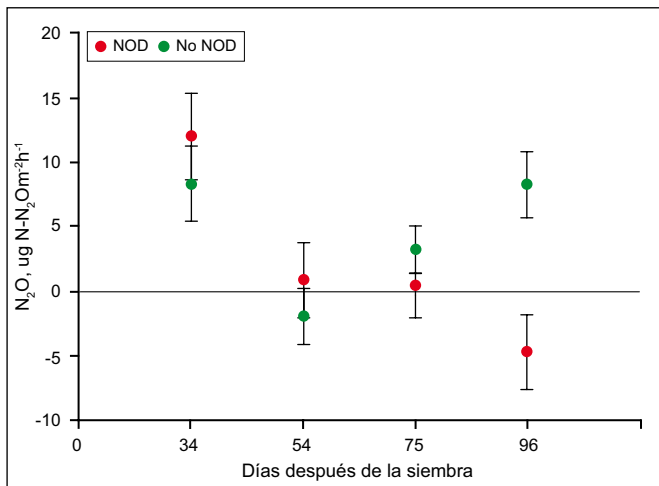


Figura 3. Emisiones de óxido nitroso (N₂O) en plantas nodulantes (círculos rojos) y no nodulantes (círculos verdes) para las cuatro fechas de muestreo en días después de la siembra. La línea horizontal representa la emisión nula. Las barras verticales representan el desvío estándar.

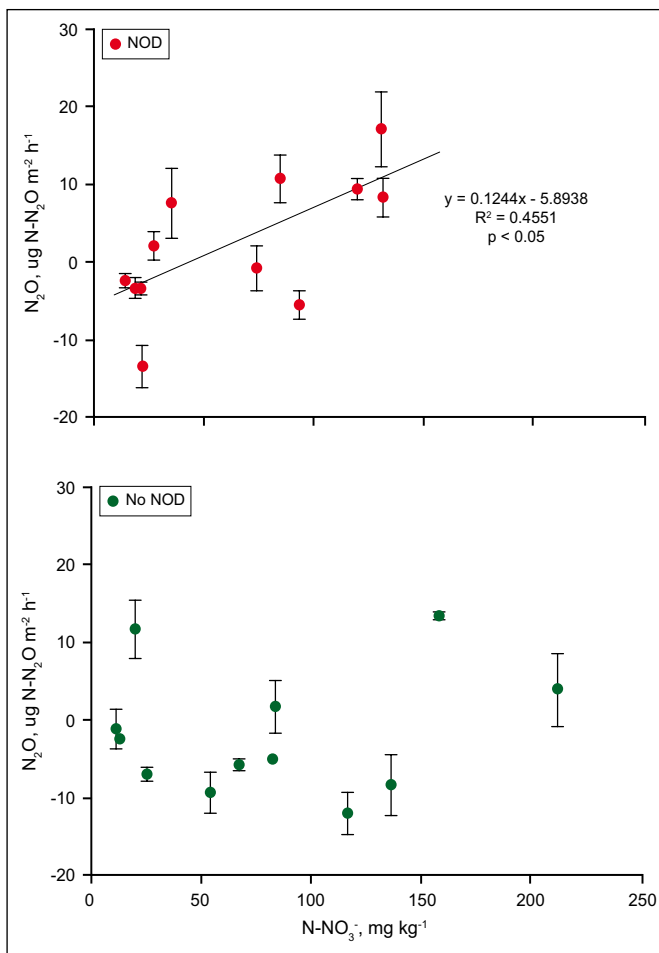


Figura 4. Emisiones de óxido nitroso (N₂O) en función de la concentración de N-NO₃⁻ en plantas nodulantes (círculos rojos) y no nodulantes (círculos verdes).

Los resultados del presente ensayo se asemejan a lo hallado por Alves et al. (Alves comunicación personal en Jensen et al., 2012) en otro ensayo comparativo de soja nodulante versus no nodulante. En ambos ensayos, la emisión de N₂O fue baja y estadísticamente similar entre los tratamientos. En el mismo sentido, Jantalia et al. (2008) monitorearon

