



# XXIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo

*Suelos... Huellas del pasado, desafíos del futuro*

San Fernando del Valle de Catamarca,  
Prov. de Catamarca, Argentina  
21 al 24 de mayo de 2024



**AACCS**  
ASOCIACION ARGENTINA  
CIENCIA DEL SUELO

## EFFECTO DE CULTIVOS CONSOCIADOS SOBRE PROPIEDADES MICROBIOLÓGICAS Y QUÍMICAS EN UN HAPLUSTOL TÍPICO DE CÓRDOBA

**Boccolini, M.<sup>1\*</sup>, Mengo, M.<sup>2</sup>, Baretto, J.<sup>2</sup>, Murua, J.<sup>2</sup>, Lardone, A.<sup>3</sup>, Conde, B.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>AER INTA, Mitre 656 (5800) Río Cuarto, Prov. de Córdoba, [boccolini.monica@inta.gob.ar](mailto:boccolini.monica@inta.gob.ar);

<sup>2</sup>Estudiante Ing. Agronómica, UNRC; <sup>3</sup>Asesor privado, (5800) Río Cuarto, Prov. de Córdoba;

<sup>4</sup>EEA INTA Marcos Juárez, Ruta Provincial 12 km 1.5 (2580) Marcos Juárez, Prov. de Córdoba.

**RESUMEN:** La inclusión de cultivos de cobertura (CC) de mezclas gramíneas con leguminosas suministran elevadas cantidades de N, estimulando altas tasas de mineralización por acción de una comunidad microbiana más diversa que captura más C y N en las fracciones estables de la materia orgánica (MO) del suelo. El objetivo fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos antecesores con CC a maíz tardío, en parámetros microbiológicos y químicos del suelo. El estudio se desarrolló sobre un Haplustol típico serie Río Cuarto y se inició en 2023 en una rotación Soja/CC/Maíz. Se establecieron tres tratamientos con CC y sin, un Barbecho (B). Los CC utilizados fueron Centeno (C), Avena (A) y una mezcla de Vicia +Centeno (V+C). Se realizaron dos muestreos, uno de biomasa vegetal de los CC y otro de suelo posterior al secado de las coberturas hasta los 20 cm de profundidad. Las variables microbiológicas determinadas fueron: Carbono de la biomasa microbiana (CBM), Respiración microbiana (RM), Coeficiente metabólico (qMet.), Coeficiente microbiano (qMic.), Hidrólisis de fluoresceína diacetato (FDA) y las químicas; C y N de la biomasa vegetal; Acidez (pH), Carbono orgánico total y particulado (COT y COP) de suelo. Los resultados mostraron que el CBM y COT del suelo respondieron con un aumento significativo a los tratamientos B y antecesor A+C, cuyos residuos aportan más N y se encontraban en avanzado estado de descomposición al momento del muestreo. Este estudio permitió concluir que el parámetro microbiológico más sensible al manejo con coberturas fue el carbono presente en la biomasa de los microorganismos del suelo, mientras que los químicos fueron el carbono orgánico total y pH del suelo. Los beneficios de la inclusión de CC estuvieron determinados principalmente por la consociación vicia+centeno.

**PALABRAS CLAVE:** cultivos de cobertura, biomasa microbiana, carbono del suelo.

### INTRODUCCION

El avance de la agricultura y la implementación de sistemas de labranza conservacionistas impulsaron el estudio de nuevas estrategias de uso de los cultivos invernales anuales en la rotación a base de gramíneas y leguminosas, como la incorporación de “cultivos de cobertura” (CC) (Quiroga et al., 2009). Los CC representan una estrategia de manejo potencial para incrementar el imput de Carbono (C) y Nitrógeno (N) en el suelo a través de los residuos aéreos y de raíces (Frasier et al., 2016b). Los residuos de CC liberan los nutrientes contenidos en la biomasa aérea y radical de las plantas, proporcionando energía a las comunidades microbianas contribuyendo con una rizósfera activa y continua todo el año, mejorando la fertilidad y salud del suelo (Ruffo y Parsons, 2004). La microbiota alcanza su máxima capacidad de carga por la inclusión de CC (Frasier et al., 2016b). Esta capacidad de carga depende entre otras condiciones, de la calidad de los residuos (Gómez et al., 2020). En general, las gramíneas aportan residuos de 0,9 a 1,3% de N con relaciones C/N elevadas y baja calidad. Por el contrario, las leguminosas pueden presentar una concentración de N superior al 2%, logrando relaciones C/N de 12-16 (Decker et al., 1994) de alta calidad. Así, la

