

Revista de  
Investigaciones  
Agropecuarias

# RIA

## Micrometeorología: el clima bajo la lupa



Anticuerpos monoclonales:  
qué son y cómo cambiaron  
el rumbo de la inmunología

Fertilización, una variable  
crucial para evitar que  
el suelo se agote

Entrevista a Fernando Andrade:  
“La intensificación es compatible  
con el cuidado ambiental”.

La Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA) es una publicación de información científica editada por el INTA. Los artículos presentados son admitidos por un Comité Editorial compuesto por prestigiosas figuras del ámbito académico y científico agropecuario. Abarca diferentes temas preparados por profesionales del INTA y de otras instituciones, y está destinada a la comunidad científica nacional e internacional. Lo expresado por autores, corresponsales o columnistas no necesariamente reflejan el pensamiento del Comité Editorial, de la revista o de su institución editora.

## INDEXACIONES

Scopus  
Latindex (Folio 3346)  
CABI Publishing  
DOAJ (Directory of Open Access Journals)  
Redalyc.org  
Núcleo Básico  
Thomson Reuters  
Dialnet  
Scielo  
CiteFactor

## MIEMBROS DEL CONSEJO DIRECTIVO DEL INTA

**Presidenta:**  
Ing. Agr. Susana Mirassou

**Vicepresidente:**  
Ing. Agr. Tomás Schlichter

**Consejeros Nacionales:**  
Dr. Manuel Pedreira. MinAgro  
Ing. Agr. Liliana Monterroso.  
Facultad de Cs. Agronómicas.  
Méd. Vet Humberto Luis José Occhi.  
Facultades de Ciencias Veterinarias.  
Ing. Agr. Alejandro Conci.  
AACREA.  
Ing. Agr. Mario Nicolás Carlino.  
CONINAGRO.

Ing. Agr. Sergio Melgarejo.  
CRA.  
Dr. Pablo Paillole.  
FAA.  
Sr. Santos Zuberbhuler.  
SRA.

### Director Nacional:

Ing. Agr. Carlos Parera.

### Coordinador Nacional Técnico:

Ing. Agr. José Luis Sponton.

### Directores Nacionales Asistentes:

DN Asistente de Investigación,  
Desarrollo y Planificación.  
Ing. Agr. Martín Irurueta.

DN Asistente de Transferencia y Extensión.  
Ing. Agr. María Rosa Scala.

DG de Sistemas de Información,  
Comunicación y Procesos.

Ing. Fernando Ricitelli.

DG de Capital Humano.

Mg. Constanza Inés Necuzzi.

DG de Administración.

CPN Lic. Rosendo Tarsetti.

CN de Vinculación Tecnológica y

Relaciones Institucionales.

Ing. Zootecnista Juan Sebastián Llorens.

## DATOS EDITORIALES

Chile 460 2.º piso. Ciudad Autónoma de  
Buenos Aires, Argentina. CP (C1098AAJ)  
+54 (011) 4339-0600  
<http://ria.inta.gov.ar>  
[revista.ria@inta.gov.ar](mailto:revista.ria@inta.gov.ar)

ISSN 0325-8718 ISSN 1669-2314  
Propiedad Intelectual N.º 5231354

Institución Editora: Instituto Nacional de  
Tecnología Agropecuaria (INTA).

Cuatrimestral. Vol. 47 N.º 1

Abril 2021, Buenos Aires, Argentina.

## MIEMBROS DEL COMITÉ EDITORIAL

**Presidente:**  
Dr. Carlos Di Bella.  
Universidad de Buenos Aires (UBA).  
Consejo Nacional de Investigaciones  
Científicas y Técnicas (CONICET).  
Argentina.

**Vocales:**  
Ing. Agr. M. Sci. Jorge Mariotti.  
Universidad Nacional de Salta (UNSA).  
Argentina.  
Dr. Tomás Miguel Schlichter.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dra. Ana María Romero.  
Universidad de Buenos Aires (UBA).  
Argentina.  
Dr. Carlos Parera.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.

Ing. Agr. M. Sc. María Eugenia Beget.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Ariel Pereda.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Consejo Nacional  
de Investigaciones Científicas y Técnicas  
(CONICET). Argentina.  
Dr. Aníbal Pordomingo.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Martín Durante.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Laureano S. Frizzo.  
Universidad Nacional del Litoral (UNL).  
Dr. Juan Wahren.  
Instituto de Investigaciones Gino  
Germani (IIGG). Facultad de Ciencias

Sociales. Universidad de Buenos Aires.  
Consejo Nacional de Investigaciones  
Científicas y Técnicas (CONICET).  
Argentina.  
Dra. Gabriela Posse.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Sergio Vaudagna.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Ditmar Kurtz.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Ing. Agro. M. Sc. Alejandro Valeiro.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Oscar Taboga.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.

## MIEMBROS DEL COMITÉ ASESOR

Ing. Agr. Sergio E. Feingold.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Dr. Darío Fernández  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Ing. Agr. M. Sc. Marina Di Filippo.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Ing. Agr. M. Sc. Emiliano Quiroga.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Ing. Agr. M. Sc. Alejandro Rago.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
M. Sc. María Isabel Tort.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.  
Ing. Agr. M. Sc. Damián Vega.  
Universidad de Buenos Aires (UBA).  
Argentina.  
Ing. Agr. Andrea Pasinato.  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.

## STAFF

**Dirección:**  
Dra. Norma Pensel  
Lic. Máximo Bontempo

**Coordinación editorial:**  
Per. Giselle Miquet  
Mg. Mario Migliorati

**Asistente editorial:**  
Lic. Gustavo Ciuffo  
Lic. Cecilie Esperbernt

**Producción Editorial:**  
**Asesores técnicos y de contenido**  
Ing. Agr. Cristian Zuchini  
Dr. Martín Irurueta  
Dra. Mariana Insani

**Diseño y Edición:**  
Comunicación Visual, Gerencia de  
Comunicación e Imagen Institucional

**Fotografía:**  
Audiovisual, Gerencia de Comunicación  
e Imagen Institucional



Ministerio de Agricultura,  
Ganadería y Pesca  
Argentina

# Micrometeorología

La atmósfera y los fenómenos que tienen lugar en ella juegan un papel de gran relevancia en relación a la vida en el planeta, por ello el hombre siempre ha estado interesado en su estudio. En ese contexto, el cambio climático transformó el régimen de lluvias y de temperaturas a escala global y la Argentina no es ajena a esta situación.

El clima siempre fue un factor de riesgo para la producción agropecuaria, donde la contingencia se ve incrementada. Estamos ante una alta probabilidad de ocurrencia de eventos de alto impacto como lluvias, olas de frío o calor, de condiciones meteorológicas que se modifican muy rápidamente. Debemos estar cada vez más preparados debido a que estos eventos climáticos no solo son extremos, sino que, además, tienen un alto impacto sobre la vida de los habitantes y sus producciones.

El crecimiento y desarrollo de las plantas depende directamente de variables físicas tales como radiación, temperatura o humedad. Estas variables afectan procesos biológicos fundamentales, como fotosíntesis, transpiración o el desarrollo de enfermedades, entre otros. Estas respuestas varían al interior de un cultivo dependiendo del tipo de órgano, su edad, estado fenológico, etc. Por lo tanto, el estudio del comportamiento de las plantas y su respuesta al ambiente requiere tomar en cuenta estas variables y su variación en el espacio y el tiempo.

Estas interacciones entre ambiente y plantas se pueden definir a distintas escalas, a nivel de cultivo o microrregión (micrometeorología) o a nivel de canopia, planta u órgano individual (microclima). El estudio y la caracterización del microclima a nivel de órganos permite avanzar en la comprensión de procesos fisiológicos relacionados al rendimiento y la calidad de la cosecha, pero genera al mismo tiempo desafíos metodológicos para su caracterización e interpretación de los datos.

Por ese motivo es que los sistemas de producción agropecuaria se encuentran ante el abordaje de desafíos que implican disponer de datos e información de precisión y adecuado detalle espacio-temporal, dentro de los lotes productivos, en diversos sitios del paisaje y también en momentos puntuales durante las etapas biológicas de crecimiento de los cultivos y plantaciones.

En general, los datos que se usan para caracterizar el clima actual o pronosticar su comportamiento futuro en aplicaciones e investigaciones corresponden a escalas diferentes, y a procesos descritos de manera muy amplia, y no es suficiente.

La brecha espacial y temporal requiere definir prioridades de investigación y recopilar datos de variables climáticas a escalas más pequeñas para poder entender el funcionamiento y la respuesta de los cultivos a distintas variables del clima. Para esto, es necesario llevar adelante mediciones con un nuevo concepto, el de la micrometeorología y microclima, así como también desarrollar métodos para captar la variabilidad espacio-temporal de las variables climáticas a estas escalas. De esta manera se puede mejorar la comprensión de las variaciones climáticas que ocurren sobre la superficie, a escalas más pequeñas, que las corrientemente analizadas en la atmósfera.

Entre las aplicaciones en el sector agropecuario se pueden citar: la medición de emisión de gases, evapotranspiración para mejorar el riego, dispersión de microgotas de productos por la turbulencia atmosférica, transporte de fitopatógenos, análisis de la concentración vertical y horizontal de polen de maíz en la época de floración por los cruzamientos genéticos, entre otros.

En Argentina, la micrometeorología forma parte de los programas de estudios de la Licenciatura en Ciencias de la Atmósfera. Hay muchos grupos de investigación en que abordan esta temática en sus trabajos por su papel fundamental en el desarrollo y crecimiento de los cultivos, el rendimiento y calidad de cosecha.

El INTA específicamente, tiene el desafío de abordar todas las escalas para mejorar los criterios agronómicos y biológicos en la toma de decisiones. Para ello, se encuentra realizando ensayos experimentales de toma de datos micrometeorológicos en provincias como Mendoza, Santa Fe y Buenos Aires, interactuando periódicamente con el Departamento de Ciencias de la Atmósfera y los Océanos (DCAO) de la Facultad de Ciencias de Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEN - UBA), la Universidad Tecnológica Nacional (UTN) y la cátedra de Climatología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (UNR), junto con otros actores.

Para competir en el contexto actual, dentro del Plan Estratégico Institucional (PEI) 2015-2030, el INTA presenta como una de sus principales directrices el hecho de fortalecer las capacidades de los actores del SAAA en el desarrollo y manejo de tecnologías críticas emergentes, novedosas y de frontera, que busquen dar solución a problemas relevantes del sector, tengan un impacto sistémico y estén asociadas a la coyuntura y emergencia.

La institución siempre ha sido referente en lo que respecta a la producción de datos primarios y productos para la toma de decisiones, y dentro de ello el estudio del clima y la generación de información climática siempre ha tenido un lugar preponderante. En ese sentido, avanzar en los estudios micrometeorológicos para entender las variables climáticas a escalas más pequeñas resulta imperioso para lograr una agricultura climáticamente inteligente.



## EDITORIAL

### Micrometeorología

Comprender las variables climáticas a pequeña escala en una agricultura climáticamente inteligente.

2

## DIVULGACIÓN Y ACTUALIDAD

### Micrometeorología: el clima bajo la lupa

Entender de qué se trata a través de experiencias y conocer el potencial de su aplicación en el agro.

6



### Anticuerpos monoclonales: qué son y cómo cambiaron el rumbo de la inmunología

Desarrollos de INTA que se aplican en especies de interés agropecuario, salud animal y protección vegetal.

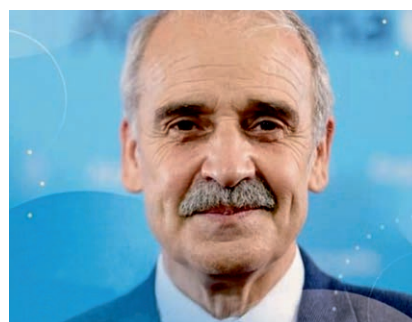
10



### Fertilización, una variable crucial para evitar que el suelo se agote

Investigadores alertan sobre este riesgo y reconocen la necesidad de una práctica racional y eficiente.

16



### Entrevista: “La intensificación es compatible con el cuidado ambiental”.

Fernando Andrade responde cómo satisfacer la demanda de productos agrícolas y reducir el impacto ambiental.

20

ARTÍCULOS

Estimación de disponibilidad forrajera de pasturas base alfalfa y verdeos invernales en el sudoeste de Entre Ríos

Ojeda, J.J.; Quinodoz, J.E.; Lezana, L.C. 26

Análisis de la disponibilidad de agua útil del suelo en plantaciones de kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev) del sudeste bonaerense

David, M.A.; Ligier, H.D.; Sánchez, E.E. 46

Rendimiento del maíz ante el agregado de zeolita y yeso a la fertilización nitrogenada en un Argiudol típico de San Antonio de Areco

Beltrán, M.J.; Herrmann, C.; Romaniuk, R.I.; Fernandez, A.; Jecke, F.; Mousegne, F. 53

Yield response of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) to inoculation with *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilization in the Caribbean region of Colombia

Sánchez, D.B.; Luna, L.L.; Espitia, A.A.; Cadena, J. 61

Caracterización de residuos agroindustriales de algodón mediante espectrometría de emisión atómica de plasma por microondas

Mendoza, S.M. 71

Variabilidad de la calidad de lanas en la provincia de Río Negro, Argentina

Gonzalez, E.B.; Sacchero, D.M.; Easdale, M.H. 76

Aerobic stability of whole plant corn silage inoculated with a bacterial inoculant in three maturity stages

Camarasa, J.N.; Auil, M.; Barletta, P.; Bereterbide, L. 82

Germinación de dos especies de *Rhynchosia* (Fabaceae) nativas de Argentina central útiles para la restauración productiva de pastizales naturales

Milano, C.; Tizón, F.R.; Peláez, D.V.; Martínez L.C.; Ribet, A. 88

Anaplasmosis bovina en provincia de Buenos Aires durante 2015

Cora Ibarra, J.F.; Lloberas, M.M.; Llada, I.M.; Odriozola, E.R.; Cantón, G.J. 98

Methodological performance of selenium determination in ruminal fluid by hydride generation atomic absorption spectroscopy

Brambilla, E.C.; Cseh, S.B.; Fernández, E.L.; San Martino, S. 104

Efectos del control inicial de malezas sobre el crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. en el Departamento Comandante Fernández, Chaco Argentina

Atanasio, M.A.; Pernochi, L.S.; Burdyn, B.; Guevara, G. 110

Identificación del origen genético de un rodal semillero implantado de *Nothofagus obliqua* a través del análisis de dos regiones inter-génicas de ADN de cloroplasto

Azpicueta, M.M.; Marchelli, P.; Aparicio, A.G.; Pastorino, M.J. 116

Comparación de indicadores económicos en producciones agrícolas actuales y alternativas en la ribera del Río Colorado, provincia de La Pampa

Mariano, R.C.; Ferro Moreno, S. 123

Niveles séricos de minerales en hembras bovinas en un establecimiento de la región del Chaco semiárido salteño

Micheloud, J.F.; Martínez, G.M.; Araoz, V.; Suárez, V.H.; Rosa, D.E.; Mattioli, G.A. 134

Dinámica del nitrógeno en un suelo aluvial salino, cultivado con remolacha azucarera

Valdivia Vega, S.; Pinna Cabrejos, J.; Valdivia Salazar, S. 140



## Micrometeorología: el clima bajo la lupa

El estudio de las interrelaciones entre la superficie y la atmósfera a una escala espacial y temporal pequeña resulta fundamental para entender el impacto del clima en las actividades humanas y la vida en la Tierra.

El INTA realiza diferentes análisis experimentales para conocer el potencial de su aplicación en el agro.

POR VALERIA GUERRA

La atmósfera y los fenómenos que tienen lugar en ella juegan un papel de gran relevancia en relación a la vida en el planeta, por ello el hombre siempre ha estado interesado en su estudio.

Los fenómenos meteorológicos pueden clasificarse según su duración y extensión espacial. Es de esta manera que los estudios desarrollados en meteorología y climatología abarcan las siguientes escalas: microescala (micrometeorología), mesoescala (tormentas, brisa de mar y tierra), escala sinóptica (frentes, ciclones) y escala planetaria (clima regional, circulación general de la atmósfera y el océano).

Todos estos fenómenos en sus diversas escalas se relacionan con la actividad agropecuaria. Sin embargo, los mecanismos por los cuales el ambiente interactúa con los seres vivos son esencialmente de corta duración en el tiempo y una extensión horizontal y vertical menor.

Natalia Tonti, investigadora y docente del Departamento de Ciencias de la Atmósfera y los Océanos (DCAO) de la Facultad de Ciencias de Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEN - UBA), afirmó que van "desde micrometeorología que son los fenómenos que se dan en las escalas más cortas de

tiempo (fenómenos de hasta una hora), y en el espacio del orden de un kilómetro, hasta el otro extremo de lo que estudia la meteorología que es la climatología, que es algo que está más difundido, que tiene que ver con el promedio de las variables meteorológicas en una región".

La micrometeorología tiene que ver con fenómenos de interacción entre la superficie y los primeros metros o kilómetros de la atmósfera. "Se trabaja siempre dentro de la capa límite, que es la capa de la atmósfera que está muy influenciada por la superficie y que es básicamente donde se realizan casi todas las actividades humanas", indicó Tonti.

## La micrometeorología tiene que ver con fenómenos de interacción entre la superficie y los primeros metros o kilómetros de la atmósfera.

La capa límite en la vertical puede estar entre 300 metros de noche, varía a lo largo del día y de las estaciones. En invierno y de noche son capas mucho más bajas, y en verano y de día son capas más altas que pueden llegar hasta los 3 kilómetros.

El estado del fluido es turbulento, lo que hace que la transferencia de intercambios de la superficie con la atmósfera suceda muy rápidamente, porque si no existiese la turbulencia, el mecanismo

sería tan lento que no podría haber vida.

De acuerdo con la especialista, "las escalas más grandes que se ocupan de las capas más altas de la atmósfera tienen un comportamiento del aire muy diferente al de la capa límite". Esa interacción tiene que ver con que tanto el tiempo depende mucho de cuál es la superficie sobre la que está el aire. Citó como ejemplo una ciudad muy desarrollada, un pastizal extenso, una zona agrícola o ganadera, y a partir de ello cómo se puede pensar en diferentes tipos de manejo.

Hay estudios donde se puede observar diferencias en variables meteorológicas según el tipo de cultivo. Dentro de estas variables o fenómenos se encuentran por ejemplo los flujos de calor como la evapotranspiración y cómo se transmite el calor desde la superficie hacia la atmósfera y viceversa, según el momento del día. Lo mismo ocurre con los flujos de agua, y flujos de gases como dióxido



### ¿Cómo se toman los datos?

La micrometeorología implica la descripción de un sistema distinto, con variables que cambian espacial y temporalmente de una forma muy rápida. Se necesita medir perfiles verticales y horizontales de velocidad del viento, temperatura y humedad.

Los instrumentos para medir fenómenos que ocurren tan rápido en el tiempo consisten en sensores muy específicos. La técnica principal mide el viento en tres: sus direcciones, la temperatura y las concentraciones de gases como vapor de agua y dióxido de carbono y metano. Las variables se miden en una frecuencia de 20 Hz, es decir 20 veces por segundo. Este tipo de mediciones permiten caracterizar los intercambios de calor, vapor de agua u otros gases entre la superficie y la atmósfera.

También se trabaja con instrumental convencional, donde las observaciones no son tan frecuentes, pero se encuentran en las estaciones meteorológicas como las sinópticas que se usan para estudiar el clima de un lugar, aunque la frecuencia de toma de datos es diferente. Se trabaja con promedios de observaciones tomadas a lo largo de 15 a 30 minutos.

"Para un estudio específico como la evapotranspiración en un cultivo o la radiación, se diseña donde se ubican los instrumentos según lo que se quiera analizar", expresó Mauro Covi, docente e investigador del Departamento de Ciencias de la Atmósfera y los Océanos (DCAO), FCEN - UBA. Y agregó: "Además hay superficies que no son homogéneas y hay que poder representarlas".

En ese sentido, el docente afirmó: "En general no da lo mismo cerca del borde que en medio del cultivo. Un cambio de suelo desnudo a un cultivo implica la adaptación de la atmósfera a los cambios que implica pasar de una superficie a otra". Para ello, hay distintos modelos para ver cómo crece la capa límite interna de una superficie.

de carbono y metano. "El conocimiento de estas variables según el tipo de manejo que se haga puede ser importante para decidir con más herramientas", aseguró Tonti.

### SUS APLICACIONES EN EL AGRO

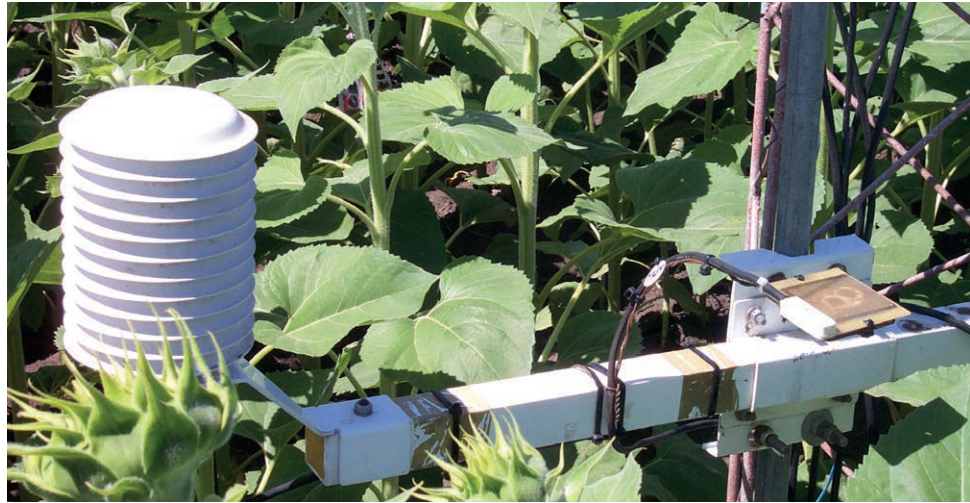
Las plantas cumplen un rol central en las partes continentales. Si bien el suelo logra evaporar agua desde su superficie, el grueso del agua que hay en el suelo solo la logran movilizar las plantas. Es un intercambio virtuoso entre la superficie y la atmósfera.

La micrometeorología permite diferentes aplicaciones en el agro, como medir la emisión de gases, la evapotranspiración para mejorar el riego, la dispersión de microgotas de productos por la turbulencia atmosférica, el transporte de fitopatógenos como la roya, la concentración vertical y horizontal de polen de

**"El conocimiento de estas variables según el tipo de manejo que se haga puede ser importante para decidir con más herramientas" (N. Tonti).**



**“Nos encontramos ante el abordaje de desafíos que implican disponer de datos e información de precisión y adecuado detalle espacio-temporal”  
(P. Mercuri).**



maíz en la época de floración por los cruzamientos genéticos, entre otros.

“En los sistemas de producción agropecuaria nos encontramos ante el abordaje de desafíos que implican disponer de datos e información de precisión y adecuado detalle espacio-temporal, dentro de los lotes productivos, en diversos sitios del paisaje y también en momentos puntuales durante las etapas biológicas de crecimiento de los cultivos y plantaciones”, indicó Pablo Mercuri, director del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRN) del INTA.

Entre otras aplicaciones, “para el abordaje de variables extremas como las heladas, el comportamiento y avance de plagas y enfermedades, la variabilidad en la distribución del agua disponible y, hoy también, para una necesaria captura intensiva de variables meteorológicas en simultáneo a determinadas prácticas de manejo, para un adecuado cuidado ambiental”, aseguró.

El director del CIRN explicó que en general, los datos que se usan para caracterizar el clima actual o predecir su comportamiento futuro en aplicaciones e investigaciones corresponden a escalas diferentes y a procesos descriptos de manera muy amplia.

En ese sentido subrayó que “aún las redes de captación de datos de superficie son muy poco densas, y recurrimos a interpolaciones o grillas de información derivadas de diferentes procesamientos de imágenes satelitales”.

Siguiendo al director del CIRN, esto no es suficiente: “La brecha espacial y temporal requiere definir prioridades de investigación y recopilar datos de variables climáticas a escalas más finas, me-

diciones con un nuevo concepto, el de la micrometeorología, así como desarrollar mejores métodos para reducir la escala de las variables climáticas, de modelos de circulación global a escalas regionales o locales, a microclimas, y poder mejorar la comprensión de las variaciones climáticas que ocurren sobre la superficie, a escalas más pequeñas, que las corrientemente analizadas en la atmósfera”.

#### EL MICROCLIMA DE LA VID

En INTA Mendoza, el grupo de Ecofisiología de la vid se encuentra realizando estudios del microclima, midiendo las condiciones de temperatura, radiación, humedad relativa y velocidad del viento a nivel de canopia. Jorge Prieto, investigador de la unidad comentó: “Trabajamos caracterizando esas condiciones ya sea del aire como de los racimos y hojas, las cuales están muy relacionadas con su funcionamiento fisiológico, la madurez de la uva y la calidad del vino”.

De acuerdo con Prieto, tratan de caracterizar de la forma más puntual esas variables “en respuesta a algunos factores experimentales, como pueden ser sistemas de conducción diferentes, distintos tipos de poda o estrategias de riego”. Actualmente están abocados a caracterizar el microclima en las distintas orientaciones de plantación y en otras alternativas de manejo del viñedo de adaptación al cambio climático.

Desde INTA Mendoza trabajan con *data loggers* que conectan sensores de radiación y temperatura. Algunos de estos equipos se desarrollaron a partir de un convenio con la Universidad Tecnológica Nacional (UTN), específicamente con la Facultad de Electrónica, donde los alum-

**“El microclima nos permite entender cómo va a afectar la temperatura la madurez de la uva, el pH, la acidez, el color, lo que después permite guiar las decisiones”  
(J. Prieto).**

nos que tenían que hacer un trabajo final de carrera trabajan con el organismo acoplado estos sensores y diseñando dispositivos específicos para los distintos experimentos como, por ejemplo: calentar plantas a campo y al mismo tiempo censar el ambiente y mantener una diferencia de temperatura entre esa planta calentada y el ambiente.

“Los sensores comerciales son caros, entonces la disponibilidad de desarrollarlos con ellos nos abarataba los costos, y esto surgió a partir de un PICT-Start up que tenía en su momento el coordinador de nuestro grupo, Jorge Pérez Peña”, indicó Prieto. De acuerdo con el investigador, estudian cómo influye el microclima en la fotosíntesis y la eficiencia en el uso del agua, para luego aplicar modelos en función de estas características microclimáticas.

Además, cuentan con estudios más prácticos que permiten tomar decisiones a partir de estas mediciones microclimáticas, donde determinan las condiciones de la uva y el racimo, y lo relacionan con



“La caracterización del ambiente meteorológico es fundamental para la decisión de realizar aplicaciones de plaguicidas”  
(L. Carrancio).

la madurez, el rendimiento y la calidad del vino. En ese sentido, aseguró: “El microclima nos permite entender cómo va a afectar la temperatura la madurez de la uva, el pH, la acidez, el color, lo que después permite guiar las decisiones”.

Otra de las aplicaciones que le están dando al estudio de la micrometeorología tiene que ver con el granizo. “En conjunto con Gabriel Nahuel de la EEA Rama Caída, se están caracterizando distintos colores de tela antigranizo, porque el granizo es uno de los principales problemas climáticos que tenemos en la agricultura en nuestra zona”, explicó Prieto y agregó: “Estamos probando distintos colores de tela, y distintos sistemas de instalación, por lo tanto, estamos caracterizando como influye esa tela en las características del microclima de las plantas, principalmente la radiación y temperatura”.

### EL CASO DE LA DERIVA

Las pulverizaciones agrícolas están expuestas al efecto de factores meteorológicos, aún dentro de ciertos rangos de valores considerados óptimos o aceptables para tratamientos eficaces. El resultado de esos efectos es la pérdida del agua de las gotas, producida por evaporación y, consecuentemente, de los productos contenidos en el caldo.

De acuerdo con Luis Carrancio de INTA Oliveros –Santa Fe–, hay dos formas de deriva directa de plaguicidas: de partículas (movimiento de gotas de plaguicidas o partículas sólidas fuera del área tratada; y de vapor (movimiento de los plaguicidas en fase gaseosa fuera del área tratada).

“La deriva de vapor depende más de las propiedades del ingrediente activo, la formulación y las condiciones ambien-

tales (temperatura, humedad relativa y viento) que del equipo utilizado”, expresó. En ese sentido, “la caracterización del ambiente meteorológico es fundamental para la decisión de realizar aplicaciones de plaguicidas mediante la pulverización en base acuosa”, aseveró Carrancio.

La proporción de aspersión que llega al objetivo está influenciada, en gran parte, por las condiciones meteorológicas locales cerca de la superficie. Por lo tanto, “se requiere tener información a escala micrometeorológica en superficie para comprender el efecto sobre el movimiento de las gotitas. Básicamente, dirección y velocidad del viento, temperatura y humedad del aire, y estabilidad o inestabilidad atmosférica, en relación al gradiente térmico vertical”, consideró el especialista.

Según Carrancio, “un indicador aún poco difundido en nuestro país es el de-

nominado Delta T ( $\Delta T$ ) o Delta Temperatura, el cual es utilizado desde hace más de diez años en países como EE.UU., Canadá, Australia y Nueva Zelanda principalmente”. Este indicador es “un estimador confiable y eficiente de la cantidad de vapor que la atmósfera puede absorber a una temperatura dada”. Siguiendo al especialista de INTA Oliveros, “otro aspecto importante es la relación existente con el estrés vegetal y este con la penetración de plaguicidas que actúan con diferentes grados de sistema”.

#### Más información

Pablo Mercuri [mercuri.pablo@inta.gov.ar](mailto:mercuri.pablo@inta.gov.ar); Jorge Prieto [jorge@inta.gov.ar](mailto:jorge@inta.gov.ar); Luis Carrancio [carrancio.luis@inta.gov.ar](mailto:carrancio.luis@inta.gov.ar); Natalia Tonti [ntoni@at.fcen.uba.ar](mailto:ntoni@at.fcen.uba.ar); Mauro Covi [mcovi@at.fcen.uba.ar](mailto:mcovi@at.fcen.uba.ar)

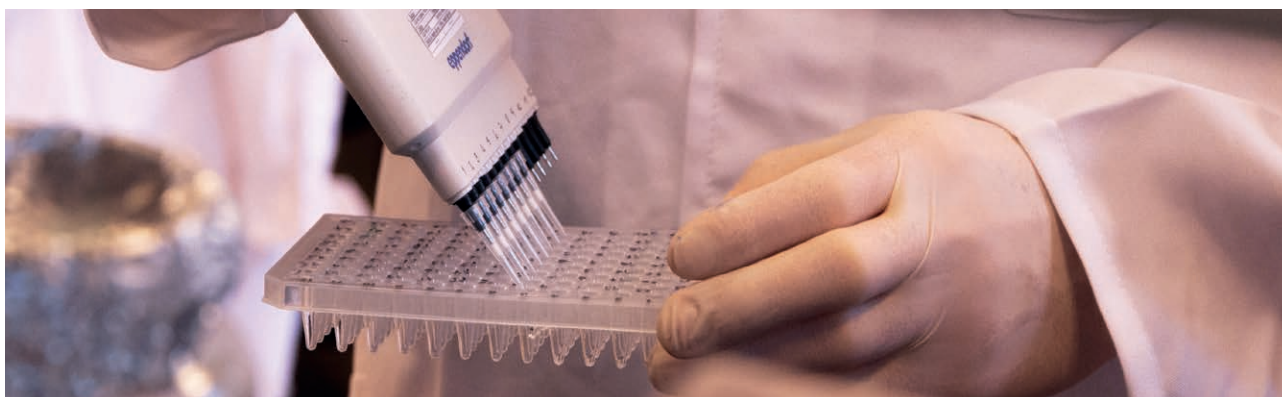
#### Agradecimientos:

Marisa Gassmann (DCAO, FCEN – UBA); Natalia Gattinoni, Instituto de Clima y Agua de INTA Castelar; Jorge Pérez Peña, EEA Mendoza de INTA; y Jorge Mercau, AER San Luis de INTA.



# Anticuerpos monoclonales: qué son y cómo cambiaron el rumbo de la inmunología

Descubiertos hace más de 40 años, aún hoy siguen siendo uno de los hallazgos científicos más relevantes. Con aplicación en la clínica y el diagnóstico, así como en la investigación y el desarrollo, los anticuerpos monoclonales son un instrumento tecnológico para el trabajo en especies de interés agropecuario, tanto en salud animal como en protección vegetal. Utilizados en test diagnósticos y proyectos de investigación para tuberculosis bovina, fiebre aftosa, rabia y hasta el Mal de Río Cuarto en maíz, especialistas del INTA hacen un repaso por los principales desarrollos del Instituto que los utilizan.



POR CECILIE ESPERBENT

Con el objetivo de mejorar las herramientas disponibles para la detección y tratamiento de enfermedades, entre 1973 y 1975 el argentino César Milstein junto con el alemán George Köhler –quien era su becario posdoctoral en ese momento–, lograron desarrollar un sistema para producir en el laboratorio anticuerpos puros capaces de detectar y unirse específicamente a regiones discretas –denominadas epitopes– dentro de un determinado antígeno. Por este descubrimiento, que transformó la historia de la medicina moderna, ganaron el Premio Nobel de Medicina en 1984. Ahora, Presidencia de la Nación de la Argentina declaró al 2021 como año homenaje al premio Nobel de Medicina doctor César Milstein, en reconocimiento a su “profundo compromiso con la ciencia”.

Si bien los anticuerpos monoclonales (AcM o mAbs, por sus siglas en inglés, que significan ‘monoclonal antibodies’) se utilizan desde hace más de 40 años para el desarrollo de medicamentos innovadores y para el tratamiento y diagnóstico de diversas enfermedades, ahora –por la emergencia de la COVID-19– toman un nuevo impulso debido a que científicos de todo el mundo estudian su uso como terapéuticos contra esa enfermedad.

Sin embargo, el descubrimiento de Milstein y Köhler también es una tecnología muy utilizada en el ámbito agropecuario. De hecho, son utilizados tanto para el diagnóstico de algunas enfermedades de interés veterinario, como la fiebre aftosa, la tuberculosis bovina y la rabia –las dos últimas son, además,

zoonosis–, de interés agropecuario, como el Mal de Río Cuarto en maíz, y hasta para la investigación y el diseño de fármacos de nueva generación.

En términos generales, se sabe que el sistema inmune de los vertebrados superiores es capaz de responder ante la presencia de patógenos o sustancias extrañas al organismo mediante la producción de anticuerpos –proteínas que son capaces de unirse a ellos de forma tal de neutralizarlos o eliminarlos del individuo–. En este sentido, los anticuerpos monoclonales son una alternativa biotecnológica que deriva de este proceso natural.

“Los anticuerpos monoclonales son copias idénticas de un único tipo de anticuerpo producido por un linfocito B”, explicó Oscar Taboga, director del Instituto

de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) del Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) del INTA, quien agregó: "Los hibridomas, productores de anticuerpos monoclonales, son copias de células quiméricas creadas en el laboratorio a partir de un clon de un plasmocito productor de un anticuerpo específico, indistinguibles de los anticuerpos que nuestro cuerpo produce de forma natural".

De todos modos, lo que Milstein hacía de manera artesanal, hoy, gracias al uso de la ingeniería genética, los científicos los crean en una fracción de tiempo. "Esas moléculas, producidas en el laboratorio, pueden actuar como anticuerpos 'de diseño' y permiten el desarrollo de diversos fármacos", señaló Taboga quien resaltó que "aparte de ser una herramienta natural de defensa, son un instrumento súper potente para hacer test diagnósticos".

Las aplicaciones pueden ser múltiples y no solo se limitan a detectar enfermedades en animales o en plantas, sino que también se pueden utilizar para identificar transgenes (genes foráneos) en cultivos –por ejemplo–. De hecho, en el Instituto de Biotecnología del INTA funciona el Laboratorio de detección de OGM (organismos genéticamente modificados), un servicio disponible para el sector privado de la producción agropecuaria y de la industria alimenticia a partir del análisis de granos, semillas, alimentos y materias primas. "Con un anticuerpo monoclonal, dirigido contra una enzima en particular, se puede determinar si una planta es transgénica o no", ejemplificó Taboga quien señaló que se pueden utilizar para un sinnúmero de objetivos y aplicaciones.

El laboratorio posee acreditación del Organismo Argentino de Acreditación (OAA). Esto significa que cumple con los requisitos planteados por la normativa internacional IRAM 301 (ISO IEC 17025) en materia de calidad.

**“Los anticuerpos monoclonales son copias idénticas de un único tipo de anticuerpo producido por un linfocito B”  
(O. Taboga).**

Desde una perspectiva terapéutica, el uso de los anticuerpos monoclonales es similar al de la terapia con plasma de convalecientes. Sin embargo, mientras el plasma de convaleciente es heterogéneo y contiene una composición muy variable de anticuerpos, en los que unos pueden ser efectivos y otros no, los tratamientos basados en anticuerpos monoclonales constituyen una forma mucho más moderna y depurada, “de-

bido a que están hechos a partir de la selección de aquellos que, por ejemplo, tienen mayor capacidad de neutralizar a un determinado virus, son como una bala teledirigida”, afirmó Taboga.

## TUBERCULOSIS BOVINA

En el ámbito veterinario, y gracias al uso de la ingeniería genética, un equipo de investigadores del Instituto de Agro-

## Cómo funciona el sistema inmunitario

Conocido como una de las maquinarias biológicas más eficaces que existen, el sistema inmunitario humano está formado por millones de células altamente especializadas en localizar y destruir cualquier patógeno capaz de provocar una infección. Cuando este escudo natural reconoce bacterias, parásitos o virus activa la defensa y comienza una 'batalla' para defender al cuerpo de la enfermedad.

Integrado por un gran ejército, frente a un patógeno el sistema inmunitario despliega una respuesta inmediata y ordenada. Existen dos grandes momentos, en los que intervienen distintos 'soldados'. En la primera línea de respuesta se encuentran los macrófagos, los neutrófilos y las células NK (Natural Killer, por sus siglas en inglés); mientras que en una segunda instancia de respuesta actúan las células dendríticas y los linfocitos B y T.

Los macrófagos son células del sistema inmune innato que se encargan de 'comer' patógenos y degradarlos. Sin embargo, cuando los macrófagos actúan, pero no consiguen vencer al invasor, encienden las alarmas para que se activen los refuerzos. A la par, las células NK, o asesinas naturales, se encargan de localizar y destruir las células infectadas.

Cuando la primera respuesta del sistema inmune no es suficiente, aparecen en acción las células dendríticas que, como los macrófagos, fagocitan y degradan patógenos hasta dejarlos en pedacitos muy pequeños. Esos fragmentos –desperdicios– son los epitopes antigénicos y servirán para que otras células especiales, como los linfocitos T, puedan reconocerlos.

Asimismo, se liberan citoquinas que impulsan la proliferación de estos linfocitos T –viajan hasta llegar al lugar de la infección y destruyen a las células infectadas– y colaboran en la activación de los linfocitos B. Mientras, los linfocitos B se encuentran directamente con los antígenos del patógeno y, si la variante de su receptor coincide con la del patógeno, comienza el proceso para fabricar miles de copias de sí mismo para neutralizar la infección. Estas moléculas son los anticuerpos.

La respuesta inmune se completa con la producción de linfocitos de memoria que detectan la infección pasado mucho tiempo y tienen la capacidad de reiniciar la replicación –clones– para dar una respuesta inmune que neutralice al patógeno otra vez.

Lo destacado de los linfocitos B es que mediante un receptor pueden hacer contacto con infinidad de moléculas, como proteínas, ácidos nucleicos o lípidos, es decir, básicamente con cualquier cosa. Esta característica los hace únicos y le permitió a Milstein avanzar en una investigación que plantó las bases de la inmunología moderna.

## Quién fue César Milstein

“César sabía preguntar y escuchaba hasta el final la respuesta, la analizaba y luego daba su punto de vista. Era un sabio generoso”, así lo definió Alberto Roseto, consultor científico sobre producción de anticuerpos monoclonales orientados al diagnóstico y las terapias.

“El alcance de la investigación de Milstein fue fabuloso”, expresó Roseto y agregó: “Gracias a los anticuerpos monoclonales pudimos identificar a fondo una proteína y conocer la estructura de lo normal y de lo patológico, es decir, si era buena o mala”.

“Lo paradigmático de la creación de Milstein fue que nunca antes un descubrimiento básico había pasado tan rápido a la aplicación práctica de la medicina. Sin dudas, fue el puntapié inicial de la biotecnología”, enfatizó Roseto quien añadió: “La invención de la técnica de los hibridomas de Köhler y Milstein fue una de las que más modificó las ciencias biológicas, debido a que los anticuerpos monoclonales sirvieron para el desarrollo de diferentes test aplicados en la práctica médica”.

Roseto arrancó su carrera como pediatra especialista en enfermedades infecciosas en el Hospital Posadas de la Argentina, donde descubrió el rotavirus en América. En la búsqueda por conocer el porqué de las enfermedades emigró a París –Francia– donde se dedicó a la investigación básica. En el Instituto Pasteur, se dedicó al estudio e investigación del rotavirus en los recién nacidos. Su afección por la investigación lo llevó, en 1975, a conocer a Milstein y trabajar con él en el laboratorio de Cambridge –Inglaterra–. Allí, aprendió la técnica de los hibridomas y, gracias a la generosidad de Milstein, fue uno de los primeros en desarrollar anticuerpos monoclonales contra el rotavirus en Francia\*.

Entre sus principales logros se encuentra la producción del anticuerpo monoclonal E13 contra el antígeno precoz de Citomegalovirus (CMV), que luego sería utilizado para el diagnóstico de la viremia en las inmunodeficiencias en general. En la actualidad, Roseto es consultor científico sobre la producción de anticuerpos monoclonales orientados al diagnóstico y las terapias.

“Cuando el mundo científico (en 1974) hablaba de clonar un gen, César buscaba gamaglobulinas para replicarlas y que sean siempre las mismas”, recordó Roseto y pronunció: “César fue un adelantado a su época, tenía claro lo que quería y lo buscaba”.

*\*Extraído de la autobiografía publicada en la revista online “Ciencia e Investigación” de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC).*

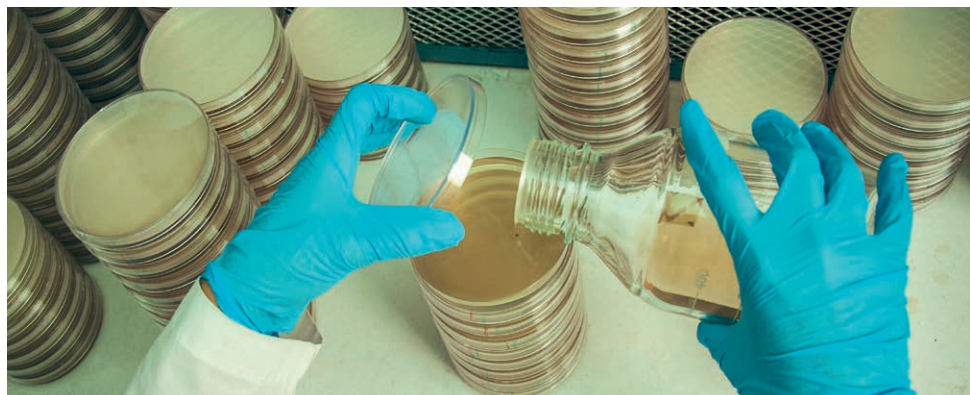
*\*Fotos históricas que forman parte del archivo personal de Alberto Roseto.*

biotecnología y Biología Molecular (IA-BIMO) del Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) del INTA, liderado por Fabiana Bigi, se enfocó en la producción de anticuerpos monoclonales para construir un test diagnóstico que detecte tuberculosis y paratuberculosis bovinas basado en la detección y cuantificación *in vitro* del interferón-gamma –IFN- $\gamma$ – producido por linfocitos-T sensibilizados en respuesta al contacto con antígenos específicos.

El interferón-gamma tiene un importante papel en la inmunidad innata y en la estimulación de la inmunidad adaptativa. Esta citoquina estimula y modula el sistema inmune y colabora en la lucha contra algunas bacterias y, además, promueve la activación de los linfocitos para desarrollar respuestas específicas contra virus u otros patógenos.

En la Argentina, la tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad de alta prevalencia en rodeos ganaderos y en animales silvestres. Como afecta principalmente al ganado bovino, se trata de una enfermedad que puede provocar grandes pérdidas económicas, como resultado del bajo peso de los animales, mala calidad de la leche y el consecuente decomiso en frigoríficos y en mataderos. Además, debido a que el agente causal –la bacteria *Mycobacterium bovis*– se transmite a los seres humanos, constituye un importante problema de salud pública.

“En la actualidad, el diagnóstico de animales infectados se realiza mediante la prueba de la tuberculina o intradermoreacción que es el método oficial aprobado por los organismos internacionales”, expresó Bigi y agregó: “Nuestro objetivo es desarrollar una prueba alternativa que ayude a mejorar el diagnóstico”.



El uso de los anticuerpos monoclonales es múltiple y no solo se limita a detectar enfermedades en animales o en plantas, sino que también se pueden utilizar para identificar transgenes (genes foráneos) en cultivos.

“Esas moléculas, producidas en el laboratorio, pueden actuar como anticuerpos ‘de diseño’ y permiten el desarrollo de diversos fármacos” (O. Taboga).

El test diagnóstico que está desarrollando Bigi con su equipo estará destinado al diagnóstico de ambas enfermedades basado en la detección y cuantificación *in vitro* del interferón gamma –IFN- $\gamma$ –. “Entre otros aspectos positivos, este desarrollo contribuirá al control de la TBB y PTB con un producto de desarrollo nacional, innovador y de un costo accesible”, puntualizó la investigadora del INTA quien destacó que “este desarrollo local permitirá sustituir la importación de los test utilizados en la actualidad”.

La TBB es una enfermedad endémica y su control es una tarea urgente, permanente y ardua. En la Argentina, el Senasa impulsa el plan nacional de erradicación de la tuberculosis bovina con el objetivo de lograr el mayor número posible de rodeos libres de TBB, mediante un saneamiento exhaustivo de los campos y aspira a un nivel de excelencia internacional en lo que a enfermedades infecciosas respecta.

Además de su utilidad como método diagnóstico, con esta herramienta Bigi y su equipo realizan investigaciones que buscan desentrañar cuáles son los mecanismos de replicación que utiliza la bacteria que provoca la tuberculosis para saber qué genes se pueden seleccionar para atenuar la patogenia. “A futuro, nuestro objetivo es poder hacer una vacuna para colaborar con las campañas de erradicación de la tuberculosis y paratuberculosis bovina”, destacó la investigadora del INTA.

#### TEST DE ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA RABIA

Más de cuatro décadas después de su hallazgo, el descubrimiento de Milstein aún tiene por delante mucho potencial. De hecho, Alejandra Capozzo, especialista en Inmunología veterinaria aplicada e investigadora del Conicet en el Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT) del INTA, trabaja en el desarrollo de un test ELISA y otro de inmunofluorescencia para detectar la rabia en animales. “Nuestro trabajo se basa en la creación de una proteína –fragmento variable monocatenario (scFv)– para reconocer la glicoproteína del virus rábico”.

Entre las principales ventajas del desarrollo, Capozzo destacó que “se pueden producir en diferentes sistemas recombinantes, incluso en bacterias, por lo que son muy económicos, accesibles y poseen alto rendimiento y pureza”. Gracias

a esta forma de producción, “nuestro objetivo es reemplazar a los monoclonales tradicionales para el diagnóstico de la rabia”, aseguró.

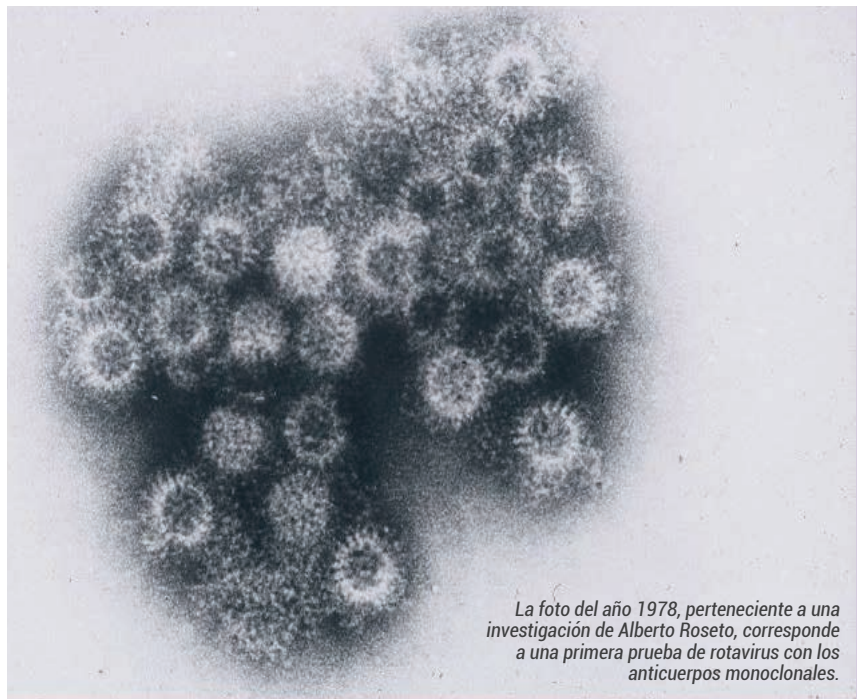
Los svFv pueden reemplazar por completo a los anticuerpos monoclonales tradicionales, se pueden conjugar a fluoróforos o enzimas y usarse, por ejemplo, en inmunofluorescencia y en citometría de flujo, entre otros.

Se trata de un avance tecnológico que mejorará la detección del antígeno rábico en animales. Este invento abarata los costos de producción y los hace más competitivos, en comparación con los test ELISA tradicionales y, además, es una plataforma innovadora.

El invento corresponde a una plataforma para capturar proteínas recombinantes en ELISA. Este desarrollo abre una nueva perspectiva para los ELISA basados en proteínas recombinantes, ya sea que se emplea para un anticuerpo o un antígeno.

“El ELISA para la detección del antígeno rábico que estamos desarrollando utiliza un fragmento variable monocatenario (scFv) derivado de un anticuerpo monoclonal que es producido en bacterias”, señaló Capozzo y agregó: “La proteína scFv conserva la especificidad de la inmunoglobulina original, por lo que es usada como captura y revelador, conjugado a peroxidasa, en un sistema llamado comúnmente, ELISA en sándwich”.

“Este desarrollo abre una nueva perspectiva para los ELISA basados en pro-



La foto del año 1978, perteneciente a una investigación de Alberto Roseto, corresponde a una primera prueba de rotavirus con los anticuerpos monoclonales.

teínas recombinantes. Con este invento se facilitará su producción, a costos competitivos", puntualizó Capozzo.

Test ELISA o "ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas" es una técnica de laboratorio que permite detectar proteínas en una placa que pueden ser antígenos derivados de patógenos, presentes en tejidos o en sangre, o bien anticuerpos que se encuentran en la sangre cuando ya se produjo una reacción inmune a un virus o patógeno en el organismo.

ra, especialista del Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas del CICVyA del INTA, y agregó: "Mientras que los animales que están vacunados no tienen anticuerpos contra esas proteínas, ya que las vacunas tienen el virus inactivado y por lo tanto no se replica en el animal".

El virus de la fiebre aftosa (VFA o FMDV, según sus siglas en inglés) pertenece al género *Aphthovirus*, dentro de la familia *Picornaviridae*. Todos los virus de esta familia están formados por cápsides proteicas – cubiertas que sirven para proteger el material genético y le dan resistencia – con estructura icosaédrica – poliedros de 20 caras –, en cuyo interior está contenido el material genético. El virus está clasificado en siete serotipos (A, O, C, Asia1, SAT-1, SAT-2, SAT-3), cuya presencia en el mundo varía según la región geográfica. Dentro de cada serotipo existen diferentes cepas y la inmunidad contra una determinada cepa puede no ser eficaz contra cepas de otros serotipos, y aun para cepas dentro del mismo serotipo.



Desde una perspectiva terapéutica, el uso de los anticuerpos monoclonales es similar al de la terapia con plasma de convalecientes.

#### FIEBRE AFTOSA: USOS EN EL DIAGNÓSTICO Y ESTUDIO DE LA INMUNIDAD

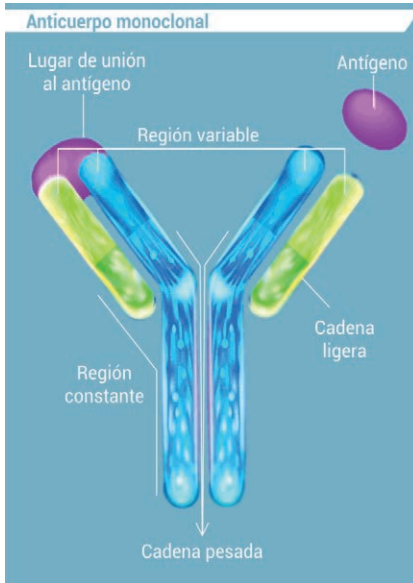
En la actualidad, la Argentina es un país libre de fiebre aftosa reconocido por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, según la sigla en inglés). Sin embargo, las investigaciones vinculadas al desarrollo de vacunas y de test diagnósticos para la detección de diversas cepas o la diferenciación de animales infectados de vacunados, continúa.

En este sentido, un equipo de investigadores de los Institutos de Virología y de Biotecnología del INTA desarrollaron un anticuerpo monoclonal contra una proteína no estructural del virus de la aftosa. Entre otros usos, este monoclonal es un elemento clave dentro de un test diagnóstico capaz de diferenciar animales vacunados de animales infectados.

"Esta estrategia se basa en el hecho de que solo los animales que están infectados desarrollan anticuerpos contra las proteínas no estructurales del virus, las cuales se producen exclusivamente cuando el virus está replicando y es infeccioso", expresó Mariano Pérez Filgueira,

"El virus de la aftosa es muy variable, por lo que es importante saber qué cepa está circulando y cuáles se utilizan para diseñar una vacuna", explicó Pérez Filgueira quien coordina el proyecto de Inmunidad y Patogenia en Salud Animal del INTA, integra el Consejo Directivo de la Sociedad Argentina de Virología (SAV) y es el Presidente del XIII Congreso Argentino de Virología 2021.

Asimismo, los anticuerpos monoclonales pueden también servir para diferenciar las diversas cepas del virus que existen e identificar, por ejemplo, las que circulan en el campo. "Gracias a los avances tecnológicos y a la colaboración del doctor José La Torre y su equipo, en el Centro de Virología Animal (CEVAN) del Conicet se pudo construir una colección de más de 80 anticuerpos monoclonales diferentes que sirven para identificar distintas cepas virales", puntualizó Pérez Filgueira y añadió: "Entre otras cosas, estos anticuerpos permiten controlar las cepas del virus con las cuales se formulan las vacunas comerciales, identificar aquellas que pudieran ser aisladas a campo y, además, son componentes críticos de los ensayos de ELISA que usa el Senasa para verificar, a nivel poblacional,



la eficacia de las campañas de vacunación anti-aftosa en nuestro país”.

“Actualmente en investigación se dispone de una batería de anticuerpos monoclonales específicos contra determinados tipos celulares o moléculas del sistema inmune que nos permiten caracterizar con detalle los tipos de respuesta inmune que se generan”, indicó el coordinador del INTA quien detalló que se utilizan anticuerpos monoclonales cuando se busca identificar células del sistema inmune involucradas en determinadas respuestas o células que se generan frente a una inmunización, incluso se puede identificar en qué estadios del desarrollo o de activación están.

De hecho, el grupo de trabajo de Pérez Filgueira en el IVIT desarrolló una técnica basada en un anticuerpo monoclonal contra el IFN- $\gamma$  bovino para medir la respuesta inmune contra el VFA en los animales vacunados y evaluar distintas formulaciones: “El ensayo se basa en el mismo principio que los que se usan para diagnosticar tuberculosis bovina, solo que en este caso la detección del interferón gamma en las muestras de sangre bovina incubadas *in vitro* con virus de la fiebre aftosa inactivado nos sirve para cuantificar la inmunidad celular desarrollada contra el virus en los animales, luego de la vacunación”.

“Los anticuerpos monoclonales son considerados uno de los descubrimientos que cambiaron el destino de la inmunología y de las aplicaciones clínicas y terapéuticas”, enfatizó Pérez Filgueira y ponderó: “No se me ocurren muchos otros desarrollos que hayan tenido semejante impacto. Los anticuerpos monoclo-

nales se utilizan en animales, en plantas y en humanos; el abanico es inmenso”.

## PARA IDENTIFICAR AL MAL DE RÍO CUARTO

En la Argentina, el Mal de Río Cuarto (MRC) es la enfermedad viral más importante del maíz (*Zea mays* L.) porque ocasiona importantes pérdidas económicas, ya sea por la disminución de la producción de granos o por la reducción de la biomasa para ensilaje o diferidos.

Mariana del Vas, bióloga, especialista en virología y biotecnología vegetal del Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular del INTA, busca entender las bases moleculares, bioquímicas y celulares de la replicación viral para luego diseñar estrategias biotecnológicas de manejo de la enfermedad. Para eso, su equipo de trabajo obtuvo y seleccionó un tipo particular de anticuerpos monoclonales, denominados nanoanticuerpos, que presentan una altísima afinidad por proteínas no estructurales del virus que son necesarias para la replicación viral.

“Debido a que están hechos a partir de la selección de aquellos que, por ejemplo, tienen mayor capacidad de neutralizar a un determinado virus, son como una bala teledirigida” (O. Taboga).

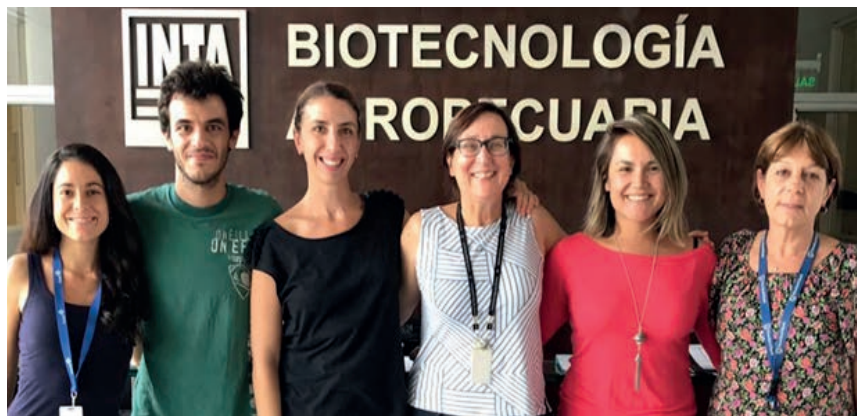
Los nanoanticuerpos, también llamados VHH o ‘nanobodies’ (en inglés) son los dominios variables derivados de un tipo de anticuerpo que carece de cadena liviana presente en camélidos (camellos, llamas, alpacas, guanacos y vicuñas), y son 10 veces más pequeños que los anticuerpos convencionales de mamíferos.

“En colaboración con Viviana Parreño –coordinadora científica de la plataforma Incuinta– y Serge Muyldermans –de la Universidad Libre de Bruselas– hemos obtenido y seleccionado nanoanticuerpos dirigidos contra el virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) y los utilizamos para desarrollar un kit de ELISA para diagnosticar la presencia del virus, tanto en plantas de maíz como en el insecto que lo transmite”, señaló Del Vas y explicó: “Además, en un futuro esperamos expresar estos nanoanticuerpos en plantas transgénicas para interferir con la replicación viral y lograr resistencia. Las propiedades de los nanoanticuerpos (pequeño tamaño, alta afinidad y estabilidad) los hacen instrumentos ideales para este propósito”.

De acuerdo con un informe del Senasa, en el área endémica (departamento Río Cuarto, provincia de Córdoba), la enfermedad se presenta en forma recurrente todos los años con distintos grados de severidad, según sea la densidad poblacional de su insecto-vector (*Delphacodes kuscheli*) conocido vulgarmente como ‘chicharrita’.

### Más información:

Oscar Taboga [oscaralberto@inta.gov.ar](mailto:oscaralberto@inta.gov.ar);  
Fabiana Bigi [bigi.fabiana@inta.gov.ar](mailto:bigi.fabiana@inta.gov.ar); Alejandra Capozzo [caipozzo.alejandra@inta.gov.ar](mailto:caipozzo.alejandra@inta.gov.ar); Mariano Pérez Filgueira [perez.mariano@inta.gov.ar](mailto:perez.mariano@inta.gov.ar);  
Mariana Del Vas [delvas.mariana@inta.gov.ar](mailto:delvas.mariana@inta.gov.ar)



Mariana Del Vas (cuarta de izq. a der.) junto al equipo de investigación del Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular del INTA.





## Fertilización, una variable crucial para evitar que el suelo se agote

Según el INTA, solo un 30 % de los nutrientes que se extraen de los suelos cultivados se reponen mediante el uso de fertilizantes. Esto implica un deterioro del recurso natural y de los servicios ecosistémicos que brindan. Los especialistas alertan sobre este riesgo y recomiendan una fertilización racional y eficiente, sin faltantes ni excedentes.

POR LAURA PÉREZ CASAR

Los suelos son una importante reserva de biodiversidad mundial, que permite la agricultura y la seguridad alimentaria, regula las emisiones de gases de efecto invernadero y promueve la salud de las plantas, los animales y los seres humanos. Sin ellos, el mundo no sería el mismo.

Así los describe la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) y no deja de alertar que cuando se explotan sin restablecer la materia orgánica y el contenido de nutrientes, el ciclo de elementos nutritivos se rompe, la fertilidad del suelo disminuye y el equilibrio del agroecosistema se destruye.

Marcelo Beltrán, agrónomo del Instituto de Suelos del INTA Castelar, se refirió a esta advertencia de la FAO y confirmó que, "en la Argentina solo un 30 % de los nutrientes que se extraen de los suelos cultivados se reponen mediante el uso de fertilizantes".

"Desde hace varios años, los suelos de la región pampeana han sufrido un intenso agotamiento de nutrientes como consecuencia de una prolongada historia agrícola", detalló Beltrán para quien el problema se agrava con el uso de variedades de cultivos de alto rendimiento, que demandan mayor cantidad de nutrientes.

En esta línea, Alberto Quiroga, especialista del INTA Anguil –La Pampa–, agregó: "La intensificación ganadera, con cosecha mecánica de forraje y traslado

a corrales, triplicó la tasa de extracción de algunos nutrientes". Y fue más allá al asegurar que "su concentración en corrales y efluentes de tambos acentúa los riesgos de contaminación".

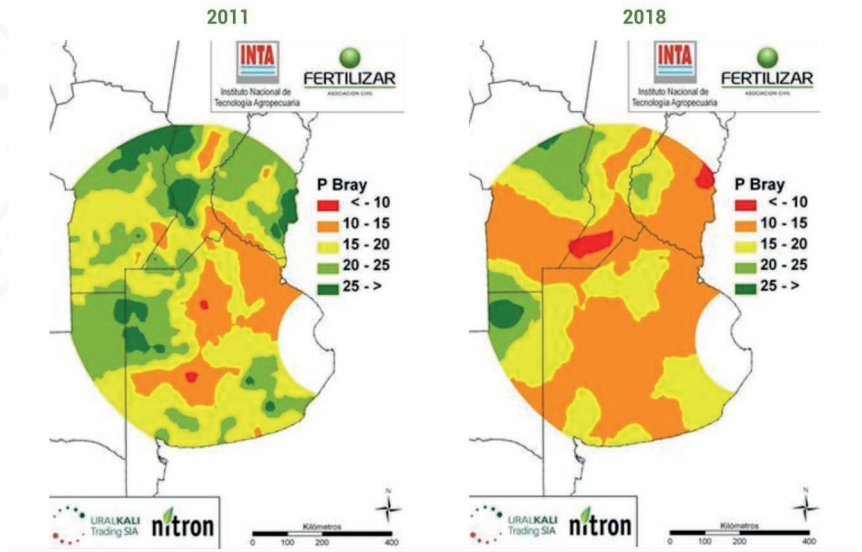
Así es que, ambos investigadores reconocen que, desde la década de 1990 y como consecuencia de procesos de erosión de los suelos y la remoción de nutrientes sin reposición por fertilización, los suelos comenzaron a mostrar síntomas del empobrecimiento en nutrientes y reducciones en los contenidos de materia orgánica.

Por su parte, Hernán Sainz Rozas, especialista en fertilidad de suelos y fertilización de cultivos del INTA Balcarce –Buenos Aires–, fue más allá y aseguró que los niveles actuales en toda la región Pampeana muestran valores entre un 30 y 40 % menores respecto a los suelos en condición originaria. Una condición que genera problemas físicos (estabilidad

**En la Argentina,  
solo se reponen el 30 %  
entre los nutrientes  
que se extraen de los  
suelos cultivados.**

P-Bray

Los suelos de la región pampeana son entre un 30 y 40 % menos fértiles respecto a su condición originaria.



estructural y mayor riesgo de erosión) y menor disponibilidad de nutrientes, particularmente de nitrógeno y azufre.

En tanto, los niveles actuales de P-Bray son menores a 15 mg kg<sup>-1</sup> (0-20 cm de profundidad) en una vasta superficie de la región pampeana, y en los últimos siete años, este problema se agravó. Esto indica que los niveles actuales de reposición de fósforo (vía aplicación de fertilizantes) están por debajo de la extracción en productos agrícolas (granos, carne, leche, etc.).

Respecto del pH, el especialista dijo que "hubo un cambio negativo, que se refleja en la disminución de los valores

de pH del suelo, sobre todo al norte y este de la región Pampeana, donde se registran preocupantes niveles de pH". En casos graves de acidificación, aun no alcanzados en la región, en los suelos con pH por debajo de cinco comienza a liberarse aluminio y esto resulta tóxico para las plantas.

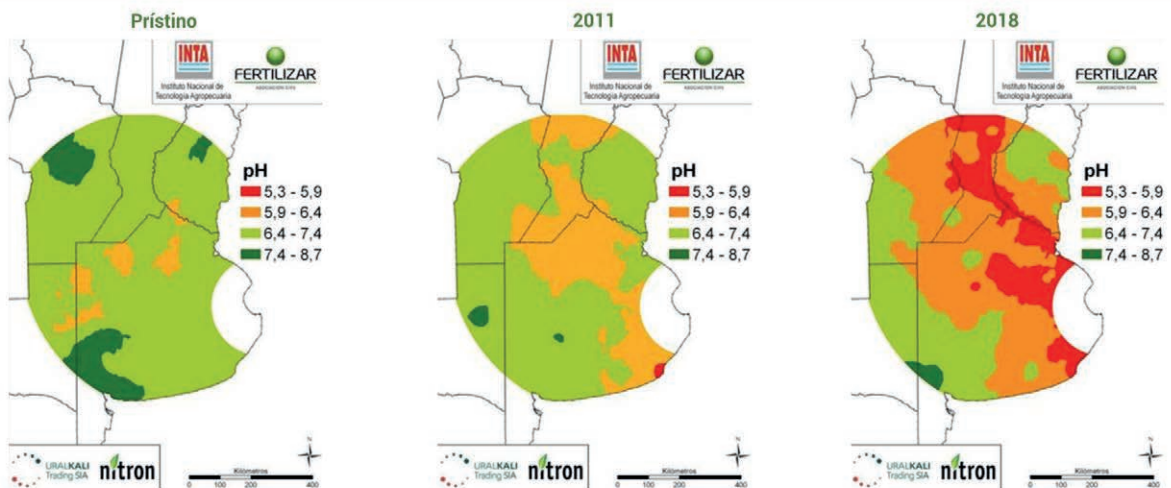
Además, la acidez provoca consecuencias sobre diferentes procesos biológicos y químicos que ocurren en el suelo. "En problemas graves de acidez, se recomienda la aplicación de calcita (carbonato de calcio) o dolomita (carbonato de calcio y magnesio)", sugirió Sainz Rozas.

**MEJOR MANTENER QUE RECUPERAR**

Para Quiroga, "que hoy tengamos más de un 30 % de suelos degradados o bajo procesos de degradación donde se ha roto la relación del ecosistema por la presión antrópica preocupa, porque en estos sistemas algunos de los efectos pueden ser irreversibles. El suelo que se perdió no vuelve".

Y agregó "es más fácil mantener la salud de un suelo que recuperar un suelo degradado, que frecuentemente condiciona la rentabilidad". Es que, la degradación física de los suelos por pérdida de materia orgánica puede afectar la capta-

pH



Distribución y evolución de los niveles de pH (0-20cm) en suelos de la región pampeana Argentina

ción del agua, dar lugar a encharcamientos, escurrimientos y dificultar el acceso a los nutrientes por parte de los cultivos.

Un reciente informe de la Asociación Civil Fertilizar aseguró que el consumo de fertilizantes en 2020 registró un récord con 5 millones de toneladas y superaría el 7 % interanual. Pero, para Beltrán estas cifras si bien son alentadoras, aún resultan insuficientes.

“En la Argentina, las relaciones aplicación/extracción en grano de nitrógeno, fósforo, potasio y azufre para los cultivos de grano han mejorado durante los últimos años, pero los balances de nutrientes siguen siendo negativos”, señaló Beltrán quien subrayó que, en el país, en general, se subfertiliza.

“Esto implica una pérdida de fertilidad interanual que repercute en los rendimientos, en la sostenibilidad de los sistemas productivos y en la conservación de los recursos naturales”, agregó, con preocupación, el investigador de INTA Castelar.

Para lograr la sustentabilidad de sistemas agrícolas, Beltrán consideró de vital importancia implementar rotaciones de cultivos que generen un balance positivo de la materia orgánica del suelo en el mediano plazo. Así, se podrá mejorar la calidad del suelo, lo que se traducirá en planteos menos riesgosos y más rentables para el productor y favorables para la salud ambiental.

### NUTRIENTES, EN SU JUSTA MEDIDA

Los recursos se extraen en mayor medida de lo que se reponen, lo que genera

## Tomar conciencia, la ley primera

“En general, los productores no perciben como un problema la disminución del contenido de materia orgánica en los suelos”, destacó Marcelo Beltrán. Es que la tecnología que se emplea en la agricultura moderna de alta producción permite mantener, o incluso, incrementar los rendimientos de los cultivos, a pesar de la degradación de los suelos.

Como si esto fuera poco, además, está naturalizada la capacidad productiva de las tierras en el país. Pero, para el investigador, “la calidad natural de los suelos tiene límites y sobrepasarlos implica que su vulnerabilidad se vuelva crítica”. De allí, la importancia de tomar conciencia de los riesgos y marcar la diferencia.

Ya sea mediante la generalizada subfertilización o por un uso excesivo de las aplicaciones de nutrientes es posible generar un daño irreversible en los recursos naturales y de los servicios ecosistémicos que brindan. Desde el INTA remarcan que los fertilizantes son una variable crucial que demanda eficiencia, toma de conciencia y responsabilidad por parte de los productores.

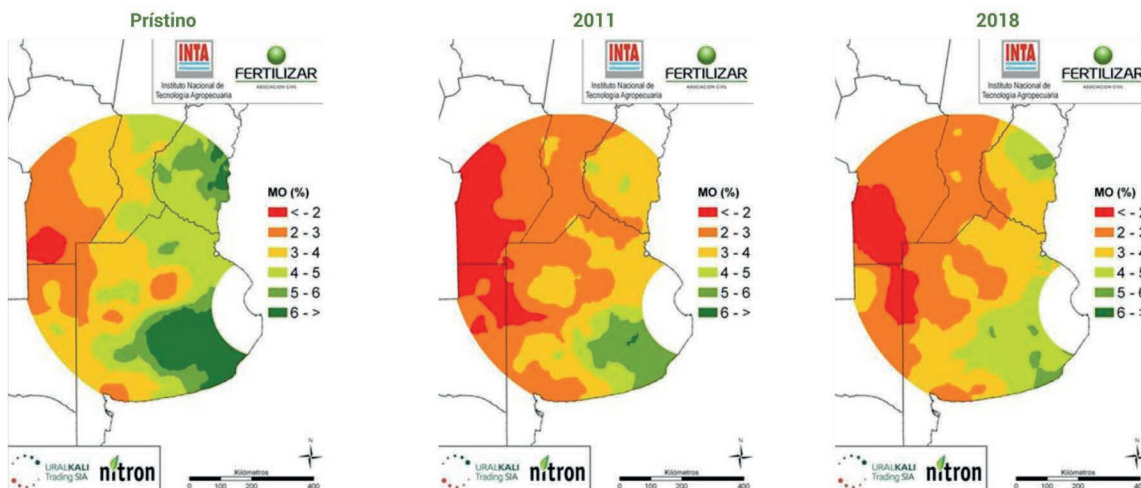
grandes riesgos vinculados a la sostenibilidad de los sistemas productivos, a la productividad de los suelos y, finalmente, en la soberanía alimentaria. No actuar a tiempo puede traer consecuencias irreversibles a corto plazo.

Ahora bien, ¿Qué hacer ante este escenario? ¿Cómo saber los nutrientes que se extrajeron y son necesarios reponer y cuáles no? ¿Hay riesgos en subfertilizar? ¿Hay recetas eficientes? Y, si se generan excesos en las cantidades, ¿hay consecuencias o quedan reservados en el suelo para otras temporadas?

Antes de tomar cualquier decisión, la primera recomendación es realizar un análisis de suelo del lote. “Es necesario que cada productor cuente con un análisis de suelo de calidad para conocer el estado nutricional de los lotes en particular y, así, poder llevar a cabo un manejo racional de la fertilización”, remarcó Sainz Rozas.

Y, en un contexto de fuerte incremento en el precio de los fertilizantes, el especialista planteó la necesidad de desarrollar estrategias de manejo que maximicen su eficiencia de uso. Para nutrientes de alta movilidad en el suelo, desde el

### Materia Orgánica



Distribución y evolución de los niveles de MO (0-20cm) en suelos de la región pampeana Argentina



Si bien el consumo de fertilizantes en 2020 registró un récord, en la Argentina aún se subfertiliza.

INTA recomiendan realizar un monitoreo de los cultivos a fin de detectar alertas con tiempo y actuar en consecuencia.

En esta línea, el investigador del INTA Balcarce se refirió a las metodologías basadas en el análisis directo de los mismos en los tejidos y las indirectas basadas en el uso de sensores de canopeo, tales como el análisis de reflectancia o transmitancia de la radiación fotosintéticamente activa. "Para los demás nutrientes no se cuenta con información calibrada localmente, por lo que el análisis de suelo es aún más relevante", subrayó.

A su vez, los especialistas reconocen la necesidad de conocer los niveles de pH del suelo que pueden ocasionar problemas en la disponibilidad de algunos micronutrientes, realizar franjas exploratorias mediante ensayos simples y con pocos tratamientos. También es importante realizar eventos científicos que arrojen más información en este aspecto y siempre consultar con especialistas.

La calidad natural de los suelos tiene límites y sobrepasarlos implica que su vulnerabilidad se vuelva crítica.

"Cada nutriente tiene una dinámica distinta", reconoció Beltrán. En este sentido, detalló que el nitrógeno es mucho más móvil en el suelo y se pierde a capas profundas del suelo con fuertes lluvias, el fósforo es más inmóvil y puede retenerse en el suelo por lo que si se aplica de más se mantiene y se enriquece el suelo, salvo que se pierda por erosión.

"Los cultivos de cobertura aparecen como una opción que permite mejorar el balance de nutrientes y carbono en el suelo", indicó y agregó que los suelos en los que predominan las rotaciones con gramíneas sin cultivos de cobertura presentan una mayor disponibilidad de cinc (Zn) y manganeso (Mn).

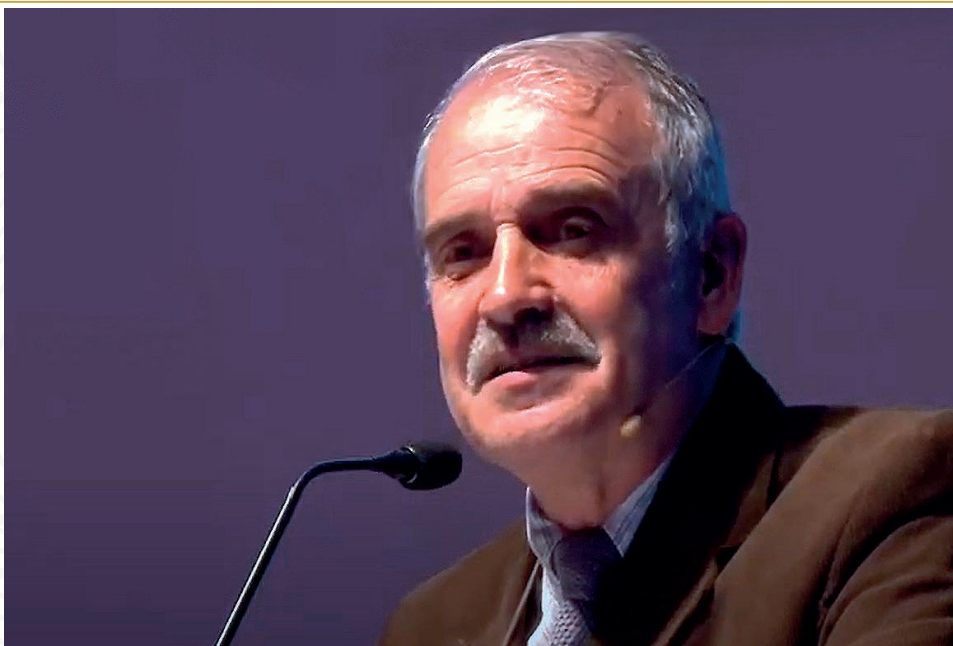
En cuanto a la fertilización de cultivos de cobertura, esta práctica depende del objetivo que tiene el productor. "Si el objetivo es retener los nutrientes que dejaron los cultivos antecesores y lograr un aporte de carbono, básicamente no conviene realizar aplicaciones y, más bien, permitir que el cultivo de cobertura absorba la cantidad de nutrientes disponible para proveérselos al cultivo siguiente", planteó Beltrán.

Por el contrario, si el objetivo del cultivo de cobertura es ingresar más carbono y aprovecharlo para hacer un pastoreo, sí es conveniente hacer aplicaciones de fertilización para asegurar un buen nivel de productividad.

Por último, Beltrán subrayó que, si bien en general se subfertiliza, también hay casos en los que se registran excesos que, en mayor o menor medida, impactan en los recursos naturales suelo y agua con contaminaciones en las napas o cursos de agua. Para evitar esto, reiteró "la importancia de ser eficientes y realizar un monitoreo continuo de los suelos".

**Más información:**

Marcelo Beltrán [beltran.marcelo@inta.gov.ar](mailto:beltran.marcelo@inta.gov.ar);  
Hernán Sainz Rozas [sainzrozas.hernan@inta.gov.ar](mailto:sainzrozas.hernan@inta.gov.ar);  
Alberto Quiroga [quiroga.alberto@inta.gov.ar](mailto:quiroga.alberto@inta.gov.ar)



## “La intensificación es compatible con el cuidado ambiental”

El investigador Fernando Andrade plantea la necesidad de planificar los agroecosistemas para satisfacer las futuras demandas de productos de la agricultura y reducir el impacto ambiental de la actividad. La premisa destaca la importancia de asegurar la provisión de servicios ecosistémicos y beneficios socioeconómicos esenciales para la sociedad.

POR MARIO MIGLIORATI

Es el primer agrónomo en recibir el Premio Investigador de la Nación, la distinción más importante para un científico. Con una extensa y reconocida trayectoria en docencia e investigación nacional e internacional, en diálogo con Revista RIA destaca la necesidad de “satisfacer futuras demandas y reducir el impacto ambiental de la actividad agrícola”. Y sostiene que esto es posible y que “hay conciencia” de que “la intensificación es compatible con el cuidado ambiental”.

Andrade valora el hecho de generar “conciencia” acerca de la necesidad de romper la asociación entre producción y degradación ambiental para avanzar “en el diseño de agroecosistemas que permitan satisfacer las futuras demandas de productos agrícolas sin comprometer el ambiente”.

