The background of the cover is a close-up, abstract photograph of oil droplets. The droplets vary in size and are suspended in a liquid medium, creating a complex network of shapes and colors. The colors range from deep reds and purples at the top to bright yellows and greens in the center, transitioning through orange and pink towards the bottom. The overall effect is organic and cellular.

Revista de  
Investigaciones  
Agropecuarias

# RIA

ISSN online 1669-2314  
Vol. 49 N.º 1, April 2023  
Buenos Aires, Argentina

The Revista de Investigaciones Científicas (RIA) is a scientific information publication edited by INTA (National Institute of Agricultural Technology). The articles published are admitted by an Editorial Committee made up of important figures from the agricultural academic and scientific field. The journal covers different topics prepared by professionals from INTA and other institutions, and is intended for the national and international scientific community.

The information provided by authors or journalists does not necessarily reflect the opinion of the Editorial Committee of the journal or its publishing institution.

## MEMBERS OF THE GOVERNING BOARD OF INTA

**President:**  
Ing. Agr. Mariano Garmendia

**Vice-president:**  
Dra. Nacira Belen Muñoz

**National Advisers:**  
Ing. Agr. Joaquín Manuel Serrano  
MAGyP

Ing. Agr. Liliana Monterroso  
Facultades de Cs. Agrarias

Med. Vet. Guillermo Bernardes  
Facultades de Cs. Veterinarias

Ing. Agr. Alejandro Conci  
AACREA

Ing. Agr. Mario Nicolás Carlino  
CONINAGRO

Ing. Agr. Sergio Melgarejo  
CRA

Dr. Pablo Paillole  
FAA

Med. Vet. Juan Manuel Bautista  
SRA

**National Director:**

Ing. Agr. Carlos Parera

**Assistant National Directors:**

Assistant National Directorate Operations  
and Legal Affairs

Ing. Agr. José Luis Spontón

Dirección Nacional Asistente  
Investigación y Desarrollo

Ing. Agr. Martín Iruruela

Assistant National Directorate

Research and Development

Lic. Leticia Gabriela Tamburo

Assistant National Directorate  
Transfer and Extension

Ing. Agr. María Rosa Scala

General Directorate Administration

Lic. Ezequiel Duffard

Assistant National Directorate  
Development, Management and  
Strengthening of People

Mg. Constanza Inés Necuzzi

Assistant National Directorate Systems of  
Information, Technology and Processes

Ing. Fernando Ricitelli

Assistant National Directorate  
Institutional Communication

Lic. Máximo Bontempo

National Coordination Technology  
Transfer and Institutional Relations

Ing. Zootecnista Juan Sebastián Llorens

## MEMBERS OF THE EDITORIAL COMMITTEE

### GENERAL EDITOR

**Dr. Ariel Pereda.**

Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA) y Consejo  
Nacional de Investigaciones Científicas  
y Técnicas (CONICET). Argentina.

### EDITORS

**Ing. Agr., M. Sci. Jorge Mariotti.**  
Universidad Nacional de Salta (UNSa).  
Argentina.

**Dr. Tomas Miguel Schlchter.**  
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. Miguel Ángel Taboada.**  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional  
de Investigaciones Científicas y Técnicas  
(CONICET). Argentina.

**Dr. Aníbal Pordomino.**  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.

**Dr. Martín Durante.**  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA). Argentina.

**Dr. Laureano Frizzo.**  
Universidad Nacional del Litoral  
(UNL). Argentina.

**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. Karina Trono.**  
Instituto Nacional de Tecnología  
Agropecuaria (INTA) y 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.

**Dr. 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.

## STAFF

### Direction:

Dra. Norma Pensel  
Lic. Máximo Bontempo

**Editorial Coordination:**  
Mg. Mario Migliorati

### Editorial Assistants:

Lic. Gustavo Ciuffo  
Lic. Cecilia Esperbent

### Editorial Production:

Technical and Content Advisors  
Ing. Agr. Cristian Zuchini  
Dr. Martín Iruruela

### Copy Editor:

Laura Lima

### Design and Edition:

Assistant National Directorate  
Institutional Communication

This publication is the property of the National Institute of Agricultural Technology.

1439, Av. Rivadavia. Ciudad Autónoma de

Buenos Aires, Argentina.



Instituto Nacional de  
Tecnología Agropecuaria

Secretaría de Agricultura,  
Ganadería y Pesca



Ministerio de Economía  
Argentina

# ARTICLES

## PAPERS

**Effects of protein supplementation on dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes in Valle de Lerma, province of Salta, Argentina**

Olmos, L.H.; Martínez, G.M.; Alfaro, R.J.; Alfaro, E.J.; Díaz, J.P.; Colque-Caro, L.A.; Moreno, R.D.; Suárez, V.H.

**Experimental poisoning with *Pascalia glauca* in goats**  
Medina, D.M.; Colque-Caro, L.A.; Micheloud, J.F.

**Forage production and root perennial biomass in lucerne under two cutting heights**  
Blain, G.; Assuero, S.G.; Berone, G.D.

10

15

3

23

32

**Efecto del estrés salino en el régimen hídrico, concentración de compuestos osmóticamente activos y pigmentos fotosintéticos en cultivares de tomate**

Avila, C.; Argentel-Martínez, L.; Campos-Posada, R.; Campos-Posada, G.; Eichler-Löbermann, B.; Lopez, R.

**Avances sobre el manejo de arvenses en la huerta agroecológica**  
Filippi, M.A.; Godoy, I.; Rossi, A.L.; Marcozzi, P.

41

## SUPPLEMENT IN SPANISH

**Pérdidas de nitrógeno por volatilización y eficiencia de uso en maíz desde urea aplicada en diferentes momentos**  
Barbieri, P.A.; Echeverría, H.E.; Saínz Rozas, H.R.

23

32

# Effects of protein supplementation on dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes in Valle de Lerma, province of Salta, Argentina

April 26, 2023

Olmos, L.H.<sup>1</sup>; Martínez, G.M.<sup>2</sup>; Alfaro, R.J.<sup>2</sup>; Alfaro, E.J.<sup>2\*</sup>; Díaz, J.P.<sup>1</sup>; Colque-Caro, L.A.<sup>1,3</sup>; Moreno, R.D.<sup>1</sup>; Suárez, V.H.<sup>2</sup>

## ABSTRACT

This work aimed to evaluate the effects of protein and copper supplementation in dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes (GIN) in Valle de Lerma, province of Salta, Argentina. Three groups of 10 animals each were tested: GSP (group supplemented with 19% protein and copper administered subcutaneously at a rate of 0.5 ml per 20 kg of weight at the beginning of the trial), GSPD (group supplemented with protein and copper as GSP and dewormed monthly with Derquantel + Abamectin), and CG (control group, without supplementation or deworming). The animals were monitored every 15 days from the beginning of March 2021 until kidding, at the end of July 2021. The animals were clinically examined and Famacha and body condition were determined. In addition, hematocrit and serum protein were detected and coprological analyses were performed to confirm EPG and nematode prevalence. After kidding, daily milk production of each animal was measured up to 90 days of lactation. The prevalent GIN genera were *Haemonchus* and *Trichostrongylus*. At parturition, CG differed significantly in the average GIN egg count from GSP and GSPD, with 4035 ( $\pm 4873.8$ ) for CG, 1225 ( $\pm 1173.5$ ) for GSP and 983 ( $\pm 1854.8$ ) for the GSPD. Regarding physiological parameters, the hematocrit was 27.7% ( $\pm 4.4$ ) in CG, 31.7% ( $\pm 5.1$ ) in GSP, and 32% ( $\pm 3.5$ ) in GSPD; total serum proteins were 4 g/dl ( $\pm 0.62$ ) in CG, 5.8 g/dl ( $\pm 0.69$ ) in GSP and 6.2 g/dl ( $\pm 0.61$ ) in GSPD. Milk production in the treated groups (GSPD:  $167.71 \pm 18.2$  l; GSP:  $153.3 \pm 18.2$  l) was higher than in CG ( $85.7 \pm 19.2$  l). Protein supplementation had a positive effect on parasitological, physiological, and productive parameters. Under the conditions of this trial, it would be advisable to supplement the animals 45 days before kidding to enhance GIN control and milk production.

**Keywords:** gastrointestinal nematodes, caprine, protein, supplementation, productivity.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la suplementación con proteína y cobre en cabras lecheras naturalmente infectadas con nematodos gastrointestinales (NGI) en el Valle de Lerma, provincia de Salta, Argentina. Se analizaron tres grupos de 10 animales cada uno: GSP (grupo suplementado con 19% de proteína y cobre administrado por vía subcutánea a razón de 0,5 ml por cada 20 kg de peso al inicio del ensayo), GSPD (grupo suplementado con proteína y cobre como GSP y desparasitados mensualmente con Derquantel + Abamectina), y GC (grupo control,

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Salta, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (CIAP), Área de Investigación en Salud Animal, Ruta Nacional 68, km 172 (4403) Cerrillos, Salta, Argentina. Correo electrónico: olmos.leandro@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Salta, Ruta Nacional 68, km 172 (4403) Cerrillos, Salta, Argentina.

<sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Salta, Ruta Nacional 68, km 172 (4403) Cerrillos, Salta, Argentina.

sin suplementación ni desparasitación). Se realizaron monitoreos cada 15 días desde principios de marzo de 2021 hasta el parto, a fines de julio de 2021. Además, los animales fueron examinados clínicamente y se determinó su condición de Famacha y corporal. Se examinó hematocrito y proteínas séricas, y se realizaron análisis coprológicos para confirmar y determinar la prevalencia de nematodos y EPG. Luego del parto, se midió la producción diaria de leche de cada animal hasta los 90 días de lactancia. Los géneros NGI prevalentes fueron *Haemonchus* y *Trichostrongylus*. En el momento del parto, CG difirió significativamente en el recuento de huevos NGI promedio de GSP y GSPD, con 4035 ( $\pm 4873.8$ ) para CG, 1225 ( $\pm 1173.5$ ) para GSP y 983 ( $\pm 1854.8$ ) para GSPD. En cuanto a los parámetros fisiológicos, el hematocrito fue de 27,7% ( $\pm 4,4$ ) en GC; 31,7% ( $\pm 5,1$ ) en GSP y 32% ( $\pm 3,5$ ) en GSPD; las proteínas séricas totales fueron 4 g/dl ( $\pm 0,62$ ) en GC, 5,8 g/dl ( $\pm 0,69$ ) en GSP y 6,2 g/dl ( $\pm 0,61$ ) en GSPD. La producción de leche en los grupos tratados (GSPD:  $167,71 \pm 18,2$  l; GSP:  $153,3 \pm 18,2$  l) fue mayor que en el GC ( $85,7 \pm 19,2$  l). La suplementación proteica tuvo un efecto positivo sobre los parámetros parasitológicos, fisiológicos y productivos. Bajo las condiciones de este estudio, sería recomendable suplementar a los animales 45 días antes del parto para mejorar el control de NGI y la producción de leche.

**Palabras clave:** nematodos gastrointestinales, caprino, proteína, suplementación, productividad.

## INTRODUCTION

The impact of gastrointestinal nematode (GIN) infestation on production is one of the most important health problems in pastoral goat production systems worldwide (Stear *et al.*, 2011; Suarez *et al.*, 2013, 2021). Currently, the most widespread and almost exclusive tool to control GINs is anthelmintic treatment (Cerutti *et al.*, 2018). However, the high frequency of deworming (Suarez and Cristel, 2014) without considering the regional epidemiology of GINs and the dynamics of the larvae in the refuge (Van Wyk, 2001) were the main causes that triggered the development of anthelmintic resistance (AR), making GIN control difficult. Another factor that contributes to AR development is underdosing, which in the case of goats is due to the low availability on the market of anthelmintic drugs approved for use in this species (Anziani and Fiel, 2015). Therefore, in this AR context, there is a need to search for alternatives to the chemical control of GIN.

One of the alternative GIN control methods is the use of different chemical compounds, such as copper oxide and/or concentrated tannins (Waller *et al.*, 2014; Sandoval *et al.*, 2018; Suarez *et al.*, 2019). Supplementation with protein concentrates has also been shown to decrease GIN loads in sheep (Abbott *et al.*, 1986, 1988; Van Houtert *et al.*, 1994; Bricarello *et al.*, 2005) and goats (Nnadi *et al.*, 2009). In those works, the GIN loads in sheep subjected to different protein supplementation schemes were measured. The results showed that the animals supplemented with proteins had a lower GIN load than a control group. Therefore, protein supplementation could be an alternative in farms where the AR phenomenon occurs. In the northwestern region of Argentina (NOA region), where AR has been detected in goats (Aguirre *et al.*, 2000 a,b; 2002; Suarez *et al.*, 2012), the study of this type of alternative is of great regional interest. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effects of protein and copper supplementation on dairy goats infected with GINs in Valle de Lerma, province of Salta.

## MATERIALS AND METHODS

**Study area:** The work was carried out in the Dairy Goat Unit of the Salta Agricultural Experimental Station of INTA, Cerrillos,

province of Salta ( $24^{\circ}53'32.65''S 26^{\circ}28'26.4''W$ ), Valle de Lerma, Argentina. The area is characterized by a sub-Andean mountain climate, an average altitude of about 1050 m a.s.l., and a summer rainfall regime, followed by a winter-spring dry period (Bianchi and Bravo, 2008).

**Experimental design:** The study involved pregnant goats of the Saanen breed and was conducted from March 5 2021 until the end of October 2021. The animals were divided into three groups (10 animals each) according to the number of kiddings, previous milk production and estimated time of calving: GSP, goats supplemented with 19% protein (200 g of commercial balanced Starter Calf Concentrate 40% Rearing 30%, Santa Sylvina) and copper (administered subcutaneously at a rate of 0.5 ml per 20 kg of weight at the beginning of the trial); GSPD, goats supplemented with the same amount and type of protein and the same amount of copper as GSP, and dewormed monthly with Derquantel + Abamectin at a rate of 1.2 ml/5 kg LW (STARTEC Derquantel 1% + Abamectin 0.1%); and CG, control group with no protein supplementation (PS) or deworming. In the three groups, goats with an egg count per gram of feces (EPG) greater than 3000 or with clinical signs compatible with GIN infection (diarrhea, Famacha scores 4-5, poor condition) were treated immediately with Monepantel at a rate of 1ml/10 kg LW (Zolvix Monepantel 2.5%).

The three groups grazed together alfalfa (13% protein) for 8 h daily. A rotational grazing system was used on daily strips and at a rate of 15 goats per ha. After grazing, in the afternoon, goats were provided the protein supplement in feeders, ensuring 30 cm of feeding frontage per animal. In mid-May, 45 days before the expected kidding date, goats were penned until parturition and received a daily ration of 4 kg DM of premium quality alfalfa hay and 0.5 kg of corn. Finally, after parturition, the goats were taken to an oat pasture paddock.

**Sampling and parameters evaluated:** From March 5 until the moment of kidding in July, fecal and blood samples were taken every 15 days. Fecal samples were processed using the McMaster technique modified by Roberts and O'Sullivan (1949) to determine eggs per gram of feces (EPG). To determine the parasitic genera, pool samples from each of the experimen-

tal groups were cultured according to the technique described by Suarez *et al.* (1997). Parasitic genera were identified following the keys described by Niec (1968). Serum protein was determined by refractometry, copper dose in blood by atomic absorption spectrophotometry and hematocrit (HCT) from blood samples. In addition, at the time of sampling, the body condition (BC) was scored based on palpation of the lumbar vertebrae, as described by Russel *et al.* (1969), and weight and Famacha score were recorded to clinically evaluate the level of anemia in all the animals (Van Wyk and Bath, 2002). Finally, individual daily milk production was measured during the first 90 days of lactation. At kidding, the individual weight of the kids born per goat was recorded.

**Statistical analysis:** The variables EPG, HCT, serum protein, Famacha score, BC, total weight of the kids born per goat, and total milk production at 45 and 90 days with normal distribution were subjected to analysis of variance; those values that were not normally distributed were subjected to the Kruskal Wallis test. The EPG was naturally log transformed before analysis ( $x = \ln(x+1)$ ) (Di Rienzo *et al.*, 2008). Analyses were adjusted to goats with less or more than one kidding and previous milk production of less or more than 2 liters per day.

## RESULTS

Figure 1 shows the dynamics of EPG from the start of the trial to parturition in the three experimental groups. Before confinement, EPG of GSPD was significantly ( $p<0.03$ ) lower than that in the other two groups. At kidding, significant differences

( $p<0.0011$ ) were observed between the control group (CG) and the groups supplemented with protein and copper (GSP and GSPD). The average EPG at parturition was 4035 ( $\pm 4873.8$ ) for CG, 1225 ( $\pm 1173.5$ ) for GSP, and 983 ( $\pm 1854.8$ ) for GSPD.

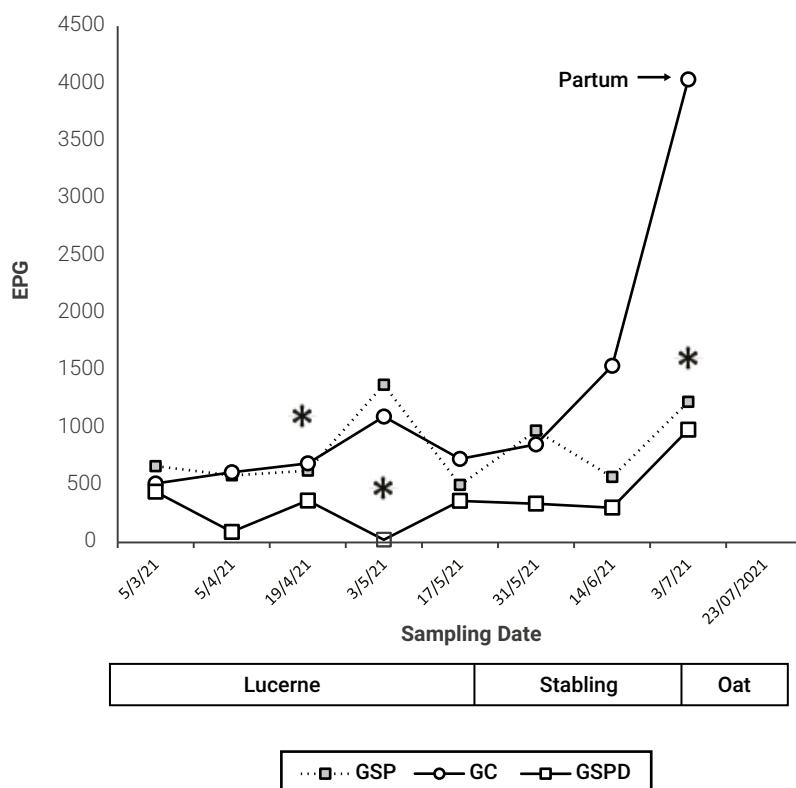
The distribution of the parasitic genera showed a predominance of *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp. The former showed its highest prevalence until May. Then, *Trichostrongylus* spp. prevailed up to the time of kidding. The genus *Teladorsagia* sp. was observed in a low percentage throughout the study. Nematode genera had the same prevalence in all the study groups. Figure 2 shows the dynamics of the average genus prevalence relative to the average EPG count of the three experimental groups.

Differences in HCT (table 1) were statistically significant ( $p<0.05$ ) between CG and the treated groups (GSP and GSPD) only at the time of kidding, with mean values of 27.7% ( $\pm 4.4$ ) in CG, 31.7% ( $\pm 5.1$ ) in GSP and 32% ( $\pm 3.5$ ) in GSPD.

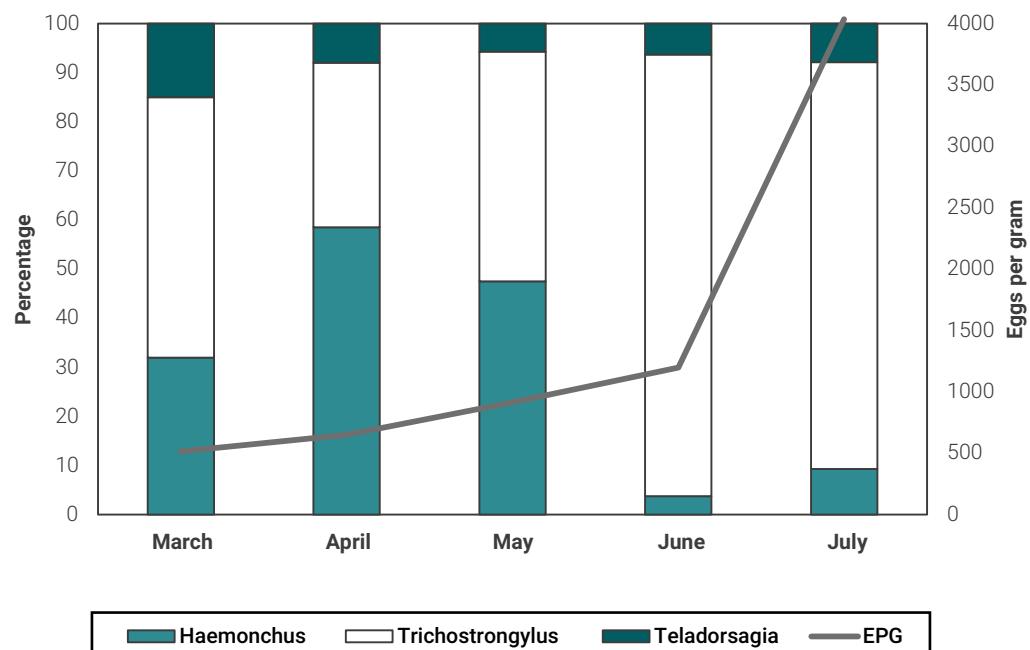
Serum protein showed statistically significant differences ( $p<0.014$ ) between CG and GSPD at the time of kidding, with no differences being observed between CG and the GSP ( $p>0.05$ ) (table 1).