Organizado por:



**AACCS**  
ASOCIACION ARGENTINA  
CIENCIA DEL SUELO



**UNCA**  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CATAMARCA



**FCA**



**INTA** Instituto Nacional de  
Tecnología Agropecuaria

tasa de descomposición de los residuos es inversamente proporcional a su relación C/N (Fernández et al., 2020), y esto determina la duración del proceso de descomposición, la persistencia de los residuos y la dinámica de la materia orgánica (MO) con efectos en la disponibilidad de N para el cultivo subsiguiente (Fernández et al., 2020). La inclusión de CC de mezclas gramíneas con leguminosas suministran elevadas cantidades de N, estimulando altas tasas de mineralización a través de una comunidad microbiana más diversa que captura más C y N en las fracciones estables de la MO del suelo (Frasier et al., 2016b). El objetivo fue evaluar el efecto de diferentes CC antecesores a maíz tardío, en parámetros microbiológicos y químicos del suelo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se desarrolló sobre un Haplustol típico de textura franco arenosa de la serie Río Cuarto, Río Cuarto (33°09'S, 64°31'W), Provincia de Córdoba. El sitio en el cual se desarrolló la experiencia corresponde a un ensayo de lote representativo situado en el Establecimiento San Beltrán de 96 ha. El estudio se inició en 2023 sobre una rotación soja de primera/CC/maíz tardío.

### **Diseño experimental, tratamientos y muestreos**

Se estableció un diseño en parcelas en bloques aleatorizados con dos repeticiones. En cada repetición se establecieron tres tratamientos correspondientes a CC antecesores a maíz tardío y un Barbecho (B) sin CC. Los CC utilizados fueron Centeno (C) (*Secale cereale* L.), Avena (A) (*Avena strigosa* L.) y una mezcla de Vicia (*Vicia villosa* L.) + Centeno (V+C). La siembra de las coberturas se realizó el 3 de mayo de 2023, sobre antecesor soja de primera. Las densidades de siembra fueron para Centeno 40 kg. ha<sup>-1</sup>; Avena 45 kg. ha<sup>-1</sup> y la mezcla 20 kg Vicia inoculada + 10 kg. ha<sup>-1</sup> de Centeno. No se aplicó fertilización nitrogenada. La detención del crecimiento fue el 15 de septiembre de 2023. Previo a la interrupción del crecimiento de las coberturas, se determinó la producción de biomasa aérea (BA) y de raíces (BR) cuando se encontraban en estadio previo a la floración. El muestreo de raíces se realizó según Frasier et al. (2016a) con barreno tubular de 3,5 cm de diámetro hasta los 20 cm de profundidad. El muestreo de suelo se realizó el 16 de noviembre de 2023, a los 62 días posteriores al secado de las coberturas. Las muestras fueron tomadas hasta los 20 cm de profundidad con barreno tubular de 2,5 cm de diámetro. En cada parcela se extrajeron tres muestras compuestas, las que fueron procesadas y tamizadas por 2 mm para su posterior análisis.

### **Determinaciones químicas y microbiológicas**

El contenido de C del material vegetal se determinó por calcinación, mientras que N según el método Kjeldahl (Bradstreet, 1965). La determinación de COT y COP (Carbono orgánico total y particulado) fue mediante el método Walkley and Black (1934). Las mediciones de pH se realizaron con una relación suelo-agua de 1:2,5 (IRAM, 29410, 1999). El Carbono de biomasa microbiana (CBM) se determinó según el método de fumigación-extracción (Vance et al., 1987). La Respiración microbiana (RM) de suelo según Alef (1995). El coeficiente metabólico (qMet.) resulta del cociente entre RM y CBM (Insam & Haselwandter, 1989). El coeficiente microbiano (qMic.) se calcula del cociente entre CBM y Carbono orgánico (CO) del suelo (Anderson & Domsch, 1993). La actividad enzimática global del suelo fue estimada a través de las enzimas esterasas mediante hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA) (Adam & Duncan, 2001).