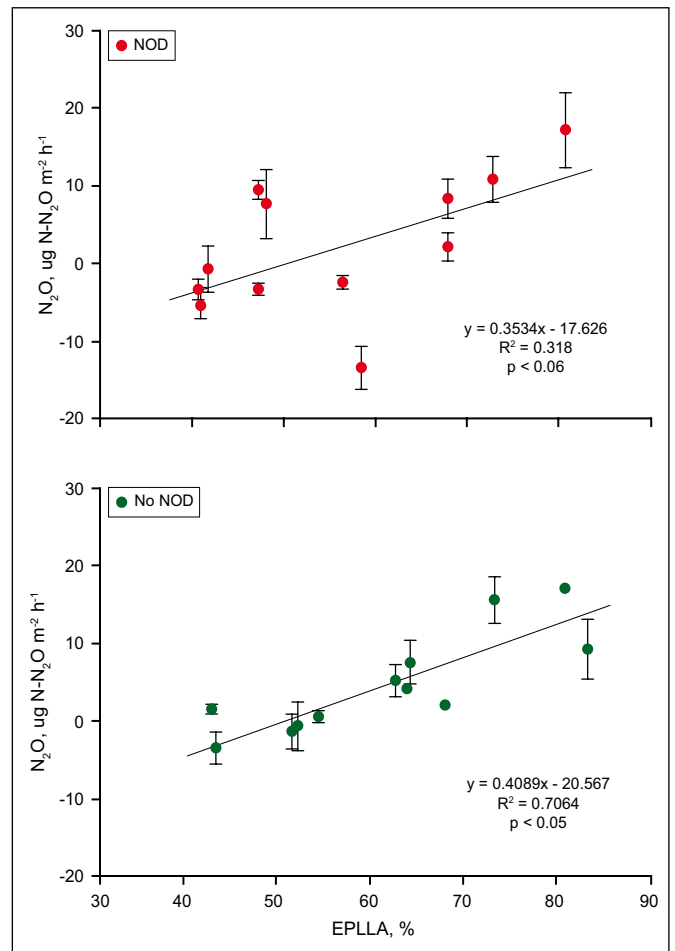


Figura 5. Emisiones de óxido nitroso (N₂O) en función del porcentaje de espacio poroso lleno de agua (EPLLA) en plantas nodulantes (círculos rojos) y no nodulantes (círculos verdes).

dos sistemas diferentes de doble cultivo invierno-estival a lo largo de dos años consecutivos. Estos autores observaron que la emisión de N₂O a partir de la secuencia con doble cultivo leguminoso (soja-arveja) fue baja y similar a la proveniente de la secuencia maíz-trigo. Los autores Yang y Cai (2005), quienes también evaluaron la emisión de N₂O durante el ciclo del cultivo de soja, mostraron que más del 90% de la emisión de N₂O es producida durante la estación de crecimiento principalmente durante el periodo cercano a la madurez fisiológica del cultivo. Estos autores propusieron que la emisión de N₂O posiblemente proviene del N liberado por los nódulos y las raíces en descomposición, y no por la FBN.

Los valores de emisión de N₂O observados en el presente ensayo fueron menores a los observados por Cosentino et al. (2013) en un suelo de textura franca y con mejor calidad estructural. Una posible explicación a la baja emisión de N₂O desde el suelo de estudio puede hallarse en la elevada compactación del suelo. En efecto, puede afirmarse que un valor de Dap = 1.40 Mg m⁻³ equipara los valores de densidad máxima Proctor determinados en suelos de textura y calidad similar al estudiado (Micucci y Taboada, 2006), mostrando la existencia de compactación del suelo estudiado. Esta compactación del suelo lleva a cambios en la proporción de los diferentes tamaños de

poros (i.e. aumento de la mesoporosidad a expensas de la macroporosidad, Hill et al., 1985). Esta pérdida de macroporos o poros estructurales afecta la capacidad de difusión del gas dentro del suelo, la cual está relacionada con el factor de impedancia, dependiente del tamaño, la forma y la orientación de los poros en el suelo (Taylor y Brar, 1991; Fen et al., 2009). El flujo de un gas entre el suelo y la atmósfera es el resultado de tres procesos básicos: la producción, el consumo y el transporte (Conrad, 1996). Por esto, podría pensarse que la falta de poros estructurales podría haber reducido la velocidad a la cual el N_2O se movió desde el suelo hacia la atmósfera, dejándolo disponible dentro del suelo para ser reducido a N_2 por la enzima nitroso-reductasa, lo que podría explicar por qué se observaron valores de emisión de N_2O menores que los esperados. Dado que la Dap no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, no existe evidencia para pensar que la compactación afectó diferencialmente los resultados.