Copper did not show statistically significant differences among groups, with average values of 89  $\mu\text{g}/\text{dl}$  for CG, 93  $\mu\text{g}/\text{dl}$  for GSP, and 94  $\mu\text{g}/\text{dl}$  for GSPD.

Clinical examination of the animals during the trial (table 2) showed no statistical differences in BC. However, in the case of the Famacha scale, statistically significant differences ( $p<0.023$ ) were observed between the CG and the treated



**Figure 1.** Dynamics of EPG in the experimental groups throughout the trial. GSP: Group with protein supplementation; GSPD: group with supplementation and dewormed with Abamectin-Derquarantel; CG: Control group\*.  
\*Means with significant differences ( $p<0.05$ ).



**Figure 2.** Percentage of GIN genera relative to the average EPG of the three experimental groups throughout the sampling period (from March to July 2021).

Parameter	Group	5/3/21	5/4/21	19/4/21	3/5/21	17/5/21	31/5/21	14/6/21	28/6/21
Hematocrit (%)	GSP	30.4	29.3 a	29.3	28.2	28.9	29.2	29.6	31.7 b
	CG	32.9	32.8 b	31.2	30.5	31.4	30.8	29.4	27.8 a
	GSPD	31.4	31.0 b	30.6	30.3	30.8	31.5	32.6	32.0 b
Serum Protein (g/dl)	GSP	6.2	6.2 a	6.1	5.9	5.9	6.0	5.6	5.8 a
	CG	6.7	6.6 b	6.5	6.3	6.1	6.0	5.7	5.4 ab
	GSPD	6.6	6.6 b	6.5	6.4	6.2	6.2	6.2	6.2 b

**Table 1.** Mean hematocrit and total protein in the three experimental groups (GSP: Group supplemented with protein and copper; GSPD: Group supplemented with protein and copper, and dewormed with Abamectin-Derquintel; CG: Control group) throughout the sampling period\*.

\*Different letters indicate significantly different values ( $p<0.05$ ).

Parameter	Group	5/3/21	5/4/21	19/4/21	3/5/21	17/5/21	31/5/21	14/6/21	28/6/21
Body Condition	GSP	2.8	2.9	3.1	3.2	3.2	3.1	2.8	2.7
	CG	3.1	3.2	3.1	3.2	3.1	3.0	2.9	2.7
	GSPD	2.8	3.0	3.1	3.1	3.1	3.1	2.9	2.9
Famacha (%)	GSP	7.7	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.3 b
	CG	0.0	0.0	0.0	7.7	7.7	7.7	7.7	30.8 a
	GSPD	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0 b

**Table 2.** Average body condition and percentages of animals with Famacha 4 and 5 scores in the experimental groups (GSP: Group supplemented with protein and copper; GSPD: Group supplemented with protein and copper, and dewormed with Abamectin-Derquintel; CG: Control group)\*.

\*Different letters indicate significantly different values ( $p<0.05$ ).

groups (GSP and GSPD) only at kidding, with the percentage of goats with Famacha scores 4 and 5 in CG (30.8%) being higher than that of GSP (8.3%). Finally, none of the animals presented any health problem that prevented them from continuing to participate in the study.

Total milk production at 45 days postpartum was significantly ( $p<0.0091$ ) higher in GSP ( $83.7 \pm 9.5$  l) and GSPD ( $90.6 \pm 9.5$  l) than in CG ( $46.9 \pm 10.1$  l). At 90 days postpartum, GSP ( $153.3 \pm 18.2$  l) and GSPD ( $167.7 \pm 18.2$  l) also showed a significantly ( $p<0.03$ ) higher yield than that of the CG ( $85.7 \pm 19.2$  l). Figure 3 shows the lactation curves of the three experimental groups from kidding to 90 days.

Production of kids -evaluated as the total weight produced by each goat showed no differences ( $p<0.41$ ) among groups. Live weight at birth was on average  $5.41 \pm 0.74$  (CG),  $5.96 \pm 0.77$  (GSP), and  $6.83 \pm 0.74$  (GSPD) kg.

## DISCUSSION

Results of parasitological parameters showed that the positive impact of supplementation was evident mainly at the time of kidding, when there was a significant reduction in the elimination of GIN eggs. Similarly, differences in parasitic *H. contortus* loads were reported in groups of lambs with protein supplementation (PS) and a control group (Abbott et al., 1985, 1988; Bricarello et al., 2005). Van Houtert et al. (1994) also observed that in the group with PS, the load of *T. columbriformis* based on the count of adult specimens was lower than in a control group (without PS). By contrast, Abbott et al. (1986) did not observe significant differences in EPG and the load of adult specimens of *H. contortus* in the digestive tract of lambs between groups treated with high (169 g/kg DM) and low (88g/kg DM) PS proportion. Our results also disagree with the

findings of Van Houtert et al. (1995) in sheep, who reported no significant differences in the effect of PS on EPG and the load of adult GIN of *H. contortus* and *T. columbriformis*, between a control group and a group treated with PS. However, both Abbott et al. (1986) and Van Houtert et al. (1995) conclude that PS would reduce the impact of parasites on animals. Although neither work reported statistically significant differences between groups, in both works the group treated with PS had a greater live weight gain than the control group. In turn, animals with high protein concentration were found to be less markedly affected by *H. contortus* infestation than a group with low protein concentration (Abbott et al., 1986).

Regarding works involving goats, Nnadi et al. (2009) studied West African Dwarf goats in Nigeria from the first day of gestation until 6 weeks postpartum and evaluated the effect of PS on productivity relative to *H. contortus* burden. The authors found that PS increased the animal capacity to resist the establishment of *H. contortus*. In the present study, an abrupt drop in the prevalence of this species was observed from the middle of the trial until the moment of kidding, both in the treated groups and the CG. In this work, the effect of PS on *H. contortus* burden was not evaluated.

The pathogenic effect of *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp., measured through biochemical and clinical parameters, differed between animals supplemented or not with protein and copper, as observed in FAMACHA and Hematocrit results at the time of kidding. Interestingly, in the case of FAMACHA, the results showed that the highest values of the scale (4-5) were observed when the prevalence of *Haemonchus* spp. was lower. This could be related to the fecal matter pool, which had a higher representation of animals with lower FAMACHA values. This effect of PS is relevant from a productive and epidemiological point of view, because pro-

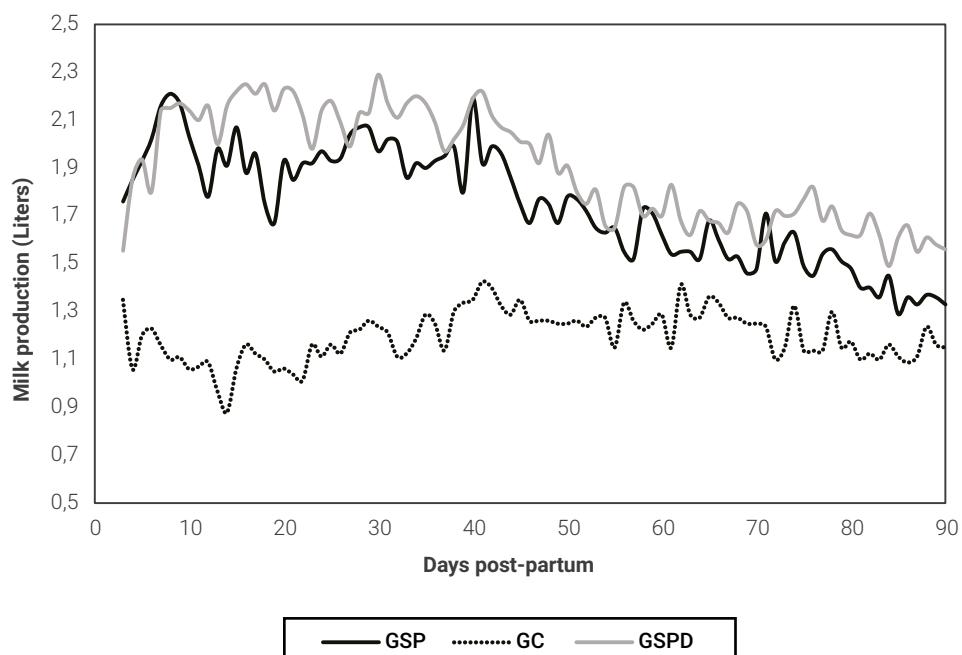


Figure 3. Average daily milk production of the experimental groups. (GSP: Group supplemented with protein and copper; GSPD: Group supplemented with protein and copper, and dewormed with Abamectin-Derquantel; CG: Control group).

tein-supplemented animals are in better conditions to face the negative energy balance of the first third of lactation (Nsalahi et al., 2004). These results agree with several works describing the mitigating effects of PS on infestations by *H. contortus* (Abbott et al., 1985, 1986, 1988; Van Houtert et al., 1994; Bricarello et al., 2005), by *T. columbriformis* in lambs (Van Houtert et al., 1994) and by *H. contortus* in goats (Blackburn et al., 1991, 1992; Nnadi et al., 2007, 2009). On the other hand, in terms of serum protein values, no statistically significant differences were observed between groups until the time of kidding, when a higher percentage of animals was below the range of reference values (6.0-7.8 mg/dl) (Matthews, 1999) in the CG (53.8%) than in the GSP (41.7%) and GSPD (23.1%). By contrast, previous reports did not find an effect of different levels of PS on serum protein, which reached values between 4.4 g/dl and 2.6 g/dl (Abbot et al., 1985, 1986, 1988). It is important to note that the pathogenic effect of GINs on animals was controlled through the treatment with Monepantel, with no differences in the number of treatments between CG and GSP. However, GSPD did not require treatment with Monepantel, which may be related to the previous deworming of the group with the combination of Abamectin + Derquantel.

The greatest differences among groups were observed in the impact of PS on milk production. Indeed, GSP and GSPD produced a significantly higher quantity of milk than CG. On the other hand, there were no differences in the live weight of the kids at birth. This result may be explained by the lack of periods of deficiencies in the nutritional requirements during pregnancy throughout the trial and that the influence of PS on GIN was not evaluated at the time the goats were served.

The response of the evaluated parameters to PS was evidenced at parturition and in the subsequent milk production. The results show a positive effect of PS, since animals with high production are considered more susceptible to GIN infestations (Hoste et al., 2005). In this sense, the negative effect of GIN on milk production has been frequently reported in goats (Hoste and Chartier, 1993; Chartier and Hoste, 1994; Hoste et al., 1999; Suarez et al., 2017). Similarly, Chartier et al. (2002) suggest that PS in goats before parturition could reduce the magnitude of the peripartum EPG peak described in small ruminants. In this line, Etter et al. (1999) observed that in animals supplemented with different protein concentrations, the peripartum peak of EPG was lower than in a control group, demonstrating that such peak, which is caused by relaxation of immunity of the animals in that period, may be related to their nutritional levels. Overall, our observations agree with previous works, since the groups with PS had higher milk yields and lower EPG than the control group.

## CONCLUSIONS

The results of this work allow us to determine that PS has an effect on most of the studied parameters, except for BC. The greatest difference was observed in the response of the parameters at kidding, with the supplemented animals being the supplemented animals less affected by the GIN infestation and presenting better values of productive parameters than the untreated animals. In contexts of anthelmintic resistance, where GINs affect the health of animals and, consequently, their production, the use of protein supplementation can support anthelmintic treatment. Thus, supplementation of the animals 45 days before parturition could be recommended to enhance the

anthelmintic effect, mitigating the effect of GIN and increasing postpartum milk production.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

LH Olmos, GM Martínez and VH Suárez contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by LH Olmos, JP Díaz, LA Colque-Caro, E Alfaro and J Alfaro. The first draft of the manuscript was written by LH Olmos and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## FUNDING

This work was supported by grants from INTA (INTA PD E5-I104-001: Estudios sobre generación de resistencia a los antimicrobianos (antibióticos, antiparasitarios, acaricidas, antivirales) y desarrollo de alternativas profilácticas y terapéuticas para su utilización en animales de producción).

## DATA AVAILABILITY

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## COMPETING INTERESTS

The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

## DECLARATIONS

**Ethics approval:** This study has been approved by a research ethics committee of the National Institute of Agricultural Technology of Argentina (Regional Centre Salta-Jujuy). Acta No 14/20 of 18th August 2020.

**Competing interests:** The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

**Consent to participate:** Authors have permission to participate.

**Consent for publication:** Authors have permission for publication.

## REFERENCES

- ABBOTT, E.M.; PARKINS J.J.; HOLMES, P.H. 1988. Influence of dietary protein on the pathophysiology of haemonchosis in lambs given continuous infections. Res Vet Sci 45(1):41-49. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30892-0](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30892-0)
- ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. 1986. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. Vet Parasitol 20(4):275-289. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(86\)90126-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(86)90126-3)
- ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. 1985. Influence of dietary protein on parasite establishment and pathogenesis in Finn Dorset and Scottish Blackface lambs given a single moderate infection of *Haemonchus contortus*. Res Vet Sci 38(1):6-13. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)31840-X](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)31840-X)
- AGUIRRE, D.H.; CAFRUNE, M.M.; VIÑABAL, A.E.; SALATÍN, A.O. 2000a. Presunción de resistencia a dos clases de nematocidas en cabras lecheras del Valle de Lerma, Salta. Mem. 13.<sup>a</sup> Reun. Anu. Asoc. Arg. Vet. Lab. Diag., Merlo (San Luis). 45 p.
- AGUIRRE, D.H.; CAFRUNE, M.M.; VIÑABAL, A.E.; SALATÍN, A.O. 2000b. Mortalidad por nematodiasis asociada a la ineficacia del albendazole en cabras lecheras del valle de Lerma (Salta) Rev. Arg Prod Anim 20:341-343.

- AGUIRRE, D.H.; CAFRUNE, M.M.; VIÑABAL, A.E.; SALATÍN, A.O. 2002. Aspectos epidemiológicos y terapéuticos de la nematodiasis gastro-intestinal caprina en un área subtropical de la Argentina. *Re. Inv Agrop (RIA)* 31:25-40.
- ANZIANI, O.S.; FIEL, C.A. 2015. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en la Argentina. *Rev Inv Agrop (RIA)* 41: 34-46.
- BIANCHI, A.R.; BRAVO, G.C. 2008. Ecorregiones Norandina: Descripción, subregiones, agroecosistemas, sistemas productivos y cartografía regional Ed. INTA, EEA Salta. 60 p.
- BLACKBURN, H.D.; ROCHA, J.L.; FIGUEIREDO, E.P.; BERNE, M.E.; VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.R.; ROSA, J.S. 1992. Interaction of parasitism and nutrition in goats: effects on hematological parameters, correlations, and other statistical associations. *Vet Parasitol* 44(3-4):183-197. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90116-Q](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90116-Q)
- BLACKBURN, H.D.; ROCHA, J.L.; FIGUEIREDO, E.P.; BERNE, M.E.; VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.R.; ROSA, J.S. 1991. Interaction of parasitism and nutrition and their effects on production and clinical parameters in goats. *Vet Parasitol* 40(1-2):99-112. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(91\)90086-B](https://doi.org/10.1016/0304-4017(91)90086-B)
- BRICARELLO, P.A.; AMARANTE, A.F.T.; ROCHA, R.A.; CABRAL FILHO, S.L.; HUNTLEY, J.F.; HOUDIJK, J.G.M.; GENNARI, S.M. 2005. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. *Vet Parasitol* 134(1-2):99-109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.068>
- CERUTTI, J.; COOPER, L.G.; TORRENTS, J.; SUAREZ ARCHILLA, G.A.; ANZIANI, O.S. 2018. Eficacia reducida de derquantel y abamectina en ovinos y caprinos con *Haemonchus* sp resistentes a lactonas macrocíclicas. Eficacia reducida de derquantel y abamectina en ovinos y caprinos con *Haemonchus* sp resistentes a lactonas macrocíclicas. *Rev. Vet. (UNNE)* 29(1):22-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/vet.2912782>
- CHARTIER, C.; HOSTE, H. 1994. Anthelmintic treatments against digestive-tract nematodes in grazing dairy goats with high or low levels of milk production. *Vet. Res.* 25:450-457.
- CHARTIER, C.; ETTER, E.; HOSTE, H.; PORS, I.; MALLEREAU, M.P.; BROQUA, C.; MALLET, S.; KOCH, C.; MASSE, A. 2002. Effects of the initial level of milk production and the dietary protein intake on the course of natural nematode infection in dairy goats. *Vet. Parasitol.* 92:1-13. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00268-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00268-5)
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; GONZÁLEZ, L.A.; TABLADA, E.M.; DÍAZ, M.D.P. 2008. Estadística para las ciencias agropecuarias (N.º 630.21 E79e). Edit. Brujas. Córdoba, Argentina.
- ETTER, E.; CHARTIER, C.; HOSTE, H.; PORS, I.; BOUQUET, W.; LEFRILEUX, Y.; BORGIDA, L.P. 1999. The influence of nutrition on the periparturient rise in faecal egg counts in dairy goats: results from a 2-year study. *Revue Méd Vét* 150(12):975-980.
- HOSTE, H.; CHARTIER, C. 1993. Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *Am J Vet Res* 54(11):1886-1893.
- HOSTE, H.; LE FRILEUX, Y.; POMMARET, A.; GRUNER, L.; VAN QUACKEBEKE, E.; KOCH, C. 1999. Importance du parasitisme par des strongyles gastrointestinaux chez les chèvres laitières dans le Sud Est de la France. INRA Prod. Anim. 12:377-389.
- HOSTE, H.; TORRES-ACOSTA, J.F.; PAOLINI, V.; AGUILAR-CABALLERO, A.; ETTER, E.; LEFRILEUX, Y.; CHARTIER, C.; BROQUA, C. 2005. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Rumin Res* 60(1-2): 141-151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.008>
- MATTHEWS, J. 1999. Diseases of the Goat, Blackwell Science, Oxford.
- NIEC, R. 1968. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Manual técnico 3. INTA-Argentina 28.
- NNADI, P.A.; KAMALU, T.N.; ONAH, D.N. 2009. The effect of dietary protein on the productivity of West African Dwarf (WAD) goats infected with *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol* 161(3-4):232-238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.01.014>
- NNADI, P.A.; KAMALU, T.N.; ONAH, D.N. 2007. The effect of dietary protein supplementation on the pathophysiology of *Haemonchus contortus* infection in West African Dwarf goats. *Vet Parasitol* 148(3-4):256-261. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.017>
- NSAHLAI, I.V.; GOETSCH A.L.; LUO, J.; JOHNSON, Z.B.; MOORE, J.E.; SAH-LU, T.; FERRELL, C.L.; GALYEAN, M.L.; OWENS, F.N. 2004. Metabolizable energy requirements of lactating goats. *Small Rumin Res.* 53(3):253-273. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.04.007>
- ROBERTS, F.H. O'SULLIVAN P.J. 1949. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Res.* 1: 99-102.
- RUSSEL A.J.F.; DONEY, J.M.; GUNN, R.G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72: 451-454.
- SANDOVAL, G.V.; OLMOS, L.H.; MARTÍNEZ, G.M.; ALFARO, E.J.; ALFARO, R.J.; SUAREZ, V.H. 2018. Efecto del suministro de taninos concentrados sobre los nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes. *FAVE (Cs. Vet.)* 17(2):55-60. DOI: <https://doi.org/10.14409/favecv.v17i2.7891>.
- STEAR, M.J.; SINGLETON, D.; MATTHEWS, L. 2011. An evolutionary perspective on gastrointestinal nematodes of sheep. *Journal of Helminthology (Cambridge Press)* 2:113-120. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022149X11000058>
- SUAREZ, V.H. 1997. Diagnóstico de las parasitosis internas de los rumiantes en la región de inviernada. Técnicas e interpretación. *Bol. Divulgación técnica, INTA*. 56:50.
- SUAREZ, V.H.; ALMUDEVAR, F.; FONDRAZ, M.; VIÑABAL, A. 2012. Eficacia del monepantel en caprinos lecheros en los valles templados del Noroeste Argentino. En Programa de Ámbito Nacional Leche. Producción técnica-científica de Proyecto Cartera 2006-2009 /2010-2012. Producciones INTA, Argentina, 885.
- SUAREZ, V.H.; CRISTEL, S.L. 2014. Risk factors for anthelmintic resistance development in cattle gastrointestinal nematodes in Argentina. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 23(2):129-135. DOI: [10.1590/s1984-29612014045](https://doi.org/10.1590/s1984-29612014045).
- SUAREZ, V.H.; MARTÍNEZ, G.M.; OLMOS, L.H. 2021. Epidemiology of Goat Nematode Infections in Different Ecological Regions of Argentina's Northwest. *Asian J Res Biosci* 3(1):29-37.
- SUAREZ, V.H.; MARTÍNEZ, G.M.; VIÑABAL, A.E.; ALFARO, J.R. 2017. Epidemiology and effect of gastrointestinal nematodes on dairy goats in Argentina. *Onderstepoort J Vet Res* 84(1):1240. DOI: <https://doi.org/10.4102/ojvr.v84i1.1240>.
- SUAREZ, V.H.; OLMOS, L.H.; MARTÍNEZ, G.M.; SANDOVAL, G.V.; ALFARO, E.J.; ALFARO, R.J.; MORENO, R.D. 2019. Effects of condensed tannins towards dairy caprine gastrointestinal nematodes. *J Veter Sci Res.* 1: 01-09. DOI: [10.36811/jvsr.2019.110001](https://doi.org/10.36811/jvsr.2019.110001).
- SUAREZ, V.H.; FONDRAZ, M.; VIÑABAL, A.E.; MARTÍNEZ, G.M.; SALATIN, A.O. 2013. Epidemiología de los nematodos gastrointestinales en caprinos lecheros en los valles templados del NOA, Argentina. *Rev Inv Agrop (RIA)* 33:191-197.
- VAN WYK, J.A.; BATH, G.F. 2002. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.* 33: 509-29. DOI: <https://doi.org/10.1051/vetres:2002036>
- VAN WYK, J.A. 2001. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance, *Onderstepoort J Vet Res* 68(1):55-67.
- WALLER, P.J.; BERNES, G.; RUDBY-MARTIN, L.; LJUNGSTRÖM, B.L.; RYZDÍK, A. 2004. Evaluation of copper supplementation to control *Haemonchus contortus* infections of sheep in Sweden. *Acta Vet Scand* 45(3):1-12. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-45-149>
- VAN HOUTERT, M.F.J.; BARGER, I.A.; STEEL, J.W. 1995. Dietary protein for young grazing sheep: interactions with gastrointestinal parasitism. *Vet Parasitol* 60(3-4):283-295. DOI: [10.1016/0304-4017\(95\)00864-8](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00864-8)
- VAN HOUTERT, M.F.J.; BARGER, I.A.; STEEL, J.W.; WINDON, R.G.; EMERY, D.L. 1994. Effects of dietary protein on responses of young sheep to infection with *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol* 56(1-3):163-180. DOI: [10.1016/0304-4017\(94\)00668-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00668-3)

# Experimental poisoning with *Pascalia glauca* in goats

April 26, 2023

Medina, D.M.<sup>1</sup>; Colque-Caro, L.A.<sup>2,3</sup>; Micheloud, J.F.<sup>1,2,3</sup>

## ABSTRACT

*Pascalia glauca* is one of the most important poisonous plants in Argentina. Although goats are known to be susceptible to *P. glauca* poisoning, reports about this species are scarce. This work aimed to characterize the experimental intoxication in goats with *P. glauca*. 12 adult Saanen goats were divided into 4 groups based on the amount of the plant given. Groups 1 to 3 ingested 4g/kg, 6g/kg and 8g/kg of dry plant respectively. The fourth group was the control group and it was offered alfalfa hay only. The poisoned animals were inspected every two hours and blood samples were collected 6, 12, 24 and 48 hours after poisoning to measure the level of liver enzymes. Clinically, groups 2 and 3 showed anorexia, depression, recumbency, myoclonus, seizures and death between 9 and 24 hours after poisoning. Pathologic findings included centrilobular necrosis with and without hemorrhages. Both groups showed elevated serum aspartate aminotransferase activity between 6 and 24 hours after *P. glauca* ingestion. The control group and group 1 did not show clinical signs or hepatic enzyme elevation despite being controlled for 15 days after the poisoning. This work allowed us to collect further information about the clinical and pathological aspects of *P. glauca* poisoning in goats.