### **Análisis estadísticos**

Los datos fueron analizados mediante modelos lineales generales y mixtos. Las diferencias entre medias fueron determinadas mediante LSD Fisher con significancias del 5%. Como herramienta exploratoria se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2020).

## RESULTADOS Y DISCUSION

El aporte de los distintos antecesores CC mediante la producción de biomasa aérea (BA) y de raíces (BR) no cambió significativamente ( $p>0,05$ ) (tabla 1). Sin embargo, las gramíneas acumularon más cantidad en promedio de parte aérea  $3900 \text{ kg ha}^{-1}$  y de raíces  $1900 \text{ kg ha}^{-1}$  con respecto a V+C. Los resultados de BA coinciden con los reportados por Barraco et al. (2021) y Fernández et al. (2020) en suelos franco arenosos.

Tabla 1. Aportes de C y N desde la biomasa aérea (BA) y radical (BR) de los tratamientos con cultivos de cobertura.

Antecesor	BA	BR	CBA	NBA	C/N BA	CBR
	kg. ha <sup>-1</sup>	kg. ha <sup>-1</sup>	C kg. ha <sup>-1</sup>	N kg. ha <sup>-1</sup>		C kg. ha <sup>-1</sup>
Vicia+Centeno	2794,12	1457,27	1313,25	57,25	23	364,33
Avena	4264,70	2093,10	2047,05	51,20	40	586,08
Centeno	3725,49	1831,20	1751,00	52,55	33	549,35

Los valores de C y N en biomasa vegetal tampoco mostraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) (tabla 1). Los valores del contenido de N de la BA de las gramíneas están comprendidos en el rango establecido (Fernandez et al., 2020). Barraco et al. (2021) detectaron valores de N en BA similares a este estudio en centenos fertilizados. El contenido de C de la BR fue en  $A>C>V+C$ ; y si bien son menores a los encontrados Gómez et al. (2020), la inclusión de CC representa un aporte extra de C desde las raíces.

### Propiedades químicas de suelo

La inclusión de CC incrementa los contenidos de COS y COP en superficie (Rubio et al., 2012) por una mayor adición de C al suelo a través de la biomasa aérea y radicular generada. Los diferentes antecesores afectaron significativamente ( $p<0,05$ ) a los valores de COT y pH; mientras que no se detectaron diferencias ( $p>0,05$ ) en la cantidad de COP y humedad de suelo (tabla 2). Los mayores incrementos en el COT fueron detectados en B y V+C con respecto a los antecesores gramíneas, A y C. En coincidencia con este trabajo, Serri et al. (2020) en dos secuencias soja-soja y maíz-trigo/soja no detectaron diferencias sustanciales en el contenido del COS entre las secuencias con y sin CC. En este estudio, el momento de muestreo, cuya principal diferencia radica en la presencia de residuos de cultivos de distinta calidad y diferentes tiempos de degradación, provocó las diferencias observadas. La presencia de residuos con más contenido de N como en B (soja con estado avanzado de descomposición) y V+C (menor C/N de la BA) facilitó la mineralización y, por lo tanto, significó un aporte a la MO del suelo (Frasier et al, 2016b); contrario a lo ocurrido en A y C. La fracción particulada no mostró cambios debido probablemente a la profundidad de muestreo. Los mayores cambios en las fracciones lábiles de la MO derivados de los aportes de CC se dan en los primeros 5 cm de suelo ya que los rastrojos quedan en superficie (Beltran et al., 2016).

El pH mostró cambios significativos ( $p<0,05$ ) por la inclusión de CC (tabla 2). Los tratamientos antecesores A y C presentaron los mayores valores; V+C un valor intermedio, mientras que B, el menor valor. Estos resultados coinciden con los observados por Chavarría et al. (2016b) en sistemas con CC mezclas de avena, vicia y nabo con respecto a monocultivo de soja y una rotación soja/maíz sin coberturas. La disminución del pH en B y V+C con respecto a las gramíneas, puede estar asociada a la mayor concentración de N en los residuos de vicia en la mezcla y en los residuos de soja remanentes del B (Sanchez et al., 1998); lo que desencadena la intensa actividad de los microorganismos descomponedores (Ernst et al., 2002) responsables de la disminución del pH del suelo a medida que se van degradando los tejidos vegetales (Peláez et al., 2008).