Ingeniero agrónomo desde hace 35 años, con un doctorado en los Estados Unidos, investigador de INTA y CONICET, y profesor titular de Ecofisiología de Cultivos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata, centró sus estudios en el conocimiento de las bases ecofisiológicas determinantes del crecimiento y rendimiento de los cultivos en Argentina. Su actuación en estos ámbitos le valió ser considerado un referente por contribuir a la conformación de grupos de investigación en Ecofisiología de cultivos en distintas regiones del país.

En su último libro *Los desafíos de la agricultura global*, que se conocerá durante la publicación de esta entrevista, reflexiona que “una mirada sobre el pasado puede ayudarnos



a comprender nuestro potencial creativo y a motivarnos para enfrentar los problemas que se nos presentan". Y una mirada prospectiva "ayuda a dimensionar la tarea que es necesario encarar y a identificar las vías para encontrar soluciones". En ese orden, destaca que "nuestras capacidades innatas de innovación y cooperación deber cumplir un rol fundamental en alcanzar los objetivos de satisfacer la demanda futura de alimentos, cuidar el ambiente y erradicar la pobreza". La publicación también recoge las discusiones y elaboraciones sobre los desafíos en cuanto a romper la asociación entre producir y degradar. Donde considera que entre las estrategias a implementar se destacan aquellas basadas en tecnologías de procesos y de conocimientos que tienden a mayor producción, mayor productividad de recursos e insumos disponibles y menor impacto ambiental.

Con una intensa trayectoria en extensión y transferencia de conocimientos al medio productivo, a través de trabajos científicos, libros, publicaciones de difusión, conferencias, jornadas de campo y talleres, asume que como tales expresan su deseo de "contribuir en proteger y fomentar la innovación y promover la colaboración".

Recientemente fue premiado como Investigador de la Nación Argentina de manos del presidente de la Nación. Se trata del máximo galardón que otorga el sistema científico nacional donde se consideró que ha demostrado y producido nuevos conocimientos y desarrollado innovaciones de impacto social y productivo, sumado al haber promovido la transferencia de conocimiento y la formación de recursos humanos. En este sentido, ¿qué representa para usted esta distinción?

Fue una sorpresa muy grata y un enorme honor. Si bien estaba en conocimiento que se me había propuesto al premio Houssay Trayectoria, por parte de José Luis Bodega, decano de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata, nunca pensé en que sería distinguido como Investigador de la Nación. Debo este reconocimiento al INTA, a la Universidad Nacional de Mar del Plata y al CONICET, instituciones en las que me desempeño. Y deseo expresar toda mi gratitud hacia mis colegas y mis estudiantes de posgrado con quienes, a lo largo de todos estos años, he compartido trabajos de investigación, tesis, esfuerzos y entusiasmo por aprender.

Hay un deseo que seguramente ha motivado su recorrido como docente e investigador...

Recuerdo que desde mi etapa de estudiante imaginaba trabajar en un ambiente rico en ideas en el que se pudiera disfrutar, como en algún momento escuché decir: "Los deliciosos

sobresaltos del aprendizaje". Y esto fue posible en un ámbito como la Unidad Integrada Balcarce (UIB), al que me inserté al poco tiempo de regresar de los Estados Unidos, donde convergen la docencia, la investigación y la extensión de una manera muy virtuosa.

Como especialista en ecofisiología de cultivos ha señalado en sus presentaciones que, como disciplina, trata de entender cómo funcionan los cultivos e interactúan con el ambiente. En ese orden, ¿qué conocimientos aporta la ecofisiología para brindar respuestas a la producción agrícola?

Tal como señalaste, la ecofisiología estudia el funcionamiento del cultivo en interacción con el ambiente y esto, a su vez, en relación con la productividad. Si entendemos cómo un cultivo crece, cómo avanza por sus diferentes etapas, y cuáles son los momentos más críticos para la determinación del rendimiento, podemos manejarlo mejor a través de la adecuación de la densidad de siembra, la fecha de siembra, el espaciamiento entre hileras, la elección del cultivar, la fertilización, el riego, el control de adversidades, entre otros aspectos. Para dar un ejemplo concreto, si se conoce cuál es el período más crítico para la determinación del rendimiento en un cultivo, podemos orientar su manejo con el fin de optimizar el estado fisiológico de dicho cultivo en ese preciso momento.

Es una disciplina integradora de muchas otras disciplinas que, además, permite saltos a mayores niveles de complejidad. Aporta conocimientos claves para aumentar la eficiencia de uso de recursos e insumos, reducir impacto ambiental y rediseñar sistemas de producción.

En su extensa trayectoria se pueden recuperar sus contribuciones referidas a la necesidad de romper la asociación entre producción y degradación ambiental, con estudios conducentes a promover la realización de prácticas orientadas a cuidar al ambiente, donde es posible situar el concepto de intensificación agrícola sostenible. ¿Qué representa esta noción?

Antes de responder, quiero presentar una breve introducción sobre los problemas que enfrenta el mundo en relación con la producción y el ambiente. La producción de alimentos satisfizo la creciente demanda con muestras asombrosas de capacidad de innovación. No obstante, el crecimiento exponencial de todas las actividades humanas y del uso de los recursos naturales en las últimas décadas, sumado a lo limitado de los bienes planetarios, causaron exralimitaciones con importantes efectos en la naturaleza. No estamos realizando una buena gestión de nuestro hábitat ni de los servicios ecosistémicos. Los efectos resultantes, como el calentamiento global, la de-

gradación de suelos, la desertificación, la deforestación, la pérdida de biodiversidad, la contaminación y la escasez de agua azul, comprometen la futura seguridad alimentaria. Y la producción agropecuaria, una de las principales actividades humanas, tiene una alta responsabilidad en el impacto ambiental global, comprometiendo los recursos y la futura producción de alimentos en cantidad y calidad.

En este sentido, la intensificación sostenible propone satisfacer de manera sana, continua, rentable y equitativa las crecientes necesidades de la población mundial, haciendo un uso eficiente y seguro de los recursos naturales y de los insumos externos, de tal manera que se aseguren los servicios ecosistémicos para las generaciones presentes y futuras. Y, en pocas palabras, el gran desafío que hoy enfrentamos es satisfacer las futuras demandas y reducir simultáneamente el impacto ambiental.

### Y dónde debe ponerse mayor énfasis para aumentar la producción...

Los aumentos de la producción global no deberían basarse en la expansión de la superficie cultivada como ocurrió principalmente durante el siglo XIX y primera mitad del siglo XX. Sabemos que esto resultó en pérdidas de biodiversidad y hábitats, emisiones de gases de efecto invernadero, excesos hídricos y exposición de tierras frágiles a procesos de degradación. Los mayores esfuerzos para incrementar la producción deberán enfocarse en la intensificación del uso de la tierra. Pero este uso no debe basarse primariamente en un mayor uso de insumos, como ya sucedió durante la segunda mitad del siglo XX produciendo contaminación y degradación del ambiente. Debe centrarse en estrategias que integren tecnologías que permitan detener o revertir el daño ambiental y hacer un uso más eficiente de los recursos e insumos. Entre estas estrategias están ciertas tecnologías duras y, sobre todo, de procesos y conocimientos. Los conocimientos del ambiente, el funcionamiento de los cultivos, la biología de plagas y las interac-

ciones en el agroecosistema, son de gran utilidad para orientar los procesos de manejo del suelo, de los cultivos pasturas y pastizales, y de las plagas.

### ¿Estamos avanzando en estos objetivos?

Hay progresos mundiales y locales, pero no son suficientes. En los años transcurridos a partir del año 2010, la producción mundial de alimentos creció acorde con las pasadas proyecciones e incluso las superó. No obstante, las metas de reducción de impacto ambiental no se están cumpliendo a nivel global, a juzgar por el uso creciente de fertilizantes, el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero, la expansión del área cultivada, la deforestación y la pérdida de biodiversidad. El uso de plaguicidas y las extracciones de agua azul también se incrementaron en los últimos años, pero con signos de desaceleración. Estos indicadores deben incentivarlos a redoblar nuestros esfuerzos para alcanzar las elusivas metas ambientales.

### ¿Cuál es el diagnóstico para Argentina frente a otros países?

Los problemas difieren entre regiones y países. En Argentina, por ejemplo, se utiliza por unidad de superficie cultivada menos de la mitad de fertilizante y más del doble de plaguicida en comparación con el promedio mundial. En algunos países como China, el nivel de fertilización y de contaminación es muy alto, y en otros como Argentina, los niveles de reposición de los nutrientes extraídos del suelo por los cultivos son bajos, lo que resulta en caídas de materia orgánica y fertilidad de los suelos. Ambos sistemas no son sostenibles. Por este tema recomiendo la lectura de los trabajos de Hernán Sainz Rozas y Fernando García (Unidad Integrada Balcarce).

Actualmente estamos colaborando con el grupo de Patricio Grassini y de Juan Pablo Monzón (Universidad de Nebraska, Estados Unidos) en relación con este problema de la producción argentina. Y para consultar acerca de los progresos de



Fernando Andrade recibiendo la distinción de Investigador de la Nación de manos del presidente Alberto Fernández.



Andrade acompañado por Susana Mirassou, presidenta del INTA, y Daniel Antenucci, vicerrector de la Universidad Nacional de Mar del Plata.



“El gran desafío que hoy enfrentamos es satisfacer las futuras demandas y reducir simultáneamente el impacto ambiental”.

la agricultura en el país en distintos aspectos que hacen a la sostenibilidad, recomendando la lectura de un trabajo recientemente publicado en Ciencia Hoy, en el que colaboré con Emilio Satorre.

En su libro *Los desafíos de la agricultura argentina* y en otro que pronto será publicado, *Los desafíos de la agricultura global*, plantea una continuidad en cuanto a la necesidad de romper la asociación entre producción y degradación ambiental, planificando los agroecosistemas. ¿Cómo es posible avanzar en esta línea con los actores involucrados de manera tal de satisfacer las futuras demandas de productos agrícolas?

Para avanzar en esta línea se requiere de nuestras capacidades innatas de innovación y colaboración. Si la protegemos, la innovación humana es inevitable, impredecible, acumulativa, exponencial y disruptiva. La evolución de los procesos de innovación en el agro rescata la virtud de la cooperación. El primer modelo fue el de la ciencia que empuja y genera las innovaciones. Pero los conocimientos generados por la ciencia en el laboratorio o en la estación experimental no necesariamente resultaban en innovaciones, debido a la atenuación de los efectos de los factores individuales y la magnificación de las interacciones al subir en la escala de complejidad. Este modelo de innovación no contemplaba apropiadamente la realidad de la producción agropecuaria, que es mucho más compleja que lo que el laboratorio o el campo experimental pueden abarcar. En respuesta a estas limitaciones surgió el segundo modelo de innovación, motorizado por la demanda que tracciona. Pero si dicho proceso se centra en o se limita a identificar demandas del medio, sin prestar la debida atención a la investigación de calidad, es altamente probable que las soluciones lleguen tarde, sean inadecuadas, o no incluyan innovaciones radicales. Por eso, comenzaron a desarrollarse nuevos enfoques como el modelo interactivo de innovación que intentan superar las limitaciones indicadas.

#### ¿En qué se sustenta el modelo interactivo de innovación?

Se fundamenta en la articulación de investigación, extensión y comunidad para conformar sociedades que aprenden y se adaptan a través del sinergismo de la interacción entre actores, visiones y disciplinas. Este modelo requiere de investigación de calidad y extensión de calidad, y marca la importancia de generar ambientes participativos efectivos. Esto lo he aprendido en el INTA. Tenemos ejemplos exitosos de aplicación de este modelo. Desde la Unidad Integrada Balcarce participamos en un proceso de interacción con excelentes asesores extensionistas como Pablo Calviño y productores de la zona de Tandil –provincia de Buenos Aires- para contribuir al desarrollo de la agricultura por ambientes, estrategia que resultó en notables

“Si la protegemos, la innovación humana es inevitable, impredecible, acumulativa, exponencial y disruptiva”.

## “Alcanzar las metas de producción sostenible requiere del compromiso de toda la población”.

incrementos en productividad sin aumentar el uso de insumos externos. Otro ejemplo en nuestra zona lo constituye el ensayo de intensificación sostenible y de agroecología que se desarrolla en la Chacra Experimental Miramar –Iráyzoz– del Ministerio de Desarrollo Agrario de la provincia de Buenos Aires, bajo la conducción de Leandro Pontaroli y en el cual colaboran de manera muy virtuosa y efectiva el INTA, universidades de la región, productores, empresas, y asociaciones de productores.

La tarea de reducir el impacto ambiental, al mejorar las prácticas en cultivos extensivos, no se da por impulso voluntario, sino que requiere de conocimientos, esfuerzos e inversión. ¿Es posible pensar en estimular voluntades y generar incentivos desde el Estado para los productores que acompañen estas instancias productivas? ¿Qué se vislumbra para los próximos años para los países que puedan asegurar productos compatibles con la intensificación y, a su vez, el cuidado del ambiente?

Alcanzar las metas de producción sostenible requiere del compromiso de toda la población. Requiere, por lo tanto, una sólida estructura científica tecnológica, políticas, incentivos y regulaciones adecuadas, inversiones en infraestructura, extensión y transferencia, monitoreo ambiental, desarrollo de buenos indicadores, cambios organizacionales, y, sobre todo, vigorosos esfuerzos por la educación y la capacitación de la población en materia de sostenibilidad. Además, nuestras aproximaciones deben ser multidisciplinarias e integradoras, ya que los problemas que enfrentamos son sistémicos y complejos y las interacciones determinan efectos de mayor magnitud que la suma de los efectos individuales. Y frente a la pregunta: “¿Qué se vislumbra para los países que avanzan en estos objetivos?” Por un lado, beneficios comerciales ya que los mercados van a exigir cada vez más producciones sostenibles y, por otro, mejores servicios ecosistémicos.

El control social sobre los efectos de la actividad productiva es una permanente demanda hacia el Estado, pero también para los organismos de ciencia y técnica. ¿Cuáles son los puntos de encuentro y divergencia que plantean la visión agroecológica con la intensificación sostenible desde el debate científico?

Una mayor producción de alimentos para satisfacer futuras necesidades y mejores servicios ecosistémicos no necesariamente son mutuamente excluyentes. Ambos objetivos pueden lograrse por medio de la aplicación de un conjunto de prácticas o tecnologías enmarcadas en una estrategia adecuada. No hay una única combinación de tecnologías para estos fines. Los diferentes caminos hacia la intensificación sostenible, en tanto manifiestan una preocupación por la producción y los impactos ambientales, tienden a la complementación y a la convergencia.

Existen diferentes aproximaciones y caminos para alcanzar una mayor sostenibilidad de los agroecosistemas. La intensi-



“Una mayor producción de alimentos para satisfacer futuras necesidades y mejores servicios ecosistémicos no necesariamente son mutuamente excluyentes”.

Es erróneo, porque los pequeños productores se pueden beneficiar mucho. Los conocimientos del ambiente, del funcionamiento de los cultivos, de la biología de plagas y de las interacciones en el agroecosistema son de gran utilidad para orientar los procesos de manejo del suelo, de los cultivos y las plagas, y son aplicables cualquiera sea la escala y la estrategia que elijamos. Por un lado, estas tecnologías son de bajo costo, apropiables por el productor y posibilitan un mayor aprovechamiento de las tecnologías duras y las duras novedosas. Por otro lado, requieren mayor dedicación por parte de los productores y grandes esfuerzos de capacitación.



ficación sostenible, la intensificación ecológica y la agroecología, entre otras estrategias o disciplinas, por tender a una producción sostenible, convergen al menos parcialmente en sus objetivos y pueden coexistir, por ejemplo, ligadas a un marco de ordenamiento territorial. Sin embargo, difieren en cuanto a la gradualidad o velocidad del cambio de la manera de producir que demandan y al abordaje de aspectos sociales, tal cual lo plantea Roberto Fernández en un reciente trabajo publicado en la Revista de la Facultad de Agronomía de la UBA. En el libro *Los desafíos de la agricultura global* integro estos conceptos dentro del término intensificación sostenible. Lo importante es tener claros los objetivos. En este sentido, toda tecnología potencialmente funcional a satisfacer futuras demandas de manera sostenible debe ser considerada, analizada y evaluada con rigor científico, limitando emociones y creencias. Las tecnologías deben ser pensadas de manera conjunta dentro de un sistema de producción, considerando las sinergias, las complementaciones y los posibles efectos compensatorios entre ellas, y sus interacciones con el ambiente.

Permitime otra reflexión relacionada con el tema. Tenemos que evitar posturas ambientalistas extremas que no valoran adecuadamente nuestra capacidad innovadora tanto como posiciones tecnocéntricas extremas que no toman total conciencia de que la tecnología no es neutra, sino que puede presentar riesgos, por lo que debe ser controlada y sus potenciales efectos estudiados.

¿Es erróneo interpretar que en este cambio de visión que propone la intensificación sostenible es solo para los grandes productores industriales? ¿Qué lugar tienen en este proceso los pequeños y medianos productores?

“Los diferentes caminos hacia la intensificación sostenible, en tanto manifiestan una preocupación por la producción y los impactos ambientales, tienden a la complementación y a la convergencia”.

En coincidencia con los planteos de Pablo Tittonell para la intensificación ecológica, las técnicas de producción sostenible pueden contribuir a incrementar los rendimientos de los productores de bajos rendimientos o de subsistencia, proveyendo alimentos donde más se necesitan, y contribuir a reducir el impacto ambiental y la dependencia de insumos en los sistemas de producción más desarrollados.

Al respecto, se pueden señalar ejemplos exitosos de aplicación de estas tecnologías en países y regiones pobres, pero según un trabajo recientemente publicado en la revista científica *Nature* son pocas las investigaciones e innovaciones relevantes para las necesidades de los pequeños agricultores y sus familias. Otro trabajo realizado por la FAO muestra cómo los sistemas de producción con base ecológica ayudan a pequeños productores de África, Asia y Latinoamérica a in-



## “La articulación entre instituciones públicas y privadas es una manera de potenciar la interacción y de ser más eficientes y eficaces en el uso de los recursos”.

crementar los rendimientos, fortalecer su sustento y mejorar su salud, además de disminuir la presión sobre el ambiente y adaptarse al cambio climático.

**En un mundo que demanda cada vez más alimentos, al desafío de reducir el impacto ambiental se presenta otro no menor, el cambio climático. ¿Cómo se trabaja frente a estos problemas de manera integrada?**

Está todo integrado. La producción agropecuaria, que está traccionada por la demanda de alimentos y de otros productos agrícolas, deteriora el ambiente. Otras actividades humanas como la quema de combustibles fósiles producto del transporte, la industria, actividades domésticas y urbanas tienen efectos aún mayores sobre el clima. El cambio climático y el deterioro ambiental interactúan y afectan a su vez a la producción agropecuaria. Entonces las actividades humanas impactan sobre el ambiente y éste, a su vez, compromete la futura seguridad alimentaria por sus efectos sobre la producción agropecuaria. Por lo tanto, estos problemas deben analizarse de manera integrada.

**¿Cómo se presenta este problema a nivel global?**

A nivel global nos encontramos con serios inconvenientes derivados del cambio climático como el avance del desierto al sur del Sahara y la subida del nivel del mar que inunda zonas productivas como, por ejemplo, en Bangladesh. Esto origina grandes desplazamientos de personas, un gran problema que tendremos que enfrentar durante el siglo XXI. Y acá surge algo paradójico que nos debe alentar para encontrar soluciones: es sumamente injusto que las personas que hoy más sufren las consecuencias del cambio climático y del deterioro ambiental sean las que menos responsabilidad tienen en la generación de estos procesos.

**¿Los organismos del sistema científico y tecnológico argentino están preparados para hacer frente a este cambio de paradigma?**

Por un lado, los organismos de ciencia y técnica y las universidades tienen que servir al bienestar de la población. Tienen que aportar soluciones a los problemas de pobreza, desempleo y degradación ambiental que sufrimos en el país. Particularmente, para alcanzar una producción sostenible debemos poner más énfasis en investigación de tecnologías de procesos basadas en el conocimiento de las interacciones entre los componentes del sistema de producción.

Un problema serio que atraviesan el INTA, las universidades y el CONICET es la pérdida de recursos humanos formados y la erosión de los presupuestos. Es necesario revertir estas tendencias y darle mayor preponderancia a la ciencia y técnica y a la educación. Ojalá se cumplan las promesas de aumentar la inversión en estas áreas. Por otro lado, la articulación entre instituciones públicas y privadas es una manera de potenciar la interacción y de ser más eficientes y eficaces en el uso de los recursos.

La educación es un pilar del desarrollo económico y social. Tiene como objetivos desarrollar las habilidades cognitivas que resultan en prosperidad individual, a través del impulso de la creatividad, el espíritu crítico y la independencia de criterio. Pero debe también contemplar, sobre todo, el desarrollo de habilidades relacionadas con la prosperidad colectiva, que incluyen colaboración, trabajo en equipo, empatía, tolerancia, respeto y diálogo. Ambas, la prosperidad individual y la colectiva, son necesarias para que el modelo interactivo de innovación produzca los resultados deseables en cuanto a erradicar la pobreza y reducir el impacto ambiental.

Un punto importante a destacar es que se debe prestar atención a la calidad de la investigación y de la extensión como componentes esenciales del modelo interactivo de innovación. Si no hay solidez disciplinaria, se llegará tarde o con respuestas insuficientes para resolver los problemas indicados. Además, estos componentes estratégicos identitarios del INTA deben estar adecuadamente articulados con los demás componentes estratégicos de la institución (relaciones institucionales, vinculación tecnológica e información - comunicación).

**Por último, su trayectoria científica está situada en impulsar la innovación en estrecha articulación entre la investigación, la extensión y la comunidad. ¿Qué problemas o resistencias enfrentó al presentar estos saberes como uno de los caminos posibles para intensificar la producción?**

No fue fácil, o, mejor dicho, no es fácil. Cuando uno intenta aplicar este modelo interactivo de innovación, y encarar trabajos interdisciplinarios se presentan resistencias. Para estas articulaciones es necesario salir de la zona de confort y evitar el atrincheramiento cognitivo y las pujas por espacios de poder que atentan contra la articulación de actores, visiones y disciplinas. El INTA está unos pasos adelante en este aspecto porque el Plan Estratégico Institucional –PEI– pone el foco en la innovación para el desarrollo equilibrado de los territorios y porque la institución es líder en trabajos articulados y colaborativos. Es imperioso también que los investigadores y extensionistas escriban más, ya que las publicaciones permiten la integración y síntesis de información, el ordenamiento de datos e ideas, y conforman puntos de partida sólidos para nuevos proyectos e investigaciones. Es importante que las autoridades estimulen los trabajos colaborativos y las publicaciones. Deseo agregar algo importante que hemos aprendido con Alfredo Cirilo desde el año 2005, en el Área Estratégica o Red de Ecofisiología Vegetal: la confianza es un factor clave para la conformación de redes y para la cooperación.

### Más información:

Fernando Andrade [andrade.fernando@inta.gov.ar](mailto:andrade.fernando@inta.gov.ar)

Recibido 07 de agosto de 2018 // Aceptado 27 de noviembre de 2018 // Publicado online 09 de junio de 2021

# Estimación de disponibilidad forrajera de pasturas base alfalfa y verdeos invernales en el sudoeste de Entre Ríos

OJEDA, J.J.<sup>1,2</sup>; QUINODOZ, J.E.<sup>2</sup>; LEZANA, L.C.<sup>2</sup>

## RESUMEN

La disponibilidad forrajera es la variable más importante para estimar la capacidad de carga animal en pasturas perennes base alfalfa (PP) y verdeos invernales anuales (VI) del sudoeste de Entre Ríos. A pesar de su importancia, existe escasa información acerca de métodos para su estimación en estos ambientes. El objetivo de este trabajo fue calibrar y validar modelos matemáticos que permitan estimar disponibilidad forrajera (i.e. biomasa aérea [BA] acumulada en un tiempo determinado) a partir de la altura de forraje comprimido (AFC). En general, la estimación de BA en base anual ( $R^2=0.68$  y  $R^2=0.78$ , PP y VV respectivamente) y estacional ( $R^2=0.67-0.74$  y  $R^2=0.71-0.83$  PP y VV, respectivamente) fue satisfactoria (calibración). Asimismo, el ajuste de los modelos fue satisfactorio cuando fueron testeados con datos independientes (validación; CCC [coeficiente de correlación de concordancia]= $0.68-0.77$ ). La relación BA/AFC fue mayor para el estrato  $\geq 10$  cm. El arreglo espacial de las especies generó una menor densidad de forraje en el estrato  $< 10$  cm entre PP y VI. Estos modelos podrían ser utilizados para estimar BA en el rango de alturas de 5-30 cm, compatible con los umbrales de pastoreo habituales en el sudoeste de Entre Ríos.

**Palabras clave:** pasturómetro, pasturas consociadas, raigrás, avena, modelos matemáticos.

## ABSTRACT

Forage availability is the most important variable for estimating livestock stock rates in alfalfa-based perennial pastures (PP) and forage winter crops (VI) in the southwest of Entre Rios, Argentina. Despite its importance, there is little information about methods for estimating forage availability under these environments. The objective of this paper was to calibrate and validate mathematical models that allow to estimate forage availability (i.e. accumulated aerial biomass [BA] in a period) from the height of compressed forage (AFC). In general, the estimation of BA on annual ( $R^2=0.68$  and  $R^2=0.78$ , PP and VV respectively) and seasonal basis ( $R^2=0.67-0.74$  and  $R^2=0.71-0.83$  PP and VV, respectively) was satisfactory (calibration). Likewise, the model's accuracy was satisfactory when they were tested with an independent dataset (validation, CCC [concordance correlation coefficient]= $0.68-0.77$ ). The BA/AFC ratio was greater for the forage stratum  $\geq 10$  cm. The spatial arrangement of the species generated a lower density of forage in the forage stratum  $< 10$  cm between PP and VI. These models could be used to estimate BA in the range of forage height of 5-30 cm, compatible with the usual grazing thresholds in the southwest of Entre Rios.

**Keywords:** rising plate meter, mixed pastures, ryegrass, oats, mathematical models.

<sup>1</sup>Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, The University of Queensland, St Lucia QLD 4067, Australia. Correo electrónico: j.ojeda@uq.edu.au

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNER), Ruta 11 km 10,5 (3100), Oro Verde, entre Ríos, Argentina. Correo electrónico: lezana.lucrecia@inta.gov.ar

## INTRODUCCIÓN

En sistemas ganaderos de base pastoril conocer la capacidad de carga de los recursos forrajeros permite la asignación de una dotación adecuada de animales (Golluscio, 2009). La productividad forrajera (variable de flujo) representa la principal fuente de energía para los herbívoros (Sala y Austin 2000) y es la variable más importante para estimar la capacidad de carga de un sistema. En cambio, la disponibilidad forrajera (variable de estado) es útil para decisiones de corto plazo (i.e. tiempo de ocupación según carga instantánea o estimación de consumo animal). A pesar de su importancia, existe escasa información de la variabilidad espacial y temporal de estas variables, frecuentemente asociadas a la dificultad para estimar y extrapolar la información entre ambientes (Paruelo *et al.*, 2010; Oosterheld *et al.*, 2011).

La disponibilidad forrajera está determinada por la estacionalidad y la variabilidad interanual de la producción de forraje (Grigera *et al.*, 2007; Millapán *et al.*, 2014; Ojeda, 2017; 2018). Para evaluar la capacidad productiva de los sistemas forrajeros es imprescindible cuantificar la producción de forraje y su variación a través del tiempo (Chapman *et al.*, 2008). Esto permite estimar la tasa de crecimiento de las pasturas y la cantidad de forraje disponible en un ambiente determinado para una estación en particular. A su vez, esta información es muy útil para la planificación forrajera ya que es insumo básico para identificar los momentos de déficit y exceso de forraje.

Las pasturas y verdeos implantados constituyen la principal base forrajera de los sistemas de producción de carne y leche en Entre Ríos (Engler *et al.*, 2016), con una superficie implantada de 360000 ha (CNA, 2008). En esta región existe información disponible acerca de la productividad forrajera potencial en secano y bajo riego (Di Nucci *et al.*, 2009; 2014; Sevilla y Agnusdei, 2016), pero pocos estudios han evaluado esta productividad en sistemas reales de producción (i.e. productividad real utilizando la tecnología media del productor) (Vicentin *et al.*, 2013).

Existen métodos directos o indirectos para medir la disponibilidad forrajera. El método directo más difundido es el de corte y pesado de forraje, que brinda exactitud en la determinación de la disponibilidad de forraje, aunque es laborioso y puede ser poco preciso si no se cuenta con un número de muestras representativo de la heterogeneidad espacial (Spada y Cangiano, 1991). Los métodos indirectos requieren el corte como método patrón; entre ellos se incluyen la estimación visual (densidad, composición (Asuero *et al.*, 1989, Millapán, 2014)), la regla graduada o bastón aforado (Cangiano, 1996; Sanderson *et al.*, 2001), el pasturómetro o plato de levante (Fulkerson y Slack, 1993; Sanderson *et al.*, 2001), el capacitómetro (Danelón *et al.*, 2001; Sanderson *et al.*, 2001) e imágenes satelitales (Paruelo *et al.*, 2000). La correcta estimación de la cantidad de forraje disponible en un momento dado depende del número y tamaño de muestreo y del error experimental del operador. A su vez, estas estimaciones están vinculadas directamente con la altura y densidad del forraje, la composi-

ción botánica, la estación del año y el manejo del pastoreo (O'Donovan *et al.*, 2002). En este sentido, la calibración de métodos indirectos de estimación de disponibilidad forrajera es clave para una correcta asignación de pasturas.

Entre los métodos indirectos, el pasturómetro o plato de levante es uno de los más utilizados debido a su practicidad y alta repetitividad (Gourley y McGowan, 1991). La estimación del pasturómetro integra la altura y densidad de forraje en una única medida, denominada "altura del forraje comprimido" (Montossi *et al.*, 2013). Estudios previos han reportado relaciones satisfactorias entre medidas de pasturómetro y método de corte para distintos ambientes de la región Pampeana (Cangiano, 1996; Millapán, 2014), sur de Chile (Saavedra, 2002; Demanet y Canseco, 2006) y Uruguay (Montossi *et al.*, 2013). Sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado la capacidad predictiva de la disponibilidad forrajera utilizando pasturómetro en ambientes de Entre Ríos, y menos aún, en condiciones reales de producción. Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron: (i) calibrar medidas de pasturómetro a partir de mediciones de disponibilidad forrajera en pasturas perennes y verdeos anuales y (ii) validar los modelos calibrados utilizando set de datos independientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitios de estudio y especies evaluadas

La disponibilidad de forraje estacional de pasturas perennes consociadas (PP) y verdeos invernales (VI) fue evaluada durante los años 1999, 2000, 2001, 2002, 2003 y 2005 en 17 sitios del sudoeste de Entre Ríos. Las PP incluyeron alfalfa (*Medicago sativa* L.) en mezcla con trébol blanco (*Trifolium repens* L.), cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl.) y festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.) mientras que los VI incluyeron raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) y avena (*Avena sativa* L.). Los sitios incluyeron sistemas ganaderos de producción de leche (tambo) y carne (cría e invernada) de ~100-300 ha de superficie ganadera en promedio. La localización y el tipo de suelo por sitio se describen en la tabla 1.

### Manejo agronómico

Todos los sitios fueron conducidos en secano y bajo óptimo manejo agronómico (control de plagas y enfermedades). La rotación promedio fue de 3-4 años de PP seguida de 1-2 años de cultivos anuales forrajeros [VI + verdeo estival (VE)]. Los VE antecesores fueron moha [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.], maíz (*Zea mays* L.), sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] o soja (*Glycine max* L.). Todas las PP fueron sembradas en siembra directa entre el 1 de marzo y el 1 de mayo a una distancia entre hileras de 0,175 m. La densidad de siembra de PP utilizada fue de 18-20 kg semillas viables ha<sup>-1</sup> (promedio entre sitios) con una proporción de 60% de alfalfa. Las PP fueron fertilizadas a la siembra con 20,2 kg P ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y 18,2 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (fosfato diamónico). La densidad de siembra utilizada para los VI fue de 65-80 kg semillas via-

Departamento	Localidad	Latitud	Longitud	Suelo	
				Serie	Tipo
Diamante	Racedo	-32.00	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Guauguay	Aldea Asunción	-32.84	-59.20	La Emiliana	Argiudol ácuico
Guauguay	Guauguay	-33.06	-59.36	Las Cabezas	Argiudol ácuico
Nogoyá	Aranguren	-32.20	-60.05	María Dolores	Peluderte árgico
Nogoyá	Don Cristobal	-32.15	-59.97	El Recreo	Argiudol vértico
Nogoyá	Don Cristobal	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Nogoyá	Hernandez	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Nogoyá	Hernandez	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
Nogoyá	Nogoyá	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoyá	Nogoyá	-32.45	-59.86	Hernandez	Peluderte árgico
Nogoyá	Nogoyá	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
Paraná	Aldea San Antonio	-31.83	-60.15	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Paraná	Las Delicias	-31.93	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Paraná	Viale	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Tala	Gdor. Mansilla	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
Tala	Lucas Gonzalez	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Victoria	Aranguren	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico

**Tabla 1.** Localización geográfica y caracterización edáfica de los experimentos.

bles  $\text{ha}^{-1}$  para avena y de 15-20 kg semillas viables  $\text{ha}^{-1}$  para raigrás anual. Los VI fueron fertilizados a la siembra con 8 kg P  $\text{ha}^{-1}$   $\text{año}^{-1}$  y 7 kg N  $\text{ha}^{-1}$   $\text{año}^{-1}$  (fosfato diamónico) y al estado de macollaje con 46 kg N  $\text{ha}^{-1}$   $\text{año}^{-1}$  (urea). El manejo de la defoliación se realizó sobre un sistema rotativo intensivo con subdivisiones de franja diaria/medio día.

## Mediciones

### Biomasa aérea

Durante los años 1999, 2000, 2001, 2002, 2003 y 2005 se realizaron mediciones de biomasa aérea (BA) con un intervalo promedio de 30-60 días, variable según la estación de crecimiento, PP y VI ( $n=302$ ; ver fechas de muestreo en Anexo). En cada fecha de muestreo se registraron mediciones de BA (1 a 5) pre- y pospastoreo. Las mediciones se realizaron cuando la cobertura de PP y VI alcanzó el 90-100% (determinación visual). Los muestreos se realizaron con tijera eléctrica (Accu 3, Gardena, Ulm, Germany) al ras del suelo, en una superficie de 0,2  $\text{m}^2$  dentro de parcelas homogéneas y representativas de  $\sim 0,5\text{-}1$  ha en cada sitio. El total del forraje fresco cosechado se pesó y se extrajo una submuestra para determinar el porcentaje de materia seca (MS) a través de analizador de humedad (Koster Crop Tester Inc., Cleveland, Ohio).

### Altura comprimida

Para las mismas fechas y sitios donde se muestreó BA (0,2  $\text{m}^2$ ), se registró la altura del forraje comprimido (AFC) ( $n=302$ ) mediante medidor de placa plegable manual, i.e. pasturómetro (Filip's Manual Folding Plate Meter, Jenquip, Fielding, New Zealand). La relación peso de bastón+disco/área del disco fue de 3,23  $\text{kg}/\text{m}^2$ . El pasturómetro consistió en un bastón de metal, con un disco o placa móvil que se movía sobre un eje central. Este eje estaba graduado cada 0,5 cm (es decir, cada medición de AFC corresponde con 0,5 cm de altura). Por lo tanto, cada medida de AFC se dividió por 2 con el objetivo de expresar el valor de AFC en cm.

### Calibración y validación

Las medidas de BA obtenidas mediante método de corte fueron utilizadas para calibrar las estimaciones de disponibilidad forrajera mediante pasturómetro. La calibración se realizó utilizando el set de datos completo (i.e. anual) y por estación (i.e. otoño, invierno, primavera y verano).

Inicialmente, se realizaron regresiones lineales entre datos apareados utilizando las mediciones de BA y AFC ( $y=a*x+b$ , i.e.,  $BA=a*AFC+b$ ) para las PP y VI en base anual. Posteriormente, se agruparon los datos por estación y se calculó la regresión lineal para cada una de las estaciones del año. El ajuste entre variables (BA y AFC) se evaluó a través del coe-

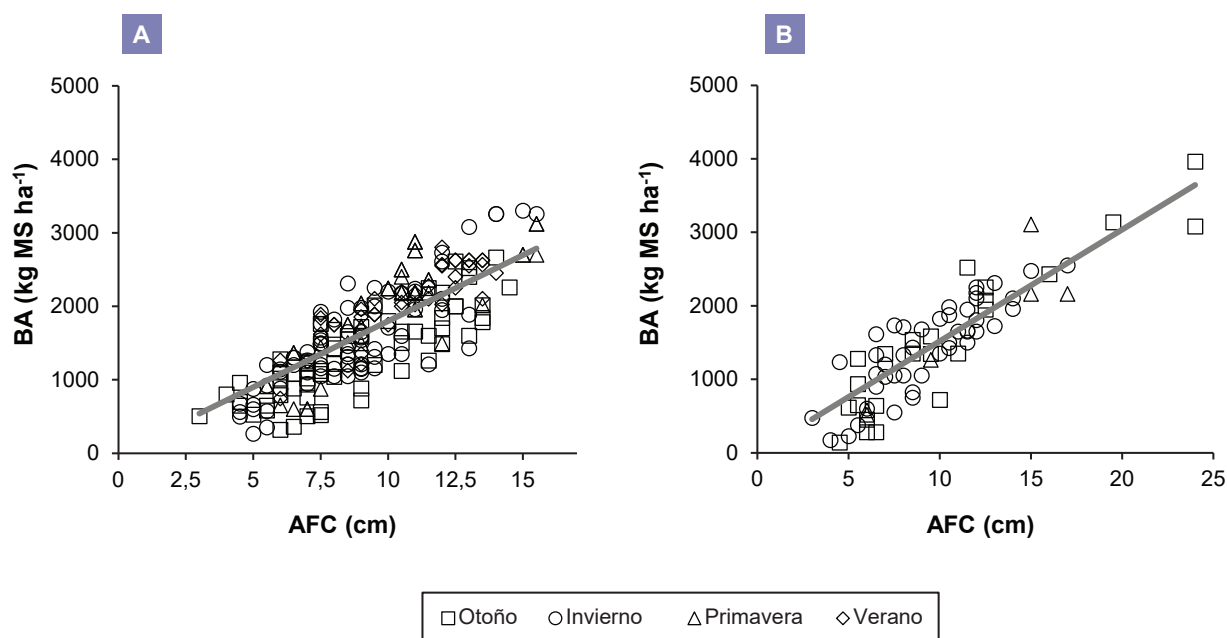
ficiente de determinación ( $R^2$ ) y el valor  $p$  de dichas regresiones. Posteriormente se analizó la  $H_0$ :  $a=0$  y  $b=0$  vs.  $H_a$ :  $a \neq 0$  y  $b \neq 0$  para las ecuaciones anuales y estacionales. Para los casos en donde  $b=0$ , se calcularon ecuaciones de regresión lineal adicionales ( $y=a*x$ , i.e.,  $BA=a*AFC$ ). Los datos fueron analizados mediante regresión lineal simple utilizando Rcmdr versión 2.3-2 (Fox *et al.*, 2017).

Para validar los modelos ( $BA=a*AFC+b$ ) calibrados se utilizaron set de datos de BA y AFC provenientes de estudios completamente independientes de PP de Argentina (Millapán, 2014) y Canadá (Martin *et al.*, 2005) (Anexo). Los pasturómetros utilizados en estos estudios y la relación peso de bastón+disco/área del disco de estos estuvo en un rango similar al utilizado en el presente trabajo. La evaluación de los modelos predictivos de BA obtenidos a partir de la calibración se realizó según lo descrito por Tedeschi (2006). Los parámetros estadísticos utilizados fueron: media y desviación estándar observada y modelada, coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y coeficiente de correlación de concordancia (CCC). El CCC integra la precisión a través del coeficiente de correlación de Pearson, que representa la proporción de la varianza total en los datos observados que puede ser explicada por los modelos, y la precisión por sesgo que indica hasta qué punto la línea de regresión se desvía de la línea (1:1;  $y=x$ ). Las validaciones se juzgaron categóricamente sobre la base de los valores de CCC (Stöckle *et al.*, 1998). Los límites estadísticos superior e inferior se fijaron como: "muy bueno" cuando  $CCC > 0,80$ , "satisfactorio" cuando  $0,70 < CCC < 0,80$ , "aceptable" cuando  $CCC < 0,70$  y "pobre" con otros valores de CCC.

## RESULTADOS

En PP el rango de BA y AFC utilizado para la calibración varió entre 264-3300 kg MS y 3-15,5 cm, respectivamente (fig. 1a), mientras que en VI varió entre 140-3960 kg MS y 3-24 cm, respectivamente (fig. 1b). Los porcentajes de MS variaron entre 21-27% en PP y entre 16-25% en VI (tabla 2). La BA y AFC se relacionaron linealmente en base anual ( $R^2=0,68-0,78$ ;  $p < 0,001$ ) y estacional ( $R^2=0,67-0,83$ ;  $p < 0,001$ ), excepto en primavera para VI ( $p > 0,001$ ) (tabla 2). En todos los casos, el coeficiente  $b$ , i.e. ordenada al origen de la ecuación  $BA=a*AFC+b$  no fue significativo ( $p > 0,001$ ) (tabla 2). Por lo tanto, se compararon los valores del coeficiente  $a$ , i.e. BA por unidad de AFC, de la ecuación  $BA=a*AFC$ . El coeficiente  $a$  de la regresión difirió según la estación del año y entre PP y VI (tabla 2). En PP el incremento de BA por unidad de AFC, i.e. coeficiente  $a$ , varió desde 153,0 kg MS  $cm^{-1}$  en otoño a 194,2-195,6 kg MS  $cm^{-1}$  en verano y primavera, mientras que en invierno el incremento de BA por unidad de AFC fue intermedio (179,6 kg MS  $cm^{-1}$ ) (tabla 2). El ajuste entre BA y AFC fue mayor en PP en verano ( $R^2=0,74$ ) en comparación con el otoño, invierno y primavera ( $R^2=0,67-0,69$ ; tabla 2). En cambio, en VI los valores de  $a$  fueron similares entre otoño e invierno (149,0 y 154,2 kg MS  $cm^{-1}$ , respectivamente), aunque el ajuste entre BA y AFC fue mayor en otoño que en invierno (tabla 2). El valor de  $a$  para VI en primavera fue de 149,0 kg MS  $cm^{-1}$  ( $n=6$ ).

Por un lado, en base anual (i.e. sin distinguir la estación), los modelos de calibración (tabla 2) mostraron precisión aceptable para predecir BA de PP (fig. 2a) y VI (fig. 2b) utilizando las bases de datos de validación (Anexo). Esto



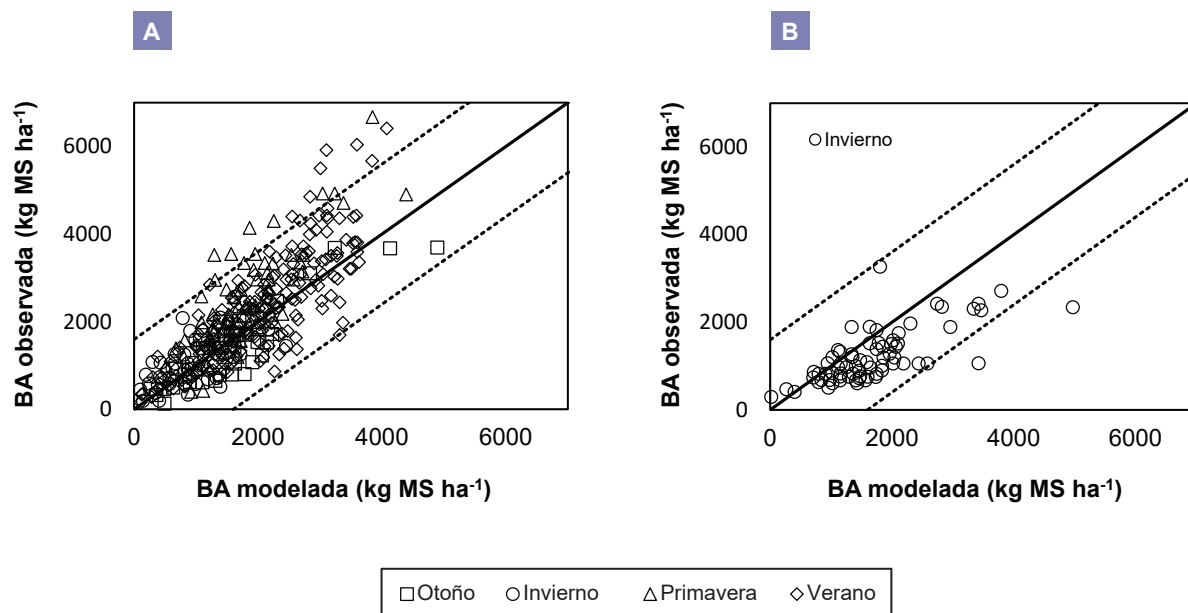
**Figura 1.** Biomasa aérea (BA) v. altura de forraje comprimido (AFC) estacional de (a) pasturas perennes y (b) verdes invernales en el sudoeste de Entre Ríos. La línea gris indica la regresión lineal forzada al origen y ajustada al set de datos completo, i.e. anual en tabla 2.

	n	MS (%)	a	b	P valor (a)	P valor (b)	a	LI	LS	R <sup>2</sup>
<b>Pasturas perennes</b>										
Otoño	63	21	167,4	-141,2	*	ns	153,0	143,8	162,2	0,68
Invierno	79	24	220,8	-386,8	*	ns	179,6	170,0	189,1	0,67
Primavera	45	26	220,0	-263,1	*	ns	195,6	184,5	206,7	0,69
Verano	40	27	188,1	67,0	*	ns	194,2	186,7	201,6	0,74
Anual	227	24	209,5	-302,1	*	ns	179,7	174,5	184,9	0,68
<10 cm	132	24	215,0	-353,3	*	ns	169,0	161,1	176,9	0,45
>=10 cm	95	24	169,7	191,6	*	ns	185,4	178,3	192,5	0,26
<b>Verdeos anuales</b>										
Otoño	24	16	165,4	-210,3	*	ns	149,5	134,7	164,4	0,83
Invierno	45	20	162,6	-87,4	*	ns	154,2	144,5	163,9	0,71
Primavera	6	25	189,4	-532,5	ns	ns	149,0	107,6	190,4	0,78
Anual	75	19	164,8	-150,6	*	ns	151,9	144,1	159,6	0,78
<10 cm	40	19	186,9	-323,4	*	ns	142,0	125,0	159,0	0,38
>=10 cm	35	19	145,5	131,7	*	ns	154,8	146,3	163,3	0,69

**Tabla 2.** Contenido de MS y resumen estadístico de las regresiones lineales ( $y=a*x+b$ ) e ( $y=a*x$ ) anuales y estacional y para dos estratos de forraje (< y  $\geq 10$  cm) entre la biomasa aérea y la altura de forraje comprimido de pasturas perennes y verdeos invernales en el sudoeste de Entre Ríos.

n, número de observaciones; a, pendiente; b, intercepto; LI, límite inferior al 95% de confianza; LS, límite superior al 95% de confianza; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación.

\* indica que a o b fueron significativamente distintos de 0; ns, indica que a o b no fueron significativamente distintos de 0 ( $\alpha=0,001$ ).



**Figura 2.** Biomasa aérea (BA) observada vs. BA modelada utilizando la base de datos de validación de los modelos previamente calibrados (tabla 2) para (a) pasturas perennes y (b) verdeos invernales. Las líneas negras continua y discontinua indican la relación 1:1 ( $y=x$ ) y un  $\pm 20\%$   $y=x$ , respectivamente.

	Pasturas perennes					Verdeos invernales
	Anual	Oto	Inv	Pri	Ver	Anual
n	344	39	38	55	212	72
Media observada (Kg MS ha <sup>-1</sup> )	1817	1616	923	1889	1996	1687
Media modelada (Kg MS ha <sup>-1</sup> )	2112	1458	1081	2663	2275	1218
DS observado (Kg MS ha <sup>-1</sup> )	903	946	566	766	880	854
DS modelado (Kg MS ha <sup>-1</sup> )	1258	903	605	1217	1267	603
R <sup>2</sup>	0,65	0,78	0,37	0,64	0,65	0,51
CCC	0,77	0,88	0,61	0,72	0,76	0,68

**Tabla 3.** Resumen estadístico de la performance de los modelos validados para predecir la biomasa aérea anual y estacional de pasturas perennes y verdeos invernales en el sudoeste de Entre Ríos.

DS, desvío estándar; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación; CCC, coeficiente de correlación de concordancia; Oto, otoño; Inv, invierno; Pri, primavera; Ver, verano.

fue demostrado a través del rango de valores de R<sup>2</sup> (0,65 y 0,51 para PP y VI) y CCC (0,77 y 0,68 para PP y VI) en base anual (tabla 3). En base estacional, la precisión del modelo validado para PP fue aceptable en invierno (R<sup>2</sup>=0,37; CCC=0,61), satisfactoria en primavera (R<sup>2</sup>=0,64; CCC=0,72) y verano (R<sup>2</sup>=0,65; CCC=0,76) y muy buena en otoño (R<sup>2</sup>=0,78; CCC=0,88). En general, el modelo predictivo de BA en función de AFC subestimó BA en otoño e invierno (9,8 y 4,4%, respectivamente; fig. 2a), mientras que sobreestimó BA en primavera y verano (41,0 y 16,2%, respectivamente; fig. 2a). Por otro lado, la performance del modelo calibrado para predecir BA de VI fue aceptable (R<sup>2</sup>=0,51; CCC=0,68), aunque subestimó la estimación de BA en 27,8% (fig. 2b; tabla 3).

## DISCUSIÓN

Los valores de los coeficientes de correlación obtenidos en las regresiones entre BA y AFC para PP y VI fueron similares a los reportados en la literatura nacional (Spada y Cangiano, 1991; Cangiano, 1996; Millapán, 2014) e internacional (Gourley y McGowan, 1991; Fulkerson y Slack, 1993; Sanderson *et al.*, 2001; Saavedra, 2002; Demanet y Canseco, 2006; Montossi, 2013) (tabla 2). Estos estudios fueron basados en el análisis de la regresión  $BA=a \cdot AFC+b$  debido a que la estructura de las PP analizadas (ej. trébol blanco, trébol rojo, raigrás perenne, festuca alta) fue cespitosa, i.e. alta BA por unidad AFC, y no incluyó alfalfa, lo cual generó coeficientes b positivos interpretados como BA remanentes en la mayoría de los casos. Por el contrario, nuestro trabajo presentó un análisis adicional de la regresión  $BA=a \cdot AFC$  debido a que las PP evaluadas tuvieron como principal componente de la mezcla el cultivo de alfalfa, las cuales presentaron estructuras de canopia menos densas, i.e. más erectas en comparación con los estudios citados previamente. En este sentido, los valores del coeficiente b fueron, en casi todos los casos negativos y estadísticamente no significativos (tabla 2). Por lo tanto, presentamos ecuaciones alternativas de predicción ( $BA=a \cdot AFC$ ) (tabla 2). Estas ecuaciones per-

mitieron analizar de manera simplificada el incremento de BA por unidad de AFC estacional y anual en PP y VI y podrían ser utilizadas para estimar BA en el rango de alturas de 5-30 cm, las cuales se corresponden con los umbrales de pastoreo habituales (Agnusdei, 2013).

De manera similar a lo reportado por Laca *et al.* (1989) en pastizales naturales de Estados Unidos, las regresiones entre BA y AFC fueron sensibles a la variación estacional de la densidad de la vegetación y a la variación estacional del contenido de MS (tabla 2). Asimismo, nuestros resultados fueron consistentes con las estimaciones de BA estacional a partir de AFC en PP de trébol blanco, trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) y cebadilla criolla reportados por Millapán (2014) en la provincia de Buenos Aires (fig. 2a). En efecto, los mayores valores de a se encontraron durante primavera-verano donde el contenido de MS fue mayor en comparación con otoño (tabla 2). Sin embargo, estas diferencias se diluyeron en VI, debido a que el número de observaciones primaverales fue reducida (n=6).

A su vez, en promedio, la BA por unidad de AFC varió según el estrato de vegetación y las especies analizadas debido a la estructura diferencial de la vegetación, i.e. la estimación de BA a partir de la AFC fue diferencial según estratos. Esta relación fue mayor para el estrato  $\geq 10$  cm tanto para PP como para VI (tabla 2). Esta diferencia se acentuó aún más en el estrato  $< 10$  cm entre PP y VI sembrados en línea donde el arreglo espacial de las especies generó una menor densidad de forraje (tabla 2). En el caso de los VI, la densidad de forraje es muy baja a bajos valores de AFC, lo cual limitaría el uso de estas ecuaciones predictivas cuando la disponibilidad de forraje es muy baja (fig. 1) debido a la sobreestimación de estas.

En general, la predicción de los modelos evaluados en este trabajo fue satisfactoria, lo cual los posiciona como una posible herramienta metodológica para la estimación de disponibilidad forrajera para pasturas de base alfalfa y verdeos invernales en los ambientes evaluados.



## BIBLIOGRAFÍA

- AGNUSDEI, M.G. 2013. Rol de la ecofisiología en el diseño de manejos especializados de pasturas. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 21(1), 63-78.
- ASSUERO, S.G.; ESCUDER, C.J.; NORBIS, H. 1989. Comparación de dos metodologías para estimar la disponibilidad de forraje en parcelas pastoreadas. *Revista Argentina de Producción Animal*, 9, 115-119.
- CANGIANO, C.A. 1996. Métodos de medición de la fitomasa aérea. En: CANGIANO, C.A. (Ed.). *Producción animal en pastoreo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Área de Producción Animal. Balcarce, INTA, Buenos Aires, Argentina. 117-128 pp.
- CHAPMAN, D.F.; KENNY, S.N.; BECA, D.; JOHNSON, I.R. 2008. Pasture and forage crop systems for non-irrigated dairy farms in southern Australia. 2. Inter-annual variation in forage supply, and business risk. *Agricultural Systems*, 97(3), 126-138.
- CENSO NACIONAL AGROPECUARIO. 2008
- DEMANET, R., CANSECO, C. 2006. Comparación de métodos indirectos de estimación de la disponibilidad de forraje en praderas permanentes del sur de Chile. En: SEPÚLVEDA, N.; SOTO, P. (Ed.). *xxxI Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal*. Temuco, Chile. 9-10 pp.
- DANELÓN, J.L.; DAPUENTE, C.G.; JAURENA, G.; CANTET, R., SAUCEDE, M.C. 2001. Eficiencia de la capacitancia y altura de canopeo comprimido (con disco) para estimar biomasa forrajera. *Revista Facultad de Agronomía*, 21 (3): 213-219.
- DI NUCCI DE BEDENDO, E.; VALENTINUZ, O.; FIRPO, M.V.; MARTÍNEZ, M. 2009. Análisis de crecimiento de alfalfa en condiciones potenciales. *EEA Paraná, INTA*. 7 p.
- DI NUCCI, E.; COSTA, M.; RE, A.; DE BATTISTA, J.P. 2014. Producción de forraje y persistencia de cultivares de alfalfa en suelos molisoles y vertisoles de Entre Ríos (ciclos 2006 a 2009). (Disponible: <https://inta.gob.ar/documentos/produccion-de-forraje-y-persistencia-de-cultivares-de-alfalfa-en-suelos-molisoles-y-vertisoles-de-entre-rios-ciclos-2006-a-2009> verificado: septiembre de 2017).
- ENGLER, P.; MANCUSO, W.; CANCIO, R. 2016. Costos de verdes de invierno y pasturas permanentes en Entre Ríos. *Boletín Económico de Lechería N.º 6*. Paraná, INTA. (Disponible : [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_boletin\\_economico\\_lecheria\\_6.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_boletin_economico_lecheria_6.pdf). verificado: septiembre de 2017).
- FOX, J.; BOUCHET-VALAT, M.; ANDRONIC, L.; ASH, M.; BOYE, T.; CALZA, S.; CHANG, A.; GROSJEAN, P. 2017. Package 'Rcmdr'.
- FULKERSON, W.J.; SLACK, K. 1993. Estimating mass of temperate and tropical pastures in the subtropics. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 33(7), 865-869.
- GOLLUSCIO, R. 2009. Receptividad ganadera: marco teórico y aplicaciones prácticas. *Ecología Austral*, 19(3), 215-232.
- GOURLEY, C.J.P.; MCGOWAN, A.A. 1991. Assessing differences in pasture mass with an automated rising plate meter and a direct harvesting technique. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31(3), 337-339.
- GRIGERA, G.; OESTERHELD, M.; DURANTE, M.; PACIN, F. 2007. Evaluación y seguimiento de la productividad forrajera. *Revista Argentina de Producción Animal*, 27 (2): 137-148.
- LACA, E.A.; DEMMENT, M.W.; WINCKEL, J.; KIE, J.G. 1989. Comparison of weight estimate and rising-plate meter methods to measure herbage mass of a mountain meadow. *Journal of Range Management*, 71-75.
- MARTIN, R.C.; ASTATKIE, T.; COOPER, J.M.; FREDEEN, A.H. 2005. A comparison of methods used to determine biomass on naturalized swards. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191(2), 152-160.
- MILLAPÁN, L. 2014. Estimación de biomasa aérea en pasturas templadas de sistemas lecheros pastoriles. Trabajo Final Especialización en Producción Lechera en Sistemas Argentinos de la Universidad de Buenos Aires, FAUBA. 63 pp.
- MONTOSSI, F.; PRAVIA, M.I.; DIGHIRO, A.; PORCILE, V.; GUTIÉRREZ, D.; DE O'DONOVAN, M.; CONNOLLY, J.; DILLON, P.; RATH, M.; STAKELUM, G. 2002. Visual assessment of herbage mass. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 41: 201-211.
- MONTOSSI, F.; DE BARBIERI, I.; DIGHIRO, A. 2013. El uso de la altura del forraje: una herramienta disponible para el manejo eficiente de sistemas pastoriles orientados a la producción ovina. *Tecnologías de engorde de corderos pasados sobre pasturas cultivadas en Uruguay*. Montevideo: INIA, 159-182.
- OESTERHELD, M.; PARUELO, J.M.; OYARZABAL, M. 2011. Estimación de la productividad primaria neta aérea a partir de diferencias de biomasa y de integración de la radiación absorbida. En: ALTESOR, A.; AYALA, W.; PARUELO J.M. (Eds.). *Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales*. Ed. INIA, Serie FPTA, (26), 113-120.
- OJEDA, J.J. 2017. Eficiencia de uso de la precipitación en secuencias de cultivos forrajeros anuales y pasturas perennes. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata. 322 pp.
- OJEDA, J.J.; CAVIGLIA, O.P.; IRISARRI, J.G.N.; AGNUSDEI, M.G. 2018a. Modelling inter-annual variation in dry matter yield and precipitation use efficiency of perennial pastures and annual forage crops sequences. *Agricultural and Forest Meteorology*, 259, 1-10.
- OJEDA, J.J.; CAVIGLIA, O.P.; AGNUSDEI, M.G.; ERRECART, P.M. 2018b. Forage yield, water-and solar radiation-productivities of perennial pastures and annual crops sequences in the south-eastern Pampas of Argentina. *Field Crops Research*, 221, 19-31.
- PARUELO, J.M.; LAUENROTH, W.K.; ROSET, P.A. 2000. Estimating aboveground plant biomass using a photographic technique. *Journal of Range Management*, 53 (2): 190-193.
- PARUELO, J.M.; PINEIRO, G.; BALDI, G.; BAEZA, S.; LEZAMA, F.; ALTESOR, A.; OESTERHELD, M. 2010. Carbon stocks and fluxes in rangelands of the Rio de la Plata basin. *Rangeland Ecology & Management*, 63(1), 94-108.
- SAAVEDRA, M.C. 2002. Comparación entre métodos de estimación de disponibilidad de materia seca en praderas naturales de la VI región. Residencia requisito para título de Ing. Agr. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Zootecnia. 123 p.
- SALA, O.E.; AUSTIN, A.T. 2000. Methods of estimating aboveground net primary productivity. *Methods in Ecosystem Science*, 31-43.
- SANDERSON, M.A.; ROTZ, C.A.; FULTZ, S.W.; RAYBURN, E.B. 2001. Estimating forage mass with a commercial capacitance meter, rising plate meter, and pasture ruler. *Agronomy Journal*, 93: 1281-1286.
- SECRETARÍA DE AMBIENTE Y DESARROLLO SUSTENTABLE DE LA NACIÓN, 2014. Tercera Comunicación Nacional sobre Cambio Climático. "Cambio Climático en Argentina; Tendencias y Proyecciones" (Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera). Buenos Aires, Argentina.
- SEVILLA, G.H.; AGNUSDEI, M.G. 2016. Efecto del agregado de fósforo y nitrógeno en el crecimiento de cultivos de alfalfa en rebrotes de primavera y verano en un suelo vertisol de Entre Ríos. *RIA. Rev. investig. agropecu.* vol.42, n.1 93-101 pp. (Disponible: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1669-23142016000100014&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142016000100014&lng=es&nrm=iso) verificado: 01 de junio de 2018).
- SPADA, M. DEL C.; CANGIANO, C.A. 1991. El uso del disco en la estimación de la fitomasa aérea: una comparación con otros métodos. *Revista Argentina de Producción Animal*, 11(1):19-27.

STÖCKLE, C.O.; BELLOCCHI, G.; NELSON, R. 1998. Evaluation of the weather generator ClimGen for several world locations. 7th Int. Congr. for Comp. Tech. in Agric., Florencia, Italia. 34-41.

TEDESCHI, L.O. 2006. Assessment of the adequacy of mathematical models. Agricultural Systems. 89, 225-247.

VICENTIN, J.A.; MISTRORIGO, D.M.; CURTO, A.; DI NUCCI, E.; CIAN, M.; LORENZON, M.M.; STERREN, A.; ISAURRALDE, R.M.; VALLECILLO, S.M.; GANGGE, F.N.; SITO HENDERSON, R.; MUGHERLI, F.; RIEDEL, J.; VEICK, V. 2013. Evaluación de la producción primaria y secundaria de pasturas en siembra directa (en Sistemas Reales). Revista Ciencia, Docencia y Tecnología. UNER. 28 pp.

## ANEXO

### Datos de pasturas perennes utilizados para calibrar el modelo

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Don Cristobal 2	16-09-99	Disponible	invierno	1200	7,5	20	1	Balbi	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	16-09-99	Disponible	invierno	2240	11,0	20	1	Balbi	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	17-02-00	Disponible	verano	2625	13,0	25	1	Balbi	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	17-02-00	Remanente	verano	1750	8,0	35	1	Balbi	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	17-02-00	Disponible	verano	2625	13,0	25	1	Balbi	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	16-09-99	Remanente	invierno	1300	6,5	25	5	Incognito	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	18-02-00	Remanente	verano	1750	8,0	35	1	Incognito	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	27-04-01	Remanente	otoño	880	6,5	20	1	Niya	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Don Cristobal 2	27-04-01	Disponible	otoño	1600	9,0	20	1	Niya	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
Aranguren 2	13-05-99	Remanente	otoño	648	5,5	18	1	Lito	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 2	13-05-99	Disponible	otoño	2016	13,5	18	1	Lito	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 2	11-06-99	Remanente	otoño	504	3,0	18	1	Lito	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 2	11-06-99	Disponible	otoño	936	7,0	18	1	Lito	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Hernandez 1	12-05-99	Remanente	otoño	504	7,0	18	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	12-05-99	Disponible	otoño	792	6,0	18	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	25-04-01	Remanente	otoño	1280	6,0	20	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	25-04-01	Disponible	otoño	2400	13,0	20	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	25-04-01	Remanente	otoño	1600	11,5	20	2	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	25-04-01	Disponible	otoño	1840	12,0	20	2	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	23-05-01	Remanente	otoño	1120	7,5	20	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	23-05-01	Disponible	otoño	2000	12,5	20	1	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	23-05-01	Remanente	otoño	800	4,0	20	2	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 1	23-05-01	Disponible	otoño	1680	8,0	20	2	Estela	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Racedo	12-08-05	Remanente	invierno	1050	8,0	21	1	Don Pedro	-32.00	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Racedo	12-08-05	Disponibile	invierno	3255	14,0	21	1	Don Pedro	-32.00	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Racedo	12-08-05	Disponibile	invierno	3300	15,0	21	2	Don Pedro	-32.01	-60.45	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Racedo	12-08-05	Disponibile	invierno	3255	15,5	21	3	Don Pedro	-32.01	-60.45	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Racedo	12-08-05	Disponibile	invierno	3255	14,0	21	4	Don Pedro	-32.01	-60.45	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Racedo	12-08-05	Disponibile	invierno	2730	12,0	21	5	Don Pedro	-32.01	-60.45	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Lucas Gonzalez	20-08-99	Remanente	invierno	880	6,0	22	1	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-08-99	Remanente	invierno	1300	6,5	20	2	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	11-09-99	Remanente	invierno	1760	7,5	22	1	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Remanente	invierno	264	5,0	22	1	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Remanente	invierno	352	5,5	22	2	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Remanente	invierno	560	4,5	20	3	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Remanente	invierno	1100	7,0	25	4	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-03-00	Remanente	otoño	1250	7,0	25	1	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-03-00	Remanente	otoño	1125	7,0	25	2	Incognito	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-05-99	Remanente	otoño	648	4,5	18	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-05-99	Remanente	otoño	960	4,5	20	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-05-99	Disponibile	otoño	1200	9,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-05-99	Disponibile	otoño	1760	7,5	20	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-06-99	Remanente	otoño	320	6,0	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-06-99	Disponibile	otoño	1040	8,0	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-06-99	Remanente	otoño	360	6,5	18	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-06-99	Disponibile	otoño	1080	7,5	18	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	19-08-99	Disponibile	invierno	1420	9,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	19-08-99	Disponibile	invierno	1460	8,5	20	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Disponibile	invierno	2000	9,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-09-99	Disponibile	invierno	3080	13,0	22	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Lucas Gonzalez	23-03-00	Disponible	otoño	1500	10,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	23-03-00	Disponible	otoño	1800	10,0	20	2	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-08-01	Remanente	invierno	500	4,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-08-01	Disponible	invierno	1350	10,5	20	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Remanente	verano	1853	9,0	25	1	Tambo 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1540	7,5	22	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-09-01	Disponible	invierno	1485	7,5	14	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-12-01	Disponible	verano	2400	12,5	30	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Disponible	verano	2625	13,5	21	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-02-02	Disponible	verano	1958	9,0	29	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	1700	12,0	20	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-05-02	Disponible	otoño	2185	12,0	23	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-06-02	Disponible	otoño	2248	11,5	29	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-07-02	Disponible	invierno	1950	12,0	30	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	29-08-02	Disponible	invierno	1980	9,0	33	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	04-10-02	Disponible	primavera	1493	12,0	23	1	Tambo Cent+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-05-02	Remanente	otoño	1215	8,0	27	1	Tambo F	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1650	9,0	22	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-09-01	Disponible	invierno	1350	10,0	14	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-12-01	Disponible	verano	2550	13,0	30	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-02-02	Disponible	verano	2175	11,0	29	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	2000	12,5	20	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-05-02	Disponible	otoño	1840	13,5	23	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-06-02	Disponible	otoño	2610	12,5	29	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-07-02	Disponible	invierno	2250	9,5	30	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Lucas Gonzalez	29-08-02	Disponible	invierno	1155	7,5	33	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	04-10-02	Disponible	primavera	2182	11,5	23	2	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Disponible	primavera	875	7,5	25	1	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	13-03-03	Disponible	verano	1885	9,5	29	1	Tambo Max+Copet+810	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1925	7,5	22	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-09-01	Disponible	invierno	1350	8,5	14	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	15-11-01	Disponible	primavera	2700	15,5	27	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-12-01	Disponible	verano	2550	12,0	30	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-02-02	Disponible	verano	1885	7,5	29	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-06-02	Disponible	otoño	1595	8,5	29	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-07-02	Disponible	invierno	1592	9,0	29	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	29-08-02	Disponible	invierno	574	5,5	23	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	04-10-02	Disponible	primavera	1493	9,0	23	3	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	27-12-02	Disponible	verano	1210	9,0	22	1	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	27-12-02	Disponible	verano	743	6,0	27	2	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-01-03	Disponible	verano	1125	8,5	25	1	Tambo Napol+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-05-02	Remanente	otoño	1015	6,0	29	2	Tambo Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	15-11-01	Remanente	primavera	2015	13,5	31	1	Tambo 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-12-01	Remanente	verano	1620	7,5	36	4	Tambo 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Remanente	otoño	1430	8,0	26	1	Tambo Fest	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Remanente	otoño	525	5,0	21	2	Tambo Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-07-02	Remanente	invierno	1141	6,0	33	1	Tambo Fest	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	04-10-02	Remanente	primavera	652	6,0	33	1	Tambo Fest	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-06-02	Remanente	otoño	583	5,5	33	4	Tambo Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Nogoya 2	19-05-99	Disponible	otoño	720	9,0	20	1	Bayo	-32.45	-59.86	Hernandez	Peluderte árgico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repeticion	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Nogoya 2	19-05-99	Remanente	otoño	760	7,0	20	1	Bayo	-32.45	-59.86	Hernandez	Peluderte árgico
Nogoya 2	13-06-01	Remanente	otoño	700	4,5	20	1	El ENSAYO	-32.45	-59.86	Hernandez	Peluderte árgico
Aldea Asuncion	21-10-99	Disponible	primavera	2400	10,5	30	1	LaNoria	-32.84	-59.20	La Emiliana	Argiudol ácuico
Aldea Asuncion	21-10-99	Remanente	primavera	1440	7,5	40	1	LaNoria	-32.84	-59.20	La Emiliana	Argiudol ácuico
Aldea Asuncion	18-11-99	Remanente	primavera	600	6,5	40	1	LaNoria	-32.84	-59.20	La Emiliana	Argiudol ácuico
Aldea Asuncion	19-11-99	Remanente	primavera	1500	8,5	40	1	LaNoria	-32.84	-59.20	La Emiliana	Argiudol ácuico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2358	11,5	23	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	2700	15,0	24	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2243	10,0	23	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Disponible	primavera	1750	8,5	25	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2185	11,0	23	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	2040	9,0	24	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Disponible	primavera	2500	10,5	25	2	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2185	10,5	23	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	3120	15,5	24	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Remanente	primavera	910	5,5	26	1	Feil remanente 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Remanente	primavera	1365	6,5	39	1	Feil remanente 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Remanente	primavera	600	7,0	30	1	Feil Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	1955	11,0	23	1	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2185	11,0	23	2	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2875	11,0	23	3	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2760	11,0	23	4	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	1725	9,0	23	5	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	945	7,0	21	1	Baralfa85+ BarlNTA200 ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1208	8,5	21	2	Baralfa85+Bareno ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1155	9,5	21	1	Gapp686+Maxi ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1050	8,5	21	2	Gapp686+Porto ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1313	9,5	21	3	Gapp810+Maxi ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1575	9,0	21	4	Gapp810+Porto ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	1885	13,0	29	1	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	2610	12,0	29	2	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	2175	10,5	29	3	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	1595	10,5	29	4	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	1955	11,0	23	1	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2185	11,0	23	2	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2875	11,0	23	3	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	2760	11,0	23	4	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	06-10-05	Disponible	primavera	1725	9,0	23	5	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1050	7,5	21	1	P205+ BarlNTA200 ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Aranguren 1	14-07-05	Disponible	invierno	1155	9,0	21	2	P205+Bareno ARA	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
Hernandez 2	19-05-99	Remanente	otoño	1224	7,0	18	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 2	19-05-99	Disponible	otoño	1656	11,0	18	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
Hernandez 2	26-05-99	Remanente	otoño	1224	7,0	18	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
Las Delicias	04-05-01	Remanente	otoño	520	7,5	20	1	Las Delicias	-31.93	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
Don Cristobal 1	27-04-01	Remanente	otoño	560	7,5	20	1	Campora	-32.15	-59.97	El Recreo	Argiudol vértico
Don Cristobal 1	27-04-01	Disponible	otoño	880	9,0	20	1	Campora	-32.15	-59.97	El Recreo	Argiudol vértico
Lucas Gonzalez	12-07-02	Remanente	invierno	1110	6,0	37	1	Feil	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-08-02	Remanente	invierno	660	5,0	44	1	Feil	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Remanente	verano	1265	6,0	23	1	Feil 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2358	11,5	23	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	2700	15,0	24	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-12-01	Disponible	verano	2050	10,5	20	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Disponible	verano	1838	7,5	21	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	1485	12,0	21	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Lucas Gonzalez	12-07-02	Disponible	invierno	1960	11,0	28	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-08-02	Disponible	invierno	1575	7,5	35	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-09-02	Disponible	invierno	1149	9,0	23	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-01-03	Disponible	verano	2100	11,5	35	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-01-03	Disponible	verano	2250	12,5	25	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	08-03-03	Disponible	verano	2025	11,0	27	1	Feil Cent+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1150	8,0	23	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2243	10,0	23	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Disponible	verano	2625	12,5	21	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	2520	13,0	21	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-05-02	Disponible	otoño	2013	9,5	23	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-07-02	Disponible	invierno	2100	12,0	28	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-08-02	Disponible	invierno	1313	8,5	35	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-09-02	Disponible	invierno	1493	7,5	23	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Disponible	primavera	1750	8,5	25	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-01-03	Disponible	verano	2800	12,0	35	2	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	26-01-03	Disponible	verano	1750	10,0	25	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	10-03-03	Disponible	verano	2565	12,0	27	1	Feil Max+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1710	10,0	18	2	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2185	11,0	23	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	2040	9,0	24	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-12-01	Disponible	verano	2200	10,5	20	2	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Disponible	verano	2100	9,5	21	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	1785	13,5	21	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-07-02	Disponible	invierno	1540	9,0	28	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico



Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Lucas Gonzalez	14-08-02	Disponible	invierno	875	5,0	35	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-09-02	Disponible	invierno	1378	7,0	23	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Disponible	primavera	2500	10,5	25	2	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	27-12-02	Disponible	verano	2100	13,5	20	1	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-01-03	Disponible	verano	2275	11,5	35	3	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	23-01-03	Disponible	verano	2625	12,5	25	1	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-03-03	Disponible	verano	2565	13,5	27	1	Feil Ov+Copete+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1495	7,5	23	3	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Disponible	primavera	2185	10,5	23	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Disponible	primavera	3120	15,5	24	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-12-01	Disponible	verano	2000	10,5	20	3	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	07-02-02	Disponible	verano	1890	9,5	21	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-04-02	Disponible	otoño	2258	14,5	21	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	12-07-02	Disponible	invierno	1820	8,0	28	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	14-08-02	Disponible	invierno	1488	7,5	35	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	20-09-02	Disponible	invierno	1264	7,0	23	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	16-01-03	Disponible	verano	2450	14,0	35	4	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	25-01-03	Disponible	verano	2625	13,5	25	1	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	09-03-03	Disponible	verano	2025	12,0	27	1	Feil Ov+Nandu+969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	21-09-01	Remanente	primavera	910	5,5	26	1	Feil remanente 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	24-10-01	Remanente	primavera	1365	6,5	39	1	Feil remanente 969	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	28-11-02	Remanente	primavera	600	7,0	30	1	Feil Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	27-12-02	Remanente	verano	1250	7,0	25	1	Feil Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Lucas Gonzalez	11-03-03	Remanente	verano	1350	9,0	27	1	Feil Rg	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
Nogoya 1	13-05-99	Remanente	otoño	1080	6,5	18	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico

Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Repetición	Descripción	Lat.	Long.	Serie Suelo	Tipo Suelo
Nogoya 1	13-05-99	Disponible	otoño	1656	10,5	18	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoya 1	10-06-99	Remanente	otoño	1260	11,5	18	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoya 1	10-06-99	Disponible	otoño	2664	14,0	18	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoya 1	15-06-99	Remanente	otoño	1020	7,0	25	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoya 1	15-06-99	Disponible	otoño	1120	10,5	25	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Nogoya 1	10-06-99	Disponible	otoño	1720	9,0	20	2	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1210	9,0	22	1	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1210	8,5	22	2	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1430	13,0	22	3	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1210	11,5	22	4	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1100	9,0	22	5	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	02-09-05	Disponible	invierno	2200	10,0	22	1	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	02-09-05	Disponible	invierno	2200	11,0	22	2	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	02-09-05	Disponible	invierno	2310	8,5	22	3	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	02-09-05	Disponible	invierno	1650	8,5	22	4	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Ramblon	02-09-05	Disponible	invierno	1980	8,5	22	5	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
Mansilla	14-07-05	Disponible	invierno	920	5,5	23	1	La Raquel	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
Mansilla	27-06-01	Remanente	invierno	1200	5,5	20	1	LaJuanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
Mansilla	08-08-01	Remanente	invierno	600	5,0	20	1	LaJuanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
Mansilla	30-05-01	Remanente	otoño	1100	6,0	20	1	LaJuanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
Gualeguay	04-05-01	Disponible	otoño	1600	13,0	20	1	Robles	-33.06	-59.36	Las Cabezas	Argiudol ácuico
Gualeguay	06-07-01	Remanente	invierno	675	4,5	15	1	Robles	-33.06	-59.36	Las Cabezas	Argiudol ácuico
Gualeguay	06-07-01	Disponible	invierno	1200	6,5	15	1	Robles	-33.06	-59.36	Las Cabezas	Argiudol ácuico

#### Datos de verdes invernales utilizados para calibrar el modelo

Especie	Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Rep.	Descripción	Lat.	Long.	Serie suelo	Tipo suelo
raigrás	Hernandez 1	13-09-01	Disponible	invierno	1805	12	19	1	La Clarita	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
raigrás	Hernandez 1	18-07-01	Disponible	invierno	1823	10	14	1	La Clarita	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
raigrás	Hernandez 1	18-07-01	Disponible	invierno	1958	14	14	2	La Clarita	-32.25	-59.97	Hernandez	Peluderte árgico
avena	Hernandez 2	21-05-99	Disponible	otoño	3136	19,5	14	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
avena	Hernandez 2	21-05-99	Remanente	otoño	1344	9,5	14	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
avena	Hernandez 2	26-05-99	Remanente	otoño	720	10	15	1	San Jorge	-32.26	-59.99	Hernandez	Peluderte árgico
avena	Las Delicias	04-05-01	Disponible	otoño	2070	12,5	18	1	Las Delicias	-31.93	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
avena	Las Delicias	04-05-01	Remanente	otoño	450	6	18	1	Las Delicias	-31.93	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
raigrás	Lucas Gonzalez	28-06-01	Disponible	invierno	1663	11,5	14	1	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	28-06-01	Disponible	invierno	1330	8	14	2	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico

Especie	Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Rep.	Descripción	Lat.	Long.	Serie suelo	Tipo suelo
raigrás	Lucas Gonzalez	28-06-01	Disponible	invierno	1680	9	14	3	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1710	8	19	1	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1235	4,5	19	2	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	03-08-01	Disponible	invierno	1615	6,5	19	3	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	13-09-01	Disponible	invierno	1073	6,5	17	1	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	13-09-01	Disponible	invierno	1733	7,5	17	2	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	13-09-01	Disponible	invierno	1980	10,5	17	3	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	15-11-01	Disponible	primavera	2160	17	27	1	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	15-11-01	Disponible	primavera	2160	15	27	2	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
raigrás	Lucas Gonzalez	15-11-01	Disponible	primavera	3105	15	27	3	La Soledad	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	14-05-99	Disponible	otoño	3960	24	18	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	14-05-99	Remanente	otoño	1584	9,5	18	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	28-05-99	Disponible	otoño	616	5	14	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	09-06-99	Remanente	otoño	140	4,5	14	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	23-03-00	Disponible	otoño	1350	11	15	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Lucas Gonzalez	23-03-00	Remanente	otoño	638	6,5	17	1	Pablo	-32.38	-59.44	El Triángulo	Peluderte árgico crómico
avena	Nogoya 1	12-05-99	Remanente	otoño	1280	5,5	16	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
avena	Nogoya 1	13-05-99	Disponible	otoño	1536	8,5	16	1	Martin	-32.40	-59.71	Aragón	Argiudol ácuico
avena	Nogoya 3	19-05-99	Disponible	otoño	280	6	14	1	Miguel	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
avena	Nogoya 3	19-05-99	Remanente	otoño	280	6,5	14	1	Miguel	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
avena	Nogoya 3	19-05-99	Disponible	otoño	2520	11,5	18	2	Miguel	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
avena	Nogoya 3	19-05-99	Remanente	otoño	936	5,5	18	2	Miguel	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
avena	Nogoya 3	19-05-99	Remanente	otoño	648	5,5	18	3	Miguel	-32.50	-59.73	Cuatro Bocas	Argiudol vértico
raigrás	Racedo	12-08-05	Remanente	invierno	900	6,5	18	1	Don Pedro	-32.00	-60.44	Tezanos Pinto	Argiudol ácuico
raigrás	Mansilla	13-06-01	Disponible	otoño	1950	12,5	15	1	La Juanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
raigrás	Mansilla	27-06-01	Disponible	invierno	1050	9	15	1	La Juanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
raigrás	Mansilla	27-06-01	Remanente	invierno	225	5	15	1	La Juanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
raigrás	Mansilla	08-08-01	Disponible	invierno	1330	6,5	19	1	La Juanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
raigrás	Mansilla	08-08-01	Remanente	invierno	475	3	19	1	La Juanita	-32.52	-59.34	La Emiliana	Argiudol ácuico
avena	Gualeguay	01-05-01	Disponible	otoño	2430	16	18	1	Robles	-33.06	-59.36	Las Cabezas	Argiudol ácuico
raigrás	Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	1430	8,5	22	1	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	1650	11	22	2	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	2310	13	22	3	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	26-08-05	Disponible	invierno	550	7,5	22	4	La Alcira	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	28-11-02	Disponible	primavera	575	6	23	1	VI Domino+Balansae	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	29-08-02	Remanente	invierno	172	4	23	1	VI Domino01	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	29-08-02	Disponible	invierno	1034	7	23	1	VI Domino01	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
raigrás	Aranguren 1	28-11-02	Disponible	primavera	518	6	23	2	VI Domino01	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico

Especie	Sitio	Fecha	Estado	Estación	BA (kg MS ha <sup>-1</sup> )	AFC (cm)	MS (%)	Rep.	Descripción	Lat.	Long.	Serie suelo	Tipo suelo
raigrás	Aranguren 1	28-11-02	Disponible	primavera	1265	9,5	23	3	VI Eclipse+Balansae	-32.28	-60.13	General Ramírez	Peluderte árgico crómico
avena	Don Cristobal 2	26-05-99	Disponible	otoño	3080	24	14	1	Niya	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
avena	Don Cristobal 2	27-05-99	Remanente	otoño	1344	7	14	1	Niya	-32.16	-60.00	Complejo Arroyo Don Cristóbal	Argiacuol vértico
avena	Don Cristobal 1	27-04-01	Disponible	otoño	2250	12,5	15	1	Campora	-32.15	-59.97	El Recreo	Argiudol vértico
avena	Don Cristobal 1	27-04-01	Remanente	otoño	1350	8,5	15	1	Campora	-32.15	-59.97	El Recreo	Argiudol vértico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Remanente	invierno	375	5,5	15	1	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	2250	12	15	1	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	2475	15	15	2	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	2550	17	15	3	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	2175	12	15	4	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1875	10,5	15	5	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1725	13	15	6	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1650	11,5	15	7	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	2100	12	15	8	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	825	8,5	15	9	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1200	7	30	1	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1050	7,5	30	2	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1350	10	30	3	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	2100	14	30	4	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1950	11,5	30	5	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1500	11,5	30	6	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1500	10,5	30	7	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1650	12	30	8	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	750	8,5	30	9	TATA	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	21-06-05	Disponible	invierno	1425	10,5	15	10	TATA TNPO	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	1050	8	30	10	TATA TNPO	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico
raigrás	Ramblon	03-08-05	Disponible	invierno	600	6	30	11	TATA TNPO	-31.83	-60.15	El Puesto	Peluderte árgico

### Datos de verdeos invernales utilizados para calibrar el modelo

Altura (cm)	PASTURAS PERENNES - PRIMAVERA			PASTURAS PERENNES - VERANO			PASTURAS PERENNES - INVIERNO			PASTURAS PERENNES - OTOÑO			VERDEOS INVERNALES - ANUAL		
	BA modelada (kg MS ha <sup>-1</sup> )	BA observada (kg MS ha <sup>-1</sup> ) Millapán 2014	Altura (cm)	BA modelada (kg MS ha <sup>-1</sup> )	BA observada (kg MS ha <sup>-1</sup> ) Martin et al. 2005	Altura (cm)	BA modelada (kg MS ha <sup>-1</sup> )	BA observada (kg MS ha <sup>-1</sup> ) Millapán 2014	Altura (cm)	BA modelada (kg MS ha <sup>-1</sup> )	BA observada (kg MS ha <sup>-1</sup> ) Millapán 2014	Altura (cm)	BA modelada (kg MS ha <sup>-1</sup> )	BA observada (kg MS ha <sup>-1</sup> ) Millapán 2014	
2,0	920	399	4,8	2268	864	1,1	403	197	0,8	487	129	1,9	12	295	
2,2	1114	422	4,8	1443	864	1,1	141	197	2,2	358	331	2,7	396	412	
5,0	518	981	5,0	1278	895	1,9	867	339	3,1	487	467	3,1	261	470	
5,1	1179	1004	5,1	1067	910	2,1	344	377	3,1	264	467	3,3	951	507	
6,1	1438	1186	6,6	2088	1188	2,5	94	452	3,3	628	500	4,0	1426	607	
6,1	803	1198	6,8	1428	1219	2,9	1391	518	4,1	1098	620	4,0	1019	607	
6,1	1671	1198	6,8	1653	1219	3,2	379	575	4,1	899	628	4,2	792	636	
7,1	674	1392	6,9	1203	1234	3,3	998	584	4,3	1310	653	4,4	1403	674	

PASTURAS PERENNES - PRIMAVERA			PASTURAS PERENNES - VERANO			PASTURAS PERENNES - INVIERNO			PASTURAS PERENNES - OTOÑO			VERDEOS INVERNALES - ANUAL		
8,0	1723	1563	7,6	2628	1373	3,3	820	584	5,2	1381	789	4,4	1562	674
8,0	816	1574	7,7	1608	1388	3,3	570	584	5,2	816	797	4,4	1143	674
8,2	1218	1597	8,0	1338	1435	3,3	237	594	5,2	1580	797	4,5	838	682
9,0	1282	1768	8,6	2013	1543	3,8	1189	688	5,3	1780	805	4,5	973	682
9,1	1438	1779	8,9	1623	1604	4,0	1331	717	6,1	981	926	4,8	1460	724
10,0	1684	1962	9,1	2613	1635	4,0	570	726	6,1	675	934	4,9	702	740
10,1	1490	1974	9,5	3318	1697	4,1	415	735	6,8	1627	1047	5,0	1731	753
10,2	2280	1986	9,9	1788	1774	4,2	879	754	6,9	934	1063	5,0	1290	757
10,2	1088	1986	10,0	2478	1789	4,4	189	792	7,1	1909	1079	5,0	1596	757
10,2	1982	1995	10,1	1608	1804	5,1	867	915	8,1	2062	1232	5,0	1143	761
11,0	1775	2144	10,9	2103	1959	5,2	617	934	9,2	1110	1401	5,0	1471	765
11,0	2215	2156	11,9	2613	2144	5,8	653	1047	9,2	1369	1401	5,4	905	823
11,1	1528	2167	12,0	2178	2160	5,8	867	1047	9,4	1616	1433	5,4	1743	823
11,1	1269	2167	12,9	2118	2314	5,9	427	1066	10,0	2144	1530	5,4	792	823
11,1	2396	2179	12,9	2298	2314	6,0	296	1085	10,1	1992	1538	5,4	1358	828
12,0	1684	2349	13,9	2598	2499	7,0	1712	1255	10,3	1686	1570	5,5	1154	832
12,1	2098	2361	15,7	2973	2823	7,0	808	1255	10,3	1063	1578	5,5	1019	840
12,1	1813	2361	2,7	633	479	7,0	1355	1255	11,1	1651	1691	5,7	713	865
12,1	1956	2373	3,7	769	665	7,0	653	1264	11,1	1357	1691	5,9	1460	894
13,1	1606	2555	4,6	1010	819	8,0	1284	1444	11,1	1475	1691	5,9	1833	902
13,2	1088	2578	5,6	1131	1004	8,1	2450	1453	11,2	1815	1706	6,4	1641	969
13,9	1723	2727	7,7	1161	1391	8,8	1474	1585	11,3	2227	1723	6,4	1245	973
14,0	1490	2737	7,8	1477	1406	8,9	986	1595	12,3	1992	1876	6,5	1109	982
14,1	2176	2748	8,6	1221	1545	10,0	903	1793	13,1	1381	2004	6,6	1403	998
15,1	1308	2954	9,5	1869	1700	10,0	1105	1793	13,2	1698	2020	6,6	1833	1006
15,2	2176	2966	9,9	1643	1777	10,2	2165	1831	13,9	1768	2125	7,0	1154	1056
15,2	1982	2966	9,9	1266	1777	11,6	784	2086	16,2	2309	2471	7,0	2433	1061
15,2	2578	2966	10,1	2065	1808	11,7	1391	2095	20,3	2838	3106	7,0	2580	1061
15,9	2150	3114	11,1	2035	1993	12,8	1855	2304	24,0	4131	3678	7,0	2184	1061
16,1	2720	3148	11,6	1296	2086	14,3	1617	2568	24,1	3237	3686	7,0	2014	1061
16,3	1930	3183	12,7	1417	2271				24,1	4894	3694	7,0	3417	1065
17,0	2241	3331	13,8	1779	2472							7,0	939	1065
17,1	1775	3341	14,1	2141	2533							7,2	1584	1090
17,1	2111	3341	14,8	2457	2657							7,5	1471	1135
17,1	2681	3353	16,1	2668	2889							7,9	2037	1194
18,0	1295	3525	16,6	3286	2982							7,9	1856	1194
18,0	2733	3525	17,1	2683	3076							7,9	1019	1206
18,0	2539	3525	18,9	3030	3385							8,0	1347	1210
18,1	1956	3547	19,5	3181	3508							8,4	1335	1269
18,1	1567	3547	20,1	2186	3600							8,4	1958	1281
21,2	1865	4141	7,9	1002	1422							8,7	1143	1327
22,0	2254	4300	9,0	1291	1607							9,0	1109	1368
24,1	3381	4711	10,0	1524	1792							9,1	1743	1389
25,1	4391	4904	10,2	1112	1839							9,5	1844	1439
25,2	3044	4928	12,8	2018	2302							9,5	2059	1439

PASTURAS PERENNES - PRIMAVERA			PASTURAS PERENNES - VERANO			PASTURAS PERENNES - INVIERNO			PASTURAS PERENNES - OTOÑO			VERDEOS INVERNALES - ANUAL		
25,2	3238	4928	13,7	1620	2456							9,9	1980	1501
34,1	3847	6673	13,7	1867	2456							10,0	2093	1514
			13,9	2197	2503							10,0	1630	1522
			15,0	2156	2690							10,1	1777	1527
			15,7	1785	2812							10,5	2014	1589
			15,8	2101	2844							11,5	2105	1751
			16,8	2238	3013							12,0	1743	1821
			19,7	2705	3539							12,5	2953	1893
			19,9	3281	3569							12,5	1335	1893
			20,7	2554	3724							12,5	1630	1897
			20,7	2732	3724							13,0	2297	1972
			21,3	3570	3817							15,0	3462	2275
			22,8	2938	4096							15,2	3338	2309
			24,0	2677	4311							15,4	4967	2345
			27,0	2842	4851							15,5	2817	2354
			30,6	3007	5501							16,0	3417	2424
			33,0	3103	5918							16,0	2738	2424
			33,7	3597	6042							17,9	3790	2716
			35,7	4078	6414							21,5	1799	3269

Recibido 27 de agosto de 2018 // Aceptado 18 de enero de 2019 // Publicado online 07 de abril de 2021

# Análisis de la disponibilidad de agua útil del suelo en plantaciones de kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev) del sudeste bonaerense

DAVID, M.A.<sup>1</sup>; LIGIER, H.D.<sup>1</sup>; SÁNCHEZ, E.E.<sup>1</sup>

## RESUMEN

El sudeste de la provincia de Buenos Aires concentra la mitad de la superficie plantada con kiwi en Argentina. Los productores de la zona no disponen de un plan de riego acorde a las características del suelo que permita usar racionalmente el agua. El objetivo de este trabajo fue analizar la disponibilidad de agua útil de 14 campos cultivados con kiwi "Hayward", localizados en Sierra de los Padres, Mar del Plata, Batán, Miramar y Mar del Sur, y relacionarlas con el tipo de suelo, como un aporte para mejorar el riego de este frutal en la región. Entre octubre y noviembre de 2016, se tomaron muestras de suelo en un lote de cada campo a 0-20 y 20-40 cm de profundidad, donde predomina la mayor concentración y distribución de raíces. Se calculó el agua útil (AU) del suelo determinando su capacidad de campo (CC) a 0,33 atm, punto de marchitez permanente (PMP) a 15 atm y densidad aparente (Dap). Otras determinaciones incluyeron textura y carbono orgánico total. Los suelos presentaron valores promedio de CC de 30,8 y 30,5%, de PMP de 16,0 y 14,9%, y de Dap de 1,2 y 1,3 g/cm<sup>3</sup> en los 0-20 y 20-40 cm de profundidad, respectivamente. La lámina de AU en los 40 cm del perfil del suelo promedió los 74,9 mm. Estos valores se correspondieron con suelos francos y con contenidos de materia orgánica (MO) del 5,2 y 4,7% en los 0-20 y 20-40 cm, respectivamente. Se concluye que la capacidad de retención de agua entre sitios y profundidades fue similar debido a la textura franca y alto contenido de MO de todos los suelos evaluados. Esta información es de utilidad para realizar un manejo más eficiente del riego en las plantaciones de kiwi.

**Palabras clave:** capacidad de campo, punto de marchitez permanente, densidad aparente, textura, materia orgánica.

## ABSTRACT

*The southeast of Buenos Aires province concentrates half of the area planted with kiwifruit in Argentina. Producers in this region have no irrigation program in line with soil properties to ensure a more rational use of water. The objective of this work was to determine water constants of 14 fields cultivated with "Hayward" kiwifruit located in the area of Sierra de los Padres, Mar del Plata, Batán, Miramar and Mar del Sur, and relate them with soil type, as a contribution to improve the irrigation of this fruit in the area.*

*Between October and November of 2016, soil samples were taken from each field at a depth of 0-20 and 20-40 cm, where the highest concentration and distribution of roots are found. Available water (AW) was determined by measuring field capacity (FC) at 0.33 atm, permanent wilting point (PWP) at 15 atm and bulk*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, ruta 226 km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires. Correo electrónico: david.maria@inta.gov.ar

density (BD). Other analyses included soil texture and total organic carbon. Soils showed average FC values of 30.8 and 30.5%, PWP values of 16.0 and 14.9%, and BD values of 1.2 and 1.3 g/cm<sup>3</sup> at soil depths of 0-20 and 20-40 cm, respectively. AW in the 40 cm of the soil profile averaged 74.9 mm. These values corresponded with loam soils and organic matter (OM) contents of 5,2 and 4,7% at 0-20 and 20-40 cm, respectively. It is concluded that water holding capacity found between sites and depths were similar due to the loam soil texture and high OM content of all the evaluated soils. This information is useful for a more efficient management of irrigation in kiwi orchards.

**Keywords:** field capacity, permanent wilting point, bulk density, texture, organic matter.

## INTRODUCCIÓN

La planta de kiwi de pulpa verde (*Actinidia deliciosa* A. Chev) es una trepadora originaria de China que se insertó en la Argentina a fines de los 80. Recién adquirió mayor importancia a partir de 2004, cuando se produjo un gran incremento de la superficie implantada. El cultivo se desarrolló principalmente en el norte de la provincia de Buenos Aires (La Plata, San Pedro y Baradero) y en el sudeste (partidos de General Pueyrredón, Gral. Madariaga, Gral. Alvarado, Balcarce y Mar Chiquita) (Benés *et al.*, 2014). En el sudeste bonaerense hay actualmente 530 ha cultivadas con kiwi, distribuidas entre poco más de 30 productores (Yommi, comunicación personal). Allí se concentra prácticamente el 50% de la superficie con kiwi del país (Benés *et al.*, 2014).

Uno de los aspectos para resolver en la zona es el riego, labor cultural indispensable puesto que el kiwi es muy susceptible tanto al déficit (Xiloyannis *et al.*, 2012) como al exceso de agua (Hughes y Wilde, 1989). La falta de agua en verano, luego del cuajado del fruto y a lo largo de su desarrollo, reduce significativamente la producción (García Rubio y García González de Lena, 2010).

Según datos recientes, los productores utilizan el sistema de riego por goteo (37%), microaspersión (45%) o la combinación de ambos (18%) (Yommi *et al.*, 2017). Sin embargo, no disponen de un plan de riego acorde a las características del suelo, sino que realizan la operación arbitrariamente, dos o tres veces por día. Un buen diseño y manejo del riego permitiría una mayor eficiencia en el uso del agua. Para ello se debe considerar la arquitectura radical del cultivo en los suelos del sudeste bonaerense, con el fin de reponer la humedad del suelo hasta la profundidad de máxima exploración de raíces (Comité del kiwi, 2010).

Las plantas de kiwi presentan un sistema de raíces con una baja dominancia del ápice radical y un gran número de raíces laterales fibrosas que a su vez se van subdividiendo (Xiloyannis *et al.*, 1993 y 2012). Estudios recientes realizados en campos del sudeste bonaerense concluyeron que la distribución de raíces de kiwi se concentró en los primeros 40 cm del suelo, coincidiendo en que el cultivo presenta un sistema radical superficial (David *et al.*, 2017).

Esos estudios preliminares sientan las bases para evaluar en la zona las constantes hídricas capacidad de campo

(CC), punto de marchitez permanente (PMP) y lámina de agua útil (AU) o disponible para las plantas en el volumen de suelo explorado por las raíces. La magnitud de dichas constantes se relaciona con las propiedades del suelo, dependiendo principalmente del contenido de materia orgánica (MO) y la textura, las cuales determinan su estructura y densidad aparente (Dap) (Comité del kiwi, 2010). La Dap es además un indicador de la compactación del suelo (Keller y Hakansson, 2010).

El riego debe realizarse tratando de cubrir el total del AU del suelo, de modo que su humedad permanezca lo más cercana a la CC, y nunca se encuentre por debajo del PMP (Xiloyannis *et al.*, 2012). Medina *et al.* (2017) mencionan valores de CC de 9 a 35% y de PMP de 4 a 17%, para suelos arenosos y arcillosos, respectivamente. Por una parte, Buchner *et al.* (1994) mencionan valores de AU de 0,67 a 1,17 mm/cm para suelos franco arenosos, y de 0,83 a 1,5 mm/cm para suelos francos. McIntosh (2009) observó valores de AU de 1,9 a 2,6 mm/cm en suelos franco arenosos de Nueva Zelanda cultivados con kiwi. Por otra parte, Viville *et al.* (1986) y Hudson (1994) observaron para suelos de diferente textura, importantes incrementos del AU al aumentar la MO del suelo.

Determinar las constantes hídricas del suelo en el sudeste bonaerense permitiría a los productores mejorar la operación de riego, que hasta el presente se realiza sin ningún tipo de observación del estado hídrico del suelo ni de la distribución radical. Conocer la lámina de AU permitiría determinar el tiempo de riego según el caudal del microaspersor o gotero. A su vez, los tensiómetros podrían utilizarse de manera más precisa según los valores de CC y PMP. A partir de lo mencionado, el objetivo de este trabajo fue analizar la disponibilidad de agua útil de 14 campos cultivados con kiwi "Hayward", localizados en Sierra de los Padres, Mar del Plata, Batán, Miramar y Mar del Sur, y relacionarlas con el tipo de suelo, como un aporte para mejorar el riego de este frutal en la región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se visitaron 14 campos de productores de kiwi (*A. deliciosa* "Hayward") del sudeste bonaerense que cubrían un amplio radio geográfico, incluyendo Sierra de los Padres, Mar del Plata, Batán, Miramar y Mar del Sur. En lotes (si-



tios) seleccionados, se tomaron muestras compuestas de suelo de los lomos sobre los que están dispuestas las plantas de kiwi, a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, debido a que se corresponde con la profundidad más frecuente que alcanzaron las raíces en estudios previos. Se obtuvieron 28 muestras totales.

Las muestras fueron enviadas al laboratorio de Suelos del INTA Pergamino para determinar las constantes hídricas del suelo correspondientes a CC (%: g de agua/100 g de suelo), PMP (%: g de agua/100 g de suelo), textura (clasificación textural y % de arcilla, limo y arena) y carbono orgánico total (COT, g/kg de suelo). La CC se determinó con olla extractora de presión a 0,33 atm, el PMP con placa extractora de presión Richards a 15 atm, la textura con pipeta Robinson y el COT mediante combustión húmeda por el método de Walkley y Black (Walkley y Black, 1934).

Luego se extrajeron muestras simples con cilindros de volumen conocido para determinar la Dap a las mismas profundidades. Las 28 muestras obtenidas se llevaron a estufa durante 72 h a 105 °C para calcular su peso seco. Por una parte, la Dap se calculó como:

$$\text{Dap (g/cm}^3\text{)} = \text{peso seco del suelo contenido en el cilindro/volumen del cilindro}$$

Con las constantes hídricas obtenidas para cada muestra se calculó el AU como:

$$\text{AU (\%: cm}^3\text{ de agua/100 cm}^3\text{ de suelo)} = (\text{CC (\%)} - \text{PMP (\%)}) \times \text{Dap (g/cm}^3\text{)}$$

Las unidades de AU volumétrica (cm<sup>3</sup> de agua/100 cm<sup>3</sup> de suelo) equivalen a mm de agua/10 cm de profundidad del suelo/ha. Así, se multiplicaron los resultados obtenidos por 2 para obtener la lámina de AU en los 20 cm de profundidad de cada muestra. Finalmente, se determinó la lámina de AU en el perfil total ocupado por las raíces como la suma del AU en los 0-20 y 20-40 cm.

Por otra parte, el COT (kg/ha) se calculó como:

$$\text{COT (kg/ha)} = \text{COT (g/kg)} \times \text{Dap (kg/ha)} \times 1 \text{ kg /1000 g, donde}$$

$$\text{Dap (kg/ha)} = \text{Dap (g/cm}^3\text{)} \times 2.10^9 \text{ cm}^3\text{/ha} \times 1 \text{ kg/1000 g}$$

La MO (%) se calculó como:

$$\text{MO (\%: g/100 g de suelo)} = \text{COT (g/100 g de suelo)} \times 1,724$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Textura del perfil

Los suelos de los sitios evaluados se caracterizaron por presentar en ambas profundidades una clase textural franca (tabla 1). Solo los sitios 9 y 12 presentaron en los primeros 20 cm de profundidad una textura franco-arenosa y franco-limosa, respectivamente. En cambio, en los 20-40 cm de profundidad, los sitios 7 y 12 fueron la excepción y presentaron una textura franco-arcillo-arenosa y franco-limosa, respectivamente. El espesor del horizonte A se observó engrosado (tabla 1) debido al alomado sobre el cual se instaló el cultivo.

### Constantes hídricas del perfil

Los suelos muestreados en los 14 sitios presentaron valores promedio de CC de 30,8 ± 2,9 en los 0-20 cm y 30,5 ± 3,2% en los 20-40 cm de profundidad del suelo (tabla 2). Los valores promedio de PMP fueron de 16,0 ± 2,5 en los 0-20 cm y 14,9 ± 2,4% en los 20-40 cm del suelo (tabla 3). Teniendo en cuenta los valores de referencia mencionados por Medina *et al.* (2017), los resultados obtenidos son acordes a la textura intermedia o franca de los suelos evaluados.

La Dap promedio en las dos profundidades muestreadas fueron muy similares: 1,2 ± 0,1 g/cm<sup>3</sup> a 0-20 cm de profundidad, y 1,3 ± 0,1 g/cm<sup>3</sup> a los 20-40 cm (tabla 4). Suelos francos con una Dap de 1,4 g/cm<sup>3</sup> no presentan aún problemas de compactación (Antúnez *et al.*, 2015), y la Dap registrada estuvo por debajo de los niveles de compactación que limitan el desarrollo radicular y la productividad del cultivo. De todos modos, teniendo en cuenta la concentración de las raíces del cultivo de kiwi en los primeros 40 cm de profundidad del suelo, es de suma importancia atenuar los procesos que incrementen la compactación excesiva tanto superficial como subsuperficial, caso contrario se reducirá el AU del suelo. En este sentido, incorporar mulch a los lomos o mantenerlo con vegetación mantendría una Dap óptima del suelo (Pound, 1998; Zribi *et al.*, 2011).

Los valores de AU para los 40 cm del perfil del suelo promediaron los 74,9 mm (tabla 5), o 748 m<sup>3</sup>/ha. Xiloyannis *et al.* (1993) observaron valores mucho menores en plantaciones de kiwi en Italia, de 18 a 135 m<sup>3</sup>/ha. Esto se debería a las diferencias en la textura del suelo, ya que los contenidos de arcilla (12 y 20,5% en 0-20 y 20-40 cm respectivamente) registrados por dichos autores fueron mucho menores y los contenidos de arena (74 y 65,5%) mucho mayores a los obtenidos en el sudeste bonaerense, lo cual reduce

Profundidad (cm)	Textura	Arcilla (%)	Arena (%)	Limo (%)	n
0-20	Franco	21,5 ± 2,9	42,5 ± 4,5	36,0 ± 4,5	12
20-40	Franco	21,5 ± 2,9	42,3 ± 5,8	36,2 ± 6,1	12

**Tabla 1.** Textura, contenido de arcilla, arena y limo (%) promedio del suelo de 12 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense para dos profundidades, 2016. Los promedios para los 0-20 cm de profundidad excluyen los sitios 9 y 12, de textura franco-arenosa y franco-limosa respectivamente. Para los 20-40 cm, los promedios excluyen los sitios 7 y 12, de textura franco-arcillo-arenosa y franco-limosa respectivamente.

Profundidad (cm)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	$\bar{x}$	Sd	CV
0-20	31,2	29,1	27,5	34	30,2	28,9	35,5	29,7	25,1	32,8	33,1	33,5	28,6	32,7	30,8	2,9	9,4
20-40	35,8	29,9	28,1	32	26,8	26,9	32,1	33,3	25,8	29,8	32,3	33,9	27,3	33,5	30,5	3,2	10,4

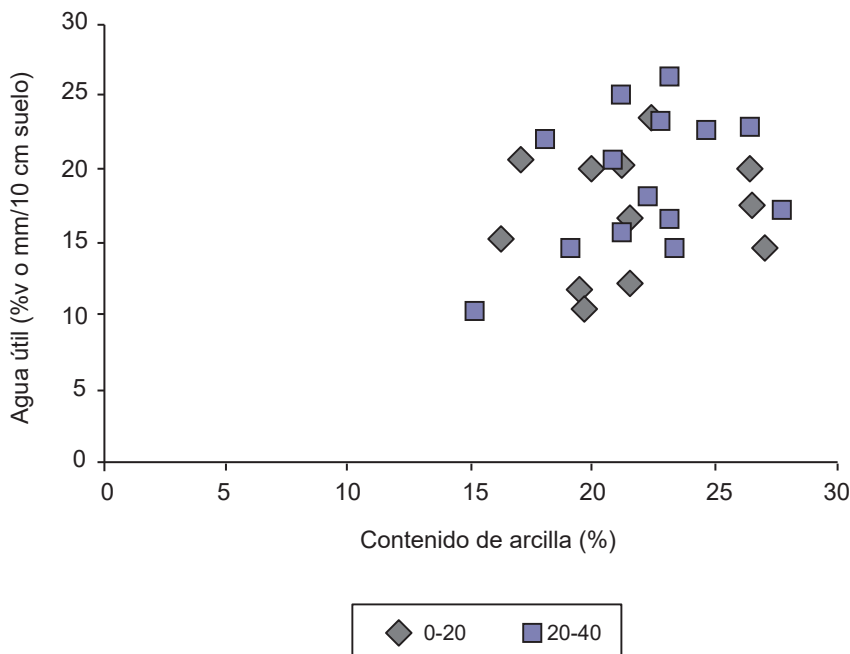
**Tabla 2.** Capacidad de campo (CC, %: gramos de agua/100 gramos de suelo) en dos profundidades del suelo para 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.  $\bar{x}$ : media, Sd: desvío estándar y CV: coeficiente de variación.

Profundidad (cm)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	$\bar{x}$	Sd	CV
0-20	1,3	1,3	1,1	1,2	1,1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,1	1,3	1,1	1,2	1,1	1,2	0,1	9,4
20-40	1,3	1,5	1,4	1,2	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4	1,1	1,3	1,1	1,1	1,3	1,3	0,1	9,3

**Tabla 3.** Punto de Marchitez permanente (PMP, %: gramos de agua/100 gramos de suelo) en dos profundidades del suelo para 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.  $\bar{x}$ : media, Sd: desvío estándar y CV: coeficiente de variación.

Profundidad (cm)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	$\bar{x}$	Sd	CV
0-20	1,3	1,3	1,1	1,2	1,1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,1	1,3	1,1	1,2	1,1	1,2	0,1	9,4
20-40	1,3	1,5	1,4	1,2	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4	1,1	1,3	1,1	1,1	1,3	1,3	0,1	9,3

**Tabla 4.** Densidad aparente (Dap, g/cm<sup>3</sup>) en dos profundidades del suelo para 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.  $\bar{x}$ : media, Sd: desvío estándar y CV: coeficiente de variación.



**Figura 1.** Relación entre el contenido de arcilla (%) y el agua útil (%) en dos profundidades del suelo (0-20 y 20-40 cm). Los valores se corresponden con 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.

el AU del suelo. Las partículas finas del suelo retienen con más fuerza el agua que contiene, por lo que cuanto mayor es el contenido de arcilla, mayor será el AU del suelo (Antúnez *et al.*, 2015). En este sentido, en el presente estudio se observó una tendencia a incrementarse el AU del suelo al aumentar su contenido de arcilla, independientemente de la profundidad (fig. 1). Esta relación no fue más pronunciada debido probablemente a las escasas diferencias texturales entre sitios.

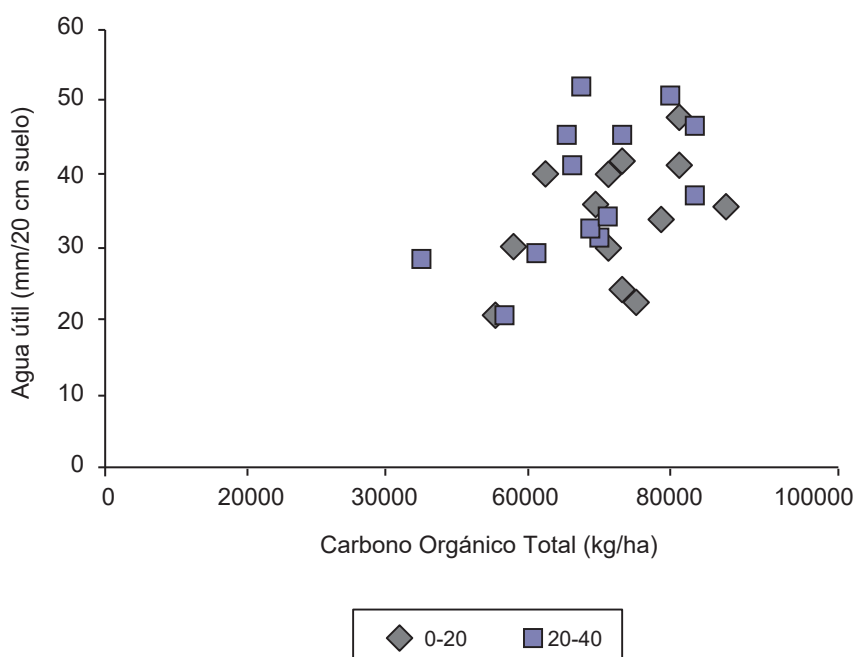
Los registros de AU obtenidos en los 0-20 cm fueron, en promedio, de 1,75 mm/cm, mientras que en los 20-40 cm de 1,95 mm/cm (tabla 5). Estos fueron menores a los observados por McIntosh (2009) en suelos franco-arenosos, a pesar de la textura más fina de los suelos evaluados en el sudeste bonaerense. Esto se debe probablemente a que los suelos evaluados por McIntosh presentaron valores de Dap de 0,74 a 1,15 g/cm<sup>3</sup>, menores en comparación a los obtenidos en este estudio. Sin embargo, los valores de AU obtenidos fueron mayores a los mencionados por Buchner *et al.* (1994) para suelos francos, seguramente por diferencias en la MO o Dap.

### MO del perfil y COT

Por una parte, los valores de MO en los 0-20 cm de profundidad del suelo promediaron el  $5,2 \pm 0,6\%$ , mientras que en los 20-40 cm el  $4,7 \pm 0,5\%$ . Los suelos del sudeste se caracterizan por un alto contenido de MO. A su vez, los valores de COT en los 40 cm de profundidad del suelo oscilaron entre 99000 y 164000 kg/ha. Por otra parte, se observó una tendencia a incrementarse el AU del suelo al aumentar el COT (kg/ha) (fig. 2). Estos resultados no coinciden totalmente con lo observado por Viville *et al.* (1986) y Hudson (1994), quienes vieron un gran aumento del AU al incrementarse la MO del suelo. Rawls *et al.* (2003) y Minasny y McBratney (2018) compararon el efecto de la incorporación de carbono orgánico sobre el AU de suelos de diferentes texturas. Observaron un efecto mínimo en suelos arcillosos, mientras que el mayor incremento del AU se observó en los suelos arenosos. Concluyeron que esto se debería a la formación de macroagregados en los suelos con poros de mayor tamaño. Probablemente, en este estudio los suelos francos evaluados no permitieron hallar una relación más fuerte entre el COT y el AU.

Profundidad (cm)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	$\bar{x}$	Sd	CV
0-20	40,5	35,9	24,1	35,3	30,2	33,2	40	40,2	41,6	30,5	47,3	29,7	26,3	40,6	35,4	6,6	18,7
20-40	50,7	45,5	36,4	45,6	28,9	31,2	32,8	41,3	44,2	32,5	46,6	34	31,2	52,1	39,5	7,9	20

**Tabla 5.** Agua útil (AU, mm) en dos profundidades del suelo para 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.  $\bar{x}$ : media, Sd: desvío estándar y CV: coeficiente de variación.



**Figura 2.** Relación entre el carbono orgánico total del suelo (kg/ha) y el agua útil (mm/20 cm de suelo) en dos profundidades del suelo (0-20 y 20-40 cm). Los valores se corresponden con 14 sitios pertenecientes a plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. 2016.

## Vinculación al sistema de riego

Si bien los valores de AU fueron altos, lo recomendable es mantener el contenido de agua del suelo cercano a CC, aplicando el riego (tanto por goteo como por aspersión) cuando el AU se reduce en un 20%. En el sitio 12, por ejemplo, cuyo marco de plantación es de 4 x 4 m, se aplica riego por microaspersión. Los aspersores tienen un caudal de 30 l/h, por lo que teniendo en cuenta el AU en los 40 cm del perfil del suelo (63,8 mm), necesitaría regarse durante 6 horas con 200 l si se redujo el AU en un 20%. En el sitio 8, cuyo marco de plantación es de 5 x 5 m, se aplica riego por goteo. Los goteros tienen un caudal de 1,6 l/h y están separados a 33 cm, por lo que considerando el AU en los mismos 40 cm de profundidad (81,6 mm), se necesitaría regar durante 1,12 h con un total de 54 l para recuperar un 20% de AU.

Es notorio el ahorro de agua que surge de aplicar riego por goteo comparado con la microaspersión. De todos modos, se debe tener en cuenta que el primero incorpora agua al suelo en una superficie pequeña, y no considera la distribución horizontal de las raíces de las plantas, a diferencia de la microaspersión. Se debería estudiar dicha distribución para ver qué proporción de raíces queda sin cubrir con el goteo y la necesidad de complementar con microaspersión.

## CONCLUSIONES

El presente trabajo permitió conocer las constantes hídricas de la zona del sudeste bonaerense, incluyendo sitios localizados en Sierra de los Padres, Mar del Plata, Batán, Miramar y Mar del Sur. Dichas constantes fueron muy similares en los distintos sitios y en las dos profundidades de suelo evaluadas. La CC fue en promedio de 30,8 y 30,5%, mientras que el PMP fue de 16,0 y 14,9% en los 0-20 y 20-40 cm de profundidad, respectivamente. La Dap fue prácticamente igual entre sitios y en las dos profundidades, de 1,2 y 1,3 g/cm<sup>3</sup> promedio en los 0-20 y 20-40 cm, respectivamente. Esto trajo aparejados valores de AU también similares, de 35,4 y 39,5 mm en las mismas profundidades.

Las escasas diferencias halladas se debieron principalmente a que casi todos los sitios presentaron en ambas profundidades una textura franca, con un promedio de 21% de arcilla, 42% de arena y 36% de limo. Además, los valores promedio de MO de todos los suelos evaluados de la zona fueron muy altos, de 5,2 y 4,7% en los 0-20 y 20-40 cm de profundidad, respectivamente.

Las constantes hídricas evaluadas en este estudio son necesarias para contribuir a un manejo racional del riego en las plantaciones de kiwi del sudeste bonaerense. El AU promedio en los 40 cm de profundidad del suelo (donde predominó la mayor concentración y distribución de raíces) fue de 74,9 mm. El riego se debe realizar de manera de reponer esa lámina de agua, para lo cual es necesario el uso de instrumentos de medición correctamente calibrados para este tipo de suelos, francos y ricos en MO. En la zona, los productores utilizan tensiómetros debido a que son sen-

cillos de utilizar. Se debe considerar los valores de CC y PMP hallados en ambas profundidades para mantener el contenido de agua del suelo lo más cercano a la CC.

Finalmente, se destaca la importancia de atenuar procesos que incrementen la compactación excesiva, tanto superficial como subsuperficial, para evitar la reducción de la capacidad de almacenamiento de agua del suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se encuentra enmarcado dentro del proyecto específico INTA PNFRU 1105082 "Superación de brechas tecnológicas que limitan la calidad en las cadenas frutícolas".

## BIBLIOGRAFÍA

- ANTÚNEZ, A.; FELMER, S.; VIDAL, M.; MORALES, R.; COZ, E.; FUENTES, F. 2015. Propiedades físico-hídricas del suelo en el cultivo del maíz grano. En: ANTÚNEZ, A.; VIDAL, M.; FELMER, S.; GONZÁLEZ, M. (Eds.). Riego por Pulsos en Maíz Grano. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Rengo, Chile. 31-50 pp.
- BENÉS, G.; VITERI, M.L.; YOMMI, A. 2014. Kiwi marplatense: un negocio innovador. Trabajo completo. IV Congreso Regional de Economía Agraria y XLV Reunión Anual de la AAEA, Buenos Aires. (Disponible: [https://www.researchgate.net/publication/317570180\\_KIWI\\_MARPLATENSE\\_TRAYECTORIA\\_DE\\_UN\\_NEGOCIO\\_INNOVADOR](https://www.researchgate.net/publication/317570180_KIWI_MARPLATENSE_TRAYECTORIA_DE_UN_NEGOCIO_INNOVADOR) verificado: 02 de mayo de 2018).
- BUCHNER, R.P.; GOLDHAMER, D.A.; SHAW, D.A. 1994. Irrigation scheduling. En: HASEY, J.K.; JOHNSON, R.S.; GRANT, J.A.; REIL, W.O. (Eds.). Kiwifruit growing and handling. UCANR Publications, University of California, Oakland, California, EUA. 43-49 pp.
- COMITÉ DEL KIWI. 2010. Riego en kiwi. En: KÖHLER, E.; DONOSO, P. (Eds.). Manual de producción del kiwi chileno. Chile. 177-199 pp.
- DAVID, M.A.; LIGIER, D.; SÁNCHEZ, E. 2017. Estudios preliminares orientados a un uso eficiente del agua de riego. Segunda Reunión de Kiwi, AER INTA Mar del Plata.
- GARCÍA RUBIO, J.C.; GARCÍA GONZÁLEZ DE LENA, G. 2010. Guía para el cultivo de kiwi. (Disponible: <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=5235> verificado: 02 de mayo de 2018).
- HUDSON, B.D. 1994. Soil organic matter and available water capacity. *Journal of Soil and Water Conservation* 49, 189-194.
- HUGHES, K.A.; WILDE, R.H. 1989. The effect of poor drainage on the root distribution of kiwifruit vines. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 17, 239-244.
- KELLER, T.; HÅKANSSON, I. 2010. Estimation of reference bulk density from soil particle size distribution and soil organic matter content. *Geoderma* 154, 398-406.
- MCINTOSH, J. 2009. Kiwifruit and dairying effects on shallow groundwater. *Environment Bay of Plenty* 6. 38 p.
- MEDINA, L.; ELLENA, M.; SANDOVAL, P.; GONZÁLEZ, A.; AZÓCAR, G. 2017. El avellano europeo en Chile: Riego. INIA, Chile. (Disponible: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR39143.pdf> verificado: 25 de abril de 2018).
- MINASNY, B.; MCBRATNEY, A.B. 2018. Limited effect of organic matter on soil available water capacity. *European Journal of Soil Science* 69, 39-47.
- POUND, BARRY. 1998. Cultivos de Cobertura para la Agricultura Sostenible en América. (Disponible: <http://www.fao.org/ag/>

AGA/AGAP/FRG/AGROFOR1/Pound7.htm verificado: 25 de abril de 2018).

RAWLS, W.J.; PACHEPSKY, Y.A.; RITCHIE, J.C.; SOBECKI, T.M.; BLOODWORTH, H. 2003. Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma* 116, 61-76.

VIVILLE, D.; AMBROISE, B.; KOROSSEC, B. 1986. Variabilité spatiale des propriétés texturales et hydrodynamiques des 5015 dans le bassin versant du Ringelbach (Vosges, France). En: VOGT, H.; SLAYMAKER, O. (Eds.). *Erosion Budgets and their Hydrologic Basis*. Z. Geomorph. N.F., Suppl. Bd, vol. 60. G. Borntraeger, Berlin. 2140 p.

WALKEY, A.; BLACK, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.

XILOYANNIS, C.; MASSAI, R.; PICCOTINO, D.; BARONI, G.; BOVO, M. 1993. Method and technique of irrigation in relation to root system characteristics in fruit growing. *Acta Horticulturae* 335, 505-511.

XILOYANNIS, C.; MONTANARO, G.; DICHIO, B. 2012. Chapter 5. 14 Kiwifruit. En: *FAO Irrigation and drainage paper 66. Crop yield response to water*, Food and Agriculture. Organization of the United Nations. 350-358 pp.

YOMMI, A.K.; VITERI, M.L.; BENÉS, G.; MURRAY, R.; ROSENSTEIN, S. 2017. Pasado y presente de los sistemas de riego en plantaciones de kiwi del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Segunda Reunión de Kiwi, AER INTA Mar del Plata.

ZRIBI, W.; FACI, J.M.; ARAGÜÉS, R. 2011. Efectos del acolchado sobre la humedad, temperatura, estructura y salinidad de los suelos agrícolas. *ITEA* 2, 148-162.

Recibido 27 de diciembre de 2018 // Aceptado 23 de abril de 2019 // Publicado online 14 de abril de 2021

# Rendimiento del maíz ante el agregado de zeolita y yeso a la fertilización nitrogenada en un Argiudol típico de San Antonio de Areco

BELTRÁN, M.J.<sup>1</sup>; HERRMANN, C.<sup>2</sup>; ROMANIUK, R.I.<sup>1</sup>; FERNANDEZ, A.<sup>2</sup>; JECKE, F.<sup>3</sup>; MOUSEGNE, F.<sup>3</sup>

## RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron evaluar los efectos de la aplicación de yeso y zeolitas acompañando la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento del cultivo de maíz y estimar los costos en relación con el beneficio (rendimiento) de los tratamientos ensayados. Durante la campaña 2017/18 en un Argiudol típico de la localidad de San Antonio de Areco se establecieron 18 parcelas, a las que se les aplicó como fertilización base 100 kg de fosfato mono amónico (FMA) a la siembra. Los tratamientos ensayados fueron (1) maíz fertilizado con 200 kg ha<sup>-1</sup> de urea (U), (2) 200 kg ha<sup>-1</sup> de urea y 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso (U+Y), (3) 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea y (4) 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada (U+Z); y 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea, 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso y 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada (U+Y+Z) y (5) situación testigo sin fertilización nitrogenada (T). En los tratamientos (U + Z) y (U + Y + Z) se reemplazó un 25% de urea con zeolitas. La fertilización con urea (U) y urea + yeso (U+Y) produjeron incrementos del 18% y 16%, respectivamente respecto al testigo, mientras que cuando se aplicó la urea junto con el yeso y la zeolita (U+Y+Z) el incremento en rendimiento estuvo en el orden del 25% (p<0,05). El tratamiento (U+Z) no difirió estadísticamente del testigo, pero tampoco del tratamiento fertilizado con urea solamente. De acuerdo a los datos obtenidos en este ensayo en particular, los tratamientos de reemplazo de 25% de urea por zeolita, sola o con adición de yeso, representarían una alternativa interesante para disminuir los costos sin afectar los rendimientos del cultivo de maíz.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., siembra directa, agrominerales, costo/beneficio.

## ABSTRACT

*The objectives of the present work were to evaluate the effects of the application of gypsum and zeolites accompanying the nitrogen fertilization over the grain yield of corn as well as to estimate the costs in relation to the benefit of the treatments. During the 2017/18, campaign 18 plots were established in a typical Argiudol soil of San Antonio de Areco, Buenos Aires. As base fertilization, there was applied 100 kg ha<sup>-1</sup> of mono ammonium phosphate (MAP) as fertilizer to all the plots at sowing. Treatments were: (1) 200 kg ha<sup>-1</sup> of urea (U); (2) 200 kg ha<sup>-1</sup> of urea with 90 kg ha<sup>-1</sup> of gypsum (U+Y); 150 kg ha<sup>-1</sup> of urea with 50 kg ha<sup>-1</sup> of granulated zeolite (U+Z); 150 kg ha<sup>-1</sup> of urea, 90 kg ha<sup>-1</sup> of gypsum and 50 kg ha<sup>-1</sup> of granulated zeolite (U+Y+Z) and a control treatment with none nitrogen fertilization. (T). At the U+Z and U+Z+Y treatment, 25% of the urea rate was replaced with*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Suelos, Nicolás Repetto y De los Reseros s/n (1686) Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: beltran.marcelo@inta.gov.ar

<sup>2</sup>Servicio Geológico Minero Argentino (SEGEMAR).

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agrícola (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino, Agencia de Extensión Rural (AER) San Antonio de Areco, Zapiola 237 (2760), San Antonio de Areco, Buenos Aires, Argentina.

zeolites. Fertilization with U and U+Y rose grain yield by 18 and 16%, respectively, over the control treatment, whereas urea was applied together with gypsum and zeolites (i.e. U+Y+Z) yield increase reached about 25% ( $p < 0,05$ ). There was not detected difference in terms of grain yield between U + Z treatment and control or the treatment fertilized with urea alone. Based on the experimental results, replacement of 25% of urea with zeolite, alone or in combination with gypsum represents an interesting alternative to reduce costs without affecting corn yields. Nevertheless, more experiments are need, in order to prove it in different situation.

**Keywords:** *Zea mays L., no-tillage, agrominerals, cost/benefit.*

## INTRODUCCIÓN

El suelo es un recurso agotable y su uso intensivo requiere la incorporación de micro y macronutrientes para preservar su calidad. La evolución de producción agrícola-ganadera en la Argentina hacia una agricultura continua y el desplazamiento de la frontera agrícola hacia zonas tradicionalmente mixtas o ganaderas produjo una elevada extracción de nutrientes que no fueron repuestos en igual magnitud, poniendo en peligro la sustentabilidad de los sistemas productivos (Cruzate y Casas, 2003; Cruzate y Casas 2012). Es así que existe un balance negativo de los nutrientes del suelo debido a las bajas tasas de reposición a través de la fertilización, lo cual determina un creciente empobrecimiento en nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca) y boro (B), entre otros elementos esenciales. (García, 2003; García y González Sanjuán 2010).

En este contexto, la utilización de minerales disponibles en yacimientos existentes en la Argentina surge como una alternativa sustentable para reabastecer los suelos agrícolas con elementos deficientes y críticos para la productividad de los cultivos, permitiendo a su vez sustituir insumos que actualmente deben ser importados o disminuir su importación. A nivel mundial, se observa un creciente interés por la utilización de fertilizantes y fitosanitarios biológicos o naturales que permitan optimizar la producción agrícola y al mismo tiempo coadyuven a la conservación, a la recuperación y al mejoramiento de los recursos naturales (Cruzate y Casas, 2009).

En términos generales, los recursos minerales aplicados al agro pueden agruparse en los que son utilizados como fertilizantes (macro y micronutrientes); y en aquellos utilizados como enmiendas (correctores de suelos). Se considera enmienda a cualquier material inorgánico u orgánico, con capacidad para modificar las características físicas, la acción microbiana, y cambiar la reacción del suelo (Ramos *et al.*, 2006). Entre las enmiendas de origen mineral se destacan el yeso, las rocas carbonáticas (calizas y dolomías), zeolita, perlita, turba, vermiculita y determinadas arcillas, entre otros. Un desarrollo sectorial sustentable debe recurrir al uso de fertilizantes y enmiendas elaboradas a partir de materias primas minerales, para mejorar la producción y disminuir la degradación de los suelos (Ramesh y Reddy, 2011).

La fertilización azufrada es una práctica en expansión en diversos países alrededor del mundo. Para América del

Sur, la Argentina y Brasil son los países con mayor demanda de fertilizantes azufrados. En Argentina la mayor parte de la demanda de S con destino a la fertilización de cultivos se origina en la región Pampeana, principal zona de producción de granos del país (trigo, cebada, maíz, sorgo, soja, girasol). Actualmente la fertilización azufrada es una práctica muy instalada en los sistemas de producción, siendo el S el tercer nutriente limitante del rendimiento de los cultivos luego del N y del P (Torres Duggan *et al.*, 2012).

Como alternativa a los fertilizantes azufrados comúnmente utilizados, surge la utilización del yeso. El yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) es un mineral común en ambientes sedimentarios (Casby-Horton *et al.*, 2015). Si bien su uso tradicional a escala mundial es la de mejorar suelos sódicos, tiene otros múltiples usos. Así, el yeso es una excelente fuente de Ca y S, dos macroelementos esenciales necesarios para la nutrición de las plantas (Dontsova *et al.*, 2005); su contenido teórico alcanza 18,6% S y 23% Ca aunque el "yeso agrícola" que es la roca que se comercializa en el ámbito agropecuario contiene diversos grados de pureza. Asimismo, el yeso ha sido utilizado como una enmienda en los suelos agrícolas por más de 200 años (Anikwe *et al.*, 2016) debido a su potencial para mejorar la calidad del suelo y la productividad agrícola (Favaretto *et al.*, 2006). Se considera una alternativa económicamente viable para ser utilizada como fertilizante para suplementar los requerimientos de S y remediar los suelos con deficiencia de este nutriente. Los resultados derivados de la aplicación de yeso a campo son consistente en los incrementos en  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  derivados de su uso, incluso en capas subsuperficiales, variando la respuesta en función de la dosis, condiciones edáficas locales, clima y manejo. Sin embargo, los efectos del yeso en el rendimiento de los cultivos han demostrado ser más variables generalmente dependiendo de las condiciones climáticas y el tipo de suelo donde fueron aplicados (Caires *et al.*, 2003; Rampim *et al.*, 2011).

Otro aspecto que debe considerarse es el relacionado con la eficiencia de la fertilización nitrogenada (Ferraris *et al.*, 2009). Son ampliamente conocidas las pérdidas derivadas de la aplicación de fertilizantes nitrogenados en suelos (lixiviación, volatilización, etc.), con pérdidas de hasta el 70% del nitrógeno aplicado, con la consecuente pérdida de rendimiento de los cultivos, además de la contaminación del suelo y agua por los nitratos (Sainz Rozas *et al.*, 1997). En relación con ello el uso de fertilizantes de libe-

ración lenta da solución parcial a estas pérdidas, liberando el N de forma gradual y de esta manera incrementando la eficiencia en su uso. En este contexto, el uso de zeolitas aplicadas junto con los fertilizantes nitrogenados constituye una alternativa al uso de fertilizantes de liberación gradual (Barbieri *et al.*, 2010; Van Straaten, 2014).

La zeolita, tal como se la utiliza en el ámbito agropecuario, forma parte de rocas que se las utiliza como fertilizantes o enmiendas (ej. tobas con diferente grado de alteración de su material precursor). Los minerales de zeolita, de los cuales hay diferentes y muy variadas especies mineralógicas, están formados por silicio en forma de silicato combinado con átomos de oxígeno y aluminio en una estructura cristalina tridimensional rígida, que deja pequeñas cavidades interconectadas llamadas microporos. Esta capacidad de retención de nutrientes y agua se debe a que el material tiene abundantes cargas negativas en la superficie y en los microtúneles internos, otorgándole una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Chester y Derouane, 2009). Las rocas portadoras de Heulandita/clinoptilolita tiene una CIC de 150-200 m.e./100 g, la cual es hasta ocho veces más alta de aquella medida en los suelos agrícolas. Por ello, su aplicación, mezclada con los fertilizantes o directa al suelo, mejora de manera sustancial su capacidad de retención y el aprovechamiento de nutrientes por las plantas, además de mejorar las condiciones físicas y biológicas de la capa arable (Herrmann y Torres Duggan, 2016). La alta afinidad de las zeolitas por el  $\text{NH}_4^+$  (Urquiaga y Zapata, 2000) le permite retenerlo en sus canales evitando así su mineralización a  $\text{NO}_3^-$  por bacterias nitrificantes y reduciendo al mismo tiempo las pérdidas de nitrógeno debidas a las rápidas transformaciones bioquímicas y químicas que sufren los fertilizantes nitrogenados en el suelo, principalmente en forma de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  por lixiviación y volatilización, respectivamente, pero producidas también por desnitrificación (Barbarick y Pirela, 1983; Rimski-Korsakov *et al.*, 2015). En los resultados experimentales obtenidos en diversos ensayos en Colombia y México, la mezcla de 25% de zeolita con urea o con los fertilizantes químicos aplicados ha mostrado ser la más efectiva para optimizar su eficiencia y el rendimiento de los cultivos (Soca-Nuñez y Villarreal-Nuñez, 2016; Gonzales Camarillo *et al.*, 2012).

En la Argentina existen cuantiosas reservas de yeso y solo un porcentaje minoritario de su explotación es derivado al uso agrícola. Las regiones del país con mayor potencial para la producción de yeso con destino al uso agrícola son la cuenca neuquina incluido el sur de Mendoza, el oeste y centro-oeste argentino, el sur de Mesopotamia (provincia de Entre Ríos), la región noroeste para un abastecimiento regional, y Buenos Aires y La Pampa. Los yacimientos más importantes, por reservas y leyes, son los de origen marino (en nuestro país son los ubicados en la provincia geológica cuenca neuquina), aunque los de origen lacustre situados en cuencas intermontanas de los sectores extraandinos son muy explotados por su cercanía a los principales centros de consumo (Herrmann y Torres Duggan, 2016).

Con respecto a las rocas portadoras de zeolitas, se trata de un grupo mineral de oferta más reducida. Si bien es re-

lativamente difícil de prospectar, ya que su identificación definitiva se logra mediante difracción de rayos X, organismos como el Servicio Geológico Minero Argentino (SEGEMAR) han llevado a cabo dicha tarea desde hace varios años con resultados satisfactorios. Las zeolitas conforman un grupo mineral de aluminosilicatos hidratados de elementos alcalinos y alcalinotérreos (Ca, Na, K), que se caracterizan por su continua (y en parte reversible) deshidratación y por sus propiedades de intercambio de cationes, principalmente de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{K}^+$ . Sus yacimientos son niveles de piroclastos alterados ("zeolitizados") originados en depósitos lagunares de antiguas cuencas intermontanas, que se presentan en forma de estratos o mantos, y dentro de ellos uno o más niveles de tobas muy zeolitizadas. Se destacan los yacimientos ubicados en la cuenca de Paganzo (La Rioja), con mineralogía de la serie Heulandita/clinoptilolita; en otras zonas del país (Mendoza) se han hallado zeolitas del grupo mordenita. Algunos de ellos han desarrollado ya su explotación y comercialización del producto (Agosto *et al.*, 2005).

Los objetivos del presente trabajo fueron i) evaluar los efectos de la aplicación de yeso y zeolitas acompañando la fertilización de urea sobre el rendimiento del cultivo de maíz en un Arguidol típico de San Antonio de Areco manejado bajo siembra directa y ii) analizar los costos en relación con el beneficio (rendimiento) de los tratamientos ensayados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló durante la campaña 2017/18 en el establecimiento La Fe, ubicado en el partido de San Antonio de Areco, provincia de Buenos Aires. La unidad cartográfica correspondiente al área de estudio presenta un 100% de la serie de suelos Capitán Sarmiento (mapas de suelo INTA). Dicha serie es por superficie y capacidad productiva, la más importante del partido de San Antonio de Areco, habiendo sido clasificada como un Arguidol, fino, illítico, muy profundo, de textura franco arcillo limosa, y 3,4% de materia orgánica en el horizonte superficial. La temperatura media es de 16,5 °C, produciéndose las temperaturas medias mensuales más bajas en junio y julio, mientras que las temperaturas medias mensuales más altas ocurren de diciembre a marzo. Por su parte, la precipitación media anual regional es de 1084 mm, el 75% de estas ocurre en primavera-verano. Durante el ciclo del cultivo la temperatura se encontró dentro de los rangos normales para el momento del año y la zona. Las precipitaciones durante el ciclo del cultivo fueron de 308 mm, aunque estas fueron insuficientes durante el período crítico del cultivo pudiendo generar períodos de estrés hídrico.

El sitio experimental se encontraba hace diez años previos bajo agricultura continua con siembra directa; la secuencia de cultivos desde la campaña 2007/2008 fue la siguiente: maíz-barbecho-soja- maíz-verde de invierno-verde de invierno-verde de invierno/soja, observándose en la tabla 1 la características químicas del este (tabla 1).

Se instalaron 18 parcelas de 3 x 5 m bajo un diseño completamente aleatorizadas para evaluar el efecto de la mez-



ph (agua relación 1:2,5)	6.0
CE ds/ m (agua relación 1:2,5)	0.11
MO (%)	2.8
Nt. (%)	0.19
N-NO <sub>3</sub> (kg ha <sup>-1</sup> )	49
P. ppm	10.0
S-SO <sub>4</sub> ppm	11.0

**Tabla 1.** Análisis de suelo del sitio del ensayo a la profundidad de 0-20 cm.

CE: conductividad eléctrica, MO: materia orgánica, Nt. Nitrógeno total, N-NO<sub>3</sub>: nitrógeno en forma de nitratos; P: fósforo extractable; S-SO<sub>4</sub>: azufre en forma de sulfatos.

Parámetro	Valor
Pérdida a 45 °C (g/100g) agua libre	0,11
Pérdida a 215-230 °C (g/100g) agua combinada	20,02
SiO <sub>2</sub> (g/100g)	1,22
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (g/100g)	0,12
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (g/100g)	0,03
TiO <sub>2</sub> (g/100g)	<0,01
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g/100g)	<0,01
MnO (g/100g)	<0,01
CaO (g/100g)	36,62
MgO (g/100g)	<0,01
BaO (g/100g)	<0,01
SrO (g/100g)	0,13
SO <sub>3</sub> (g/100g)	44,58
K <sub>2</sub> O (g/100g)	0,06
Na <sub>2</sub> O (g/100g)	<0,01
CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O (g/100g)	95,65
CaSO <sub>4</sub> (g/100g)	<0,05
CaCO <sub>3</sub> (g/100g)	2,62
MgCO <sub>3</sub> (g/100g)	<0,01

**Tabla 2.** Caracterización fisicoquímica del yeso utilizado.

cla de yeso (Y) y zeolita granulada (Z) con urea (U) aplicado en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). A todos los tratamientos se les aplicó 100 kg de fosfato mono amónico (FMA) como fertilización de base a la siembra. Los tratamientos ensayados fueron (1) maíz fertilizado con: 200 kg ha<sup>-1</sup> de urea (U), (2) 200 kg ha<sup>-1</sup> de urea y 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso (U+Y), (3) 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea y 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada (U+Z); (4) 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea, 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso y 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada (U+Y+Z) y (5) situación testigo sin fertili-

Parámetro	Valor
SiO <sub>2</sub> (g/100g)	66,05
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (g/100g)	13,20
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (g/100g)	0,87
TiO <sub>2</sub> (g/100g)	0,17
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (g/100g)	0,04
MnO (g/100g)	0,01
CaO (g/100g)	2,84
MgO (g/100g)	1,00
SO <sub>3</sub> (g/100g)	0,02
K <sub>2</sub> O (g/100g)	1,06
Na <sub>2</sub> O (g/100g)	4,00
Pérdida por calcinación a 1000 °C (g/100g)	10,73
CIC (m <sub>eq</sub> 100 g <sup>-1</sup> )	161,00
pH en agua (1/10)	7,10

**Tabla 3.** Caracterización fisicoquímica de la zeolita utilizada.

zación nitrogenada (T). La reducción en la cantidad de N como urea cuando esta fue aplicada junto con las zeolitas responde a que se aconseja la mezcla de 75% urea más 25% zeolita, debido al efecto de este mineral en el incremento de la eficiencia del N aplicado como ya fue explicado en la introducción. La densidad de siembra fue de 5 plantas por m. La urea y la zeolita se mezclaron manualmente y se aplicaron al voleo en el entresurco cuando el maíz se encontraba en estado V6.

Los minerales utilizados en el ensayo fueron provistos y caracterizados por el SEGEMAR a partir de proveedores nacionales. La caracterización del yeso y zeolita utilizados en el ensayo se presentan en las tablas 2 y 3, respectivamente. Las especies minerales identificadas por DRX en la muestra de la zeolita utilizada en el ensayo fueron mayoritariamente la Clinoptilolita Na<sub>6</sub>(Al<sub>6</sub>Si<sub>30</sub>O<sub>72</sub>)·24 H<sub>2</sub>O, y la Heulandita Ca<sub>4</sub>(Al<sub>8</sub>Si<sub>30</sub>O<sub>72</sub>)·24 H<sub>2</sub>O en menor proporción. La granulometría de la roca portadora de zeolita estuvo en un rango de 0,4-1 mm (mallas ASTM -18 +40).

En cada unidad experimental se midió el rendimiento de grano. Para ello se recolectaron las espigas de las dos hileras centrales de cada parcela a humedad de cosecha (14%). Luego las espigas se desgranaron con una desgranadora estática y se pesaron los granos para calcular el rendimiento por hectárea.

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANVA) y test de comparación de medias por LSD Fischer (Infostat, 2008) considerando 5% como nivel de significación estadística.

## RESULTADOS

### Efecto de la adición de yeso y zeolitas sobre el rendimiento del maíz

La fertilización con urea (U), urea con yeso (U+Y) y urea con yeso y zeolita (U+Y+Z) incrementaron significativamente el rendimiento del maíz respecto al tratamiento con fertilización base (T). La fertilización con urea (U) y urea + yeso (U+Y) produjeron incrementos del 18% y 16%, respectivamente respecto al testigo, mientras que cuando se aplicó la urea junto con el yeso y la zeolita (U+Y+Z) el incremento en rendimiento estuvo en el orden del 25% ( $p < 0,05$ ) (figura 1).

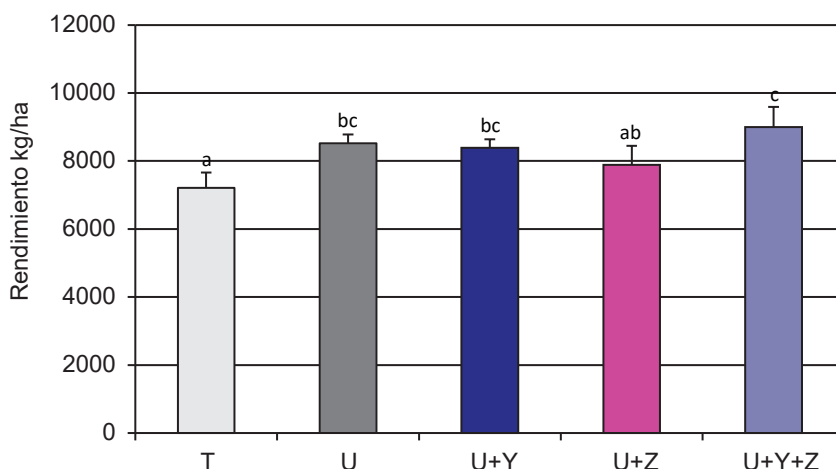
En cuanto a la fertilización con urea más zeolita (U+Z) aunque pudo observarse una tendencia a incrementos del rendimiento (10% de incremento respecto al testigo), esta no fue estadísticamente significativa al 5%. Esto significa que si bien la sustitución de 25% p/p en la dosis de fertilización de urea por zeolita no causó descensos significativos en rendimiento de grano en relación con el tratamiento U, a diferencia de lo reportado por John *et al.* (2002), tampoco propició incrementos de rendimiento que resultaran significativamente superiores. Esto podría indicar que bajo las condiciones del presente estudio no se verificaron efectos positivos debido al uso de la zeolita, posiblemente debido a que las condiciones climáticas durante el ensayo no generaron un ambiente de pérdidas de N importantes.

Resultados similares fueron reportados por Camarillo *et al.* (2012) en Regosoles de textura media y fina en México, ante la sustitución de 15% del fertilizante químico por zeolita clinoptilolita granulada y en polvo, sin hallar incrementos significativos en el rendimiento de maíz respecto al testigo con fertilización con urea.

La aplicación de yeso junto con la urea (ej. tratamiento U+Y) no mejoró la productividad del maíz, reflejando que la oferta de S habría permitido satisfacer la demanda del cultivo, ya que la concentración de S en la siembra del cultivo fue superior al umbral de respuesta de 10 ppm (Espósito *et al.*, 2012).

Cabe destacar que el mayor incremento en rendimientos se logró cuando la urea fue aplicada junto con el yeso y la zeolita (U+Y+Z), aspecto que resulta llamativo teniendo en cuenta que tanto el yeso como la zeolita aplicados por separado en combinación con la urea no generaron cambios estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ) sobre el rendimiento en grano del maíz. Para poder profundizar sobre los posibles mecanismos que expliquen estos resultados, es necesario replicar este estudio en un mayor gradiente ambiental (ej. sitios y años de experimentos) para poder determinar si se trata de una sinergia basada en un mecanismo o bien forma parte de un resultado atípico.

Lo esperable cuando se aplica yeso sobre la superficie del suelo es que se mejore la disponibilidad de cationes divalentes intercambiables que tienden a flocular los suelos (Ngwu, 2006) a la vez que proporciona Ca y S al complejo de intercambio (Dontsova y Norton, 2002). De esta manera, las enmiendas de yeso promueven la floculación, reduciendo el sellado de la superficie y aumentando las tasas de infiltración del agua. Debido a su alta solubilidad en comparación con la cal, posee movilidad en el perfil del suelo (Caires *et al.*, 2003), mejorando la fertilidad del subsuelo lo que permite un mayor desarrollo de raíces, favoreciendo la captación y reciclaje de nutrientes (Rampim *et al.*, 2011). En consecuencia, el yeso mejora el enraizamiento profundo y la capacidad de las plantas para acceder a suministros adecuados de agua y nutrientes durante la sequía (Ritchey



**Figura 1.** Rendimiento ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) promedio y error estándar del cultivo de maíz para los diferentes tratamientos. Los tratamientos son T: testigo sin N. U:  $200 \text{ kg ha}^{-1}$  de Urea. U+Y  $200 \text{ kg ha}^{-1}$  de urea y  $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de yeso. U+Z  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  de urea y  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de zeolita granulada. U+Y+Z  $150 \text{ kg ha}^{-1}$  de urea,  $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de yeso y  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de zeolita granulada. (5 Todos los tratamientos recibieron  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de FMA como fertilización de base.

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos al 5% de significación estadística.

*et al.*, 1980; Tirado-Corbalá *et al.*, 2017). De esta manera, a los beneficios derivados de la aplicación de yeso, debe sumarse la capacidad de las zeolitas para retener nutrientes con carga positiva (cationes), como el nitrógeno amoniacal, potasio, calcio y magnesio, que luego pueden ser liberados lenta y gradualmente a medida que se agotan en la solución del suelo, reduciendo así las pérdidas de nutrientes por lavado, arrastre y lixiviación, e incrementando las posibilidades de un mayor aprovechamiento por parte de las plantas (Torres Duggan *et al.*, 2017).

Varios autores han observado respuestas positivas en el rendimiento de gramíneas (ej. maíz, trigo y la cebada) ante la aplicación de yeso (Caires *et al.*, 2001, 2011). También se han observado incrementos en los niveles foliares de Ca y S, y una disminución en los niveles de Mg (Caires *et al.*, 2003) ante el agregado de yeso. Cruzate y Casas (2017) sostienen que se debe prestar especial atención a nutrientes como Ca y Mg, no solo por el rol que desempeñan en la estructuración y actividad biológica del suelo, sino también por su importancia para la nutrición de los cultivos.

#### Costo/beneficio de la aplicación de yeso y zeolitas

En la tabla 4 se presentan los valores estimados de costo por hectárea de la fertilización aplicada en cada tratamiento y los rendimientos promedio obtenidos en cada caso.

Para el caso de la aplicación de urea + yeso (U+Y) no hubo diferencias estadísticas en el rendimiento respecto a la fertilización tradicional con fosfato mono amónico y urea (U), y en este caso el costo extra de aplicar yeso fue de 9 USD ha<sup>-1</sup>. Sin embargo debe considerarse que en el presente trabajo no se midieron variables edáficas sobre las cuales pudo haber influenciado el yeso en términos de los contenidos de Ca y S disponibles, inclusive pudiendo generar efectos residuales sobre cultivos subsiguientes en las rotaciones.

En cuanto a la sustitución de 25% de urea por zeolitas (U+Z), puede observarse que el rendimiento tampoco difirió estadísticamente del alcanzado con la fertilización tradicional (U), y el costo fue 14,5 USD ha<sup>-1</sup> menor. Sin embargo, debe considerarse que aunque en términos estadísticos el rendimiento no difirió, en valores absolutos puede observarse una disminución en términos relativos del 8,5%. Esto podría ser atribuido a la variabilidad de las mediciones. Sin embargo, esta diferencia sugiere que deberían realizarse futuras investigaciones que permitan ampliar la comprensión sobre el funcionamiento de la zeolita en combinación con la urea en un amplio gradiente ambiental (diferentes tipos de suelos, condiciones climáticas, temperatura, etc.). Asimismo, esta información básica es central para generar recomendaciones de manejo en diferentes subregiones de la región Pampeana.

Por último, el rendimiento del tratamiento con reemplazo de 25% de urea por zeolita más aplicación de yeso (U+Y+Z) no difirió estadísticamente del tratamiento con fertilización tradicional (U), con un incremento de este no significativo (6% respecto a U), siendo el ahorro por hectárea de 5,5 USD. Basado en estos resultados este tratamiento presentaría el mayor beneficio en relación con el costo, ya que el rendimiento promedio estuvo por encima del obtenido con la fertilización tradicional (U), y a su vez presentó un menor costo por hectárea.

Como se mencionó anteriormente, es necesaria más investigación para validar los resultados que surgen de este primer estudio, considerando los efectos sobre la condición de fertilidad de suelos, posibles efectos residuales, como así también un análisis económico más exhaustivo para definir de mejor forma la rentabilidad del uso de estos minerales, entre otros aspectos.

#### CONCLUSIONES

Se observó respuesta a la aplicación de nitrógeno en forma de fertilizante por parte del cultivo.

		T	U	U+Y	U+Z	U+Y+Z
	USD Tn <sup>-1</sup>	USD ha <sup>-1</sup>				
MAP	500	50	50	50	50	50
UREA	420	0	84	84	63	63
YESO	100	0	0	9	0	9
ZEOLITA	130	0	0	0	6,5	6,5
<b>TOTAL (USD ha<sup>-1</sup>)</b>		<b>50</b>	<b>134</b>	<b>143</b>	<b>119,5</b>	<b>128,5</b>
<b>Rendimiento (Mgha<sup>-1</sup>)</b>		<b>7,3 a</b>	<b>8,7 bc</b>	<b>8,6 bc</b>	<b>8,0 ab</b>	<b>9,2 c</b>

**Tabla 4.** Costo por hectárea de la fertilización aplicada y rendimiento promedio de cada tratamiento.

T: testigo sin N. U: 200 kg ha<sup>-1</sup> de Urea. U+Y 200 kg ha<sup>-1</sup> de urea y 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso. U+Z 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea y 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada U+Y+Z 150 kg ha<sup>-1</sup> de urea, 90 kg ha<sup>-1</sup> de yeso y 50 kg ha<sup>-1</sup> de zeolita granulada. (5 Todos los tratamientos recibieron 100 kg ha<sup>-1</sup> de FMA como fertilización de base. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos al 5% de significación estadística. Dentro del costo de los minerales se encuentra el gasto de aplicación de estos.

La combinación de urea en conjunto con la zeolita no incrementó el rendimiento, que podría reflejar que no se presentaron pérdidas de N o bien que si se presentaron, no implicaron una menor disponibilidad de N para el cultivo

La aplicación conjunta de urea más yeso agrícola no incrementó el rendimiento, evidenciando la ausencia de respuesta a S.

La combinación de urea, zeolita y yeso agrícola en conjunto maximizó el rendimiento en grano, aunque no fue posible asociarlo con mecanismos o procesos estudiados en el presente estudio.

Se requiere de mayor investigación fundamental y aplicada para poder generar recomendaciones de dosis de zeolitas para maximizar la EUN en maíz y otros cultivos.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGOSTO, F.; CANAFOGLIA, M.E.; BARRIO, R.; CABELLO, C.; SCHALAMUK, I.; MINELLI, G.; BOTTO, I.L. 2005. Depósitos tobáceos terciarios zeolitados del área de Paganzo (Provincia de la Rioja). Su potencialidad tecnológica. Acta del XVI Congreso Geológico Argentino, La Plata.
- ANIKWE, M.A.N.; EZE, J.C.; IBUDIALO, A.N. 2016. Influence of lime and gypsum application on soil properties and yield of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) in a degraded Ultisol in Agbani, Enugu Southeastern Nigeria. *Soil Till. Res.* 158, 32-38.
- BARBARICK, K.A.; PIRELA, H.J. 1983. Agronomic and horticultural uses of zeolites: a review. en: POUND, W.G.; MUMPTON, F.A. (Eds.). *Zeo-agriculture: use of natural zeolites in agriculture and aquaculture*. Westview Press. Boulder, Colorado. 93-103 p.
- BARBIERI, P.A.; ECHEVERRÍA, H.E.; SAINZ ROZAS H.R.; MARINGOLO M. 2010. Fertilización del maíz con urea de liberación lenta: pérdida por volatilización y eficiencia del uso del nitrógeno. *Ciencia del Suelo* 28 (1).
- CAIRES, E.F.; FELDBAUS, I.C.; BLUM, J. 2001. Crescimento radicular e nutrição da cevada em função da calagem e aplicação de gesso. *Bragantia*, 60:213-223.
- CAIRES, E.F.; BLUM, J.; BARTH, G.; GARBUIO, F.J.; KUSMAN, M.T. 2003. Alterações químicas no solo e resposta da soja ao calcário e gesso aplicados na implantação do sistema plantio direto. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:275-286.
- CAIRES, E.F.; GARBUIO, F.J.; CHURKA, S.; JORIS, H.A.W. 2011. Use of gypsum for crop grain production under a subtropical no-till cropping system. *Agronomy Journal*, 103, 1804-1814.
- CAMARILLO, M.G.; GÓMEZ MONTIEL, N.O.; MUÑOZ ESPÍRITU, J.; VALENCIA ESPINOSA, F.; GUTIÉRREZ G.D.; FIGUEROA LÓPEZ, H.O. 2012. Rendimiento del maíz de riego tratado con zeolita más fertilizante en el estado de Guerrero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3, 6.
- CASBY-HORTON, S.; HERRERO, J.; ROLONG, N.A. 2015. Gypsum soils: Their morphology, classification, function, and landscapes. *Adv. Agron.*, 130, 231-290.
- CRUZATE, G.A.; CASAS, R. 2017. Balance de nutrientes en los suelos agrícolas de la Argentina en la campaña 2015/16. *Informaciones agrónomicas de Hispanoamérica*, IPNI. 1-23 pp.
- CRUZATE, G.A.; CASAS, R. 2003. Balance de nutrientes. *Revista Fertilizar*. INTA. Año 8. Número Especial "Sostenibilidad" 7-13 pp.
- CRUZATE, G.A.; CASAS, R. 2009. Extracción de nutrientes en la agricultura argentina. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur* N.º 44 IPNI. 21-26 pp.
- CRUZATE, G.A.; CASAS, R. 2012. Extracción y balance de nutrientes en los suelos agrícolas de Argentina. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica* N.º 6 IPNI, 7-14 pp.
- CHESTER, W.A.; DEROUANE, E.G. 2009. *Zeolite characterization and catalysis*. Springer. 373 p.
- DONTSOVA, K.M.; NORTON, L.D. 2002. Clay dispersion, infiltration and erosion as influenced by exchangeable Ca and Mg. *Soil Sci.*, 163, 184-193.
- DONTSOVA, K.; LEE, Y.B.; SLATER, B.K.; BIGHAM, J.M. 2005. Gypsum for agricultural use in Ohio-sources and quality of available products. The Ohio State University Extension: Columbus, OH, EUA. (Disponible: <http://ohioline.osu.edu/factsheet/anr-20> verificado: febrero de 2019).
- ESPOSITO, G.P.; CASTILLO, C.A.; BALBOA, G.R.; BALBOA, R.E. 2009. Nivel crítico de fósforo y azufre en suelos de sur de Córdoba para el cultivo de soja. *Informaciones Agronómicas* N.º 43 16-21.
- FAVARETTO, N.; NORTON, L.D.; JOERN, B.C.; BROUDER, S.M. 2006. Gypsum amendment and exchangeable Calcium and Magnesium affecting Phosphorous and Nitrogen Runoff. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 70, 1788-1796.
- FERRARIS, G.N.; COURETOT L.A.; TORIBIO M. 2009. Pérdidas de nitrógeno por volatilización y su implicancia en el rendimiento del cultivo de maíz: efecto de fuente, dosis y uso de inhibidores. *Informaciones agrónomicas* N.º 43, 19-22 pp.
- GARCIA, F. 2003. Balance y manejo de nutrientes en rotaciones agrícolas. *Trigo-Actualización 2003*. Ediciones INTA.
- GARCÍA, F.; GONZALEZ SANJUÁN, M.F. 2010. Balance de nutrientes en Argentina ¿Cómo estamos? ¿Cómo mejoramos? IPNI. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur* N.º 48, 1-5C.
- GONZALEZ CAMARILLO, M.; GÓMEZ MONTIEL, M.O.; ESPÍRITU, J.M.; ESPINOSA, F.E.; GUTIÉRREZ, D.; FIGUEROA LOPEZ, H.O. 2012. Rendimiento del maíz con riego tratado con zeolitas más fertilizantes en el estado de Guerrero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* Vol 3 (6).
- HERRMANN, C.; TORRES DUGGAN, M. 2016. Fertilizantes y enmiendas de origen mineral: caracterización y uso en la Argentina. En: PEREYRA, F.; TORRES DUGGAN, M. (Eds). *Suelos y Geología Argentina*. Capítulo 13. Coedición de la Asociación Geológica Argentina y Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. 329-355 pp.
- JOHN, C.M. 2002. La zeolita natural y su papel en el manejo ecológico del nitrógeno para el cultivo del tomate. Tesis de Maestría en Ciencias en Nutrición de Plantas y Biofertilizantes. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas San José de las Lajas. La Habana, Cuba. 95 p.
- NGWU, E.O. 2006. *Fundamentals of Soil Science for Colleges and University*. Fidgea Global Service Ltd., Enugu.
- RAMESH, K.; REDDY, D.D. 2011. Zeolites and their potential uses in agriculture. *Advances in Agronomy*, 113, 219-241.
- RAMOS, L.A.; NOLLA, A.; KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. 2006. Reatividade de corretivos de acidez e condicionadores de solo em colunas de lixiviação. *R. Bras. Ci. Solo*, 30:849 857.
- RAMPIM, L.; LANA, M.C.; FRANDOLOSO, J.F.; FONTANIVA, S. 2011. Atributos químicos de solo e resposta do trigo e da soja ao gesso em sistema semeadura direta. *R. Bras. Ci. Solo*, 35:1687-1698.
- RIMSKI-KORSAKOV, H.; ZUBILLAGA, M.S.; LANDRISCINI M.R.; LAVADO R.S. 2015. ¿A dónde va el nitrógeno de la fertilización del maíz cuando hay estrés hídrico? *Información Agronómica Hispanoamericana* 19.