**Keywords:** *Pascalia glauca*, centrilobular necrosis, goats.

## RESUMEN

*Pascalia glauca* es una de las plantas tóxicas más importantes de Argentina. A pesar de que se sabe que las cabras son susceptibles a la intoxicación por *P. glauca*, los informes sobre esta especie son escasos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la intoxicación experimental en cabras con *P. glauca*. Se dividieron 12 cabras adultas de raza Saanen en 4 grupos en función de la cantidad de planta administrada. Los grupos 1 a 3 ingirieron 4 g/kg, 6 g/kg y 8 g/kg de planta seca respectivamente. El cuarto grupo fue el grupo control y se le ofreció solo heno de alfalfa. Los animales intoxicados fueron inspeccionados cada dos horas y se les tomaron muestras de sangre 6, 12, 24 y 48 horas después de la intoxicación para medir los niveles de enzimas hepáticas. Clínicamente, los grupos 2 y 3 mostraron anorexia, depresión, decúbito, mioclonía, convulsiones y muerte entre 9 y 24 horas después de la intoxicación. Los hallazgos patológicos incluyeron necrosis centrolobulillar con y sin hemorragias. Ambos grupos mostraron una actividad elevada de la aspartato aminotransferasa sérica entre 6 y 24 horas después de la ingestión de *P. glauca*. El grupo control y el grupo 1 no mostraron signos clínicos ni elevación de enzimas hepáticas a pesar de que fueron controlados durante 15 días después de la intoxicación. Este trabajo permitió obtener más información sobre los aspectos clínicos y patológicos de la intoxicación por *P. glauca* en cabras.

**Palabras clave:** *Pascalia glauca*, necrosis centrolobulillar, cabras.

<sup>1</sup>Universidad Católica de Salta (UCASAL), Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias Campo Castañares Anexo Centro: Pellegrini 790 (4400), Salta, Argentina. Correo electrónico: diegomartinnicolas@hotmail.com

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS), Área de Sanidad Animal, Consejo Agrario Provincial (CAP), Chañar Pozo s/n (4113) Leales, Tucumán, Argentina.

<sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina, Conicet.

## INTRODUCTION

*Pascalia glauca* (fig. 1 A), which is widely distributed in Argentina and neighboring countries (Burkart and Carera, 1953), causes several deaths in animals from different production systems. It is distributed in northern Chile, Paraguay, Uruguay and the north-central region of Argentina (Micheloud and Odriozola, 2012). *P. glauca* is described as toxic for cattle, sheep, pigs, horses, goats and llamas (Morán and Kosik, 1965; Riet-Correa, 1978; De Diego and Solla, 1991; López et al., 1991; Collazo and Riet-Correa, 1996; Rodriguez Armesto et al., 2003; Magnano et al., 2011). Reports about this toxicity in goats are imprecise and old (Ragonese and Milano, 1984) and experimental works include mainly cattle and sheep (Collazo and Riet-Correa, 1996). The toxic principle of *P. glauca* is a carboxyatractylósido (Schteingart and Pomilio, 1984) that can block mitochondrial ATP synthesis, oxidative phosphorylation and other metabolic reactions in hepatocytes (Obatomi and Bach, 1998; Bruneton, 2001) and renal tubular cells (Obatomi and Bach, 1996). The liver is the most affected organ since it is severely exposed to absorbed toxins (Plumlee et al., 2004), causing diffuse hemorrhagic necrosis with acute liver failure (Micheloud and Odriozola, 2012) microscopically characterized by centrilobular necrosis with hemorrhages (Stalker and Hayes, 2007). This work aims to clarify *P. glauca* toxicity in goats, characterize clinical and pathological findings and determine the necessary dose to induce poisoning.

## MATERIALS AND METHODS

The study protocol was approved by the UCASAL Animal Care and Use Committee (CICUAL number 53-18-17). The requirements of the Argentine Animal Protection Policy (Ley 14346) were always fulfilled.

*P. glauca* samples in vegetative and early flowering states were collected, dried for seven days at room temperature and subsequently shredded to a particle size of 2 to 5 millimeters. Before grinding, some samples of the collected plant were sent to the CMSC herbarium of the National University of Salta for botanical identification.

Twelve adult Saanen goats were divided into 4 groups of 3 animals each. Before the experiment, a clinical examination was performed on all the selected animals to determine that they were in good health. The exposed groups were divided as follows: T1 (animals 4 to 6), T2 (animals 7 to 9) and T3 (animals 10 to 12) were given a dose of 4 g/kg, 6g/kg and 8g/kg of dry matter respectively by the orogastric route. The control group (CG) was integrated by animals 1 to 3 and was given 8 g/kg of dry shredded alfalfa only. After this, all the animals were sent to a paddock with *ad libitum* feeding and water. There were no toxic plants in the paddock that could interfere with the experiment. Clinical examination was done every two hours and blood samples were collected at the beginning of the experiment and then 6, 12, 24 and 48 hours later and serum levels of aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT) and alkaline phosphatase (ALP) were determined following the instructions of the manufacturer (Wiener Lab®). The analysis of the variables obtained was performed by non-parametric ANOVA for measurements repeated over time using the InfoStat software.

## RESULTS

### Clinical findings

Animals from CG and T1 groups did not show clinical signs and their health status and behavior were normal both during the experiment and for 15 days after the experiment.

Sampling hours	Groups	AST (UI/dL)	GGT (UI/dL)	ALP (UI/dL)
0h	CG	82± 10 a	42±3a	400±84.5a
	T1	81.2± 21 a	41.9±3.5 a	405.1±87.5a
	T2	94.5 ± 23 a	48.1±7.8 a	173.7±49.2a
	T3	93.3± 15 a	47.5±8.8 a	278.8±131.6a
6h	CG	74.2± 15 a	40.3±5.2 a	404±67.3a
	T1	76.2± 18 a	41±9.7 a	394.3±109.3a
	T2	81.9± 25 a	42.7±7.1a	140.8±21.6a
	T3	82.1± 20 a	39.3±3.94 a	335.9±110a
12h	CG	81.1± 11 a	45.1±8.3 a	393.9±97.5a
	T1	83.2± 22 a	39.8±7.1 a	354.8±44.4a
	T2	404± 50 b	82.7±49.3 b	308±106b
	T3	786.8 ± 110 b	49.7±2.12 a	363.5±164.3a
24h	CG	78.2± 14 a	39.9±5.5 a	391±56.2a
	T1	61.6 ± 11 a	42.5±4.5 a	394.1±106.8a
	T2	423± 64 b	300.3±0 c	1090.6±0b
	T3	760.1 ± 93 b	147.1±63.7 b	467.3±73.3b
48h	CG	79.9± 20 a	42.2±6.2 a	385±73.1a
	T1	84.5± 10 a	41.4±0 a	331.2±75.5a
	T2	-	-	-
	T3	607 ± 23 c	548.1±0 c	843.9±0c

Table 1. Hepatic enzyme activity at different stages of the experiment. AST: Aspartate aminotransferase (AST), Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and alkaline phosphatase (ALP). Different letters show significant differences between sampling times ( $p < .05$ ).

In contrast, in the T2 and T3 groups, clinical signs started after 14 hours (range 8-24) and 10 hours (range 6-12) after ingestion of the plant, and death occurred within 21 hours (range 12-30) and 29,3 hours (range 10-48) respectively. The main clinical signs observed consisted of anxiety, anorexia, ruminal atony, tachycardia, tachypnea, and abnormal recumbency, including an antalgic position to avoid pressure on the right epigastric region. One animal showed a staggering gait and head-pressing (fig. 1 B). At an advanced stage, animals showed recumbency, myoclonus, pedaling movements, seizures and death. Only two animals died early without apparent clinical signs.

### Laboratory findings

Table 1 shows the level of Aspartate aminotransferase (AST), Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and alkaline phosphatase (ALP). Hepatic enzyme levels increased significantly within 12 to 48 hours after consumption in the T2 and T3 groups presumably due to the dose ingested. AST and ALP were the most increased enzymes in those groups.

### Macroscopic findings

Necropsies were performed on all the animals included in the experiment. Groups T2 and T3 showed liver injuries at different stages. The main finding consisted of liver congestion with a

diffuse reticulated appearance with dark red areas alternating with pale areas in correspondence with necrotic and normal areas (fig. 1 C). The liver of animals N 7 and 10 showed a mild lobular pattern while in animals N 8 and 11 this pattern was even more pronounced. In comparison, the liver of animals N 9 and 12 were the most affected with severe injuries and a marked lobular pattern. Animals N 9 to 12 also showed endematous gallbladder. Abomasal and intestinal edema and congestion, renal congestion and petechiae in serous membranes were also found. The animals from the control group did not show evidence of injuries in any organ or tissue.

### Microscopic findings

The most frequent finding in the liver was diffuse centrilobular necrosis with hemorrhages (fig. 1 D).

The severity of the injuries in the affected animals was categorized in table 2. Regarding necrosis, severity was classified as follows: (+) 25-30% of affected lobule surface area, then (++) 31-60% and (+++) more than 61% respectively. In reference to hemorrhage, (+) means small isolated spots of hemorrhage, (++) means moderate to extensive hemorrhage foci and (+++) means massive hemorrhage. Hemorrhage was limited to necrotic areas only. In animals 9, 10 and 11 there was intermediate area hepatocyte atrophy and hydropic degeneration in periportal hepatocytes. Animal 10 liver showed

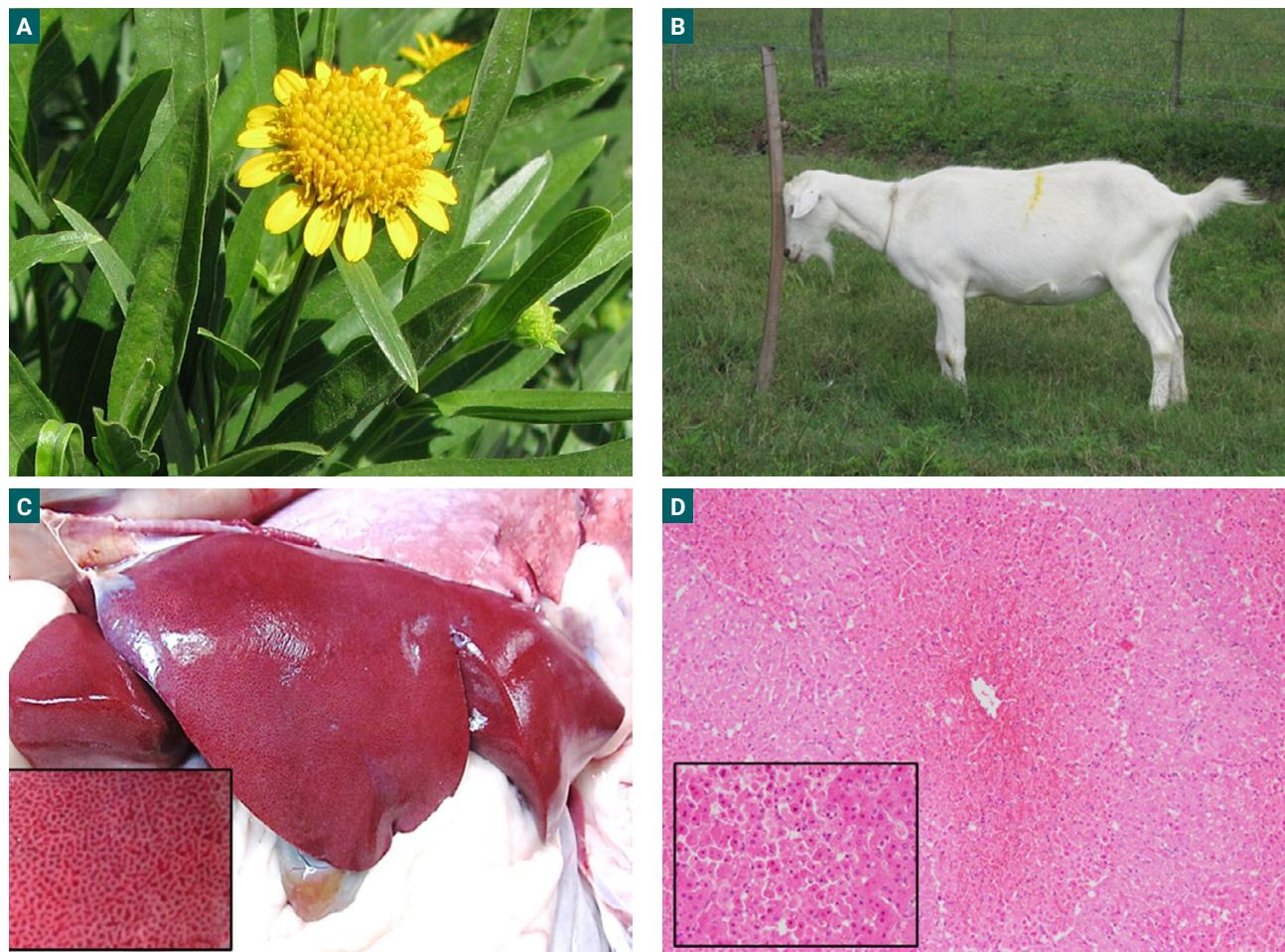


Figure 1. A- *P. glauca* inflorescence. B- Poisoned goat head-pressing. C- Liver. A reticular pattern in the parenchyma. D- Hemorrhagic centrilobular necrosis (arrowhead). H&E, 10X. Insert: note the nuclear (karyorrhexis and pyknosis) alterations (H&E, 100X).

Animal	Groups	Hours between ingestion and death	Necrosis	Hemorrhage
1	CG	-	-	-
2	CG	-	-	-
3	CG	-	-	-
4	T1	-	-	-
5	T1	-	-	-
6	T1	-	-	-
7	T2	12 hours	++	+
8	T2	21 hours	+++	+++
9	T2	30 hours	++	-
10	T3	10 hours	++	-
11	T3	30 hours	+++	-
12	T3	48 hours	+++	+++

Table 2. Microscopic lesions severity in the liver. -: score 0; +: score 1; ++: score 2; +++: score 3. Necrosis: (+) 25-30% of affected lobule surface area, (++) 31-60% and (+++) more than 61% respectively. Hemorrhage: (+) isolated spots of hemorrhage, (++) moderate to extensive hemorrhage foci and (+++) massive hemorrhage. CG: control group; T1: 4 g MS /kg; T2: 6 g MS/kg; T3: 8 g MS/kg.

severe massive necrosis. Animals 7, 10 and 11 also showed neutrophilic infiltration in isolated clusters of 2 to 3 cells. Other lesions found renal congestion with hydropic degeneration in tubular cells and eosinophilic material in the tubular lumen and glomeruli. In addition, the central nervous system showed gray matter edema and congestion, neuronal degeneration and white matter vacuolization.

## DISCUSSION

Although goats are known to be susceptible to *P. glauca* poisoning, no other experimental poisoning works were found in the consulted literature. Goats showed sensitivity with a toxic dose of 6 g/kg of dry matter, being markedly higher than the toxic dose described in cattle and sheep of 5 to 10 g/kg of green plant (Collazo and Riet-Correa, 1996), 4 to 10 g/kg of green plant (INTA, 2007) and 4 g/kg of green plant in cattle (Odriozola, 2003). Besides that, the absence of clinical signs or biochemical findings related to liver damage in group 1 with a toxic dose of 4 g/kg of dry matter suggests that the toxic dose must be higher than in cattle and sheep to induce poisoning in goats, rather than in cattle and sheep. However, the differences between these groups can also be due to varying concentrations of carboxyatractylides in the plants used in this work. That is why we recommend submitting the samples to a reference laboratory to determine the toxin concentration and detect variations that could affect or change any results. Despite differences in the amount of plant used in all the groups, once the minimum toxic dose is ingested, death occurs within 48 hours after consumption (Giannitti et al., 2013). In general, there are no differences between clinical signs in goats, cattle and sheep (Collazo and Riet-Correa, 1996; Micheloud and Odriozola, 2012; Giannitti et al., 2013), and the differences between groups in this work might be due to idiosyncrasy more than for any other reason.

The biochemical evidence showed that the most useful diagnostic tool was the detection of AST (Rodríguez et al., 2003) since its serum levels increased in correspondence with a

larger amount of plant ingested by animals. Its early elevation showed a peak at 6 to 24 hours after ingestion. After 24 hours, its serum levels decreased to subnormal values probably because of enzymatic depletion due to massive damage. GGT and ASP did not show a marked elevation, their levels increased only after 24 hours of ingestion and remained high until the death of the animals, thus, their utility is reduced in cases like this, where clinical signs and death happen before serum levels increase can be detected (Kaneko et al., 2008).

The most consistent pathologic finding was centrilobular hepatic necrosis, macroscopically characterized by an enhanced reticular pattern. This pattern was more evident in animals with a longer clinical course. Microscopically, centrilobular necrosis was seen in all cases, but it was more severe in animals 7 and 8 from group 2 and animal 12 from group 3. In these mentioned cases, hemorrhages were also found in correspondence with necrotic areas. Animals 9 from group 2 and 10 and 11 from group 3 also showed extensive damage but with no vascular changes. Thus, two different patterns of centrilobular necrosis can be defined: a hemorrhagic and a non-hemorrhagic pattern. It might be possible that these patterns are associated with the disease evolution in each animal rather than with the amount of plant ingested. Changes in the central nervous system might be attributed to hepatic encephalopathy (Butterworth et al., 2009).

## CONCLUSIONS

This work allowed us to demonstrate the susceptibility of goats to *P. glauca* poisoning. A toxic dose was also determined, being significantly higher than the dose needed to cause the disease in cattle and sheep. Additionally, a clinicopathological characterization was made and, except for certain differences, clinical signs are similar to cattle (Rivero et al., 2010) and sheep (Liboreiro et al., 2021). Although these findings cannot be conclusive, goats seem to be more resistant to *P. glauca* poisoning than other species. In accordance with case studies from the Diagnostic Service INTA-Salta, poisoning outbreaks

are frequently observed in mixed flocks containing sheep and goats, where animals ingest the plant directly from the ground, but deaths occur only in sheep (Medina et al., 2022). This supposed resistance in goats can also be related to some metabolic and disposition profile differences between goats, sheep and cattle previously demonstrated with some drugs (Galtier et al., 1981; Bogan et al., 1987; Sundlof and Whitlock, 1992; Alvinerie et al., 1994). In these cited cases, goats proved to have a faster and more effective mechanism to metabolize and eliminate certain compounds rather than the other species. For these reasons, we consider that it is important to keep studying goats concerning plant poisoning to delve into the physiopathology and toxicokinetics differences between this species and other ruminants and thus be able to explain certain differences regarding toxic doses and clinical presentations.

### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from Consejo de Investigación de la Universidad Católica de Salta (Proy- Res 698/2020) and INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). JFM is a researcher of CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científica y Técnicas).