## Propiedades microbiológicas de suelo

El CBM fue el único parámetro microbiológico que mostró cambios significativos entre tratamientos ( $p < 0,05$ ) (tabla 2). El mayor valor se registró en el tratamiento B, los intermedios en V+C y A; y el menor en C. Estos resultados pueden ser atribuidos a las condiciones explicadas en la sección anterior. El proceso de mineralización impulsado por los residuos de B y la mezcla V+C, estimuló el crecimiento de la población microbiana lo que produjo un aumento en el COT del suelo. Según Bradford et al. (2013) el crecimiento microbiano se correlaciona positivamente con la acumulación de MO, donde el CBM es la fuente de C lábil más importante de las fuentes carbonadas del suelo. En contraposición, existiría predominio del proceso de inmovilización en C más notorio que en A, asociado a la baja disponibilidad de N, estimulando en menor medida al crecimiento de la población de microbios. Resultados similares en las variables microbiológicas medidas fueron observados por Serri et al. (2022) en muestras de rizósfera, donde no se detectaron cambios significativos en la RM y  $q(\text{Met.})$  y el CBM no se diferenció sustancialmente entre una rotación maíz- trigo/soja con CC y el control. Mientras que Frasier et al. (2016b) en una rotación con sorgo forrajero y Chavarría et al. (2016b) en una rotación soja/maíz observaron un incremento significativo en el CBM por inclusión de CC vs sin CC. Sin embargo, Chavarría et al. (2018), en un estudio posterior realizado con las mismas especies CC y misma rotación no encontraron diferencias significativas en el CBM, RM ni  $q(\text{Met.})$  con respecto al control.

Tabla 2. Efecto de los tratamientos antecesores a maíz tardío en los parámetros microbianos y químicos del suelo. Hidrólisis de fluoresceína diacetato (FDA), Carbono de la biomasa microbiana (CBM), Respiración microbiana (RM), Coeficiente metabólico ( $q(\text{Met.})$ ), Coeficiente microbiano ( $q(\text{Mic.})$ ), Humedad (H), Acidez de suelo (pH), Carbono orgánico total y particulado (COT y COP). Tratamientos: B barbecho, V+C: vicia+centeno, A: avena y C: centeno.

Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos antecesores. \*Indica significancia de  $p < 0,05$ , \*\* Indica significancia de  $p < 0,01$ .

Trat.	COT gr.kg <sup>-1</sup> s	COP gr.kg <sup>-1</sup> s	pH	H %	CBM ugC.grs <sup>-1</sup>	RM μgC- CO <sub>2</sub> .grs <sup>-1</sup> . d <sup>-1</sup>	qMet. ugC-CO <sub>2</sub> ug. CBM <sup>-1</sup> . d <sup>-1</sup>	qMic. %	FDA μg.grs <sup>-1</sup> . h <sup>-1</sup>
B	11,11 <b>a</b>	3,04	6,26 <b>b</b>	22	391,14 <b>a</b>	6,65	0,02	3,68	243,03
V+C	10,78 <b>a</b>	2,56	6,34 <b>ab</b>	22	280,91 <b>ab</b>	4,89	0,03	3,18	241,34
A	9,01 <b>b</b>	3,89	6,38 <b>a</b>	22	277,35 <b>ab</b>	5,85	0,02	2,77	235,49
C	8,86 <b>b</b> **	3,29	6,38 <b>a</b> *	21	163,59 <b>b</b> *	6,79	0,07	1,97	210,17

En el gráfico biplot del ACP (figura 1) se puede observar que la CP1 explicó la mayor variabilidad total de los datos con el 57,5 %, separando los antecesores gramíneas de leguminosas. Los mayores contenidos de COT, CBM,  $q(\text{Mic.})$  y FDA se asociaron a los tratamientos con leguminosas demostrando mayor crecimiento y actividad microbiana y secuestro de C en el suelo cuando existe disponibilidad de N (aportes de baja C/N); mientras que las gramíneas, principalmente centeno se asoció al  $q(\text{Met.})$  y RM, lo que refleja, que bajo condiciones de inmovilización, la población microbiana se mantiene bajo cierto nivel de stress (baja disponibilidad de N, aportes de alta C/N) y con menor eficiencia metabólica impactando negativamente en el secuestro de C del suelo. Además, se observa que la FDA, CBM,  $q(\text{Mic.})$ ,  $q(\text{Met.})$ , pH y COT fueron variables determinantes en la separación de los tratamientos. Resultados similares fueron observados por Chavarría et al. (2016a) para FDA y COT donde presentaron mayor peso en la separación de distintas secuencias agrícolas con y sin CC.