RITCHEY, K.D.; SOUZA, D.M.G.; COSTA, U.F. 1980. Calcium leaching to increase rooting depth in a Brazilian savanna Oxisol. *Agron. J.*, 72, 40-44.

SAINZ ROZAS, H.; ECHEVERRÍA, H.E.; STUDDERT, G.A.; ANDRADE F.H. 1997. Volatilización de amoníaco desde urea aplicada al cultivo de maíz bajo siembra directa. *Ciencia del Suelo* 15: 12-16.

SOCA-NUÑEZ, M.; VILLARREAL-NUÑEZ, J.E. 2016. Dosis de zeolitas y fracciones granulométricas para cultivos de plátanos y caña de azúcar. *Ciencia Agropecuaria* 25: 131-146.

TIRADO-CORBALÁ, R.; SLATER, B.K.; DICK, W.A.; BARKER, D. 2017. Alfalfa Responses to Gypsum Application Measured Using Undisturbed Soil Columns. *Plants*, 6, 29.

TORRES DUGGAN, M.; MELGAR, R.; RODRIGUEZ, M.B.; LAVADO, R.S.; CIAMPITTI, I.A. 2012. Sulfur fertilization in the argentine Pampas region: a review. *Agronomia & Ambiente*, 32, 61-73.

TORRES DUGGAN, M.; RODRIGUEZ, M.B.; BEHRENDTS KRAEMER, F.; FERNÁNDEZ, P.L.; CASTRO, L.; LEAL, P. 2017. Condición hidrofísica y química de un suelo Haplustol éntico tratado con zeolita y residuos de feed lot. Simposio de Fertilidad 2017. IPNI Cono Sur y Fertilizar Asociación Civil Rosario, Argentina. 240-248 pp.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. 2000. Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe. Editorial Génesis. Porto Alegre Rio Grande do Sul, Brasil. 110 p.

VAN STRAATEN, P. 2014. Rocks for crops: the use of locally available minerales and rocks to enhance soil productivity. Proceedings of the 16th World Fertilizer Congress of CIEC. Technological innovations for a sustainable tropical agriculture. October 20-24. Río de Janeiro. Brasil. 55-58 pp.

Received March 28th 2019// Accepted July 29th 2019 // Published online July 14th 2021

# Yield response of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) to inoculation with *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilization in the Caribbean region of Colombia

SÁNCHEZ, D.B.<sup>1</sup>; LUNA, L.L.<sup>1</sup>; ESPITIA, A.A.<sup>1</sup>; CADENA, J.<sup>1</sup>

## ABSTRACT

In previous studies, we collected roots and soils associated with yam crops (*Dioscorea rotundata* Poir.) along the Caribbean region of Colombia from which several strains of *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter vinelandii* were identified, which in laboratory and nursery studies showed growth promotion activity in yam. In this research, we obtained from Agrosavia two of these strains (*A. chroococcum* DBC12, *A. vinelandii* DBC9) and evaluated their effect on yam yields and tuber quality under field conditions, in combination with four nitrogen levels (0, 50, 75 and 100% of the recommended N fertilization dose). In a first instance, *in vitro* tests confirmed the N fixation capacity and the NH<sub>3</sub> production of both bacterial strains, while under field conditions, the highest yields were obtained from treatments that combined the individual inoculation with strains *A. chroococcum* DBC12 or *A. vinelandii* DBC9, with 50% of the recommended N fertilization level. On the other hand, yam tubers were classified according to market quality, and the same treatments induced the production of higher yields of first category or export-type tubers, suggesting that these two bacterial strains were also able to improve tuber quality. From this study it was concluded that *A. chroococcum* DBC12, *A. vinelandii* DBC9 strains have the potential for replacing up to 50% of the recommended N fertilization dose and present potential as possible bio-inoculants, which could be an alternative for reducing levels of chemical nitrogen fertilization, thus contributing to a more sustainable and competitive yam culture.

**Keywords:** PGPR, Rhizobacteria, tuber yield, tuber quality.

## RESUMEN

En estudios previos, realizamos una colecta de raíces y suelos asociados a cultivos de ñame (*Dioscorea rotundata* Poir) en la región Caribe de Colombia, de los cuales se lograron aislar e identificar varias cepas de *Azotobacter chroococcum* y *Azotobacter vinelandii*, que en estudios de laboratorio y casa de malla mostraron promoción del crecimiento en plantas de ñame. Para la presente investigación, se obtuvieron de AGROSAVIA, dos de estas cepas (*A. chroococcum* DBC12, *A. vinelandii* DBC9) y se evaluaron, bajo condiciones de campo, sus efectos sobre los rendimientos y la calidad de los tubérculos de ñame, en combinación con la aplicación de cuatro niveles de fertilización química con nitrógeno (0, 50, 75 and 100% de la dosis recomendada

<sup>1</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), Centro de Investigación Turipaná, km 13, Vía Montería-Cereté, Colombia. Correo electrónico: dbsanchez@corpoica.org.co

para el cultivo). Por un lado, en una primera prueba realizada bajo condiciones *in vitro*, se confirmó la capacidad de fijación de N y la producción de  $\text{NH}_3$  en ambas cepas de bacterias, mientras que, bajo condiciones de campo, los más altos rendimientos se obtuvieron con la combinación de la inoculación individual con las cepas *A. chroococcum* DBC12 o *A. vinelandii* DBC9, y el 50% de la dosis recomendada de fertilización con nitrógeno. Por otro lado, la clasificación de los tubérculos de ñame de acuerdo con la calidad para el mercado, indicaron que los mismos tratamientos indujeron la producción de una mayor cantidad de tubérculos de primera categoría o calidad tipo exportación, lo que sugiere que estas dos cepas de bacterias son efectivas para mejorar también los aspectos de calidad de los tubérculos. De estos resultados, se concluye que las cepas *A. chroococcum* DBC12 y *A. vinelandii* DBC9 tienen la potencialidad de reemplazar hasta el 50% de la dosis recomendada de fertilización nitrogenada y presentan potencial como posibles bioinoculantes, lo que las convierte en una alternativa para reducir los niveles de fertilización química, contribuyendo así a una agricultura más sostenible y competitiva en el cultivo del ñame.

**Palabras claves:** PGPR, rizobacterias, rendimiento y calidad de tubérculos.

## INTRODUCTION

Yam comprises a group of climbing plant species, which produce tubers or roots, some of which are edible and important for the food supply of many rural populations in the world (Dumet and Ogunsola, 2008). Yam belongs to the *Dioscorea* genus, being a very common plant crop in the humid and sub-humid tropics, especially in Africa, West Indies, and in some parts of Asia, Central and South America. There are about 600 species of yams registered, being *D. alata*, *D. bulbifera*, *D. cayenensis*, *D. esculenta*, *D. opposita-japonica*, *D. nummularia*, *D. pentaphylla*, *D. rotundata* and *D. trifida* the main species grown worldwide as edible food (Siqueira, 2009). Some of the *Dioscorea* spp. species have also been reported to have antioxidant capacity and a high steroidal and sapogenin content, substances used in the manufacture of oral contraceptives, sex hormones and cortisone (Appelzweig, 1977; Rodríguez, 2000).

One of the most cultivated species in the world is *D. rotundata* Poir, a highly appreciated species due to its importance as a food source, high carbohydrate and starch content (Bömer *et al.*, 2018; Markson *et al.*, 2010; Vashi *et al.*, 2018). Most yam crops and cultivated areas are concentrated in African countries with approximately 96% of world production, while America contributes approximately 2.64% to the global world production. Colombia is second in production in the Americas, with 381,468 tons per year (FAOSTAT, 2017). In Colombia, yam is grown mainly in the Caribbean region by small-holder farmers, for whom it is the main source of food, income, and employment (Benítez *et al.*, 2007).

At the present, there is an urgent need to intensify the production of food for an increasing world population, but at the same time, it is also necessary to promote a more sustainable agriculture that protects natural resources. Nitrogen fertilization has been established as the main tool to increase crop yields. However, the continuous increase in fertilizer prices has made it unreachable for many rural farmers, especially small-scale ones (Savci, 2012). One alternative that has recently drawn great attention is the

production of biopreparations or bioproducts made up from microorganisms, which in part replace the inputs of chemical origin. Some of these bioproducts are based on the use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR. These PGPR are bacteria that colonize the soil and establish a relationship with the roots of plants, improving their ability to access nutrients (Chauhan *et al.*, 2015). The mechanisms through which these bacteria stimulate growth of many plants include biological fixation of atmospheric nitrogen ( $\text{N}_2$ ), production of phytohormones (auxin, i.e., Indole acetic acid (IAA), cytokinins, gibberellins, abscisic acid), solubilization of phosphate compounds in the soil, and the production of antimicrobial substances (production of lytic enzymes, siderophores), among others (Chauhan *et al.*, 2015; Compant *et al.*, 2005).

Among the genera that have been identified associated with the roots of different plant species are *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Rhizobium*, and *Serratia* (Ahmadi-Rad *et al.*, 2016; Ramirez *et al.*, 2018).

One of the main genus of bacteria that is part of the PGPR group is *Azotobacter*. The bacteria belonging to the genus *Azotobacter* are aerobic, free-living bacteria, very common and dominant in the rhizosphere of plants (Chennappa *et al.*, 2018). Several reports in the literature mention that the *Azotobacter* genus provides a series of byproducts that can be used by the roots of plants (Vejan *et al.*, 2016), especially the fixation of atmospheric nitrogen ( $\text{N}_2$ ), the production of some hormones, and metabolites or secondary factors that stimulate the growth of plants. Within these, the role played by *Azotobacter* in the fixation of atmospheric nitrogen stands out, due to its importance for agriculture, since its presence in the rhizosphere partially ensures the release of ammonium ions that would be available for growth of plants. In the soil, it has been calculated that this type of bacteria fixes about  $20 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$  (Dilworth *et al.*, 1988). As such, *Azotobacter* has been reported in several studies as a promoter of growth in various crops such as

wheat, corn, rye, oats, and vegetables (Baba *et al.*, 2018; Kizilkaya, 2008; Kushwaha *et al.*, 2013).

In 2015, we collected roots and soils associated with yam production in the Caribbean region of Colombia from which we identified microorganism species associated with yam roots. Among the species isolated, we identified several strains of *Azotobacter*, which in laboratory studies showed IAA production and solubilization of phosphorus. Subsequently, nursery trials showed their ability to establish relationships with the roots of yam, showing also growth promotion activity (Sánchez and Pérez, 2018). We hypothesize that these microorganisms have the potential to be used as biofertilizers in yam crops. The present investigation was carried out to evaluate, under field conditions, the capacity of *Azotobacter* strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9 to reduce the use of chemical nitrogen fertilization and increase yield and quality in yam crops in the Caribbean region of Colombia.

## MATERIALS AND METHODS

### Location

The experiment was carried out at an experimental station of the Colombian Agricultural Research Corporation (Agrosavia), in Carmen de Bolívar, located in the Caribbean region of Colombia, at 09° 42' 56.0 "North and 75° 06' 15.5" West, at an altitude of 197 masl. According to Holdridge's agro-ecological classification (Holdridge, 2000), this location belongs to a Tropical Dry Forest (TDF), and presents an average annual rainfall of 1,179 mm, average relative humidity of 72%, and annual temperature of 26.9°C. The experiment was performed on clay loam soil, with pH of 7.93, organic matter 2.37%, available phosphorus 105.39 mg kg<sup>-1</sup>, Calcium 6246 mg kg<sup>-1</sup>, Magnesium 566.4 mg kg<sup>-1</sup>, Sodium 59.8 mg kg<sup>-1</sup>, Potassium 351.0 mg kg<sup>-1</sup>, and Sulfur 8,99 mg kg<sup>-1</sup>.

### Plant Material

Yam tubers (*Dioscorea rotundata*) cv Criollo were obtained and divided into 100-g sections, that were sown in polyethylene bags (0.15x0.15 m), filled with a substrate composed of a mixture of sand and clay soil at a 1:1 ratio: This substrate was previously sterilized by solarization and application of a

fungicide containing a mixture of Carboxymethyl + Thiram, at a rate of 4 g L<sup>-1</sup>. The resulting seedlings were maintained under nursery conditions for a period of 30 days and then transplanted to the experimental plots in the field when reached a height between 0.15 and 0.20 m.

### Rhizobacteria

In this experiment, we evaluated bacterial strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9. These strains are part of a group of several *Azotobacter* bacteria that were collected by Agrosavia, associated with roots and soils of yam crops in the Caribbean region of Colombia. These two strains were selected for this experiment because in previous laboratory and nursery studies, had shown growth promotion activity in yam plants (Sánchez and Pérez, 2018). In particular, strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9 were collected at a yam crop in the municipality of Carmen de Bolívar (County of Caracolí Grande), located at 9° 44' 24.8 N and 75° 13' 28.2" W. For the purpose of this research, strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9 were reactivated in an Ashby-sucrose culture medium, ensuring their purity and viability. The inoculum to use in these experiments was produced from discontinuous fermentation, using in nutritive culture medium composed of (g L<sup>-1</sup>): glucose 0.5, yeast extract 0.5, peptone 0.5, casein 0.5, starch 0.5, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.30, MgSO<sub>4</sub> 0.05 and pH: 7.0, which was maintained at 30°C and 120 rpm in an orbital shaker. The inoculum was prepared in a flask of 2000 mL of total volume with 1000 mL of working volume in 2/1 ratio to allow sufficient aeration starting from an adjusted pre-inoculum OD<sub>540</sub> = 0.500.

The inoculant to use in these experiments was produced in nutritive culture medium composed of (g L<sup>-1</sup>): glucose 0.5, yeast extract 0.5, peptone 0.5, casein 0.5, starch 0.5, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.30, MgSO<sub>4</sub> 0.05 and pH: 7.0, which was maintained at 30 °C and 120 rpm, in a discontinuous fermentation media, starting from an adjusted pre-inoculum OD<sub>540</sub>=0.500.

### Experimental design

We used a randomized complete block design, with an unbalanced 4x4 factorial arrangement, with three replications, where the first factor corresponded to the bacterial

Azotobacter strain	Nitrogen fertilization level (%)			
	0	100	75	50
Without Azotobacter	T0	T1	T2	T3
<i>A. chroococcum</i> DBC12	-	-	T5	T4
<i>A. vinelandii</i> DBC9	-	-	T7	T6
<i>A. chroococcum</i> DBC12+ <i>A. vinelandii</i> DBC9	-	-	T9	T8

**Table 1.** Treatments for evaluating two strains of *Azotobacter* and four levels of nitrogen fertilization on the productivity and quality of yam in the Caribbean region of Colombia.



strains (without bacteria, *A. chroococcum* DBC12, *A. vinelandii* DBC9, and a mixture of both), and the second factor corresponded to levels of nitrogen fertilization (0%, 50%, 75% and 100% of the recommended N fertilization dose). The experimental design used was unbalanced due to the elimination of treatments that combined the application of rhizobacterial strains, alone or as a mixture, with 0% and 100% N fertilization levels, since, in previous experiments, these treatments produced null yields in yam cultivation (data not shown). The experimental unit consisted of plots with five yam rows, 8.0 m long, 1.0 m apart and 0.5 m separation between plants, for a population density of 20,000 plants per hectare. The area of each plot was 32 m<sup>2</sup>. The total experimental area was 1,350 m<sup>2</sup>, including circulation areas and borders.

### Treatments

Ten treatments were evaluated, corresponding to the combination of bacterial strains, alone or as a mixture, with the levels of N fertilization, in an unbalanced factorial design. The treatments evaluated are shown in table 1.

To calculate the adequate dose of N fertilization, the availability of nutrients in the soil were compared with nutritional requirements for yam reported by O'Sullivan (2010) and based on that, a dose of 183 kg of N ha<sup>-1</sup> was calculated. Nitrogen was supplied as chemical fertilizer ammonium sulfate (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> with a concentration of 21% Nitrogen and 24% Sulfur. This source of N was selected due to the tendency of these soils to have an alkaline reaction and high pH. No other sources of fertilizer were applied since the soil had enough supply of P, K, and microelements. The recommended dose of ammonium sulfate in each treatment was split in two applications, 50% of which was applied 70 days after transplanting (DAT), and the remaining 50% at

130 DAT. The fertilizer was applied around each individual yam plant. Eight days after chemical fertilization, 10 mL of bacterial inoculum, corresponding to 10<sup>8</sup> Colony Forming Units (CFU) mL<sup>-1</sup> bacteria was injected around each individual plant. A second inoculation of bacteria, with 10 mL of bacterial inoculum, was carried out eight days after the second N fertilization, i.e. at 138 DAT.

### Response variables

#### PGPR activity

Three *in vitro* tests were done to corroborate the PGPR activity of the bacterial strains *A. chroococcum* DBC12, *A. vinelandii* DBC9. In the first instance, a qualitative test that marked positive or negative for the capacity of the biopreparations to fix atmospheric N was carried out, using a semi-solid N-free media (Wilson and Knight, 1952), in which the bacterial strains were inoculated. For this test, a non-inoculated medium was used as a negative control. A second test was carried out to detect the production of ammonia (NH<sub>3</sub>), by inoculating the bacterial strains in a nutritive broth composed of (g L<sup>-1</sup>): 0.5 yeast extract; 0.5 peptone; 0.5 casein; 0.5 glucose; 0.5 starch; 0.30 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0.30 MgSO<sub>4</sub> and with pH 7.2. In this medium the bacterial strains were incubated for a period of 24 h at 30°C. Solutions of phenol/nitroprusside and sodium hydroxide/sodium hypochlorite were added to the supernatant, in a 1:1 ratio, and allowed to react for 30 minutes at 60°C. After this, a reading of absorbance was performed on a spectrophotometer at 630 nm (Spectronic 601, Milton Roy). Ammonia production by bacteria was calculated based on an absorbance curve calibrated previously (figure 1). A third test was carried out to verify the *in vitro* compatibility between both bacterial strains, by means of a dual confrontation, in a petri dish

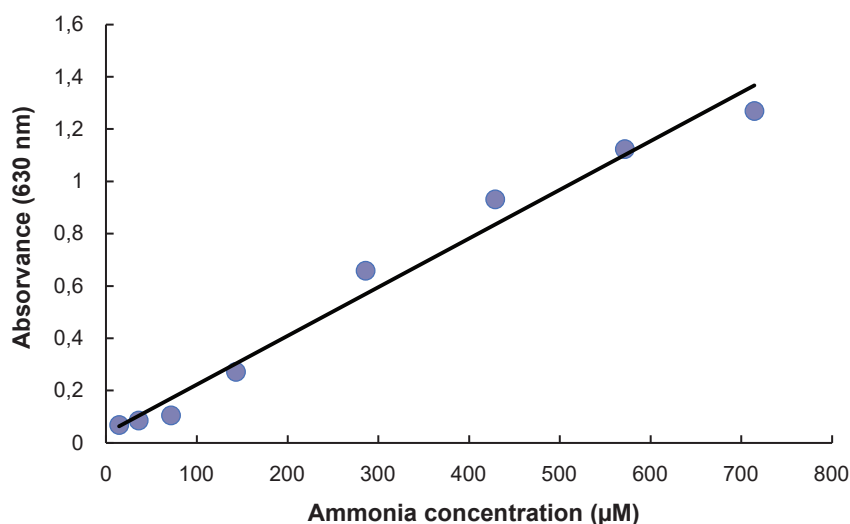


Figure 1. Absorbance curve used for determination of NH<sub>3</sub> production by bacteria.

with Luria-Bertani (LB)<sup>®</sup> culture medium, consisting in drawing a stria with one of the strains, while the other is planted perpendicularly. Next, the petri dishes were incubated at 30°C for 5 days. The results of bacterial growth under this test indicated that the strains were compatible, as they did not show visual growth inhibition to each other.

### Tuber yam yields

Harvest was gathered 12 months after transplanting using the three central rows of each plot, eliminating plants at the ends of each row (1.50 m at each end), for an effective harvest area of 15 m<sup>2</sup>. Fresh roots or tubers were extracted from the soil and classified according to the local market as: 1) first category tubers or export-type tubers, which correspond to rounded shape tubers, free of physical, insect or diseases damages, with individual weight between 1.5-3.0 kg; 2) second category tubers, that are destined to the local market, and correspond to irregular shape tubers, with size and weight higher or lower than the export type; 3) third-category tubers, which are not suitable for commercialization, which correspond to tubers that are rejected in the market, since they have irregular shape and have physical, insect or disease damages. These classification parameters were established in Colombia by Procaribe to classify yam tubers destined for the export and local market (Procaribe, 2012).

### Statistical analysis

The data obtained were subjected to tests of normality and homogeneity of variances through Shapiro-Wilk and Levine method, respectively. Once normality and variance assumptions were confirmed, an analysis of variance was performed, considering the unbalanced factor. In cases where differences were detected at a level of significance of 0.05, a separation of means was performed using Tukey's HSD test. Group treatments were also compared by orthogonal contrasts. Statistical package SAS v.9.04<sup>®</sup> was used for all statistical analyses.

## RESULTS

### PGPR activity

When cultured in a semi-solid N-free medium, each of the rhizobacteria *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii*

DBC9, registered positive in the qualitative test for biological N fixation 72 hours after inoculation (table 2). Similarly, in the quantitative test, both strains were able to produce NH<sub>3</sub>, thus, corroborating the ability of both bacterial strains to fix atmospheric N.

On the other hand, the compatibility assessment showed no inhibition of growth or incompatibility between rhizobacteria *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9, thus, indicating that a mixture of both bacteria might be used in the production of bioinoculants. Therefore, in the field experiments, we considered the use of a 1:1 mixture (5 mL each) of *A. chroococcum* DBC12 + *A. vinelandii* DBC9 to inoculate yam plants.

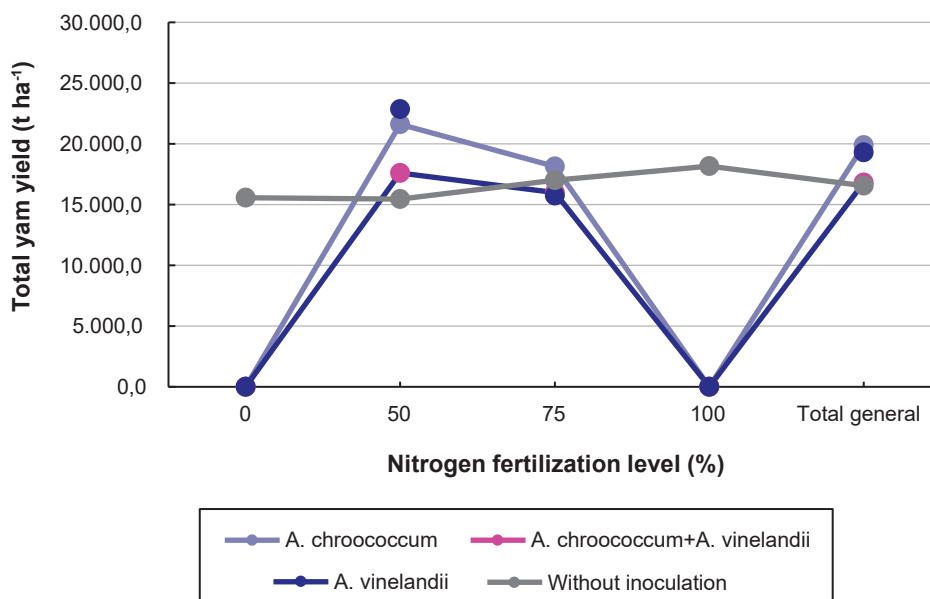
### Yam yields

Yam productivity was calculated by extracting yam tubers from the soil in each plot and classifying the tubers according to Procaribe (2012). With this data, we calculated the first, second and third category tuber yields, corresponding to tubers or roots that are destined to the export, local market, and rejected tubers, respectively. According to the results, total tuber yields were affected ( $p < 0.0001$ ) by the interaction between bacterial strains and the N fertilization levels, which indicates that the total tuber yields were dependent on the level of N fertilization applied to the crop, in conjunction with the effect of the strains of rhizobacteria used. Indeed, as shown in figure 2, the highest yields were obtained with a combined application of 50% N fertilization level with either rhizobacteria *A. chroococcum* DBC12 (21.6 t ha<sup>-1</sup>) or *A. vinelandii* DBC9 (22.9 t ha<sup>-1</sup>). As observed, when the N fertilization level was raised up to 75% of the recommended dose, this positive effect of bacterial inoculation is reduced. This in contrast with the yields of the chemical fertilization treatments, in which yam plants responded positively to mineral N fertilization, showing an increase in the yields, concomitant with the increase in the N fertilization level.

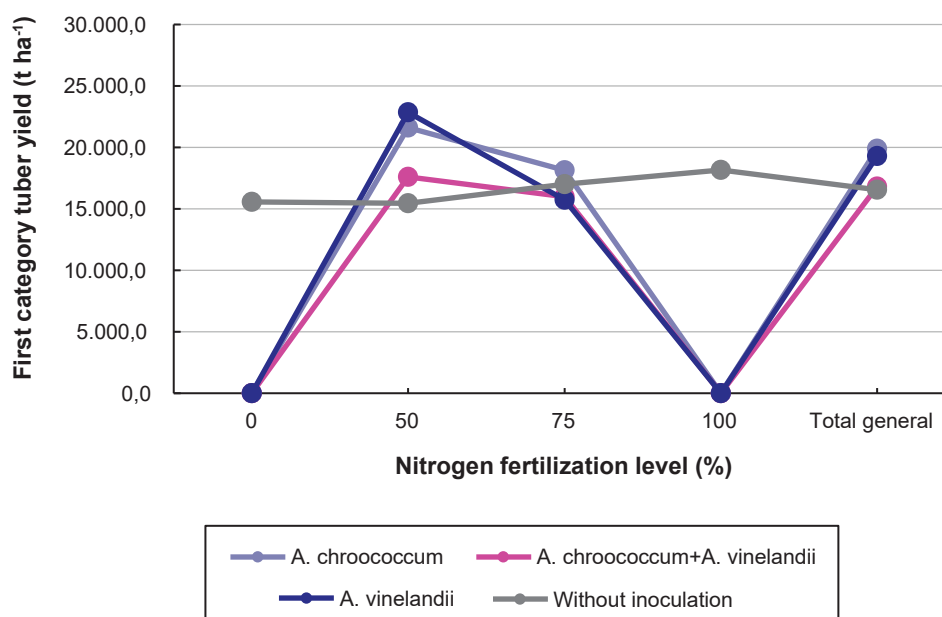
However, the yields obtained with the individual inoculation of rhizobacteria, at 50% of the N fertilization level, were higher than any of the yields obtained with the chemical fertilization treatments (0, 50, 75 and 100% of the N fertilization level). On average, yields obtained by the individual strains of rhizobacteria, at 50% of nitrogen fertilization, were 19.3 to 25.9% higher than with treatment with 100% of the N fertilization dose. These findings indicate that there

Bacterial Strains	Biological N fixation (Qualitative test) 72 h	NH <sub>3</sub> production (Quantitative test) (µM)
<i>A. chroococcum</i> DBC12	+	8.08±0.04
<i>A. vinelandii</i> DBC9	+	7.83±0.02
Control	+	6.17±0.05

**Table 2.** Tests for determination of biological N fixation and NH<sub>3</sub> production of rhizobacteria *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9.



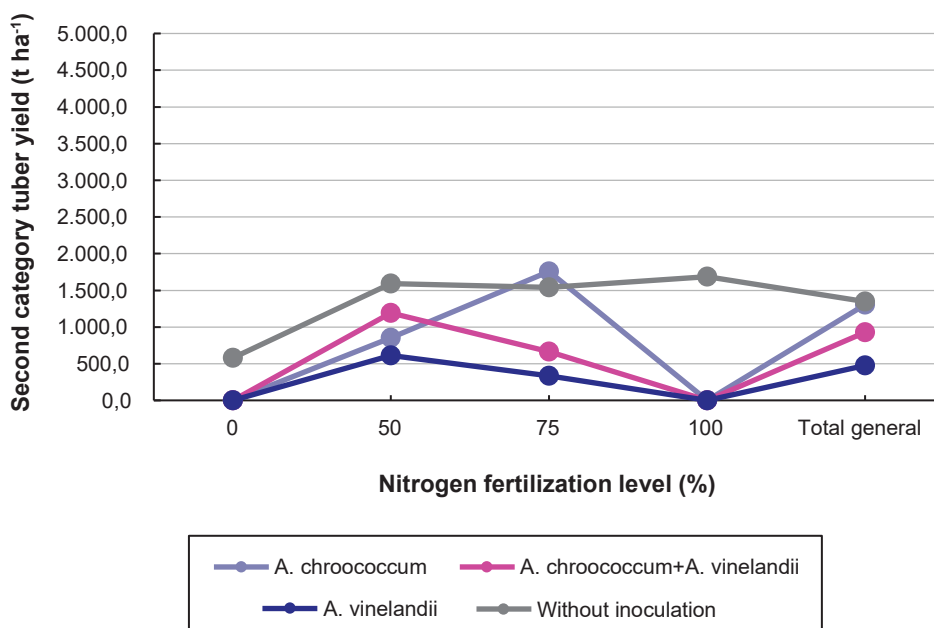
**Figure 2.** Total yam tuber yields affected by two rhizobacteria strains and four N fertilization levels.



**Figure 3.** First category yam tuber yields affected by two rhizobacteria strains and four N fertilization levels.

is a positive interaction between *Azotobacter* and the chemical fertilization for increasing yam yields. However, the fact that individual inoculation with the *Azotobacter* strains exceeded the yield increases that could be obtained by any nitrogen fertilization dose shows that there are more mechanisms induced by bacteria involved, in addition to biological nitrogen fixation.

With respect to quality (figure 3), the production of first category roots or tubers is of the utmost importance due to their greater price and market value. Regarding yields of first category tubers, higher yields were also obtained with the combination of either one of the two bacterial strains (*A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9), at 50% N fertilization level ( $p < 0.0001$ ). As was the case with total



**Figure 4.** Second category yam tuber yields affected by two rhizobacteria strains and four nitrogen fertilization levels.

yields, bacterial inoculation effect was nearly lost at 75% N fertilization, showing yields decreases at higher N fertilization levels. Similarly, it was found that first quality yields obtained with the individual inoculation with bacteria strains *A. chroococcum* DBC12 or *A. vinelandii* DBC9, at a level of 50% N fertilization level, were superior to the chemical control (0, 50, 75 and 100% of the N fertilization level). On an average, the yield of these two treatments were 19.3 and 21.3 t ha<sup>-1</sup>, respectively, which was 40.8% and 55.4% higher than the yield obtained with chemical fertilization at a full N dose (100% N). These results show the potential of these bacterial strains to increase tuber quality and to reduce N fertilization levels in yam crops in the Colombian Caribbean Coast.

In relation to second category tubers for local market, the results of these experiments indicated better yields ( $p < 0.0001$ ) with the use of higher N fertilization levels alone or with the inoculation of the bacterial strain *A. chroococcum* with 75% N fertilization level (figure 4).

On the other hand, the production of third-category or reject tubers did not depend ( $p > 0.05$ ) on the effects of bacterial strains, fertilization levels or their interaction (data not shown). This means that the yields of deformed tubers depend on factors other than those evaluated in these experiments, such as physical soil impediments, insects or disease attacks.

## DISCUSSION

These results showed that both strains of *Azotobacter* evaluated in these experiments have the capacity to re-

duce atmospheric N to ammonium, which allows them to grow without external N sources. The group of microorganisms that possess this capacity are collectively known as diazotrophs and are considered very useful for N fertilizer substitution programs in important crop species (Norman and Friesen, 2017; Rodríguez *et al.*, 2018; Russelle, 2008; Kushwaha *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2001).

We found that rhizobacteria strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9, were beneficial to increase the total and the first quality yields in yam crops, for which the best results were obtained with either strain with 50% of the N fertilization level. The fact that the effectiveness of these rhizobacteria, was reduced at higher N fertilization levels, would indicate negative effects of high nitrogen levels on the fixation capacity of bacteria, which in turns seems to be affecting tuber growth and yields. The mixture of both rhizobacterial strains had no synergistic effect since yields obtained with the mixture were lower than those obtained with either one of the individual bacterial strains. Even though the *in vitro* compatibility tests indicated no incompatibility between the bacterial strains evaluated in these experiments, the field results suggest the existence of other factors that negatively influence the establishment of the coculture. In this respect, Brahma Prakash and Sahu (2012) reported that bacteria inoculated to the soil can be affected by the competition established with the native microflora in the soil, and by the environmental conditions in the experimental site.

Nitrogen fertilization, on the other hand, seems to exert a positive influence on yam yields, although its effect

seems to be superior on second and third category tubers. In this case a fertilization level of 75% of the recommended N dose seems to be the most convenient. The fact that yam yields obtained with both rhizobacteria strains, at 50% of the N fertilization level, were higher than the yields obtained with any of the chemical fertilization treatments (0, 50, 75 and 100 percent of the N fertilization level), indicates that some other factors, different to N supply from fixation, could also be contributing to improving yam yields. These other factors could be hormones or secondary metabolites that act as stimulants to yam growth and productivity. In this respect, some reports indicate that *Azotobacter* might positively influence growth and yield of some plants, not only due to the contributions in nitrogen, but also due to the production of a series of hormones, in particular auxins, gibberellins, and cytokinins (Noumavo *et al.*, 2013). This production of hormones and growth regulators promotes the growth of plants and enhances the uptake of nutrients, which leads to a higher yield in crops. In previous experiments, Sánchez and Pérez (2018) working with the same bacterial strains (*A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9), confirmed the production of IAA at a level of 27.70  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 24.29  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively, in pure liquid cultures. In this regard, several studies have shown that *in vitro* production of IAA and other physiologically active hormones derived from L-tryptophan are characteristic of PGPR strains (Teixeira *et al.*, 2007).

Similarly, it has been reported that this type of bacteria produces different types of secondary metabolites that are released into the soil, such as vitamins, amino acids, anti-fungal substances, among others, which have a direct influence on the growth of outbreaks and roots in crops (Chennappa *et al.*, 2018). These hormones have been associated in the literature with positive effects in plants, such as the promotion of elongation and cell division, apical dominance, tissue differentiation and development of a greater number of roots in plants (Scagliola *et al.*, 2016). Sánchez and Pérez (2018) also reported that the strains of *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9 had the ability to solubilize phosphates *in vitro*, which was measured as the production of orthophosphate from phosphate rock, with values of 15.90  $\text{mg L}^{-1}$  for *A. chroococcum* DBC12 and 18.94  $\text{mg L}^{-1}$  for *A. vinelandii* DBC9. The same authors reported that these rhizobacteria promoted the plant growth of yam seedlings (*D. rotundata*), at the greenhouse level.

Dixon and Kahn (2004) reported that the joint application of mycorrhizae with *Azotobacter* phosphate solubilizers, allows the fixed amounts of atmospheric nitrogen to be greater, because the fixing bacteria have a greater amount of available phosphorus (an essential element for the fixation of nitrogen), supplied by the activity of the solubilizing organisms. The phosphorus-solubilizing bacteria have become an important habitat of the soil and the inoculation with these has shown substantial increases in the growth of the plants. Such bacterial populations could be of importance in the development of diverse agricultural ecosystems (Wei *et al.*, 2018). It has been reported that these solubilizing bacteria modify the nutrition of phosphorus and

increase its solubilization in the soil through many processes such as the decrease in soil pH, through the production of organic acids, alkaline phosphatases, phytohormones,  $\text{H}^+$  protonation, anion exchange, chelation and production of siderophores, which promote the solubilization of phosphorus in the soil (Adnan *et al.*, 2017).

Results obtained with other species of bacteria in yam crops report similar results. For example, Swain *et al.* (2007) working with strains of *Bacillus subtilis* CM4-CM5, report the production of 2.0 and 2.5  $\text{mg L}^{-1}$  of IAA, respectively, associated with positive effects on the stimulation of root growth (length and fresh weight), with an increase in the root-stem relation and the number of shoots, in comparison with the non-inoculated *Dioscorea rotundata* plants. On the other hand, Jimtha *et al.* (2017), in studies with *Dioscorea nipponica* with the strain *Proteus* sp. (R6), report this strain as positive for nitrogen fixation,  $\text{HN}_3$  production, IAA, siderophore, ACC deaminase and solubilization of phosphates. In these studies, it was found that plants treated with the bacterial strain R6 showed improved size of tubers and a number of roots in comparison to plants without bacterial application.

Our results allow us to conclude that the bacterial strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9 collected in the Caribbean region of Colombia can become an effective alternative for reducing chemical N fertilization in production of yam tubers destined to the export market since they potentiate yield and the production of first category tubers. These bacteria are also an alternative for a more sustainable agriculture since they present the possibility of reducing the use of chemically synthesized N fertilizers. In these experiments, we obtained between 89.1 and 93.3% of yield of first category yam tubers, the yield being higher when N fertilization at a level of 50%, the recommended dose, was combined with either of the bacterial strains *A. vinelandii* DBC9 and *A. chroococcum* DBC12. This last observation might be of great importance, because as Pérez and Campo (2016) mentioned, the size, shape, and weight of yam tubers are very important for the export market and constitute the most limiting factors that confront yam farmers in Colombia. In practice, it is estimated that only 30% of the total yam tuber production received at the market centers in the Caribbean region of Colombia meets the specifications of the international market.

In relation to the yield of second category tubers for the local market, our results indicated that better yields were obtained ( $p < 0.01$ ) with the use of higher N fertilization levels alone or, with the inoculation of the bacterial strain *A. chroococcum* with 75% N fertilization level. These results suggest that, with respect to second category tubers, irregular growth and overweight are favored by higher N levels, while for first category tubers for the export market, it is more advisable the use of a 50% N fertilization level, accompanied by the inoculation of the bacterial strains *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9.

On the other hand, the production of third-category or reject tubers was not affected by our treatments, which indi-

cates that the number of deformed tubers depends on factors other than those evaluated in these experiments, such as physical soil impediments or attacks of insects or diseases. Studies advanced by Cardona (2007), in this regard indicate that if planted at wide distances (0.23 and 0.30 m between plats), an obvious deformation occurs in yam tubers, with high individual weight (1.71 kg and 1.96 kg, respectively). This author indicates that reducing the distance to 0.15 m between plants reduces deformation and decreases individual tuber weight to 1.35 kg. Large tubers are difficult to extract from the soil, split, or suffer wounds at the time of harvest, increasing the number of cuts and the probability of losses due to greater decay resulting from pathogens attacks. Likewise, it is suggested that the variability in the shape of tubers could also be related to the leaf area of each yam plant. Costas *et al.* (1968), observed an increase of 50% in the size of tubers of *D. rotundata*, with irregular shape when they increased the leaf area using 1.83 m tutors versus non-tutored plants. Rodríguez (2000) determined that the use of low planting densities and yam cultivars with excessive growth of stems and leaves keeps the plant in a juvenile state, delays tuberization, reduces commercial production and increases the formation of deformed tubers. Further studies should concentrate on finding the best dose and formulation of these two *Azotobacter* strains as potential bioinoculants to substitute N fertilization and improve the productivity of yam crops in the Caribbean region of Colombia.

## CONCLUSIONS

From the above results, it can be concluded that the bacterial strains evaluated in these experiments, *A. chroococcum* DBC12 and *A. vinelandii* DBC9, present a high potential for the preparation of bio-inoculums with the purpose of improving productivity and quality of yam at the Caribbean region of Colombia. These bacterial strains were positive in *in vitro* tests for nitrogen fixation and NH<sub>3</sub> production, and field tests showed the ability to increase the yields of total and first category tubers. The best effects were obtained when inoculation of strains was combined with a level of 50% of the N recommended dose. Therefore, it was concluded that these rhizobacteria present potential as possible bio-inoculants, which could be an alternative to reducing levels of nitrogen chemical fertilization, thus contributing to a more sustainable and competitive yam culture.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded through the Cooperation Agreement N° 5144 between the Semana Foundation and the Colombian Agricultural Research Corporation (Agrosavia).

## REFERENCES

ADNAN, M.; SHAH, Z.; FAHAD, S.; ARIF, M.; ALAM, M.; KHAN, I.A.; RAHMAN, I.U. 2017. Phosphate-solubilizing bacteria nullify the antagonistic effect of soil calcification on bioavailability of

phosphorus in alkaline soils. *Scientific Reports* 7 (1): 16131. <http://doi.10.1038/s41598-017-16537-5>

AHMADI-RAD, S.; GHOLAMHOSEINI, M.; GHALAVAND, A.; ASGHARZADEH, A.; DOLATABADIAN, A. 2016. Foliar application of nitrogen fixing bacteria increases growth and yield of canola grown under different nitrogen regimes. *Rhizosphere* 2:34-37. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.08.006>

APPLEZWEIG, N. 1977. *Dioscorea*: the pill crop. In: SIEGLER, D. (Ed.). *Crop Resources*. New York, Academic Press. 149-163 pp.

BABA, Z.A.; TAHIR, S.; WANI, F.S.; HAMID, B.; NAZIR, M.; HAMID, B. 2018. Impact of *Azotobacter* and inorganic fertilizers on yield attributes of tomato. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7:3803-3809. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.450>

BENÍTEZ, L.P.; TOVAR, C.T.; ORTIZ, A.V.; DUNOYER, A.T.; MINDIOLA, R.B.; BENÍTEZ, L.M. 2007. Aprovechamiento del ñame espino (*Dioscorea rotundata*) en la producción de bioplásticos. *Prospectiva* 5:68-72.

BÖMER, M.; RATHNAYAKE, A.I.; VISENDI, P.; SEWE, S.O.; SICAT, J.P.; SILVA, G.; SEAL, S.E. 2018. Tissue culture and next-generation sequencing: A combined approach for detecting yam (*Dioscorea* spp.) viruses. *Physiol. and Mol. Plant Path.* <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.06.003>

BRAHMAPRAKASH, G.P.; SAHU, P.K. 2012. A review: Bio-fertilizers for sustainability. *J Indian Institute Sci.* 92:37-62.

CARDONA, J. 2007. Distancia de siembra en la producción y calidad de ñame Guinea negro (*D. rotundata*). *J. Agr. U. Puerto Rico* 91:61-65.

COSTAS, R.C.; BONETA, E.; SILVA, S. 1968. Effect of various cultural practices on yields of yams in Puerto Rico. *J. Agr. U. Puerto Rico* 52:356-61.

CHAUHAN, H.; BAGYARAJ, D.J.; SELVAKUMAR, G.; SUNDARAM, S.P. 2015. Novel plant growth promoting rhizobacteria-prospects and potential. *Appl. Soil Ecol.* 95:38-53. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.05.011>

CHENNAPPA, G.; SREENIVASA, M.Y.; NAGARAJA, H. 2018. *Azotobacter salinestr*: A novel pesticide-degrading and prominent biocontrol PGPR bacteria. In: PANPATTE, D.; JHALA, Y.; SHELAT, H.; VYAS, R. (Eds.). *Microorganisms for green revolution, microorganisms for sustainability*. Springer, Singapore. 23-43 pp. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7146-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7146-1_2)

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C.; BARKA, E.A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:4951-4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

DILWORTH, M.J.; EADY, R.R.; ELDRIDGE, M.E. 1988. The vanadium nitrogenase of *Azotobacter chroococcum* reduction of acetylene and ethylene to ethane. *Biochem. J.* 249: 745-751.

DIXON, R.; KAHN, D. 2004. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology* 2(8):621-631.

DUMET, D.; OGUNSOLA, D. 2008. Guías para la regeneración de germoplasma: ñame. In: DULLOO, M.E.; THORMANN, I.; JORGE, M.A.; HANSON, J. (Eds.). *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*, CGIAR System-wide Genetic Resource Programme SGRP Rome, Italy 8 p.

FAOSTAT-ORGANIZACIÓN PARA LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA FAO. 2017. Disponible vía DIALOG <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

HOLDRIDGE, L. 2000. *Ecología basada en zonas de vida*. Quinta reimpresión. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura IICA 1996, c1978, San José, Costa Rica, 225 p.

- JIMTHA, J.C.; MATHEW, J.; RADHAKRISHNAN, E.K. 2017. Bioengineering of *Dioscorea nipponica* with rhizospheric Proteus spp. for enhanced tuber size and diosgenin content. *Biotech* 7:261. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0886-3>
- KIZILKAYA, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecol. Eng.* 33:150-156.
- KUMAR, V.; BEHL, R.K.; NARULA, N. 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiol. Res.* 156:87-93. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00081>
- KUSHWAHA, A.; BAILY, S.B.; MAXTON, A.; RAM, G.D. 2013. Isolation and characterization of PGPR associated with cauliflower roots and its effect on plant growth. *The Bioscan* 8:95-99.
- MARKSON, A.A.; OMOSUN, G.; MADUNAGU, B.E.; AMADIOHA, A.C.; WOKOCHA, R. 2010. Physicochemical Alteration of Tissues of White Yam (*Dioscorea Rotundata* Poir) Tubers Incited by Botryoiplodia Theobromae Pat. *Int J Curr Res.* 4:055-061.
- NORMAN, J.S.; FRIESEN, M.L. 2017. Complex N acquisition by soil diazotrophs: how the ability to release exoenzymes affects N fixation by terrestrial free-living diazotrophs. *The ISME journal* 11:315-326. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.127>
- NOUMAVO, P.A.; KOCHONI, E.; DIDAGBÉ, Y.O.; ADJANO-HOUN, A.; ALLAGBÉ, M.; LAMINE, B. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *Am. J. Plant Sci.* 4:1013-1021. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.45125>
- O'SULLIVAN, J.N. 2010. Yam nutrition: nutrient disorders and soil fertility management. *ACIAR Monograph No. 144*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 112 p.
- PÉREZ, P.J.; CAMPO, A. 2016. Efecto de la densidad poblacional sobre el rendimiento de ñame espino (*Dioscorea rotundata* Poir.) tipo exportación. *Rev. Col. Cienc. Hortic.* 10:89-98. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2016v10i1.5072>
- PROCARIBE, F. 2012. Guía práctica para el manejo orgánico del cultivo de ñame tipo exportación. 49p. (Available at: [https://www.swissaid.org.co/sites/default/files/Cartilla%2BÑame\\_Julio%2B2012.pdf](https://www.swissaid.org.co/sites/default/files/Cartilla%2BÑame_Julio%2B2012.pdf)).
- RAMIREZ, A.; PACHECO, M.R.; MORENO, S.J.; XIQUI, M.L.; BACA, B.E. 2018. Versatile use of *Azospirillum* brasilense strains tagged with egfp and mCherry genes for the visualization of biofilms associated with wheat roots. *Microbiol. Res.* 215:155-163. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.07.007>
- RODRIGUEZ, M.Â.; LADEIRA, L.C.; ARROBAS, M. 2018. *Azotobacter*-enriched organic manures to increase nitrogen fixation and crop productivity. *Europ. J. Agron.* 93: 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.01.002>
- RODRÍGUEZ, W. 2000. Botánica, domesticación y fisiología del cultivo del ñame (*Dioscorea alata*). *Agron. Mesoamericana* 11:133-152. <https://doi.org/10.15517/am.v11i2.17326>
- RUSSELLE, M.P. 2008. Biological dinitrogen fixation in agriculture. In: SCHEPERS, J.S.; RAUN, W.R. (Eds.). *Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph n.º 49*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. 281-359 pp.
- SÁNCHEZ, D.; PÉREZ, J.V. 2018. Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro. *Agron. Costarricense* 42:75-91 <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33780>
- SAVCI, S. 2012. An agricultural pollutant: chemical fertilizer. *Int. J. Environ. Sci. Dev.* (3): 73-80. <http://dx.doi.org/10.7763/IJESD.2012.V3.191>
- SCAGLIOLA, M.; PII, Y.; MIMMO, T.; CESCO, S.; RICCIUTI, P.; CRECCHIO, C. 2016. Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* 107:187-196. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.002>
- SIQUEIRA, M.V.B.M. 2009. Inhame (*Dioscorea* spp.): uma cultura ainda negligenciada. *Hortic. Bras.* 27: S4075-S4090.
- SWAIN, M.R.; NASKAR, S.K.; RAY, R.C. 2007. Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of yam (*Dioscorea rotundata* L.) minisets by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cow dung microflora. *Pol. J. Microbiol.* 56:103-110.
- TEIXEIRA, M.A.; DE MELO, I.S.; VIEIRA, R.F.; CARVALHO, F.E.; HARAKAVA, R. 2007. Microrganismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etnovarietades em três estados brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42(1) :43-49.
- VASHI, J.M.; SARAVAIYA, S.N.; DESAI, K.D.; PATEL, A.I.; PATEL, H.B.; SRAVANI, V. 2018. Effect of planting distance on growth and tuber yield of greater yam (*Dioscorea alata* L.) under different growing conditions *IJCS* 6 :1475-1481.
- VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability: A review. *Molecules* 21: 1-17. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21050573>
- WEI, Y.; ZHAO, Y. SHI, M.; CAO, Z.; LU, Q.; YANG, T.; WEI, Z. 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Tech.* 247:190-199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>
- WILSON, P.W.; KNIGHT, S.G. 1952. *Experiments in bacterial physiology*. 3d. Burgess, Minneapolis, USA. 49 p.

Recibido 13 de diciembre de 2018 // Aceptado 02 de agosto de 2019 // Publicado online 26 de mayo de 2021

# Caracterización de residuos agroindustriales de algodón mediante espectrometría de emisión atómica de plasma por microondas

MENDOZA, S.M.<sup>1</sup>

## RESUMEN

La actividad agroindustrial genera grandes cantidades de subproductos vegetales que se consideran residuos por su escaso valor comercial. Durante el proceso de desmote de algodón se generan residuos lignocelulósicos que son atractivos para la producción de energías alternativas. Para optimizar esta aplicación resulta necesario contar con datos técnicos actualizados. Por ello, este trabajo presenta los resultados obtenidos al caracterizar distintas fracciones de residuos de desmote de algodón y limpieza de semillas mediante la técnica de espectrometría de emisión atómica de plasma por microondas. Se muestra el potencial de la técnica analítica para estudiar este tipo de materiales y se reporta sobre la presencia de constituyentes minerales y contaminantes tales como K, Ca, P, Mg, Na, Al, Fe, Mn, Zn, Cr y Pb.

**Palabras clave:** residuos de algodón, desmote de algodón, análisis químico elemental, MP-AES.

## ABSTRACT

*The agro-industrial activity generates large amounts of vegetable by-products, which are considered waste due to their low commercial value. The cotton ginning process generates lignocellulosic residues that are attractive for the production of alternative energies. Optimization of this application requires updated technical data.*

*Therefore, this work presents the results from the characterization of different fractions of cotton gin waste and seed cleaning, using the microwave-plasma atomic emission spectrometry technique. It shows the potential of the analytical technique to study this type of materials and reports on the presence of mineral constituents and contaminants such as K, Ca, P, Mg, Na, Al, Fe, Mn, Zn, Cr and Pb.*

**Keywords:** cotton waste, Cotton ginning, elemental chemical analysis, MP-AES.

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica Nacional (UTN), Facultad Regional Reconquista y CONICET. Calle 44 N.º 1000, 3560 Reconquista, Santa Fe, Argentina. Correo electrónico: smendoza@frq.utn.edu.ar



## INTRODUCCIÓN

El cultivo del algodón es una actividad que se remonta a tiempos inmemoriales. El algodón se distingue entre los demás cultivos agrícolas gracias a las múltiples aplicaciones productivas que ofrece. Los principales eslabones que constituyen la cadena de valor algodonera son la producción primaria, seguida de la etapa de desmote, que luego deriva en procesos industriales donde la fibra se convierte en telas, la semilla en aceite o alimento vacuno, la fibrilla en algodón hidrófilo y el línter en excipientes medicinales, por citar algunos.

El proceso de desmote es una etapa de transformación agroindustrial del algodón en bruto que consiste principalmente en separar la fibra de la semilla. Esta etapa se lleva a cabo en las desmotadoras, que reciben y concentran la cosecha de los productores primarios de su región. La fibra es preparada y prensada en fardos para luego ser comercializada. La semilla tiene varios destinos, como por ejemplo la industria aceitera, el uso ganadero como forraje y la siembra. El proceso de desmote genera un volumen importante de subproductos de escaso valor, constituidos por fibrillas, restos vegetales y cascarillas. En etapas de separación posteriores, también se generan subproductos lignocelulósicos, eventualmente más ricos en cascarillas o bien en fibras. Tal es el caso del deslintado, proceso agroindustrial por el cual se extrae el línter (fibras muy cortas) de la semilla.

A menudo los subproductos que derivan de la actividad agrícola se tratan como residuos ya que suelen tener poco valor comercial. La producción algodonera no es ajena a esta situación. En la etapa de desmote se generan residuos en abundancia que no siempre tienen un fin específico, transformándose en un problema medioambiental, de higiene y seguridad. La acumulación de residuos del desmote de algodón tradicionalmente se solía mitigar mediante incineración a cielo abierto o mediante rellenos de terrenos. Pero estas prácticas ya no son aceptables debido a su impacto negativo sobre el medioambiente (Zabanitou *et al.*, 2000). De manera alternativa, han sido utilizados para hacer composta (Tejada *et al.*, 2003), como fuente de biomasa para abastecer sistemas de gasificación, y como fuente de fibra en dietas de engorde de ganado (Arroquy, 2018). Actualmente se están llevando adelante diversas líneas de investigaciones destinadas a mejorar la producción de bioetanol, a la generación de energía por biodigestión y a lograr aplicaciones de mayor valor agregado (Shen *et al.*, 2008; Holt *et al.*, 2000). Es así que resulta imprescindible contar con datos técnicos que permitan optimizar el uso de estos subproductos. Entre los datos técnicos de interés, un aspecto importante es conocer la composición química elemental. Si bien existe literatura general acerca de la composición química de materiales lignocelulósicos, no hay reportes actualizados sobre las características de la producción algodonera de la región Litoral de Argentina.

Entre las técnicas analíticas que se pueden utilizar para determinar la composición química elemental de un material, la espectrometría de emisión atómica de plasma por

microondas (MP-AES) es de particular utilidad. Es una nueva herramienta analítica que permite realizar el análisis multielemental de muestras para identificar metales y algunos no metales. Vale mencionar que, al igual que las técnicas analíticas de su tipo, no permite determinar no metales, tales como oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y carbono. En comparación con las técnicas analíticas instrumentales más difundidas, MP-AES produce espectros más simples que la espectrometría de emisión atómica de plasma por acoplamiento inductivo (ICP-OES) y ofrece una mayor sensibilidad que la obtenida a través de espectros de absorción atómica de llama (Li *et al.*, 2013). Además, MP-AES es más económica que ICP-OES porque utiliza nitrógeno en vez de argón como gas de soporte del plasma. Permite analizar muestras originalmente líquidas o sólidas (previamente digeridas) con una resolución de partes por millón y límites de detección que en muchos casos llega a partes por billón (Karlsson *et al.*, 2015).

En este trabajo se aplica la técnica MP-AES para caracterizar distintas fracciones de residuos lignocelulósicos provenientes de la producción algodonera, generadas durante las etapas de desmote y deslintado. Se reporta sobre la presencia de constituyentes minerales y contaminantes tales como Na, Ca, P, K, Mg, Al, Fe, Mn, Zn, Cr y Pb. También se brinda información acerca del contenido de sólidos totales y de cenizas. Los resultados corresponden a subproductos lignocelulósicos agroindustriales, originados en la región Litoral de Argentina, uno de los principales territorios de Sudamérica dedicados a la producción algodonera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

Se caracterizaron muestras de residuos agroindustriales de algodón en función de su composición química elemental y contenido de cenizas. Las muestras se obtuvieron de uno de los centros industriales que recibe y procesa la mayor producción algodonera de la región Litoral de Argentina, por lo que se asume que son representativas de dicha región. Se analizaron muestras de tres fracciones distintas de residuos, las cuales se generaron en diferentes etapas de procesamiento:

- residuo primario del desmote de algodón: originado en la desmotadora durante la primera etapa de separación de las fibras y las semillas;
- residuos con alto contenido de cascarillas: provenientes de etapas posteriores de separación en la desmotadora;
- residuo del proceso de deslintado: generado durante la limpieza de semillas de algodón y extracción de línter.

### Análisis químico elemental

El análisis se llevó a cabo mediante MP-AES a partir de la cenizas de cada muestra, con un equipo marca Agilent, modelo 4200. El instrumento se equipó con una tor-

cha estándar con inyector de tubo de cuarzo, una cámara de nebulización ciclónica de paso doble y un nebulizador concéntrico. Para las determinaciones, se testearon varias líneas espectrales de cada elemento y se seleccionaron aquellas que mostraron ausencia de interferencias (tabla 1). Luego, la cuantificación se realizó mediante calibración de la intensidad de cada señal espectral, utilizando soluciones patrones multielementales.

Elemento	Longitud de onda (nm)
K	769.897
P	213.618
Ca	422.673
Mg	383.829
Mn	403.076
Na	589.592
Fe	259.940
Zn	481.053
Al	396.152
Si	288.158
Cr	425.433
Pb	217.000

**Tabla 1.** Longitudes de onda seleccionadas para cuantificar cada elemento analizado mediante MP-AES.

### Digestión por microondas

Para poder realizar el análisis químico elemental, las cenizas de cada muestra fueron pesadas y tratadas por el método de digestión por microondas con ácido nítrico, durante 10 minutos a 180 °C, siguiendo el protocolo estándar USEPA 3052 (1996). Para ello, se utilizó un digestor de vaso cerrado, marca SCP Science modelo SA, que puede procesar hasta doce muestras en simultáneo. Paralelamente a la digestión de las muestras y a modo de control, se sometió a digestión la solución ácida, como blanco de reactivos.

### Reactivos y soluciones de calibración

Todas las sustancias y reactivos fueron de grado analítico. Para preparar las soluciones de digestión y de calibración se utilizó agua ultrapura tipo I. Las soluciones de calibración para MP-AES se prepararon a partir de estándares multielementales marca SCP Science.

### Cenizas y sólidos totales

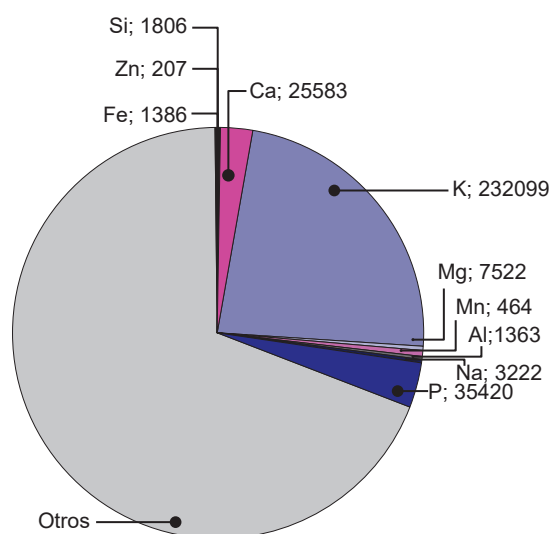
Las determinaciones del contenido de sólidos totales y de cenizas se realizaron de acuerdo con los protocolos NREL/TP-510-42621 (Sluiter *et al.*, 2007) y NREL/TP-510-

42622 (Sluiter *et al.*, 2008), respectivamente. Para ello se utilizaron submuestras representativas de 2 gramos, que se trataron en un horno mufla por al menos 12 horas, hasta registrar pesada constante al 0,1 mg. Los valores informados son el promedio de al menos doce muestras en cada caso.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

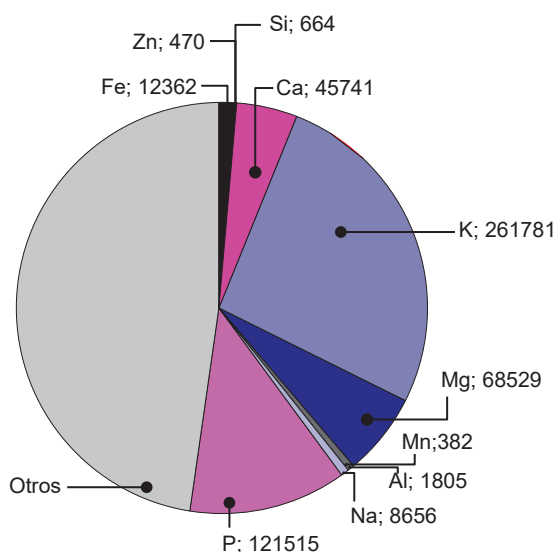
Mediante la técnica MP-AES se determinó la presencia y concentración de varios elementos químicos de las distintas fracciones de residuos de algodón. Estos elementos químicos forman parte de la fracción mineral de los residuos, ya que fueron determinados a partir de las cenizas de cada muestra. La figura 1 resume los resultados obtenidos para el caso de residuos que derivan del proceso desmote de algodón, denominado aquí residuo primario. Esta fracción contiene restos vegetales, fibrillas y cascarillas. Se representa la distribución en partes por millón (ppm) de los elementos analizados, con respecto al peso de cenizas. En la gráfica de la figura 1, "Otros" se refiere a la fracción correspondiente a elementos no analizados y se atribuye mayoritariamente a oxígeno y carbono, presentes en los óxidos y carbonatos de los que forman parte los metales. Se puede observar que los residuos de desmote poseen un alto contenido de potasio, seguido de fósforo y calcio. Las cenizas contienen además cantidades minoritarias de magnesio, sodio, hierro, manganeso, aluminio, silicio y cinc.

Además del residuo primario de desmote antes analizado, en las desmotadoras se obtienen fracciones de residuos con alto contenido de cascarillas. Se denomina comúnmente cascarilla a la parte del vegetal que sostiene el capullo de algodón. En la industria, esta fracción puede provenir de etapas de separación realizadas al residuo primario, así como también del proceso de deslizado. La



**Figura 1.** Composición química elemental (en ppm) determinada en cenizas del residuo primario del desmote de algodón.

composición química se muestra en la figura 2. De manera similar al caso anterior, se destaca el contenido de potasio, que aquí representa más del 25% de las cenizas. También hay un alto contenido de fósforo, magnesio y calcio. Cabe notar que esta fracción de residuos es 9 veces más rica en magnesio que el residuo primario de desmote.

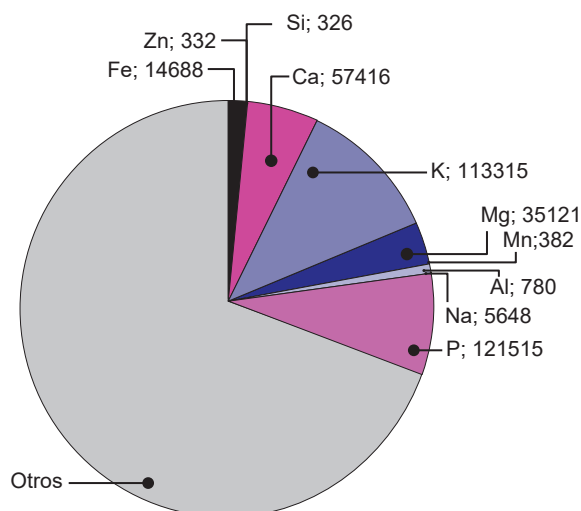


**Figura 2.** Composición química elemental (en ppm) determinada en cenizas de residuos con alto contenido de cascarillas.

La composición química elemental analizada en las cenizas de residuos del proceso de deslizado se muestra en la figura 3. Si bien el contenido total de metales minerales es similar al residuo primario (fig. 1), la concentración de cada elemento difiere significativamente. En este caso, la concentración de potasio es menor, pero aumenta la de fósforo, calcio y hierro.

Los resultados obtenidos están en línea con otros trabajos, como el de Vassilev *et al.* (2010), que determinaron correlaciones entre los minerales constituyentes de las cenizas, permitiendo asociar los elementos en tres grupos:

- 1)  $\text{SiO}_2 + \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{Na}_2\text{O} + \text{TiO}_2$
- 2)  $\text{CaO} + \text{MgO} + \text{MnO}$
- 3)  $\text{K}_2\text{O} + \text{P}_2\text{O}_5 + \text{SO}_3 + \text{Cl}_2\text{O}$



**Figura 3.** Composición química elemental (en ppm) determinada en cenizas del residuo proveniente del proceso de deslizado.

En las muestras aquí analizadas, el contenido de potasio es significativamente superior a los demás elementos, en concordancia con resultados previos (Vassilev *et al.*, 2010), donde también se encontró una predominancia del grupo 3 en los residuos provenientes de la actividad agrícola. Del presente trabajo se desprende que le siguen en abundancia los elementos del grupo 2 y que se encuentran en menor cantidad los del grupo 1.

En todos los casos, las muestras también revelaron trazas de cromo y plomo, en concentraciones de partes por billón (ppb). Determinar el origen de estos constituyentes antropogénicos escapa a los alcances del presente trabajo.

La tabla 2 proporciona los valores de sólidos totales y el contenido de cenizas de las distintas fracciones analizadas. Se encontró que los residuos primarios del desmote de algodón y la fracción rica en cascarillas poseen un contenido de cenizas similar. Estos resultados están de acuerdo con los rangos de valores reportados en la literatura para cultivos con valor energético (Monti *et al.*, 2008). El residuo de extracción de linter posee un contenido de cenizas muy superior, que cuatricula a los casos anteriores.

Uno de los usos inmediatos que se da actualmente a los residuos del desmote de algodón es su empleo como

Muestras	Sólidos totales (%)	Contenido de cenizas (%)
Residuo primario del desmote de algodón	89,0 ± 1,3	4,7 ± 0,2
Residuo rico en cascarillas	83,8 ± 0,8	5,8 ± 0,8
Residuo de deslizado	79,8 ± 1,0	19,2 ± 1,5
Residuo remanente en caldera	99,7 ± 0,1	17,0 ± 1,6

**Tabla 2.** Sólidos totales y contenidos de cenizas en diferentes fracciones de residuos.

combustible de calderas. La aplicación resulta de interés ya que reemplaza al uso de la leña, que todavía se adopta a nivel industrial. En caso de utilizar residuos vegetales como forma de energía, aquellas fracciones con mayores contenidos de cenizas y minerales tendrán más tendencias a generar escorias, incrustaciones y corrosión. Desde este punto de vista, de las tres fracciones analizadas, el residuo con alto contenido de cascarillas sería el menos indicado.

La tabla 2 también incluye el análisis del contenido de sólidos totales y cenizas de los residuos remanentes en una caldera alimentada con residuo primario de desmote. Basado en estos datos, se calculó que se aprovecha un 76% de la fracción potencialmente combustible. Para el cálculo se consideró que la totalidad de los residuos está formada por materia combustible, excepto el contenido de humedad y de cenizas.

## CONCLUSIONES

El presente trabajo resume los resultados obtenidos al caracterizar residuos agroindustriales de algodón mediante la técnica de espectrometría de emisión atómica de plasma por microondas. En todas las fracciones de residuos analizadas se encontró una alta concentración de potasio. En las muestras con alto contenido de cascarillas, el potasio constituyó más del 25% de las cenizas. Se determinó que los residuos primarios del desmote de algodón poseen cenizas ricas en potasio, fósforo y calcio. Mientras que los residuos con alto contenido de cascarillas y aquellos derivados de la extracción de linter poseen además cantidades significativas de magnesio. Otros elementos presentes en concentraciones minoritarias son sodio, hierro, manganeso, aluminio, silicio y cinc. Se confirmó también la existencia de trazas de cromo y plomo.

Complementariamente, se indagó acerca de la eficiencia del uso del residuo primario del desmote de algodón como combustible de calderas. Se encontró que, del material introducido en la caldera, aproximadamente  $\frac{3}{4}$  parte fue utilizado para generar energía, quedando el resto como residuo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó mediante el apoyo de la Universidad Tecnológica Nacional (UTN) y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARROQUY, J.I. 2018. Uso de subproductos de planta de algodón como fuente de fibra en dietas de engorde a corral. *RIA* 44 (1), 23-29.
- HOLT, G.A.; BARKER, G.L.; BAKER, R.V.; BRASHEARS, A. 2000. Characterization of cotton gin byproducts produced by various machinery groups used in the ginning operation. *Transactions of the ASAE* 43(6), 1393-1400.
- KARLSSON, S.; SJÖBERG, V.; OGAR, A. 2015. Comparison of MP AES and ICP-MS for analysis of principal and selected trace elements in nitric acid digests of sunflower (*Helianthus annuus*). *Talanta* 135, 124-132.
- LI, W.; SIMMONS, P.; SHRADER, D.; HERRMAN, T.J.; DAI, S.Y. 2013. Microwave plasma-atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. *Talanta* 112, 43-48.
- MONTI, A.; DI VIRGILIO, N.; VENTURI, G. 2008. Mineral composition and ash content of six major energy crops. *Biomass and Bioenergy* 32 (3) 216-223.
- SHEN, J.; AGBLEVOR, F.A. 2008. Optimization of enzyme loading and hydrolytic time in the hydrolysis of mixtures of cotton gin waste and recycled paper sludge for the maximum profit rate. *Biochemical Engineering Journal* 41 (3), 241-250.
- SLUITER, A.; BAHMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C., RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; WOLFE, J. 2007. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples. Technical Report NREL/TP-510-42621. National Renewable Energy Laboratory.
- USEPA 2052. 1996. SW-846 TEST METHOD 3052. Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based Matrices. (Disponible: <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-3052-microwave-assisted-acid-digestion-siliceous-and-organically-based> verificado: diciembre 2018).
- TEJADA, M.; GONZALEZ, J.L. 2003. Effects of the application of a compost originating from crushed cotton gin residues on wheat yield under dryland conditions. *European Journal of Agronomy* 19 (2), 357-368.
- VASSILEV, S.; BAXTER, D.; ANDERSEN, L.K.; VASSILEVA, C.G. 2010. An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel* 89, 913-933.
- ZABANIOTOU, A.A.; ROUSSOS, A.I.; KORONEOS, C.J. 2000. A laboratory study of cotton gin waste pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 56 (1), 47-59.

Recibido 14 de mayo de 2019 // Aceptado 08 de agosto de 2019 // Publicado online 19 de mayo de 2021

# Variabilidad de la calidad de lanas en la provincia de Río Negro, Argentina

GONZALEZ, E.B.<sup>1</sup>; SACCHERO, D.M.<sup>2</sup>; EASDALE, M.H.<sup>1</sup>

## RESUMEN

En la provincia de Río Negro la producción de lana Merino se realiza en diversas condiciones ambientales. A pesar de esta realidad se desconoce la variabilidad de la calidad de lana a escala regional. El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros que mejor describan la variabilidad fenotípica de la calidad de lana de establecimientos ubicados en la provincia de Río Negro. Se utilizaron 113 establecimientos ubicados en dos regiones naturales de la provincia de Río Negro (Patagonia Occidental y Oriental). Se analizaron registros de análisis comerciales de los establecimientos (periodo 2002-2015) realizados por el Laboratorio de Fibras Textiles INTA Bariloche de lana Merino y de esquila preparto mediante técnicas de estadística multivariada (Componentes Principales). El primer plano factorial del análisis de Componentes Principales explicó el 60,66% de la variabilidad y los parámetros más influyentes en su formación fueron el RP, RT, DMF y MV. Los establecimientos de la Patagonia Oriental registraron lotes de lana de mayor DMF y MV, respecto de aquellos ubicados en la Patagonia Occidental. A su vez, la mayoría de los establecimientos de la Patagonia Oriental indicaron lotes de lana con menores porcentajes de RP y RT. La distribución de los establecimientos en el plano factorial sugeriría posibles asociaciones entre algunos parámetros de calidad de lana y la heterogeneidad del ambiente los cuales debieran estudiarse con mayor detalle a futuro.

**Palabras clave:** regiones áridas y semiáridas, producción ganadera extensiva, calidad de fibras, ovinos merino, análisis multivariados, GIS.

## ABSTRACT

*In the province of Río Negro the production of Merino wool takes place in diverse environmental conditions. In spite of this productive reality, the variability of wool quality at regional scale is unknown. The aim was to determine the parameters that best describe the phenotypic variability of wool quality of establishments located in the province of Río Negro. We used 113 farms located in two natural regions of the province of Río Negro (Western and Eastern Patagonia). We used data from wool samples of Merino sheep of the farms (period 2002-2015) processed by the Laboratorio de Fibras Textiles from the Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Bariloche. This data set was analysed with multivariate techniques (Principal Components). The first factorial analysis of Principal Components explained 60.66% of the variability and the most influential parameters were RP, RT, DMF and MV. The farms of Eastern Patagonia registered wools with higher DMF and MV, compared to those located in Western Patagonia. At the same time, most of the farms of Eastern Patagonia indicated wools with lower percentages of RP and RT. The distribution of the farms in the factorial plane suggested possible associations between some parameters of wool quality and the heterogeneity of the environment, which should be studied with more detail in the future.*

**Keywords:** Arid and semi-arid regions, extensive livestock production, quality of fibers, merino sheep, multivariate analysis, GIS.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB), CONICET. Modesta Victoria 4450, San Carlos de Bariloche, (8400) Río Negro, Argentina. Correo electrónico: gonzalez.ezequiel@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bariloche. Modesta Victoria 4450, San Carlos de Bariloche, (8400) Río Negro, Argentina. Correo electrónico: sacchero.diego@inta.gob.ar

## INTRODUCCIÓN

En la región árida y semiárida de la Patagonia, la principal actividad ganadera es la cría de ovinos Merino para lana y carne. La producción de lana sigue siendo uno de los principales productos y una fuente relevante de ingresos económicos de los productores de la región (Villagra y Giraud, 2010). Esta actividad se desarrolla en diferentes condiciones biofísicas determinadas principalmente por aspectos climáticos y por un complejo geomorfológico que dan lugar a diferentes suelos y tipos de vegetación (León *et al.*, 1998; Bran *et al.*, 2000, Jobbagy *et al.*, 2002). La estacionalidad del crecimiento de la vegetación y la variabilidad interanual de su productividad influye sobre la dinámica productiva de la actividad ganadera ya que se realiza casi exclusivamente sobre pastizales naturales (Golluscio *et al.*, 1998). Estas condiciones ambientales influyen sobre los sistemas de producción afectando índices demográficos de las poblaciones de ovinos, como la tasa de señalada (cordero logrado/madre servida) y la sobrevivencia de animales (Hall y Paruelo, 2006).

Por un lado, el ambiente puede condicionar el crecimiento de la lana y sus características de calidad. Las fluctuaciones en la disponibilidad forrajera producen una variación significativa en el crecimiento de la lana (Schlink *et al.*, 1999) y en el diámetro medio de fibras (DMF) (Adams y Briegel, 1998). El DMF puede disminuir significativamente bajo condiciones de estrés nutricional (Adams y Briegel, 1998; Sacchero *et al.*, 2011; Easdale *et al.*, 2014). Esta reducción en el DMF puede estar acompañada por una reducción de la resistencia a la tracción (RT) (Adams y Briegel, 1998; Thompson y Hynd, 1998), que afecta la calidad de la fibra ya que genera un punto de rotura potencial durante el procesamiento industrial de la lana (Elvira, 2005). Por otro lado, el ambiente donde se desenvuelve la cría de

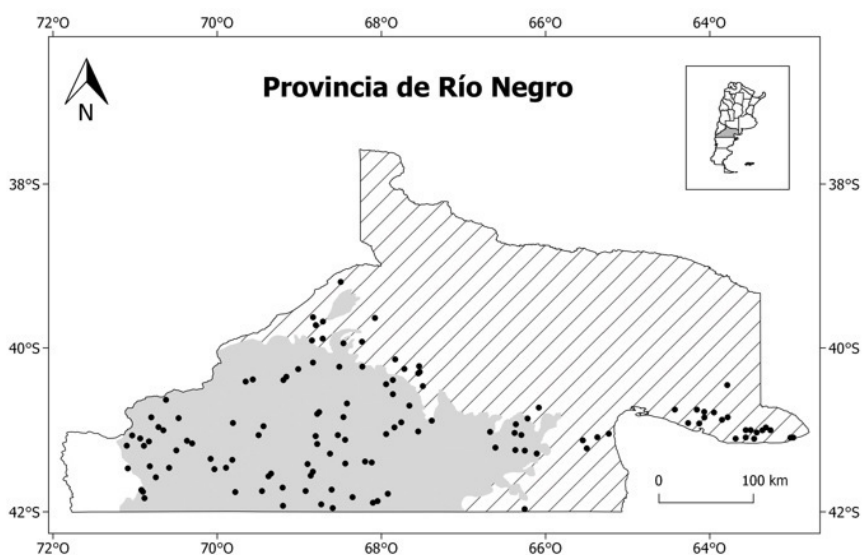
ovinos termina repercutiendo en los contenidos de impurezas y contenidos de materia vegetal (MV) en los vellones (Lance, 2000). Por ejemplo, en regiones con vegetación arbustiva y xerófila, el contenido de materia vegetal (MV), impurezas y tierra en los vellones de los animales aumenta, disminuyendo el rendimiento al peine (RP) (Villagra y Giraud, 2010). Este parámetro es relevante ya que nos permite conocer la cantidad de lana peinada para obtener luego del proceso industrial (Elvira, 2005). Por lo tanto, el ambiente constituye una fuente de variación en la producción y en la calidad de lana.

A pesar de la importancia que tiene la producción ovina para las regiones áridas y semiáridas de la Patagonia, se desconoce la variabilidad de la calidad de lana a escala regional. Teniendo en cuenta la influencia ambiental sobre los parámetros de lana, la heterogeneidad biofísica de la provincia de Río Negro constituye una excelente área de estudio en este sentido. El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros que mejor describan la variabilidad fenotípica de la calidad de lana de establecimientos ubicados en la provincia de Río Negro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio involucra dos regiones naturales de la provincia de Río Negro: i) la Patagonia Extra Andina Occidental (Patagonia Occidental) y ii) Patagonia Extra Andina Oriental (Patagonia Oriental) (figura 1). Ambas regiones abarcan el 92,6% de la superficie provincial (Godagnone y Bran, 2009) y difieren en sus características biofísicas (Bran *et al.*, 2000; Godagnone y Bran, 2009; León *et al.*, 1998).

Se utilizaron registros anuales de análisis comerciales de lana realizados por el Laboratorio de Fibras Textiles



**Figura 1.** Área de estudio en la provincia de Río Negro, Argentina. Líneas diagonales indican la Región Natural Patagonia Oriental y con gris la Región Natural Patagonia Occidental. Puntos negros indican los establecimientos utilizados en el análisis.