### REFERENCES

- ALVINERIE, M.; SUTRA, J.F.; TARDIEU, D.; BOJENSEN, G.; GALTIER, P. 1994. Metabolic profile of ivermectin in goats: an in vivo and in vitro evaluation. Proceedings of the 6th European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology International Congress. Edinburgh, U.K. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 262 p.
- BOGAN, J.; BENOIT, E.; DELATOUR, P. 1987. Pharmacokinetics of oxfendazole in goats: a comparison with sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 10, 305-309.
- BRUNETON, J. 2001. Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales. Editorial Acribia S.A.
- BURKART, A.; CARERA, M.N. 1953. Estudios sobre malezas. Morfología vegetativa y germinación del sunchillo (*Wedelia glauca*). *Darwiniana* T. 10 N.º 2. 113-144 pp.
- BUTTERWORTH, R.F.; NORENBERG, M.D.; FELIPO, V.; FERENCI, P.; ALBRECHT, J.; BLEI, A.T. 2009. Experimental models of hepatic encephalopathy: ISHEN guidelines. *Liver International*, 29: 783-788. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.02034.x>
- COLLAZO, L.; RIET-CORREA, F. 1996. Experimental intoxication of sheep and cattle with *Wedelia glauca*. *Veterinary and Human Toxicology*. 38, 3: 200-3.
- DE DIEGO, L.G.; SOLLA, D. 1991. *Wedelia glauca* (sunchillo), comunicación de un caso de intoxicación en bovinos. *Veterinaria (Argentina)*. 7:50-51.
- GIANNOTTI, F.; MARGINEDA, C.A.; CID, M.S.; MONTOBBIO, C.; SOTERAS, C.I. 2013. Fatal *Wedelia glauca* Intoxication in Calves Following Natural Exposure. *Veterinary Pathology* 50(3) 530-533.
- GALTIER, P.; ESCOULA, L.; CAMGUILHEM, R.; ALVINERIE, M. 1981. Comparative bioavailability of levamisole in nonlactating ewes and goats. *Annales des Recherches Vétérinaires* 12, 109-115.
- INTA. 2007. Plantas hepatotóxicas agudas *Wedelia glauca*. Noticias y comentarios N.º 418. 3 p.
- KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, sixth ed. Academic Press.
- LIBOREIRO, M.; FLORES OLIVARES, C.; ARMENDANO, J.; SCHILD, C; FERNÁNDEZ, E; ODRIEZOLA, E; MORRELL, E; CANTÓN, G. 2021. The spontaneous outbreak of *Pascalia glauca* poisoning in sheep in Argentina. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 2021, 14(2), 99-101.
- LÓPEZ, T.A.; ODRIEZOLA, E.R.; EYHERABIDE, J.J. 1991. Toxicidad vegetal para el ganado. Patología, prevención y control. Cerbas INTA, Estación experimental Agropecuaria Balcarce. 46-47 pp.
- MAGNANO, G.; CIALLELLA, M.; SÁNCHEZ, E.; FLORES, A.; RIVEROS, M.; MACIAS, A.; SCHLEEF, N. 2011. Un caso de intoxicación en llamas (Lama glama) por *Wedelia glauca*. *Veterinaria Argentina*, 28, 279.
- MEDINA, D.M.; AGUIRRE, L.S.; MARIN, R.E.; MICHELOUD, J.F. 2022. *Pascalia glauca* poisoning in ruminants: Report of 12 outbreaks in Northwestern Argentina. *Toxicon*. Volume 214, 108-111 pp. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.05.040>
- MICHELOUD, J.F.; ODRIEZOLA, E.R. 2012. Actualización sobre la intoxicación con *Wedelia glauca*. *Revista Fave. Revista FAVE, Sección Ciencias Veterinarias*, 11 (1-2): 30-39.
- MORÁN, B.L.; KOSIK, C.V. 1965. Intoxicación en cerdos por «*Wedelia glauca*» (Ortega). *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata*, 16:115-119.
- OBATOMI, D.K.; BACH, P.H. 1996. Inhibition of mitochondrial respiration and oxygen uptake in isolated rat renal tubular fragments by atractyloside. *Toxicology letters*. 89: 151-161.
- OBATOMI, D.K.; BACH, P.H. 1998. Biochemistry and toxicology of the diterpenoid glycoside atractyloside. *Food and Chemical Toxicology*. Apr;36(4):335-46. PMID: 9651051. doi: 10.1016/s0278-6915(98)00002-7
- ODRIEZOLA, E. 2003. Intoxicaciones de frecuente diagnóstico en la Pampa húmeda Argentina. *xxxi Jornadas Uruguayas de Buitrío. Paysandú*. 19-25 pp.
- PLUMLEE, K.H. 2004. Hepatobiliary system in: clinical veterinary toxicology, Ed, Mosby. St Luis, Missouri. 11: 61-69.
- RAGONESE, A.E.; MILANO, V.A. 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la flora Argentina. Segunda edición Tomo II. Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería. ACME S.A.C.I, Buenos Aires. 354-357 pp.
- RIET-CORREA, F. 1978. Enfermedades de los suinos diagnosticadas por el Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino" durante el período 1969-1976. *Veterinaria (Montevideo)*. Supl. N.º 2: 5-10.
- RIVERO, R.; ADRIEN, M.L.; MATTO, C.; NOVOA, F.; URIARTE, G.; CHARBONIER, D. 2010. Intoxicación por *Wedelia glauca* en bovinos en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*. 46: 177-180.
- RODRÍGUEZ ARMESTO, R.; PERALTA, C.; ZINMERMAN, R.; OCHOTECA, M.; REPETTO, A.; PICCO, E.J. 2003. Mortandad en bovinos atribuible a la ingestión de *Wedelia glauca*. *Veterinaria (Argentina)*. 20:745-751.
- SCHTEINGART, C.D.; POMILIO, A.B. 1984. Atractyloside, toxic compound from *Wedelia glauca*. *Journal of Natural Products* 47, 1046-1047.
- STALKER, M.J.; HAYES, M.A. 2007. Domestic Liver and biliary system. En: MAXIE, M.G. (Eds.). *Pathology of domestic animals*. Vol. II. Fifth Edition. Ed: Saunders-Elsevier. Philadelphia. 297-393.
- SUNDLOF, S.F.; WHITLOCK T.W. 1992. Clorsulon pharmacokinetics in sheep and goats following oral and intravenous administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 15, 282-291.

# Forage production and perennial root biomass in lucerne under two cutting heights

April 26, 2023

Blain, G.<sup>1</sup>; Assuero, S.G.<sup>2</sup>; Berone, G.D.<sup>2,3</sup>

## ABSTRACT

This study evaluated the impact of cutting severity (4 vs. 10 cm cutting height) on forage production and biomass of perennial organs (root plus crown), in two contrasting winter dormant cultivars of lucerne (G6 vs. G10), defoliated more frequently than usually recommended, during the first year of life. The experiment was conducted in outdoor pots, under non-limiting water and nutritional conditions. Between November 5, 2014 and September 2, 2015, plants were cut approximately every 370 growing degree days (GDD) at the 4 and 10 cm in height. No differences were observed between cultivars. Forage yield (biomass harvested above cutting height) was similar between plants cut at 10 and 4 cm in height. Plants cut at 10 cm in height showed higher perennial biomass than those cut at 4 cm. At the same time, plants cut at 10 cm quickly achieved perennial biomass levels higher than 3000 kg DM/ha, a value at which it is considered that partitioning to roots would not limit the aerial biomass production. Consequently, a management of defoliation that contemplates a higher post-cut foliar residual allows to reconcile the need for early use of lucerne pastures with the need to establish a vigorous perennial system during the year of establishment.

**Keywords:** alfalfa, high cutting frequency, establishment year, contrasting dormancy level.

## RESUMEN

Este estudio evaluó, durante el primer año de vida, el impacto de la severidad del corte (4 vs. 10 cm de altura de corte) sobre la producción de forraje y la biomasa de los órganos perennes (raíz más corona) en dos cultivares de alfalfa contrastantes en latencia invernal (G6 vs. G10), defoliados con una frecuencia mayor a la recomendada habitualmente. El experimento se realizó en macetas al aire libre, bajo condiciones hídricas y nutricionales no limitantes. Entre el 5 de noviembre de 2014 y el 2 de setiembre de 2015 se realizaron defoliaciones a 4 y 10 cm de altura, cada 370 grados día de crecimiento (GDD). No se observaron diferencias entre cultivares. La producción de forraje (biomasa cosechada por encima de la altura de corte) fue similar entre plantas cortadas a 10 y 4 cm de altura. Las plantas cortadas a 10 cm de altura mostraron mayor biomasa perenne que las cortadas a 4 cm y alcanzaron rápidamente niveles de biomasa perenne superiores a 3000 kg MS/ha, valor a partir del cual se considera que la partición a raíces no limitaría la producción de biomasa aérea. En consecuencia, durante el primer año de implantación, aumentar la altura poscorte y dejar un mayor remanente foliar permitieron compatibilizar el objetivo de utilizar la pastura lo antes posible con el de formar rápidamente un vigoroso sistema de corona-raíz.

**Palabras clave:** alfalfa, alta frecuencia de corte, año de implantación, nivel de latencia contrastante.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Anguil, Ruta Nacional 5, km 580 (6326), Anguil, La Pampa.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Ruta Nacional 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Ruta Nacional 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: berone.german@inta.gob.ar

## INTRODUCTION

The establishment phase of lucerne (*Medicago sativa* L.), after sowing, refers to a period in which biomass is mainly partitioned to the perennial organs which consist of the taproot plus crown. This phase ends, regardless of ontogeny, when the pasture reaches ~4-5 t DM/ha of perennial biomass (Sim *et al.*, 2015). During the establishment phase, the perennial organs are a strong sink for the carbon fixed by the plant (Khaiti and Lemaire, 1992). Moreover, until perennial biomass do not exceed 3000-4000 kg DM/ha, the partitioning of photosynthate to these organs is high and hence the aerial growth is below their potential (Sim *et al.*, 2015). Consequently, management practices that favor the rapid formation of perennial organs lead to rapidly obtaining a highly productive lucerne pasture. Therefore, the current recommendation is to delay first defoliation until open flower buds are observed during the first year after sowing (Moot *et al.*, 2003). This long period of uninterrupted growth allows maximum opportunity to establish reserves of carbon and nitrogen in the perennial organs (Justes *et al.*, 2002; Thiebeau *et al.*, 2011).

The previous recommendation contrasts with the new grazing management proposal which advises that the start of grazing in spring should be when the standing biomass (above 5 cm) of the first paddock is close to 1,000-1,500 kg DM/ha (15-20 cm of canopy height) and then paddocks should be rotated every 15-25 days, with a 30-40 cm of pre-grazing canopy height, which optimizes forage production and forage quality (Berone *et al.*, 2021). Such a recommendation results in 30% higher beef live weight production (Berone *et al.*, 2020), compared with the traditional criteria of starting grazing at 10% flowering and rotation every 30-35 days (Basigalup and Ustarroz, 2007).

A high frequency and severity of defoliation can be very detrimental to the persistence of lucerne plants during their establishment phase, as it leads to an increased reliance on C and N reserves stored in perennial organs for regrowth (Volenc et *al.*, 1996), which are minimal during this stage (Sim *et al.*, 2015). Previous work shows that plants less severely defoliated, with higher residual green leaf area, have less dependence of root C and N reserves to regrowth after grazing (Simon *et al.*, 2004; Meuriot *et al.*, 2005). Therefore, frequent but less severe defoliation would be a viable option for grazing during the first spring after sowing.

The implication of reconciling a rapid formation of a vigorous perennial system with an early and intensive grazing of lucerne is not a minor issue. In fact, Argentine production systems lucerne pastures in the establishment phase (*i.e.* one year after sowing) represent a high proportion of the area sowed with perennial pastures (Gastaldi *et al.*, 2020; Jauregui *et al.*, 2022). Consequently, management practices allowing grazing lucerne pastures as early as possible, without affecting their productive persistence, should have a great impact at the system level.

The aim of the present work was to evaluate, during the first year after sowing, the impact of cutting severity on aerial growth and perennial biomass, in two lucerne cultivars contrasting in their degree of winter dormancy and defoliated at a frequency higher than that usually recommended (*i.e.* defoliations earlier than the 10% flowering stage).

## MATERIALS AND METHODS

### Site, materials tested and experimental design

The experiment was carried out in a glasshouse and outdoors in Balcarce, Argentina (37° 45' S, 58° 18' W), under natural

photoperiod from July 2014 to September 2015. The semi-dormant WL611 (G6) and the non-dormant WL2058 (FD10) cultivars and two cutting heights (4 and 10 cm) were studied.

On 22 July 2014, two hundred and sixty-four polyvinyl chloride (PVC) containers (132 for G6 and 132 for G10) 78 cm in height and 16 cm in diameter, lined with polystyrene bag perforated at the bottom were filled with a uniform mixture of topsoil from a typical Argiudol (6% OM; 33 ppm P Bray 1) and river sand (1:1 v/v). Prior to sowing, all containers were irrigated to saturation and afterwards (during all the experiment) were watered every two days with tap water in order to maintain soil water content close to field capacity. Sowing was carried out in a greenhouse on 24 July 2014. Ten seeds were placed in the centerline of the containers and a first thinning was carried out when the seedlings reached the stage of a fully unfolded true leaf, leaving only three plants per container.

On September 24, 2014, the plants were defoliated at 4 cm in height and the containers were placed outdoors. For this, a distance of approximately 20 cm was maintained between the center of one tube and the center of another tube. The 132 containers of each cultivar were placed in two (2.0 m x 1.5 m) separated by a corridor (1.0 m wide and 2.0 m long). Once installed, the cutting height treatments were assigned in a completely randomized design with three replicates (*i.e.* three containers). In total, the entire experiment occupied an area of 8 m<sup>2</sup> (4.0 m x 2.0 m). On October 3, 2014, a second thinning of plants was carried out, leaving a final density of two plants per container. One hundred and eight containers were used for data collection in destructive sampling while the remaining were used as borders. The arrangement of the containers described above allowed simulating a pasture condition with a density of 500,000 plants/ha (Brown *et al.*, 2006). To avoid nitrogen (N) deficiencies, urea fertilization was applied weekly at a rate of 46 kg N/ha (100 kg urea/ha). To avoid phosphorus (P) deficiencies, triple superphosphate was applied after each cutting at a dose of 20 kg P/ha. The experiment was kept free of weeds and pests.

### Meteorological record

Data on incident radiation and mean daily temperature were obtained from the Agrometeorological Station of the EEA INTA Balcarce, located less than 500 m from the experiment. The accumulated rain during the outdoor period (October 2014-September 2015) was quite similar (915 mm) to that observed in the 2004-2014 cycle (879 mm). The monthly mean daily incident radiation was similar (14.0 MJ) to that observed in the 2004-2014 cycle, and fluctuated between 5.9-6.4 MJ for July-August 2015 and 22.9-22.3 MJ for December 2014 to January 2015. The monthly mean daily temperature was higher than that observed in the 2004-2014 cycle (on average +0.7 °C), and fluctuated between 9-11 °C for the coldest months (July-August 2015) and 21-22 °C for the warmest months (December 2014 to February 2015).

### Measurements

From November 5, 2014 to September 2, 2015, ten harvests were made with an average frequency of 370 cumulative growing degree days (GDD), considering a base temperature of 5 °C (Thiébeau *et al.*, 2011; table 1). Destructively sampled containers were sequentially removed from the southern side.

After each sampling date, the southern border was moved northwards after each destructive sample to minimize edge effects and to preserve the integrity of the experiment. On February 25, 2015, after the corresponding measurements, all plants were cut at 4 cm, to remove the accumulated dead material, which was very high, particularly in the plants cut at 10 cm (data not shown). The following harvests were carried out at the corresponding cutting heights. On April 10, 2015 it was necessary to make an unplanned cut, due to a widespread pigeon attack that was controlled late. The cutting height of treatments was conserved, but no determinations were made.

After the cut all the aerial biomass was separated from the crown. Subsequently, the crown and the 300 mm upper section of the tap root, which represent around 76% of the total biomass of the root system (data not shown), were carefully washed with tap water and the crown was separated from the root by visually determining the transition zone between both tissue types, which coincides with the location of the last bud (Teixeira *et al.*, 2007). Given that the analyzed treatment showed a similar root proportion in perennial biomass (data not shown), and previous works (Teixeira *et al.*, 2007) show that, results in relation to %N in organs of reserve (root and crown) are not modified if they are analyzed separately or as a whole (*i.e.* analyzing %N in perennial biomass), the crown plus root was treated as a single variable, the perennial biomass ( $B_{PER}$ ), similar to Teixeira *et al.* (2007). The above-ground biomass (AB) was separated into that between the upper level of the crown and the cutting height ( $AB_{RES}$  representing the residual above-ground biomass after a cut) and that above the cutting height ( $AB_{HARV}$  representing the biomass harvested in a cut). Both  $AB_{RES}$  and  $AB_{HARV}$  were further separated into leaves ( $AB_{LEAF}$  laminae + petioles) and stems ( $AB_{STEM}$ ).

In the  $AB_{RES}$  the stems were separated into old/dead (empty and solid to the touch and yellow-brown in color) and young stems, generated during the last regrowth (flexible to the touch, solid and green in color). The number of total nodes per plant in the  $AB_{RES}$  ( $TN_{RES}$ ) was estimated as the product between the number of young stems and the number of nodes per young stem. The  $TN_{RES}$  represents the amount of sinks (axillary buds and internodes) available to produce new aerial biomass during the regrowth after cutting. The sum of green leaves and young stems constitutes the green  $AB_{RES}$  ( $AB_{RES\_green}$ ). All fractions were kept in a freezer at -20 °C until drying in a forced air oven at 60 °C for 72 hours. The leaf ratio ( $PROP_{LEAF} = AB_{LEAF} / AB$ ) was calculat-

ed for both  $AB_{HARV}$  and  $AB_{RES}$ . The total aerial growth  $AB_{GROW}$  was estimated through the sum of  $AB_{RES\_green}$  and  $AB_{HARV}$ .

The residual leaf area index ( $LAI_{RES}$ ;  $m^2$  leaf/ $m^2$  soil) was determined as the product of the  $AB_{RES\_green}$  ( $g\ DM/m^2$ ), the  $PROP_{LEAF}$  in the  $AB_{RES\_green}$  and the specific leaf area of the residual leaves ( $SLA_{RES}$ ;  $m^2$  leaf/ $g\ DM$  leaf). To determine the  $SLA_{RES}$  prior to oven drying, a sample of leaves was taken from the  $AB_{RES}$  laid out on a flat surface and photographed with a 14.1 Megapixel digital camera (SONY Cyber-shot, Japan). They were then oven-dried at 60°C to constant weight. The photos were processed to obtain the total leaf area per sample using ImageJ software (v. 1.46r; National Institute of Health; USA). The  $SLA_{RES}$  was calculated as the ratio between the total leaf area of the sample and its dry weight.

The nitrogen concentration (%N) in the leaves (% $N_{LEAF}$ ) from the  $AB_{RES\_green}$  and in the perennial biomass (% $N_{PER}$ ) was determined by total combustion of the sample in ultra-pure oxygen atmosphere, using a LECO equipment (LECO-FP528, Michigan, USA). Leaf nitrogen specific to the residual leaf area ( $SLN_{RES}$ ;  $g\ N/m^2$  leaf) was estimated as the quotient between the N in residual leaf ( $g\ N/m^2$  soil = % $N_{LEAF} * AB_{RES\_leaf}$ ) and the  $LAI_{RES}$  ( $m^2$  leaf/ $m^2$  soil). The absolute nitrogen content in perennial biomass ( $N_{PER}$ , kg N/ha) was estimated as the product between % $N_{PER}$  and the perennial biomass.

## Statistical analysis

Treatments were arranged as the factorial combination of two lucerne cultivars (G6 and G10) and two cutting heights (40 cm and 10 cm from soil level) in a completely randomized design with three replicates (*i.e.* three containers). For all the variables considered, on each date, the average of two plants per container was analyzed by ANOVA using the InfoStat statistical programme (Di Rienzo *et al.*, 2015). When necessary, the means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.

## RESULTS

### Aerial biomass

Regardless of cultivar, the cumulative aerial growth ( $AB_{GROW}$ ) of plants cut at 10 cm in height was 25% higher ( $p < 0.05$ ) than that of plants cut at 4 cm in height, and no differences were de-

Date	GDD	Observations
05/11/2014	426	Data from 24/9/2014 to 5/11/2014
03/12/2014	389	
22/12/2014	312	
13/01/2015	386	
04/02/2015	368	
25/02/2015	346	Dead material. Cutting at 4 cm in height
18/03/2015	395	
10/04/2015	315	Pigeon attack. Cutting without data registration.
20/05/2015	415	
02/09/2015	538	

Table 1. Growing degree-days (GDD) during regrowth between cutting dates considering a base temperature of 5 °C.

	$AB_{GROW}$ (kg DM/ha/year)	$AB_{HARV}$ (kg DM/ha/year)
G6-10cm	25.100	19.250
G6-4cm	19.150	16.380
G10-10cm	24.800	19.780
G10-4cm	21.260	18.630
P value Cultivar	0.64	0.40
P value Cutting Height	0.04	0.24
P value (Cutting Height*Cultivar)	0.55	0.60

Table 2. Cumulative aboveground biomass produced ( $AB_{GROW}$ ) and cumulative harvested aboveground biomass ( $AB_{HARV}$ ) in a semi-dormant cultivar (G6) and a non-dormant (G10) cultivar of lucerne, cut at 4 and 10 cm in height with an average frequency of 370 cumulative degree days (base temperature 5 °C). Means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.

tected between cultivars (table 2). Concerning to the accumulated  $AB_{HARV}$ , no differences ( $p < 0.05$ ) were detected between treatments (table 2). Irrespective of treatments, approximately 87% of the aboveground biomass was produced during spring-summer, while the remaining 13% was produced in autumn-winter (data not shown).

The total residual biomass ( $AB_{RES}$ ) increased over time and was higher ( $p < 0.05$ ) in plants cut at 10 cm in height (figure 1a). The residual green biomass ( $AB_{RES\_green}$ ) was mostly composed of green stem (~80-90%, data not shown) and plants cut at 10 cm showed significantly higher  $AB_{RES\_green}$  than those cut at 4 cm (figure 1b). The differences between cultivars were less common and were observed in some autumn-winter dates, in plants cut at 10 cm in height, when cultivar G6 showed higher values than G10 (figures 1a, b). The dead material in the residual biomass increased strongly towards mid-summer, particularly in

plants cut at 10 cm in height (data not shown, but easily deduced from the difference between the data in figures 1a and 1b).