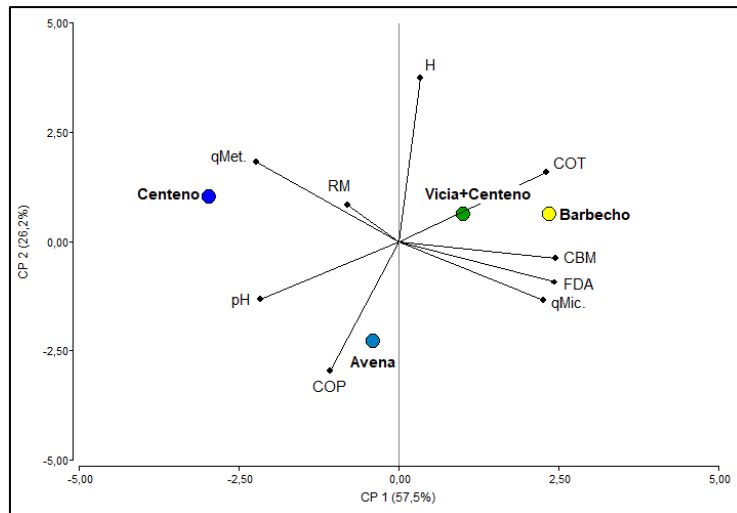


Figura 1. Biplot que muestra la asociación entre los diferentes tratamientos antecesores a maíz tardío con los parámetros de suelo medidos.

## CONCLUSIONES

El parámetro microbiológico más sensible al manejo con coberturas fue el carbono presente en la biomasa de los microorganismos del suelo, mientras que los químicos fueron el carbono total y pH del suelo.

Los beneficios de la utilización de CC estuvieron determinados principalmente por la consociación de vicia+centeno.

## BIBLIOGRAFIA

- Adam, G. & Duncan, H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 943-951.
- Alef, K. (1995). *Soil respiration*. In: K. Alef, and P. Nanninieri (Eds.). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* (pp. 214-219). Academic Press. Harcourt Brace and Company publishers, London U.K.
- Anderson, T.H. & Domsch, K.H. (1989). Ratios of microbial biomass carbon to total Organic-C in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 21, 471-479.
- Barraco, M., Álvarez, C., Girón, P., Rampo, M., Miranda, W. y Lobos, H. M. (2021). Manejo de los Cultivos de Cobertura en secuencia con Maíz tardío. *Memoria técnica*, 30-34, EEA General Villegas, Buenos Aires, Argentina.
- Beltran, J. B., Brutti, L., Romaniuk, R., Bacigaluppo, S., Salvagiotti, F. Sainz Rosas, H y Galantini, J.A. (2016). Calidad de la materia orgánica y disponibilidad de macro y micronutrientes por la inclusión de trigo como cultivo de cobertura. *Ciencia del Suelo*, 34 (1), 67-79.
- Bradford, M.A., Keiser, A. D., Davies, C. A., Mersmann, C. A. & Strickland, M. S. (2013). Empirical evidence that soil carbon formation from plant inputs is positively related to microbial growth. *Biogeochemistry*, 113, 271-281.
- Bradstreet, R. B. (1965). *The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen*. (1<sup>ra</sup> ed.). New York, NY Academic Press Incorporated. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-12545-7>
- Chavarría, D.N., Verdenelli R. A., Muñoz, E.J., Conforto, C., Restovich S.B., Andriulo, AE, Meriles, J. M. & Vargas Gil, S. (2016a). Soil microbial functionality in response to the inclusion of cover crop mixtures in agricultural systems. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14 (2),1-12. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2016142-8395>
- Chavarría, D.N., Verdenelli, R.A., Serri, D.L, Restovich, S.B., Andriulo A.E., Meriles, J.M. & Vargas Gil, S. (2016b). Effect of cover crops on microbial community structure and related enzyme activities and macronutrient availability. *European Journal Soil Biology* 76, 74-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.07.002>