INTA Bariloche de ovinos Merino y de esquila preparto bajo metodología del Programa Nacional de Calidad de Lana (PROLANA). Estos análisis se realizaron aplicando métodos de ensayo regulados por la Federación Lanera Internacional (IWTO). Para este estudio, los parámetros de calidad de lana evaluados son: Diámetro Medio de Fibras (DMF), Rinde al Peine (RP), Materia Vegetal (MV), Resistencia a la Tracción (RT) y Largo de Mecha (LM). El DMF es el promedio de los diámetros expresado en micrones ( $\mu\text{m}$ ). El RP (%) es la cantidad de lana peinada para obtener (ej. cantidad de lana expresada como porcentaje de lana sucia) luego del proceso industrial. La determinación del RP (%) requiere primero la cuantificación de la base lana (masa seca de fibras, libre de toda materia vegetal, cenizas y de impurezas insolubles en álcali, expresada como un porcentaje de la masa de la muestra) y el MV (%) (masa seca de núcleos duros, ramitas, semillas y hojas, expresada como un porcentaje de la masa de la muestra). La RT es el promedio de la fuerza necesaria para romper una mecha de lana y se mide en Newton por Kilotex (N/ktex), y el LM (mm) representa el promedio de longitud de las mechas en un lote de lana.

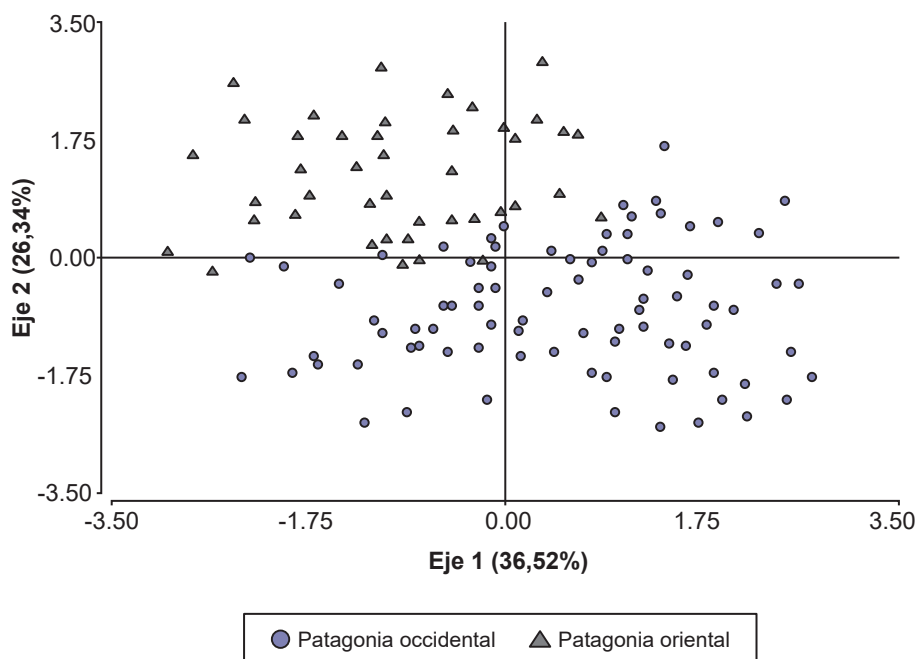
El periodo de estudio contemplado incluyó desde el año 2002 hasta el año 2015 y la unidad de análisis estuvo compuesta por un conjunto de establecimientos ( $n=113$ ) representativos de la provincia de Río Negro basado en los siguientes criterios: a) establecimientos con información georreferenciada ubicados en la provincia de Río Negro, b) ubicados en dos regiones naturales (Patagonia Occidental y Oriental), c) con disponibilidad de datos de al menos 10

años de análisis comerciales, d) que realicen esquila preparto de ovinos Merino bajo metodología PROLANA.

La metodología propuesta estuvo enfocada en realizar un análisis exploratorio del conjunto de datos, por lo tanto se utilizó la técnica estadística multivariada de Componentes Principales. Dado que se trata de un estudio observacional, se realizaron análisis preliminares para la base de datos, se calcularon estadísticos de resumen, se observó la distribución de las variables y se comprobó la presencia de valores atípicos. Teniendo en cuenta que el propósito es realizar un análisis global del periodo estudiado y ante la posibilidad de la presencia de distribuciones marcadamente asimétricas de los parámetros evaluados, se utilizó la mediana como valor representativo para DMF, MV, RT, LM y RP por cada establecimiento. Estos datos se estandarizaron con promedios igual a cero y varianza igual a uno, para asegurar una igual participación de los parámetros en los análisis sin importar su escala de medición. La región natural de origen de los establecimientos participó del análisis en calidad de variable suplementaria, lo que fue un aporte para la interpretación de los resultados. Los análisis se realizaron con software R versión 3.3.3 (R Development Core Team, 2017).

## RESULTADOS

Los primeros dos ejes del análisis de Componentes Principales explicaron el 60,66% de la variabilidad (figura 2). Cada punto representa a un establecimiento y su distribución en el plano factorial se grafica en la figura



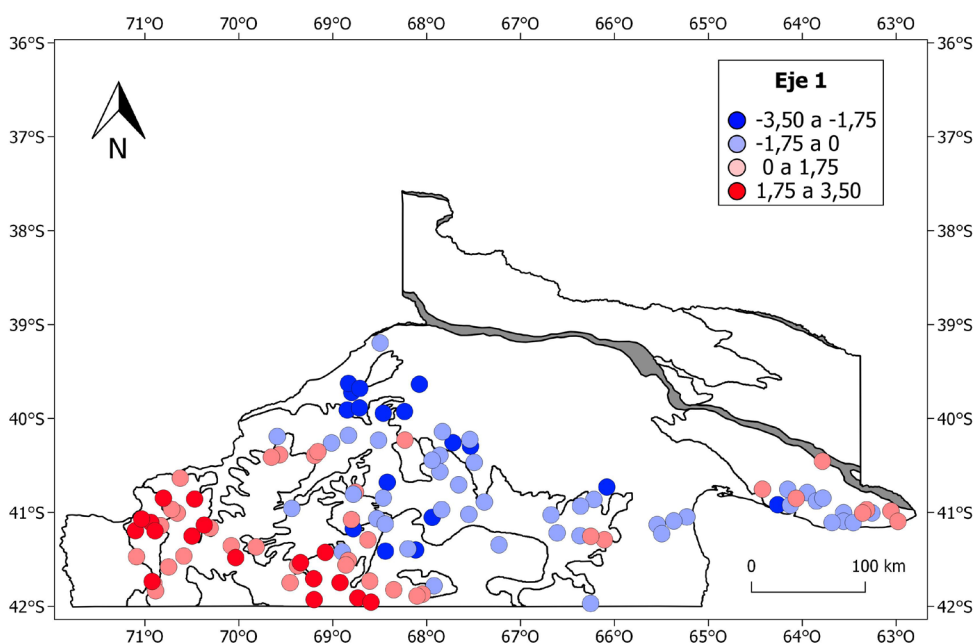
**Figura 2.** Primer plano factorial del análisis de componentes principales. Establecimientos identificados por su región natural. Entre paréntesis se muestran los porcentajes de variancia explicada por cada uno de los ejes.

Región Natural	MV (%)	RP (%)	LM (mm)	RT (N/ktex)	DMF (µm)
	0,8 (0,02)	57,7 (0,2)	88,7 (0,2)	30,8 (0,1)	19,5 (0,03)
Patagonia Occidental	0,7	58	88	31	19,5
	<i>876</i>	<i>876</i>	<i>876</i>	<i>876</i>	<i>876</i>
	2 (0,06)	56,3 (0,2)	89,1 (0,4)	28,1 (0,2)	20 (0,06)
Patagonia Oriental	2,1	56	89	28	20,1
	<i>409</i>	<i>409</i>	<i>409</i>	<i>409</i>	<i>409</i>

**Tabla 1.** Valores promedio, error estándar (entre paréntesis), mediana y número de observaciones (itálica) para los parámetros de lana evaluados en los establecimientos según su región natural: materia vegetal (MV), rinde al peine (RP), largo de mecha (LM), resistencia a la tracción (RT) y diámetro medio de fibras (DMF).

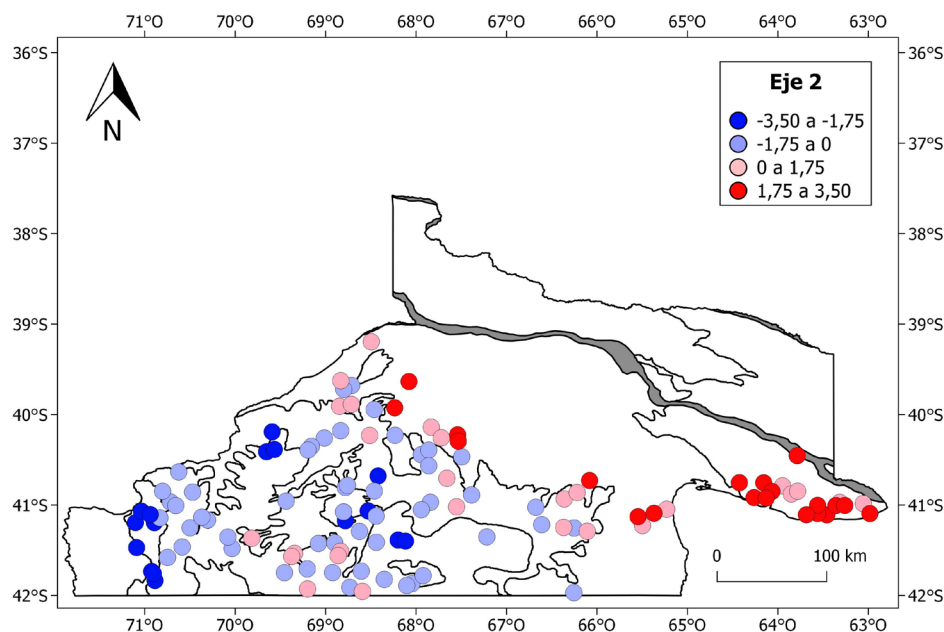
mencionada. Los parámetros más influyentes en la formación de este primer plano factorial que determinaron la ubicación de cada establecimiento en ese plano fueron el RP, RT, MV y DMF. El primer eje explicó un 36,52% de la variabilidad y se encuentra relacionado principalmente con (entre paréntesis se indica la correlación con el respectivo eje): RP (0,84) y RT (0,78). Esto significa que a medida que nos movemos de izquierda a derecha del gráfico, los establecimientos van presentando mayores valores en RP y RT. Mientras que el segundo eje explicó el 26,34% de la variabilidad y se encuentra relacionado fundamentalmente con (entre paréntesis se indica la correlación con el respectivo eje): MV (0,83) y DMF (0,74). Al igual que lo explicado para el eje 1, los valores de MV y DMF van en aumento a medida que nos movemos hacia la parte superior del gráfico.

Al identificar a los establecimientos en el plano factorial según su región natural de origen, se observó que la mayoría de los establecimientos ubicados en la Patagonia Oriental tomaron valores positivos con respecto al Eje 2 mientras que la mayoría de los pertenecientes a la Patagonia Occidental solo tomaron valores negativos. Esta distribución mostró que los establecimientos de la Patagonia Oriental poseen lotes de lana de mayor DMF y MV, respecto de aquellos ubicados en la Patagonia Occidental (tabla 1). A su vez, la mayoría de los establecimientos de la Patagonia Oriental tomaron valores negativos con respecto al Eje 1, lo que indicó lotes de lana con menores porcentajes de RP y RT. Esta variabilidad en la calidad de lana se puede observar geográficamente en las figuras 3 y 4.



**Figura 3.** Representación geográfica del análisis de componentes principales. Establecimientos identificados en colores por sus coordenadas en el eje 1.





**Figura 4.** Representación geográfica del análisis de componentes principales. Establecimientos identificados en colores por sus coordenadas en el eje 2.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La variabilidad de ciertos parámetros de calidad de lana estaría asociada a la ubicación geográfica de los establecimientos. Los parámetros Rinde al Peine, Resistencia a la Tracción, Diámetro Medio de Fibras y Materia Vegetal manifestaron una distribución en forma de gradiente de cambio con orientación oeste-este (figuras 3 y 4). Esta distribución sugeriría que las diferencias biofísicas dentro del área de estudio (León *et al.*, 1998; Bran *et al.*, 2000; Godagnone y Bran, 2009) podrían explicar en parte la variabilidad en la calidad de lana observada. Por ejemplo, la mayor presencia de vegetación arbustiva de estrato medio a alto y la mayor presencia de especies anuales en la Patagonia Oriental (León *et al.*, 1998; Godagnone y Bran, 2009) aumentaría los contenidos de materia vegetal (Lance, 2000; Campbell, 2006) disminuyendo el Rinde al Peine (Elvira, 2005). En este sentido, por un lado, en ambientes contrastantes de Australia también se registran diferencias en el rinde al peine, las cuales se producen principalmente por diferencias en los contenidos de impurezas y materia vegetal (Lance, 2000). Por otro lado, el diámetro medio de fibras y la resistencia a la tracción han demostrado ser sensibles a variaciones en la disponibilidad y calidad de los pastizales (Hynd *et al.*, 1997; Adams y Briegel, 1998; Thompson y Hynd, 1998). Las mayores fluctuaciones en la productividad de los pastizales en la Patagonia Oriental (Easdale y Aguiar, 2012) promoverían mayores variaciones en el diámetro medio de fibras durante el periodo anual de crecimiento (Adams

y Briegel, 1998). Lotes de lana con estas características pueden generar regiones débiles en la mecha provocando mermas en la resistencia a la tracción (Brown *et al.*, 1999 y 2002; Brown y Crook, 2005). Estos resultados sugieren que a pesar de la alta heredabilidad de algunos caracteres productivos para la raza Merino (Mueller, 2010; Mueller *et al.*, 2016) existiría también una fuerte influencia del ambiente sobre la variabilidad en las características de la lana estudiadas.

Este artículo constituye un avance en comprender y describir la variación de la calidad de lana en una amplia área de la provincia de Río Negro. En este sentido, ciertos parámetros de calidad de lana registraron una mayor variabilidad entre los establecimientos. Esta variabilidad da indicios de posibles asociaciones entre algunos parámetros de calidad de lana y la heterogeneidad del ambiente, los cuales debieran estudiarse con mayor detalle a futuro. Los resultados alientan la necesidad de avanzar en una mayor comprensión de la influencia ambiental sobre parámetros de calidad de lana en la Patagonia.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el INTA. Agradecimientos especiales a Priscila Willems, Natalia Pérez León y Joaquín Mueller por sus contribuciones al artículo y apoyo permanente. Al personal del Laboratorio de Fibras Textiles de INTA Bariloche, por su colaboración en los análisis de las muestras.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, N.R.; BRIEGEL, J.R. 1998. Liveweight wool growth responses to a Mediterranean environment in three strains of Merino sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 49: 1187-1193.
- BRAN, D.E.; Ayesa, J.A.; Lopez, C. 2000. Regiones Ecológicas de Río Negro. Comunicación Técnica N.º 59, INTA Bariloche.
- BROWN, D.J.; CROOK, B.J.; PURVIS, I.W. 1999. Genotype and environmental differences in fibre diameter profile characteristics and their relationship with staple strength in Merino sheep. En *Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics* 13: 274-277.
- BROWN, D.J.; CROOK, B.J.; PURVIS, I.W. 2002. Differences in fiber diameter profile characteristics in wool staples from Merino sheep and their relationship with staple strength between years, environments and bloodlines. *Australian Journal of Agricultural Research* 53: 481-491.
- BROWN, D.J.; CROOK, B.J. 2005. Environmental responsiveness of fibre diameter in grazing fine wool Merino Sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 56: 673-684.
- CAMPBELL, A.J.D. 2006. The effect of time of shearing on wool production and management of a spring-lambing merino flock, PhD thesis, Veterinary Science, University of Melbourne.
- EASDALE, M.H.; AGUIAR, M.R. 2012. Regional forage production assessment in arid and semi-arid rangelands—A step towards social-ecological analysis. *Journal of Arid Environments* 83: 35-44.
- EASDALE, M.H.; SACCHERO, D.M.; VIGNA, M.; WILLEMS, P.A. 2014. Assessing the magnitude of impact of volcanic ash deposits on Merino wool production and fibre traits in the context of a drought in North-west Patagonia, Argentina. *The Rangeland Journal* 36: 143-149.
- ELVIRA, M. 2005. Características de lanas Merino e importancia en el procesamiento industrial. En: MUELLER, J.P.; CUETO, M.I. (Eds.). *Actualización en Producción Ovina 2005*. INTA Bariloche, 231-238 pp.
- GODAGNONE, R.E.; BRAN, D.E. 2009. Inventario integrado de los recursos naturales de la provincia de Río Negro: geología, hidrología, geomorfología, suelos, clima, vegetación y fauna. Ediciones INTA, 89-350 pp.
- GOLLUSCIO, R.A.; DEREGIBUS, V.A.; PARUELO, J.M. 1998. Sustainability and range management in the Patagonian steppes. *Ecología Austral* 8: 211-215.
- HALL, S.A.; Paruelo, J.M. 2006. Environmental controls on lambing rate in Patagonia (Argentina): A regional approach. *Journal of Arid Environments* 64: 713-735.
- HYND, P.I.; HUGHES, A.; EARL, C.R.; PENNO, N.M. 1997. Seasonal changes in the morphology of wool follicles in finewool and strongwool Merino Straits grazing at different stocking rates in southern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 48: 1089-1097.
- LANCE, K.J. 2000. A characterisation of Tasmanian wool quality and that of similar wool producing regions on the Australian mainland for the 1991/92 to 1996/97 seasons. (Doctoral dissertation, University of Tasmania).
- LEON, R.J.C.; BRAN, D.; COLLANTES, M.; PARUELO J.M.; SORIANO, A. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral* 8: 125-144.
- MUELLER, J.P. 2010. Progreso genético y evaluación económica de programas de mejora genética. En: MUELLER, J.P.; CUETO, M.I. (Eds.). *Actualización en producción ovina 2010*. INTA Bariloche, 117-139 pp.
- MUELLER, J.P.; GIOVANNINI, N.; BIDINOST, F. 2016. Vientiocho años de mejoramiento genético en una majada Merino comparada con una testigo sin selección. *Revista Argentina de Producción Animal* 36(2): 63-74.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2017. R: a language and environment for statistical computing, version 3.3.3. R Foundation for Statistical Computing. Viena.
- SACCHERO, D.M.; WILLEMS, P.A.; MUELLER, J.P. 2011. Perfiles de diámetro de fibra en lanas parto de ovejas Merino. 2. Estudio comparativo del efecto de estado fisiológico. *Revista Argentina de Producción Animal* 31: 39-50.
- THOMPSON, A.N.; Hynd, P.I. 1998. Wool growth and fibre diameter changes in young Merino sheep genetically different in staple strength and fed different levels of nutrition. *Crop and Pasture Science* 49 (5), 889-898.
- VILLAGRA E.S.; GIRAUDDO, C. 2010. Systemic aspects of sheep production in Río Negro province. *Revista Argentina de Producción Animal* 30: 211-224.

Received May 31st 2019// Accepted August 15th 2019 // Published online July 7th 2021

# Aerobic stability of whole plant corn silage inoculated with a bacterial inoculant in three maturity stages

CAMARASA, J.N.<sup>1,2</sup>; AUIL, M.<sup>3</sup>; BARLETTA, P.<sup>1</sup>; BERETERBIDE, L.<sup>4</sup>

## ABSTRACT

Maturity stage (MS) at harvesting is the most important factor that determines the nutritive value and productivity of corn silage. Once opened, the silage for supply is exposed to oxygen deterioration due to aerobic microbial activity, which could negatively influence the quantity and quality of silage. There are bacterial inoculants containing microorganisms which improve the process of fermentation and the aerobic stability of silage. The aim was to evaluate the effect on aerobic stability produced by a bacterial inoculant in whole plant corn silage at different maturity stages (MS). The experimental design was factorial (n=3). The factors were: inoculated and state of maturity; the first with two levels: control and inoculated and the second with three levels: 25, 35 and 45% MS. The data were analyzed by ANOVA and the comparison of means by the Tukey test (p<0.05). Maize crop was harvested: 25, 35 and 45% dry matter (DM). Chopped material was ensiled in 20 L buckets (six silos/MS), three of them were Inoculated (I) and three were not Control. The interactions between I\*MS were not significant (P>0.05) for all variables. To the evaluated variables, there was no difference (P>0.05) among Inoculated vs. Control treatments. There was a difference (P<0.05) between MS, where 25% DM had higher water-soluble carbohydrates and acetic acid, which allowed greater aerobic stability than with 35 and 45% DM. DM losses with 45% DM treatment had the highest (P<0.05) loss compared to 25 and 35% DM. Results suggested there was no effect of bacterial inoculation but there were effect maturity stages on the aerobic stability of silage. As the harvest is delayed the silage has lower aerobic stability.

**Keywords:** aerobic deterioration, pH, ammonia nitrogen, fermentation products, dry matter losses.

## RESUMEN

*La etapa de madurez (EM) en la cosecha es el factor más importante que determina el valor nutritivo y la productividad del ensilaje de maíz. Una vez abierto el silo para el suministro, se expone al deterioro del oxígeno debido a la actividad aeróbica microbiana, que podría influir negativamente en la cantidad y calidad del ensilaje. Existen inoculantes bacterianos que contienen microorganismos que mejoran el proceso de fermentación y la estabilidad aeróbica del ensilaje. El objetivo fue evaluar el efecto sobre la estabilidad aeróbica de un inoculante bacteriano en ensilaje de maíz de plantas enteras en diferentes etapas de madurez. El diseño experimental fue un diseño factorial (n=3). Los factores fueron: inoculado y estado de madurez; el primero con dos niveles: control e inoculado y el segundo con tres niveles: 25, 35 y 45% MS. Los datos se analizaron*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino, Av. Frondizi (ruta 32) km 4,5 (2700) Pergamino, Buenos Aires. Correo electrónico: camarasa.jonatan@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA). Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales (ECANA).

<sup>3</sup>Actividad Privada.

<sup>4</sup>Universidad Católica Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias.

mediante ANVA y la comparación de medias por la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). La cosecha de maíz fue con: 25, 35 y 45% de materia seca (MS). El material picado se ensiló en cubos de 20 l (seis silos/EM), tres de ellos fueron Inoculados (I) y tres fueron Control. Las interacciones entre I\*EM no fueron significativas ( $P > 0.05$ ) para todas las variables. Para las variables evaluadas, no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos Inoculado vs. Control. Hubo diferencias ( $P < 0.05$ ) entre la EM, donde el ensilaje con 25% MS tenía más carbohidratos solubles en agua y ácido acético, lo que permitió una mayor estabilidad aeróbica que con un 35 y un 45% MS. La pérdida en el ensilaje con 45% MS fue más alta ( $P < 0.05$ ) en comparación con 25 y 35% MS. Los resultados sugirieron que no hubo efecto de la inoculación, pero sí la etapa de madurez afectó la estabilidad aeróbica del ensilaje. A medida que se retrasa la cosecha, el ensilaje tiene menor estabilidad aeróbica.

**Palabras clave:** deterioro aeróbico, pH, nitrógeno amoniacal, productos de la fermentación, pérdidas de materia seca.

## INTRODUCTION

In livestock production regions that have seasonal variations in climate, the production of forages also varies throughout the year depending on rainfall, temperature and day length (Wilkinson and Rinne, 2018). The conservation forages as silage is an important source of nutrients for livestock nutrition because it enables crops to be available for use either throughout the year or in periods of restricted seasonal availability of pasture for the grazing animal (Wilkinson and Davies, 2012). The maize for silage is one of the crops more used because it has the ability to yield relatively high quantities of starch and dry matter per hectare to low-cost (Wilkinson and Rinnie, 2018).

Although there are several factors that determine the nutritive value of corn silage, the maturity stage at harvesting is the major (Johnson *et al.*, 2003). Johnson *et al.* (2002) found that this moment is when the dry matter is 35%. This time to harvest lasts a few days although there are differences between maize hybrids (Camarasa *et al.*, 2013). Silage should not be performed in the optimum moment for different causes such as weather conditions, wet soil and contractor delay.

The main goal in silage is to maintain the original quality of the preserved crop, as much as possible (Wilkinson and Davies, 2012) and for this reason, the absence of oxygen and acidification of the material is needed (McDonald *et al.*, 1991). It is now recognized that there are changes which may occur during the feed-out phase when the silo feed face is open and the material is exposed to air (Wilkinson and Davies, 2012). These changes are called aerobic deterioration beginning when air penetrates silage (Pahlow and Muck, 2009), and it has negative effects on nutritional value (Woolford, 1990) because yeasts assimilate lactic acid, causing the pH to increase. Thus, the microorganisms that were inhibited by low pH begin to proliferate and spoil the silage (Tabacco *et al.*, 2011a). As a result, its nutritional value is reduced owing to loss of fermentation products that are potentially digestible substrates (Whitlock *et al.*, 2000).

Bacterial inoculants containing homofermentative bacteria, such as *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*, have been developed with the purpose of producing lactic acid and reducing the pH quickly (Wilkinson and Davies, 2012). However, these bacteria have also been responsible for reducing aerobic stability in corn silage due to low production of volatile fatty acids that inhibit the fungal activity (Muck and Kung, 1997). For these purposes, bacterial inoculants containing heterofermentative bacteria, such as *Lactobacillus buchneri*, have been developed by improving the aerobic stability of silage (Tabacco *et al.*, 2011b; Wilkinson and Davies, 2012), through the fermentation of lactic acid to acetic acid and inhibition of yeast (Driehuis *et al.*, 2001) and clostridial growth (Tabacco *et al.*, 2011b). Therefore, the aim of this study was to analyze the effects of the use of a bacterial inoculant, with both bacterial types, in whole plant corn silage at different maturity stages on fermentation parameters and on aerobic stability.

## MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at the Pergamino Experimental Station of the National Institute of Agricultural Technology (INTA), Buenos Aires, Argentina (33° 56'S, 60° 34'W; elevation 66 m a.s.l.).

Maize (*Zea Mays*; simple corn hybrid AX 882 HCL/MG) crop and it was harvested at three stages: 25, 35 and 45% dry matter (DM). The DM percentage was performed cut every week from the dough stage, 5 plants were dried for 48 hours at 60°C. During the harvest, 80 plants were collected in each moment and were chopped with a Cibus F Wintersteiger machine. Half of this material was inoculated at a dose of 2 g of product per ton of fresh material with 166.7 ml of distilled water ( $1.5 \times 10^5$  cfu/g of fresh forage) and untreated (the same amount of water was applied to the treatment administered as placebo). The product (Commercial product: SiloSolve® AS, CHR Hansen) that was used to inoculate was a multi-strain inoculant, containing both homofermentative and heterofermentative microor-

ganisms, with a minimum content of not less than  $7.5 \times 10^{10}$  cfu that was composed of *Lactobacillus buchneri*, *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus plantarum*. Chopped material was ensiled in three 20 L buckets (six silos for maturity stage) and sealed. Treatments were constituted: 1) Untreated 25% DM (without additive); 2) Treated 25% DM (with additive); 3) Untreated 35% DM; 4) Treated 35% DM; 5) Untreated 45% DM; 6) Treated 45% DM. Four repetitions were performed at each maturity stage.

The silos were opened after 80 d and three samples were taken to perform: chemical analysis, fermentation quality and aerobic stability. To chemical analysis: a sample of each repetition was taken and a pool was provided for their analysis: DM content was determined by oven drying for 48 h at 60°C, neutral detergent fiber (NDF). Acid detergent fiber (ADF) were analyzed with a modified procedure using sulphite and amylase (Van Soest *et al.*, 1991). Crude protein (CP) was determined by the Kjeldahl method (AOAC 1990) and apparent *in vitro* DM digestibility (IVDMD) by incubation for 36 h in daisy<sup>II</sup> equipment (Van Soest, 1994). The organic acids, water-soluble carbohydrates (WSC), pH and N-NH<sub>3</sub> were analyzed with approximately 250 g of fresh silage at the beginning and when the micro-silos were opened and then at the end of the experiment (after breaking aerobic stability or when the temperature of the silage was 2°C above ambient temperature). The organic acids analyzed were lactic, acetic, propionic and butyric acid. The methodology used was by Gas Chromatography, with orthophosphoric acid 25% in 0.5M sulfuric acid, at 0.5 ml each 2 ml of sample and then centrifuged for 10 minutes at 10.000 rpm (Friggens *et al.*, 1998). The equipment used was Konik 5000B with Robokrom GC auto-sampler.

Aerobic stability is defined as the number of hours that silages maintain temperature before increasing more than 2°C above ambient temperature (Taylor and Kung Jr, 2002; Ranjit and Kung, 2000). The aerobic stability was performed with the methodology proposed by Basso *et al.* (2012). Three kilograms of fresh silage material was placed in a plastic tray 40 cm long and 30 cm wide and 10 cm high. They were incubated in a room at 20°C. The maximum aerobic stability was performed in 12 consecutive days in which the temperature was measured (Digital Thermome-

ter Thermo; -50 to 70°C  $\pm$  1°C) every 6 hours (3 am, 9 am, 15 pm and 21 pm) in the center of the silage mass and ambient temperature near the trays.

### Statistical analysis

Silage data were analyzed in a completely randomized design using InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2018). Significant differences among treatments were calculated by the use of pairwise comparisons with Tukey's test ( $p < 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

The DM percentages of the different silages were within the range goal for each maturity stage (table 1). With respect to chemical analysis, NDF and ADF values were on average  $39.5 \pm 4.4\%$  (mean  $\pm$  standard deviation) and  $21.6 \pm 3.0\%$  respectively, whereas IVDMD averaged  $65.4 \pm 1.0\%$ .

For all variables, interaction inoculated \* maturity stage was not significant (table 2). The treatments inoculated did not have significant differences in none of the variables analyzed before and after rupture of aerobic stability of corn silage (table 2). However, significant differences were observed in some of the variables due to the effect of the maturity stage. The high concentration of acetic acid observed in the untreated treatment probably explains the absence of the effect of inoculant. This agrees with the observation made by Wilkinson and Davies (2012) in which the silages that contain a greater concentration of this acid possess greater aerobic stability. Like none of the variables of the fermentative quality was affected by the treated treatment, mainly, the discussion is going to be about the effect of the maturity stage upon the variables analyzed in the silages.

The concentration of N-NH<sub>3</sub> was similar (table 2) for silage with different maturity stages and shows that the degree of protein breakdown during the fermentation process was low (Wilkinson, 2005). The possible reason for this can be the low temperature reached by the silages (Borreani *et al.*, 2018). Low levels indicate well preserved silages (McDonald *et al.*, 2002). According to Ojeda *et al.* (1991), in well preserved silage the optimal concentration is less than 0.07% of N-NH<sub>3</sub>.

Treatments	Maturity Stage, DM	DM	NDF	ADF	CP	IVDMD
Control	25%	25.1	43.8	24.8	7.3	65.9
	35%	35.4	35.1	19.2	6.9	66.5
	45%	43.2	41.2	21.9	6.6	64.1
Inoculated	25%	25.1	42.9	24.3	7.4	65.5
	35%	35.4	40.9	22.4	6.4	64.4
	45%	43.3	33.1	17.1	6.9	65.9

**Table 1.** Content of dry matter (DM), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude protein (CP) and in vitro dry matter digestibility (IVDMD) of corn silage with or without inoculant and three maturity stages.

The WSC were different in the maturity stages, greater in the silage with 25% DM with respect to 35 and 45% DM, possibly due to a translocation into the grain and subsequent conversion into starch. According to Vieira da Cunha (2009), to achieve well-preserved silages, this must have a concentration of 6-8% WSC. Before the rupture of the aerobic stability, the difference was 98%, whereas after the rupture of the aerobic stability was 153%, between 25 vs 35 and 45% DM.

The concentration of acetic acid was different between the maturity stages before the rupture of aerobic stability (table 2), but it did not have significant differences after the rupture of aerobic stability ( $0.07 \pm 0.04$  %). Silages with 25% DM had the highest concentration of acetic acid, and this difference was 58% compared to 35% DM. In turn, these last showed higher concentration compared to 45% DM, the difference being 44%. According to Filya (2003), corn silage in early maturity stages generates more acetic acid which has antifungal activity. Therefore, probably the high acetic acid concentration observed in 25% DM silages explains the higher aerobic stability thereof. Meanwhile, high levels of acetic acid could be explained by the presence of clostridia, fungi and enterobacteria, which during the initial phase of the fermentation process generates large amounts of acetic acid (Wilkinson and Davies, 2012). The silages with 25% DM in addition to the high concentration of acetic acid, had higher water content, which acts by way of barrier preventing the flow of air into the silage mass. As a result, it would lower the aerobic spoilage due to the lower oxygen concentration in the silage (Wilkinson and Davies, 2012). Filya (2003) found significant differences between the Control and Inoculated treatment with *Lactobacillus buchneri*, but unlike the present study, the concentration of

acetic acid was 1.1 and 2.1%, respectively. The concentration of acetic acid in Control treatment of Filya (2003) was lower with respect to this work and the Inoculated treatment was similar to the Control treatment of this study. Similarly, Nkosi *et al.* (2011) observed low concentration of acetic acid in the Control treatment (0.79%).

The propionic acid was different between the maturity stages before the rupture of the aerobic stability, whereas no significant differences were observed after the rupture of aerobic stability ( $0.06 \pm 0.05$  %). In the maturity stages 25 and 35% DM the propionic acid levels were 85% higher compared to the stage with 45% DM.

The butyric acid before the rupture of the aerobic stability was not detectable and after the rupture of the aerobic stability it was detectable but did not have significant differences between the three states of maturity ( $0.05 \pm 0.02$  %). Probably the initial absence of butyric acid is due to the low pH reached silage. However, once the loss occurred aerobic stability, the pH rises above 4.2, which allows the growth of microbes such as *Clostridium* fermenting the WSC to butyric acid (Muck, 2010).

The lactic acid concentration was different between the maturity stages before the rupture of the aerobic stability. Silages with 25% DM had the highest concentration of lactic acid, and this difference is 29% compared to 35% DM. In turn, the latter showed higher concentration compared to 45% DM silages, the difference being 18%. No effect on the maturity stage in the concentration of lactic acid after the rupture of the aerobic stability was observed. However, for the maturity stage 45% DM, a concentration of 5.3% was observed, while for the other two stages it was not detectable. Silages which have a good fermentation are characterized by predominance of lactic acid

Item	Treatments (T)		Maturity stages (MS)			T	MS	T * MS
	Control	Inoculated	25%	35%	45%			
N-NH <sub>3</sub> before, %	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	$p=0.20$	$p=0.52$	$p=0.32$
N-NH <sub>3</sub> after, %	0.07	0.04	0.05	0.05	0.07	$p=0.08$	$p<0.07$	$p=0.10$
WSC before, %	0.63	0.69	0.99 a	0.54 b	0.46 b	$p=0.31$	$p<0.01$	$p=0.14$
WSC after, %	0.68	0.65	1.11 a	0.44 b	0.44 b	$p=0.51$	$p<0.01$	$p=0.92$
C2 before, %	1.79	1.83	2.63 a	1.66 b	1.15 c	$p=0.79$	$p<0.01$	$p=0.23$
C2 after, %	0.08	0.06	0.09	0.08	0.05	$p=0.20$	$p=0.10$	$p=0.25$
C3 before, %	0.33	0.30	0.37 a	0.37 a	0.20 b	$p=0.38$	$p<0.01$	$p=0.27$
C3 after, %	0.06	0.07	0.09	0.06	0.04	$p=0.70$	$p=0.17$	$p=0.34$
C4 before, %	ND	ND	ND	ND	ND	--	--	--
C4 after, %	0.05	0.05	0.04	0.05	0.07	$p=0.58$	$p=0.18$	$p=0.50$
Lactic acid before, %	8.42	7.86	10.03 a	7.80 ab	6.59 b	$p=0.09$	$p<0.01$	$p=0.47$
Lactic acid after, %	5.54	4.85	ND	ND	5.31	$p=0.84$	--	--

**Table 2.** Effect the treatments and three maturity stages on ammonia nitrogen (N-NH<sub>3</sub>), water-soluble carbohydrates (WSC), acetic acid (C2), propionic acid (C3), butyric acid (C4), lactic acid measured before and after the rupture of aerobic stability. Different letters between columns indicate significant differences ( $P<0.05$ ). ND = not detected

because it reduces the pH of the ensiled mass more rapidly than other acids (McDonald *et al.*, 2002).

The highest pH values the silages were observed with 45% DM, being a 5 to 10% higher with respect to the silages with 25 and 35% DM, respectively (table 3). The silages with 25% DM were 5% higher compared to 35% DM. The pH remained nearly constant in both treatments and at different maturity stages before the rupture of the aerobic stability and consequent increase in temperature. In this experiment, the value remained below 4.2, which according to Kung and Shaver (2001) is beneficial for the proper conservation of the corn silage.

The pH of silage before the rupture of the aerobic stability was higher for the maturity stage 45% DM with respect to the other two stages (8% higher). However, after the rupture of the aerobic stability, silage with lower percentages DM had higher pH values with respect to the stage with 45% DM (38% higher). The pH is an indicator of aerobic deterioration of silage, since the lactic acid is consumed by the yeast and fungi during the exposure to oxygen, thereby permitting the increase thereof (Basso *et al.*, 2012). The higher pH observed in the silage with 25 and 35% DM is probably explained by the greater concentration of WSC in them, which would allow the multiplication of yeasts and fungi with consequent reduced levels of lactic acid.

The average ambient temperature during the experiment was  $22.2 \pm 2.0$  °C (table 4), thus achieving the recommended temperature to assess the aerobic stability of the silage after opening.

The aerobic stability of this experiment was between the values informed by Owen (2002). The silage with 25% DM were more stable with respect to silages with 35 and 45% DM, this difference being 115%. Silages with 25% DM also needed more time to reach the maximum temperature, 110% higher compared the silages with 35 and 45% DM. The maximum temperature reached with 35% DM was 19% (5.5°C) higher compared to the silages with 25 and 45% DM. Silages with 25% DM took longer hours to break the aerobic stability and achieve the maximum temperature. The same was observed by McDonald *et al.* (1991), with lower DM the longer time to break the aerobic stability and achieve the maximum temperature of silage, associated with higher water content thereof. The temperature increase is larger in treatments with higher DM because less heat is required to raise the temperature of the dry material (Wilkinson and Davies, 2012). In addition, when increasing crop maturity there is more concentration of the aspergillus at pre-harvest period (Oldenburg, 1999) and this has a high negative correlation with aerobic stability (Jonsson *et al.*, 1990; Borreani *et al.*, 2018).

Dry matter losses were higher in silages with 45% DM compared with 25 and 35% DM. The greatest loss of dry matter would be associated with undesirable nutrient intake during the storage period prior to the opening of the same silage. The same was observed by Griswold *et al.* (2009), that DM loss increased markedly at higher silage DM concentrations and similar to the average of silages treated with *L. Buchneri* and homofermentative bacteria observed by Wilkinson and Davies (2012).

Item	Treatments (T)		Maturity stages (MS)			T	MS	T * MS
	Control	Inoculated	25%	35%	45%			
pH silage	3.84	3.86	3.85 b	3.68 c	4.03 a	$p=0.45$	$p<0.01$	$p=0.23$
pH before	3.94	4.02	3.87 b	3.90 b	4.20 a	$p=0.31$	$p<0.01$	$p=0.57$
pH after	6.41	6.32	6.63 a	7.38 a	5.08 b	$p=0.75$	$p<0.01$	$p=0.20$

**Table 3.** Effect of the treatments and the three maturity stages on pH before and after the rupture of aerobic stability. Different letters between columns indicate significant differences ( $P<0.05$ ).

Item	Treatments (T)		Maturity stages (MS)			T	MS	T * MS
	Control	Inoculated	25%	35%	45%			
AS, hs	79.3	70.0	116.0 a	59.0 b	49.0 b	$p=0.48$	$p<0.01$	$p=0.37$
Máx. T., hs	88.7	75.3	126.0 a	67.0 b	53.0 b	$p=0.33$	$p<0.01$	$p=0.48$
Máx. T., °C	30.4	29.8	28.6 b	33.7 a	27.9 b	$p=0.47$	$p<0.01$	$p=0.70$
Average T., °C			22.0	21.5	23.3			
DM losses, %	14.5	14.3	13.6b	13.2b	16.5a	$p=0.59$	$p<0.01$	$p=0.99$

**Table 4.** Effect of treatments and maturity state on the aerobic stability (AS), time to reach maximum temperature (Max. T.), maximum temperature, average temperature (Average T.) and loss of dry matter (DM losses). Different letters between columns indicate significant differences ( $P<0.05$ ).

## CONCLUSION

The fermentation parameters and aerobic stability of corn silage were not affected by bacterial inoculation, if there was an effect of maturity stage. At a higher maturity stage there were higher pH levels and loss of dry matter, with less aerobic stability and hours to reach the maximum temperature. So, when the harvest is delayed the aerobic stability of silage is lower.

## REFERENCES

- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA.
- BASSO, F.C.; BERNARDES, T.F.; ROTH, A.P.T.P.; LODO, B.N.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R. A. 2012. Fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41: 7, 1789-1794.
- BORREANI, G.; TABACCO, E.; SCHMIDT, R.J.; HOLMES, B.J.; MUCK, R.E. 2018. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy Sci.* Vol: 101, 5: 3952-3979.
- CAMARASA, J.N.; VELAZCO, J.G.; CATTONI, M.I. 2013. Corn silage: yield, quality and harvest window. III International Symposium on Forage Quality and Conservation. Campinas, Brazil. III: 41: 1-2.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (Available at: <http://www.infostat.com.ar> verified: May 2019).
- DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; WIKSELAAR, P.G. 2001. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Sci.* 56: 330-343.
- FILYA, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *J. Dairy Sci.* 86: 3575-3581.
- FRIGGENS, N.C.; OLDHAM, J.D.; DEWHURST, R.J.; HORGAN, G. 1998. Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage. *J. Dairy Sci.* 1998; 81:1331-1344.
- GRISWOLD, K.E.; CRAIG, P.H.; DINH, S.K. 2009. Relating dry matter density to dry matter loss in corn silage bunker silos in southeastern Pennsylvania. In: BRODERICK, G.A. (ed.). Proceedings of the 15th International Silage Conference, Madison, Wisconsin, 95-96.
- JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; DAVIDSON, D.; MAHANNA, W.C.; SHINNERS, K.; LINDER, D. 2002. Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *J. Dairy Sci.* 85:434-444.
- JOHNSON, L.; HARRISON, J.; DAVIDSON, D.; HUNT, C.; MAHANNA, W.; SHINNERS, K. 2003. Corn silage management: effects of hybrid, maturity, chop length, and mechanical processing on rate and extent of digestion. *J Dairy Sci* 86. 3271-3299 pp.
- JONSSON A., LINDBERG H., SUNDAS S., LI NGVALL P.; LINDGREN S. 1990. Effect of additives on the quality of big bale silages. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 31, 139-155.
- KUNG, L.; SHAVER, R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on Forage.* 3: 1-5.
- MCDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. 2002. *Animal Nutrition*. 6th Edition. Longman, London and New York. 543 p.
- MCDONALD, P.; HENDERSON, A.R.; HERON, S.J. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Marlow UK.
- MUCK, R.E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39: 183-191.
- MUCK, R.E.; KUNG, JR. L. 1997. Effects of silage additives on ensiling. *Silage: Field to Feedbunk*. NRAES-99. Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Ithaca, NY. 187-199.
- NKOSI, B.D.; MEESKE, R.; LANGA, T.; THOMAS, R.S. 2011. Effects of bacterial silage inoculants on whole-crop maize silage fermentation and silage digestibility in rams. *South African Journal of Animal Science*, 41, 4: 350-359.
- OJEDA, F.; CÁCERES, O.; ESPERANCE, M. 1991. *Conservación de forrajes*. La Habana: Ed. Pueblo y Educación. 80 p.
- OLDENBURG, E. 1999. Fungal secondary metabolites in forages: occurrence, biological effects and prevention. Braunschweig, Germany: Landbauforschung Volkenrode 206: 91-109.
- OWEN, T.R. 2002. The effects of a combination of a silage inoculant and a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of whole crop cereal and maize silage. In: GECHIE, L.M.; THOMAS, C. (eds.). Proceedings of the 13th International Silage Conference, Auchincruive, Scotland. 196-197.
- PAHLOW, G.; MUCK, R.E. 2009. Managing for improved aerobic stability. In: BRODERICK, G.A. (ed.). Proceedings of the 15th International Silage Conference, Madison, Wisconsin, 2009, 77-90 pp.
- RANJIT, N.K.; KUNG, L. JR. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* or chemical preservative on the fermentation and stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83, 526-535.
- TABACCO, E.; PIANO, S.; REVELLO-CHION, A.; BOREANNI G. 2011b. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *J. Dairy Sci.* 94: 5589-5598.
- TABACCO, E.; RIGHI, F.; QUARANTELLI, A.; BORREANI, G. 2011a. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inoculant. *J. Dairy Sci.* 94: 1409-1419.
- TAYLOR, C.C.; KUNG, JR. L. 2002. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *J Dairy Sci.* 85: 1526-1532.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY. 476 p.
- VIEIRA DA CUNHA M. 2009. Conservação de forragem. Pesquisador da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) e Doutorando do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da UFRP. 1-26.
- WHITLOCK, L.A.; SIEFERS, M.K.; POPPER, S.; BRENT, B.E.; BOLSEN, K.K. 2000. Effect of surface spoiled silage on the nutritive value of corn silage-based rations. *Kansas State University Agricultural Experimental Station Report of Progress.* 861: 36-38.
- WILKINSON, J.M. 2005. In: *Silage*. Part 6: Assessing silage quality. Chapter 19: Analysis and clinical assessment of silage. Ed. Wilkinson, J.M., Chalcombe Publications, UK. 198-208.
- WILKINSON, J.M.; DAVIES, D.R. 2012. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Sci.* 68: 1-19.
- WILKINSON, J.M.; RINNIE, M. 2018. Highlights of progress in silage conservation and future perspectives. *Grass and Forage Sci.* 73: 40-52.
- WOOLFORD, M.K. 1990. The detrimental effect of air on silage. *J. Applied Microbiology.* 68: 101-116.



Recibido 02 de abril de 2019 // Aceptado 26 de noviembre de 2019 // Publicado online 02 de junio de 2021

# Germinación de dos especies de *Rhynchosia* (Fabaceae) nativas de Argentina central útiles para la restauración productiva de pastizales naturales

MILANO, C.<sup>1</sup>; TIZÓN, F.R.<sup>2</sup>; PELÁEZ, D.V.<sup>1,3</sup>; MARTÍNEZ, L.C.<sup>4</sup>; RIBET, A.<sup>4</sup>

## RESUMEN

Los pastizales naturales del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina) están degradados como resultado del sobrepastoreo y de la expansión de la agricultura, que han generado un fuerte impacto en la biodiversidad e integridad del ecosistema. La restauración productiva propone reincorporar especies nativas a zonas degradadas para restaurar funciones ecológicas claves y a la vez generar beneficios socioeconómicos y productivos. Las leguminosas (Fabaceae) son un grupo funcional particularmente útil ya que presentan múltiples características de interés agronómico, como la capacidad de fijar nitrógeno, la calidad forrajera y su potencial melífero, entre otras. Sin embargo, la información acerca del cultivo y utilización de leguminosas herbáceas nativas del centro de Argentina es prácticamente inexistente. El conocimiento de la dormición seminal en estas especies y de los tratamientos pregerminativos para interrumpirla constituyen un primer paso fundamental para su utilización. El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes tratamientos pregerminativos para la germinación de *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs), dos especies de leguminosas herbáceas nativas con potencialidad para utilizarse en la restauración de pastizales naturales degradados. Los tratamientos ensayados fueron escarificación física manual y mecánica, escarificación térmica por inmersión en agua y por exposición a aire caliente a diferentes temperaturas y escarificación química con ácido sulfúrico. Los resultados obtenidos indican que ambas especies necesitan tratamientos pregerminativos que rompan la cubierta seminal para iniciar la germinación, ya que presentaron porcentajes de dormición seminal física de  $90\pm 5,6\%$  (Rb) y  $60,8\pm 13,5\%$  (Rs). Los tratamientos de escarificación física manual y mecánica fueron efectivos para aumentar el poder germinativo respecto del control en ambas especies. Para Rb también fue efectiva la escarificación térmica por exposición a agua o aire a temperatura constante de 60 y 70 °C por una hora. Para Rs también fue efectiva la escarificación térmica por exposición a agua a temperatura constante de 70 °C por 30 minutos. Discutimos algunas ventajas y desventajas asociadas a los métodos ensayados y proponemos enfatizar en alternativas que sean aplicables a escalas mayores que las experimentales, destacando la escarificación física a través de escarificadores mecánicos y los tratamientos de exposición a aire caliente.

**Palabras clave:** *Rhynchosia bicentrica*, *Rhynchosia senna*, leguminosas, restauración productiva, dormición física, tratamientos pregerminativos.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Agronomía, Bahía Blanca (8000), Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: milanoclara@yahoo.com.ar

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bordenave, Agencia de Extensión Rural (AER) Bahía Blanca, San Andrés 800 (8000), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Agronomía, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires y Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CONICET).

<sup>4</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia.

## ABSTRACT

The natural grasslands of southwestern Buenos Aires province (Argentina) are degraded as a result of overgrazing and the expansion of agriculture, which have generated a strong impact on biodiversity and ecosystem integrity. Productive restoration proposes the reincorporation of native species to degraded areas to restore key ecological functions and at the same time generate socio-economic and productive benefits. Legumes (Fabaceae) are a particularly useful functional group since they have multiple characteristics of agronomic interest, such as their ability to fix nitrogen, their forage quality and their meliferous potential, among others. However, information about the cultivation and use of native herbaceous legumes from central Argentina is practically non-existent. Knowledge on seminal dormancy in these species and the pregerminative treatments needed to interrupt it constitute a fundamental first step for its use. The objective of this study was to evaluate different pregerminative treatments for the germination of *Rhynchosia bicentrica* (Rb) and *R. senna* (Rs), two native herbaceous legumes species with potential to be used in the restoration of degraded grasslands. The treatments tested were manual and mechanical physical scarification, thermal scarification by immersion in water and by exposure to hot air at different temperatures and chemical scarification with sulfuric acid. The obtained results indicate that both species need pregerminative treatments that break the seminal cover to initiate the germination, since they presented percentages of physical seminal dormancy of  $90 \pm 5.6\%$  (Rb) and  $60.8 \pm 13.5\%$  (Rs). The manual and mechanical physical scarification treatments were effective to increase the germinative power with respect to the control in both species. For Rb, thermal scarification by exposure to water or air at constant temperature of 60 and 70°C for one hour was also effective. For Rs, thermal scarification was also effective by exposure to water at constant temperature of 70°C for 30 minutes. We discuss some advantages and disadvantages associated with the tested methods and we propose to emphasize alternatives that are applicable to scales greater than the experimental ones, highlighting the physical scarification through mechanical scarifiers and hot air exposure treatments.

**Keywords:** *Rhynchosia bicentrica*, *Rhynchosia senna*, legumes, productive restoration, physical dormancy, pregerminative treatments.

## INTRODUCCIÓN

Los pastizales naturales del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, al igual que los de otras zonas áridas y semiáridas de Argentina, están degradados como resultado del sobrepastoreo y de la expansión de la agricultura a zonas de baja o nula aptitud agrícola (Krüger *et al.*, 2013) y han perdido una parte importante de su biodiversidad original (Distel, 2016). Esta situación afecta tanto a la integridad del ecosistema como a la principal actividad productiva de la región, que es la cría de ganado vacuno sobre pastizales naturales (Peláez, 2012). La restauración productiva prioriza la reintroducción de aquellas especies nativas que además de valor ecosistémico tengan un valor socioproductivo, promoviendo al mismo tiempo la conservación y el valor comercial, productivo y sociocultural del paisaje (Ceccon, 2013). Los miembros de la familia Fabaceae (leguminosas) son un grupo funcional clave para la restauración ya que además de enriquecer las comunidades vegetales y mejorar la oferta forrajera permiten recuperar fertilidad a través del proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN), por lo que son estudiadas en diversas partes del mundo (Basconsuelo *et al.*, 2013).

Los reportes de la abundancia histórica de leguminosas en pastizales del sudoeste bonaerense son escasos y anecdóticos (por ejemplo, Holmberg, 1884). Sin embargo,

hay estudios que indican que las gramíneas forrajeras eran dominantes en los pastizales semiáridos de esta región (Gallego *et al.*, 2004). El sobrepastoreo modificó la abundancia relativa de las especies, desplazando la comunidad hacia un estado con dominancia de especies no palatables (Distel, 2016). Si el pastoreo excesivo sobre gramíneas palatables provocó su reducción casi total en estos pastizales, es probable que lo mismo haya ocurrido con grupos igualmente o más palatables, como las leguminosas.

La información disponible sobre el cultivo de especies nativas es escasa, particularmente para zonas áridas y semiáridas (Beider, 2012). Muchas de las semillas silvestres de estas especies presentan dormición seminal, que consiste en estados fisiológicos o morfológicos particulares que evitan la germinación prematura o en condiciones desfavorables (Fenner y Thompson, 2005). Las leguminosas se caracterizan por presentar dormición seminal física (Baskin y Baskin, 2014), con grados variables dependiendo de las condiciones ambientales a las que estuvo sometida la planta madre durante el desarrollo de las semillas (Baskin y Baskin, 1998). Además de la dormición física, existen otros tres tipos de dormición que se presentan en leguminosas de importancia agropecuaria y son la dormición embrionaria, la impuesta por los frutos y la imbibición lenta (Taylor, 2005). La ruptura de la dormición física se da cuan-

do las condiciones ambientales o los tratamientos pregerminativos generan la ruptura de la capa impermeable que rodea a la semilla (Baskin y Baskin, 2000). En la naturaleza, los factores que inducen la interrupción de la dormición incluyen temperaturas altas o ampliamente fluctuantes, fuego, desecación, congelamiento y descongelamiento y el paso por el tracto digestivo de animales (Baskin y Baskin, 1998). Cuando se desea cultivar una especie, la dormición seminal debe interrumpirse para que la semilla pueda germinar en el momento deseado y esto se logra a través de la aplicación de tratamientos pregerminativos (Varela y Aparicio, 2011) o mediante un proceso de selección dirigida de mediano plazo. La segunda opción, sin embargo, presenta una desventaja para la planta, ya que pierde a la dormición seminal como estrategia de supervivencia. Después del primer año y una vez establecido el cultivo, especialmente si se trata de una pastura perenne, la dureza de la cubierta seminal es de extrema importancia para el mantenimiento de un banco de semillas activo, cuya estabilidad en el tiempo es mantenida por la resiembra natural (Medeiros y Nabinger, 1996 *vide* Dias *et al.*, 2004).

*Rhynchosia* Lour. es un género con aproximadamente 230 especies (Sprent y Gehlot, 2010), con al menos 52 especies nodulantes (De Faria *et al.*, 1989) y 8 especies presentes en Argentina (Cabrera y Añón Suárez, 1967). En el centro de Argentina habitan dos de estas especies, *Rhynchosia bicentrica* B.L. Turner y *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. Son hierbas perennes, trifoliadas, de desarrollo primavera-verano y crecimiento postrado o postrado-ascendentes, de entre 20 y 100 cm. *R. bicentrica* es nativa tanto en Norteamérica, donde ocurre en México como especie poco frecuente, como en Sudamérica (Turner, 2012), en el sur de Brasil, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Argentina, hasta el SO de la provincia de Buenos Aires, creciendo en pastizales, campos secos y cultivos (Mas *et al.*, 2010), especialmente presente en las zonas serranas de la provincia de Buenos Aires. *R. senna* además se encuentra presente en Ecuador, Perú, México y el sur de Estados Unidos (Groom, 2012). Habita una gran variedad de hábitats incluyendo campos y pastizales en La Pampa, suelos secos o arenosos (Groom, 2012), y pasturas cultivadas. Rebrotan a fines de octubre, florece en noviembre y fructifica de diciembre a finales de febrero, permaneciendo verde todo el verano y entrando en reposo en abril (Chirino *et al.*, 1988; Fagúndez *et al.*, 2016). Ambas especies son forrajeras (Chirino *et al.*, 1988; Izaguirre, 2005), melíferas (Fagúndez *et al.*, 2016) y medicinales (Martínez-Crovetto, 1968; Orfila y Farina, 2002; Goleniowski *et al.*, 2006; Toribio *et al.*, 2007; Martínez-Crovetto, 2014; Scarpa *et al.*, 2016). Estas características, sumadas a una abundante producción de semilla, el modelo arquitectural que poseen y el éxito en el establecimiento de las plántulas hacen que sean adecuadas para la restauración de áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002). A pesar de la utilidad potencial de estas dos especies para restauración, la información acerca de sus características agronómicas (Porta Siota *et al.*, 2018a) y aspectos básicos para su utilización, tales como la existencia de dormición seminal, es limitada (Porta Siota *et al.*, 2018b); mientras que no hay trabajos que comparen

tratamientos pregerminativos para optimizar su germinación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la germinación bajo distintos tratamientos pregerminativos de *R. bicentrica* y *R. senna*, leguminosas herbáceas nativas del sudoeste bonaerense con potencialidad para la restauración productiva de pastizales naturales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *Rhynchosia bicentrica* y *R. senna* se recolectaron entre diciembre del 2014 y enero del 2016, en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina (tabla 1). Para los ensayos de germinación se seleccionaron semillas en buen estado y se desinfectaron con NaOCl al 1% durante cinco minutos (Alí *et al.*, 2011), enjuagando posteriormente cinco veces con agua. Luego de aplicar los tratamientos pregerminativos, las semillas se colocaron en cajas de Petri con de 0,5 cm de arena esterilizada y humedecida debajo, y se llevaron a cámara de germinación con condiciones controladas, rociándose con una solución de fungicida de oxiclورو de cobre (polvo mojable Bordeles, GRHESA) únicamente cuando se observó el desarrollo de hongos. El fotoperiodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y la temperatura fue constante de 25 °C durante todos los ensayos.

Se realizaron tres ensayos de germinación; en el primero se evaluaron semillas de *Rhynchosia senna* provenientes de BAH 1, BAH 2, TOR y SAA (tres réplicas de 30 semillas) y de *R. bicentrica* provenientes de TOR y SAA colectadas (tres réplicas de 20 semillas), todas colectadas en la temporada de crecimiento 2014/2015. Las semillas de la misma especie que fueron colectadas en sitios diferentes se mezclaron para neutralizar la potencial variabilidad debida al sitio de colecta. En el segundo y tercer ensayo se utilizaron semillas de *R. senna* colectadas en BAH 3 y de *R. bicentrica* colectadas en PUA (cuatro réplicas de 25 semillas), todas colectadas en enero de 2016 (tabla 1). Las semillas se limpiaron manualmente descartando los restos de frutos y follaje, desechando las semillas que estaban dañadas o vacías. Luego se almacenaron hasta su utilización en sobres de papel, en ambiente seco y a temperatura ambiente. El primer ensayo se inició el 12/06/2015, el segundo el 10/03/2016 y el tercero el 30/09/2015, habiéndose iniciado todos los ensayos entre 2 y 8 meses después de la colecta de las semillas, garantizando que no perdieran viabilidad por el tiempo de almacenamiento. El diseño fue completamente aleatorizado en todos los casos.

Los tratamientos pregerminativos del primer ensayo se definieron en función de lo indicado por la bibliografía para las especies emparentadas *R. capitata* (Alí *et al.*, 2011) y *R. minima* (Shaukat y Burhan, 2000; Madueño-Molina *et al.*, 2006), ya que no hay datos reportados sobre germinación de *R. bicentrica* ni *R. senna*. Los tratamientos de los ensayos siguientes se definieron en función de los resultados obtenidos en los ensayos previos. En cada uno se evaluó un control por especie y los tratamientos de escarificación física, química o térmica (tabla 2), que se describen a continuación:

Sitio de colecta	Fecha de colecta	Partido	Latitud	Longitud	Especie
BAH 1	06/12/2014	Bahía Blanca	38°41'50.84"S	62°14'34.17"O	Rs
BAH 2	08/12/2015	Bahía Blanca	38°35'28.49"S	62°05'13.37"O	Rs
TOR	08/04/2015	Tornquist	38°05'02.45"S	61°57'10.69"O	Rb y Rs
SAA	21/04/2015	Saavedra	37°54'23.86"S	62°09'49.76"O	Rb y Rs
BAH 3	12/01/2016	Bahía Blanca	38°24'16.43"S	62°49'03.94"O	Rs
PUA	13/01/2016	Puán	37°36'47.66"S	62°28'00.79"O	Rb

**Tabla 1.** Sitios y fechas de colecta de las semillas de *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs) utilizadas en los ensayos de germinación.

**Escarificación física manual (FMa):** desgaste de las semillas con lija N.º 100 hasta el momento en que se observa claramente el endosperma de la semilla (más claro que la cubierta). El desgaste se realizó en el lado opuesto a la micrópila para no dañar al embrión.

**Escarificación física mecánica (FMe):** desgaste con esscarificadora (tubo hueco forrado con lija N.º 100 por dentro, con un cilindro central giratorio también forrado con lija). Las semillas se introdujeron en el espacio entre las dos lijas y se esscarificaron al girar el cilindro central, dando 5 giros completos al cilindro central.

**Escarificación química con ácido sulfúrico (Qca):** las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico sin diluir (pureza 95-98%) durante 1 hora, agitándolas con una varilla de vidrio. Luego se colaron, lavándolas inmediatamente con agua corriente para cortar el efecto del ácido en el tiempo

estipulado. Se las enjuagó reiteradamente hasta conseguir pH neutro.

**Escarificación térmica por inmersión con temperatura inicial controlada (ITi):** se realizó en vasos de precipitado de vidrio, de 500 ml de capacidad y 8 cm de diámetro, con 400 ml de agua caliente por vaso. Se utilizaron cuatro temperaturas iniciales para este tratamiento (40, 50, 60 y 70 °C), manteniendo luego las semillas sumergidas durante 24 horas.

**Escarificación térmica por inmersión a temperatura constante (ITc):** se realizó en termos precalentados, chequeando la temperatura al iniciar y terminar el tratamiento y manteniendo las semillas sumergidas a 50, 60 y 70 °C durante 1 hora.

**Escarificación térmica por exposición a aire caliente (ACa):** las semillas fueron dispuestas en cajas de Petri dentro de estufas precalentadas a 50, 60 y 70 °C durante 1 hora.

	Rhynchosia bicentrica	Rhynchosia senna
<b>Ensayo 1</b>	FMa	FMa
	ITc (80 °C por 10 min)	Qca (60 min)
		ITc (70 °C por 30 min) y (80 °C por 10 min)
<b>Ensayo 2</b>	FMa	FMa
	FMe	FMe
	ITi (40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas)	ITi (40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas)
<b>Ensayo 3</b>	ITc (50, 60 y 70 °C por 1 hora)	ITc (50, 60 y 70 °C por 1 hora)
	ACa (50, 60 y 70 °C por 1 hora)	ACa (50, 60 y 70 °C por 1 hora)

**Tabla 2.** Tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de *Rhynchosia bicentrica* y *R. senna* en el primer, segundo y tercer ensayo de germinación. FMa: esscarificación física manual; FMe: esscarificación física mecánica; Qca: esscarificación química con ácido sulfúrico, ITi: esscarificación térmica por inmersión con temperatura inicial controlada; ITc: esscarificación térmica por inmersión a temperatura constante y ACa: esscarificación térmica por exposición a aire caliente.

Para todos los ensayos el recuento de semillas germinadas se realizó cada tres días y la finalización del ensayo estuvo determinada por el momento en que la curva de germinación acumulada se volvió asintótica (entre 30 y 45 días según la especie). Se registró el número de semillas germinadas por caja de Petri y se utilizó como criterio de germinación la emergencia de la radícula. De las semillas no germinadas al finalizar el ensayo se registró cuántas aún estaban sin embeber, lo cual se evidencia por una mayor dureza y un tamaño significativamente menor (Franke y Baseggio, 1998), y cuántas embebidas.

El análisis estadístico se realizó utilizando INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016) y la decisión de aceptación o rechazo se tomó en todos los casos al 5%. El supuesto de normalidad se puso a prueba utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks modificada y la homoscedasticidad, utilizando la prueba de Levene. Los datos del primer ensayo y la comparación entre controles del segundo y tercer ensayo para Rs se analizaron mediante ANOVA siguiendo un diseño completamente al azar y cuando este resultó significativo, las medias se compararon mediante el test de Tukey. Los datos del segundo y tercer ensayo, que no son homoscedásticos, se analizaron utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los valores presentados representan las medias  $\pm$  desvío estándar.

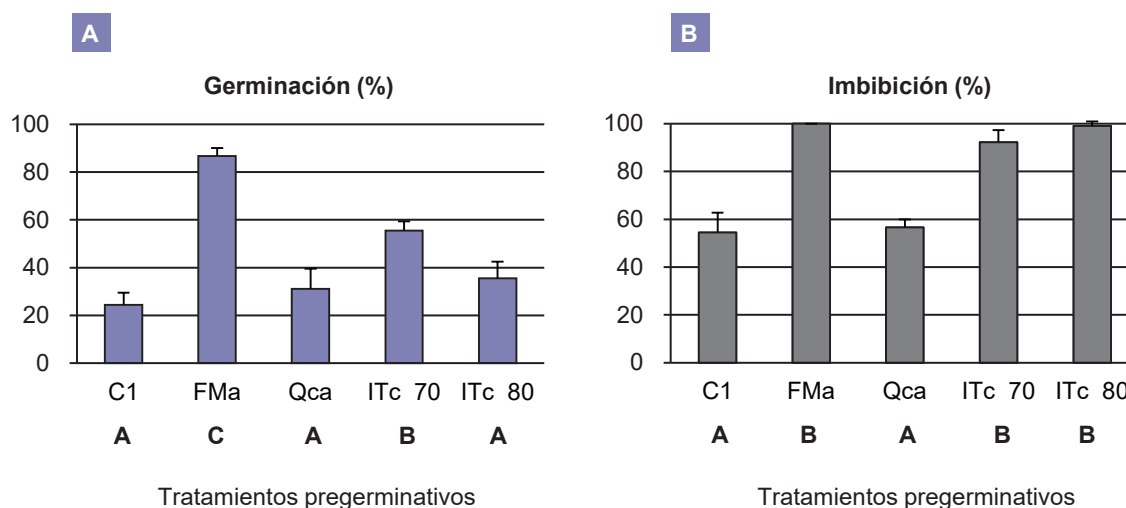
## RESULTADOS

Para *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs) se registró un porcentaje de semillas dormantes, es decir, no embebidas en los controles, mayor al 45%. El porcentaje de semillas dormantes fue mayor en todos los ensayos en Rb (85 a 93%) que en Rs (46 a 70%). El porcentaje de germinación (PG) de las semillas tratadas con escarificación física manual fue siempre mayor que el de las semillas control y tuvo el mayor valor absoluto de PG en ambas especies para los ensayos donde se evaluó (Rb:  $83,33 \pm 11,55\%$

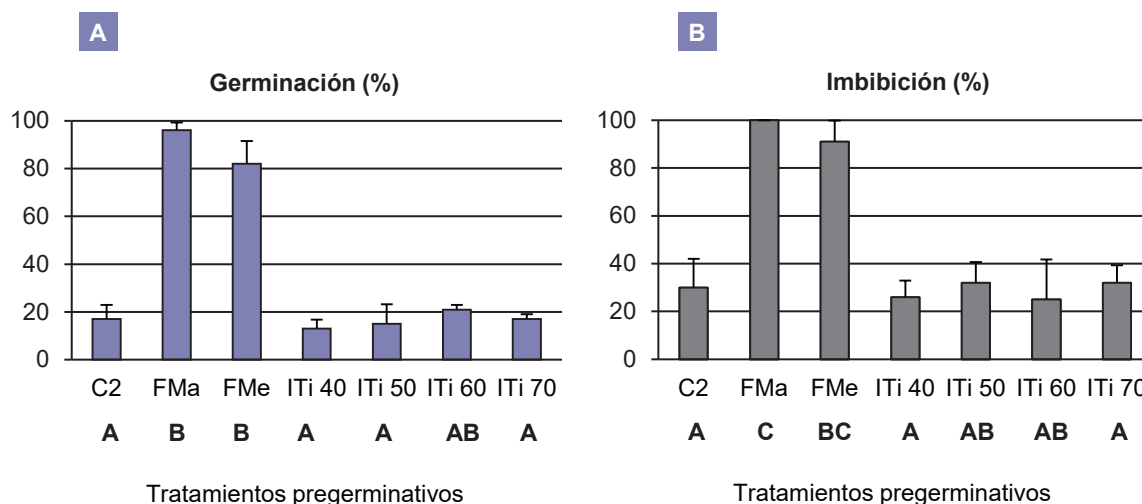
en el primer ensayo,  $95 \pm 7,57\%$  en el segundo, fig. 4A; Rs  $86,67 \pm 3,33\%$  en el primer ensayo,  $96 \pm 3,27\%$  en el segundo, figs. 1A y 2A). La escarificación química, puesta a prueba solo en *R. senna*, no resultó diferente al control con el tiempo y concentración testeados (fig. 1).

### *Rhynchosia senna*

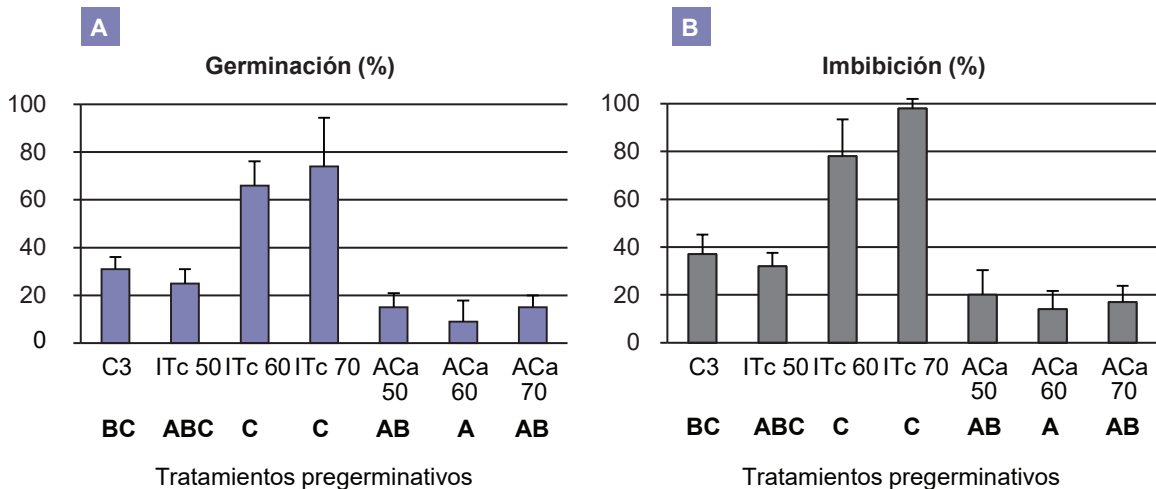
En el primer ensayo se observaron PG mayores al del control en los tratamientos FMa y ITc 70 °C/30 min, obtenidos



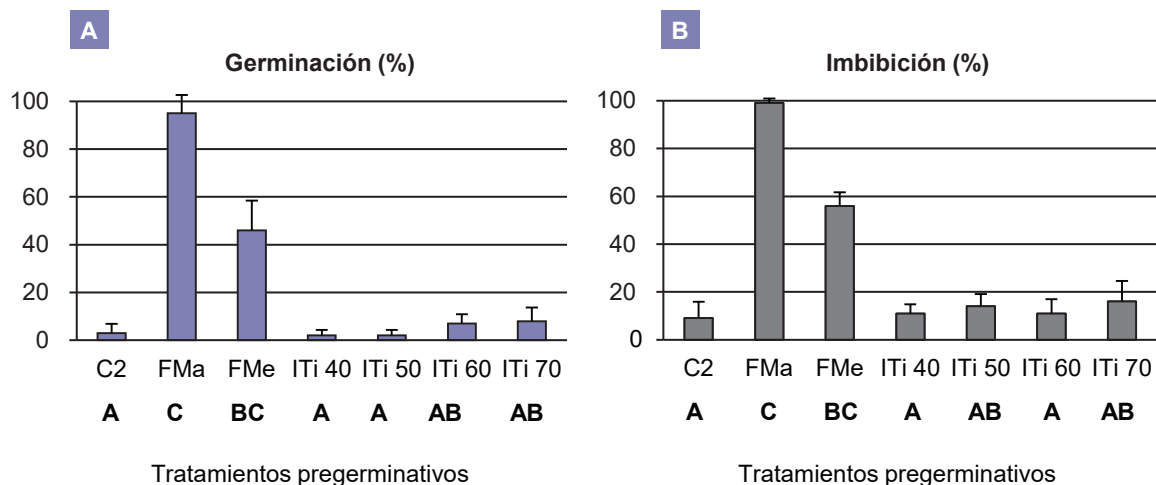
**Figura 1.** *Rhynchosia senna*, ensayo 1. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (1A) e imbibición (1B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C1), escarificación física manual (FMa), química (Qca) y térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) de 70 °C por 30 min y 80 °C por 10 min. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** *Rhynchosia senna*, ensayo 2. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (2A) e imbibición (2B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C2), escarificación física manual (FMa) o mecánica (FMe) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (ITi) de 40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** *Rhynchosia senna*, ensayo 3. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (3A) e imbibición (3B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C3), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) o por exposición a aire caliente (ACa) a 50, 60 o 70 °C por una hora. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.** *Rhynchosia bicentrica*, ensayo 2. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (4A) e imbibición (4B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C2), escarificación física manual (FMa) o mecánica (FMe) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (ITi) de 40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

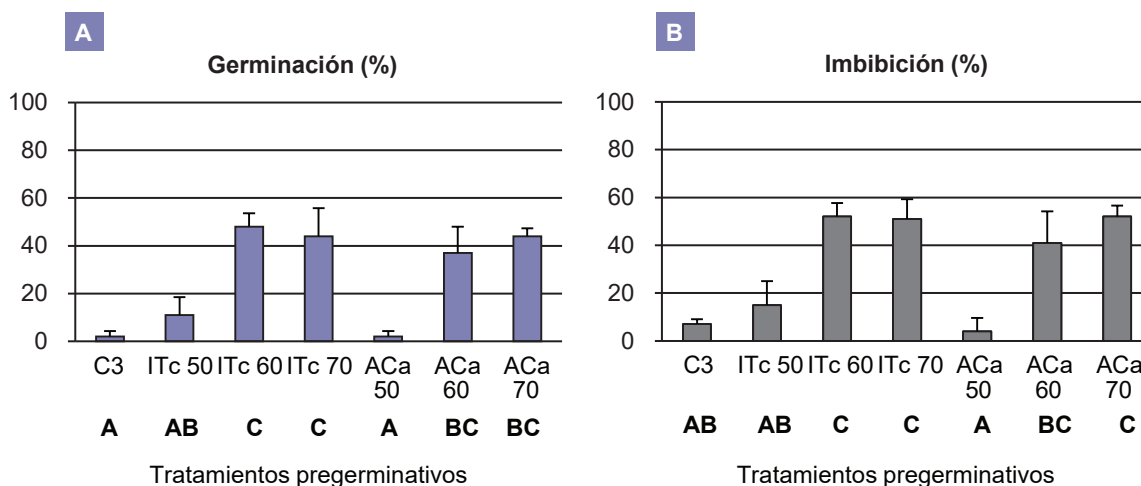
niendo a su vez PG mayores con FMa que con ITc 70 °C/30 min (fig. 1A). El porcentaje de imbibición (PI) fue mayor al del control en FMa, ITc 70 °C/30 min y 80 °C/10 min (fig. 1B).

En el segundo ensayo los tratamientos, por un lado, de escarificación física (FMa y FMe) también tuvieron PG y PI mayores al control, mientras que los demás tratamientos no se diferenciaron del control (fig. 2). En el tercer ensayo, ITc 60 y 70 tuvieron PG y PI mayores a los tratamientos de exposición a aire caliente e iguales al control (fig. 3). Aunque la diferencia solo fue significativa para ACa 60,

se observó una tendencia a que los tratamientos de exposición a aire caliente redujeran el PG y el PI respecto al control (fig. 3). Por otro lado, el tratamiento control de Rs del segundo ensayo tuvo un PG menor ( $p < 0,01$ ) que el del tercer ensayo.

#### **Rhynchosia bicentrica**

En el primer ensayo se observaron PG mayores a los del control ( $1,67 \pm 2,89\%$ ) en los dos tratamientos evaluados



**Figura 5.** *Rhynchosia bicentrica*, ensayo 3. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (5A) e imbibición (5B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C3), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) o por exposición a aire caliente (ACa) a 50, 60 o 70 °C por una hora. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

(FMa:  $83,33 \pm 11,55\%$ , ITc 80 °C/10 min:  $45 \pm 13,23\%$ ), que a su vez difirieron entre sí. El porcentaje de imbibición (PI), en cambio, fue equivalente para los dos tratamientos (FMa:  $100 \pm 0,0\%$ , ITc 80 °C/10 min:  $85 \pm 10\%$ ), que difirieron del control ( $15 \pm 5\%$ ) (datos no mostrados).

En el segundo ensayo, tanto el PG como el PI aumentaron para las semillas sometidas a tratamientos de escarificación física (FMa y FMe) y fueron iguales al control para los demás tratamientos (fig. 4). En el tercer ensayo las temperaturas de 60 y 70 °C fueron efectivas para promover la imbibición y la germinación, tanto cuando se aplicaron mediante agua (ITc 60 y 70) como mediante aire caliente (ACa 60 y 70) (fig. 5). En estos dos últimos ensayos, los PI obtenidos fueron solo levemente mayores que los PG del mismo tratamiento (figs. 4 y 5).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran la necesidad de aplicar tratamientos pregerminativos a las dos especies estudiadas, ya que la mayoría de las semillas mostraron dormición seminal física (en promedio, 60% en *R. senna* y 90% en *R. bicentrica*), tal como se ha reportado para otras especies de leguminosas nativas (Do Canto *et al.*, 2013). Los tratamientos de escarificación física fueron efectivos para lograr la ruptura de la cubierta seminal en ambas especies, resultando en PG de entre  $82 \pm 9,52\%$  y  $96 \pm 3,27\%$  para *R. senna* y de entre  $46 \pm 12,44\%$  y  $95 \pm 7,57\%$  para *R. bicentrica*. La escarificación térmica a temperatura constante por exposición a aire o agua a 60 y 70 °C por una hora también fue efectiva para romper la dormición en *R. bicentrica*. Para *R. senna*, la escarificación térmica a temperatura constante por exposición a agua a 60 y 70 °C por una hora resultó en PG de más del doble que el control ( $31 \pm 5,03\%$  frente a  $66 \pm 10,07\%$  de ITc 60° y  $74 \pm 20,26\%$  de ITc 70°), aunque

esta diferencia no fue significativa, probablemente debido a la prueba no paramétrica utilizada. La ineffectividad del tratamiento de escarificación por exposición a aire caliente en *R. senna* en comparación con *R. bicentrica* podría deberse a diferencias en las estructuras de las semillas que intervienen en la mantención de la dormición física, las cuales son variables para distintas especies de plantas (Baskin *et al.*, 2000).

Los tratamientos de escarificación térmica mostraron, a través del porcentaje de las semillas embebidas que efectivamente germinan y las que no lo hacen, que a pesar de que a mayor temperatura hay mayor ruptura de la dormición física, hay una temperatura máxima que pueden tolerar las semillas para mantenerse viables. El tratamiento ITc 80 °C/10 min aplicado a *R. senna* produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición del 99% de las semillas, pero solo el 36% de estas semillas embebidas germinaron (fig. 1). El tratamiento de FMa también produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición del 100% de las semillas, pero en este caso germinaron el 87% de las semillas embebidas (fig. 1). Asimismo, en el primer ensayo para *R. bicentrica*, el 83% de las semillas embebidas sometidas a FMa germinaron, mientras que solo el 53% de las sometidas a ITc 80 °C/10 min lo hicieron. Estos elevados valores de semillas que se embebieron pero no germinaron en el tratamiento de ITc 80 °C/10 min indicarían que la temperatura constante de 80 °C resulta excesivamente alta y perjudicial para el embrión (Franke y Baseggio, 1998).