The residual leaf area index ( $LAI_{RES}$ ) showed a similar behavior to that observed in the  $AB_{RES\_green}$ . Plants cut at 10 cm showed higher  $LAI_{RES}$  ( $p < 0.05$ ) than those cut at 4 cm at all cutting dates (figure 2a), with differences between cultivars being less common. Except for two measurements at the end of spring, the cultivar G6 cut at 10 cm in height (G6-10 cm) showed, generally, higher  $LAI_{RES}$  than the rest of the treatments from January onwards (figure 2a).

Regarding the number of total nodes per plant in the remnant ( $TN_{RES}$ ), the highest values ( $p < 0.05$ ) were observed in cultivar G6 with respect to G10 and in plants cut at 10 cm with respect to those cut at 4 cm (figure 2b). The cultivar G6 severely defoliated (G6-4cm) showed quite similar values of  $TN_{RES}$  to those of cultivar G10 lightly defoliated (G10-10cm) and was even higher from March onwards (figure 2b).

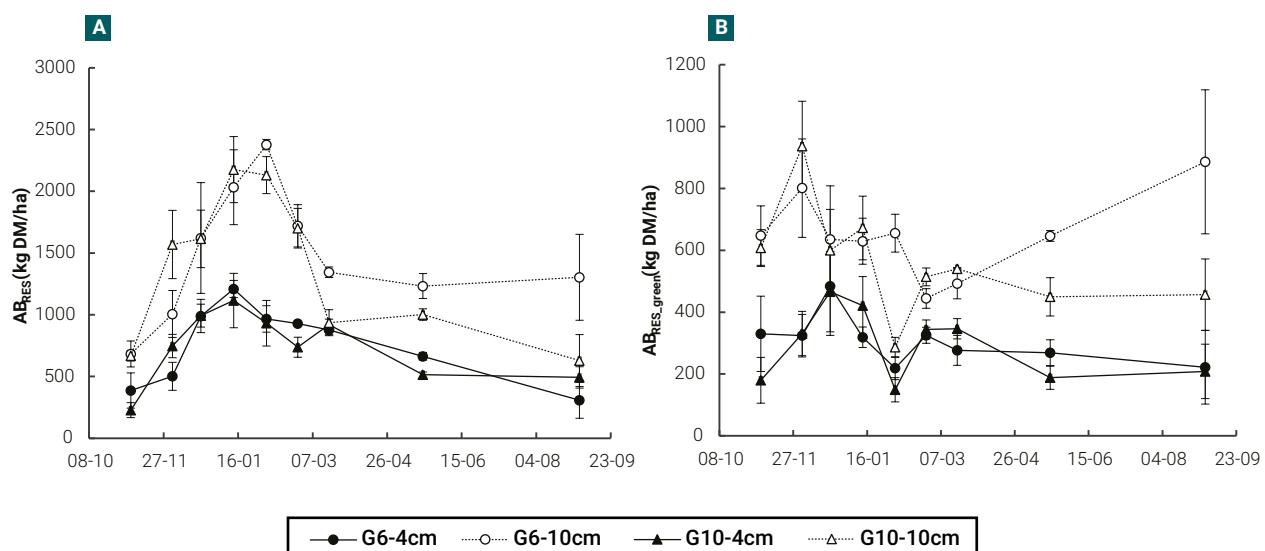
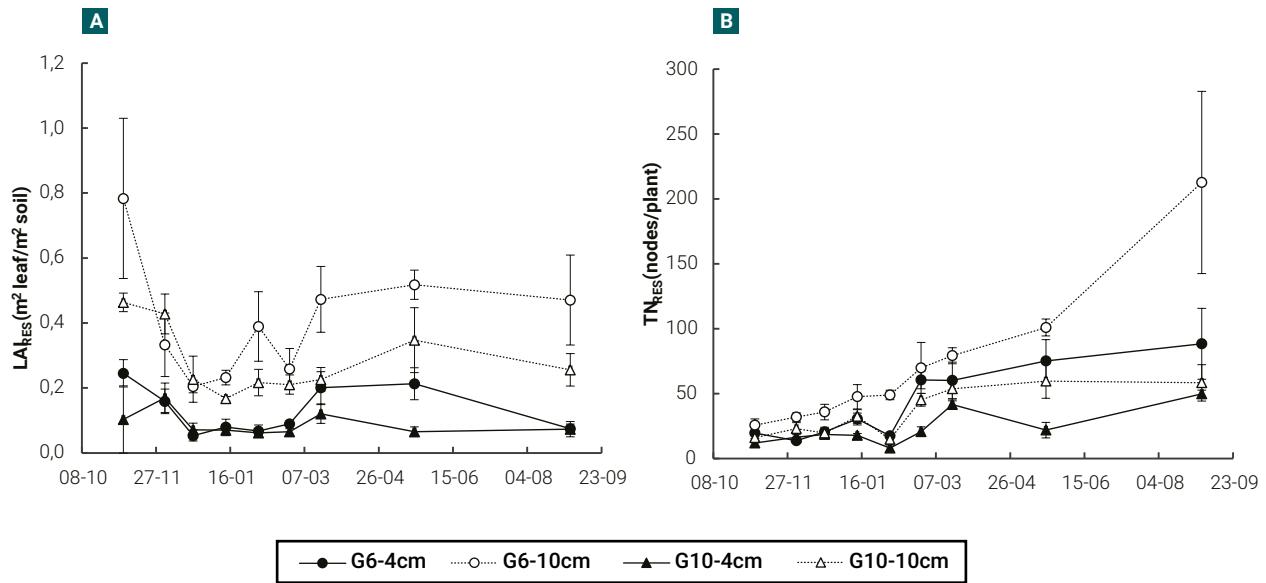
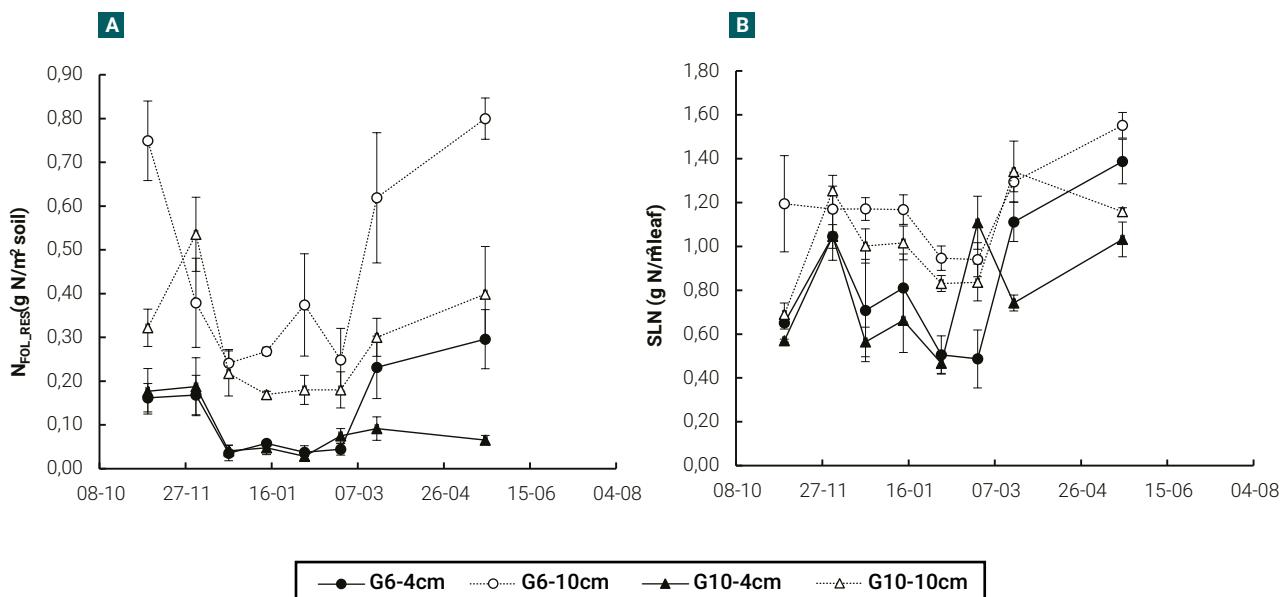


Figure 1. Evolution of (a) total residual biomass ( $AB_{RES}$ ) and (b) green residual biomass ( $AB_{RES\_green}$ ), in a semi-dormant cultivar (G6) and a non-dormant (G10) cultivar of lucerne, cut at 4 and 10 cm in height with an average frequency of 370 cumulative degree days (base temperature 5 °C). Vertical bars indicate  $\pm$  one standard error of the mean. In each date, means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.



**Figure 2.** Evolution of the residual leaf area index ( $\text{LAI}_{\text{RES}}$ ) (a) and the number of total nodes per plant in the residual green biomass ( $\text{TN}_{\text{RES}}$ ) (b), in a semi-dormant cultivar (G6) and a non-dormant (G10) cultivar of lucerne, cut at 4 and 10 cm in height with an average frequency of 370 cumulative degree days (base temperature 5 °C). Vertical bars indicate  $\pm$  one standard error of the mean. In each date, means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.

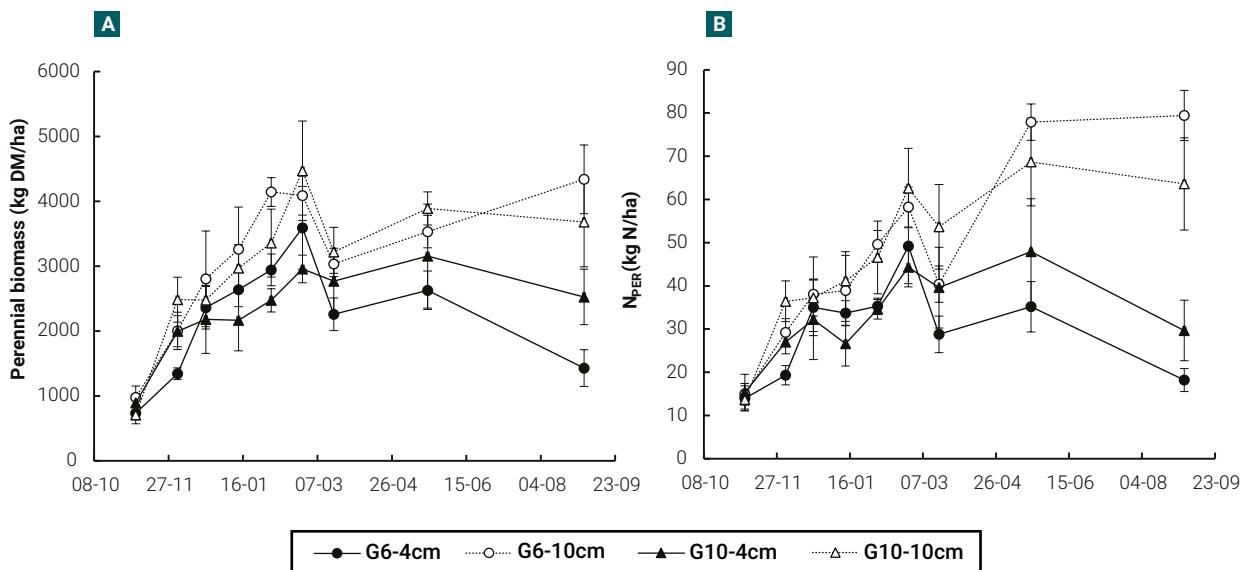


**Figure 3.** Evolution of absolute N content of residual leaf ( $N_{\text{FOLRES}}$ ) (a) and specific leaf nitrogen of residual leaf area ( $SLN_{\text{RES}}$ ) (b), in a semi-dormant cultivar (G6) and a non-dormant (G10) cultivar of lucerne, cut at 4 and 10 cm in height with an average frequency of 370 cumulative degree days (base temperature 5 °C). Vertical bars indicate  $\pm$  one standard error of the mean. In each date, means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.

In both cultivars, plants cut at 10 cm in height showed, with respect to those cut at 4 cm, higher ( $p<0.05$ ) absolute N content ( $N_{\text{FOLRES}}$ ) and specific leaf nitrogen ( $SLN_{\text{RES}}$ ) in the remaining leaf area, the differences between cultivars being practically irrelevant (figures 3a, b).

#### Perennial biomass

In both cultivars, perennial biomass ( $B_{\text{PER}}$ ) increased until mid-late summer and plants cut at 10 cm showed higher  $B_{\text{PER}}$  values than those cut at 4 cm, especially from mid-summer onwards (figure 4a). The nitrogen content of perennial biomass



**Figure 4.** Evolution of perennial biomass (root plus crown) (a) and of the amount of N ( $N_{PER}$ ) in perennial biomass (b), in a semi-dormant cultivar (G6) and a non-dormant (G10) cultivar of lucerne, cut at 4 and 10 cm in height with an average frequency of 370 cumulative degree days (base temperature 5 °C). Vertical bars indicate  $\pm$  one standard error of the mean. In each date, means were compared using the least significant difference test with a significance level of 0.05.

( $N_{PER}$ ) was also superior in 10 cm cutting height, particularly from mid-summer onwards (figure 4b). For these variables, differences between cultivars were practically irrelevant.

## DISCUSSION

In this work, the impact of cutting height (4 cm vs. 10 cm) on the performance of two lucerne cultivars, contrasting in their winter dormancy (G6 vs. G10) and subjected to frequent defoliations during the establishment year was analyzed. Due to a general lack of differences between cultivars, which coincides with previous data reported for the region (Pece and Cangiano, 2003), the discussion will focus only on the impact of cutting height.

### Aerial biomass

In both cultivars, the accumulated forage production (*i.e.* the biomass harvested above cutting height,  $AB_{COS}$ ) was not affected by the cutting height and the total aerial growth (*i.e.* biomass produced from ground level,  $BA_{GROW}$ ) was higher in plants cut at 10 cm than in those cut at 4 cm (table 2). The higher  $AB_{GROW}$  in less severely cut plants can be due, in part, to the higher amount of photosynthetically active tissue in the residual post-cutting biomass (figures 1b, 2a), as was previously reported (Langer and Steinke, 1965; Hodgkinson et al., 1972; Simon et al., 2004; Meuriot et al., 2005).

In lucerne, the aerial regrowth is derived from two types of shoots, those originated from the buds of the crown (crown shoots) and those originated from the axillary buds located in the nodes of the remaining stems (axillary shoots) (Goose et al., 1988). Although the origin of shoots was not quantified, the higher  $TN_{RES}$  in plants defoliated at 10 cm in height (figure 2b) suggests, for plant defoliated at 10 cm, an important contribution of the axillary shoots in biomass yield. In fact, axillary

shoots play an important role in intercepted radiation and dry matter production, due to their rapid emergence after cutting, at a time when the development of leaf area is the main factor limiting growth (Goose et al., 1988). The importance of the contribution of axillary shoots should be higher in frequently defoliated plants (*i.e.* short-lived regrowth) such as those of the present work. This is confirmed by previous research showing that, in plants severely cut, the slow shoot emergence limits the regrowth rate (Leach 1968; García et al., 2021).

In addition, plants cut at 10 cm in height showed, with respect to plants cut at 4 cm, higher nitrogen content in the residual leaf (figure 3). The higher specific leaf nitrogen in the residual leaf area of plants cut at 10 cm in height ( $SLN_{RES}$ , figure 3b) suggests greater photosynthetic capacity than those cut at 4 cm (Teixeira et al., 2008). In addition, the higher nitrogen content in the residual leaf of plants cut at 10 cm in height ( $N_{FOL\_RES}$ ) could be contributed as N source to the initial growth of nearby axillary buds during early phases of shoot regrowth (Dufour et al., 2004), supplementing the N provided by the crown and roots which was also higher in plants cut at 10 cm in height (figure 4b). Therefore, in plants defoliated at a higher frequency (*i.e.*  $\sim 350$  GDD) than the usually recommended (*i.e.* 10% flowering stage), a higher cutting height promote residual leaf area with higher capacity to both, intercept the incoming solar radiation (due to a higher  $LAI_{RES}$  and higher  $TN_{RES}$ ) and to convert the captured radiation in biomass more efficiently (due to a higher  $N_{FOL\_RES}$ , higher  $NFE_{RES}$  and higher  $N_{PER}$ ).

In addition to the higher photosynthetic source ( $LAI_{RES}$  and  $NFE_{RES}$ ), another factor contributing to the higher  $BA_{GROW}$  in plants less severely defoliated is a higher amount of sinks available to produce new aerial biomass during the regrowth (Leach, 1968; 1969). In fact, the number of total nodes per plant in the young stems (axillary and crown) of the residual was also higher in plants cut at 10 cm in height ( $TN_{RES}$ , figure

3b). Based on what was previously discussed, it is possible to conclude that in both cultivars, the higher aerial growth of plants cut at 10 cm can be explained by both, a higher photosynthetic source (i.e. higher LAI<sub>RES</sub>, higher NFE<sub>RES</sub>) and a higher amount of sinks in the residual biomass (i.e. higher number of TN<sub>RES</sub>).

### Perennial biomass

In both cultivars, defoliated at a frequency higher than that usually recommended for the first year (i.e. defoliations earlier than the 10% flowering stage), the plants cut at 10 cm in height showed higher perennial biomass than those cut at 4 cm. Moreover, plants cut at 10 cm in height quickly achieved, and maintained throughout the period, a perennial biomass level above the value (3000 kg DM/ha, figure 4a) at which root partitioning would start not to limit the above-ground biomass production (Sim et al., 2015). This result is in agreement with previous reports showing that plants less severely defoliated maintain a higher photosynthetic leaf residual and therefore shows a higher root biomass than plants cut more severely (Hildebrand and Harrison, 1939; Langer and Steinke, 1965; Meuriot et al., 2005).

Therefore, in our work, the lower amount of perennial biomass and nitrogen content of plants cut at 4 cm may be due to a lower photosynthetic capacity in the residual (e.g. lower LAI<sub>RES</sub> and NFE<sub>RES</sub>, figure 3a) which was not enough to supply the resources demand exerted by the aerial sinks after the cutting (Ryle and Powell, 1975). In this respect, in lucerne, the aerial sinks exert a high control of carbon metabolism during post-cutting regrowth (Frankhauser and Volenec, 1989). Consequently, in plants cut at 4 cm there would be less availability and/or less partitioning of carbohydrates to the perennial biomass affecting negatively their carbon balance (Davidson et al., 1990; Meuriot et al., 2005).

### Management implication

The results obtained in the present work demonstrate that, during the establishment year, a defoliation management that contemplates a higher post-cutting foliar residual, allows to reconcile the need to rapidly establish a vigorous root system (Sim et al., 2015) with the need for early and frequent grazing to maximize the secondary production in lucerne pastures (Berone et al., 2020). In turn, the lack of differences between the cultivars evaluated indicates that the recommendation to increase the residual leaf area during the year of establishment applies to both non-dormant and semi-dormant cultivars.

The dead material of the residual biomass increased strongly in the plants cut at 10 cm in height deriving in a cleaning cut (4 cm in height) towards the middle of summer, as was already mentioned (material and methods and result sections). It is important to mention that the presence of dead material did not affect the growth capacity of plants ('mid-summer' pasture growth rates: 10 cm in height= 145-180 kg DM/ha/day; 4 cm in height= 120-150 kg DM/ha/day). In turn, the cleaning cut did not have negative consequences on the defoliated plants at 10 cm in height. These results suggest that, if necessary, a midsummer cleaning cut would not have negative consequences on lucerne plants that were previously defoliated at 10 cm in height.

Another implication emerging from the present research is about the need for autumn rest in lucerne pastures. A resting lucerne is generally suggested in late summer– early autumn

until approximately 50% flowering to allow root reserves to be restored before winter (Teixeira et al., 2007; Berone et al., 2020). Longer recovery intervals in autumn (~500-600 GDD) have been found to be important for productivity and persistence in high northern latitudes where cutting lucerne prior to winter can greatly reduce the persistence of plants (Bélanger et al., 1999). Such recommendation can be hard to follow for farmers because, in late summer– early autumn, the other forage resources are not available to be used (e.g. pastures recently sown, crops not harvested as silage) and the green lucerne pastures is a high valuable feed resource. Considering the results obtained in the present work, the need for such autumn rest would be more relevant in plants frequently and severely defoliated (i.e. every 370 GDD and 4 cm in height). However, if defoliations are not severe (i.e. every 370 GDD and 10 cm cutting height), the levels of perennial biomass and N reserves observed (figure 4) suggest that, for humid and temperate environments, the need for such a rest would be less relevant. Of course, to be more conclusive on this a direct comparison of defoliation strategies during late summer– early autumn (e.g. frequent/not severe vs. infrequent/severe) is needed.

### CONCLUSIONS

In lucerne cultivars with contrasting degrees of winter dormancy, reducing the severity of defoliation during the year of planting allows maintaining a forage yield similar to those of more severely defoliated plants under high defoliation frequency. At the same time, less severely defoliated plants showed higher biomass and N levels in their perennial organs (i.e. root plus crown). Consequently, a defoliation management that contemplates a higher post-cutting foliar residual allows, during the establishment year, to reconcile the need for early use of lucerne pastures with the need to establish a vigorous perennial system.

### ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by INTA (project PNPA-1126073). The research formed part of a study carried out by Gabriel Blain in partial fulfilment of his requirements for a Magister degree in Animal Production (Universidad Nacional de Mar del Plata). The first author was a recipient of a fellowship from INTA.

The comments and suggestions made by the reviewers contributed substantially to improve this manuscript.