En el tratamiento con soja nodulante, la concentración de $N-NO_3^-$ del suelo explicó parcialmente la emisión de N_2O ($R^2 = 0.46$, $p < 0.05$, **Figura 4**). Esta relación positiva entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ también fue descrita por McSwiney y Robertson (2005), quienes observaron una respuesta similar bajo condiciones de campo en un ensayo fertilizado. También se observó una relación positiva entre la emisión de N_2O y el EPLLA (**Figura 5**), con valores de $R^2 = 0.70$ y $p < 0.05$ para el cultivo de soja nodulante y de $R^2 = 0.32$ y $p < 0.056$ para no nodulante. Estos resultados concuerdan con lo observado por otros autores en condiciones de invernáculo (Shelton et al., 2000; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern, 2004) y de campo (Almaraz et al., 2009). Pero se oponen a lo observado por Jantalia et al. (2008) en un ensayo realizado a campo, quienes encontraron una relación negativa entre la emisión de N_2O y el EPLLA.

La emisión de N_2O fue baja en todo el ensayo, sin diferencias entre tratamientos excepto para la última fecha de muestreo (96 DDS) (**Figura 3**). Cuando el EPLLA del suelo supera el 60%, comienza a cobrar importancia el proceso de desnitrificación en detrimento de la nitrificación, como fuente de emisión de N_2O (Linn y Doran, 1984). La desnitrificación alcanza un máximo cuando el EPLLA supera el valor crítico de 65% (Clayton et al., 1997), nivel a partir del cual pequeñas diferencias en el contenido hídrico del suelo pueden derivar en importantes diferencias en la emisión de N_2O (Bateman y Baggs, 2005). Ello pudo haber sucedido en la última fecha de muestreo (96 DDS), cuando el valor de EPLLA fue cercano a ese valor crítico y además ligeramente mayor en el suelo con el tratamiento con cultivo no nodulante. Es posible que el mayor EPLLA en el tratamiento con soja no nodulante haya causado emisiones de N_2O significativamente más altas en este tratamiento, aun cuando los valores en bruto de emisión de N_2O fueron bajos. Resultados similares fueron observados por Bateman y Baggs (2005), con valores de emisión de N_2O hasta 10 veces más elevadas cuando el

EPLLA del suelo aumento de 60% a 70%, hecho atribuido al proceso de desnitrificación. Estos resultados coinciden con lo recomendado por las últimas directrices de IPCC (2006) y cuestionan la decisión de cargar con más emisión de N_2O al cultivo de soja.

Conclusión

En el presente trabajo, en que se analizó comparativamente la emisión de N_2O desde cultivos de soja con y sin FBN, la soja nodulante no emitió mayor cantidad de N_2O que la no nodulante. En consecuencia, la presencia de nódulos fijadores per se no afectó la cantidad de N_2O emitida durante el crecimiento del cultivo de soja.

Bibliografía

- Almaraz, J.J., X. Zhou, F. Mabood, C. Madramootoo, P. Rochette, B.L. Ma y D.L. Smith. 2009. Greenhouse gas fluxes associated with soybean production under two tillage systems in southwestern Quebec. *Soil y Tillage Research*. 104(1):134-139.
- Bateman, E.J., y E.M. Baggs. 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N_2O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biology and Fertility of Soils*. 41:379-388.
- Castiglioni, M.G., H.J.M. Morrás, y O.J. Santanatoglia. 2005. Influencia de la organización y composición del espacio poroso y la matriz en la dinámica hídrica de distintos argiudoles de la Pampa Ondulada. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados de la Facultad de agronomía de la UBA. 17-19.
- Clayton, H., I.P. McTaggart, J. Parker, L. Swan, y K.A. Smith. 1997. Nitrous oxide emissions from fertilised grassland: A 2-year study of the effects of N fertiliser form and environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 25(3):252-260.
- Conrad, R. 1996. Soil Microorganisms as Controllers of Atmospheric Trace Gases (H_2 , CO, CH_4 , OCS, N_2O and NO). *Microbiological Reviews*. 60:609-640.
- Cosentino, V.R.N., P.L. Fernandez, S.A. Figueiro Aureggi, y M.A. Taboada. 2012. N_2O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 36:1814-1819.
- Cosentino, V.R.N., S.A. Figueiro Aureggi, y M.A. Taboada. 2013. Hierarchy of factors driving N_2O emissions in non-tilled soils under different crops. *European Journal of Soil Science*. 64(5):550-557.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, y M.G. Balzarini. 2010. Infostat v2010. Grupo Infostat FCA, Univ. Nacional de Córdoba, Argentina.
- European Commission. 2013. Assessing GHG default emissions from biofuels in EU legislation. JRC Scientific and Policy Reports. Review of the input database to calculate 'Default GHG emissions', following expert consultation, 22–23 November 2011, Ispra (Italy).