Por un lado, con la excepción de los tratamientos de escarificación térmica con temperaturas elevadas (80 °C) los porcentajes de imbibición obtenidos fueron solo levemente mayores que los porcentajes de germinación. Esto, junto con los porcentajes de germinación cercanos a 90% obtenidos para ambas especies con el tratamiento de escarificación física manual, indica que la viabilidad de las semillas utilizadas fue alta y que no presentan otro tipo

de dormición. Por otro lado, resulta interesante destacar la diferencia en el PG obtenido para los controles del segundo y tercer ensayo de *R. senna*, aun cuando el lote de semillas utilizado fue el mismo y la diferencia de tiempo entre la fecha de inicio de los ensayos fue de 6 meses. El aumento de un PG de  $17\pm 6\%$  en el segundo ensayo a uno de  $31\pm 5,03\%$  en el tercero podría reflejar un proceso de maduración del embrión desde el momento de la cosecha. Esto ha sido reportado para *Piptochaetium napostaense* y *Nassella tenuis*, dos especies de la misma región de estudio cuyo porcentaje de semillas dormantes disminuye con el paso del tiempo al ser almacenadas a temperatura ambiente en laboratorio o en condiciones de campo (Distel *et al.*, 1992). Según los autores, este comportamiento germinativo de *P. napostaense* y *N. tenuis* puede constituir una adaptación ecológica para evitar la germinación inmediata luego de la fructificación, evitando la pérdida de plántulas por exposición a las altas temperaturas y sequías típicas del verano en la zona de estudio.

Para *R. senna* también se han reportaron PG elevados para semillas escarificadas (mayores a 80%) y significativamente menores para el control (menores a 22%), sin diferencias entre las condiciones de temperatura y luz evaluadas (Porta Siota *et al.*, 2018b). Aunque en la bibliografía no abundan los datos sobre germinación de *Rhynchosia bicentrica* ni *R. senna*, sí los hay sobre las especies emparentadas *R. capitata* y *R. minima*, ambas con características biológicas, morfológicas y ecológicas en común con *R. bicentrica* y *R. senna*. Alí *et al.* (2011) obtuvieron los mejores PG para *R. capitata* mediante la escarificación física y escarificación química ( $H_2SO_4/60$  a 80min, seguida por HCl/15h), lo cual coincide solo parcialmente con lo encontrado en este estudio. Madueño-Molina *et al.* (2006) observaron una respuesta positiva a la escarificación química ( $H_2SO_4/30$  a 60 min), obteniendo resultados similares al aplicar aire caliente ( $70\text{ }^\circ\text{C}/5\text{ h}$ ) en *R. minima*, de lo cual se deduce que tal vez el problema de los tratamientos de escarificación térmica por exposición a aire caliente aplicados en este estudio sea un tiempo insuficiente de exposición, ya que solo se mantuvieron en estufa por una hora. Shaukat y Burhan (2000) encontraron para *R. minima* que la escarificación física fue más efectiva que la escarificación química con HCl. La inmersión en agua caliente ( $100\text{ }^\circ\text{C}$ ) y el calor seco ( $50\text{ }^\circ\text{C}$  y  $70\text{ }^\circ\text{C}$ ) dieron resultados similares a las del ácido clorhídrico. Según estos autores, en condiciones de campo, el calor seco del verano aparentemente rompería la dormición seminal.

El tratamiento de escarificación física manual, que resultó efectivo para ambas especies, solo es aplicable a escala experimental, ya que implica el lijado manual de cada semilla. Con el tratamiento de escarificación mecánica se obtuvieron porcentajes de germinación levemente menores aunque estadísticamente equivalentes, y este método presenta la ventaja de permitir el procesamiento de un número de semillas mayor. Por lo tanto, para ambas especies se sugiere la utilización del tratamiento de escarificación física con escarificadoras de semillas, adaptando las existentes en el mercado. La utilización de escarificadoras mecánicas para romper la dormición seminal resulta ventajosa frente

a los procesos de selección de semillas de cubierta blanda. Esto se debe a que no solo es un proceso más rápido, sino que también permite a la especie cultivada mantener una característica que le representa una ventaja para la germinación en momentos propicios y el mantenimiento de un banco de semillas activo natural (Medeiros y Nabinger, 1996 *vide* Dias *et al.*, 2004). Esta característica es de un interés tal que en algunas especies se ha intentado incrementar el porcentaje de semillas dormantes intencionalmente por selección, (Taylor, 2005), especialmente en ambientes con alta variabilidad climática como es el sudoeste bonaerense (Campo de Ferreras *et al.*, 2004).

La escarificación química no fue efectiva para los tiempos evaluados en este estudio y puede presentar riesgos operacionales para los trabajadores y el ambiente (Franke y Baseggio, 1998), por lo que se desaconseja al existir otras alternativas. Los tratamientos de escarificación térmica por inmersión en agua caliente presentan la desventaja de que el tratamiento produce la imbibición de la semilla y por lo tanto inician el proceso de germinación rápidamente. Esto hace que deban ser sembradas inmediatamente, requiriendo condiciones de humedad adecuadas para lograr el establecimiento de la plántula, lo que podría resultar desventajoso a la hora de sembrar grandes superficies en un tiempo acotado. Particularmente para la especie *R. bicentrica* resultarían efectivos los tratamientos de ITc y AC con temperaturas de  $60\text{ }^\circ\text{C}$  o  $70\text{ }^\circ\text{C}$  por una hora o aun más; deberían testearse tiempos mayores de exposición para optimizar el efecto del tratamiento.

Mediante la información generada concluimos que ambas especies requieren de tratamientos pregerminativos, y la escarificación física mecánica se presenta como un tratamiento pregerminativo posible por su efectividad y posibilidad de ser aplicada a mayor escala. El tratamiento de escarificación térmica por exposición a aire caliente, por su parte, podría ser una alternativa para *R. bicentrica*. Los resultados obtenidos motivan a continuar el estudio de las condiciones apropiadas para la germinación de estas especies de plantas nativas que podrían utilizarse como especies claves en programas de restauración de pastizales naturales de Argentina, incluyendo ensayos que comparen tratamientos de escarificación física mecánica y térmica con mayor detalle. Asimismo, resulta fundamental el estudio de las condiciones ambientales propicias para la germinación, las técnicas para la implantación a campo de estas especies, la producción y cosecha de semilla en calidad y cantidad suficientes y otras características de interés agronómico y ecológico que mejoren nuestro conocimiento sobre sus potencialidades y limitaciones.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Sur, la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por el apoyo material y financiero que hizo posible este trabajo. Los autores declaran no tener conflicto de intereses con respecto al contenido de la presente investigación.



## BIBLIOGRAFÍA

- ALÍ, H.H.; TANVEER, A.; NADEEM, M.A.; ASGHAR, H.N. 2011. Methods to break seed dormancy of *Rhynchosia capitata*, a summer annual weed. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3), 483-487.
- BASCONSUELO, S.; GROSSO, M.; KRAUS, T.; BIANCO, C.; BIANCO, L.; VILETA, D.; MALPASSI, R. 2013. Leguminosas nativas con potencial forrajero: *Adesmia bicolor*. 1.º ed. UniRío Editora. 23 p.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 1998. Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego, California, Estados Unidos. 666 p.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 2014. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination (2nd ed). Academic Press, San Diego, California, Estados Unidos.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. 2000. Classification, Biogeography and Phylogenetic Relationships of Seed Dormancy. En: SMITH, R.D.; DICKIE, J.B.; LININGTON, S.L.; PRITCHARD, H.W.; PROBERT, R.J. (Eds). Seed conservation: Turning science into practice. London, Royal Botanic Gardens. 518-544 pp.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C.; LI, X. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. Plant Spec. Biol. 15: 139-152.
- BEIDER, A. 2012. Viverización de especies nativas de zonas áridas. Estación Experimental Agropecuaria Chubut del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. Inca Editorial. Mendoza, Argentina. 67 p.
- CAMPO DE FERRERAS, A.M.; CAPELLI DE STEFFENS, A.M.; DIEZ, P.G. 2004. El clima del suroeste bonaerense. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur. 99 p.
- CABRERA, A.L.; AÑÓN SUÁREZ, D. 1967. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte iii: Piperáceas a Leguminosas. Colección Científica INTA. 671 p.
- CECCON, E. 2013. Restauración en bosques tropicales: fundamentos ecológicos, prácticos y sociales. Ediciones Díaz de Santos, 1.º edición. México D. F., México. 290 p.
- CHIRINO, C.C.; NORLANDER GRAHN K.M.; ROBLES L.E. 1988. Determinación de proteína bruta de algunas especies forrajeras de La Pampa. Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam 3(2), 57-74.
- DIAS, P.M.B.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. 2004. Adesmia DC: Estado atual do conhecimento e perspectivas de uso de uma forrageira nativa de alta qualidade. Revista Científica Rural 9(2): 60-71.
- DE FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I.; SUTHERLAND, J.M. 1989. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. New Phytol 111, 607-619.
- DISTEL, R.A.; PELÁEZ, D.V.; FERNÁNDEZ, O.A. 1992. Germination of *Piptochaetium napostaense* (Speg.) Hackel and *Stipa tenuis* Phil. and seedling survival under field conditions. Rangel. J. 14(1): 49-55.
- DISTEL, R.A. 2016. Grazing ecology and the conservation of the Caldenal rangelands, Argentina. J. Arid. Environ. 134, 49-55.
- DO CANTO, J.; REYNO, R.; REAL, D.; REVELL, C. 2013. Seed softening patterns of forage legumes in a temperate/subtropical environment in Uruguay. Chilean Journal of Agricultural Research 73(1): 41- 47.
- FAGÚNDEZ, G.A.; REINOSO, P.D.; ACEÑOLAZA, P.G. 2016. Caracterización y fenología de especies de interés apícola en el departamento Diamante (Entre Ríos, Argentina). B. Soc. Argent. Bot. 51 (2), 243-267.
- FENNER, M.; THOMPSON, K. 2005. Seed dormancy. The ecology of seeds. Cambridge University Press. Nueva York, Estados Unidos. 97-109 pp.
- FRANKE, L.B.; BASEGGIO, J. 1998. Superação da Dormência de Sementes de *Desmodium incanum* D.C. e *Lathyrus nervosus* Lam. Revista Brasileira de Sementes 20(2),182-186.
- GALLEGO, L.; DISTEL, R.A.; CAMINA, R.; RODRÍGUEZ IGLESIAS, R.M. 2004. Soil phytoliths as evidence for species replacement in grazed rangelands of central Argentina. Ecography 27: 725-732.
- GOLENIOWSKI, M.E.; BONGIOVANNI, G.A.; PALACIO, L.; NÚÑEZ, C.O.; CANTERO, J.J. 2006. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. J. Ethnopharmacol. 107, 324-34.
- GROOM, A. 2012. *Rhynchosia senna*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T19891570A20137453. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T19891570A20137453>
- HOLMBERG, E.L. 1884. Informe presentado al Gobernador de la provincia de Buenos Aires. Excursión a la Sierra del Curá-Malal. En: CHÉBEZ, J.C.; GASPARRI, B. (eds.). 2008. Excursiones Bonaerenses por Eduardo Ladislao Homberg. Editorial Albatros. Buenos Aires, Argentina. 239 p.
- IZAGUIRRE, P. 2005. Uruguay y sus Recursos Fitogenéticos en Leguminosas. Agrociencia 9(1-2), 77-83.
- KRÜGER, H.; MARTENS, F.; VILLAGRA, C.; GONZÁLEZ FERRÍN, S.; BRUNO, S.; PELTA, H.; IURMAN, D. 2013. Sustentabilidad. Interpretación conceptual y problemas observados en el Centro y Sur de la provincia de Buenos Aires. En: KRÜGER, H. (Eds). Boletín Técnico N.º 19 del INTA. 1.º edición. Ediciones INTA: Bordenave, Buenos Aires, Argentina. 31 p.
- MADUEÑO-MOLINA, A.; GARCÍA-PAREDES, D.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J.; RUBIO-TORRES, C.; NAVARRETE-VALENCIA, A.; BOJÓRQUEZ-SERRANO, J. 2006. Germinación de semilla de frijolillo, *Rhynchosia minima* (L.) DC., luego de someterla a tratamientos pregerminativos. Bioagro 18(2), 101-105.
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R. 1968. Estudios Etnobotánicos III. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Araucano-Pampas del Oeste de Buenos Aires. Etnobiología 12, 1-24.
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R.N. 2014. Algunos datos sobre etnobotánica Mocoví. Bonplandia 23(2), 119-131.
- MAS, M.T.; VERDÚ A.M.C.; KRUK, B.C.; DE ABELLEYRA, D.; GUGLIELMINI, A.C.; SATORRE, E.H. 2010. Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soyabean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina. Weed Res. 50, 320-330.
- MEDEIROS, R.B.; NABINGER, C. 1996. Superação da dormência em sementes de leguminosas forrageiras. Revista Brasileira de Sementes 18(2): 193-199.
- ORFILA, E.N.; FARINA, E.L. 2002. Leguminosas autóctonas y naturalizadas de las Sierras de Azul, provincia de Buenos Aires. Facultad de Agronomía, UNCPBA. 75 p.
- PELÁEZ, D.V. 2012. Dinámica de la vegetación en los pastizales del SO Bonaerense: Interacción clima- fuego-pastoreo. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Tomo LXV. 406-416 pp.
- PORTA SIOTA, F.; LEDESMA, G.; PETRUZZI, H.J.; MORICI, E.F.A. 2018a. Acumulación de biomasa aérea en poblaciones de *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. en dos temporadas de crecimiento. VIII Congreso Nacional y IV Congreso del Mercosur sobre Manejo de Pastizales Naturales. Chamical, La Rioja, Argentina.
- PORTA SIOTA, F.; PETRUZZI, H.J.; MORICI, E.F.A. 2018b. Factores que condicionan la germinación en semillas de *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. VIII Congreso Nacional y IV Congreso

del Mercosur sobre Manejo de Pastizales Naturales. Chamental, La Rioja, Argentina.

SCARPA, G.F.; ROSSO, C.N.; ANCONATANI, L. 2016. Etnobotánica médica de grupos criollos de Argentina: reconocimiento, análisis y puesta en valor de los datos presentados por el gobierno argentino en la Exposición Universal de París de 1889. *Darwiniana*, nueva serie 4(2), 291-315.

SHAUKAT, S.S.; BURHAN, N. 2000. Fecundity, seed characteristics and factors regulating germination of *Rhynchosia minima* (L.) DC. *Pak.J.Bot.* 32(1), 211-226.

SPRENT, J.I.; GEHLOT, H.S. 2010. Nodulated legumes in arid and semi-arid environments: are they important? *Plant Ecology & Diversity* 3(3), 211-219.

TAYLOR, G.B. 2005. Hardseededness in Mediterranean annual pasture legumes in Australia: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 56(7): 645-661.

TORIBIO, M.S.; ORIANI, S.D.; TOSO, R.E.; TORTONE, C.A.; FERNÁNDEZ, J.G. 2007. Suceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina. *B. Latinoam. Caribe Pl.* 6(6), 367-368.

TURNER, B.L. 2012. Taxonomic Status of *Rhynchosia diversifolia* var. *prostrata* (Fabaceae). *Lundellia* 15: 22-25.

VARELA, S.A.; APARICIO, A. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Publicación de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Cuadernillo N.º 3 de la Serie Técnica "Sistemas forestales integrados". Ediciones INTA. 10 p.

WEBERLING, F.; KRAUS, T.A.; BIANCO, C.A.; MALPASSI, R. 2002. Variación y estrategias adaptativas de los sistemas de ramificación de Fabáceas herbáceas. *Feddes Repertorium* 113(5-6), 342-353.

Recibido 30 de abril de 2019 // Aceptado 19 de diciembre de 2019 // Publicado online 21 de abril de 2021

# Anaplasmosis bovina en provincia de Buenos Aires durante 2015

CORA IBARRA, J.F.<sup>1</sup>; LLOBERAS, M.M.<sup>1</sup>; LLADA, I.M.<sup>1</sup>; ODRIOZOLA, E.R.<sup>1</sup>; CANTÓN, G.J.<sup>1</sup>

## RESUMEN

*Anaplasma marginale* es una bacteria intracelular que infecta eritrocitos del bovino produciendo hemólisis extravascular y anemia. La anaplasmosis es endémica en regiones tropicales y subtropicales, mientras que en zonas templadas suelen ocurrir brotes esporádicos asociados a movimientos de hacienda desde áreas endémicas. El contagio entre bovinos se produce por transmisión de eritrocitos parasitados de un animal infectado a uno sano, a través de ectoparásitos hematófagos (garrapatas, dípteros), por iatrogenia y vía transplacentaria. Clínicamente, afecta principalmente bovinos mayores a 2 años de edad que no han estado en contacto con el agente. El objetivo del presente trabajo es describir brotes de anaplasmosis bovina registrados por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado de INTA Balcarce en la provincia de Buenos Aires durante el año 2015, considerando que la región es naturalmente libre de la enfermedad. Se describen características clínico-patológicas de los diferentes brotes, y características epidemiológicas para establecer factores predisponentes de esta enfermedad en regiones libres de esta. Esta caracterización demuestra la importancia de incluir a la enfermedad como diagnóstico diferencial, pese a no tratarse de una zona endémica, con el fin de llegar rápidamente al diagnóstico e instaurar un tratamiento correcto y tomar las medidas de manejo correspondientes para disminuir las pérdidas económicas.

**Palabras clave:** *Anaplasma*, bovinos, diagnóstico.

## ABSTRACT

*Anaplasma marginale* is an intracellular bacterium that infects bovine erythrocytes causing extravascular hemolysis and anemia. Bovine anaplasmosis is endemic in tropical and subtropical regions of the world. In temperate regions, anaplasmosis is sporadic and usually associated with the movement of infected cattle from endemic regions. Infection occurs after transmission of parasitized erythrocytes from an infected bovine to a healthy one, through hematophagous ectoparasites such as ticks or species of Diptera insects. Iatrogenic and transplacental transmission is also usually frequent. Clinical anaplasmosis affect mainly naïve adult cattle (> 2 years old). Considering Buenos Aires province naturally anaplasmosis-free, the main aim of this work is to describe unusually frequent outbreaks of bovine anaplasmosis registered by the Diagnostic Veterinary Service at INTA Balcarce in the Buenos Aires province, during the year 2015. Clinical, pathological and epidemiological characteristics of these outbreaks are described in order to emphasize predisposing factors which could explain the frequent presentation of the disease. This characterizations demonstrate the importance of including anaplasmosis as a differential diagnosis in non-endemic regions, in order to improve the rapid identification of the disease and initiate a correct treatment and control and reduce economic losses.

**Keywords:** *Anaplasma*, cattle, diagnosis.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Ruta Nacional 226 km 73.5, (7620) Balcarce, Argentina. Correo electrónico: canton.german@inta.gov.ar

## INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis es una enfermedad infecciosa no contagiosa de los rumiantes, anemizante causada por bacterias (Rickettsiales) intraeritrocitarias obligadas del género *Anaplasma*. Clínicamente, la anaplasmosis es más importante en el bovino, pero también puede afectar otros rumiantes. La anaplasmosis bovina es producida por la infección con *Anaplasma marginale* (Aubry y Geale, 2011).

*Anaplasma marginale* se transmite de forma directa por 3 mecanismos. La transmisión biológica por garrapatas es la más eficiente y ocurre por la capacidad que tiene *A. marginale* de replicarse y persistir dentro de las garrapatas (Dikmans, 1950; Kessler, 2001; Kocan *et al.*, 1992). Además, puede ocurrir transmisión mecánica cuando eritrocitos infectados son inoculados en bovinos susceptibles por otros artrópodos hematofagos, entre los que se mencionan a diferentes especies de moscas, tábanos y mosquitos (Aubry y Geale 2011; Kessler, 2001). Esta es considerada la principal vía de diseminación de la infección en algunas regiones donde no hay especies de garrapatas donde *Anaplasma* se replica, como es el caso de *Boophilus microplus*, donde aparentemente no actuaría como vector biológico (Dikmans, 1950; Hawkins *et al.*, 1982; Kessler, 2001; Kocan *et al.*, 2010; Stiller y Coan, 1995). Otra vía de transmisión mecánica puede ser iatrogénica cuando se utiliza instrumental cortopunzante (agujas, descornadores, mochetas, entre otros), lo que puede ser de relevancia para la transmisión dentro de un mismo rodeo, pero raramente entre rodeos (Aubry y Geale, 2011; Coetzee *et al.*, 2010; Dikmans, 1950; Guglielmone *et al.*, 1997; Kessler, 2001). La transmisión transplacentaria ocurre cuando algunos eritrocitos infectados de la madre atraviesan la placenta y llegan al feto, y puede contribuir de manera relevante a la epidemiología de la enfermedad en algunas regiones, ya que se ha reportado que puede ocurrir entre el 15 y 85% de vacas infectadas a sus crías (Aubry y Geale, 2011; Swift y Paumer, 1976).

La enfermedad es endémica en sistemas de producción bovina para carne y leche en la mayoría de los países del mundo con clima tropical a subtropical (Aubry y Geale, 2011; Coetzee *et al.*, 2010; Kocan y De La Fuente, 2003; Kocan *et al.*, 2010; Morel, 1989). Sin embargo, puede presentarse esporádicamente en áreas con climas templados a fríos (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2004; Howden *et al.*, 2010). En Argentina es endémica desde el paralelo 33° sur hacia el norte, con brotes esporádicos en provincia de Buenos Aires, la cual es considerada una zona libre debido a sus características climáticas (Guglielmone, 1995; Mangold y Mastropaolo, 2013).

En las regiones endémicas, la anaplasmosis se encuentra en equilibrio enzoótico. Los animales jóvenes (< 9 meses de edad) se infectan naturalmente al estar expuestos a insectos hematofagos, sin sufrir enfermedad clínica y permanecen como portadores asintomáticos inmunizados por el resto de su vida (Coleman *et al.*, 2001; Kocan *et al.*, 2010). Esta endemia es beneficiosa ya que la gran mayoría de los animales permanecen protegidos (Coleman *et al.*,

2001). Por el contrario, en áreas de inestabilidad enzoótica (Carrique *et al.*, 2000), la enfermedad aparece clínicamente en forma de brote con alta morbilidad y mortalidad. Estos brotes epidémicos ocurren cada 4-7 años, asociados a movimientos de hacienda infectada desde la zona endémica a la naturalmente libre, exponiendo de esta manera a la población nativa (Dalglish *et al.*, 1990; Guglielmone, 1995).

Teniendo en cuenta que el traslado de bovinos desde regiones donde la anaplasmosis es endémica hacia zonas en inestabilidad enzoótica es frecuente en nuestro país, el riesgo de ingreso de portadores y la consiguiente presentación clínica de la enfermedad es muy alta (Guglielmone, 1995). Si bien regularmente el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) ha registrado casos de anaplasmosis en rodeos bovinos de la provincia de Buenos Aires, durante el año 2015 se registraron 6 brotes, lo que llamó la atención fue la mayor frecuencia de presentación. A continuación se describen los hallazgos clínico-patológicos e epidemiológicos de estos 6 brotes, con el objetivo de familiarizar a los productores y asesores de la región sobre esta enfermedad poco frecuente en la región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En los 6 brotes de anaplasmosis diagnosticados se registró información anamnésica que incluyó ubicación geográfica, edad de los animales afectados, población bovina expuesta y afectada clínicamente, y otros aspectos de manejo relevantes que posiblemente expliquen la epidemiología de la enfermedad (tabla 1). Además, en todos los brotes, se registró la signología clínica manifestada por los animales afectados. Algunos bovinos afectados en 5 de los 6 brotes fueron eutanasiados, siguiendo las recomendaciones del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE) del Centro Regional Buenos Aires Sur del INTA. Luego se realizó la necropsia, donde se registraron los hallazgos patológicos y se recolectaron tejidos en formol al 10% para hacer análisis histopatológico de rutina (tinción de hematoxilina y eosina).

Para realizar la confirmación del diagnóstico se recolectaron muestras de sangre con EDTA para realizar hematocrito, mediante la técnica de microhematocrito en tubos capilares. Además se realizaron extendidos de sangre periférica en portaobjetos que fueron fijados en acetona al 10% durante 10 minutos a 4 °C. Posteriormente se tñeron con Giemsa y se observaron bajo microscopía óptica a varios aumentos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico de la anaplasmosis bovina se puede hacer tentativamente teniendo en cuenta la ubicación geográfica en los que ocurren, la estación del año y la presentación clínica-patológica manifestada por los animales infectados (Jones y Brock, 1966).

Los 6 brotes incluidos en este análisis ocurrieron en los partidos bonaerenses de Navarro (2), Saladillo (2), Lincoln

Brote	Partido	Mes	Sistema productivo	Animales expuestos	Mortalidad
1	Saladillo	marzo	Cría	400	1,5%
2	Navarro	marzo	Tambo	230	3,47%
3	Navarro	marzo	Cría	40	15%
4	Saladillo	marzo	Cría	545	3,11%
5	Lincoln	mayo	Cría	130	30,76%
6	Capitán Sarmiento	junio	Tambo	400	1,5%

**Tabla 1.** Información de los diferentes brotes de anaplasmosis bovina diagnosticados por el SDVE del INTA Balcarce en la provincia de Buenos Aires durante el año 2015.

(1) y Capitán Sarmiento (1) (tabla 1). Si bien, la ubicación geográfica donde ocurren los brotes puede ayudar a inferir en el diagnóstico de la enfermedad (Jones y Brock, 1966), la anaplasmosis no ha sido frecuentemente reportada en la provincia de Buenos Aires (Mangold y Mastropaolo, 2013). Es importante remarcar que los brotes se ubicaron en la región central-norte de la provincia, de mayor cercanía a la región endémica.

Otro aspecto epidemiológico de relevancia que puede ayudar a presumir de un brote de anaplasmosis es la época cuando se diagnostica (Jones y Brock, 1966; Smith *et al.*, 1989). Los brotes generalmente ocurren durante las épocas más cálidas o húmedas cuando la enfermedad es transmitida por vectores. Sin embargo, cuando la enfermedad ocurre en áreas libres o de presentación esporádica en bovinos inmunitariamente susceptibles, los brotes suelen ocurrir luego de la introducción de ganado desde áreas endémicas (Smith *et al.*, 1989). Estos brotes fueron diagnosticados entre marzo y julio del 2015 (tabla 1), posiblemente en coincidencia con una mayor presencia de algunos vectores hematófagos (tábanos) que podrían haber permitido la dispersión de la infección (Aubry y Geale, 2011). Además, no habría que descartar la transmisión iatrogénica, cuando los brotes ocurren fuera de la temporada más frecuente de vectores (Smith *et al.*, 1989).

Cuatro de los brotes de anaplasmosis reportados en este trabajo ocurrieron en sistemas de producción de carne y 2 en sistemas de producción lechera (tabla 1). La anaplasmosis puede afectar de igual manera ambos sistemas (Aubry y Geale, 2011). Sin embargo, otros autores reportaron que la ocurrencia en sistemas de leche y carne en zonas endémicas suele tener diferencias estacionales: los brotes en tambos ocurren durante todo el año, mientras que en los de producción de carne, principalmente suceden durante el verano (Guglielmo *et al.*, 1997). Estos hallazgos fueron presuntamente atribuidos a prácticas de manejo que hacen que el ganado de leche esté más expuesto a la transmisión iatrogénica, a diferencia del ganado de carne donde posiblemente la transmisión por vectores hematófagos sea más relevante y la iatrogénica menos frecuente. Habría que realizar más investigaciones sobre el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en áreas de inestabilidad enzoótica.

La mortalidad media registrada en la mayoría de los brotes concuerda con lo reportada por la bibliografía (Coetzee *et al.*, 2010; Machado *et al.*, 2015), con excepción del brote #5 (tabla 1), en el que la mortalidad fue muy elevada. Sin embargo, es imposible confirmar que todas las muertes hayan sido por esta misma etiología. Sin embargo, algunos autores mencionan que cuando la anaplasmosis se presenta en zonas de inestabilidad enzoótica, los brotes pueden presentarse con un 40% de morbilidad y 50% de mortalidad, con ocurrencia cada 4-7 años generalmente asociados a movimientos de hacienda infectada desde la zona endémica a la naturalmente libre, exponiendo de esta manera a la población nativa (Guglielmo *et al.*, 1995; Kocan y De La Fuente, 2003).

Luego de una infección inicial, el periodo de incubación suele ser de 7 a 60 días, en el que *A. marginale* invade los eritrocitos y cumple ciclos de replicación (Kocan y De La Fuente, 2003). Por esta razón, la característica clínica de la anaplasmosis es la anemia (palidez de las mucosas aparentes) e ictericia, pero sin hemoglobinuria ni hemoglobinemia y resulta de la fagocitosis masiva de eritrocitos infectados por el sistema retículo-endotelial. La severidad de los signos clínicos dependen del grado de anemia que los animales presentan, pero además se describe fiebre, deshidratación, pérdida de apetito y peso, constipación, disnea y taquipnea, taquicardia, letargia, depresión y muerte (Aubry y Geale 2011; Coetzee *et al.*, 2005; Jaswal *et al.*, 2015; Jones y Brock, 1966; Kocan y De La Fuente, 2003; Rymaszewska y Grenda, 2008). En animales de producción lechera, se evidencia una rápida caída en su producción y las vacas gestantes pueden abortar, mientras que los toros pueden manifestar infertilidad temporaria (Coetzee *et al.*, 2005; Jaswal *et al.*, 2015). En concordancia con estos signos, la principal característica clínica registrada en los bovinos afectados en estos brotes fue la renuencia de los animales a desplazarse durante los arreos, depresión, pérdida de estado corporal, dificultad respiratoria y en ocasiones muerte súbita. En vacas en lactancia, se registró además una brusca caída en su producción. Se describe también que en los animales con enfermedad clínica avanzada puede detectarse atonía y estasis ruminal y gastrointestinal, constipación (asociado a la deshidratación) y algunos individuos podrían manifestar signología nerviosa, posiblemente debido a la anoxia cerebral (Coetzee *et al.*, 2005).

A la inspección clínica de los bovinos afectados en estos brotes se constataron mucosas aparentes pálidas e ictericia en algunos casos. Generalmente, la ictericia se desarrolla solo en estados avanzados de la enfermedad (Coetzee *et al.*, 2005; Jaswal *et al.*, 2015). Además, en todos los brotes reportados en este trabajo se confirmó anemia al detectar hematocritos < 20%.

Si bien bovinos de diferentes edades pueden infectarse con *A. marginale*, la severidad de la enfermedad depende de la edad, principalmente en zonas de endemicidad de la enfermedad. La enfermedad clínica es rara en animales de menos de 6 meses, y al año de edad podrían desarrollar una enfermedad leve. Entre el año y los 2 años de edad, los bovinos pueden desarrollar anaplasmosis aguda, pero inusualmente es fatal. Ya a partir de los 2 años de edad, la enfermedad ya puede ser aguda y con altas tasas de mortalidad (Jones y Brock, 1966; Kocan y De La Fuente, 2003). En todos los brotes de anaplasmosis de este reporte, los animales afectados fueron vacas multíparas. En 5 de los 6 brotes analizados en este trabajo, se realizaron necropsias a vacas clínicamente afectadas, describiendo esplenomegalia como principal hallazgo patológico (figura 1). Estos hallazgos *post mórtem* son los habitualmente descriptos, además de severa anemia, ictericia, hepatomegalia y petequias en superficies serosas, especialmente en el corazón y pericardio (Carelli *et al.*, 2007; Jaswal *et al.*, 2015).

Se realizaron estudios histopatológicos en tejidos de animales de 3 de los brotes incluidos en este estudio, lo que permitió descartar lesiones compatibles con otras noxas que podrían ser diagnósticos diferenciales de esta enfermedad (Coetzee *et al.*, 2005). Como hallazgo relevante en los 3 casos fueron lesiones hepáticas de diferente severidad que iban desde esteatosis y/o áreas de necrosis de hepatocitos de la región centrolobulillar (figura 2). Además, en tejidos recolectados en 2 de estas 3 necropsias realizadas, se encontró miocarditis degenerativa y necrotizante multifocal leve a moderada. Estos hallazgos han sido mencionados previamente, y se consideran asociados a la hipoxia

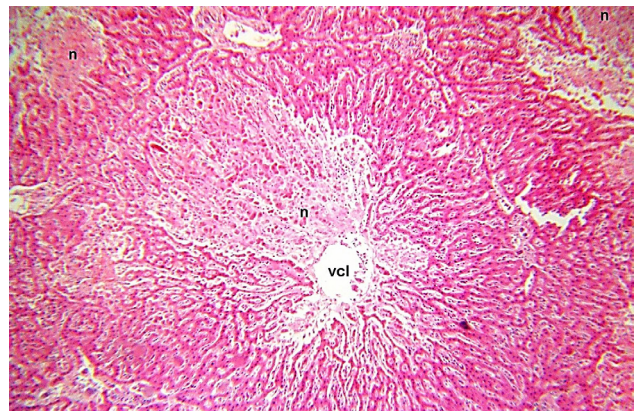
tisular creada por la anemia (Anderson y Hurtado 1989; Jaswal *et al.*, 2015). El enfisema pulmonar puede ser un hallazgo habitual, también secundario a la disnea terminal que los animales suelen manifestar (Jaswal *et al.*, 2015).

El diagnóstico de anaplasmosis se confirmó en los 6 brotes analizados en este trabajo, luego de corroborar la presencia de abundantes eritrocitos parasitados en frotis de sangre bajo microscopía óptica (figura 3). El examen microscópico de frotis sanguíneo con tinción de Giemsa es la técnica diagnóstica de referencia y el método más común para la identificación de parasitemia en animales con infección aguda (Jones y Brock, 1966), de fácil realización y económica. Además de la detección microscópica de parasitemia, la utilización de técnicas moleculares o serológicas tiene mayor sensibilidad y especificidad. Si bien estas últimas técnicas son más confiables, tienen mayor utilidad en condiciones de epidemia, donde la parasitemia puede ser baja, permitiendo identificar animales persistentemente infectados, o portadores asintomáticos de estos hemoparásitos (Aubry y Geale, 2011; Carelli *et al.*, 2007; Howden *et al.*, 2010; Kocan *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 1989). En definitiva, para definir un caso confirmado de anaplasmosis, requiere ya sea de la identificación positiva tanto serológica (ELISA) como molecular (PCR), o la presentación clínica compatible y la identificación del agente por técnicas directas (ya sea identificación del organismo por microscopía en extendidos de sangre o PCR) (Howden *et al.*, 2010), lo que permitió confirmar todos estos brotes reportados en este trabajo. Además, cuando hubo disponible otros especímenes se descartaron otros diagnósticos diferenciales de la anaplasmosis bovina.

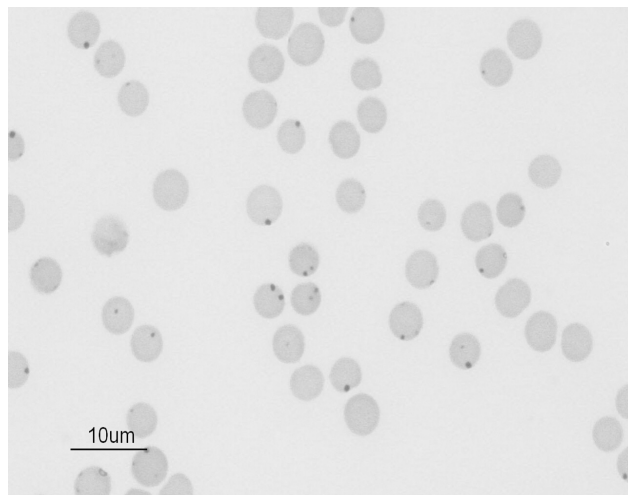
Teniendo en cuenta que la anaplasmosis es esporádica en la región investigada, fue de interés tratar de dilucidar el origen de la infección en cada brote. En la mayoría de los brotes analizados no se pudo constatar el ingreso reciente de animales provenientes de áreas endémicas de la enfermedad. Solo en 2 brotes se había confirmado el ingreso de animales desde regiones endémicas en los úl-



**Figura 1.** Esplenomegalia marcada observada en la necropsia de una vaca necropsiada con diagnóstico de anaplasmosis.



**Figura 2.** Hepatitis necrotizante centrolobulillar en una vaca que murió por anaplasmosis (hematoxilina y eosina). VCL: vena centrolobulillar. n: áreas de necrosis de hepatocitos.



**Figura 3.** Eritrocitos parasitados en la muestra de sangre de una vaca que murió por anaplasmosis (Giemsa).

timos años: provincias de Entre Ríos y Corrientes. En los otros establecimientos se mencionó que eran aldeaños a otros que se dedicaban al engorde a corral de bovinos y que posiblemente incorporaban ganado desde zonas endémicas. Si bien se menciona que la transmisión mecánica por insectos hematófagos es menos eficiente que la transmisión biológica por garrapatas (Scoles *et al.*, 2005), posiblemente en estos brotes, haya sido el mecanismo de difusión, ya que ocurrieron en zonas libres de garrapata.

En algunos de estos brotes reportados, se pudo continuar investigando la evolución clínica de algunos animales afectados luego del tratamiento recomendado para la anaplasmosis. Tanto las medidas terapéuticas como de prevención y control de la enfermedad varían de acuerdo a la zona geográfica, dependiendo si existen medidas de control de transmisores biológicos (acaricidas), aplicación profiláctica de antibióticos y vacunación. Si bien no es necesario el control de los transmisores biológicos de la anaplasmosis en la zona donde ocurrieron estos brotes, la transmisión por otros vectores mecánicos es pobremente practicable. Sí se deberían evitar la transmisión mecánica iatrogénica (Kocan *et al.*, 2010). En todos estos brotes se aplicó antibióticoterapia, siendo esta la medida terapéutica y preventiva más eficaz usada en todo el mundo, aunque suele ser costosa y no fácilmente aplicable en algunas situaciones productivas. En algunos de los predios afectados, además, se empezó a aplicar vacunación preventiva contra la anaplasmosis, teniendo en cuenta que se los consideró ser de alto riesgo, por sus características de manejo (ingreso constante de animales provenientes de zonas endémicas).

## CONCLUSIONES

La provincia de Buenos Aires es una zona que tradicionalmente se la consideró libre de anaplasmosis, con presentaciones esporádicas, las cuales indicarían la presencia

de animales reservorios o el ingreso frecuente de animales portadores que luego actuarían como el origen de presentaciones clínicas de la enfermedad luego de la transmisión por vectores mecánicos o vía iatrogénica.

El movimiento de hacienda desde una zona endémica, donde la gran mayoría de los animales son portadores, pareciera ser el factor de riesgo más importante para su ocurrencia. Si bien se habían registrado brotes de anaplasmosis previamente por el SDVE en la provincia de Buenos Aires, y se han presentado nuevos brotes, no incluidos en este estudio retrospectivo, este trabajo pretende demostrar la importancia de incluir la enfermedad como diagnóstico diferencial, pese a no tratarse de una zona endémica, con el fin de llegar rápidamente al diagnóstico e instaurar un tratamiento correcto y tomar las medidas de manejo correspondientes para disminuir las pérdidas económicas. Además, es importante destacar que se espera que la distribución de la anaplasmosis se expanda, en parte como resultado del efecto del cambio climático, que podría favorecer el movimiento de los vectores biológicos (Jonsson y Reid, 2000; Tabachnick, 2010).

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, M.L.; HURTADO, B.J. 1989. Diagnosis of anaplasmosis in formalin-fixed tissue using the Wolbach's Giemsa stain. *J Vet Diagn Invest.* 1, 185-186. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2484932> verificado: 21 de febrero de 2018).
- AUBRY, P.; GEALE, D.W. 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transbound Emerg Dis.* 58(1), 1-30. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21040509> verificado: 21 de febrero de 2018).
- CARELLI, G.; DECARO, N.; LORUSSO, A.; ELIA, G.; LORUSSO, E.; MARI, V.; CECL, L.; BUONAVOGLIA, C. 2007. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. *Vet. Microbiol.* 124, 107-114. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17466470> verificado: 23 de febrero de 2018).
- CARRIQUE, J.J.; MORALES, G.J.; EDELSTEN, M. 2000. Endemic instability for babesiosis and anaplasmosis in cattle in the Bolivian Chaco. *Vet J.* 160, 162-164. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11202976> verificado: 20 de febrero de 2018).
- COETZEE, J.F.; APLEYA, M.D.; KOCAN, K.M.; RURANGIRWAC, F.R.; DONKERSGOED, J.V. 2005. Comparison of three oxytetracycline regimens for the treatment of persistent *Anaplasma marginale* infections in beef cattle. *Vet Parasitol.* 127, 61-73. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15675047> verificado: 15 de marzo de 2018).
- COETZEE, J.F.; SCHMIDT, P.L.; O'CONNOR, A.M.; APLEY, M.D. 2010. Seroprevalence of *Anaplasma marginale* in 2 Iowa feedlots and its association with morbidity, mortality, production parameters, and carcass traits. *Can Vet J.* 51, 862-868. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2905005/> verificado: 26 de marzo de 2018).
- COLEMAN, P.G.; PERRY, B.D.; WOOLHOUSE, M.E.J. 2001. Endemic stability: a veterinary idea applied to human public health. *Lancet* 357, 1284-1286. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11418173> verificado: 10 de marzo de 2018).
- DALGLIESH, R.J.; JORGENSEN, W.K.; DE VOS, A.J. 1990. Australian frozen vaccines for the control of babesiosis and anaplasmosis in cattle: A review. *Trop Anim Hlth Prod.* 22, 44-52.

(Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2181745> verificado: 10 de marzo de 2018).

DIKMANS, G. 1950. The transmission of anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.* 11, 5-16.

GUGLIELMONE, A.A. 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet Parasitol.* 57, 109-119. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7597777> verificado: 01 de marzo de 2018).

GUGLIELMONE, A.A.; ABDALA, A.A.; ANZIANI, A.; MANGOLD, A.J.; VOLPOGNI, M.M.; VANZINI, V.R. 1997. Different seasonal occurrence of anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle in an area of Argentina free of *Boophilus microplus* ticks. *Vet. Quart* 19, 32-33. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9225428> verificado: 21 de marzo de 2018).

HAWKINS, J.A.; LOVE, J.N.; HIDALGO, R.J. 1982. Mechanical transmission of anaplasmosis by tabanids (Diptera: Tabanidae). *Am J Vet Res.* 43, 732-734. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7073099> verificado: 21 de marzo de 2018).

HOFMANN-LEHMANN, R.; MELI, M.L.; DREHER, U.M.; GÖNCZI, E.; DEPLAZES, P.; BRAUN, U.; ENGELS, M.; SCHÜPBACH, J.; JÖRGER, K.; THOMA, R.; GRIOT, C.; STÄRK, K.D.; WILLI, B.; SCHMIDT, J.; KOCAN, K.M.; LUTZ, H. 2004. Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *Clin Microbiol.* 42, 3775-3780. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15297529> verificado: 02 de marzo de 2018).

HOWDEN, K.J.; GEALE, D.W.; PARÉ, J.; GOLSTEYN-THOMAS, E.J.; GAJADHAR, A.A. 2010. An update on bovine anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) in Canada. *Can Vet J.* 51, 837-840. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21037882> verificado: 10 de marzo de 2018).

JASWAL, H.; BAL, M.S.; SINGLA, L.D.; GUPTA, K.; BRAR, A.P.S. 2015. Pathological observations on clinical *Anaplasma marginale* infection in cattle. *J Parasit Dis.* 39, 495-498. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26345059> verificado: 10 de marzo de 2018).

JONES, E.W.; BROCK, W.E. 1966. Bovine anaplasmosis: its diagnosis, treatment, and control. *J Am Vet Med Assoc* 149, 1624-1633.

JONSSON, N.N.; REID, S.W. 2000. Global climate change and vector borne diseases. *Vet J* 160, 87-89.

KESSLER, R.H. 2001. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. *Pesq Vet Bras* 21:177-179. (Disponible: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S-0100-736X2001000400009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S-0100-736X2001000400009) verificado: 15 de septiembre de 2018).

KOCAN, K.M.; DE LA FUENTE, J. 2003. Co-feeding studies of ticks infected with *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasitol.* 112, 295-305. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12623209> verificado: 20 de marzo de 2018).

KOCAN, K.M.; GOFF, W.L.; STILLER, D.; CLAYPOOL, P.L.; EDWARDS, W.; EWING, S.A.; HAIR, J.A.; BARRON, S.J. 1992. Persistence of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasma-

taceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) transferred successively from infected to susceptible calves. *J Med Entomol.* 29, 657-668. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1495076> verificado: 23 de marzo de 2018).

KOCAN, K.M.; DE LA FUENTE, J.; BLOUIN, E.F.; COETZEE, J.F.; EWING, S.A. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasit.* 167, 95-107. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19811876> verificado: 15 de marzo de 2018).

MACHADO, R.Z.; DA SILVA, J.B.; ANDRÉ, M.R.; GONÇALVES, L.R.; MATOS, C.A.; OBREGÓN, D. 2015. Outbreak of anaplasmosis associated with the presence of different *Anaplasma marginale* strains in dairy cattle in the states of São Paulo and Goiás, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 24, 438-446. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26648009> verificado: 10 de marzo de 2018).

MANGOLD, A.J.; MASTROPAOLO, M. 2013. Capítulo 27: Epidemiología y control de hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en Argentina. En: FIEL, C.; NARI, A. (ed.). *Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes*. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Editorial Hemisferio Sur, Argentina. 639-655 pp.

MOREL, P.C. 1989. *Manual of Tropical Veterinary Parasitology*. CAB International, Wallingford, Reino Unido. 473 p.

RYMASZEWSKA, A.; GREINDA, S. 2008. Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Vet Med* 53, 573-584. (Disponible: <http://www.vri.cz/docs/vetmed/53-11-573.pdf> verificado: 13 de marzo de 2018).

SCOLES, G.A.; BROCE, A.B.; LYSYK, T.J.; PALMER, G.H. 2005. Relative efficiency of biological transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) compared with mechanical transmission by *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *J Med Entomol.* 42, 668-675. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16119558> verificado: 23 de marzo de 2018).

SMITH, R.D.; HUNGERFORD, L.L.; ARMSTRONG, C.T. 1989. Epidemiologic investigation and control of an epizootic of anaplasmosis in cattle in winter. *J Am Vet Med Assoc.* 195, 476-480. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2777688> verificado: 30 de marzo de 2018).

STILLER, D.; COAN, M.E. 1995. Recent developments in elucidating tick vector relationship for anaplasmosis and equine piroplasmosis. *Vet Parasitol.* 57, 97-108. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7597797> verificado: 17 de marzo de 2018).

SWIFT, B.L.; PAUMER, R.J. 1976. Vertical transmission of *Anaplasma marginale* in cattle. *Theriogenology* 6, 515-519. (Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X76901199> verificado: 17 de marzo de 2018).

TABACHNICK, W.J. 2010. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epizootics in a changing world. *J Exp Biol.* 213, 946-954. (Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20190119> verificado: 10 de marzo de 2018).



Received March 15th 2019// Accepted February 21th 2020 // Published online June 30th 2021

# Methodological performance of selenium determination in ruminal fluid by hydride generation atomic absorption spectroscopy

BRAMBILLA, E.C.<sup>1</sup>; CSEH, S.B.<sup>1</sup>; FERNÁNDEZ, E.L.<sup>1</sup>; SAN MARTINO, S.<sup>1</sup>

## ABSTRACT

Selenium (Se) is a trace element used by multiple enzymes. In ruminants, Se present in food is released to ruminal fluid allowing its absorption in the small intestine. Se release may be analysed by hydride generation atomic absorption spectroscopy (HG-AAS). According to the Association Official of Analytical Chemists (AOAC), analysing the methodological performances is important to support the results of a methodology. The aim of this study was to develop and verify the analytical methodology of Se determination in ruminal fluid by HG-AAS. According to the AOAC guide, the parameters to be analyzed, and their respective acceptance criteria (AC) are: applicable range (AC: 0.220 - 9.68 µg/l), bias (AC: 70-125%), precision by repeatability (RSDr%) (AC: < 21%), intermediate precision (RSDip%) (AC: < 21%), recovery (AC: 80-110%), limit of detection (LOD) (AC: < 0.22 µg/l), and relative uncertainty (AC: <15%). The technique used is based on a wet digestion of ruminal fluid with HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HNO<sub>3</sub> concentrated at temperatures ranging from 120°C to 180°C. Then the digest was pre-reduced in HCl at 50 % and was quantified in the HG-AAS. The results obtained were: LOD 0.196 µg/l, bias 96.8% (1.25 µg/l); 98.3% (2.50 µg/l); 94.8% (5.00 µg/l), precision by repeatability 8.61% (3.28 µg/l); 8.90 % (3.52 µg/l); 9.80% (1.85 µg/l), intermediate precision RSDip 10.2%, recovery 109.2% (10 µg/l); 96.7% (25 µg/l); 96.8% (50 µg/l) and applicable range 0.196-62.5 µg/l. The values obtained are within the requirements stated by the AC.

**Keywords:** selenium, ruminants, bovine, hydride generation atomic absorption spectrometry.

## RESUMEN

*El selenio (Se) es un elemento traza utilizado por múltiples enzimas. En rumiantes, el Se de los alimentos es liberado hacia el licor ruminal y esto permite su absorción en el intestino delgado. El Se liberado puede ser analizado por espectrofotometría de absorción atómica con plataforma de hidruros (HG-AAS) De acuerdo con la asociación oficial de química analítica (AOAC) analizar la performance metodológica es importante para respaldar los resultados de una metodología. El objetivo de este estudio fue el desarrollo y verificación de la metodología analítica de la determinación de Se en fluido ruminal mediante un HG-AAS. De acuerdo con la guía de la AOAC, los parámetros para analizar para esto, y sus respectivos criterios de aceptación (CA), son: rango aplicable (CA: 0,22-9,68 µg/l), bias (CA: 70-125%), precisión por repetibilidad (CA: RSDr <21%), precisión intermedia (CA: RSDR <21%), recuperación (CA: 80-110%) y límite de detección (LOD) (CA: <0,22*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Unidad Integrada Balcarce (INTA-UNMdP) Ruta Nacional 226, km 73,5. Balcarce, Buenos Aires. Argentina.  
Correo electrónico: brambilla.emilio@inta.gob.ar

$\mu\text{g/l}$ ), *incertidumbre relativa expandida* (CA: <15%). La técnica que se utilizó se basó en una digestión húmeda del fluido ruminal con  $\text{HClO}_4$  (c),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (c) y  $\text{HNO}_3$  (c) a temperaturas que van de los 120 °C a 180 °C. Luego se realiza una prerreducción del equis con HCl al 50% y se cuantificó en el HG-AAS. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: LOD 0,196  $\mu\text{g/l}$ , Bias 96,8% (1,25  $\mu\text{g/l}$ ); 98,3% (2,50  $\mu\text{g/l}$ ); 94,8% (5,00  $\mu\text{g/l}$ ), *equisite por repetibilidad* 8,61% (3,28  $\mu\text{g/l}$ ); 8,90% (3,52  $\mu\text{g/l}$ ); 9,80% (1,85  $\mu\text{g/l}$ ), *equisite intermedia RDSR* 10,2%, *recuperación* 109,2% (10  $\mu\text{g/l}$ ); 96,7% (25  $\mu\text{g/l}$ ); 96,8% (50  $\mu\text{g/l}$ ) y *rango equisites* 0.196-62,5  $\mu\text{g/l}$ . Los valores obtenidos están dentro de los equisites mínimos indicados por los CA.

**Palabras clave:** selenio, ruminates, bovinos, espectrofotómetro de absorción atómica con plataforma de hidruros.

## INTRODUCTION

### Biological interest

Nowadays, it is known that in mammals, Se is a trace element used by more than 30 Se-proteins in various metabolic pathways, in which it behaves as a cofactor. They incorporate the mineral co-transporting it as a cysteine residue, an amino acid that contains a sulphur atom which is replaced by Se to form Se-cysteine (Suttle, 2010; Schomburg, 2011; Combs, 2015).

Many Se-proteins have antioxidant functions. This is essential for mammals, since they protect the tissues from the attack of reactive oxygen species (ROS) which are secondary products of energy metabolism. An imbalance between the production of ROS and antioxidants can initiate oxidative chain reactions and peroxidation on lipids, proteins and DNA, causing serious cellular damage (Jaramillo *et al.*, 2005; Chauhan *et al.*, 2014).

In mammals, Se is incorporated into the organism primarily from food, but with differences in absorption efficiency (Se absorbed/Se in food). In non-ruminants and pre ruminants, efficiency ranges from 0.85 to 0.90, while in ruminants it is less, with values between 0.31-0.59, due to reduction of dietary Se to insoluble forms, such as elemental Se or selenide in the ruminal environment (Spears, 2003; Suttle, 2010).

Se absorption mainly occurs in the first portion of the small intestine, but for this to happen, it must be solubilised from food. In ruminants, Se release from food to the ruminal fluid is essential for its posterior absorption. So, it is crucial to clarify the release of the mineral from the forage to the ruminal liquor (Suttle, 2010; Combs, 2015).

### Selenium quantification in ruminal fluid

The quantitative analysis of Se in biological samples has always been a challenge for researchers due to the low concentration present in this type of material and its high volatilization during the decomposition of the sample. There are a large number of methodologies for quantifying this mineral, such as: graphite furnace coupled to an atomic

absorption spectrophotometer, spectrofluorometry, inductive coupling plasma to mass spectrometer, HG-AAS, among others. Spectrofluorometry and HG-EAA are the most frequently used techniques for the determination of Se in biological samples, due to their relatively low cost and minimal interference. The other techniques mentioned, although they allow the detection of Se at low concentrations and have more sensitivity, have more interference and are more expensive (Combs, 2015; Tinggi *et al.*, 1992; Smrkolj *et al.*, 2004).

The determination of Se by HG-EAA is a methodology that allows readings of low concentrations, of the order of 0.1  $\mu\text{g/l}$ . To quantify a sample by this technique, it must be previously mineralized by wet digestion with concentrated acids and adequate heating can be carried out (Welz *et al.*, 1985).

### Performance verification

As mentioned above, it was important to develop a methodology to quantify Se in ruminal fluid. The methodology developed uses hydride generation atomic absorption spectroscopy (HG-AAS) to quantify Se.

To verify the reliability of the technique, the performance was evaluated. Such verification is extremely important. It is required on quality management systems, particularly the ISO 17025/IRAM 301 (IRAM, 2005), as a general condition for testing in calibration laboratories. This allows to know the functional characteristics of the method, providing a high level of confidence on it (AOAC, 2016).

To check the performance of the determination, Appendix F of the AOAC guide (AOAC, 2016) was used. It contains a detailed description of the minimum requirements of analytical performance to be analysed, according to the type of technique, in order to evaluate the performance. As Se quantification in ruminal bovine fluid by HG-AAS is categorized as a quantitative determination of a trace element, the analytical parameters necessary to evaluate are: applicable range, bias, precision by repeatability, intermediate precision, recovery, limit of detection (LOD) and relative uncertainty, all of which will be defined later.

Prior to the analysis of the above-mentioned parameters, acceptance criteria (AC) were established. These are the

values that the method should fulfil in order to be reliably used for the required purposes. Some acceptance criteria were established by the AOAC guide (AOAC, 2016), while others were fixed by the professional in charge of the validation. Both are indicated below.

### Objective

To develop and verify a methodological analytical performance of Se determination in ruminal fluid by HG-AAS.

## MATERIALS AND METHODS

### Sample preparation

The ruminal fluid used was extracted from a fistulous animal, which was fed with a stipulated and constant diet. This guaranteed approximately the same microbial population in the fluid over time. The ruminal fluid was wrung out and filtered through a cheesecloth to separate traces of forage. It was maintained in isothermal and anaerobic conditions (39 °C) until its analysis to maintain the microbial environment.

### Analytical technique

An HG-AAS was used where the reaction of acidified aqueous samples with a reducing agent, such as sodium borohydride (NaBH<sub>4</sub>). This reaction generates volatile selenium hydride (SeH<sub>2</sub>) which was transported to a quartz cell by means of an argon carrier gas. This cell was at 900°C, which promotes the conversion to gaseous metal atoms (Se<sup>0</sup>). In the quartz cell, the generated analyte metal atoms are contained in the path of a light emitted by an EDL lamp (electrodeless discharge lamp). Thus, the atoms absorb part of the beam, and this is used by the computer to quantify the Se of the sample (PERKINELMER. 2000).

The method used is based on wet digestion of 5 ml of ruminal fluid with HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and HNO<sub>3</sub> concentrated (2:1:3). The sample was put in a thermostatic aluminium block programmed with ramps of temperatures ranging from 120 °C to 180 °C. The digest obtained must be transparent or slightly yellow (Alfthan. 1984; Raptis, *et al.*, 1983).

Once digestion was completed, the digest was resuspended in 25 ml with doubly distilled water. In these conditions, all species of Se present in the fluid were in a state of oxidation +4 or +6. Since only the species +4 generate hydrides, it was necessary to pre-reduce the digest before reading it in the HG-AAS. For pre-reduction 10 ml of digest were put with 5 ml of HCl (c) in a water bath at 90° C for 20 minutes. Later, such mixture was taken to 25 ml with doubly distilled water.

Then, the generation of hydrides with a FIAS 100 generator took place, using HCl 10% (v/v) as a carrier solution, NaBH<sub>4</sub> 0.2% (w/v) in NaOH 0.05% (P/V) as reducing solution and Ar as a carrier gas at a flow rate of 80 ml/min (Perkinelmer, 2000).

## Verification of the methodological performance

### Acceptance criteria

They are boundary values established to compare with the results of the performance analysis and verify the applicability of the method. They were adjusted by the person responsible for the test, in a reliable and scientific manner (table 1).

### Parameters analysed-Calculations

The AOAC, in its guide, prescribes the minimum requirements for analytical performance. These parameters are calculated as follows (AOAC. 2016):

- Limit of detection (LOD): is the lowest concentration of analyte that can be quantified, with a 99% probability that it is not an equipment noise. It is considered that a quantification below LOD is no longer reliable, because the uncertainty related to the measurement would be larger than the measurement value itself.

$$LOD = Bco + 3 \times Sbco$$

Bco: Average signal of 10 calibration blanks.

Sbco: Standard deviation of the mean of 10 targets

The AC established for this parameter was adjusted based on the lowest concentration found in the bibliography (Serra *et al.*, 1994; Ruggieri *et al.*, 2016).

- Applicable range: is the Se concentration range that the method can measure without additional dilutions. It is characterized by the range that goes from the LOD until the last standard in the calibration curve, multiplied by 12.5, which is the dilution factor of the sample. The AC established had at least the lowest concentration (0.220 µg/l) and at most the highest concentration found in the bibliography (9.68 µg/l) (AOAC, 2016; Serra *et al.*, 1994).
- Bias (Bias %): is the analyte concentration that is recovered from certified standard when the sample is carried out throughout the whole method (or the maximum possible part). In our case, it was not possible to have a certified ruminal liquor standard. Then, as it is suggested by AOAC (2016), samples fortified with a certified standard solution of 980 ppm of Se in 1% HNO<sub>3</sub> were used. We analyzed 5 independent replicates of 3 levels of fortification. The AC established corresponded to that determined by the Shah conference reports *et al.* (1992; 2000), widely accepted in bioanalytical analyses. The calculation was:

$$Bias(\%) = [(Co/Ca) - 1] \times 100$$

Co: Obtained concentration

Ca: Added concentration

- Precision: is the degree of concordance between the obtained results from replicated measurements over the same object under specific conditions. It is a parameter only related to the random error. The specific conditions may be:
  - Repeatability (RSDr): is the degree of concordance between the results of independent analyses done

with the same method, over the same sample, in the same lab, by the same operator, on the same day. Seven independent replicates of three samples with different concentration levels were analysed. For this parameter, the AC is the one suggested by the AOAC in appendix F (2016); which is indicated according to the native concentration of the sample. The RSDr % was characterized for each level as:

$$RSDr (\%) = \frac{Sm}{Xm} \times 100$$

Sm: Standard deviation of the mean of the replicates in each concentration.

Xm: Average of the replicates in each concentration.

- Intermediate Precision (RSDip): is the degree of concordance between the results of independent analyses done with the same method, over the same sample, in the same lab, by the same operator, on different days, with different calibration curves. The established AC is the one suggested by AOAC in appendix F (2016) for the precision by repeatability, assuming that the variation between days is not significant. Seven replicates of a sample were analysed on three different days, and the total RSDip was characterized as:

$$RSDip (\%) = \frac{SM}{XM} \times 100$$

SM: Standard deviation of the mean of the replicates throughout the days.

XM: Mean of the replicates throughout the days.

- Recovery (Recup.f %): is the fraction or percentage of the analyte that is quantified in a fortified sample. Seven replicates at three fortification levels (50, 25 and 10 µg/l) were analysed over the same sample of ruminal liquor.

The established AC is that suggested by AOAC in appendix F (2016), which is indicated according to the native concentration of the sample. The average percentage of recovery for each level of concentration was characterized as:

$$Recup.f (\%) = \left( \frac{Lf-Ls}{Cf} \right) \times 100$$

Lf: Concentration read in the fortified ruminal fluid.

Ls: Concentration read in the not fortified ruminal fluid.

Cf: Fortification concentration.

- Expanded relative uncertainty (UREL %): is a parameter associated to the result of a measurement which characterizes the dispersion of the values that might be reasonably attributed to the measure. The established AC is suggested by the United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) (2009) in its guide for methods validation (OAA, 2013; AOAC, 2013; Ruggieri *et al.*, 2016). The UREL % can be calculated through the “black box” model. In this model, proposed by Reyes and Cerezo

(2009), only the Bias and the intermediate precision are considered for the calculation of the uncertainty, as can be seen in the following equation:

$$UREL (\%) = \sqrt{2x \left( \frac{RSDip\%}{n} \right)^2 + \left( \frac{Bias}{\sqrt{3}} \right)^2}$$

UREL %: expanded relative uncertainty.

RSDip%: coefficient of variation of intermediate precision.

n: number of days in which the intermediate precision was analysed.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained by analysing the parameters required to evaluate the technique performance are shown in table 1:

Parameter	CA	Value obtained
<b>Limit of detection (LOD)</b>	< 0.22 µg/l	0.196 µg/l
<b>Applicable range</b>	0.220 – 9.68 µg/l	0.196-62.5 µg/l
<b>Bias %</b>	15%	10 µg/l: 6.8%
		25 µg/l: 10.9%
		50 µg/l: 6.0%
<b>Precision by repeatability (RSDr)</b>	< 21%	3.28 µg/l: 6.2%
		3.52 µg/l: 9.8%
		1.85 µg/l: 9.8%
<b>Intermediate Precision (RSDip)</b>	< 21%	3.52 µg/l: 10.2%
<b>Recovery (Recup.f %)</b>	80 - 110%	10 µg/l: 109.2%
		25 µg/l: 96.7%
		50 µg/l: 96.8%
<b>Expanded relative uncertainty (UREL %)</b>	< 15%	12.5%

Table 1. Results of the analysed parameters.

The methodology was developed based on the available equipment and capabilities in the laboratory, following the guidelines established by Alfthan (1984); Tinggi *et al.* (1992) and Raptis *et al.* (1983).

As table 1 shows, all the parameters studied are within the limits of the AC. In the case of LOD, it was not possible to find references to discuss data for this parameter in ruminal fluid.

In the case of the applicable range, this exceeds what is required in the AC, which allows to loosely cover the range of possible Se concentrations in ruminal fluid (Serra *et al.*, 1994; Koenig *et al.*, 1997).

For Bias, it is observed that the differences obtained among the three concentrations of fortification that were used and the theoretical value are both in agreement with the AC established. The values coincided with the ones obtained by Tinggi *et al.* (1992), who informed Bias % with fortified biological samples that fluctuated between 0-8.3%; but they were higher to the ones obtained by Navarro *et al.* (1995), which indicated up to 3.84%.

The precision by repeatability was within the terms of the AOAC (2016) guide, which takes into account the possible repeatability value based on the range of analyte concentrations. A limit of 21% is suggested for RSDr. Kadražova *et al.* (1997) and Surai *et al.* (2008) obtained RSDr of 1.1-3.8% and 1-5%, respectively.

The intermediate precision obtained is below the established AC. Alfthan (1984) obtained RSDip between 3.6-5.7% for concentrations of 49.4; 129 and 1025 µg/l of Se, respectively. The RSDip mentioned are inferior to those obtained in this work, but the authors worked with higher Se concentrations (3.5 µg/l of Se).

The recoveries with fortified samples are included within the limits suggested by the AOAC (2016), according to the range of Se concentrations, of 60-115%. They were also similar to those obtained by other authors. Maher (1987) obtained recoveries of 97% in biological samples, Tinggi *et al.* (1992) of 104%, Alfthan (1984) of 101% and Kadražova *et al.* (1997) from 93.9 to 101%, all of them in diverse concentrations and biological samples.

The expanded relative uncertainty was also below the AC for the purposes required. It was not possible to get references to compare this parameter for ruminal fluid.

## CONCLUSIONS

The obtained values are within the minimum requirements indicated by the AC. In this way, it is concluded that the performance of the technique is suitable for the quantification of Se in ruminal fluid.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) with headquarters in Balcarce, for having financed the research.

## REFERENCES

ALFTHAN, G. 1984. A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test-tube fluorometry. *Analytica Chimica Acta*. 165, 187-194.

AOAC INTERNATIONAL. 2012. Appendix K: Guidelines for single-laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals.1-32 (Available at: [http://www.aoac.org/aoac\\_prod\\_imis/AOAC\\_Docs/StandardsDevelopment/eoma\\_appendix\\_k.pdf](http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/eoma_appendix_k.pdf) verified: March 2019).

AOAC INTERNATIONAL. 2016 Appendix F: Guidelines for standard methods performance requirements. 1-16 pp. (Available at: [http://www.eoma.aoac.org/app\\_f.pdf](http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf) verified: March 2019).

CHAUHAN, S.S.; CELI, P.; PONNAMPALAM, E.N.; LEURY, B.J.; LIU, F.; DUNSHEA, F.R. 2014. Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and product (meat/milk) quality: role of vitamin E and selenium. *Animal Production Science*, 54(10), 1525-1536.

COMBS, F.G. 2015. Biomarkers of Selenium Status. *Nutrients*, 7(4), 2209-2236. doi:10.3390/nu7042209

IRAM. 301: 2000/ISO/IEC 17025. 2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. IRAM. Buenos Aires. 29 p.

JARAMILLO, S.; VILLA, N.A.; PINEDA, A.F.; GALLEGOS, Á.B. 2005. Actividad Sanguínea de Superóxido Dismutasa Y Glutatión Peroxidasa En Novillas a Pastoreo. 40(11), 1115-1121.

KADRAŽOVA, J.; MADARIĆ, A.; GINTER, E. 1997. The selenium content of selected food from the Slovak Republic. *Food Chemistry*. 58 (1-2): 29-32.

KOENIG, K.M.; BUCKLEY, W.T.; SHELFORD, J.A. 1990. True absorption of selenium in dairy cows: Stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. *Canadian Journal of Animal*. 71: 175-183.

MAHER, W.A. 1987. Decomposition of marine biological materials for the determination of selenium by fluorescence spectrometry. *Microchemical Journal*. 35(1), 125-129.

NAVARRO, M.; LÓPEZ, H.; RUIZ, M.L.; GONZÁLEZ, S.; PEREZ, V.; LÓPEZ, M.C. 1995. Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake. *Science of the Total Environment*. 175(3), 245-252.

ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN (OAA). 2013. Guía para la validación de métodos de ensayo. GUI-LE-03. Versión: 1; 11.

PERKINELMER. 2000. Flow Injection Mercury/hydride Analysis: Recommended Analytical Conditions and General Information. USA. 1-16; 2-29 pp.

RAPTIS, S.E.; KAISER, G.; TÖLG, G. 1983. A survey of selenium in the environment and a critical review of its determination at trace levels. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie*. 316(2), 105-123.

REYES, M.; CERESO, M.J. 2009. Consideraciones sobre la evaluación de la incertidumbre. *V Iberolab*: 1-3 p.

RUGGIERI, F.; ALIMONTI, A.; BOCCA, B. 2016. Full validation and accreditation of a method to support human biomonitoring studies for trace and ultratrace elements. *Trends in Analytical Chemistry*. 80, 471-485. doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.023.

SCHOMBURG, L. 2011. Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *NATURE REVIEWS ENDOCRINOLOGY*, 8(3), 160-171. doi:10.1038/NREN-DO.2011.174.

SERRA, A.B.; NAKAMURA, K.; MATSUI, T.; HARUMOTO, T.; FUJIHARA, T. 1994. Inorganic selenium for sheep I. Selenium balance and selenium levels in the different ruminal fluid fractions. *Asian Journal of Animal Science* 7, 83-89.

SHAH, V.P.; MIDHA, K.K.; DIGHE, S.; MCGILVERAY, I.J.; SKELLY, J.P.; YACOBI, A.; PITTMAN, K.A. 1992. Analytical methods validation: Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 81(3), 309-312.

SHAH, V.P.; MIDHA, K.K.; FINDLAY, J.W.; HILL, H.M.; HULSE, J.D.; MCGILVERAY, I.J.; TONELLI, A. 2000. Bioanalytical method validation-a revisit with a decade of progress. *Pharmaceutical Research*. 17(12), 1551-1557.

SMRKOLJ, P.; STIBILJ, V. 2004. Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 512(1), 11-17.

SPEARS, J.W. 2003. Trace mineral bioavailability in ruminants. *Journal of Nutrition*. 133(5), 1506-1509.

SURAI, P.F.; TAYLOR-PICKARD, J.A. 2008. Current advances in selenium research and applications. Wageningen Academic Publishers. (1), 351. doi: 10.3920/978-90-8686-642-7.

SUTTLE, N.F. 2010. Mineral nutrition of livestock. in: selenium. 4th. ed. CAB International. 377-425.

TINGGI, U.; REILLY, C.; PATTERSON, C.M. 1992. Determination of selenium in foodstuffs using spectrofluorometry and hydride

generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*. 5(4), 269-280.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME (UNODC). 2009. Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens. United Nations: New York. 67.

WELZ, B.; MELCHER, M. 1985. Decomposition of marine biological tissues for determination of arsenic, selenium, and mercury using hydride-generation and cold-vapor atomic absorption spectrometers. *Analytical Chemistry*. 57(2): 427-431.

Recibido 21 de mayo de 2019 // Aceptado 26 de febrero de 2020 // Publicado online 12 de mayo de 2021

# Efectos del control inicial de malezas sobre el crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. en el departamento Comandante Fernández, Chaco Argentina

ATANASIO, M.A.<sup>1</sup>; PERNOCHI, L.S.<sup>1</sup>; BURDYN, B.<sup>1</sup>; GUEVARA, G.<sup>1</sup>

## RESUMEN

Se estudió la eficiencia de diferentes herbicidas en el control inicial de malezas y su efecto sobre el crecimiento de los plantines de *Prosopis alba* durante los primeros meses de plantación. El ensayo se instaló en un suelo de textura pesada en superficie y subsuelo (Argiustol údico), empleando un diseño al azar con 5 tratamientos y 5 repeticiones. Se observó el porcentaje de control de malezas a los 14, 28, 62, 91, 130 y 153 días después de la aplicación (DDA). Se midió el diámetro a la altura del cuello (DAC) y altura total a los 1, 3 y 10 meses de edad. El tratamiento con Diclosulam 84 g fue el más eficiente alcanzando más del 80% de control de malezas hasta los 5 meses después de la aplicación. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos de control de malezas y su interacción con el periodo de medición, en el análisis del DAC y altura total, los cuales alcanzaron crecimientos de 20,7 y 21,9% mayor que el testigo sin aplicación, respectivamente, a los 10 meses de edad. El control inicial de malezas empleando herbicidas incrementó significativamente el crecimiento en diámetro y altura de las plantas de *Prosopis alba*.

**Palabras clave:** crecimiento, diámetro, altura, algarrobo blanco.

## ABSTRACT

*Initial weeds control efficiency with different herbicides and its effect on the growth of Prosopis alba trees were studied during the first months of planting. The test was installed on a soil with a heavy texture on the surface and subsoil (Argiustol údico), using a randomized design with 5 treatments and 5 repetitions. The percentage of weed control was observed at 14, 28, 62, 91, 130 and 153 days after the application (DAA). The collar diameter (CD) and total height were measured at 1, 3 and 10 months of age. The treatment with Diclosulam 84 gr was the most efficient, reaching more than 80% of weed control until 5 months after the application. Statistically significant differences were found between the different weed control treatments and their interaction with the measurement period, in the analysis of CD and total height, which reached growths of 20.7 and 21.9% higher than the control without application, respectively, at 10 months of age. The initial control of weeds using herbicides significantly increased the growth in diameter and height of Prosopis alba plants.*

**Keywords:** growth, diameter, height, white carob.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Sáenz Peña, ruta 95 km 1108. Chaco, Argentina.

Correo electrónico: atanasio.marcos@inta.gov.ar; pernochi.lorena@inta.gov.ar; burdyn.belen@inta.gov.ar; guevara.graciela@inta.gov.ar

## INTRODUCCIÓN

El algarrobo blanco (*Prosopis alba* Griseb.) es una de las Mimosáceas argentinas de mayor importancia económica (Tortorelli, 1956). Junto con otras especies del género *Prosopis* son considerados como uno de los más valiosos recursos madereros en la región chaqueña (Giménez *et al.*, 2008). Es la especie predominante en las forestaciones existentes de la provincia del Chaco y de la región, por sus usos múltiples además de su excelente calidad maderable y su capacidad de adaptarse a diversos sitios y de consociarse con otras producciones. La superficie forestada con algarrobo en la provincia del Chaco alcanza las 3.260 hectáreas (IIFA: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 2018).

Una de las problemáticas importantes en la etapa de establecimiento de las plantaciones es el control de malezas por la competencia que estas ejercen sobre los plantines recién instalados (Larocca *et al.*, 2004). Estudios realizados con especies de *Pinus* y *Eucalyptus* confirman que un control adecuado de malezas permite aumentar la posibilidad de sobrevivencia y alcanzar mayores crecimientos, dado que reduce la competencia por agua, nutrientes y luz, sobre todo durante el primer año de plantación. Aparicio *et al.* (2018) encontraron en *Eucalyptus grandis* en Corrientes, Argentina, a los 24 meses de edad, valores de área basal y volumen, 35% y 50% superiores con control total de malezas respecto al control de malezas en banda de plantación. Pezzutti y Caldato (2004) estudiando plantaciones localizadas en Corrientes, Argentina, encontraron mejoras en el crecimiento de *Pinus elliotii* var. *elliotti* y *Pinus elliotii* var. *elliotti* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* cuando fue realizado el control de malezas. Mejoras en el crecimiento de *Eucalyptus grandis* con control de malezas también fueron presentadas por Larocca *et al.* (2004). Achinelli (2007) ha investigado sistemas de control de malezas que contribuyen a mejorar el crecimiento y reducir los costos de plantaciones de *Populus* en el centro-norte de la provincia de Buenos Aires. Existen avances en el conocimiento del manejo silvícola del algarrobo blanco, manejo de densidades, podas y raleos fueron investigados por Delvalle *et al.* (2006), Atanasio (2014), Zárate (2017) y Pérez *et al.* (2016). Pero en referencia con la fase de establecimiento de plantación faltan investigaciones que contribuyan a tener mayor éxito en esta etapa productiva. El control de malezas en las plantaciones de algarrobo puede realizarse de manera química aplicando herbicidas o mecánicamente empleando rastras de discos, rolos o desmalezadoras. Además, puede hacerse de forma localizada, en franjas de plantación o sobre el total de superficie (INTA, 2015). Sin embargo, faltan precisiones en el manejo de malezas y, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de diferentes herbicidas preemergentes y posemurgentes en el control de malezas durante los primeros meses de plantación y el efecto sobre el crecimiento de los árboles de *Prosopis alba*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un lote de la estación experimental agropecuaria del INTA, situada en Presidencia Roque

Sáenz Peña provincia de Chaco, Argentina (26° 51' 16'' S y 60° 25' 25'' O). El suelo donde se plantó el ensayo corresponde a la serie Matanza, es un *Argiustol* údico en lomas medias tendidas, poco evolucionadas, de relieve normal, de textura pesada en superficie y subsuelo. Medianamente provisto de materia orgánica, medianamente alta capacidad de retención de agua, con pH neutro en superficie, débilmente ácido en subsuelo y ligeramente alcalino en el horizonte C; muy rico en calcio, magnesio y potasio, moderadamente alta capacidad de intercambio de cationes; bajo porcentaje de saturación de bases. Es un suelo moderadamente profundo con penetración efectiva de raíces hasta 1 m.

Previo a la realización del ensayo, debido a que se encontraba una gran infestación de malezas de ciclo primavera-estival y otras perennes, todas en estado reproductivo, se realizó un control de estas. El control consistió en laboreo al suelo con 2 pasadas excéntricas, y luego una aplicación con glifosato al 62% 2,5 litros por hectárea en toda el área de estudio (fecha: 25-02-2016).

## Diseño experimental

Se empleó un diseño al azar con 5 tratamientos y 5 repeticiones. Los tratamientos consistieron en la aplicación de distintos productos químicos herbicidas de acción preemergentes y posemurgentes y una parcela control sobre la cual solamente se practicó desmalezados de mantenimiento (tabla 1). Las aplicaciones se realizaron previamente a la plantación (04-03-2016), con una mochila manual provista de cuatro boquillas abanico plano TeeJet 8002, aplicando un volumen de 185 l.ha<sup>-1</sup>, sobre la superficie total de la parcela. Las dosis utilizadas fueron las recomendadas por el marbete de cada producto. Las condiciones de humedad del suelo fueron óptimas, se registró 49 mm de precipitación dos días antes de la aplicación. El tamaño de la parcela fue de 18 m de ancho por 21 m de largo (378 m<sup>2</sup>), cada una se señaló en sus vértices con un color que identifique el tratamiento, en estas se plantaron 18 plantas de algarrobo distanciadas a 3 m x 7 m. La plantación se realizó el día 7 de marzo de 2016 de forma manual (hoyado con pala de punta) y se aplicó un riego asiento inmediatamente después de plantar. Luego de la plantación, los días 9 y 12 de marzo se registraron precipitaciones de 12 y 24 mm, respectivamente, totalizando el mes de marzo 126,4 mm (datos obtenidos del registro meteorológico de la EEA INTA Saenz Peña). Las cuatro plantas centrales de cada parcela constituyeron el núcleo sobre las cuales se realizaron las mediciones de control. Estas fueron protegidas de eventuales ataques de liebres, a través de botellas plásticas sostenidas por un tutor de madera. Los plantines utilizados provienen de semillas origen Campo Duran (Salta), producidos en bandejas de 24 cavidades, de sección circular, 20 cm de altura y 5 cm de diámetro. El tamaño de plantines fue de 41,02 ± 3,28 cm de altura parte aérea y 2,87 ± 0,16 mm de DAC, con un índice de esbeltez (Schmidt-Vogt, 1980) de 0,47.



Código	Tratamientos herbicidas	Dosis/ha
1	Imazetapir 10%	1 l
2	Sulfometurón metil 15% Clorimurón etil 20%	100 g
3	Diclosulam 84%	30 g
4	Imazapyr 48%	250 g
5	Testigo	Sin aplicación

Tabla 1. Tratamientos y dosis de herbicidas aplicados.

Para la evaluación de la eficacia biológica de los herbicidas a campo se utilizó el método cualitativo que evalúa fundamentalmente variables como el porcentaje de control

visual de malezas respecto a un testigo sin control, según escala desarrollada por la Asociación de América Latina de Malezas (ALAM, 1974). La escala de valores de 0% al 100%, donde el 0% representa ningún control y 100% la muerte completa de la planta. El control se determinó por observación a los 14, 28, 62, 91, 130 y 153 días después de la aplicación (DDA) y los resultados se expresaron en porcentaje respecto a un testigo sin control químico. Se efectuaron observaciones periódicas (cada 15 días hasta los 3 meses de edad) a los efectos de evaluar toxicidad de los productos sobre las plantas de algarrobo. Para evaluar el crecimiento de los árboles se midió a los 1, 3 y 10 meses de edad, las variables: diámetro a la altura del cuello (DAC) en milímetros, medido en la base de la planta con calibre metálico y altura total en centímetros medido con cinta métrica de 3 metros, con precisión al milímetro.