### REFERENCES

- BASIGALUP, H.; USTARROZ, E. 2007. Grazing lucerne systems in the Argentinean pampas. In Proceedings of the 37th California lucerne and forage symposium. CA: Monterrey. 53-62 pp.
- BÉLANGER, G.; KUNELIUS, T.; MCKENZIE, D.; PAPADOPOULOS, Y.; THOMAS, B.; MCRAE, K.; FILLMORE, S.; CHRISTIE, B. 1999. Fall cutting management affects yield and persistence of lucerne in Atlantic Canada. Canadian Journal of Plant Science, 79, 57-63. <https://cdnsciencepub.com/doi/10.4141/P98-035>
- BERONE, G.D.; SARDIÑA, C.; MOOT, D.J. 2020. Animal and forage responses on lucerne (*Medicago sativa* L.) pastures under contrasting grazing management in a temperate climate. Grass and Forage Science, 75, 192-205. <https://doi.org/10.1111/gfs.12479>
- BERONE, G.D.; BERTRAM, N.; DI NUCCI, E. 2021. Forage production and leaf proportion of lucerne (*Medicago sativa* L.) in subtropical environments: fall dormancy, cutting frequency and canopy effects. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Cuyo, 53, 79-88. <https://doi.org/10.48162/rev.39.008>
- BROWN, H.E.; MOOT, D.J.; TEIXEIRA, E.I. 2006. Radiation use efficiency and

- biomass partitioning of lucerne (*Medicago sativa*) in a temperate climate. European Journal of Agronomy, 25, 319-327. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.06.008>
- DAVIDSON, I.A.; CULVENOR, R.A.; SIMPSON, R.J. 1990. Effect of previous defoliation regime and mineral nitrogen on regrowth in white clover swards: photosynthesis, respiration, nitrogenase activity and growth. Annals of Botany, 65, 665-677. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087985>
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2015. InfoStat version 2015. National University of Cordoba.
- DUFOUR, L.; FAUCHER, M.; LEMAIRE, G. 1989. Etude des transferts d'assimilats entre tiges de luzerne (*Medicago sativa* L.) par l'utilisation du  $^{14}\text{CO}_2$ . Agronomie, 9, 377-382. <https://doi.org/10.1051/agro:19890407>
- FANKHAUSER, J.J.; VOLNEC, J.J. 1989. Root vs shoot effects on herbage regrowth and carbohydrate metabolism of lucerne. Crop Science, 29, 735-740. <https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900030040x>
- GARCIA, L.A.; ASSUERO, S.G.; BLAIN, G.; PEREYRA, M.E.; BERONE, G.D. 2021. Dynamics of aerial and perennial biomass of two lucerne cultivars with different fall dormancy subject to two severities of cutting during the establishment phase. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, 120, 1-10. <https://doi.org/10.24215/16699513e072>
- GASTALDI, L.; LITWIN, G.; MAEKAWA, M.; MORETTO, M.; MARINO, M.; ENGLER, P.; CUATRIN, A.; CENTENO, A.; GALETTO, A. 2020. INTA Dairy Sector Survey. Results of the production year 2018-2019. Rafaela, Argentina: INTA Rafaela. 64 p.
- GOSSE, G.; LEMAIRE, G.; CHARTIER, M.; BALFOURIER, F. 1988. Structure of a Lucerne Population (*Medicago Sativa* L.) and Dynamics of Stem Competition for Light During Regrowth. Journal of Applied Ecology, 25, 609-17. <https://doi.org/10.2307/2403848>
- HILDEBRAND, S.C; HARRISON, C.M. 1939. The effect of height and frequency of cutting lucerne up on consequent top growth and root development. Journal of the American Society of Agronomy, 31, 790-799. <https://doi.org/10.2134/agronj1939.00021962003100090007x>
- HODGKINSON, K.C.; SMITH, N.G.; MILES, G.E. 1972. The photosynthetic capacity of stubble leaves and their contribution to growth of the lucerne plant after high level cutting. Australian Journal of Agricultural Research, 23, 225-238. <https://doi.org/10.1071/AR9720225>
- JAUREGUI, J.; OJEDA, J.; BERONE, G.D.; LATTANZI, F.A.; BAUDRACCO, J.; FARINA, S.; MOOT, D.J. 2022. Yield gaps of lucerne (*Medicago sativa* L.) in livestock systems of Argentina. Annals of Applied Biology, 181, 22-32. <https://doi.org/10.1111/aab.12745>
- JUSTES, E.; THIEBEAU, P.; AVICE, J.; LEMAIRE, G.; VOLNEC, J.; OURRY, A. 2002. Influence of summer sowing dates, N fertilization and irrigation on autumn VSP accumulation and dynamics of spring regrowth in lucerne (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany, 53, 111-121. <https://doi.org/10.1093/jxb/53.366.111>
- KHAITY, M.; LEMAIRE, G. 1992. Dynamics of shoot and root growth of lucerne after seeding and after cutting. European Journal of Agronomy, 1, 241-247. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(14\)80076-2](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(14)80076-2)
- LANGER, R.H.M; STEINKE, T.D. 1965. Growth of lucerne in response to height and frequency of defoliation. Journal Agricultural Science, 69, 291-294. <https://doi.org/10.1017/S0021859600016580>
- LEACH, G.J. 1968. The growth of the lucerne plant after cutting: the effects of cutting at different stages of maturity and at different intensities. Australian Journal of Agricultural Research, 19, 517-30. <https://doi.org/10.1071/AR9680517>
- LEACH, G.J. 1969. Shoot numbers, shoot size and yield of regrowth in three lucerne cultivars. Australian Journal of Agricultural Research, 20, 425-34-30. <https://doi.org/10.1071/AR9690425>
- MEURIOT, F.; DECAU, M.L.; MORVAN-BERTRAND, A.; PRUD'HOME, M.P.; GASTAL, F.; SIMON, J.C.; VOLNEC, J.; AVICE, J.C. 2005. Contribution of initial C and N reserves in *Medicago sativa* recovering from defoliation: impact of cutting height and residual leaf area. Functional Plant Biology, 32, 321-334. <https://doi.org/10.1071/FP04151>
- Moot, D.J.; Brown, H.E.; Teixeira, E.I.; Pollock, K.M. 2003. Crop growth and development affect seasonal priorities for lucerne management. In: MOOT, D.J. (Ed.). Legumes for Dryland Pastures New Zealand Grassland Association, Lincoln University, Christchurch, New Zealand. 201-208 pp.
- PECE, M.A.; CANGIANO, C.A. 2003. Aerial biomass accumulation rate in two lucerne (*Medicago sativa* L.) cultivars in Balcarce. Revista Argentina de Producción Animal, 23, 33-43.
- RYLE, G.; POWELL, C. 1975. Defoliation and regrowth in the graminaceous plant: the role of current assimilate. Annals of Botany, 39, 297-310. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084943>
- SIM, R.E.; MOOT, D.J.; BROWN, H.E.; TEIXEIRA, E.I. 2015. Sowing date affected shoot and root biomass accumulation of lucerne during establishment and subsequent regrowth season. European Journal of Agronomy, 68, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.04.005>
- SIMON, J.C.; DECAU, M.L.; AVICE, J.C.; JACQUET, A.; MEURIOT, F.; ALLIRAND, J.M. 2004. Effects of initial N reserve status and residual leaf area after cutting on leaf area and organ establishment during regrowth of lucerne. Journal Plant Scientist, 84, 1059-1066. <https://doi.org/10.4141/P03-118>
- TEIXEIRA, E.I.; MOOT, D.J.; MICKELBART, M.V. 2007. Seasonal patterns of root C and N reserves of lucerne crops (*Medicago sativa* L.) grown in a temperate climate were affected by defoliation regime. European Journal of Agronomy, 26, 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.08.010>
- TEIXEIRA, E.I.; MOOT, D.J.; BROWN, H.E. 2008. Defoliation frequency and season affected radiation use efficiency and dry matter partitioning to roots of lucerne (*Medicago sativa* L.) crops. European Journal of Agronomy, 28, 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2007.05.004>
- THIEBEAU, P.; BEAUDOIN, N.; JUSTES, E.; ALLIRAND, J.M.; LEMAIRE, G. 2011. Radiation use efficiency and shoot:root dry matter partitioning in seedling growths and regrowth crops of lucerne (*Medicago sativa* L.) after spring and autumn sowings. European Journal of Agronomy, 35, 255-268. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2011.07.002>
- VOLNEC, J.J.; OURRY, A.; JOERN, B.C. 1996. A role for nitrogen reserves in forage regrowth and stress tolerance. Physiologia Plantarum, 97, 185-193. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00496.x>

# Pérdidas de nitrógeno por volatilización y eficiencia de uso en maíz desde urea aplicada en diferentes momentos

April 26, 2023

Barbieri, P.A.<sup>1</sup>; Echeverría, H.E.<sup>1</sup>; Saínz Rozas, H.R.<sup>1,2</sup>

## RESUMEN

La volatilización de amoníaco ( $\text{N-NH}_3$ ) es una importante vía de pérdida de nitrógeno (N) desde fertilizantes nitrogenados. En tal sentido, existe la necesidad de desarrollar estrategias de manejo que maximicen la eficiencia de uso de N (EUN). El objetivo de este trabajo fue evaluar las pérdidas por volatilización, rendimiento, N en grano, EUN y sus componentes: eficiencia fisiológica (EF) y de recuperación (ER) en el cultivo de maíz bajo SD, al momento de aplicación (siembra, V3 y V6) y dosis de N (0, 60 y 120 kg N  $\text{ha}^{-1}$ ). Para las condiciones en las cuales se desarrolló esta experiencia, las pérdidas por volatilización de  $\text{N-NH}_3$  se extendieron por un período de 7 días desde la fertilización para los momentos de siembra y V3, mientras que para V6 fue de 6 días desde la fertilización. En general, las pérdidas de  $\text{N-NH}_3$  se incrementaron con la dosis de N, siendo mayores desde el tratamiento 120 kg N  $\text{ha}^{-1}$ , mientras las pérdidas desde el tratamiento 60 kg N  $\text{ha}^{-1}$  no difirieron de las del tratamiento 0N. Las pérdidas totales de  $\text{N-NH}_3$  no fueron afectadas por el momento de aplicación (7,0; 9,2 y 10,6% del N aplicado para los momentos de siembra, V3 y V6, respectivamente) y se incrementaron significativamente por la dosis de N (6,5 y 13,8% del N aplicado para las dosis de 60 y 120 kg  $\text{ha}^{-1}$ , respectivamente). El rendimiento, N en grano, EUN y sus componentes no fueron afectados por el momento de aplicación, solamente se determinó efecto significativo de la dosis de N sobre estas variables (9327, 10413 y 10800 kg  $\text{ha}^{-1}$  de rendimiento para 0, 60 y 120 kg  $\text{ha}^{-1}$ , respectivamente y 99, 122 y 146 kg  $\text{ha}^{-1}$  de N en grano para 0, 60 y 120 kg  $\text{ha}^{-1}$ , respectivamente). En síntesis, para las condiciones en que se desarrolló esta experiencia, las pérdidas por volatilización de  $\text{N-NH}_3$  solamente se incrementaron significativamente por la dosis de N, sin efecto del momento de aplicación.

**Palabras clave:** nitrógeno, volatilización de  $\text{N-NH}_3$ , siembra directa, dosis, momento de aplicación.

## ABSTRACT

*Ammonia volatilization losses ( $\text{N-NH}_3$ ) is an important way of nitrogen (N) losses from fertilizer. Therefore, is imperative to determine management practice to increase N use efficiency (EUN). The objective was to evaluate ammonia volatilization losses, grain yield, grain N content, EUN and its components: physiological efficiency (EF) and recovery efficiency (ER) to fertilization time (Showing, V3 and V6) and N rate (0, 60 and 120 kg N  $\text{ha}^{-1}$ ) in no-till corn. Ammonia volatilization losses were extend for a period of 7 day after fertilization for showing and V3 fertilization time while for V6 fertilization time was 6 day after fertilization. In general, volatilization losses were increases with N rate, greater volatilization were determined from treatment 120 Kg N  $\text{ha}^{-1}$ , while ammonia volatilization losses from treatment 60 kg N  $\text{ha}^{-1}$  was not different from treatment 0N. Total  $\text{N-NH}_3$  volatilization losses were not affected by fertilization time (7.0; 9.2 y 10.6% of N applied for Showing, V3 y V6 fertilization time, respectively), and were increased by N rate (6.5 y 13.8% of N applied for 60 y 120 kg  $\text{ha}^{-1}$  N rate, respectively). Corn grain yield, grain N content, N use efficiency (EUN) and its components were not affected by fertilization time, and only were significantly increased by N rate (9327,*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Unidad Integrada Balcarce (UIB), Ruta Nac. 226 km 73.5, (4620), CC276 Balcarce, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: barbieri.pablo@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290 (1425) Buenos Aires, Argentina.

10413 and 10800 kg ha<sup>-1</sup> grain yield for 0, 60 and 120 kg ha<sup>-1</sup>, respectively and 99, 122 and 146 kg ha<sup>-1</sup> grain N content for 0, 60 and 120 kg ha<sup>-1</sup>, respectively). In synthesis, for the experimental conditions, N-NH<sub>3</sub> volatilization losses only were increased by N rate between without effect of N application time.

**Keywords:** nitrogen, N-NH<sub>3</sub>volatilization, no-till, N rate, fertilization time.

## INTRODUCCIÓN

La intensificación de la agricultura y la utilización de variedades de mayor potencial productivo, entre otros factores, han incrementado las dosis de fertilizantes, especialmente con nitrógeno (N). El N es el nutriente que en mayor medida condiciona el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Echeverría y Sainz Rozas, 2015). El N debe estar bien provisto en cantidad y oportunidad como para asegurar un óptimo estado fisiológico de los cultivos durante el período crítico, momento en el cual se define el rendimiento de estos. El sistema de siembra directa (SD) produce una serie de cambios en el ambiente edáfico, el más relevante es la menor disponibilidad de N mineral durante los primeros años de su implementación (Fox y Bandel, 1986). Por lo tanto, la fertilización nitrogenada con dosis mayores es una práctica necesaria para la obtención de similares rendimientos que bajo labranza convencional (Dominguez et al., 2001).

Normalmente, bajo SD los fertilizantes nitrogenados son aplicados sobre la superficie del suelo. En estas condiciones, las fuentes de N que contienen urea, pueden resultar menos eficientes debido a las pérdidas por volatilización bajo la forma de amoníaco (N-NH<sub>3</sub>) (Barbieri et al., 2003; Sainz Rozas et al., 2004; Barbieri et al., 2018). En el suelo, la urea es hidrolizada a amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) por la enzima ureasa. La hidrólisis resulta en el consumo de protones con el consiguiente aumento del pH alrededor del gránulo de fertilizante, lo que a su vez favorece la formación de NH<sub>3</sub> por un desplazamiento en el equilibrio NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NH<sub>3</sub>, provocando pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> aun en suelos ácidos.

La magnitud de las pérdidas en sistemas de SD es afectada por factores ambientales (humedad, temperatura y viento), de suelo (pH, capacidad buffer, capacidad de intercambio catiónico, materia orgánica) y de cultivo (cantidad y tipo de residuos de cosecha y fuente y dosis de N) (Ferguson et al., 1984; Sainz Rozas et al., 1999; Barbieri et al., 2003 y 2010). A su vez, una rápida hidrólisis de la urea resulta en mayores pérdidas potenciales de N-NH<sub>3</sub>; dado que la velocidad de hidrólisis depende de la actividad ureásica, factores que la modifican como la concentración de urea, el pH, la temperatura y el contenido de agua (Kiessel y Cabrera, 1988) afectarán la magnitud de las pérdidas. A su vez, la actividad de la ureasa está directamente relacionada con el contenido de C orgánico, presencia de re-

síduos de cosecha y N total del suelo (Reynolds et al., 1985; McInnes et al., 1986).

Las pérdidas por volatilización son más elevadas cuando las temperaturas del suelo se incrementan en un rango de 10 a 50 °C (Hargrove, 1988). En tal sentido, las pérdidas por volatilización son más importantes para cultivos de verano. Por ende, cuando el fertilizante es aplicado al cultivo de maíz al momento de la siembra o en V6, se producirán pérdidas variables de N como consecuencia de cambios en la temperatura del suelo. En Balcarce, para aplicaciones de urea al momento de la siembra (promedio de dos años) se determinaron pérdidas por volatilización del 2,5 y 5,5% del N aplicado para las dosis de 70 y 140 Kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Sin embargo estas fueron del 7,1 y 11,5% del N aplicado para el estadio de V6, esto es debido a las mayores temperaturas de suelo que predominan en diciembre. Cuando la humedad del suelo no limita el proceso de pérdida, la cantidad de amoníaco volatilizado se relaciona con la temperatura del suelo, con temperaturas inferiores a 7 °C no existen pérdidas relevantes por volatilización (Sainz Rozas et al., 1997). Evaluaciones realizadas en Rafaela (región central de la provincia de Santa Fe, Argentina) mostraron pérdidas de N por volatilización del 36% para aplicaciones de urea sobre superficie en V6 bajo SD (Fontanetto y Keller, 2006). Mientras que en maíces tardíos para Pergamino las pérdidas fueron de hasta el 40% (Ferraris et al., 2014). Para Balcarce (SE bonaerense) se han determinado pérdidas por volatilización inferiores al 15% (Sainz Rozas et al., 1997) y escasas o nulas diferencias en rendimiento y eficiencia de uso de N (EUN, kg grano kg N disponible<sup>-1</sup>) (Sainz Rozas et al., 1999; Barbieri et al., 2018). La menor temperatura y la mayor capacidad buffer de los suelos del SE bonaerense explicarían las diferencias observadas entre localidades.

Las pérdidas por volatilización a partir de urea en el cultivo de maíz bajo SD son dependientes de la dosis utilizada y del momento de aplicación (Sainz Rozas et al., 1997). Si bien las pérdidas por volatilización son mayores a medida que se incrementa la temperatura, otros mecanismos como la desnitrificación y el lavado de N se ven poco afectados (Sainz Rozas et al., 2004). En estadio de V6 el maíz comienza su mayor actividad de crecimiento y consecuentemente incrementa su demanda de agua y N (Ritchie y Hanway, 1982). Esto afectaría la EUN siendo mayor en estadios avanzados V3 o V6 respecto de aplicaciones a la siembra.

Profundidad	Textura	pH	P	MO	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
			mg kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
0-20	Franca	5,7	17,2	52,8	17,2
20-40					11,6
40-60					10,9

Tabla 1. Características edáficas del sitio experimental.

La fertilización nitrogenada es una práctica de manejo necesaria para la obtención de elevados rendimientos. Actualmente, las dosis de N aplicadas se han incrementado, en consecuencia, existe una creciente preocupación sobre las consecuencias ambientales que tiene el empleo de elevadas dosis de N. Por lo tanto, existe la necesidad de evaluar prácticas de manejo que produzcan incrementos en la EUN con el menor impacto ambiental. Dado que en maíz el momento de aplicación de N afecta en gran medida las pérdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización y en consecuencia la EUN, existe la necesidad de explorar la aplicación de N en diferentes momentos con el objetivo de evaluar cuál produce la máxima EUN.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Balcarce, sobre un cultivo de maíz en un lote de prolongada historia agrícola (más de 30 años) y bajo SD en los últimos 5 años, con una cobertura de rastrojo del 80%. El suelo donde se implantó el ensayo fue un Paleudol Petrocálcico con limitación de profundidad por tosca a los 100 cm, algunas de las características se encuentran en la tabla 1.

Para la caracterización climática de la estación de crecimiento se utilizaron registros de las precipitaciones medidas por la Estación meteorológica de la EEA INTA Balcarce, así como registros de la temperatura y radiación media mensual durante el ciclo de crecimiento del cultivo.

A la siembra del cultivo de maíz se aplicaron 100 kg de superfosfato triple con el objeto de que el fósforo (P) no limitara el crecimiento del cultivo. La densidad de plantas logradas fue de 70.000 plantas ha<sup>-1</sup>, las malezas y los insectos fueron controlados en forma adecuada.

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones con un arreglo factorial 3 x 2; tres momentos de aplicación de N (siembra, estadio vegetativo de 3 hojas; V3 y estadio vegetativo de 6 hojas; V6) y dos dosis de N (60 y 120 kg ha<sup>-1</sup>) aplicadas al voleo en cobertura

total. Además se incorporó un tratamiento control (0 kg N ha<sup>-1</sup>). Las unidades experimentales fueron de cuatro surcos (2,8 m de ancho por 12 m de longitud).

El método para estimar el N-NH<sub>3</sub> volatilizado consistió en un sistema de absorción semiabierto estático, adaptado del propuesto por Nomnik (1973) y utilizado en suelos de la zona por Videla (1994). Este permitió atrapar el NH<sub>3</sub> por medio de un cilindro de polietileno de 30 cm de diámetro por 50 cm de altura que tiene en su parte superior dos planchas de poliuretano (goma espuma) de 1,5 cm de espesor (bandeja con ácido y sumergir la esponja adentro). Estas están embebidas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N y separadas 12 cm entre sí. El NH<sub>3</sub> es atrapado por la plancha inferior, mientras que la superior evita que se contamine con NH<sub>3</sub> proveniente de otros lugares. Las planchas se cambiaron cada 24 h y fueron lavadas con 1,5 l de agua desmineralizada. Una alícuota de 25 ml fue alcalinizada con 5 ml de NaOH al 40% y el NH<sub>3</sub> producido se recogió por microdestilación (Keeney y Nelson, 1982) en ácido bórico al 2% hasta completar un volumen de 35 ml. Este fue titulado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 N para determinar la cantidad de N-NH<sub>3</sub> desprendida. Se colocó una cámara por parcela, la que se distribuyó aleatoriamente dentro de esta. Las trampas fueron enterradas en su parte inferior unos 5 a 7 cm dentro del suelo para ser fijadas al suelo y evitar escapes de NH<sub>3</sub> hacia la atmósfera.