- Fen, C.S., Y. Huang, y J.L. Chen. 2009. Experimental study of gas transport parameters in unsaturated silica flour. *Vadose Zone Journal*. 8(2):373-382.
- Ghosh, S., D. Majumdar, y M.C. Jain. 2002. Nitrous oxide emissions from kharif and rabi legumes grown on an alluvial soil. *Biology and Fertility of Soils*. 35(6):473-478.
- Hill, R.L., R. Horton y R.M. Cruse. 1985. Tillage Effects on Soil Water Retention and Pore Size Distribution of Two Mollisols1. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49(5):1264-1270.
- INDEC. 2014. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.indec.gov.ar>. Acceso: 1-4-2014.
- InfoStat. 2010. InfoStat Versión 2010 Software (Córdoba, Argentina): Universidad Nacional de Córdoba, Fac. de Cs. Agropecuarias. Grupo InfoStat.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 1996. Guidelines for national Greenhouse Gas Inventories. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs2.html>.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2001. Climate Change: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Published for the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press. .
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories. Volume 4. Agriculture, forestry and other land use (<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4html>).
- Jackson, M.L. 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Jantalia, C.P., H.P. dos Santos, S. Urquiaga, R.M. Boddey, y B.J.R. Alves. 2008. Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 82:161-173.
- Jensen, E.S. 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology y Biochemistry*. 28(1):65-71.
- Jensen, E.S., M.B. Peoples, R.M. Boddey, P.M. Gresshoff, H. Hauggaard-Nielsen, B.J.R. Alves, y M.J. Morrison. 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32(2):329-364.
- Keeney, D.R., y D.W. Nelson, 1982, Nitrogen-Inorganic Forms, In: Page, AL, RH Millery DR Keeney (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2.* . American Society of Agronomy - Soil Science Society of America Madison, Wisconsin, pp. 643-698.
- Linn, D.M., y J.W. Doran. 1984. Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 48(6):1267-1272.
- McSwiney, C.P., y G.P. Robertson. 2005. Nonlinear response of N₂O flux to incremental fertilizer addition in a continuous maize *Zea mays* L. cropping system. *Global Change Biology*. 11:1712-1719.
- Micucci, F.G., y M.A. Taboada. 2006. Soil physical properties and soybean (*Glycine max*, Merrill) root abundance in conventionally-and zero-tilled soils in the humid Pampas of Argentina. *Soil and Tillage Research*. 86:152-162.
- Rochette, P., y N.S. Eriksen-Hamel. 2008. Chamber measurements of soil nitrous oxide flux: are absolute values reliable? *Soil Science Society of America Journal* 72:331-342.
- Rochette, P., y H. Janzen. 2005. Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 73(2):171-179.
- Schindlbacher, A., y S. Zechmeister-Boltenstern. 2004. Effects of soil moisture and temperature on NO, NO₂, and N₂O emissions from European forest soils. *Journal of Geophysical Research*. 109(D17):D17302.
- Sey, B., A. Manceur, J. Whalen, E. Gregorich, y P. Rochette. 2010. Root-derived respiration and nitrous oxide production as affected by crop phenology and nitrogen fertilization. *Plant Soil*. 326(1-2):369-379.
- Shelton, D.R., A.M. Sadeghi, y G.W. McCarty. 2000. Effect of Soil Water Content on Denitrification During Cover Crop Decomposition. *Soil Science*. 165(4):365-371.
- Siddique, K.M., C. Johansen, N. Turner, M.H. Jeuffroy, A. Hashem, D. Sakar, Y. Gan, y S. Alghamdi. 2012. Innovations in agronomy for food legumes. A review. *Agronomy for sustainable development*. 32(1):45-64.
- Snyder, C.S., T.W. Bruulsema, T.L. Jensen, y P.E. Fixen. 2009. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 133(3-4):247-266.
- Taylor, H.M., y G.S. Brar. 1991. Effect of soil compaction on root development. *Soil and Tillage Research*. 19(2-3):111-119.
- Yang, L., y Z. Cai. 2005. The effect of growing soybean (*Glycine max*. L.) on N₂O emission from soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 37(6):1205-1209.
- Zapata, F., S.K.A. Danso, G. Hardarson, y M. Fried. 1987. Time Course of Nitrogen Fixation in Field-Grown Soybean Using Nitrogen-15 Methodology. *Agron. J.* 79(1):172-176.