Especies encontradas	Tratamientos				
	Imazetapyr	Sulfometurón + Clorimurón	Diclosulam	Imazapyr	Testigo
<i>Sonchus</i> sp. (Cerraja)	x	x	x	x	x
<i>Gamochoaeta</i> sp. (Peludilla)	x	x	x	x	x
<i>Sorghum halepense</i> (Sorgo de alepo)	x	x	x	x	x
<i>Ammi majus</i> y <i>Ammi visnaga</i> (Biznaga)	x	x	x	x	x
<i>Baccharis salicifolia</i> (Chilca)	x				
<i>Argemone</i> sp. (Cardo santo)	x	x	x		
<i>Conyza</i> sp. (Rama negra)	x				x
<i>Coronopus didymus</i> (Mastuerzo)	x				
<i>Hybanthus parviflorus</i> (Violetilla)		x			x
<i>Cynodon dactylon</i> (Gramilla)		x	x		
<i>Verbena</i> sp.		x	x	x	x
<i>Nicotiana longiflora</i> (Tabaquillo)		x	x	x	x
<i>Digitaria insularis</i> (Pasto amargo)		x			
<i>Echinochloa colona</i> (Pasto cañada)		x	x		
<i>Chamaesyce hirta</i> (Lecherita)		x			
<i>Oxalis</i> sp.		x			
<i>Solanum</i> sp.		x	x		x
<i>Boerhavia diffusa</i>			x		
<i>Bidens</i> sp. (Amor seco)			x		x
<i>Ipomea</i> sp. (Enredadera)			x		
<i>Chenopodium álbum</i> (Quinoa)			x		
<i>Plantago</i> sp. (Llantén)			x		x
<i>Amaranthus</i> sp. (Yuyo colorado)			x		
<i>Descurainia argentina</i> (Altamisa colorada)					x
<i>Cyperus</i> sp. (Cebollin)					x
<i>Glandularia peruviana</i> (Margarita punzo)					x
<b>Total de especies presentes</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>6</b>	<b>14</b>

Tabla 2. Especies de malezas encontradas en los distintos tratamientos a los 153 días después de las aplicaciones.

Se analizó estadísticamente el efecto del control de malezas sobre el DAC y altura por medio de modelos lineales generales y mixtos del programa InfoStat [versión 11/09/2017]-[R 3.2.4] (Di Renzo *et al.*, 2017).

## RESULTADOS

### Control de malezas

Los resultados obtenidos de las observaciones realizadas muestran que hasta incluso los 62 días posteriores a la aplicación todos los tratamientos superaron el 85% de control.

A los 91 días solo los tratamientos 2 y 3 superaron el 80% de control. El tratamiento 3 (Diclosulam 84 g) superó el 90% de control de malezas a los 130 días y se diferencia significativamente de los demás tratamientos manteniendo un control de 81% contra el resto que no superó el 40% de control a los 153 días posteriores a la aplicación.

Al comparar los distintos tratamientos se observa cómo se va modificando el control de malezas en el tiempo (figura 1). El tratamiento con Diclosulam mantiene un control por encima del 80% en todas las observaciones realizadas, incluso 5 meses después de las aplicaciones (153 días).

Al analizar las especies de malezas presentes en los distintos tratamientos a los 153 días, se observó que los tratamientos con Imazetapyr e Imazapyr fueron los que presentaron menor diversidad de especies. Tal como lo indica la tabla 2.

### Efecto del control de maleza sobre el DAC y la altura total

Los valores medios del DAC y altura total fueron influenciados por los tratamientos de control de malezas a los 10 meses posteriores a la aplicación, mostrando que los crecimientos son mayores cuando mayor es el control de malezas en la plantación de *Prosopis alba*. En la tabla 3 y 4 se observa que en los tratamientos 2 (Sulfometurón metil + Clorimurón etil) y 3 (Diclosulam) se lograron mayores crecimientos en DAC y altura total de las plantas de algarrobo, a los 10 meses de edad de plantación. El crecimiento fue inferior en el testigo y en el tratamiento 1 (Imazetapyr). En general el crecimiento de los árboles fue bueno, favorecido por las buenas condiciones de humedad del suelo, que se produjeron por la distribución de las precipitaciones a lo largo de los periodos de enero-abril de 2016 (489 mm) y septiembre-diciembre de 2016 (480,7 mm), con un bache de escasas de mayo a agosto de 2016 (75,6 mm).

Los tratamientos de control químico de malezas generan diferencias altamente significativas sobre el DAC y altura. Además hubo interacción con el periodo de medición. (tabla 3 y 4). Hasta los tres meses las diferencias en DAP y altura no fueron muy marcadas debido a que todos los tratamientos, excepto el testigo, mantuvieron un alto porcentaje de control de malezas (90%). Sin embargo a los 10 meses de ensayo, las diferencias fueron muy notorias poniendo en evidencia el efecto negativo de la competencia con malezas, sobre el crecimiento de los árboles. Los mayores crecimientos en DAC y altura fueron alcanzados en los tratamientos 2 y 3 y no mostraron diferencias es-

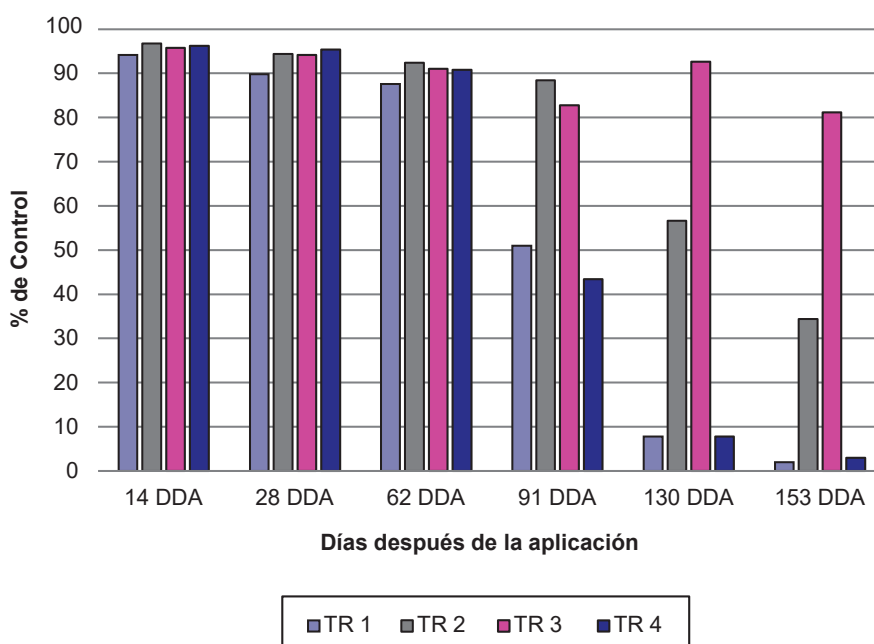


Figura 1. Porcentaje de control de malezas por tratamientos y días después de la aplicación.

Tratamientos	DAC (mm) en las diferentes edades			
	Herbicidas	10 meses	3 meses	1 mes
2 Sulfometurón metil 15 g+Clorimurón etil 20 g		16,35 a	5,55 e	4,26 e
3 Diclosulam 84 g		15,50 ab	5,10 e	3,80 e
4 Imazapyr 48 g		14,80 bc	5,20 e	3,65 e
5 sin herbicida		13,55 cd	4,85 e	3,91 e
1 Imazetapir 10 g		12,38 d	5,52 e	4,00 e

**Tabla 3.** Comparaciones múltiples entre las medias del DAC según las edades de medición. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

tadísticas significativas entre sí, con una leve ventaja en DAC para el tratamiento 2 y en altura para el tratamiento 3. Sin embargo, el tratamiento 3 sostuvo por mayor tiempo el efecto de control sobre las malezas, presentando un 80% de control a los 5 meses posteriores a la aplicación. El tratamiento 1 presentó el menor crecimiento en DAC y altura con valores similares al testigo (5), debido a que la aplicación de este producto logró un porcentaje de control de malezas más bajo (50% de control a los 3 meses).

## DISCUSIÓN

Se analizó el control de malezas de diferentes productos y su efecto en el crecimiento de los árboles de algarrobo blanco al inicio de la plantación. Por un lado, se determinó que hay incidencia significativa del tipo de herbicida utilizado en el control de malezas sobre las variables respuestas que son el DAC y altura total de las plantas a los 10 meses de la plantación. Resultados similares fueron encontrados en *Eucalyptus grandis* por Aparicio *et al.* (2018) y Larocca *et al.* (2004) aplicando control de malezas total y en bandas. También investigaciones sobre *Pinus elliotii* var. *elliotti* y *Pinus elliotii* var. *elliotti* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* de Pezzutti y Caldato (2004) demostraron los beneficios del control de malezas en plantaciones forestales. Por otro lado, cuanto más extenso fue el periodo de control de malezas alcanzado por el tratamiento fue mayor el crecimiento en diámetro y altura de las plantas. Según Rolando y Little (2000) las diferencias entre los tratamientos de control total de malezas y sin control se deben a la

ausencia de competencia por luz, agua y nutrientes, lo que permite la mayor tasa de crecimiento de las plantas. Los resultados encontrados en el presente trabajo concuerdan con estudios realizados por Alvarez *et al.* (2004) en *Pinus radiata* D. Don, en diferentes sitios en Chile en el que se demostró que el crecimiento inicial es mejor realizando control de malezas los dos primeros años. En este sentido Aparicio *et al.* (2018) evaluaron controles de malezas hasta los 6 y 12 meses de edad en *Eucalyptus grandis* en Corrientes encontrando mejores resultados con el control hasta los 12 meses.

Las especies de malezas que se encontraron a los 153 días después de las aplicaciones en los tratamientos Imazetapir e Imazapyr son de ciclo otoño-invernal, presentando además menor diversidad de especies (8 y 6 respectivamente). Esto coincide con las observaciones de los 90 días que en ambos tratamientos fueron los que menor control de malezas presentaron, 51% para Imazetapir y 43% en Imazapyr. Las primeras en emerger tienden a excluir al resto de malezas que emergen con posterioridad, alcanzando una ventaja competitiva sobre el resto por el espacio al ocuparlo primero (Schenk *et al.*, 1999). En los tratamientos con Sulfometurón metil + Clorimurón etil y Diclosulam la diversidad de especies encontradas fueron mayores, 14 para el primero y 16 para el segundo, tanto de ciclo otoño-invernal como primavera-estival, incluso en el testigo donde no se aplicó ningún herbicida se encontraron 14 especies, aunque la diferencia en este último fue que las malezas presentaban un gran desarrollo de plantas, no ocurrió con Sulfometurón metil + Clorimurón etil y Diclosulam, que al

Tratamientos	Altura (cm) total en las diferentes edades			
	Herbicidas	10 meses	3 meses	1 mes
3 Diclosulam 84 g		131,75 a	60,54 c	40,67 d
2 Sulfometurón metil 15 g+Clorimurón etil 20 g		130,95 a	59,10 c	38,63 d
4 Imazapyr 48 g		123,30 a	63,20 c	35,15 d
1 Imazetapir 10 g		112,86 b	59,75 c	39,68 d
5 sin herbicida		108,15 b	57,65 c	37,20 d

**Tabla 4.** Comparaciones múltiples entre las medias de altura total según las edades de medición. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

momento de la observación presentaban un tamaño pequeño debido al efecto residual de los herbicidas.

## CONCLUSIONES

Los tratamientos químicos de control de malezas en plantaciones de algarrobo contribuyen a mejorar significativamente el crecimiento en DAC y en altura total de las plantas.

El máximo de cada variable respuesta a los 10 meses se alcanzó con distintos herbicidas. El máximo crecimiento en altura (131,75 cm, 21,9% mayor que el testigo) se logró con la aplicación de Diclosulam con una dosis de 30 g/ha. El máximo de DAC (16,35 cm, 20,7% mayor que el testigo) se alcanzó con la aplicación de Sulfometurón metil + Clorimurón etil, con una dosis de 100 g·ha<sup>-1</sup>.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que el control de malezas al inicio de la plantación de *Prosopis alba* es una práctica necesaria, ya que permite un mayor desarrollo de las plantas y puede mejorar el establecimiento de la plantación. El uso de herbicidas preemergentes en una sola aplicación al momento de plantar tiene un efecto significativo en el control de malezas. Esto beneficia el crecimiento de los árboles y reduce la necesidad de gastos de mano obra para carpidas o escardas mecánicas frecuentes.

Se recomienda continuar con estudios referidos a la geometría (sobre bandas de plantación; control en el total de superficie) y periodicidad del control de malezas a los efectos de determinar el mejor tratamiento costo efectivo y ambientalmente aceptable, para las condiciones de suelo y clima local y especies competidoras presentes.

## BIBLIOGRAFÍA

ACHINELLI, F.G. 2007. Bases para el desarrollo de un sistema de control de malezas en el establecimiento de plantaciones de *Populus* spp. del centro-norte de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Tesis de grado de Magister Scientiae en Protección Vegetal, con orientación en Manejo Integrado de Plagas. Universidad Nacional de La Plata, FCAYF. <http://hdl.handle.net/10915/1818>

ALVAREZ, J.; VENEGAS, R.; PEREZ, C. 2004. Impacto de la duración y geometría del control de malezas en la productividad de plantaciones de *Pinus radiata* D. Don en cinco ecosistemas del sur de Chile. Nota Técnica. Bosque 25(2): 57-67.

APARICIO, J.L.; MAGGIO, A.; FRAGUEIRO, L. 2018. Control de malezas de *Eucalyptus grandis*: respuesta a diferentes anchos y periodos de control. xxxii Jornadas Forestales de Entre Ríos, Concordia.

ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS (ALAM). 1974. Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación en ensayos de control de malezas. ALAM. Vol 1: 1.35-38 pp.

ATANASIO, M.A. 2014. Influencia de raleos selectivos sobre el crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. xxviii Jornadas Forestales de Entre Ríos, Argentina. 11.ª edición. AIA-NER-INTA Concordia. Poster (595.16-P-Atanasio) y trabajo extendido (595.15-TE-Atanasio).

DELVALLE, P. 2006. Raleos selectivos en forestación joven de algarrobo *Prosopis alba*. II Jornadas Forestales en Santiago del Estero. 6 p.

DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2017. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (Disponible: <http://www.infostat.com.ar>).

GIMENEZ, A.M.; RIOS, N.; MOGLIA, G.; LOPEZ, C. 2008. Leño y corteza de *Prosopis alba* Griseb, algarrobo blanco, Mimosácea, en relación con algunas magnitudes dendrométricas. Bosque (Valdivia). Vol.19. N.º 2. 53-62 pp. (Disponible: <http://mingaonline.uach.cl/gcielo.php?script=sci=-arttext&pid=0717S92001998000200006-&inges&nim=150>). ISSN0717-9200).

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FORESTALES Y AGROPECUARIAS (IIFA). 2018. Presentación de resultados del Inventario de bosques implantados provincia del Chaco, en reunión de mesa de bosques cultivados chaqueños. Sáenz Peña, Chaco.

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). 2015. Avances en la silvicultura del algarrobo blanco. Publicación interna Taller Establecimiento del algarrobo. Dirección de Producción Forestal – INTA. Resistencia, Chaco 33 p.

LAROCCA, F.; DALLA TEA, F.; APARICIO, J.L. 2004. vii Técnicas de implantación y manejo de *Eucalyptus grandis* para pequeños y medianos forestadores en Entre Ríos y Corrientes. xix Jornadas Forestales de Entre Ríos Concordia. 16 p.

PÉREZ, V.R.; CAÑETE, M.C.; VICENTINI, G.M. 2016. Crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. en rodales con distintas densidades postraleo. xxx Jornadas Forestales de Entre Ríos, Argentina.

PEZZUTTI, R.V.; CALDATO, S.L. 2004. Efecto del control de malezas en el crecimiento de plantaciones de *Pinus taeda*, *Pinus elliottii* var. *Elliottii* y *Pinus elliottii* var. *Elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. Nota Técnica. BOSQUE 25(2): 77-87.

ROLANDO, C.; LITTLE, K. 2000. The impact of vegetation control on the establishment of pine at four sites in the summer rainfall region South Africa. ICFR, Bulletin Series. South Africa. 29 p.

SCHENK, H.J.; CALLAWAY, R.M.; MAHALL, B.E. 1999. Spatial root segregation: are plants territorial?. *Advances in Ecological Reseach*. 28: 145-180.

SCHMIDT-VOGT, H. 1980. Characterization of plant material, IUFRO Meeting. S1.05-04. En: RÖHRING, E.; GUS-SONE, H.A. WALDBAU. Zweiter band. Sechste Auflage, Neubearbeitet. Hamburgo y Berlín, 1990. 314 p.

TORTORELLI, L.A. 1956. Maderas y bosques argentinos. Editorial Acme, S.A.C.I. Buenos Aires. 392-396 pp.

ZÁRATE, M.H. 2017. Efecto de la poda, el distanciamiento y su interrelación sobre el crecimiento y la calidad forestal de plantas de *Prosopis alba* Griseb. en la zona de riego de Santiago del Estero. Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires. Área Recursos Naturales. Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano Facultad de Agronomía.

Recibido 01 de julio de 2019 // Aceptado 24 de julio de 2020 // Publicado online 23 de junio de 2021

# Identificación del origen genético de un rodal semillero implantado de *Nothofagus obliqua* a través del análisis de dos regiones intergénicas de ADN de cloroplasto

AZPILICUETA, M.M.<sup>1</sup>; MARCHELLI, P.<sup>1</sup>; APARICIO, A.G.<sup>1</sup>; PASTORINO, M.J.<sup>1</sup>

## RESUMEN

En planes de forestación, tanto con fines productivos como de conservación, la correcta elección de la fuente de semilla para utilizar es un factor clave. El área productora de semilla (APS) "Trevelin" de *Nothofagus obliqua* fue instalada en el año 1997 en la Estación Agroforestal de INTA Trevelin, provincia de Chubut. Esta APS está conformada por individuos de origen cuenca Lácar (procedencia Hua Hum), mientras que el resto de los individuos se produjo a partir de semilla de un rodal (procedencia EAFT) cuyo origen se desconoce. En el presente trabajo se buscó identificar el origen del material que conforma el APS "Trevelin", analizando para ello el ADN de cloroplasto (cpADN) de los individuos madre utilizados para su producción (procedencia EAFT). Por ser el cpADN una molécula de herencia clonal y uniparental, representa una herramienta de gran utilidad en la definición de grandes grupos de poblaciones con un acervo genético en común. En la mayoría de las angiospermas, este marcador posibilita la identificación de linajes por herencia materna. La comparación de los resultados del presente trabajo con información generada previamente en estudios de genética poblacional para la especie posibilitó identificar su origen. Para ello, se secuenciaron dos regiones intergénicas del cpADN, *trn-D* y *trn-T* y *ath-H* y *atp-I*, de 12 individuos de la procedencia EAFT. Las muestras problema analizadas presentaron el haplotipo I, que corresponde a las poblaciones de linaje sur de la especie en Argentina, cuyos bosques se distribuyen en la cuenca Lácar. De esta manera es posible prescribir el uso de la semilla de este rodal, no solo en acciones de plantación comercial fuera del área de distribución de la especie, sino también en actividades de restauración de bosques de *N. obliqua* dentro de la cuenca Lácar. Asimismo, se pudieron establecer asociaciones directas entre los haplotipos hallados por la técnica de *PCR-RFLP* (utilizada en estudios previos) y la secuenciación (utilizada en el presente estudio) para ambas regiones intergénicas del ADN de cloroplasto analizadas, lo que permitirá continuar usando el método de secuenciación en futuros análisis sin perder la homología con la información obtenida por medio del método más antiguo.

**Palabras clave:** haplotipo, secuencia, fuente de semilla, bosques andino-patagónicos.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bariloche, Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Bariloche (IFAB) (INTA-CONICET), Grupo de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal. Modesta Victoria 4450, (8400) San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. Correo electrónico: azpilicueta.maria@inta.gov.ar; pastorino.mario@inta.gov.ar; aparicio.alejandra@inta.gov.ar; marchelli.paula@inta.gov.ar

## ABSTRACT

In afforestation programs, both for productive and conservation purposes, the use of the correct seed source is a key factor. The *Nothofagus obliqua* 'Trevelin' seed production area (SPA) was installed during 1997 at INTA Agroforestry Station, Chubut province. 'Trevelin' SPA has two different origins. While some individuals were produced with seeds belonging to Lácar forests in Argentina (Hua Hum provenance), the rest of the seedlings were produced with seeds collected from a stand (EAFT provenance) with unknown origin. In the present work, we tried to identify the origin of the individuals at the 'Trevelin' SPA, analysing the chloroplast DNA (cpDNA) of the mother trees used for their production (EAFT provenance). Based on the clonal and uniparental inheritance of cpDNA, it represents a useful tool in the definition of large groups of populations with a common gene pool. In most angiosperms, this marker enables the identification of lineages of maternal inheritance. The comparison of the results with previous genetic population information allowed the origin identification. For this purpose, we sequenced two inter-genic regions of the chloroplast DNA, *trn-D* and *trn-T* and *ath-H* and *atp-I*, in 12 mother trees. The analysed samples showed haplotype I, which corresponds to the southern lineage populations of the species in Argentina, with forests distributed in the Lácar basin. Therefore, it is possible to prescribe the use of the seed of this stand, not only in actions of commercial plantation outside the natural distribution area of the species, but also, in restoration activities of *N. obliqua* forests within Lácar basin. Even more, direct associations could be established between the haplotypes found by the PCR-RFLP technique (used in previous studies) and the sequencing (used in the present study) for both inter-genic regions of the analysed chloroplast DNA. This will allow using the method of sequencing in future analyses without losing the homology with the information obtained by the oldest method.

**Keywords:** haplotype, sequence, seed source, patagonian andean forests.

## INTRODUCCIÓN

En planes de forestación, tanto con fines productivos como de conservación, la correcta elección de la fuente de semilla para utilizar es un factor clave. La semilla no solo debe presentar un alto potencial de adaptación al sitio de implantación, sino también garantizar el menor impacto de cambio sobre la diversidad genética de las poblaciones naturales locales o adyacentes. A los fines de desarrollar una silvicultura sustentable, muchos países han comenzado a reconocer la importancia del origen del material de propagación, tanto para acciones de plantación productiva o de restauración como también de control comercial. Para ello se han creado regulaciones que implementan procesos de trazabilidad, donde los análisis a partir de marcadores moleculares cobran cada vez mayor relevancia. Por ejemplo, Alemania implementó dos sistemas para dar trazabilidad al material de propagación en especies forestales, que incluyen la determinación del origen con base en análisis moleculares, en distintas etapas del proceso desde la colecta de la semilla hasta la producción de plantines en vivero (Finkeldey *et al.*, 2010).

En restauración ecosistémica se promueve desde la literatura el uso de la fuente local de semilla (ej. Mc Kay *et al.*, 2005), ya que en general esa estrategia ha presentado mejores resultados (Vander Mijnsbrugge *et al.*, 2009). La demanda de adaptación del material vegetal a nuevas condiciones del sitio que impone el cambio climático abre interrogantes en relación con este paradigma. Broadhurst *et al.* (2008) proponen la inclusión de procedencias adicionales a la local, con el fin de aumentar la variación genética

del germoplasma y así maximizar el potencial de adaptación de la población implantada. En esta línea, y sobre todo cuando no es posible cosechar semilla local como material para realizar la intervención, el concepto de "zona genética" (ZG) adquiere relevancia.

Una ZG se define por contener un acervo genético homogéneo y por lo tanto, cada una de las poblaciones que la conforman resultan fuentes de semilla apropiadas para intervenir dentro de la propia ZG. Para su definición se utiliza información genética obtenida con distintos marcadores moleculares, como regiones del ADN de cloroplasto (cpADN) (ej. Bucci y Vendramin, 2000), regiones microsátélites (ej. Honjo *et al.*, 2009), isoenzimas (ej. Pastorino y Gallo, 2009), así como combinaciones entre dichos marcadores (ej. González Martínez *et al.*, 2004; Azpilicueta *et al.*, 2013; Soliani *et al.*, 2017). Por ser el cpADN una molécula de herencia clonal y uniparental (ej. se transmite de una generación a la siguiente sin mediar la recombinación de genes), representa una herramienta de gran utilidad en la definición de grandes grupos de poblaciones con un acervo genético en común. En la mayoría de las angiospermas, este marcador posibilita la identificación de linajes (ej. Marchelli *et al.*, 1998; Marchelli y Gallo, 2006; Soliani *et al.*, 2012) por herencia materna (Harris y Ingram, 1991).

El conocimiento del patrón de diversidad genética natural de una especie, más aún si incluye inferencias filogeográficas, es clave para identificar el origen de un material vegetal. Este conocimiento posibilita comparar la genética de un material de origen desconocido con la de grupos de poblaciones con un patrón genético modelado por la his-

toria evolutiva de la especie, incluyendo procesos de flujo génico y deriva génica, así como también efectos antrópicos, entre otros. Las finalidades de identificar el origen desconocido de un material vegetal (vivo o no) pueden ser diferentes. Así, Lowe *et al.* (2004) identifican el origen autóctono o introducido de los bosques de roble en Gran Bretaña, con base en un estudio previo de reconstrucción de historia glaciaria en esa región basado en el análisis de su cpADN (Cottrell *et al.*, 2002). Asimismo, Deguilloux *et al.* (2004) demuestran la posibilidad de determinar el origen de la madera usada para la fabricación de toneles de vino en bodegas francesas, a partir de un extenso estudio de variación genética a nivel del cpADN de las poblaciones de distribución europea de roble (Petit *et al.*, 2002).

El roble pellín, *Nothofagus obliqua* Mirb. (Oerst.), es una especie decidua, anemófila y anemocórica de los bosques templados andino patagónicos de Argentina. Sus poblaciones se extienden desde los 36° 40' S en las Lagunas de Epulauquen hasta los 40° 11' S en la costa sur del lago Lácar, en el Parque Nacional Lanín (Sabatier *et al.*, 2011). Es una especie de importancia ecológica y económica dada la calidad de su madera. Si bien su cultivo aún es muy incipiente, los conocimientos generados para su domesticación (Donoso *et al.*, 2004, 2006; Azpilicueta *et al.*, 2010) alientan a posicionarla como una opción productiva forestal en la diversificación de la actividad en la región, mayormente enfocada en la producción de especies de rápido crecimiento como el pino ponderosa (*Pinus ponderosa*) y el pino oregón (*Pseudotsuga menziesii*).

El cpADN de *N. obliqua* fue secuenciado y descrito por El Mujtar *et al.* (2014), y además se estudió su variación a nivel poblacional (Azpilicueta *et al.*, 2009). La identificación de dos linajes maternos principales en los bosques argentinos de *N. obliqua* posibilitó la definición de dos grandes áreas latitudinales con una identidad genética distintiva (Azpilicueta *et al.*, 2009). Mediante el análisis de cpADN los bosques argentinos de *N. obliqua* fueron ordenados genéticamente según dos grandes linajes maternos, separados latitudinalmente al norte y sur del volcán Lanín (39° 40' S), conformados respectivamente por dos y tres haplotipos de cpADN en diferentes frecuencias. A su vez, la información generada con marcadores nucleares polimórficos permitió la distinción de tres Zonas Genéticas dentro de estas grandes áreas (tabla 1) (Azpilicueta *et al.* 2009, Azpilicueta *et al.*, 2013, Azpilicueta *et al.*, 2017).

Con el fin de contar con rodales proveedores de semilla de *N. obliqua* en Argentina existen áreas productoras de semilla (APS) inscritas en el Instituto Nacional de Semillas en Argentina (INASE) para los dos grandes linajes definidos en la especie. Por una parte, el APS "Lagunas de Epulauquen" (código de inscripción 18Q7334KNo) fue inscrita en 2010 por la Dirección Provincial de Áreas Naturales Protegidas de Neuquén y conforma una fuente de semilla adecuada para acciones de restauración y enriquecimiento de la ZG 1 (linaje norte). Por otra parte, el APS "Yuco Alto", en el Parque Nacional Lanín fue inscrita en 2008 por el INTA (código 11Q5513KNo) y conforma una fuente de semilla segura para acciones de plantación en los bos-

ques de la ZG 3 (linaje sur). Recientemente (2017) se ha realizado una incorporación como APS de un rodal de *N. obliqua* plantado en 1997 en dependencias del INTA, en la Estación Agroforestal Trevelin (EAFT). Esta APS "Trevelin" de 2,35 ha (y de aproximadamente 1200 individuos), inscrita en el INASE por la Asociación Cooperadora de INTA Esquel (código de inscripción 26U7519JL) está conformada por plantas cuyo origen correspondió a una mezcla de proporciones desconocidas de dos fuentes:

1) Origen y procedencia bosque natural del paraje Hua Hum, Parque Nacional Lanín correspondiente a la ZG 3, dentro del linaje sur (haplotipo I en tabla 1).

2) Procedencia EAFT, de origen desconocido. En este caso se trata de un rodal de menos de 0,10 ha implantado en el año 1956 en el vivero de la EAFT, que a los 50 años tenía una altura media de 31,9 m. Este rodal ha sido raleado fuertemente y hoy se mantienen en pie unos 20 árboles, que actúan como cortina cortavientos.

La falta de identificación del origen de una proporción de los individuos que conforman esta APS genera dudas respecto del alcance de la utilización de su semilla. Para plantaciones fuera del área de distribución de la especie, su utilización está prescrita, asumiendo que exista una buena adaptación de este germoplasma al ambiente de cultivo. Pero para acciones de restauración o enriquecimiento de bosques dentro del rango natural de distribución de *N. obliqua*, no se podría promover su utilización. Este trabajo tiene el objetivo de avanzar en la identificación del origen de los árboles de esta APS. Esto posibilitaría ampliar la prescripción sobre el uso y aplicación de esta APS. Como el presente estudio se basó en análisis de secuencias, la homologación entre resultados de esta técnica y la usada anteriormente para establecer los haplotipos de referencia (técnica PCR-RFLP) se constituyó en un objetivo secundario en este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se cosecharon yemas de invierno de 12 individuos que conforman una cortina de 20 individuos en pie de *N. obliqua* (procedencia EAFT). De estas se extrajo ADN según el protocolo descrito en Dumolin *et al.* (1995), con modificaciones según Marchelli y Gallo (2006). En el caso de los controles se recurrió a muestras de ADN conservadas a -80 °C en el Laboratorio de Genética Molecular del INTA Bariloche. El ADN se chequeó en gel de agarosa al 0,8% para cuantificarlo y conocer su calidad.

Se analizaron dos regiones intergénicas de cloroplasto: *trn-D* y *trn-T* (Demesure *et al.*, 1995) y *ath-H* y *atp-I* (Grivet *et al.*, 2001). El análisis de estas dos regiones es suficiente para identificar todos los haplotipos hallados en Argentina (Azpilicueta *et al.*, 2009). Existe una excepción en el caso del haplotipo exclusivo XIII hallado en baja frecuencia (y junto al haplotipo mayoritario I) en una población de la cuenca Lácar identificada como linaje sur, pero que conforma la misma zona genética (ZG 3) que el resto de las poblaciones de la cuenca. La distinción entre ambos haploti-

Linaje	ZG	Haplotipo	Fragmento de restricción <i>trn-D trn-T</i>	Poblaciones control	Fragmento de restricción <i>atp-H atp-I</i>	Poblaciones control
Norte	1	II	3	Ñorquinco, Lácar, Argentina (2), Victoria, Chile (1)	2	Bandurrias, Nonthué y Hua Hum, Lácar (3), Pilolil, Aluminé (1) y Ñorquinco (1), Argentina
		IV	3	Ñorquinco, Lácar, Argentina (2), Victoria, Chile (1)	1	Cordillera de la Costa (2), Valle Longitudinal (3) y Cordillera de los Andes (1), Chile
Sur	2 y 3	I, XIII	2	Bandurrias y Yuco, Lácar (3), Argentina	2	Bandurrias, Nonthué y Hua Hum, Lácar (3), Pilolil, Aluminé (1) y Ñorquinco (1), Argentina
		XIV	1	Llancacura, Cord. de la Costa, Chile (3)	2	Bandurrias, Nonthué y Hua Hum, Lácar (3), Pilolil, Aluminé (1) y Ñorquinco (1), Argentina

**Tabla 1.** Linajes maternos identificados para las regiones intergénicas de ADN de cloroplasto *trn-D trn-T* y *atp-H atp-I* en la distribución argentina de *Nothofagus obliqua*; zonas genéticas (ZG) definidas y haplotipos que los conforman según la técnica de PCR-RFLP en análisis previos (Azpilicueta *et al.*, 2009, 2013). Entre paréntesis se indica el número de individuos controles utilizados.

Referencias: ZG: zona genética; la codificación de los fragmentos de restricción se realizó según su peso molecular (Azpilicueta *et al.*, 2009).

pos se basa en el análisis de la región intergénica *trnF-trnV* de 3000 pb, que no fue analizada en el presente estudio por no considerarlo necesario según el objetivo planteado. Como controles se tomaron individuos que representan los haplotipos previamente hallados en la distribución de la especie (Azpilicueta *et al.*, 2009) como se muestra en la tabla 1. La amplificación de los fragmentos se realizó con los protocolos descritos en Azpilicueta *et al.* (2009) para cada primer. El producto de amplificación purificado con método de precipitación en acetato de sodio e isopropanol se chequeó y cuantificó en gel de agarosa al 1,2%. La secuenciación de los fragmentos se realizó en un equipo ABI 3730 XL DNA Analyzer (Applied Biosystems) en el Servicio de Secuenciación y Genotipado del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CNIIA, INTA).

Para la edición y el alineamiento de las secuencias se utilizaron los programas Bioedit v.7.0.5.3 y Aliview (Lars-

son, 2014). El programa Network (www.fluxus-engineering.com) se utilizó para la construcción de la red de haplotipos a partir de un algoritmo de median joining. La definición de cada haplotipo se basa en la combinación de los polimorfismos obtenidos en cada región del ADN de cloroplasto analizada. Se homologaron los resultados de la técnica anterior (PCR-RFLP) con los datos de la secuenciación actual analizando cada fragmento por separado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

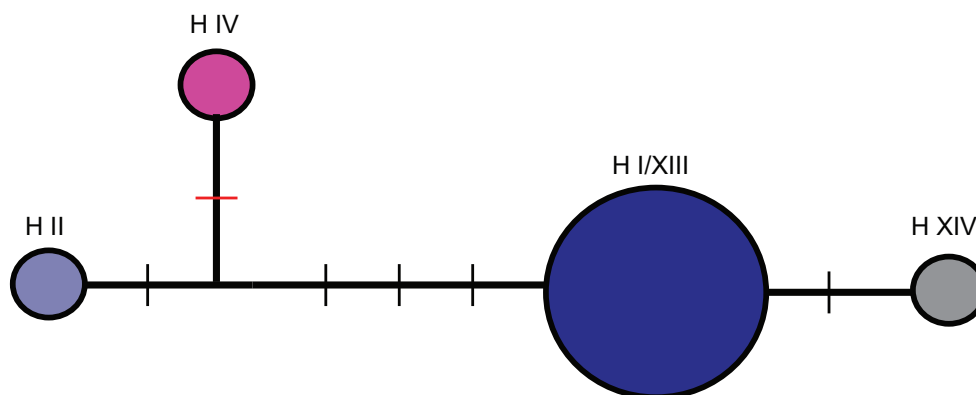
### Análisis de la región inter-génica *trn-D/trn-T*

La longitud del fragmento *trn-D/trn-T* secuenciado es de 960 pb, similar al tamaño reportado para la especie en aproximadamente 1000 pb (Azpilicueta *et al.*, 2009). Tomando los controles analizados se detectaron tres secuen-

	<i>trn-D/trn-T</i>					<i>atp-H/atp-I</i>															
haplotipo I/XIII	A	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
haplotipo II	A	A	A	A	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
haplotipo IV	A	A	A	A	C	G	T	T	C	T	T	C	C	A	T	T	T	C	T	T	T
haplotipo XIV	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
EAFI (1-12)	A	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Figura 1.** Polimorfismos detectados en cada una de las regiones intergénicas de ADN de cloroplasto analizadas (*trn-D/trn-T* y *atp-H/atp-I*). Se muestran los controles (haplotipos I/XIII, II, IV, XIV) e individuos de la procedencia EAFI (que corresponden a las secuencias de los individuos 1 al 12) analizados. Referencias: A: adenina, T: timina, C: citosina, G: guanina, -: deleción.





**Figura 2.** Red de haplotipos construida a partir del análisis conjunto de las dos regiones intergénicas de ADN de cloroplasto *trn-D/trn-T* y *atp-H/atp-I*. El diámetro de los círculos es proporcional a la cantidad de individuos que presentaron ese haplotipo. Los haplotipos control se representaron con un único individuo, mientras que se incluyeron en el análisis los 12 individuos problema. Se muestran los pasos mutacionales entre los distintos haplotipos hallados; el indel de 16 pb se resalta con rojo.

cias diferentes que se correspondieron con las variantes halladas en los haplotipos I/XIII, II-IV para este fragmento (Azpilicueta *et al.*, 2009). Las 12 muestras problema (procedencia EAFT) mostraron una misma y única secuencia, coincidente con la hallada para el haplotipo I/XIII (figura 1).

#### Análisis de la región inter-génica *atp-H/atp-I*

El tamaño del fragmento secuenciado de la región inter-génica *atp-H/atp-I* fue de 823 pb, similar al estimado para el producto de amplificación en la técnica PCR-RFLP en 800 pb (Azpilicueta *et al.*, 2009). Los controles de los haplotipos I, II y XIV mostraron una única variante como era esperable según análisis previos. Mientras que los controles del haplotipo IV mostraron una inserción de 16 pb en relación con la otra variante hallada (para el resto de los haplotipos). Los 12 individuos problema (EAFT) mostraron la misma secuencia de los controles de la variante de los haplotipos I/XIII, II y XIV (figura 1). A partir del análisis de esta región se descarta al haplotipo IV (Lagunas de Epulauquen) como origen del rodal con procedencia EAFT.

#### Análisis a nivel de haplotipo (combinación de las regiones intergénicas *trn-D/trn-T* y *atp-H/atp-I*)

A partir del análisis combinado de las dos regiones intergénicas estudiadas en el presente trabajo, con una longitud de fragmento de 1783 pb, se construyó la red de haplotipos. Las 12 muestras problema (procedencia EAFT) mostraron el haplotipo I/XIII (linaje sur). La relación entre los haplotipos según la cantidad de pasos mutacionales se muestra en la figura 2. Los cuatro haplotipos control se representaron con un solo (1) individuo, respectivamente.

#### CONCLUSIONES

El haplotipo I/XIII hallado en las muestras problemas (procedencia EAFT) permite inferir al linaje sur (cuenca Lácar) de *N. obliqua* en Argentina como su origen. Como a su vez la fracción de árboles de origen conocido de la APS "Trevelin" también corresponde al linaje sur (población Hua Hum, cuenca Lácar), la semilla producida por el APS podría ser utilizada en acciones de restauración dentro de la cuenca Lácar.

Es probable que los plantines utilizados para establecer la procedencia EAFT, implantada en 1956, hayan sido provistos por el vivero ubicado en la Estación Forestal en Puerto Anchorena, Isla Victoria, ya que en aquella época era un centro de provisión de plantines de especies leñosas a escala utilizados en la región. Lamentablemente no se consigna en esos registros el origen utilizado (fuente consultada Boletín Forestal, Estación Forestal Puerto Anchorena, isla Victoria, 1942), lo que nos habría permitido contar con un mejor indicio del probable origen de la procedencia EAFT. Sin embargo, consideramos altamente probable que en aquella época se utilizara semilla proveniente del Parque Nacional Lanín, creado en 1937, dada la fácil disponibilidad de estas en diversos bosques, como por ejemplo en los alrededores de San Martín de los Andes.

Adicionalmente a este resultado, se pudieron establecer asociaciones directas entre los haplotipos hallados por la técnica de PCR-RFLP (utilizada en estudios previos) y la secuenciación (utilizada en el presente estudio) para ambas regiones intergénicas del ADN de cloroplasto analizadas, lo que permitirá continuar usando el método de secuenciación en futuros análisis sin perder la homología con la información obtenida por medio del método más antiguo.

## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue financiado con fondos del proyecto PNFOR1104063 “Mejoramiento Genético de Especies Forestales Nativas para Usos de Alto Valor” (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). Queremos agradecer a Ana Delia Torres quien ayudó gentilmente en la recolección de las muestras en la EAFT INTA Esquel, y a Teresa Schinelli, Lidia Lugano, Santiago Quiroga y Adolfo Moretti por su apoyo en la búsqueda de información sobre el origen de la cortina de robles en la EAFT, INTA Esquel.

## BIBLIOGRAFÍA

- AZPILICUETA, M.M.; MARCHELLI, P.; GALLO, L.A. 2009. The effects of quaternary glaciations in Patagonia as evidenced by chloroplast DNA phylogeography of Southern beech *Nothofagus obliqua*. *Tree Genetics and Genomes* 5, 561-571.
- AZPILICUETA, M.M., VARELA, S.; MARTÍNEZ, A.; GALLO, L.A. 2010. Manual de viverización, cultivo y plantación de Roble Pellín en el norte de la región andino-patagónica. Ediciones INTA, Bariloche, Argentina. 72 p.
- AZPILICUETA, M.M.; GALLO, L.A.; VAN ZONNEVELD, M.; THOMAS, E.; MORENO, C., MARCHELLI, P. 2013. Management of *Nothofagus* genetic resources: Definition of genetic zones based on a combination of nuclear and chloroplast marker data. *Forest Ecology and Management* 302, 414-424. DOI: 10.1016/j.foreco.2013.03.037
- AZPILICUETA, M.M.; MARCHELLI, P.; GALLO, L.A.; UMAÑA, F.; THOMAS, E.; VAN ZONNEVELD, M.; APARICIO, A.G.; PASTORINO, M.J.; BARBERO, F.; MARTÍNEZ, A.H.M.; GONZÁLEZ PEÑALBA, M.; LOZANO, L. 2017. Manual de Zonas Genéticas de Raulí y Roble Pellín en Argentina. En: AZPILICUETA, M.M.; MARCHELLI, P. (Eds.). Herramientas para la conservación y el manejo de la diversidad genética. Ediciones INTA, Bariloche, Argentina. 50 p.
- BROADHURST, L.M.; LOWE, A.; COATES, D.J.; CUNNINGHAM, S.A.; MC DONALD, M.; VESK, P.A.; YATES, C. 2008. Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications*. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2008.00045.x
- BUCCI, G.; VENDRAMIN, G.G. 2000. Delineation of genetic zones in the European Norway spruce natural range: preliminary evidence. *Molecular Ecology* 9, 923-934.
- COTTRELL, J.; MUNRO, R.C.; TABBENER, H.; GILLIES, A.C.M.; DEANS, D.; LOWE, A.J. 2002. Distribution of chloroplast DNA variation in British oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*): the influence of postglacial colonization and human management. *Forest Ecology and Management* 156, 181-196.
- DEGUILLoux, M.F.; PEMONGE, M.H.; PETIT, R.J. 2004. DNA-based control of oak wood geographic origin in the context of the cooperage industry. *Ann. For. Sci.* 61, 97-104.
- DEMASURE, B.; SODZI, N.; PETIT, R.J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Mol. Ecol.* 4, 129-131.
- DONOSO, C.; GALLO, L.A.; DONOSO, P.; AZPILICUETA, M.M. 2004. Variación en *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. En: DONOSO, C.; PREMOLI, A.; GALLO, L.A.; IPINZA, R. (Eds.). Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria, Chile. 79-113 pp.
- DONOSO, P.; DONOSO, C.; GALLO, L.; AZPILICUETA, M.M.; BLADINI, A.; ESCOBAR, B. 2006. *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. Roble, Pellín, Hualle. En: DONOSO ZEGERS, C. (Ed.). Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología.. Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia, Chile. 471-485 pp.
- DUMOLIN, S.; DEMASURE, B.; PETIT, R.J. 1995. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor Appl Genet* 91, 1253-1256.
- EL MUJTAR, V.A.; GALLO, L.A.; LANG, T.; GARNIER-G, E.R. 2014. Development of genomic resources for *Nothofagus* species using next-generation sequencing data. *Molecular Ecology Resources* DOI: 10.1111/1755-0998.12276.
- FINKELDEY, R.; LEINEMNN, L.; GAILLING, O. 2010. Molecular genetic tools to infer the origin of forest plants and wood. *Appl Microbiol Biotechnol* 83, 1251-1258.
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; MARIETTE, S.; RIBEIRO, M.M.; BURBAN, C.; RAFFIN, A.; CHAMBEL, M.R.; RIBEIRO, C.A.M.; AGUIAR, A.; PLOMION, C.; ALÍA, R.; GIL, L.; VENDRAMIN, G.G.; KREMER, A. 2004. Genetic resources in maritime pine (*Pinus pinaster* Aiton): molecular and quantitative measures of genetic variation and differentiation among maternal lineages. *Forest Ecology and Management* 197, 103-115.
- GRIVET, D.; HEINZE, B.; VENDRAMIN, G.G.; PETIT, R.J. 2001. Genome walking with consensus primers: application to the large single copy region of chloroplast DNA. *Mol. Ecol. Notes* 1, 345-349.
- HARRIS, S.A.; INGRAM, R. 1991. Chloroplast DNA and bio-systematics: the effects of intraspecific diversity and plastid transmission. *Taxon* 14, 393-412.
- HONJO, M.; KITAMOTO, N.; UENO, S.; TSUMURA, Y.; WASHITANI, I.; OHSAWA, R. 2009. Management units of the endangered herb *Primula sieboldii* based on microsatellite variation among and within populations throughout Japan. *Conservation Genetics* 10, 257-267.
- LARSSON, A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics* 30, 3276-3278.
- LOWE, A.; MUNRO, R.; SAMUEL, S.; COTTRELL, J. 2004. The utility and limitations of chloroplast DNA analysis for identifying native British oak stands and for guiding replanting strategy. *Forestry* 77, 335-347.
- MARCHELLI, P.; GALLO, L.A.; SCHOLZ, F.; ZIEGENHAGEN, B. 1998. Chloroplast DNA markers reveal a geographical divide across Argentinean southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. distribution area. *Theoretical and Applied Genetics* 97, 642-646.
- MARCHELLI, P.; GALLO, L.A. 2006. Multiple ice-age refugia in a southern beech of South America as evidenced by chloroplast DNA markers. *Conservation Genetics* 7, 591-603.
- MACKAY, J.K.; CHRISTIAN, C.E.; HARRISON, S.; RICE, K.J. 2005. How local is local? – A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restoration Ecology* 3, 432-440.
- PASTORINO, M.J.; GALLO, L.A. 2009. Preliminary operational genetic management units of a highly fragmented forest tree species of southern South America. *Forest Ecology and Management* 257, 2350-2358.
- PETIT, R.J.; CSAIKL, U.M.; BORDACS, S.; BURG, K.; COART, E.; COTTRELL, J.; VAN DAM, B.; DEANS, J.D.; DUMOLIN-LAPÈGUE, S.; FINESCHI, S.; FINKELDEY, R.; GILLIES, A.; GLAZ, I.; GOICOECHEA, P.G.; JENSEN, J.S.; KÖNIG, A.O.; LOWE, A.J.; MADSEN, S.F.; MATYAS, G.; MUNRO, R.C.; OLALDE, M.; PEMONGE, M.H.; POPESCU, F.; SLADE,

D.; TABBENER, H.; TAURCHINI, D.; DE VRIES, S.G.M.; ZIEGENHAGEN, B.; KREMER, A. 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest. Ecology and Management*. 156: 5-26.

SABATIER, Y.; AZPILICUETA, M.M.; MARCHELLI, P.; GONZÁLEZ-PEÑALBA, M.; LOZANO, L.; GARCÍA, L.; MARTINEZ, A.; GALLO, L.A.; UMAÑA, F.; BRAN, D.; PASTORINO, M.J. 2011. Distribución natural de *Nothofagus alpina* y *Nothofagus obliqua* (Nothofagaceae) en Argentina, dos especies de primera importancia forestal de los bosques templados norpatagónicos. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46, 131-138.

SOLIANI, C.; GALLO, L.; MARCHELLI, P. 2012. Phylogeography of two hybridizing southern beeches (*Nothofagus* spp.) with different adaptive abilities. *Tree Genetics & Genomes* 8, 659-673.

SOLIANI, C.; UMAÑA, F.; MONDINO, V.; THOMAS, E.; PASTORINO, M.J.; GALLO, L.; MARCHELLI, P. 2017. Zonas genéticas de lenga y ñire en Argentina y su aplicación en la conservación y manejo de los recursos forestales. Ediciones INTA, Bariloche, Argentina. 55 p.

VANDER MIJNSBRUGGE, K.; BISCHOFF, A.; SMITH, B. 2009. A question of origin: Where and how to collect seed for ecological restoration. *Basic and Applied Ecology* DOI: 10.1016/j.baae.2009.09.002

Recibido 08 de febrero de 2019 // Aceptado 31 de julio de 2020 // Publicado online 16 de junio de 2021

# Comparación de indicadores económicos en producciones agrícolas actuales y alternativas en la ribera del Río Colorado, provincia de La Pampa

MARIANO, R.C.<sup>1</sup>; FERRO MORENO, S.<sup>2</sup>

## RESUMEN

La evaluación de actividades productivas en el sector agrícola es compleja. Los resultados dependen de la combinación de factores climáticos, de mercado, agroecológicos y socioproductivos, entre otros. Analizar los resultados ex post permite aprender y comprender la dinámica de los negocios para mejorar la toma de decisiones futura. La zona bajo riego de la provincia de La Pampa (Río Colorado) presenta una serie de actividades agrícolas tradicionales y alternativas, anuales y plurianuales que deben ser evaluadas económicamente para una mejor interpretación de su desempeño. El presente trabajo analizó los resultados económicos de 18 producciones agrícolas, actuales y alternativas, de la ribera del Río Colorado de la provincia de La Pampa para el año 2017. Para esto se utilizaron dos metodologías de análisis, el margen bruto y el margen de contribución, identificando y comparando los cultivos con mejor y peor desempeño en el año bajo estudio. Los resultados obtenidos son disímiles y en algunos casos contradictorios. El costeo variable pareciera tener ventajas interpretativas sobre el margen bruto, con igual esfuerzo (o simpleza) en la obtención de los indicadores. Para analizar el desempeño económico de actividades agrícolas es necesario contar con herramientas e indicadores que mejoren y complementen la interpretación de lo acontecido.

**Palabras claves:** margen bruto, margen de contribución, toma de decisiones.

## ABSTRACT

*The evaluation of productive activities in the agricultural sector is complex. The results depend on the combination of climatic, market, agro-ecological and socio-productive factors, among others. Analyzing ex post results allows us to learn and understand the dynamics of business to improve future decision making. The irrigated area in the province of La Pampa (Colorado River) presents a series of traditional and alternative agricultural activities, annual and pluriannual that must be evaluated economically for a better interpretation of their performance. This paper analyzes the economic results of 18 current and alternative agricultural productions of the Colorado riverside of the province of La Pampa for the year 2017. For this, two analysis methodologies were used, the gross margin and the contribution margin, identifying and comparing crops with better and worse performance in the year under study. The results obtained are dissimilar and in some cases contradictory. Variable costing seems to have interpretative advantages over the gross margin, with the same effort (or simplicity) in obtaining the indicators. To analyze the economic performance of agricultural activities, it is necessary to have tools and indicators that improve and complement the interpretation of what happened.*

**Keywords:** gross margin, contribution margin, decision making.

<sup>1</sup>CONICET, Universidad Nacional de La Pampa (FA)-(UNLPam), Ruta Nacional N.º 35, km 334, (6300) Santa Rosa, Argentina. Correo electrónico: rcmariano@agro.unlpam.edu.ar

<sup>2</sup>Universidad Nacional de La Pampa FA-(UNLPam), Ruta Nacional N.º 35, km 334, (6300) Santa Rosa, Argentina. Correo electrónico: sferromoreno@agro.unlpam.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

El sector productivo agrícola generalmente se encuentra condicionado por variables económicas, tecnológicas y agroclimáticas (Ghida Daza *et al.*, 2009), que determinan un cierto riesgo en la toma de decisiones. Los resultados económicos de las decisiones tomadas deben retribuir a los factores afectados en el proceso productivo (Paglietini y González, 2013). Para reducir los riesgos, precio (mercado) y agroclimático, existen varias herramientas que mejoran la gestión de las empresas agropecuarias (Villanova y Justo, 2003; Ghida Daza *et al.*, 2009). En todos los casos, los indicadores económicos son de utilidad para analizar y evaluar las alternativas factibles a la hora de la toma de decisiones, ya sea a nivel de organizaciones como a nivel de política sectorial o investigación técnica, y constituyen una herramienta clave en el desarrollo de diagnósticos y evaluaciones del pasado como para planificar resultados futuros (Van den Bosch *et al.*, 2011).

El cálculo *ex post* (pasado) y *ex ante* (previsión a futuro) de indicadores económicos tienen utilidad tanto a nivel de la empresa individual como a escala de una región o de un sector de la producción (Ghida Daza *et al.*, 2009). El cálculo *ex post* de los resultados productivos y económicos, costo real (Vázquez, 2000), sirve para generar mecanismos de retroalimentación y aprendizaje en las organizaciones; cuestiones fundamentales para mejorar el desempeño en el futuro (Villanova y Justo, 2003; Ferro Moreno, 2017).

La diversidad natural, biológica y tecnológica con la que cuenta el sector productivo agrícola hace necesaria la planificación y evaluación de las alternativas a la hora de tomar la decisión de qué producir, cómo producir, cuándo producir y por qué producir. En términos netamente económicos los indicadores como margen bruto (Ghida Daza *et al.*, 2009; Van den Bosch *et al.*, 2011; Paglietini y González, 2013) y el margen de contribución (Bottaro *et al.*, 2004; Yardín, 2010; Ferro Moreno, 2017) han sido ampliamente utilizados para la evaluación de alternativas productivas de acuerdo con las necesidades puntuales de cada análisis.

En términos de aplicación, tanto el margen bruto (MB) como el de contribución (MC), han sido aplicados en producciones agrícolas de ciclos anuales como a producciones plurianuales. La información brindada por dichos indicadores es criticada en las producciones plurianuales, ya que estas poseen tiempos biológicos, necesidades de capital, financiamiento y escalas de producción diferentes a las requeridas por las producciones anuales, que ameritan pensar el proceso como un proyecto de inversión de mediano-largo plazo (Van den Bosch *et al.*, 2011).

La producción agrícola en la ribera del Río Colorado de la provincia de La Pampa cuenta con condiciones ambientales desérticas, pero posee el potencial de aprovechamiento de las aguas del Colorado para el desarrollo de áreas destinadas a la agricultura bajo riego. Actualmente existen 21.000 hectáreas sistematizadas, siendo 12.000 hectáreas potenciales a la producción bajo riego, de las cuales, aproximadamente, 5.721 hectáreas (ha) están en producción (DGEC, 2016). La superficie de las explotaciones que se

aprovecha para cultivos (principalmente alfalfa, maíz, hortalizas, frutales, pasturas) con los siguientes porcentuales: 7% frutales; 62% de pasturas y forrajes; 17% de cereales; 7% hortalizas; y 7% otras (DGEC, 2017). El cultivo de alfalfa es el más relevante, con 2.061 ha implantadas en 2017 (2.056 para fardos). Le siguen en importancia el cultivo de cebolla (210 ha implantadas), pera (144 ha), vid (109 ha), manzana (61 ha), papa (48 ha), zanahoria (30 ha) y ciruela (6,4 ha).

Mariano y Roberto (2018) analizaron la aptitud edáfica para las diferentes áreas regables de La Pampa (Sistema de Aprovechamiento Múltiple -SAM- 25 de Mayo, Casa de Piedra y Bajo de los Baguales - La Adela), estableciendo grupos de actividades agrícolas actuales y alternativas aptas en la ribera pampeana del Río Colorado.

El presente trabajo se enfoca en responder el problema de investigación de determinar cuáles son los productos agrícolas que han tenido los mejores resultados económicos en las áreas regables del Río Colorado de la provincia de La Pampa.

Se plantea como objetivo general analizar y comparar indicadores económicos de las producciones agrícolas actuales y alternativas del área bajo riego del Río Colorado de la provincia de La Pampa durante el año 2017. Específicamente se pretende: a) analizar las estructuras de costos de las producciones agrícolas anuales y plurianuales, actuales y alternativas; b) calcular indicadores que permitan mejorar la calidad de información disponible en el área de estudio; c) comparar los resultados obtenidos con los diferentes indicadores y la situación actual del área implantada en la ribera del Río Colorado de la provincia de La Pampa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

De acuerdo con la DGEC (2016) se seleccionaron 18 producciones agrícolas, 10 actuales y 8 alternativas en la ribera pampeana del Río Colorado, que son el objeto de estudio del presente trabajo<sup>1</sup>. De estas producciones, 5 son anuales actuales (cebolla, maíz, zapallo, zanahoria y papa) y 1 es anual alternativa (ajo); 5 plurianuales actuales (alfalfa, viñedos, peral, olivo y almendro) y 7 plurianuales alternativas (manzano, nogal, membrillero, frambueso, ciruelo y cerezo). El año bajo estudio fue el 2017.

Las estructuras productivas modales analizadas fueron extraídas de bibliografía específica (Paunero, 2003; INTA, 2005; Villarreal *et al.*, 2006; Claps, 2008; Martínez, 2009; Leskovar *et al.*, 2010; Gaviola, 2013; Huarte y Capezio, 2013; FUNBAPA, 2014; San Martino *et al.*, 2014; Cólica, 2015; IDR, 2015; INV, 2015; ODEPA, 2015; IDR, 2016; EEAOC, 2017; INTA, 2017). Estas estructuras, los datos productivos y sus respectivos costos fueron construidos con información primaria recabada mediante entrevistas

<sup>1</sup>En el presente análisis se excluirán las actividades forestales (en el área se producen salicáceas con fines forestales) por poseer manejos y tiempos productivos diferentes que las actividades agrícolas anuales y plurianuales analizadas.

semiestructuradas a agentes calificados de la región<sup>2</sup> (10), triangulada y complementada con información secundaria de revistas y publicaciones especializadas, y consultas técnicas a organizaciones especializadas y proveedores de bienes y servicios locales. Basado en las estructuras productivas modales, se estimaron los ingresos y egresos; en todos los casos se realizó un análisis parcial ex post de cada actividad agrícola de manera puntual, dejando de lado los costos de estructura que dependen, en gran medida, de los factores productivos comprometidos en cada organización particular.

De acuerdo con la DGEC (2016) se seleccionaron 10 producciones actuales presentes en las áreas regables propuestas para este estudio (Mariano y Roberto, 2018): a) SAM 25 de Mayo (secciones I, II y V): cebolla, maíz, alfalfa, viñedos, papa, zanahoria y pera; b) Casa de Piedra: olivo (viñedos se contemplan en el SAM 25 de Mayo); c) Bajo de Los Baguales – La Adela: almendro y zapallo. En tanto, para las producciones alternativas, se tomó como criterio la selección de producciones ya realizadas en la ribera del Río Colorado en La Pampa, ya sea a modo experimental o como emprendimientos productivos privados particulares o abandonados en otras áreas regables (como ejemplo: Sistema de Aprovechamiento “El Sauzal” o el área regable de la localidad de Gobernador Duval). En las producciones alternativas, se determinaron los costos mediante la serie de precios del Mercado Central de Buenos Aires (MCBA), con un flete de 400 kilómetros a un centro de consumo y en el área regable de Casa de Piedra.

Para la obtención de los costos de adquisición de insumos, precios de productos y relaciones técnicas se consultaron durante el año 2017 diversas fuentes secundarias: a) revistas y boletines especializados; b) bolsas de comercios; c) Mercado Central de Buenos Aires (MCBA) y; d) sitios web comerciales.

Los ingresos se deflactaron mediante el Índice de Precios al Productor (IPP)<sup>3</sup> al año 2017, mientras que los costos se valoraron en moneda extranjera (dólar estadounidense) al tipo cambio establecido por el Banco Central de la República Argentina (BCRA) el 31 de octubre de 2017 (17,67 pesos argentinos por dólar estadounidense). Para los cultivos plurianuales, se analizó la estructura de costos del año donde se estabiliza la mayor producción (Van Den Bosch *et al.*, 2011; MAGRAMA, 2014; 2015; MAPAMA, 2015).

Se analizaron incidencias relativas de los costos para cada cultivo, con el fin de identificar particularidades y transversalidades. Posteriormente, se compararon dos perspectivas metodológicas vinculadas al cálculo de los indicadores margen bruto (MB) y margen de contribución (MC).

En lo que respecta al cálculo del MB, se utilizaron las

propuestas metodológicas del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) para cultivos anuales (Ghida Daza *et al.*, 2009) y plurianuales (Van Den Bosch *et al.*, 2011). Para esta metodología, el objeto de costo es la hectárea implantada y los costos se clasificaron en directos (tienen relación inequívoca con el objeto de costo) e indirectos (no tiene dicha relación inequívoca). La fórmula de cálculo es la siguiente:

Siendo:

MB: margen bruto.

IB: ingreso bruto (precio por cantidad).

CD: costos directos<sup>4</sup>.

Para el cálculo del margen de Contribución (MC) y los indicadores del costeo variable se determinó como objeto de costo a la tonelada de producción y los costos se clasificaron en variables (varían proporcionalmente al objeto de costo) y fijos (no varían ante los niveles de producción); se utilizaron las siguientes fórmulas (Bottaro *et al.*, 2004; Yardín, 2010; Ferro Moreno, 2017):

Siendo:

MC: margen de contribución.

Px: precio.

CVu: costo variable unitario.

PE: punto de equilibrio.

CF: costos fijos.

MS: margen de seguridad.

NA: nivel de actividad<sup>5</sup>.

Con los resultados obtenidos de cada metodología, se realiza una jerarquización de acuerdo al orden de conveniencia económica: mayor MB, mayor MC y mayor MS. Finalmente, se plantean distintas reflexiones acerca de los resultados generados por cada metodología, comparando las jerarquías configuradas a partir de los cálculos realizados.

## RESULTADOS

### Peso relativo de los costos (anuales y plurianuales)

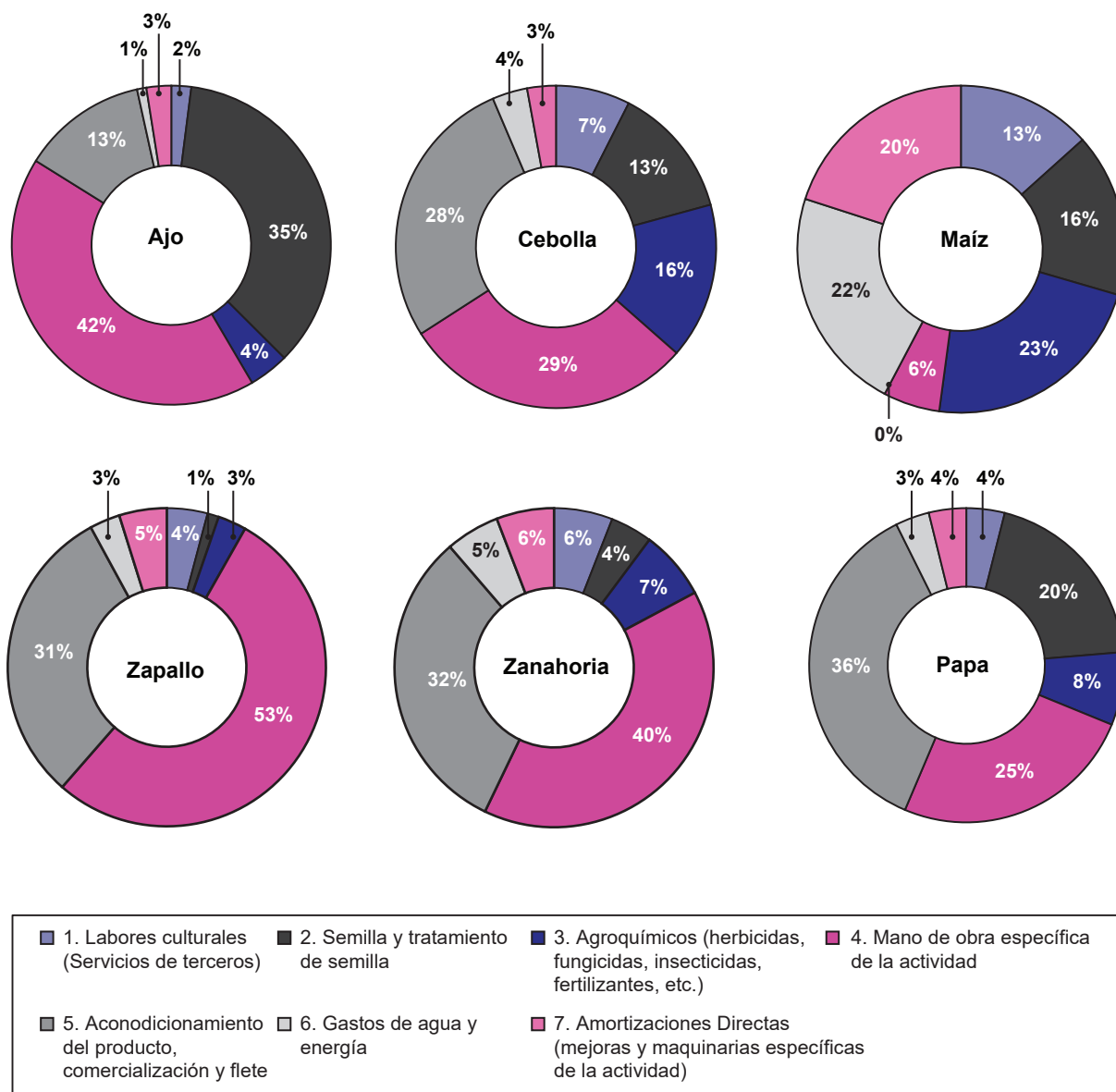
Los cultivos anuales presentan estructuras de costos diversas; según se puede apreciar en la figura 1, los costos que mayor incidencia relativa tienen en 5 de 6 cultivos anuales (ajo, cebolla, zapallo, zanahoria, papa) son la mano de obra y el acondicionamiento y comercialización

<sup>2</sup>Instituciones/organizaciones a la que pertenecen los agentes calificados entrevistados: Universidad Nacional de La Pampa (2), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (2), Ente Provincial del Río Colorado (1), Cámara de Productores bajo riego (5).

<sup>3</sup>[https://www.indec.gov.ar/nivel4\\_default.asp?id\\_tema\\_1=3&id\\_tema\\_2=5&id\\_tema\\_3=32](https://www.indec.gov.ar/nivel4_default.asp?id_tema_1=3&id_tema_2=5&id_tema_3=32)

<sup>4</sup>La principal diferencia entre los costos directos de los cultivos anuales y plurianuales es la computación de las amortizaciones (principalmente equipos de riego, refrigeración, labores culturales únicas y plantaciones).

<sup>5</sup>El nivel de actividad es el grado de uso de la capacidad, que depende de la decisión y ejecución de las actividades; en tanto la capacidad se define como la posibilidad o aptitud que tiene un ente o un sector para generar productos en un tiempo determinado (Ferro Moreno, 2017).



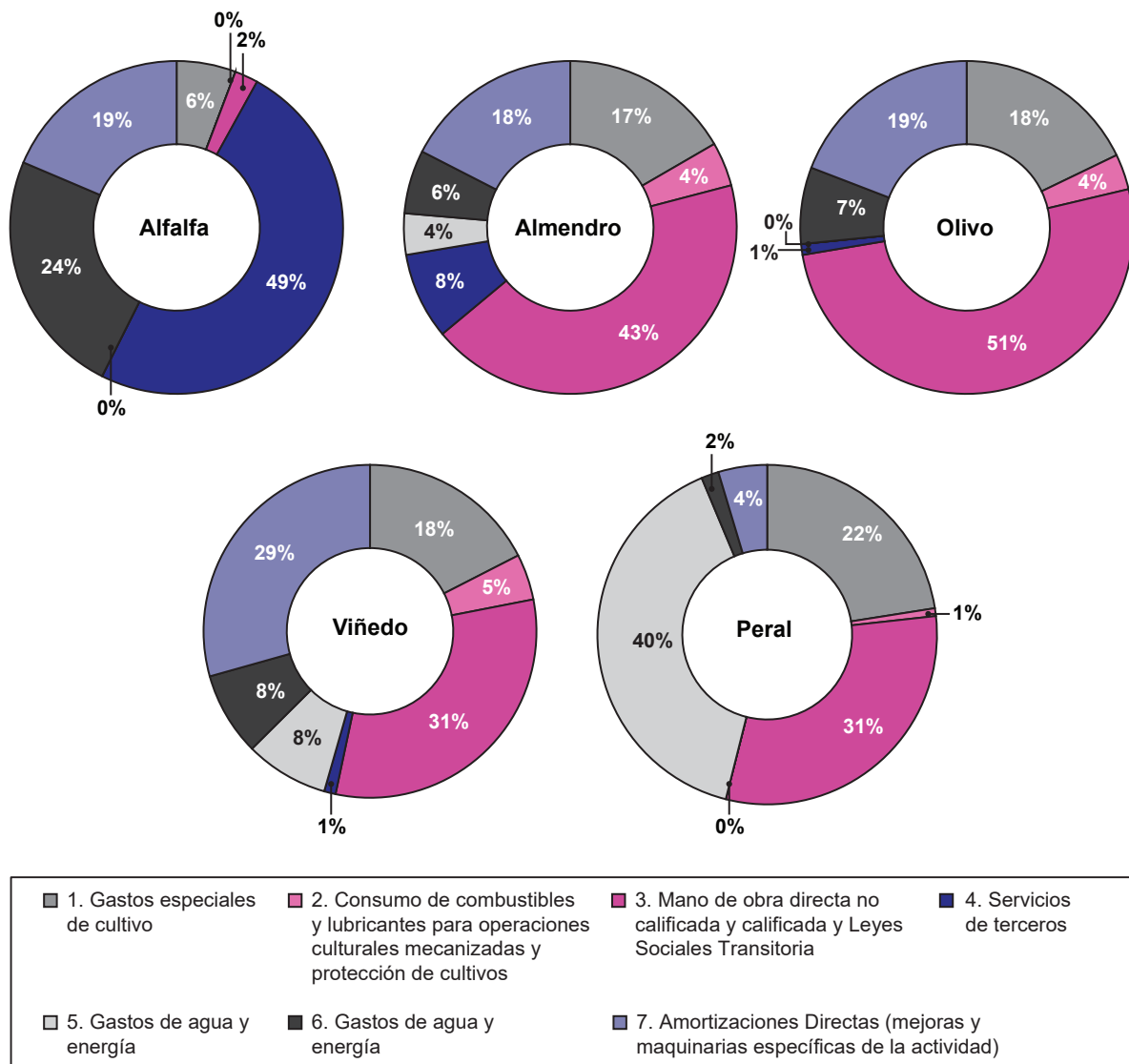
**Figura 1.** Estructuras de costos de producciones anuales actuales y alternativa.  
Fuente: Elaboración propia.

de los productos (entre 12,7% y 52,2%). Para el cultivo de maíz, con un comportamiento diferente de incidencia relativa de costos, los rubros más importantes son agroquímicos, gastos de agua y energía y amortizaciones; entre los tres rubros suman 64,9% de los costos asociados. En el cultivo de ajo (alternativo) toma relevancia el costo vinculado a las semillas y su tratamiento (35,5%).

El costo más relevante de los cultivos plurianuales actuales (figura 2) es, para 4 de 5 (almendro, olivo, viñedo y peral), la mano de obra (de 30,7% a un 51,1%). Los gastos especiales de cultivo son también relevantes en todos los casos menos en la alfalfa (de 16,6% a 22,5%). Otro rubro importante son

las amortizaciones, con peso en los cultivos de alfalfa, almendro, olivo y viñedo. En el peral tienen una incidencia notable los costos de acondicionamiento y comercialización (el costo más importante para ese cultivo, con un 39,8%).

En todos los cultivos plurianuales alternativos, la mano de obra es un costo preponderante (figura 3), significando proporcionalmente desde un 30,7% a un 55,6%. Los costos de acondicionamiento y comercialización son relevantes en 6 de los 7 cultivos (manzano, membrillo, frambuesa, ciruelo, cerezo y frutilla). Los gastos de agua y energía, con especial impacto en los cultivos de nogal y frutilla, es también otro rubro que pesa en gran parte de los cultivos (5 de 7).



**Figura 2.** Estructuras de costos de las producciones plurianuales actuales.  
Fuente: Elaboración propia.

**Resultados de MB y orden de conveniencia (anuales y plurianuales actuales y alternativas)**

Si analizamos los resultados de los márgenes brutos de las actividades anuales, actuales y alternativas (tabla 1), el ajo es el cultivo que mejor resultado arrojó, con un MB de 177.051 \$/ha, seguido del zapallo (74.345 \$/ha) y la cebolla (43.677 \$/ha). El cultivo con el peor MB fue el maíz (663 \$/ha), seguido por la papa (7.224 \$/ha) y la zanahoria (8.085 \$/ha).

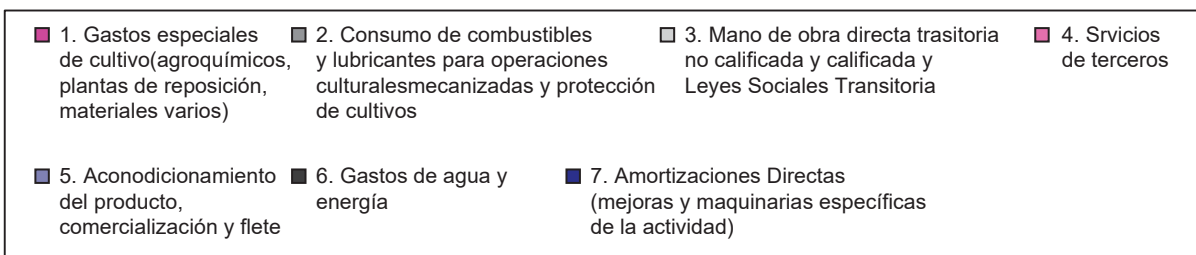
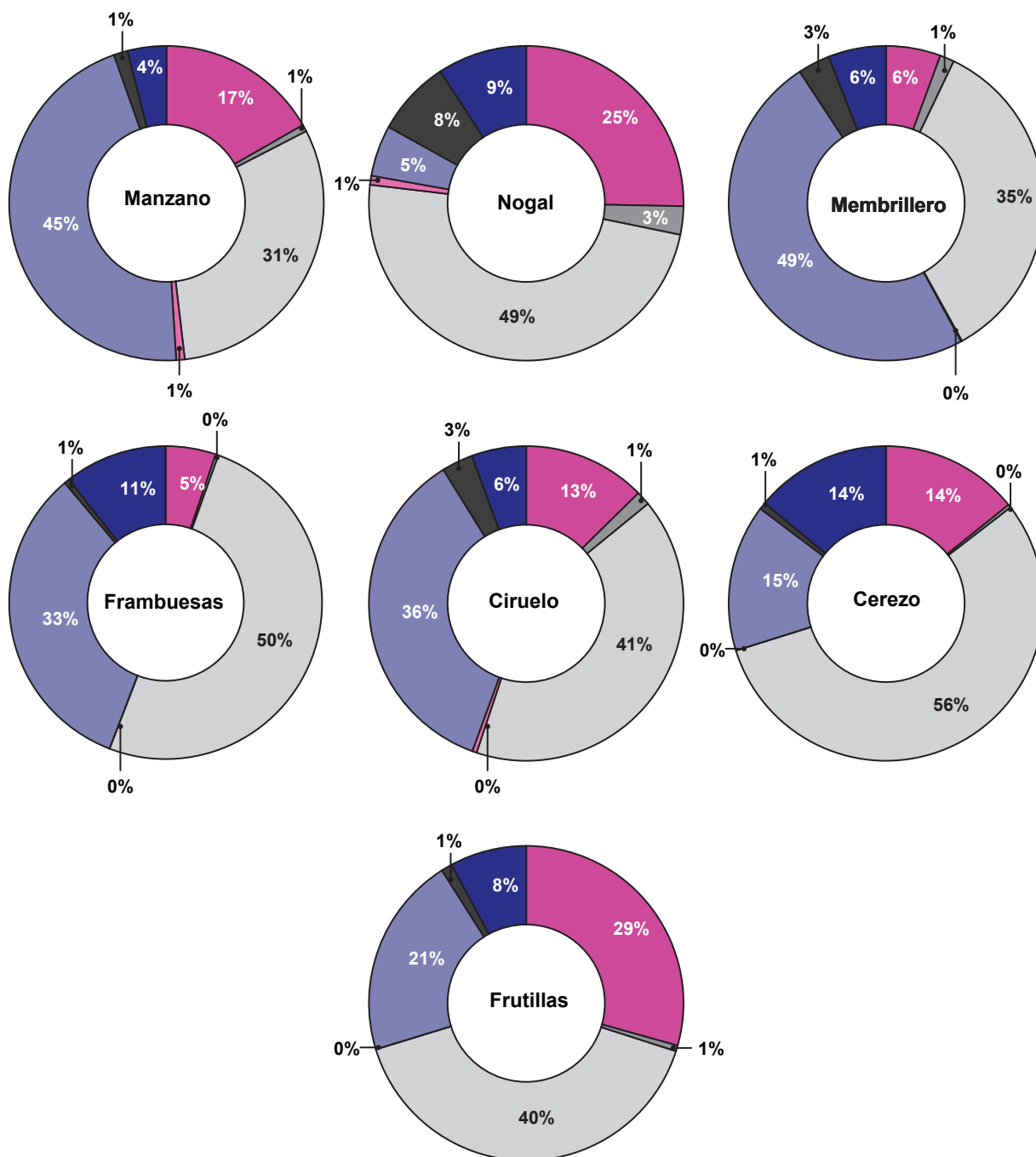
En las producciones plurianuales, los seis primeros cultivos más convenientes desde la perspectiva del MB son alternativos (tabla 2); el mejor posicionado fue el manzano, con un MB de 361.872 \$/ha, seguido por la frambuesa (201.209 \$/ha) y el ciruelo (160.564 \$/ha). Los tres cultivos con desempeño más desfavorable son producciones ac-

tuales; el peor MB lo obtuvo la alfalfa (403 \$/ha), seguido por el olivo (1.172 \$/ha) y el viñedo (2.868 \$/ha).