- Chavarría, D.N., Pérez-Brandan C., Serri, D.L., Meriles, J.M., Restovich, S.B., Andriulo, A.E., Jacquelin, L & Vargas-Gil, S. (2018). Response of soil microbial communities to agroecological versus conventional systems of extensive agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 264,1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.008>
- Decker, A.M., Clark, A. J., Meisinger, J. J., FR Mulford, F. R. & Mc Intosh, M. S. (1994). Legume Cover Crop Contributions to No-Tillage Corn Production. *Agronomy Journal*, 86, 126. <http://dx.doi:10.2134/ agronj1994.00021962008600010024x>
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada, M. y Robledo C. W. InfoStat versión (2020). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Ernst, O., Bentancur, O. y Borges, R. (2002). Descomposición de rastrojo de cultivos en siembra sin laboreo: trigo, maíz, soja y trigo después de maíz o de soja. *Agrociencia*, 6 (1), 20-26.
- Fernández, R., Álvarez, C. O., Eggmann, O., Reinaldo, E. y Quiroga, A. R. (2020). Efecto del uso de Cultivo de Cobertura en una secuencia de Soja continua en la Región Semiárida Pampeana. *Semiárida Revista de la Facultad de Agronomía UNL Pampa*, 30 (2), 37-49. <http://dx.doi.org/10.19137/semiarida>
- Frasier, I., Noellemeyer, E., Fernández, R. & Quiroga, A. (2016a). Direct field method for root biomass quantification in agroecosystems. *Methods X*, 3, 513-519. <http://doi:10.1016/j.mex.2016.08.002>
- Frasier, I., Noellemeyer E., Figuerola E., Erijman L., Permingeat, H. & Quiroga A. (2016b). High quality residues from cover crops favor changes in microbial community and enhance C and N sequestration. *Global Ecology Conservation* 6, 242-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gecco.2016.03.009>
- Gómez, M. F., Noellemeyer, E., y Frasier, I. (2020). Dinámica de raíces y actividad biológica en secuencias de cultivos en dos tipos de suelo de la Región Semiárida Central. *Ciencia del Suelo*, 38 (1), 56-71.
- Insam, H. & Haselwandter, K. (1989). Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecología*, 79,174-178. <https://doi.org/10.1007/BF00388474>
- Iram (Instituto de Normalización), (1999). Norma 29410. Determinación del pH.
- Peláez, A., Meneses, M., Miranda, L., Magias, M., Bárcena, R. y Loera, O. (2008). Ventajas de la fermentación sólida con *Pleurotus sapidus* en ensilajes de caña de azúcar. *Archivos de Zootecnia*, 57 (217), 25-33.
- Quiroga, A., Fernández, R., Frasier, I. y Scianca, C. (10-11 de agosto de 2009). *Cultivos de cobertura: Análisis de su inclusión en distintos sistemas de producción*. [Conferencia]. Jornadas Nacionales de Sistemas Productivos Sustentables, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
- Rubio G., Mosca C., Varela M. F., Scianca C. y Taboada MA. (2012). *Estructura de suelos arenosos bajo cultivos de cobertura*. En D. Mendez (Ed.), *Memoria técnica* (pp. 43-47) EEA General Villegas, Buenos Aires, Argentina.
- Ruffo, M. L. y Parsons, A. T. (2004). Cultivos de cobertura en sistemas agrícolas. *Información Agronómica del Cono Sur*, 21, 13–16.
- Sanchez, S.R. Studdert, G. A. y Echeverría, H.E. (1998). Dinámica de la mineralización de Nitrógeno de residuos de cosecha en un Argiudol típico. *Ciencia del Suelo*, 16, 1-6.
- Serri, D., Pérez Brandan, C., Meriles, J. M., Salvagiotti, F., Bacigaluppo, S., Malmantile, A. & Vargas Gil, S. (2022). Development of a soil quality index for sequences with different levels of land occupation using soil chemical, physical and microbiological properties. *Applied Soil Ecology*, 180, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104621>
- Vance, E.D., Brookes, P.C. & Jenkinson, D.S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology Biochemistry* 19, 703-707.
- Walkley, A. & Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science*. 63, 251-263. <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>