Las determinaciones de NH<sub>3</sub> volatilizado se realizaron desde la aplicación del fertilizante hasta la ocurrencia de una precipitación superior a los 10 mm. Durante este período las temperaturas de suelo, a 5 cm de profundidad, fueron estimadas por medio de la siguiente ecuación:  $Y = -1,13 + 1,23X$  (Navarro Duymovich, comunicación personal).

en donde  $Y$  = temperatura estimada

$X$  = temperatura media diaria del aire

Se realizó muestreo de suelo a la siembra para determinar pH, P disponible y MO. El ensayo se condujo sin limitaciones hídricas durante la floración a fin de poder expresar las eventuales pérdidas de N del sistema. En madurez fisiológica se realizó la cosecha de las espigas, se determinó el rendimiento

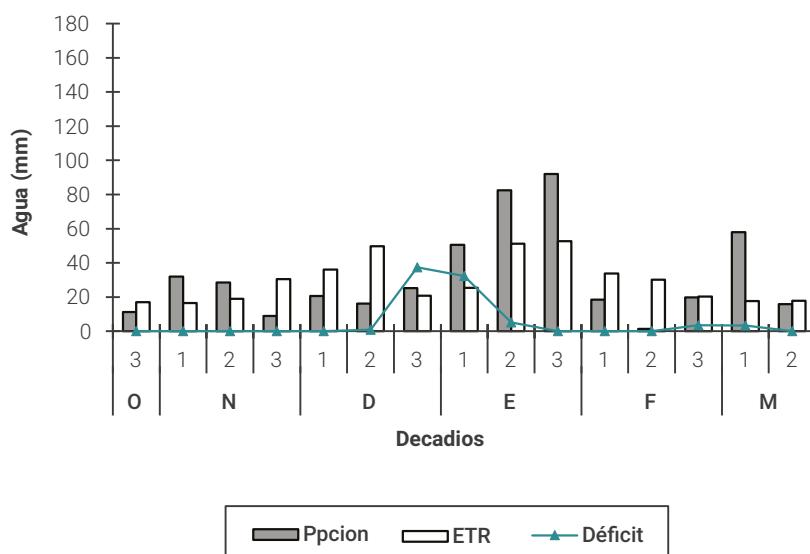
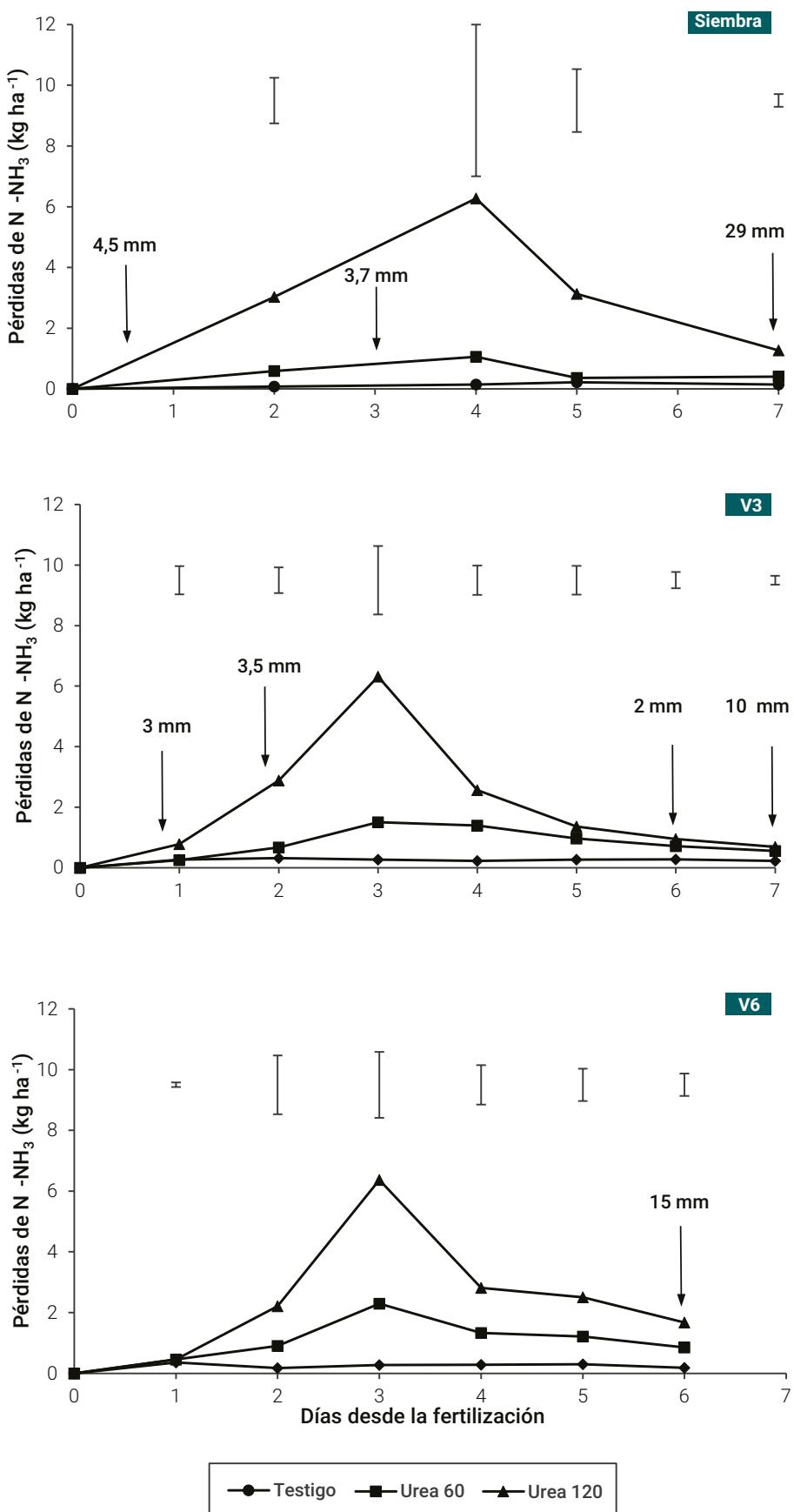
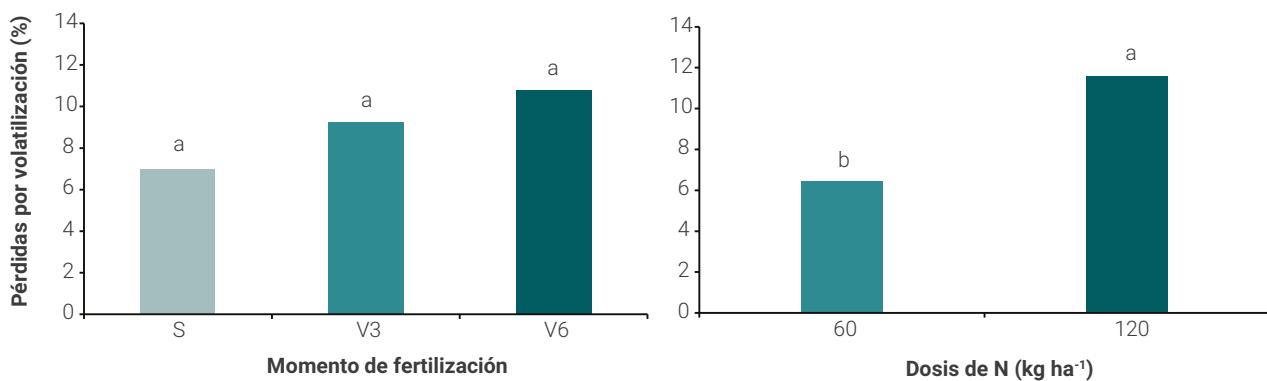


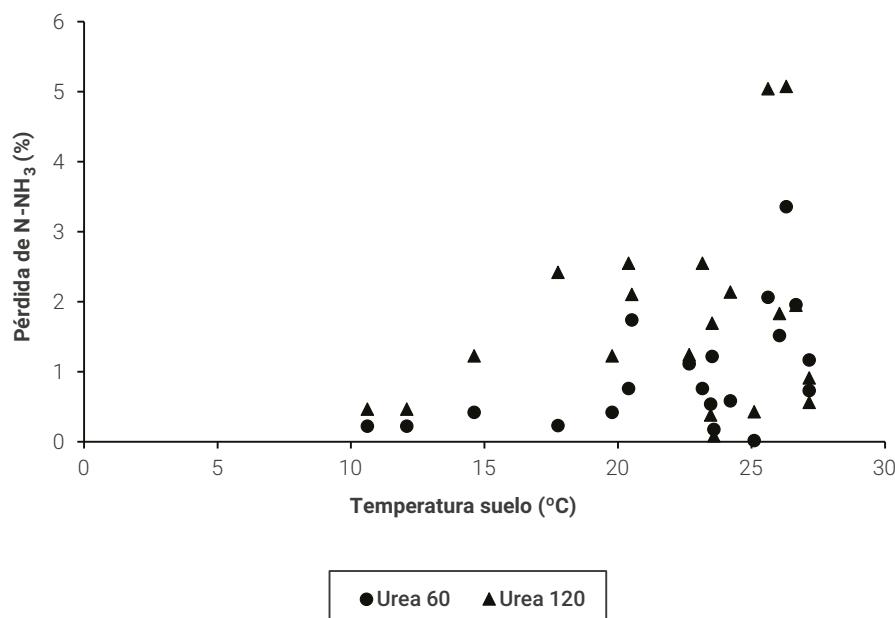
Figura 1. Balance de agua del cultivo de maíz irrigado bajo SD. La línea de triángulos representa los momentos durante el ciclo del cultivo en donde se produjeron deficiencias hídricas.



**Figura 2.** Evolución de las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> en función del momento de fertilización para el cultivo de maíz bajo SD. Las líneas verticales indican el valor de DMS (5%).



**Figura 3.** Pérdidas totales de N-NH<sub>3</sub> por volatilización en función del momento de fertilización y la dosis de N para el cultivo de maíz bajo SD. Letras similares sobre las barras indican falta de diferencia entre ellas, según el test de DMS (5%).



**Figura 4.** Relación entre las pérdidas diarias de N-NH<sub>3</sub> por volatilización en función de la temperatura de suelo (5 cm).

ajustándose al 14% de humedad. El N orgánico reducido acumulado en grano se determinó por combustión seca (LECO, 2009) utilizando un equipo LECO TruSpec CN. La acumulación de N en grano se calculó multiplicando el rendimiento (0% de humedad) y la concentración de N en grano. Se realizó el cálculo de la eficiencia de uso de N en grano (EUN) [rendimiento en grano (kg)/ N disponible (kg)] como el producto de la eficiencia fisiológica (EF) [rendimiento en grano (kg)/N absorbido en planta o grano (kg)] y la eficiencia de recuperación (ER) [N absorbido en grano (kg)/ N disponible (kg)] (Moll *et al.*, 1982) en general cuando se habla de eficiencia de recuperación se refiere a lo que absorbió el total de la planta. El N disponible se calculó como la suma del N proveniente del suelo (N final - N inicial), el mineralizado y el aplicado como fertilizante.

El N del suelo fue el determinado previo a la siembra y a la cosecha; para el N mineralizado se utilizó el N absorbido en grano por el testigo (Meisinger *et al.*, 1992).

El análisis de la varianza fue realizado usando el procedimiento GLM incluido en las rutinas del programa Statical Analysis System (SAS) (SAS Institute Inc, 2008). Las diferencias entre medias de tratamiento fueron comparadas usando el test de diferencias mínimas significativas (5%).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Condiciones meteorológicas

Las precipitaciones registradas durante el ciclo del cultivo totalizaron 331 mm, este valor es inferior a la evapotranspi-

Tratamientos	Dosis de N	Vol Total	Rend	N en grano
Momento			-----kg ha <sup>-1</sup> -----	
Siembra	0	0,6	9764	112,2
	60	2,4	10230	115,9
	120	13,7	10967	148,3
V3	0	1,8	8454	83,1
	60	6,1	10347	114,3
	120	15,5	10777	146,4
V6	0	1,6	9764	101,9
	60	7,0	10661	135,6
	120	16,0	10655	142,0
Prom. Momento	Siembra	5,6 a	10598 a	132,0 a
	V3	7,8 a	10562 a	130,3 a
	V6	8,2 a	11262 a	138,8 a
Prom. Dosis	0	1,3 b	9327 b	99,1 c
	60	5,2 b	10413 a	121,9 b
	120	15,1 a	10800 a	145,6 a
Análisis de la varianza				
Momento (M)		ns	ns	ns
Dosis (D)		**	**	**
M x D		ns	ns	ns

Tabla 2. Pérdidas totales por volatilización, rendimiento y contenido de N en grano del cultivo de maíz bajo SD.

ración del cultivo determinada para la zona (530 mm) por Andrade y Gardiol (1995), el déficit hídrico calculado mediante balance hídrico fue de 193 mm. Sin embargo, debido a los riegos aplicados durante la floración y la variación de agua útil del suelo, probablemente no se haya producido déficit hídrico. En consecuencia, el rendimiento del maíz no debería haberse afectado por estrés hídrico (fig. 1).

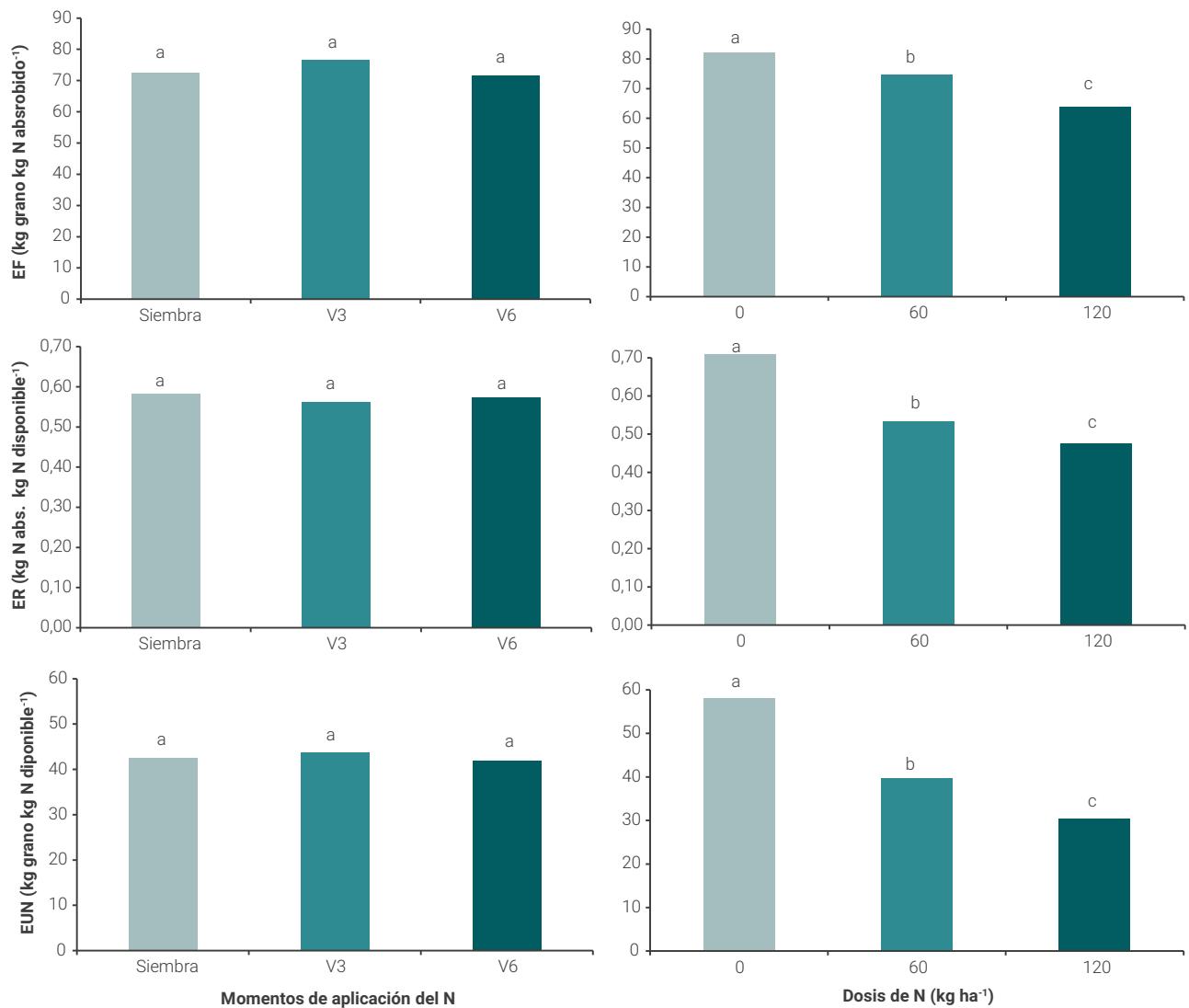
#### Evolución de las pérdidas por volatilización de amoníaco

Las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> se extendieron por un período de 7 días para las aplicaciones al momento de la siembra y V3, mientras que para V6 las pérdidas se produjeron por un período de 6 días luego de la aplicación de N (fig. 2). La interrupción del proceso de volatilización de N-NH<sub>3</sub> fue consecuencia de la ocurrencia de precipitaciones superiores a 10 mm que incorporaron el N del fertilizante en el perfil de suelo (Fox et al., 1986) (fig. 2). Para todos los momentos de aplicación, las máximas tasas de pérdida de N-NH<sub>3</sub> se observaron a partir del tercer o cuarto día después de la fertilización (fig. 2), dichas pérdidas de N se corresponderían con los mayores valores de pH registrados en el suelo (Ferguson et al., 1984). Para todos los momentos de fertilización las máximas tasas de pérdida de N-NH<sub>3</sub> fueron determinadas desde el tratamiento con la dosis de 120 kg N ha<sup>-1</sup>. Las pérdidas desde este tratamiento en gene-

ral difirieron de 60 kg de N ha<sup>-1</sup> y el testigo, y a su vez la dosis de 60 kg de N ha<sup>-1</sup> no fue estadísticamente diferente del tratamiento testigo en ningún momento de aplicación de N (fig. 2).

No se determinó interacción significativa momento por dosis de N para las pérdidas totales expresadas en kg ha<sup>-1</sup> teniendo en cuenta el testigo (tabla 2) o expresadas como porcentaje del N aplicado (fig. 3). Las pérdidas totales por volatilización de N-NH<sub>3</sub> (kg ha<sup>-1</sup> o como porcentaje del N aplicado), si bien aumentaron con la demora en el momento de fertilización, no fueron afectadas significativamente. Se determinó efecto significativo de la dosis de N, siendo las pérdidas desde el tratamiento 120 kg N ha<sup>-1</sup> significativamente mayores a las pérdidas desde el tratamiento testigo y 60 kg N ha<sup>-1</sup> (tabla 2). Las pérdidas totales, promedio de todos los momentos de fertilización, fueron de 3,9 (6,5% del N aplicado) y 13,8 kg N ha<sup>-1</sup> (11,5% del N aplicado) para la dosis de 60 y 120 kg de N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de las dosis de N sobre las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub>. Los valores de pérdida de N determinados en esta experiencia fueron similares a los ya informados para el sudeste bonaerense (Sainz Rozas et al., 1999; Barbieri et al., 2003).

Si bien las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> son más elevadas cuando las temperaturas del suelo se incrementan en un rango de 10 a 50 °C (Hargrove, 1988), para las condiciones



**Figura 5.** Eficiencia de uso de N y sus componentes: eficiencia fisiológica (EF) y de recuperación (ER) en función del momento de fertilización y la dosis de N para el cultivo de maíz bajo SD. Letras similares sobre las barras indican falta de diferencia entre ellas, según el test de DMS (5%).

ambientales en que se desarrolló esta experiencia, el momento de aplicación del fertilizante no afectó significativamente las pérdidas (tabla 2). La diferencia en la temperatura promedio del suelo durante el período experimental, principal variable que explica las pérdidas por volatilización (Sainz Rozas et al., 1999), fueron de 16,9 25,6 y 23,8 °C para los momentos de siembra V3 y V6, respectivamente. Esto sugiere que la temperatura es importante, pero no determinante de las pérdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización. No obstante, las pérdidas N-NH<sub>3</sub> por volatilización se incrementaron con el aumento de la temperatura del suelo (fig. 4). Es válido mencionar que para el suroeste bonaerense existen reportes en donde se determinaron mayores pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> en V6 respecto a la siembra de maíz, cuando la temperatura del suelo aumentó entre dichos momentos de fertilización (Sainz Rozas et al., 1997). Los incrementos de la temperatura en nuestra experiencia fueron de 8,7 y 6,9 °C para los períodos siembra-V3 y

siembra-V6, respectivamente, mientras que en el trabajo de Sainz Rozas et al. (1997) las diferencias de temperatura entre siembra-V6 fueron de aprox. 11 °C. Estas diferencias en la temperatura del suelo podrían explicar los resultados obtenidos. No obstante, cuando el fertilizante es aplicado a la siembra, en V3 o en V6, se producirán pérdidas variables de N como consecuencia de cambios en la temperatura del suelo (fig. 4, tabla 2).