**Resultados MC y orden de conveniencia (anuales y plurianuales actuales y alternativas)**

Si consideramos los resultados de la metodología del costeo variable para los cultivos anuales, actuales y alternativos (tabla 3), el ajo es nuevamente el más jerarquizado, con un MC de 85% (0,85 centavos por cada peso de ingreso quedan disponibles para afrontar los costos fijos, y posteriormente obtener utilidad) y un MS del 66% (distancia entre el nivel de actividad previsto -rendimiento- y el PE). Le siguen en orden la cebolla con un MC de 77% y





**Figura 3.** Estructuras de costos de las producciones plurianuales alternativas.  
Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Px (\$/t)	Rend (t/ha)	IIBB (\$/ha)	CD (\$/ha)	MB (\$/ha)	Orden de conveniencia
<b>Producciones actuales</b>	Cebolla	3.658	45	164.602	120.925	43.677	3
	Maíz	1.651	11	18.163	17.501	663	6
	Papa	2.459	40	98.340	91.117	7.224	5
	Zanahoria	3.438	19,8	68.081	59.996	8.085	4
	Zapallo	6.831	21,5	146.876	72.531	74.345	2
<b>Producción alternativa</b>	Ajo	24.369	13	316.802	139.752	177.051	1

**Tabla 1.** Margen bruto en las producciones anuales (actuales y alternativa) y orden de conveniencia.  
Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Px (\$/t)	Rend (t/ha)	IIBB (\$/ha)	CD (\$/ha)	MB (\$/ha)	Orden de conveniencia
<b>Producciones actuales</b>	Alfalfa	1.646	13,0	21.397	20.994	403	12
	Almendro	155.949	0,9	145.552	44.127	101.425	8
	Olivo	4.554	7,2	32.639	31.467	1.172	11
	Peral	7.085	39,9	282.681	162.466	120.215	7
	Viñedo	4.742	6,8	32.437	29.569	2.868	10
<b>Producciones alternativas</b>	Cerezo	45.916	9,0	413.274	390.987	22.287	9
	Ciruelo	18.462	13,6	251.079	90.515	160.564	3
	Frambuesa	92.643	7,0	648.503	447.294	201.209	2
	Frutilla	21.416	17,0	364.070	220.552	143.518	5
	Manzano	11.690	46,8	546.503	184.631	361.872	1
	Membrillero	9.442	25,5	240.765	89.631	151.134	4
	Nogal	64.052	2,7	171.658	45.186	126.472	6

**Tabla 2.** Margen bruto en las producciones plurianuales (actuales y alternativas) y orden de conveniencia.  
Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Px (\$/t)	Rend (t/ha)	CF (\$/t)	Cvu (\$/t)	MC (%)	RR (%)	PE (t)	MS (%)	Orden de conveniencia
<b>Producciones actuales</b>	Cebolla	3.658	45	82.426	855	77	23	29,4	35	2
	Maíz	1.651	11	12.627	490	7	30	10,9	1	4
	Papa	2.459	40	64.962	653	73	27	36,0	10	3
	Zanahoria	3.438	19,8	32.765	1375	6	40	15,9	20	6
	Zapallo	6.831	21,5	40.476	2525	63	37	9,4	56	5
<b>Producción alternativa</b>	Ajo	24.369	13	92.699	3619	85	15	4,5	66	1

**Tabla 3.** Margen de contribución y margen de seguridad en las producciones anuales (actuales y alternativa) y orden de conveniencia.  
Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Px (\$/t)	Rend (t/ha)	CF (\$/t)	Cvu (\$/t)	MC (%)	RR (%)	PE (t)	MS (%)	Orden de conveniencia
<b>Producciones actuales</b>	Alfalfa	1.646	13,0	5.773	1.170	29	71	12,1	7	12
	Almendro	155.949	0,9	39.089	22.871	85	15	0,3	69	3
	Olivo	4.554	7,2	16.956	326	93	7	4,0	44	1
	Peral	7.085	39,9	63.404	2.482	65	35	13,8	65	9
	Viñedo	4.742	6,8	18.916	1.557	67	33	5,9	13	8
<b>Producciones alternativas</b>	Cerezo	45.916	9,0	127.825	29.240	36	64	7,7	15	11
	Ciruelo	18.462	13,6	43.175	3.480	81	19	2,9	79	4
	Frambuesa	92.643	7,0	111.490	47.972	48	52	2,5	64	10
	Frutilla	21.416	17,0	99.061	7.146	67	33	6,9	59	7
	Manzano	11.690	46,8	60.263	2.660	77	23	6,7	86	5
	Membrillero	9.442	25,5	15.170	2.920	69	31	2,3	91	6
	Nogal	64.052	2,7	27.098	6.749	89	11	0,5	82	2

**Tabla 4.** Margen de contribución y margen de seguridad en las producciones plurianuales (actuales y alternativas) y orden de conveniencia. Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Orden de conveniencia MB	Orden de conveniencia MC y MS
<b>Producciones actuales</b>	Cebolla	3	2
	Maíz	6	4
	Papa	5	3
	Zanahoria	4	6
	Zapallo	2	5
<b>Producción alternativa</b>	Ajo	1	1

**Tabla 5.** Comparaciones en el orden de conveniencia entre margen bruto y el margen de contribución y de seguridad en las producciones anuales (actuales y alternativa). Fuente: Elaboración propia.

	Producciones/ Variables	Orden de conveniencia MB	Orden de conveniencia MC y MS
<b>Producciones actuales</b>	Alfalfa	12	12
	Almendro	8	3
	Olivo	11	1
	Peral	7	9
	Viñedo	10	8
<b>Producciones alternativas</b>	Cerezo	9	11
	Ciruelo	3	4
	Frambuesa	2	10
	Frutilla	5	7
	Manzano	1	5
	Membrillero	4	6
	Nogal	6	2

**Tabla 5.** Comparaciones en el orden de conveniencia entre margen bruto y el margen de contribución y de seguridad en las producciones anuales (actuales y alternativa). Fuente: Elaboración propia.

un MS de 35 %, y la papa (73 % de MC y 10 % de MS). El cultivo con peor desempeño fue la zanahoria, con un MC de 60% y un MS de 20%; le siguen el zapallo (63 % MC y 56% de MS) y el maíz (70% de MC y 1% de MS). Este último cultivo se encuentra con poco MS, es el que menor tiene de los anuales, lo cual puede condicionar aún más su posición (riesgo de no cubrir los costos si el rendimiento esperado baja un 1%).

En cuanto a los cultivos plurianuales, actuales y alternativos, el mejor posicionado en la metodología del costeo variable es el olivo (tabla 4), con un MC del 93% y un MS de 44%. Le siguen en importancia el nogal con un MC de 89% y un MS de 82%, y el almendro con 85% de MC y 69% de MS. Dos de los tres cultivos más jerarquizados son actuales. El cultivo con peor desempeño fue la alfalfa, con MC de 29% y un MS de 7%. Les siguen el cerezo (36% MC y 15% MS) y la frambuesa (48% MC y 64% MS). Dos de los tres cultivos con peor desempeño son alternativos.

### Comparación de los órdenes de conveniencia MB versus MC y MS

Como se puede apreciar en la tabla 5, el ajo ha sido el cultivo anual (alternativo) con mejores resultados en ambas metodologías. La cebolla (cultivo actual) fue jerarquizada como la tercera mejor opción en el MB y como la segunda en el costeo variable. Las diferencias llamativas se encuentran en el zapallo, donde, según los resultados del MB es el segundo cultivo más conveniente, y para el costeo variable es el quinto. También es notable el caso de la papa, recomendada por el costeo variable (tercera en orden jerárquico de resultados) y quinta en MB.

Para el caso de los cultivos plurianuales, las diferencias son más sustanciales (tabla 6). Los tres cultivos mejor jerarquizados por el MB son alternativos, y dos de los tres con mejor desempeño del costeo variable son actuales. Los primeros tres no coinciden, tanto en los mejores desempeños como en los peores. El caso del cultivo de olivo es emblemático, se encuentra en el puesto decimoprimer si utilizamos el MB y es el que mejor resultados arroja usando los indicadores del costeo variable. También son controversiales los resultados de la frambuesa, con el segundo mejor MB y ubicada en el décimo puesto del costeo variable. Ambas metodologías coinciden en el peor cultivo, la alfalfa, que ocupa el último puesto.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se compararon dos metodologías para un año particular (2017), con los mismos datos y se destaca que arrojaron información distinta y de interpretación diversa para aprender y mejorar la toma de decisiones del sector agrícola en la ribera del Río Colorado de la provincia de La Pampa.

Los resultados de la evaluación económica parcial ex post del desempeño de cultivos anuales y plurianuales, actuales y alternativos, plantean interpretaciones disímiles en

la mayoría de los casos estudiados. Para la evaluación de cultivos anuales, ambas metodologías arrojaron resultados coincidentes en el mejor cultivo (ajo, cultivo alternativo), pero contradictorios en los demás cultivos. El caso más llamativo es el del zapallo, segundo mejor jerarquizado en MB y con el segundo peor desempeño en el costeo variable.

La evaluación ex post de los cultivos plurianuales fue más controvertida, los resultados del MB ponderan con mejor desempeño a tres cultivos alternativos (manzano, frambuesa y ciruelo en orden de relevancia) y el MC y MS a dos cultivos actuales (olivo como primero y almendro como tercero) y uno alternativo (nogal como segundo cultivo con mejor desempeño). En primera instancia, estos resultados son diferentes en su totalidad.

Si analizamos los cultivos con peores indicadores, encontramos nuevamente una coincidencia, el peor desempeño en ambas metodologías lo tiene el cultivo de alfalfa (única coincidencia en los cultivos plurianuales, actuales y alternativos). Pero los restantes dos peores no son coincidentes, los indicadores más polémicos están en el cultivo de olivo (ponderado como mejor desempeño en el MC y MS y como segundo peor en el MB), y en la frambuesa (tercer peor cultivo en el MC y segundo mejor en el MB).

Si ponemos en valor la superficie actual implantada de cada cultivo (DGEC, 2017), se plantea una gran incoherencia: el cultivo más relevante es la alfalfa (aproximadamente el 36% de la superficie implantada del área regable de la ribera del Río Colorado de la provincia de La Pampa) y es el que peores resultados arroja en ambas metodologías. En cambio la cebolla, segundo cultivo relevante (aproximadamente el 4% del área bajo estudio), obtuvo el tercer mejor desempeño con la metodología del MB y el segundo con el MC y MS. La pera, cultivo plurianual tercero en importancia relativa de superficie implantada (2,5% aproximado), se ubicó en el puesto séptimo en la metodología de MB y en el noveno puesto del MC y MS.

Ambas metodologías plantean ventajas y desventajas para el análisis ex post de cultivos anuales y plurianuales. La ventaja más importante del costeo variable es que agrupa los costos según la naturaleza del comportamiento (en variables y fijos), sin tener que forzar datos para llevarlos a la misma unidad de medida; cuestión que sí ocurre en el MB, donde todos los costos se llevan a \$/ha. La complejidad (o facilidad) de los cálculos es la misma, aunque el costeo variable puede generar resultados tentativos sin involucrar en el cálculo un gran supuesto: el rendimiento. El MB necesita del rendimiento, estimado o real, para conocer varios costos medios (de \$/Tn pasan a \$/ha), cuestión que debilita la potencia explicativa ex ante, pero no ex post.

En cuanto a la utilización de estos indicadores para el análisis de cultivos plurianuales, su potencia analítica es limitada, cuestión que se puede observar en la disparidad de los resultados. Los costos fijos de estructura son relevantes en los cultivos plurianuales; metodológicamente se incorporan en parte por medio de la amortización de algunos rubros, pero no parece ser la forma más acertada, pues se subestiman para la comparación, si bien es cier-

to que, dentro de los plurianuales, las comparaciones se hacen con los mismos criterios metodológicos y el cálculo mantiene criterios de simplicidad. En la bibliografía existen herramientas varias para evaluar proyectos de mediano y largo plazo que deben ser tenidas en cuenta por sobre estos indicadores de corto plazo y parciales.

En todos los casos, es necesario complementar los indicadores utilizados con otros datos y resultados vinculados al riesgo precio y mercado, el capital invertido, los costos financieros asumidos, los costos de oportunidad (ex ante), entre otros.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a investigadores y técnicos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, especialmente a la Agencia de Extensión Rural Colonia 25 de Mayo. A los productores, técnicos y funcionarios que realizaron o se encuentran realizando sus actividades en las áreas bajo riego del río Colorado en La Pampa, muy especialmente a los productores de la Cámara de Productores del Área Bajo Riego de Colonia 25 de Mayo y autoridades del Ente Provincial del Río Colorado por su predisposición. Al Mg. Jorge Luis Paturlanne de la cátedra "Costos para la Administración" de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa, por sus valiosos aportes y discusiones en torno a esta investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- BOTTARO, O.; RODRÍGUEZ JAUREGUI, H.; YARDÍN, A. 2004. El comportamiento de los costos y la gestión de la empresa. Editorial La Ley.
- CLAPS, L. 2008. Análisis económico de la producción de cerezas en Patagonia Sur. En: CITADINNI, D., SAN MARTIN, L. (Eds.). El cultivo de cerezos en Patagonia Sur. Tecnología de manejo, empaque y comercialización. INTA, Centro Regional Patagonia Sur. EEA Chubut y EEA Santa Cruz. (Disponible: [https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-1\\_el\\_cultivo\\_de\\_cereza\\_en\\_patagonia\\_sur\\_cittadini\\_y\\_.pdf](https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-1_el_cultivo_de_cereza_en_patagonia_sur_cittadini_y_.pdf) verificado: marzo de 2018).
- COLICA, J. 2015. Análisis de costos en nogal. iii Simposio internacional de nogalicultura del noroeste argentino. INTA, AER Andalgalá. (Disponible: <http://cfi.org.ar/wp-content/uploads/2015/05/ analisis-de-costos-en-nogal-colica-juan-jose.pdf> verificado: marzo de 2018).
- DIRECCIÓN GENERAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (DGEC). 2016. Anuario Estadístico de La Pampa 2016. Ministerio de la Producción. Gobierno de La Pampa.
- DIRECCIÓN GENERAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (DGEC). 2017. Anuario Estadístico de La Pampa 2017. Ministerio de la Producción. Gobierno de La Pampa.
- ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROINDUSTRIAL OBISPO COLOMBRES (EEAOC). 2017. Actividad comercial del cultivo de frutilla en la Argentina y Tucumán, período 2010-2017. Gastos de producción campaña 2017. (Disponible: <http://www.eeaoc.org.ar/publicaciones/categoria/22/821/Actividad-comercial-del-cultivo-de-frutilla-en-la-Argentina-y-Tucuman-periodo-2010-2017-Gastos-de->html verificado: marzo de 2018).
- FERRO MORENO, S. 2017. Costos para la administración. Aplicaciones en negocios agroalimentarios. ED-UNLPam. 185 p.
- FUNDACIÓN BARRERA ZOOFITOSANITARIA PATAGÓNICA (FUNBAPA). 2014. Costo de Producción de Cultivos Hortícolas en el Valle Bonaerense del Río Colorado. (Disponible: <http://www.funbapa.org.ar/funbapa/wp-content/uploads/2014/03/COSTOS-HORTICOLAS-2014.pdf> verificado: abril de 2018).
- GAVIOLA, J. (Ed.). 2013. Manual de producción de zanahoria. INTA, Centro Regional Mendoza - San Juan, EEA La Consulta. (Disponible: [https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_-\\_prlogo\\_e\\_ndice.pdf](https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_prlogo_e_ndice.pdf) verificado: mayo de 2018).
- GHIDA DAZA, C.; ALVARADO, P.; CASTIGNANI, H.; CAVIGLIA, J.; D'ANGELO, M.; ENGLER, P.; GIORGETTI, M.; IORIO, C.; SÁNCHEZ, C. 2009. Indicadores económicos para la gestión de empresas agropecuarias. Bases metodológicas. Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción y recursos naturales N.º 11. Ediciones INTA. 44 p.
- HUARTE, M.; CAPEZIO, S. 2013. Cultivo de Papa. Docentes Investigadores. Asignatura Cultivo de Papa. Unidad Integrada Balcarce INTA. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. (Disponible: [https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_huarte\\_capezio\\_papa2013.pdf](https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_huarte_capezio_papa2013.pdf) verificado: marzo de 2018).
- INSTITUTO DE DESARROLLO RURAL (IDR). 2015. Informe por producto: Panorama del Sector Ciruela Deshidratada de Mendoza. (Disponible: <http://www.idr.org.ar/wp-content/uploads/2016/04/Panorama-Ciruela-deshidratada-2015-.pdf> verificado: mayo de 2018).
- INSTITUTO DE DESARROLLO RURAL (IDR). 2016. Panorama del Sector de Ajo Mendoza. Área Economía, proyectos y financiamiento. Área de desarrollo hortícola, Instituto de Desarrollo Rural. (Disponible: [https://www.idr.org.ar/wp-content/uploads/2017/10/informe\\_especie\\_ajo\\_2016.pdf](https://www.idr.org.ar/wp-content/uploads/2017/10/informe_especie_ajo_2016.pdf) verificado: mayo de 2018).
- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). 2005. Análisis microeconómico financiero de la producción de ajo. INTA, Centro Regional Patagonia Norte, EEA Alto Valle. (Disponible: [http://sipan.inta.gov.ar/productos/ssd/vc/neuquen/ap/ajo\\_analisis.htm](http://sipan.inta.gov.ar/productos/ssd/vc/neuquen/ap/ajo_analisis.htm) verificado: abril de 2018).
- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA). 2017. Márgenes brutos de los principales productos agropecuarios de la provincia de La Pampa. INTA, Centro Regional La Pampa-San Luis, EEA "Guillermo Covas". Septiembre de 2017. Número 34. Anguil, La Pampa. (Disponible: [https://inta.gov.ar/sites/default/files/inta\\_informe\\_septiembre\\_2017.pdf](https://inta.gov.ar/sites/default/files/inta_informe_septiembre_2017.pdf) verificado: diciembre de 2017).
- INSTITUTO NACIONAL DE VITIVINICULTURA (INV). 2015. Cálculo del costo de producción de uva para vinificar. (Disponible: [http://www.inv.gov.ar/inv\\_contenidos/pdf/prensa/Simulador-18-12-15.pdf](http://www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/prensa/Simulador-18-12-15.pdf) verificado: febrero de 2018).
- LESKOVAR, M.; LÓPEZ, A.; MALASPINA, M.; VILLARREAL, P.; ZUBELDIA, H.; AVELLA, B.; BONDONI, M. 2010. Costos Referenciales de Producción y Empaque. Temporada 2010-2011 (Pera y Manzana). Secretaría de Fruticultura de Río Negro Subsecretaría de Producción y Desarrollo Económico de Neuquén. INTA, EEA Alto Valle. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue. (Disponible: [https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-costos\\_produccion\\_empaque\\_10-11.pdf](https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-costos_produccion_empaque_10-11.pdf) verificado: abril de 2018).
- MARIANO, R.; ROBERTO, Z. 2018. Cuenca del Río Colorado en La Pampa: mapas de aptitud de suelos para diferentes cultivos agrícolas. En: ROBERTO, Z.; FARREL, M.; CARREÑO, L. (Eds.). Potencialidades de las nuevas tecnologías en el agro pampeano". INTA, Centro Regional La Pampa - San Luis. EEA "Guillermo Covas". Anguil, La Pampa.
- MARTINEZ, E. 2009. Costos y beneficios del cultivo de frambuesa. INTA, EEA Bariloche, AER El Bolsón. (Disponible: <https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-frambuesa.pdf> verificado: abril de 2018).

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y PESCA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE (MAPAMA). 2015. Resultados técnico-económicos de Olivar y Viñedo 2015. Subdirección General de Análisis, Prospectiva y Coordinación, Subsecretaría. Gobierno de España. (Disponible: [https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/olivar-y-vinedo\\_tcm30-438326.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/olivar-y-vinedo_tcm30-438326.pdf) verificado: octubre de 2017).

MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE (MAGRAMA). 2014. Resultados técnico-económicos de Cultivos Leñosos 2013", Subdirección General de Análisis, Prospectiva y Coordinación, Subsecretaría. Gobierno de España. (Disponible: [https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/Le%C3%B1osos%202013.\\_tcm30-88505.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/Le%C3%B1osos%202013._tcm30-88505.pdf) verificado: octubre de 2017).

MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE (MAGRAMA). 2015. Resultados técnico-económicos de Frutales 2014. Subdirección General de Análisis, Prospectiva y Coordinación, Subsecretaría. Gobierno de España. (Disponible: [https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/frutales\\_tcm30-88502.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/frutales_tcm30-88502.pdf) verificado: octubre de 2017).

OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS (ODEPA). 2015. Ficha técnico-económica. Ciruela para secado. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. (Disponible: [https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2015/11/ficha\\_costo\\_ciruela\\_secado\\_ohiggins\\_2015.pdf](https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2015/11/ficha_costo_ciruela_secado_ohiggins_2015.pdf) verificado: mayo de 2018).

PAGLIETINI, L.; GONZÁLEZ, M. 2013. Los costos agrarios y sus aplicaciones. Primera edición ampliada y actualizada. Editorial Facultad de Agronomía. FA-UBA.

PAUNERO, I. 2003. Análisis económico del cultivo del zapallo anquito en el noreste de Buenos Aires. INTA, EEA San Pedro. Buenos Aires, Argentina. (Disponible: [http://anterior.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/hor/ip\\_016.htm](http://anterior.inta.gov.ar/sanpedro/info/doc/hor/ip_016.htm) verificado: abril de 2018).

SAN MARTINO, L.; ROJAS, V.; MANAVELLA, F.; IVARS, Y. 2014. Producción de Fruta Fina en Los Antiguos. Resultados del ensayo de introducción – años 1 a 3. AER Los Antiguos. Ediciones INTA. (Disponible: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_informe\\_tecnico\\_-\\_fruta\\_fina\\_en\\_los\\_antiguos.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_informe_tecnico_-_fruta_fina_en_los_antiguos.pdf) verificado: marzo de 2018).

VAN DEN BOSCH, M.; LYSIAK, E.; SABADZIJA, G.; ALVARADO, P.; VERA, L.; MOSCIARO, M.; RODRÍGUEZ, M. 2011. Indicadores económicos para la gestión de establecimientos agropecuarios con cultivos plurianuales. Bases metodológicas. INTA, Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción y recursos naturales N.º 14.

VÁZQUEZ, J. 2000. Costos. Editorial Aguilar, Segunda edición, sexta reimpresión. Buenos Aires.

VILLANOVA, I.; JUSTO, A. 2003. El tratamiento de los costos según las disciplinas intervinientes: el caso de los costos agropecuarios. Documento de trabajo N.º 27. INTA. 22 p.

VILLARREAL, P.; SANTAGNI, A.; ROMAGNOLI, S. (Eds.). 2006. Pautas tecnológicas: cerezo. Manejo y análisis económico financiero. INTA, Centro Regional Patagonia Norte, EEA Alto Valle. (Disponible: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_pautas-tecnologicas-cerezo.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pautas-tecnologicas-cerezo.pdf) verificado: mayo de 2018).

YARDÍN, A. 2010. El análisis marginal: la mejor herramienta para tomar decisiones en costos y precios. Ed. Buyatti. Buenos Aires. 398 p.

Recibido 17 de diciembre de 2018 // Aceptado 01 de junio de 2020 // Publicado online 28 de abril de 2021

# Niveles séricos de minerales en hembras bovinas en un establecimiento de la región del Chaco Semiárido salteño

MICHELOUD, J.F.<sup>1,2</sup>; MARTÍNEZ, G.M.<sup>3</sup>; ARAOZ V.<sup>4</sup>; SUÁREZ, V.H.<sup>1</sup>; ROSA, D.E.<sup>5</sup>; MATTIOLI, G.A.<sup>5</sup>

## RESUMEN

Las deficiencias minerales son un problema de gran impacto productivo a nivel mundial. En el noroeste argentino la cría extensiva es una de las actividades económicas más importantes y está en franco crecimiento. En esta región los estudios sobre enfermedades carenciales son escasos y parciales. El presente trabajo tiene por objeto describir variaciones a lo largo del año de los niveles séricos de calcio, fósforo, magnesio, cobre y zinc en vacas de cría y sus terneras. En un establecimiento ganadero se seleccionaron 20 vacas y 20 terneras que fueron mantenidos en condiciones de pastoreo y sin suplementación mineral externa. Se efectuaron muestreos de sangre a intervalos de 3 meses durante un año. Las determinaciones de calcio, magnesio, cobre y zinc en plasma se efectuaron por espectrofotometría de absorción atómica y la de fósforo por espectrofotometría uv-visible. Los resultados indican la existencia de hipocupremia severa a moderada tanto en vacas (promedio:  $26,6 \pm 13 \mu\text{g/dL}$ ) como en terneras (promedio:  $26,2 \pm 14 \mu\text{g/dL}$ ) durante todos los períodos muestreados. Además se observaron niveles subnormales de calcio durante los muestreos invernales (junio y septiembre) en ambas categorías. Este trabajo confirma que el cobre puede comportarse como factor limitante en las condiciones evaluadas.

**Palabras clave:** deficiencias minerales, bovinos, noroeste argentino.

## ABSTRACT

*Mineral deficiencies are a problem of great productive impact worldwide. In the Argentine Northwest (NOA) extensive breeding is one of the most important economic activities and it is in frank growth. In the NOA, studies on deficiency diseases are scarce and partial. The present work aims to describe throughout the year variations of serum levels of calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in beef cows and rearing calves. In a farm, 20 cows and 20 weaned heifer calves were selected, which were maintained under grazing conditions without mineral supplementation. Blood samples were taken at intervals of 3 months for one year. Serum levels of calcium, magnesium, copper and zinc were determined by atomic absorption spectrophotometry and phosphorus by UV-visible spectrophotometry. The results indicate the existence of severe or moderate hypocupremia in the calves (average=  $26.6 \pm 13 \mu\text{g/dl}$ ) and cows (average= $26.2 \pm 14 \mu\text{g/dl}$ ) during all sampled periods. Subnormal levels of calcium were observed during the winter (June and September) in both groups. This work confirms that copper and calcium can behave as limiting factors in the evaluated conditions.*

**Keywords:** Mineral deficiency, beef cattle, northwest Argentina.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS), Área de Investigación en Salud Animal (AISA), Salta, Ruta Nacional 68, km 72, Salta, Argentina. Correo electrónico: micheloud.juan@inta.gov.ar

<sup>2</sup>Universidad Católica de Salta (UCASAL), Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Salta, Grupo de Producción Animal.

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

<sup>5</sup>Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Facultad de Ciencias Veterinarias, Laboratorio de Nutrición Mineral.

## INTRODUCCIÓN

La producción de carne bovina en el noroeste argentino (NOA) es una de las actividades más relevantes y ha cobrado aún más importancia con el desplazamiento de la ganadería hacia el norte presionada por la agricultura en el centro del país (Rearte, 2011). Actualmente, el stock ganadero nacional se elevó sustancialmente (53.400.000 cabezas) producto de un fuerte incremento del número de cabezas observado en esta región (SENASA, 2017).

En el NOA, la mayor parte de la producción ganadera se ubica en la región chaqueña semiárida y se desarrolla de forma extensiva siendo la principal fuente de alimentos, pastizales naturales y pasturas megatérmicas perennes implantadas (Barbera y Chavez, 2010). Estos sistemas, de base pastoril, suelen ser afectados por deficiencias minerales que comprometen la productividad de los rodeos debido a las variaciones estacionales que ocurren en los forrajes (McDowell, 1985; Cunha y McDowell, 2012).

Es bien conocido el impacto que tienen los desequilibrios minerales sobre el ganado; y se clasifica a estas carencias en "primarias", cuando es insuficiente la cantidad disponible en la dieta, y "secundarias" o "condicionadas", cuando ocurre por interacción o interferencia de otros elementos presentes en el alimento, que impiden la correcta absorción del mineral en cuestión (Suttle, 2010). En las "formas secundarias o condicionadas" los niveles de un mineral pueden ser correctos en la dieta, pero la interacción con uno o varios factores dietarios pueden reducir su biodisponibilidad y causar problemas. Por este motivo la interpretación de los niveles minerales en el forraje y el agua puede no ser del todo certera si no se hace teniendo en cuenta todos estos múltiples aspectos al momento del diagnóstico. Así, un correcto estudio de las carencias minerales requiere la medición del estatus mineral en los animales para tener un panorama más claro sobre las posibles carencias de un rodeo (Suttle, 2010; Mufarrije, 1999).

Al igual que ocurre con otras enfermedades, durante las etapas iniciales de las carencias minerales, existen algunas limitaciones para el diagnóstico en bovinos (Suttle, 2010); sin embargo la evaluación de los niveles sanguíneos en el rodeo de forma seriada es una alternativa viable y de gran importancia para aproximarse a estas problemáticas tal como lo muestran trabajos previos (Martinez *et al.*, 2018; Micheloud *et al.*, 2017; Wagemann *et al.*, 2014; Ramírez *et al.*, 1998). Adicionalmente los niveles séricos obtenidos pueden clasificarse en rangos de normalidad, marginalidad o deficiencia, y pueden asociarse a pérdidas productivas o problemas sanitarios en el ganado (Enjalbert *et al.*, 2006; Mattioli, 2013).

Pese a que se reconoce la limitante que significan los minerales para la producción ganadera, poco se sabe sobre estos trastornos en la región del NOA y solo se disponen de limitados trabajos al respecto (Micheloud *et al.*, 2017). En este contexto el objetivo del presente trabajo fue evaluar los niveles séricos de calcio, fósforo, magnesio, cobre y zinc en hembras adultas y terneras, durante un año, en un establecimiento ganadero localizado en la región del

Chaco semiárido y así obtener información sobre algunos desequilibrios que puedan ocurrir con estos minerales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron vacas de 1.º parto y terneras de raza Braford de un establecimiento agroganadero ubicado en la localidad de Lajitas, departamento Anta, al centro-oeste de la provincia de Salta (24° 57' S, 63° 74' O). El establecimiento evaluado se encuentra ubicado en la ecorregión del Chaco semiárido. Esta zona es una extensa llanura ubicada en el sector oriental de la provincia de Salta, y sus actividades predominantes son la ganadería y la extracción forestal para postes, leña y carbón (Píccolo *et al.*, 2008). La vegetación está representada por el dominio chaqueño, siendo las precipitaciones inferiores a los 550 mm e insuficientes para reponer el agua del suelo, lo que impide la agricultura en seco. Las temperaturas máximas extremas son las más altas del subcontinente (48,9 °C) (Karlin *et al.*, 1994). Durante el periodo de estudio la alimentación fue a base de *Megathyrus maximus* (var Tanzania) con suplementación según la disponibilidad de oferta forrajera.

Por un lado, el pastoreo era manejado en relación con la disponibilidad de forraje según la estación, donde en el caso de las vacas se usaban cargas moderadas (3 vacas/ha) y durante invierno se las suplementó con silo de maíz. Por otro lado, las terneras pastorearon la misma especie megatérmica con suplemento de maíz molido, expeller de soja y afrechillo de trigo, siendo la carga animal en este caso de 0,3 terneras por ha. El manejo reproductivo se basa en concentrar los partos en septiembre y octubre para efectuar el destete en abril. El agua de bebida estuvo constituida por agua de lluvia retenida en represas. Lamentablemente no existe información sobre las propiedades de estas fuentes que pudieran influir en el estatus mineral del ganado.

Se realizaron 5 muestreos de sangre a lo largo de un año (15-03-16; 15-06-16; 15-09-16; 15-12-16 y 15-03-17). Se seleccionaron del rodeo 20 vacas de primer parto y 20 terneras de las destetadas en abril. Vacas y terneras fueron identificadas y mantenidas sin ningún tipo de suplementación mineral durante el ensayo. Las vacas al primer muestreo se hallaban con las terneras y en su tercer mes de gestación. El destete se llevó a cabo en abril y los partos ocurrieron de octubre a noviembre del mismo año.

Las muestras fueron colectadas por punción yugular y centrifugadas para la obtención de suero libre de hemólisis. Posteriormente se realizó la determinación de Ca, Mg, Cu y Zn por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin Elmer AAnalyst 200), y las determinaciones de P mediante espectrofotometría UV-visible (Perkin Elmer-Lambda25), según indicaciones del fabricante.

En cada fecha los niveles de Ca, P, Mg, Cu y Zn se compararon entre categorías y fechas de muestreo usando ANOVA y empleando DGC como contraste de medias. Se utilizó con tal fin el programa InfoStat. Los valores de referencia empleados son los mencionados por Underwood y Suttle (2003) para bovinos. En el caso del cobre, los resul-



tados fueron clasificados en normocupremicos (>59 µg/dL), hipocupremicos moderados (entre 59 y 30 µg/dL) o hipocupremicos severos (<29 µg/dL) según lo establecido por Ramírez *et al.* (1998).

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en vacas se presentan en la tabla 1. En esta categoría las diferencias entre periodos fueron significativas ( $p < 0,001$ ) para Ca, P y Cu. Los valores medios de Ca descendieron por debajo de los límites de referencia en los muestreos de junio y septiembre. Los niveles séricos de P fueron marginales solo en el muestreo de marzo. Los valores medios de cupremia fueron inferiores al límite de normalidad de 60 µg/dL en todos los muestreos. Asimismo, entre el 20 y el 100 de estas presentaron hipocupremia severa (menos de 30 µg/dL) (figura 1).

Los resultados en las terneras se exponen en la tabla 2. Esta categoría mostró valores de cobre más bajos ( $p < 0,05$ ) que las vacas en todos los muestreos. Los valores medios fueron marginales para el Ca en el muestreo de septiembre, y lo propio ocurrió con los niveles de P en el muestreo de marzo. Los niveles de Mg y Zn fueron adecuados en terneras, mientras que sus niveles medios de Cu fueron indicativos de carencia moderada a severa, y al igual que en vacas con elevado porcentaje de animales con carencia severa se asocia a fallas productivas (figura 1).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las hipocalcemias fueron moderadas y las más bajas coincidieron con la época de partos (septiembre). La elevada demanda de Ca por el calostro (2 g/L) y luego la leche (1,2 g/L) podrían ser las responsables (Kume y Tanabe, 1993). En sistemas de cría la presentación clínica de la hipocalcemia es infrecuente, y tiene como principal condicionante las magnesemias menores a 1,7 mg/dL (Goff, 2000; 2017). Esto se debería a que el mecanismo de regulación homeostática de Ca depende de la activación renal de la vitamina D por estimulación de la PTH, y este mecanismo es dependiente de Mg (Swaminathan, 2003). Afortunada-

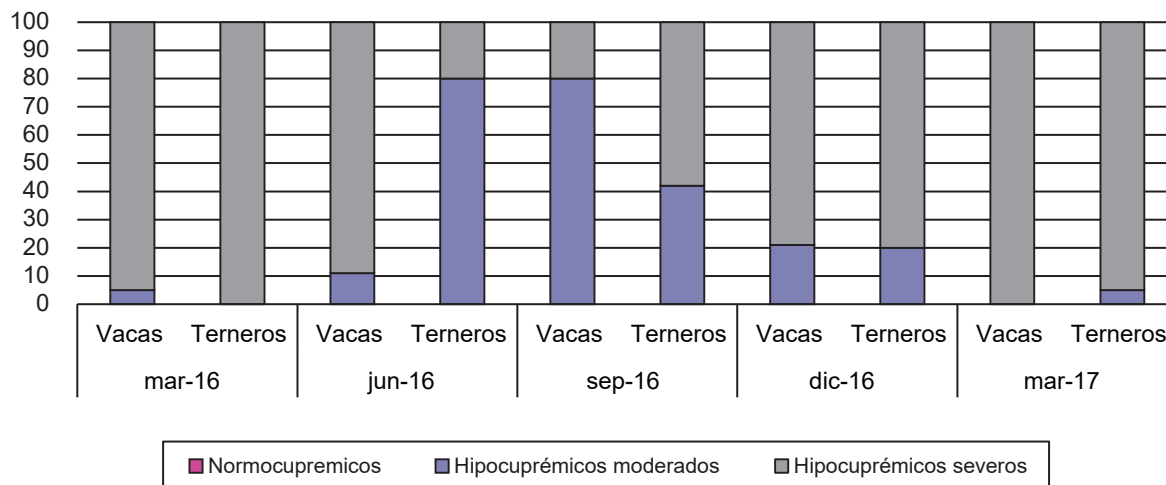
mente los niveles de Mg fueron adecuados durante todo el año en el presente ensayo, minimizando este riesgo.

El descenso en los niveles de P en vacas durante el muestreo de marzo coincide con que se encontraban preñadas y amamantando. La lactancia representa el momento de mayor demanda de P, debido a que la leche posee una concentración de alrededor de 0,9 g/L (Spiekers *et al.*, 1993). El mismo comportamiento se registró en las terneras de 4 meses de edad, y que coincide con los altos requerimientos de crecimiento (NRC, 2000). Esta deficiencia ha sido muy estudiada en la región mesopotámica, donde genera un gran impacto productivo (Mufarrege, 2004). En esta zona las fosfatemias se han asociado al crecimiento de los animales, con mantenimiento del peso con fosfatemias de 1,2 mg/dL y ascensos progresivos de ganancias de peso hasta fosfatemias de 7,2 mg/dL (Mufarrege, 1999). En el NOA los antecedentes son escasos, aunque en un informe INTA-FAO (1981) se mencionan valores bajos de P sérico en ausencia de evidencias clínicas en rodeos de Salta y Tucumán. Mas actualmente, un trabajo donde se efectuaron seguimientos en los niveles minerales en vacas y terneras en pastoreo en la región de selva y pastizal pedemontano detectó niveles de P sérico bajos en los meses de verano (Micheloud *et al.*, 2017). En sistemas pastoriles con aporte insuficiente de P (0,1% sobre base seca) se reduce el consumo de materia seca, la producción lechera y la eficiencia reproductiva en vacas, además de reducirse el crecimiento de los terneros (Dixon *et al.*, 2017; Anderson *et al.*, 2017). Si la situación persiste se desarrolla un cuadro clínico consuntivo (Shupe *et al.*, 1988). Cuando la carencia ocurre durante el periodo de crecimiento de forrajes de verano, como en el presente ensayo, las vacas adultas podrían movilizar hueso para sobreponerse a la mayor demanda de P de la lactancia, evitando consecuencias productivas graves (Dixon *et al.*, 2017).

Por un lado, los niveles de Cu fueron indicativos de carencia en ambas categorías. Valores similares fueron hallados en trabajos recientes (Suárez *et al.*, 2018), pero contrastan con un relevamiento sobre 10 rodeos en Salta donde hallaron valores normales (Saravia *et al.*, 2015). Teniendo en cuenta que el 80% de las vacas presentaban hipocupremia severa (< 30 µg/dL) al momento del servicio (muestreo de

Fecha de muestreo	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Mg (mg/dL)	Cu (µg/dL)	Zn (µg/dL)
mar-16	9,06 ± 1,12 a	3,3 ± 0,57 a	2,25 ± 0,2 a	27 ± 17 a	79 ± 24 a
jun-16	7,9 ± 0,74 b	4,9 ± 0,55 b	2,2 ± 0,2 a	28 ± 11 a	115 ± 14 b
sep-16	7,42 ± 0,8 b	5,26 ± 0,64 b	2,2 ± 0,2 a	36 ± 11 b	91 ± 15 c
dic-16	8,31 ± 1,2 a	4,97 ± 0,80 b	2,0 ± 0,3 b	22 ± 6 a	99 ± 18 c
mar-17	8,45 ± 0,75 a	5,16 ± 0,88 b	2,0 ± 0,1 b	17 ± 5 a	132 ± 27 d
<b>Promedio</b>	<b>8,22 ± 0,6</b>	<b>4,71 ± 0,6</b>	<b>2,13 ± 0,12</b>	<b>26 ± 7</b>	<b>103,2 ± 20</b>

**Tabla 1.** Concentraciones minerales (valor promedio ± desvío estándar) en vacas por muestreo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos periodos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 1.** Distribución porcentual de cupremias en rangos para cada categoría y muestreo. Normocupremia (> 60 µg/dL), hipocupremia moderada (30-60 µg/dL) e hipocupremia severa (< 30 µg/dL) (Ramírez *et al.*, 1998).

diciembre), el riesgo de menor fertilidad resulta elevado. En este sentido, en vacas Holstein obesas con hipocupremia moderada (entre 30 y 60 µg/dL) y niveles normales de Zn (entre 160 y 260 µg/dL), la aplicación parenteral de Cu y Zn elevó un 33% el porcentaje de preñez (González-Maldonado *et al.*, 2017). Por otro lado, niveles de carencia moderada durante la maduración *in vitro* de ovocitos bovinos reducen la cantidad de embriones obtenidos (Picco *et al.*, 2012). El efecto del Cu sobre la fertilidad se asocia a su participación en enzimas con capacidad antioxidante, como Cu-Zn SOD, ceruloplasmina y citocromo-c-oxidasa (Kleczkowski *et al.*, 2004; Uriu-Adams y Keen, 2005). En embriones Cu deficientes aumenta la generación y persistencia de especies reactivas (Hawk *et al.*, 2003), por lo que el daño oxidativo es el que genera el condicionante de la maduración del ovocito, su fertilización y la supervivencia embrionaria (Agarwal *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2018). La situación en las terneras es igualmente grave, ya que con cupremias menores a 30 µg/dL se generan menores ganancias de peso (Fazzio *et al.*, 2010). En ambas categorías la

deficiencia de Cu se asocia con fallas inmunitarias (Kegley *et al.*, 2016; Mattioli *et al.*, 2018). Finalmente, bajos niveles de cupremia en terneros se asociaron a mayor carga parasitaria en dos rodeos de la provincia de Salta (Suárez *et al.*, 2018). Considerados en conjunto, el riesgo de pérdidas productivas por el estatus de Cu en estos rodeos es elevado. Lamentablemente, en este estudio, no se determinaron los niveles de molibdeno (Mo), azufre (S), hierro (Fe) en la dieta de los animales por lo que no se puede determinar con exactitud el origen de dicha carencia.

Sin embargo, las variaciones observadas en las cupremias parecen responder a aspectos fisiológicos conocidos. Las vacas presentaron hipocupremia severa en tres periodos y solo ascendieron a niveles de hipocupremia moderada en el muestreo de septiembre, que coincidió con los partos. Esto podría deberse a que durante la gestación existe una transferencia de Cu desde la madre al feto para asegurarle una reserva hepática de Cu a su cría al nacimiento (Rosa y Mattioli, 2002). Esto es una adaptación fisiológica debido a que la leche es una fuente carente de

Fecha de muestreo	Edad al momento del muestreo (meses)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Mg (mg/dL)	Cu (µg/dL)	Zn (µg/dL)
mar-16	4	10,3±0,55a	2,5 ±0,4a	2,2 ± 0,2a	16±5,3a	135±25a
jun-16	6,5	8,1±0,53a	5,11±0,4b	2,1 ± 0,3a	38±12b	112±18b
sep-16	10	7,8±0,57b	5,75±0,6c	1,97± 0,3a	36,8±16b	95±57c
mic-16	12	8,71±1,2b	4,93±0,6b	2,05±0,25a	22 ±10a	123±32b
mar-17	15	8,26±1,8a	4,31±0,6d	2,02±0,30a	19±06a	133±16a
<b>Promedio:</b>		<b>8,63±0,9</b>	<b>4,52±1,2</b>	<b>2,06±0,08</b>	<b>26±10</b>	<b>119,6±16,5</b>

**Tabla 2.** Concentraciones minerales (valor promedio ± desvío estándar) en terneras por muestreo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos periodos (p<0,05).

Cu, insuficiente para cubrir los requerimientos de su cría (Suttle, 2010). Por esta razón los requerimientos de Cu en vacas son más elevados en gestación que en lactancia, y posiblemente expliquen la elevación de las cupremias en el muestreo de primavera. En las terneras, las cupremias fueron más bajas en primavera y verano, coincidiendo con la mayor oferta de alimento. En nutrición mineral es frecuente observar que las carencias se esperan solo en momentos de bajo aporte, sin recordar que es igualmente grave un aumento en los requerimientos. Este es el caso de bovinos con alta capacidad genética, que reciben suficiente alimento como para expresar su potencial, aumentando su crecimiento y por ende también los requerimientos de cada elemento, siendo los deficitarios en la dieta los primeros en ponerse en evidencia, como ocurrió con el Cu en los muestreos de primavera y verano. En los restantes muestreos la alimentación se basó en suplementaciones de subsistencia, que al bajar los requerimientos permiten que mejore el estatus de Cu y por ende los niveles séricos de Cu.

La carencia de Mg es de gran importancia en la región central de Argentina, donde la tetania hipomagnésica es la principal causa de muerte en vacas (Cseh y Crenovich, 1996). En esta zona la carencia se presenta asociada al rebrote de forraje de inicios de primavera y es generada por bajos niveles de Mg junto con elevados niveles de nitrógeno y de potasio (K) en el forraje (Cseh, 1994). En Salta se realizan intensas fertilizaciones con K para producir tabaco, por lo cual en explotaciones conjuntas con lechería este K podría ser un factor de interferencia para el Mg y el Ca (Martens y Schweigel, 2000; Schonewille *et al.*, 2008). En un trabajo reciente sobre explotaciones de doble propósito (tabaco-lechería) en Salta ya se evidenció el efecto de las fertilizaciones con K sobre las calcemias, y si bien no hubo efecto sobre magneseemias, esto sigue siendo un riesgo potencial en este tipo de explotaciones (Martínez *et al.*, 2018).

Otro elemento bajo estudio fue el Zn. Este es un microelemento esencial para la salud del bovino; su carencia genera problemas sanitarios asociados a fallas inmunitarias, reproductivas, de crecimiento y de integridad de la piel y pezuñas (Rosa *et al.*, 2008). En la bibliografía se considera que niveles séricos de Zn por debajo de 90 µg/dl son deficitarios (Suttle, 2010). En este trabajo tanto vacas como vaquillonas evidenciaron niveles normales para este micromineral.

Este estudio muestra la presencia temporal de niveles subnormales de P y Ca. Sin embargo la carencia más severa fue la de Cu ya que ambas categorías, y durante todos los periodos, presentaron cupremias muy inferiores a las recomendadas. Estos niveles alertan sobre su riesgo productivo y serían necesarios más estudios para reconocer las posibles consecuencias y posibilidades de su control preventivo.

## AGRADECIMIENTOS

Al ingeniero agrónomo Mariano Rojo, a la empresa Los Reales S. A., al veterinario asesor y al personal del establecimiento que contribuyó a que este trabajo fuera posible.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R.K. 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 14, 3:28.
- ANDERSON, S.T.; KIDD, L.J.; BENVENUTTI, M.A.; FLETCHER, M.T.; DIXON, R.M. 2017. New candidate markers of phosphorus status in beef breeder cows. *Anim Prod Sci* 57, 2291-2303.
- BARBERA, M.; CHAVEZ, D. 2010. Informe Técnico: Sistemas de Producción del Chaco Semiárido con Ganadería y Forestales. (Disponible: <http://eprints.natura.unsa.edu.ar/id/eprint/7> verificado: 22 de octubre de 2019).
- CSEH, S.B.; CRENOVICH, H. 1996. Hipomagnesemia en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. *Arch Med Vet* 28, 111-116.
- CSEH, S. 1994. Hipomagnesemia en vaca de cría en la Cuenca del Salado. VII Congreso Arg. de Ciencias Veterinarias. Bs. As. 1-17 pp.
- DIXON, R.M.; KIDD, L.J.; COATES, D.B.; ANDERSON, S.T.; BENVENUTTI, M.A.; FLETCHER, M.T.; MCNEILL, D.M. 2017. Utilising mobilisation of body reserves to improve the management of phosphorus nutrition of breeder cows. *Anim Prod Sci* 57: 2280-2290.
- FAZZIO, L.E.; MATTIOLI, G.A.; PICCO, S.J.; ROSA, D.E.; MINATEL, L.; GIMENO, E.J. 2010. Diagnostic value of copper parameters to predict growth of suckling calves grazing native range in Argentina. *Pesqui Vet Bras* 10, 827-832.
- GOFF, J.P. 2017. Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *J Dairy Sci* 101, 2763-2813.
- GOFF, J.P. 2014. Calcium and Magnesium Disorders. *Vet Clin Food Anim* 30, 359-381.
- GONZÁLEZ-MALDONADO, J.; RANGEL-SANTOS, R.; RODRÍGUEZ-DE LARA, R.; GARCÍA-PEÑA, O. Effect of injectable trace mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 181, 57-62.
- HAWK, S.N.; LANOUE, L.; KEEN, C.L.; KWIK-URIBE, C.L.; RUCKER, R.B.; URIU-ADAMS, J.Y. 2003. Copper-deficient rat embryos are characterized by low superoxide dismutase activity and elevated superoxide anions. *Biol Reprod.* 68 (3), 896-903.
- INFORME PROYECTO INTA-FAO N.º (75/023). 1981. Sanidad Animal en el NOA: Informe Final. 36-38 pp.
- KARLIN, U.O.T.; CATALÁN L.A.; COIRINI, R.O. 1994. La Naturaleza y el Hombre en el Chaco Seco. Salta, Proyecto GTZ Desarrollo Agroforestal en Comunidades rurales del Noroeste Argentino.
- KEGLEY, E.B.; BALL, J.J.; BECK, P.A. 2016. Impact of mineral and vitamin status on beef cattle immune function and health. *J Anim Sci.* 94 (12), 5401-5413.
- KLECZKOWSKI, M.; KLUCIŃSKI, W.; SIKORA, J.; ZDANOWICZ, M. 2004. Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle—trace elements and enzymatic mechanisms (Part 3). *Pol J Vet Sci.* 7(3), 233-40.
- KUME, S.; TANABE, S. 1993. Effect of parity on colostral mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *J Dairy Sci.* 76 (6), 1654-1660.
- LU, Z.; STUMPF, F.; DEINER, C.; ROSENDAHL, J.; BRAUN, H.; ABDOUN, K.; ASCHENBACH, J.R.; MARTENS, H. 2014. Modulation of sheep ruminal urea transport by ammonia and pH. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 307(5), 558-570.
- MCDOWELL, L.R.; KIATOKO, M.; LANG, C.E.; FONSECA, H.A.; VARGAS, E.; LOOSLI, J.K.; CONRAD, J.H. 1980. Latin American mineral research-Costa Rica. En: VERDE, L.S.; FERNANDEZ, A. (Eds.). Fourth world conference on animal production. Bs As, Argentina. 39-47 pp.

- MARTENS, H.; SCHWEIGEL, M. 2000. Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesemias. Implications for clinical management. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 16 (2), 339-68.
- MARTINEZ, G.M.; MICHELOUD, J.F.; SUAREZ, V.H.; ROSA, D.E.; MATTIOLI, G.A. 2018. Mineral Profile of Grazing Dairy Cows Feeding in Tobacco or Dairy Farms in the North western of Argentina. *Dairy and Vet Sci J.* 6 (2). <https://doi.org/10.19080/JDVS.2018.06.555684>
- MATTIOLI, G.A.; ROSA, D.E.; TURIC, E.; TESTA, J.A.; LIZARRAGA, R.M.; FAZZIO, L.M. 2018. Effect of Injectable Copper and Zinc Supplementation on Weight, Hematological Parameters, and Immune Response in Pre-weaning Beef Calves. *Biological Trace Element Research.* <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1493-9>
- MICHELOUD, J.F.; SUÁREZ, V.H.; MARTÍNEZ, G.M.; ROSA, D.E.; VENTURA, M.B.; MATTIOLI, G.A. 2017. Niveles séricos de minerales en hembras de cría bovina en un establecimiento de la región de selva y pastizal pedemontano del norte de Salta. *Revista FAVE, Sección Cs, Vet.* 16: 97-100
- MUFARREGE, D.J. 1999. Los minerales en la alimentación de vacunos para carne en la Argentina. Trabajo de divulgación técnica INTA, Mercedes, Corrientes. Argentina.
- MUFARREGE, D.M. 2004. El fósforo en los pastizales de la región NEA. *Noticias y Comentarios N.º 388.* EEA Mercedes, INTA. Corrientes, Argentina.
- NRC. 2000. National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle.* 7th ed. National Academy Press, Washington D.C., EUA.
- PICCO, S.J.; ROSA, D.E.; ANCHORDOQUY, J.P.; ANCHORDOQUY, J.M.; SEOANEA, A.; MATTIOLI, G.A.; FURNUS, C.C. 2012. Effect of copper sulphate concentration during in vitro maturation of bovine oocytes. *Theriogenology.* 77(2), 373-81.
- PÍCCOLO, A.; GIORGETTI, M.; CHAVEZ, D. 2008. Zonas Agro-económicas Homogéneas Salta-Jujuy. Estudios socioeconómicos de la sustentabilidad de los sistemas de producción, N.º 7. Ediciones INTA.
- RAMÍREZ, C.E.; MATTIOLI, G.A.; TITTARELLI, C.M.; GIULIODORI, M.J.; YANO, H. 1998. Cattle hypocuprosis in Argentina associated with periodically flooded soils. *Livest Prod Sci.* 55, 47-52.
- ROSA, D.E.; MATTIOLI, G.A. 2002. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. *Analecta Vet.* 22, 7-16.
- ROSA, D.E.; FAZZIO, L.E.; PICCO, S.J.; FURNUS, C.C.; MATTIOLI, G.A. 2008. Metabolismo y deficiencia de zinc en bovinos. *Analecta Vet.* 28, 34-44.
- SARAVIA F.C.; MARTÍNEZ, M.V.; ÁVILA, G.N. 2015. Relevamiento de la cupremia en rodeos de cría bovina del chaco semiárido salteño (Argentina). *Rev vet.* 26, 59-62.
- SCHONEWILLE, J.T.; EVERTS, H.; JITTAKHOT, S.; BEYNEN, A.C. 2008. Quantitative prediction of magnesium absorption in dairy cows. *J Dairy Sci.* 91 (1), 271-278.
- SENASA 2017. Dirección de Control de Gestión y Programas Especiales.
- SHUPE, J.L.; BUTCHER, J.E.; CALL, J.W.; OLSON, A.E.; BLAKE, J.T. 1988. Clinical signs and bone changes associated with phosphorus deficiency in beef cattle. *Am J Vet Res.* 49 (9):1629-36.
- SPIEKERS, H.; BINTRUP, R.; BALMELLI, M.; PFEFFER, E. 1993. Influence of dry matter intake on faecal phosphorus losses in dairy cows fed rations low in phosphorus. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 69, 37-43.
- SUÁREZ, V.H.; MICHELOUD, J.F.; ARAOZ, V.; MARTÍNEZ, G.M.; ROSA, D.E.; MATTIOLI, G.A. 2018. Effect of gastrointestinal nematodes on serum copper and phosphorus of growing beef calves in northwestern Argentina. *Trop Anim Health Prod.* <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1729-x>
- SUTTLE, N.F. 2010. *The mineral nutrition of livestock.* CABI Publishing. 4 th Edition. Wallingford, Reino Unido.
- UNDERWOOD, E.J., SUTTLE, N.F. 2003. *Los Minerales en la Nutrición del Ganado.* Editorial Acirbia. Zaragoza. España.
- SWAMINATHAN, R. 2003. Magnesium Metabolism and its Disorders. *Clin Biochem Rev.* 24: 47-66.
- URIU-ADAMS, J.Y.; KEEN, C.L. 2005. Copper, oxidative stress, and human health. *Mol Aspects Med.* 26:268-98.
- WAGEMANN, C.; WITTWER, F.; CHIHUAILAF, R.; NORO, M. 2014. Estudio retrospectivo de la prevalencia de desbalances minerales en grupos de vacas lecheras en el sur de Chile: a retrospective study. *Arch. Med. Vet.* 46: 363-373.

Recibido 27 de marzo de 2019 // Aceptado 11 de noviembre de 2020 // Publicado online 05 de mayo de 2021

# Dinámica del nitrógeno en un suelo aluvial salino, cultivado con remolacha azucarera

VALDIVIA VEGA, S.<sup>1</sup>; PINNA CABREJOS, J.<sup>1</sup>; VALDIVIA SALAZAR, S.<sup>2</sup>

## RESUMEN

En el presente experimento fueron evaluados cinco cultivares monogermen de remolacha azucarera, en la costa árida del norte del Perú. Se trabajó en un suelo aluvial (Entisols) altamente salino (5,38 a 22,5 dS m<sup>-1</sup>) de la empresa azucarera Casa Grande con el fin de estudiar el comportamiento de la remolacha azucarera en dicho suelo, donde normalmente no prospera ningún cultivo. El experimento se hizo en bloques completos al azar, con cinco tratamientos y 20 repeticiones. El campo se regó con agua de pozo y se fertilizó con urea (180 kg ha<sup>-1</sup> de N). Realizado el balance entre las ganancias y pérdidas de N, se encontró que se incorporan al suelo 421 kg ha<sup>-1</sup> de N y que se pierden de este 374 kg ha<sup>-1</sup> de N, habiendo superado las ganancias a las pérdidas en 47 kg ha<sup>-1</sup> de N. Además se encontró que en estos suelos marginales, altamente salinos, la remolacha azucarera produce altos rendimientos (81,69 t ha<sup>-1</sup>) de raíces para la producción de azúcar o alcohol y altos rendimientos de hojas más coronas (40,77 t ha<sup>-1</sup>) para alimentación del ganado.

**Palabras clave:** remolacha azucarera, nitrógeno, suelo salino.

## ABSTRACT

*In this experiment five sugar beet mono-germ cultivars were evaluated in Peruvian arid northern coast. Work was made in Alluvial soils (Entisols) highly saline (5.38 to 22.5 dS m<sup>-1</sup>), located at sugar cane Casa Grande enterprise where normally not a single crop develops. Experiment was done in a blocks complete randomized design with five treatments and 20 replications. Irrigation was with well water, and fertilization was with urea (180 kg ha<sup>-1</sup> of N). N gains and loses balance shows that 421 kg ha<sup>-1</sup> of N are incorporated to soil and 374 kg ha<sup>-1</sup> of N are lost. Gains wins to lost in 47 kg ha<sup>-1</sup> of N. Furthermore it was found that in these marginal soils, highly saline, sugar beets produce high root yields (81.69 t ha<sup>-1</sup>) for sugar o alcohol production and high leaf and crowns yields (40.77 t ha<sup>-1</sup>) for livestock aliment.*

**Keywords:** sugar beet, nitrogen, saline soil.

<sup>1</sup>Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería Agrónoma. Av. América Sur 3145, Monserrate, Trujillo, Perú. Correo electrónico: svaldiviav@upao.edu.pe

<sup>2</sup>Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería Agrónoma. Av. América Sur 3145, Monserrate, Trujillo, Perú. Correo electrónico: jorge.pinnacabrejos@gmail.com.

<sup>3</sup>Agrolab, Asesor Agronómico. Correo electrónico: sergio\_valdivia@hotmail.com.

## INTRODUCCIÓN

La remolacha azucarera es una planta bianual adaptada a zonas de fotoperiodo largo (Barceló *et al.*, 2001), su raíz pivotante almacena altas concentraciones de sacarosa, superiores a 18% de su peso fresco (Fick *et al.*, 1983). Además, presenta raíces fibrosas laterales que penetran hasta un metro de profundidad (Gregory, 1992), aunque Fick *et al.* (1983) han encontrado que pueden profundizar hasta más de dos metros en condiciones favorables.

En los valles irrigados de la costa árida del Perú se ha encontrado que más del 30% están afectados por la salinidad o mal drenaje (Masson, 1973). En estas zonas, altamente salinas, se ha demostrado que la remolacha azucarera prospera muy bien (Larsen, 1980; Flores, 1981; Valdivia *et al.*, 2001; Reynoso *et al.*, 2001; Valdivia *et al.*, 2010a; Valdivia *et al.*, 2010b; Valdivia *et al.*, 2016). En otros países se han encontrado resultados similares (U.S. Salinity Laboratory, 1954; Kaffka y Hembree, 2004; Wakeel *et al.*, 2010). Además, esta sería una magnífica planta colonizadora de los terrenos salinos debido a su gran avidez por las sales (principalmente K y Na), habiéndose encontrado que el cultivar poligermen Tribel extrae 1604 kg ha<sup>-1</sup> de las sales K, Na, Mg, y Ca (Valdivia *et al.*, 2016). Adicionalmente, de su utilización en la producción de azúcar, sus raíces pueden utilizarse para la producción de alcohol, y las hojas con coronas constituyen un magnífico forraje. Debido a lo mencionado, es importante el conocimiento de su manejo agronómico, destacando su manejo nutricional.

Uno de los objetivos del presente experimento fue conocer la dinámica del N en el suelo y en la planta, con el fin de encontrar las necesidades de este nutriente por la remolacha azucarera.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente experimento estuvo ubicado en el campo salino (varió de 5,38 a 22,5 dS m<sup>-1</sup>) La Grama, de la empresa agroindustrial Casa Grande, en la costa árida del norte del Perú (Valle del río Chicama).

En este campo se sembraron los siguientes cultivares monogermen de remolacha azucarera:

1. Mono Hy6 de EUA
2. Mono 3190 de Suecia
3. Mono HyD2 de EUA

4. Híbrido HH30 de EUA

5. Mono 4006 de Suecia

Estos cultivares se sembraron siguiendo el diseño de bloques completos al azar, empleándose 20 repeticiones de cada cultivar; con la finalidad principal de relacionar su producción con la salinidad del suelo, lo cual ya fue publicado (Valdivia *et al.*, 2001). Las parcelas (100) fueron de 32 m<sup>2</sup> (20 x 1,6 m) evaluándose únicamente los dos surcos centrales 16 m<sup>2</sup>). De cada una de las parcelas se tomaron muestras de suelos para los análisis químicos (tabla 1).

La costa del Perú está clasificada como una región hiperárida (UNESCO, 1977) y como un desierto subtropical según la clasificación de Holdridge (Tosi, 1960). Esta zona se caracteriza por tener una precipitación anual generalmente menor de 25 mm, con una temperatura media promedio de 20,2 °C (entre 15 y 26 °C), humedad relativa promedio de 82,5% (entre 74 y 90%) y una evaporación diaria promedio de 4,5 mm.

Según la clasificación "Soil Taxonomy" el suelo bajo estudio pertenece al Orden Entisols (Luzio *et al.*, 1982). Según la clasificación FAO el suelo es un Fluvisols (Porta *et al.*, 2003). Para el riego de las parcelas experimentales se utilizó agua de pozo, empleándose la irrigación superficial por surcos y aplicándose 10 riegos con un volumen total de 5 685 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>. Para poder conocer la cantidad de N incorporada al suelo por el agua de riego, se tomaron tres muestras de agua (en diferentes periodos) donde se realizó el análisis químico completo; habiéndose determinado colorimétricamente los nitratos utilizando Brucina y el amonio utilizando el reactivo de Nessler.

Para poder conocer la cantidad de N extraído del suelo por las plantas, se obtuvo la biomasa subterránea (raíces) y la biomasa aérea (hojas más coronas) de solo seis repeticiones, habiéndose determinado en ambas su porcentaje de humedad y el porcentaje de N por el método semimicro Kjeldahl. La única fuente de nutrientes aplicada al suelo en forma de fertilizantes fue la urea, habiéndose incorporado 180 kg ha<sup>-1</sup> de nitrógeno. Las plantas fueron cosechadas a los 186 días.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se presentan los rendimientos en t ha<sup>-1</sup> de la biomasa fresca y seca de raíces y de hojas más coronas. Se puede observar que la biomasa subterránea es mucho mayor que la aérea. Por el contrario, la concentración de N en hojas más coronas es mucho mayor que en las raíces. Además, la extracción de N del suelo por las raíces es ma-

Saturac. (%)	pH (pasta)	CE e (dS m <sup>-1</sup> )	M.O. (%)	N	P	Cationes cambiabiles mg 100 g <sup>-1</sup>			
				TOTAL (%)	DISP. kg ha <sup>-1</sup>	Ca	Mg	K	Na
50,3	7,9	11,66	3,08	0,161	79,4	563	166	112	174

**Tabla 1.** Resultados promedio (muestras compuestas) de 100 análisis de suelos de las parcelas experimentales, en la capa de 0 a 60 cm de profundidad.

yor que por las hojas más coronas, lo cual se debe a que el rendimiento de raíces fue mayor que el de hoja más coronas y a que además, estas últimas tienen mayor humedad que las raíces. También se puede observar que el cultivar Híbrido HH30 fue el de mayor rendimiento de raíces, y el cultivar Mono Hy6 el de menor rendimiento. Con relación al rendimiento de las hojas más coronas el cultivar Mono HyD2 tuvo el mayor rendimiento y el cultivar Mono 4006 el de menor rendimiento.

Finalmente, se aprecia que la extracción promedio de N por las raíces fue 230 kg ha<sup>-1</sup>, y por las hojas más coronas 144 kg ha<sup>-1</sup>, lo cual representa extracciones similares a las obtenidas con cinco cultivares poligermen de remolacha azucarera (Valdivia *et al.*, 2010a).

### Principales ganancias de nitrógeno por el suelo

#### - Cantidad inicial de N inorgánico en los 60 cm superficiales del suelo

Brady (1990) indicó que la cantidad de N fácilmente disponible es pocas veces mayor del 1 al 2% del N total del suelo, y Navarro y Navarro (2000) mencionan que el N disponible (NH<sub>4</sub> + NO<sub>3</sub>) constituye frecuentemente menos del 2% del N total del suelo. Resultados encontrados en los análisis químicos de 100 parcelas experimentales (tabla 1) muestra que el contenido de N total del suelo fue 0,161%, lo cual equivale a 13 331 kg ha<sup>-1</sup> de nitrógeno total. Estudios realizados en suelos aluviales de la costa árida del Perú encontraron que solo el 1,2% del N total se encuentra en forma mineral (Valdivia, 1982). Si se considera que la densidad aparente del suelo fue de 1,38 g cm<sup>-3</sup>, se obtuvo que la cantidad inicial de N disponible en los 60 cm superficiales del suelo fue de 160 kg ha<sup>-1</sup>.

#### - Cantidad de N que se mineraliza del N orgánico del suelo

Durante los seis meses del cultivo de la remolacha azucarera, parte del N orgánico va a ser mineralizado y puesto a disposición de las plantas. Según Gros

(1967), en suelos calcáreos la mineralización de la materia orgánica es de 0,8 a 1,2% anual. Adicionalmente, Fassbender y Bornemisza (1994) encontraron en clima templado, que entre 1 al 2% del N total es mineralizado por año. Asumiendo una mineralización de 1,2% y considerando que la remolacha azucarera solo permanece seis meses en el campo, se encontró que el aporte de N por la mineralización del N orgánico del suelo fue de 80 kg ha<sup>-1</sup> en la capa de 0-60 cm de profundidad.

#### - Entradas de N al suelo, por las aguas de riego

En la costa árida del Perú, la precipitación pluvial es prácticamente nula, por consiguiente, el N incorporado al suelo, provino del agua de pozo con la cual se regó el experimento. Según el volumen de agua aplicada (5 685 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) y la riqueza en nitrato (0,65 mg L<sup>-1</sup>), se encontró un aporte de N al suelo de aproximadamente 1 kg ha<sup>-1</sup>.

#### - Aplicación de N al suelo por fertilizantes

Según los requerimientos de N, para una alta producción de remolacha azucarera, se aplicó al campo una dosis de 180 kg ha<sup>-1</sup>.

#### - Otras entradas de N al suelo

Las ganancias de N por fijación biológica son desconocidas.

### Principales pérdidas de nitrógeno del suelo

#### - Extracción del N del suelo por las hojas más coronas

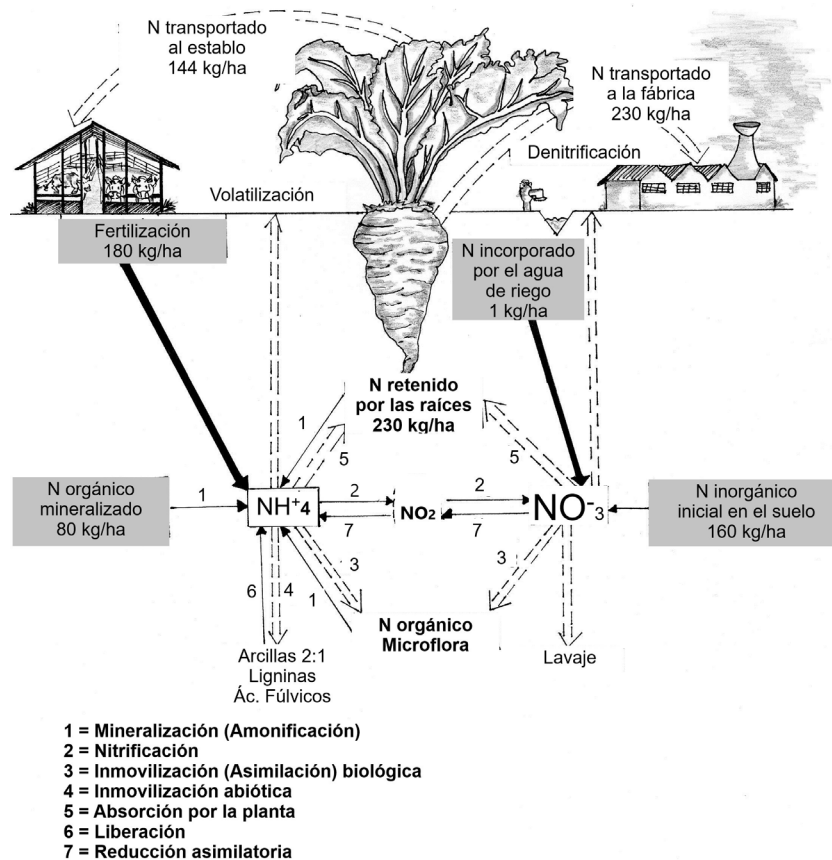
Se encontró que las hojas más coronas extraen 144 kg ha<sup>-1</sup> de nitrógeno (tabla 2), cantidad similar a la descrita por Ciampitti y García (2007) quienes indican que la parte aérea de la remolacha azucarera extrae 2 kg ha<sup>-1</sup> de N por tonelada producida, lo que hacen en este caso 163 kg ha<sup>-1</sup> de N.

#### - Extracción del N del suelo por las raíces

Se encontró que la extracción de nitrógeno por las raíces fue de 230 kg ha<sup>-1</sup> (figura 1), lo que es similar a

Cultivares	Rendimiento t ha <sup>-1</sup>		% de N		N extraído kg ha <sup>-1</sup>		Extracción total kg ha <sup>-1</sup>
	Raíces	Hojas + coronas	Raíces	Hojas + coronas	Raíces	Hojas + coronas	
Mono Hy6	76,79	37,86	1,20	2,58	210	150	360
Mono 3190	80,87	41,43	1,22	2,41	235	105	340
Mono HyD2	84,48	49,90	1,23	2,63	241	200	441
HH30 Holly	85,11	38,45	1,16	2,48	240	105	445
Mono 4006	81,39	36,22	1,11	2,50	226	159	385
Promedio	81,69	40,77	1,18	2,52	230	144	374

**Tabla 2.** Rendimiento promedio, % de N y extracción de N por raíces y hojas más coronas, por cinco cultivares monogermen de remolacha azucarera.



**Figura 1.** Dinámica del nitrógeno en un suelo aluvial salino, cultivado con remolacha azucarera (la inmovilización biológica, la fijación biológica, la pérdida por lavaje, la volatilización, la denitrificación y la fijación por las arcillas son desconocidas).

lo afirmado por El International Plant Nutrition Institute (2008) quien indicó que la remolacha azucarera absorbe en total  $238 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrógeno para un rendimiento de  $62 \text{ t ha}^{-1}$ , aunque difiere de lo afirmado por Ciampitti y García (2007) quienes indican en este caso  $327 \text{ kg ha}^{-1}$ .

**- Otras pérdidas de N del suelo**

Las pérdidas de nitrógeno por lavaje, volatilización y denitrificación son desconocidas, pero es muy probable que fueran insignificantes.

**CONCLUSIONES**

- Bajo condiciones de suelos “improductivos” con moderada a muy alta salinidad, la remolacha azucarera produjo altos rendimientos de raíces ( $81,69 \text{ t ha}^{-1}$ ) y de hojas más coronas ( $40,77 \text{ t ha}^{-1}$ ).
- Las ganancias de nitrógeno por el suelo fueron: por mineralización del N orgánico del suelo  $80 \text{ kg ha}^{-1}$ ; por las aguas de riego  $1 \text{ kg ha}^{-1}$ ; por la aplicación de fertilizantes  $180 \text{ kg ha}^{-1}$  y además, el suelo inicialmente tuvo  $160 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrógeno mineral, lo cual hace un total de  $421 \text{ kg ha}^{-1}$  de N.

- Con relación a las pérdidas de nitrógeno del suelo fueron: por extracción de las hojas más coronas  $144 \text{ kg ha}^{-1}$  y por extracción de raíces  $230 \text{ kg ha}^{-1}$  lo que que hace un total de  $374 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrógeno.
- Al analizar el balance de las ganancias y pérdidas de nitrógeno en este agrosistema, se encontró que las ganancias de N superaron en  $47 \text{ kg ha}^{-1}$  a las pérdidas; lo que indica que la fertilización nitrogenada fue excesiva.

**BIBLIOGRAFÍA**

BARCELÓ, C.J.; NICOLAS, K.G.; SABATER, G.B.; SÁNCHEZ, T.R. 2001. Fisiología Vegetal. Ed. Pirámide, Madrid, España. 556 p.

BRADY, N.C. 1990. The Nature and Properties of Soil. Ed. Mac Millan, Nueva York. 621 p.

CIAMPITTI, I.A.; GARCÍA, F.O. 2007. Requerimientos nutricionales. Absorción y extracción de macronutrientes y nutrientes secundarios. I. Cereales, oleaginosos e industriales. International Plant Nutrition Institute (IPNI). Archivo Agronómico 11, 13-16.

FASSBENDER, H.; BORNEMIZA, E. 1994. Química de Suelos. Ed. IICA. San José, Costa Rica. 421 p.

FICK, G.W.; LOOMIS, R.S.; WILLIAMS, W.A. 1983. Remolacha Azucarera. En: EVANS, L.T. (Ed.). Fisiología de los Cultivos. Editorial Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires, Argentina. 281-320 pp.



- FLORES, P.A. 1981. Evaluación del rendimiento y calidad nutritiva de la remolacha forrajera y azucarera en el suelo salino. Tesis Univ. Nac. Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- GREGORY, P.J. 1992. Crecimiento y funcionamiento de las raíces. En: WILD, A. (Ed.). Condiciones del Suelo y Desarrollo de las Plantas según Russell. Ed. Mundi Prensa, Madrid, España. 121-175 pp.
- GROS, A. 1967. Abonos. 4.ª Edición, Mundi Prensa, Madrid, España. 445 p.
- INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE. 2008. Absorción aproximada de nutrientes por las plantas. Ed. Cono Sur, Buenos Aires, Argentina.
- KAFFKA, S.; HEMBREE, K. 2004. The effects of saline soil and irrigation on sugar beet stand establishment. Jour. Sug. Beet Research, 41 (3), 61-72.
- LARSEN, C.E. 1980. La Remolacha: Cultivo tolerante a la salinidad para la costa peruana. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). Informe especial N.º 96, 24 p.
- LUZIO, W.; MALDONADO, F.; ROSALES, A.; SCOPPA, C.; VAN WAMKEKE, A. 1982. Taxonomía de Suelos. Versión abreviada en español de "Soil Taxonomy". Cornell University, Ithaca, N. Y. EUA. 252 p.
- MASSON, M.L. 1973. Evaluación de la Salinidad en el Perú. Evaluación y Control de Degradación de Tierras en Zonas Áridas de América Latina. Boletín Latinoamericano sobre fomento de Tierras y Aguas, 6:363-384.
- NAVARRO, S.; NAVARRO, G. 2000. Química Agrícola. Ed. Mundi Prensa, Madrid, España. 488 p.
- PORTA, J.; LÓPEZ ACEVEDO, M.; ROQUERO, C. 2003. Edafología. Ed. Mundi Prensa, Madrid, España. 929 p.
- REYNOSO, C.J.; VALDIVIA, V.S.; LARSEN, E.; PINNA, C.J. 2001. Comparativo de cultivares de remolacha azucarera en suelos salinos. Arnelo, 8 (1), 93-100.
- TOSI, J. 1980. Zonas de vida natural en el Perú.. Boletín Técnico N.º 5. Ed. IICA, OEA. 271 p.
- UNESCO. 1977. Un nuevo mapa de la distribución mundial de las regiones áridas. La Naturaleza y sus Recursos, 13 (3), 2-3.
- U. S. SALINITY LABORATORY. 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. En: RICHARD, L.A. (Ed.). USDA Handbook 60. 160 p.
- VALDIVIA, V.S. 1982. Nitrogen gains and losses in sugarcane (*Saccharum sp.*) agro - ecosystem on the coast of Peru. Plant and Soil, 67, 147-156.
- VALDIVIA, V.S.; REYNOSO, C.J.; PINNA, C.J.; LARSEN, C.E. 2001. Efecto de las sales en la producción de la remolacha azucarera en la costa árida del Perú. Antenor Orrego, 10 (16-17), 71-80.
- VALDIVIA, V.S.; VALDIVIA, S.S.; PINNA, C.J. 2010a. Ganancias y pérdidas de nitrógeno en un suelo salino bajo cultivo de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) XII Congreso Nacional y V Internacional de la Ciencia del Suelo. Arequipa, Perú. 163-170 pp.
- VALDIVIA, V.S.; PINNA, C.J.; VALDIVIA, S.S. 2010b. Extracción de fósforo y potasio en un suelo aluvial salino, cultivado con remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) bajo riego. XXXV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo y XIII Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. Mexicali, Baja California, México. 861-866 pp.
- VALDIVIA, V.S.; PINNA, C.J.; VALDIVIA S.S. 2016. Extracción de K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, y Na<sup>+</sup> de suelo salino por la remolacha azucarera. XXI Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo y XV Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, Ecuador. 760-764 pp.
- WAKEEL, A.; STEFFENS, D.; SCHUBERT, S. 2010. Potassium substitution by sodium in sugar beet (*Beta vulgaris*) nutrition on K - fixing soils. J. Plant Nutr. Soil Sc., 173, 127-134.

**Estimación de disponibilidad forrajera de pasturas base alfalfa y verdeos invernales en el sudoeste de Entre Ríos**

Ojeda, J.J.; Quinodoz, J.E.; Lezana, L.C.

**Análisis de la disponibilidad de agua útil del suelo en plantaciones de kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev) del sudeste bonaerense**

David, M.A.; Ligier, H.D.; Sánchez, E.E.

**Rendimiento del maíz ante el agregado de zeolita y yeso a la fertilización nitrogenada en un Argiudol típico de San Antonio de Areco**

Beltrán, M.J.; Herrmann, C.; Romaniuk, R.I.; Fernandez, A.; Jecke, F.; Mousegne, F.

**Yield response of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) to inoculation with *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilization in the Caribbean region of Colombia**

Sánchez, D.B.; Luna, L.L.; Espitia, A.A.; Cadena, J.

**Caracterización de residuos agroindustriales de algodón mediante espectrometría de emisión atómica de plasma por microondas**

Mendoza, S.M.

**Variabilidad de la calidad de lanas en la provincia de Río Negro, Argentina**

Gonzalez, E.B.; Sacchero, D.M.; Easdale, M.H.

**Aerobic stability of whole plant corn silage inoculated with a bacterial inoculant in three maturity stages**

Camarasa, J.N.; Auil, M.; Barletta, P.; Bereterbide, L.

**Germinación de dos especies de *Rhynchosia* (Fabaceae) nativas de Argentina central útiles para la restauración productiva de pastizales naturales**

Milano, C.; Tizón, F.R.; Peláez, D.V.; Martínez L.C.; Ribet, A.

**Anaplasmosis bovina en provincia de Buenos Aires durante 2015**

Cora Ibarra, J.F.; Lloberas, M.M.; Llada, I.M.; Odriozola, E.R.; Cantón, G.J.

**Methodological performance of selenium determination in ruminal fluid by hydride generation atomic absorption spectroscopy**

Brambilla, E.C.; Cseh, S.B.; Fernández, E.L.; San Martino, S.

**Efectos del control inicial de malezas sobre el crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. en el Departamento Comandante Fernández, Chaco Argentina**

Atanasio, M.A.; Pernochi, L.S.; Burdyn, B.; Guevara, G.

**Identificación del origen genético de un rodal semillero implantado de *Nothofagus obliqua* a través del análisis de dos regiones inter-génicas de ADN de cloroplasto**

Azpilicueta, M.M.; Marchelli, P.; Aparicio, A.G.; Pastorino, M.J.

**Comparación de indicadores económicos en producciones agrícolas actuales y alternativas en la ribera del Río Colorado, provincia de La Pampa**

Mariano, R.C.; Ferro Moreno, S.

**Niveles séricos de minerales en hembras bovinas en un establecimiento de la región del Chaco semiárido salteño**

Micheloud, J.F.; Martínez, G.M.; Araoz, V.; Suárez, V.H.; Rosa, D.E.; Mattioli, G.A.

**Dinámica del nitrógeno en un suelo aluvial salino, cultivado con remolacha azucarera**

Valdivia Vega, S.; Pinna Cabrejos, J.; Valdivia Salazar, S.



Ministerio de Agricultura,  
Ganadería y Pesca  
Argentina