#### Rendimiento y contenido de N en grano

No se determinó interacción significativa entre los factores de tratamiento (momento de aplicación y dosis de N) para el rendimiento en grano o para el contenido de N en grano (tabla 2). El rendimiento del cultivo no se incrementó significativamente por efecto del momento de aplicación de N mientras que la dosis de N incrementó significativamente el rendimien-

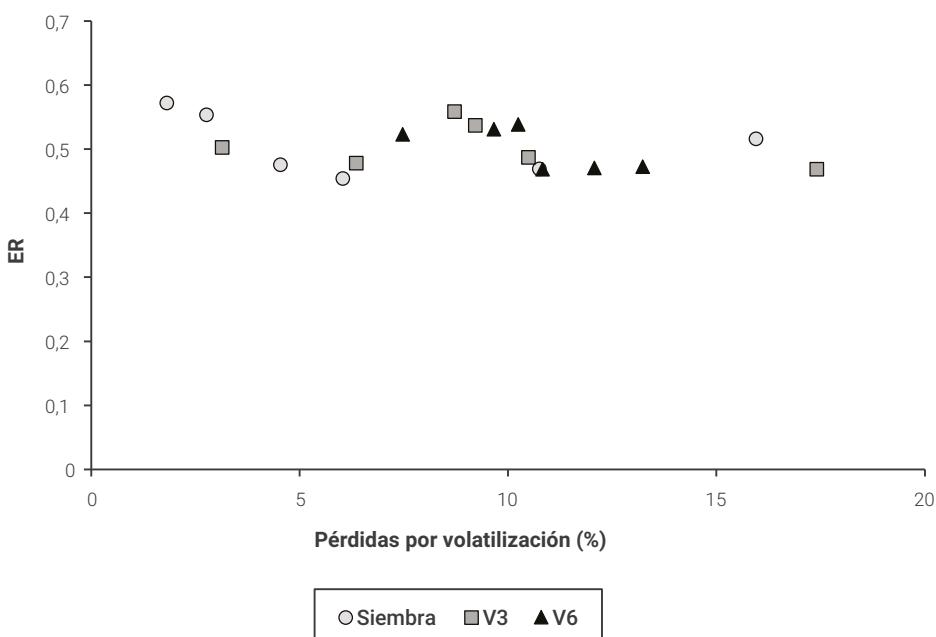


Figura 6. Relación entre la eficiencia de recuperación del N aplicado (ER) y las pérdidas totales perdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización en el cultivo de maíz bajo SD.

to en grano del cultivo (tabla 2). Los tratamientos fertilizados no difirieron entre sí y estos últimos lo hicieron con el tratamiento testigo, la respuesta en rendimiento a N promedio de ambas dosis fue de 1279 kg ha<sup>-1</sup> (14%).

El contenido de N en grano, al igual que el rendimiento, no se incrementó significativamente por efecto del momento de aplicación de N. El contenido de N en grano fue afectado significativamente por la dosis de N (tabla 2). Los incrementos en el contenido de N en grano fueron de 23 (23%) y 24 (19%) kg de N ha<sup>-1</sup> entre el tratamiento testigo vs. 60 y 60 vs. 120 Kg N ha<sup>-1</sup>. El momento de aplicación del N no afectó el contenido de N en grano, estos resultados difieren de los reportados por Sainz Rozas *et al.* (1999) para maíz bajo SD con aplicaciones de N en V6 respecto de la siembra. Siendo la principal consecuencia a que las pérdidas de N del sistema, para la campaña evaluada, no habrían sido de gran magnitud. Durante los estadios iniciales (siembra-V6) si bien se registraron precipitaciones que permitieron incorporar el fertilizante y finalizar las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub>, estas no fueron suficientes para producir el lavado de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (fig. 1), principal mecanismo de pérdida de N del sistema en el sudeste bonaerense (Sainz Rozas *et al.*, 2004).

#### Eficiencia de uso de N

La eficiencia de uso de N ni sus componentes EF y ER fueron afectadas significativamente por la interacción momento de aplicación y dosis de N. El momento de aplicación del N tampoco afectó significativamente la EUN, EF o ER, mientras que el incremento de la dosis de N disminuyó significativamente la EUN y sus componentes (fig. 5). Estos resultados coinciden con los informados por Sainz Rozas *et al.* (2004), Barbieri *et al.*

(2010), Barbieri *et al.* (2018), quienes establecieron que la ER disminuye con el incremento de la dosis de N.

Para las condiciones en las cuales se desarrolló esta experiencia, la falta de diferencias en la EUN o sus componentes al momento de aplicación del N sería debido a que las pérdidas de N del sistema no fueron de gran magnitud. Las pérdidas por volatilización de N-NH<sub>3</sub> se extendieron por un período no mayor de 7 días, ya que las lluvias incorporaron el N en el perfil del suelo deteniendo el proceso de pérdida (fig. 2). Las pérdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización fueron de 7, 9 y 11% del N aplicado promedio de dosis para los momentos de siembra V3 y V6, respectivamente y no se asociaron significativamente con la ER (fig. 6). Estos resultados coinciden con los informados por Bonelli *et al.* (2018) quienes no determinaron diferencias en la ER para diferentes momentos de fertilización (siembra, V6 y V10) ni fuentes de N (urea y UAN). En tal sentido, el uso de pronósticos meteorológicos de corto plazo permitiría programar la fertilización previo a una lluvia para lograr una rápida incorporación del N al suelo.

#### CONCLUSIONES

Para las condiciones en las cuales se desarrolló este experimento, las pérdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización se incrementaron por efecto de la dosis de N y no por el momento de aplicación. Esto sería debido a que las precipitaciones ocurridas (>10 mm) una semana después de la fertilización incorporaron el N en el perfil del suelo, impidiendo que se expresaran las pérdidas de N-NH<sub>3</sub> por volatilización. El rendimiento y el contenido de N en grano se incrementaron por la dosis de N; el momento de aplicación del fertilizante no produjo efectos sobre estas variables. Esto sería debido a que en esta estación

de crecimiento las pérdidas de N del sistema fueron de escasa magnitud. En función de esto, se determinó que aplicaciones de N retrasadas respecto de la siembra no incrementaron la EUN, y dosis mayores a 60 kg N ha<sup>-1</sup> no afectan el rendimiento, pero sí la concentración de N en grano.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDRADE, F.H.; GARDIOL, J. 1995. Sequía y producción de los cultivos de maíz, girasol y soja. INTA Est. Ex. Agr. Boletín Técnico 132. 15 p.
- BARBIERI, P.A.; ECHEVERRÍA, H.E.; SAINZ ROZAS, H.R. 2003. Respuesta del cultivo de maíz bajo siembra directa a la fuente y al método de aplicación de nitrógeno. Ciencia del Suelo 21: 18-23.
- BARBIERI, P.A.; ECHEVERRÍA, H.E.; SAINZ ROZAS, H.R.; MARINGOLO, M. 2010. Fertilización de maíz con urea de liberación lenta: pérdida por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno. Ciencia del Suelo 28: 57-66.
- BARBIERI, P.A; ECHEVERRÍA, H.E.; SAINZ ROZAS, H.R. 2018. Pérdidas por volatilización y eficiencia de uso de nitrógeno en maíz en función de la fuente, dosis y momento de aplicación. Rev. Fac. Agron. 117(1), 111-116.
- BONELLI, L.E.; SAINZ ROZAS, H.R.; ECHEVERRÍA, H.E.; BARBIERI, P.A. 2018. Fuente y momento de aplicación de nitrógeno en maíz bajo siembra directa en Balcarce. Ciencia del Suelo Vol. 36, N.º 1.
- DOMINGUEZ, G.F.; STUDDERT, G.A.; ECHEVERRÍA, H.E.; ANDRADE, F.H. 2001. Sistemas de cultivo y fertilización nitrogenada en maíz. Ciencia del Suelo 19:47-56.
- ECHEVERRÍA, H.E.; SAINZ ROZAS, H.R. 2015. Nitrógeno. En: ECHEVERRÍA, H.E.; GARCIA, F.O. (eds.). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. Ediciones INTA. Bs. As., Argentina. 189-228 pp.
- FERGUSON, R.B.; KIESSEL, D.E.; KOELLIKER, J.K.; BASEL, W. 1984. Ammonia volatilization from surface-applied urea: Effect of hydrogen ion buffering capacity. Soil Science Society of America Journal 2, 578-585.
- FERRARIS, G.N.; ELIAS, G.; GALETTO, M.L. 2014. Pérdidas de nitrógeno por volatilización en maíces tardíos en Pergamino (Bs. As.). Efectos de fuente y dosis. Actas x Congreso Nacional de maíz. Rosario, Santa Fe.
- FONTANETTO, H.; KELLER, O. 2006. Manejo de la fertilización en maíz. Experiencias en la Región Pampeana Argentina. Información Técnica de Cultivos de Verano Campaña 2006. INTA EEA Rafaela. Publicación Miscelánea N.º 106. 85-113 pp.
- FOX, R.H.; BANDEL, V.A. 1986. Nitrogen utilization with no-tillage. En: SPRAGE, M.A.; TRIPPLETT, G.B. (ed.). No-Tillage and Surface-Tillage Agriculture. The Tillage Revolution, John Wiley and Sons. EUA. 117-255 pp.
- HARGROVE, W.L. 1988. Soil, environmental, and management factors influencing ammonia volatilization under Field conditions. En: BOCK, B.R.; KISSEL, D.E. (ed). Bulletin Y-206. National fertilizer Development Center, Tennessee Valley Authority, Muscle Shoals, Alabama. 2:17-36.
- KEENEY, D.R.; NELSON, W.D. 1982. In Methods of Soil Analysis. Part. 2. Chemical and Microbiological properties, A.L. Page ed. American Society of agronomy, Madison, Wisconsin (EUA). 643-693 pp.
- KIESSEL, D.E.; CABRERA, M.L. 1988. Factor affecting urea hydrolysis. En: BOCK, B.R.; KIESSEL, D.E. (ed.). Ammonia volatilization from urea fertilizers. Eds. National Fertilizer Development Center, TVA: Muscle Shoals. 53-66.
- LECO. 2009. Organic application notes. (Disponible: <http://www.leco.com/> verificado 18 de febrero de 2009).
- MCLNNES, K.J.; FERGUSON, R.B.; KIESSEL, D.E; KANEMASU, E.T. 1986. Field measurements of ammonia loss from surface applications of urea solution to bare soil. Agron. J. 78: 192-196.
- MEISINGER, J.J.; MAGDOFF, F.R.; SCHEPERS, J.S.; WELLS, K.L.; BITZER, M.J. 1992. Nitrogen management in the no fertilizer needs for maize in humid regions: underlying principles. En: BOCK, B.R.; KELLEY, K.R. (editors), Predicting N fertilizer needs for maize in humid regions, Fertilizer Development Ctr., TVA, Muscle Shoals, AL, EUA. 8-26 pp.
- MOLL, R.H.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. Agron. J. 74:562-564.
- NOMMIK, H. 1973. The effect of pellet size on the ammonia loss from urea applied to forest soil. Plant Soil. 39:309-318.
- REYNOLDS, C.; WOLF, D.; ARMBRUSTER, J. 1985. Factors related to urea hydrolysis in soils. Soil Sci Am. J. 49: 104-108.
- RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J. 1982. How a corn plant develops. Iowa State Univ. Coop. Ext. Serv. Spec. Rep. 48.
- SAINZ ROZAS, H.R.; ECHEVERRÍA, H.E.; STUDDERT, G.A.; ANDRADE, F.H. 1997. Volatilización de amoniaco desde urea aplicada al cultivo de maíz bajo siembra directa. Ciencia del suelo 15: 12-16.
- SAINZ ROZAS, H.R; ECHEVERRÍA, H.E.; STUDDERT G.A.; ANDRADE, F.H. 1999. No-tillage corn nitrogen uptake and yield: effect of urease inhibitor and application time. Agron. J. 91: 950-955.
- SAINZ ROZAS, H.R.; ECHEVERRÍA H.E.; BARBIERI, P.A. 2004. Nitrogen Balance as affected by application time and nitrogen fertilizer rate in irrigated no-tillage maize. Agron. J. 96: 1622-1631.
- SAS. 2008. The SAS system for windows. Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC.

# Efecto del estrés salino en el régimen hídrico, concentración de compuestos osmóticamente activos y pigmentos fotosintéticos en cultivares de tomate

April 26, 2023

Avila, C.<sup>1</sup>; Argentel-Martínez, L.<sup>2</sup>; Campos-Posada, R.<sup>3</sup>; Campos-Posada, G.<sup>4</sup>; Eichler-Löbermann, B.<sup>5</sup>; Lopez, R.<sup>1</sup>

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo identificar indicadores fisiológicos y bioquímicos para caracterizar genotipos de tomate tolerantes al estrés salino. Se estudiaron cuatro variedades (Amalia, Vyta, Campbell-28 y Claudia) en condiciones semicontroladas, un medio salinizado a base de NaCl a conductividad eléctrica (CE) de 6 dS m<sup>-1</sup> con su respectivo control a CE=0.36 dS m<sup>-1</sup>. Se evaluaron indicadores: contenido de prolina, glicina betaina, proteínas solubles totales, clorofila a y carotenoides, potencial hídrico en hojas y raíces, potencial osmótico foliar y ajuste osmótico (AO). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para determinar los indicadores que más contribuyen a la tolerancia a la salinidad. Existió variabilidad de respuesta en los indicadores evaluados entre el medio salino y el medio control. La prolina se incrementó entre 3 y 9 mg g<sup>-1</sup> ms en raíces y entre 8 y 23 mg g<sup>-1</sup> mf en hojas, demostrando la capacidad de osmorregular en función de solutos orgánicos. Las variedades Amalia y Vyta presentaron los mayores incrementos de glicina betaina (18 mg g<sup>-1</sup> ms). Todas las variedades redujeron su potencial hídrico en condiciones de salinidad a valores menores de -0.9 MPa, en consecuencia existió un AO significativo entre las variedades, siendo Vyta y Amalia las de mayor AO. Partiendo del ACP se encontró que las variables potencial hídrico radicular y foliar, potencial osmótico, ajuste osmótico y el contenido de prolina fueron las de mayor contribución a la variabilidad total encontrada entre variedades. Vyta y Amalia resultaron las tolerantes mientras que Claudia y Campbell-28 clasificaron como susceptibles.

**Palabras claves:** salinidad, prolina, ajuste osmótico, tolerancia, Vyta.

## ABSTRACT

*This work aimed to identify ecophysiological and biochemical indicators to characterize tomato genotypes tolerant to salt stress. Four varieties (Amalia, Vyta, Campbell-28 and Claudia) were studied under semi-controlled conditions, a salinized medium based on NaCl at electrical conductivity (EC) of 6 dS m<sup>-1</sup> with their respective control at EC=0.36 dS m<sup>-1</sup>. Proline content, glycine betaine, total soluble proteins, chlorophyll and carotenoids, water potential in leaves and roots, leaf osmotic potential and osmotic adjustment (AO) were the evaluated variables. A principal component analy-*

<sup>1</sup>Universidad de Granma, Facultad de Ciencias Agrícolas, Carretera Manzanillo, km 17, Bayamo 85100, Granma, Cuba. Correos electrónicos: cavilaa@udg.co.cu, egomezp@udg.co.cu; rlopezs@udg.co.cu

<sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México, Campus Valle del Yaqui, Bácum, Sonora, (CP 85265). Correo electrónico: oleinismora@gmail.com

<sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional (IPN). Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería de Coahuila (UPIIC). Gustavo Díaz Ordaz 1011, (C.P. 25500), San Buenaventura, Coahuila, México. Correo electrónico: rcamposp@ipn.mx

<sup>4</sup>Universidad Autónoma de Coahuila, Barranquilla sin número, Colonia Guadalupe, Monclova, Coahuila, (C.P. 25730), México. Correo electrónico: gloriacampos@uadec.edu.mx

<sup>5</sup>University of Rostock, Faculty of Agricultural and Environmental Science, Justus-von Liebig-Weg 6 18059 Rostock, Germany. Correo electrónico: bettina.eichler@uni-rostock.de

sis (PCA) was carried out to determine the indicators that most contribute to salinity tolerance variability. There was a significant variability response in the evaluated indicators between the saline medium and the control medium. Proline increased between 3 and 9 mg g<sup>-1</sup> mf in roots and between 8 and 23 mg g<sup>-1</sup> mf in leaves, demonstrating the ability to osmoregulation in function of organic solutes. The Amalia and Vyta varieties presented the highest increases in glycine betaine (18 mg g<sup>-1</sup> ms). All the varieties reduced their water potential under salinity conditions to values lower than -0.9 MPa, consequently there was a significant OA among the varieties, with Vita and Amalia being the ones with the highest OA. Starting from the PCA analysis, it was found that the variables root and leaf water potential, osmotic potential, osmotic adjustment and proline content were the ones with the greatest contribution to the total variability found among varieties. Vyta and Amalia were tolerant varieties while Claudia and Campbell-28 classified as susceptible.

**Keywords:** salinity, ecophysiology, biochemical, tomato, tolerance, Vyta.

## INTRODUCCIÓN

La salinidad es un importante estrés abiótico que reduce la productividad de los cultivos, con mayores afectaciones en las regiones áridas y semiáridas del mundo (Foolad, 2007). Aproximadamente el 43% de la superficie terrestre utilizada para el cultivo en el mundo se encuentra afectada por niveles de salinidad que, en su mayoría, superan la tolerancia a la salinidad de las especies tradicionales (Carabajal-Vázquez et al., 2022).

Los estudios de tolerancia a la salinidad pueden ofrecer resultados que permitan convertir zonas marginales en ecosistemas productivos (Foolad, 2007; Karan y Subudhi, 2012). En consecuencia, el conocimiento de los mecanismos de tolerancia a la salinidad en las plantas es necesario para aumentar la productividad y rentabilidad de los cultivos regados con aguas residuales salinas (Singh et al., 2012).

La salinidad provoca efectos perjudiciales en los mecanismos fisiológicos y bioquímicos en las plantas al inhibir el crecimiento y desarrollo, reducir la fotosíntesis, la respiración y la síntesis de proteínas, (Zhang y Blumwal, 2001; Sairam y Tyagi, 2004), el desarrollo y rendimiento de las plantas, el potencial osmótico del agua del suelo. La consecuencia directa de este es la disminución de la disponibilidad de agua para las raíces por una reducción de la energía libre del agua en el suelo debido a la presencia de sales solubles (Peña y Hughes, 2007).

La mayoría de los cultivares comerciales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) son sensibles a niveles moderados de salinidad de hasta 2.5 dS m<sup>-1</sup> sin reducción significativa del rendimiento (Hernández-Herrera et al., 2022). La corrección de la salinidad en el campo y en invernaderos es más costosa y temporal, mientras que la selección de genotipos tolerantes a la salinidad puede ser una solución para minimizar sus efectos así como mejorar eficiencia de producción (Singh et al., 2012).

Existe un interés creciente en el estudio de la respuesta de nuevos cultivares al estrés salino para evaluar su grado de tolerancia a la salinidad y seleccionar los más resistentes (Bacha et al., 2017). Por ejemplo, se seleccionaron diferentes parámetros para distinguir materiales de tomate tolerantes a la salinidad, tal como como la altura de la planta, el número de hojas, el contenido de clorofila, la fluorescencia de la clorofila, los días a floración, fructificación y maduración y los componentes del rendimiento (Ezin et al., 2010); las relaciones hídricas foliares, el intercambio gaseoso, la densidad estomática y el contenido de Na<sup>+</sup> (Romero-Aranda et al., 2001); el consumo de agua y la eficiencia en el uso del agua (Reina-Sánchez et al., 2005).

Esta hortaliza es una de las de mayor producción nacional, constituye un renglón de exportación y puede ser cultivada en todas las provincias del país. No obstante, sus rendimientos se ven afectados por factores bióticos y abióticos que causan una disminución considerable en las cosechas (Ávila-Amador et al., 2022).

Dada la importancia de este cultivo en Cuba y la significativa cantidad de suelos afectados por la salinidad, todo ello unido a la necesidad de contribuir a la seguridad alimentaria nacional, se impone la necesidad de probar variedades existentes en el banco de germoplasma de tomate para identificar características fisiológicas y bioquímicas que confieran tolerancia. El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta de cuatro variedades en condiciones de salinidad por NaCl a una conductividad eléctrica de 6 dS m<sup>-1</sup> en función de las variables régimen hídrico, la concentración de osmolitos y pigmentos fotosintéticos en condiciones semicontroladas para proponer las variedades tolerantes para suelos salinos en el oriente de Cuba.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue establecido en invernadero en la Universidad de Antwerp, Bélgica, utilizando sustrato comercial a base de tundra, con un pH de 5.8, CE de 1.5 ± 0.2, MO 22% (M/M) con un contenido de nutrientes en mg L<sup>-1</sup> que alcanzaba hasta 240 de N, 170 de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 300 de K<sub>2</sub>O, 250 de CaO y 100 de MgO.

Se utilizaron macetas de 2 kg y se trasplantaron dos plántulas por maceta. Para el riego se utilizó solución nutritiva supliendo las necesidades hídricas del cultivo en cada etapa (MINAGRI, 2003). Los valores promedios de temperatura y humedad relativa fueron de 21 °C y 75% respectivamente, las mediciones fueron realizadas cada 12 horas.

Las semillas de cuatro variedades de tomate (Amalia, Vyta, Campbell-28 y Claudia) fueron puestas a germinar en las macetas (siembra directa). Inicialmente, se aplicó la solución nutritiva Hoagland's (Hoagland y Arnon, 1950). En el momento de la aparición de la quinta hoja en las plántulas de tomate se aplicaron los siguientes niveles de salinidad:

- T1: Tratamiento salino: solución nutritiva (Hoagland y Arnon, 1950) y salinizada con NaCl (600 mM) con una conductividad eléctrica (CE) de 6 dS m<sup>-1</sup>.
- T2: Tratamiento control: solución nutritiva de composición y concentración conocida (Hoagland y Arnon 1950) con una CE de 0.36 dS m<sup>-1</sup>.

A los 35 días después de la siembra (dds) se tomaron muestras de 10 plantas por tratamiento y se determinó el contenido

de prolina de acuerdo al método descrito por Bates *et al.* (1973). Una masa de 0.50 gramos de tejido foliar, replicada cuatro veces, fue congelada en nitrógeno líquido y homogenizado con ácido sulfosalicílico (3%). El residuo fue eliminado por centrifugación a 13.000 revoluciones por minuto, durante 10 min. Luego, 500.0  $\mu$ L del extracto se hicieron reaccionar con 500.0  $\mu$ L de ácido acético glacial y 500.0  $\mu$ L de ninhidrina a 100 °C por una hora. La reacción fue detenida en baño con hielo. El complejo cromóforo-prolina fue extraído con 1,0 mL de tolueno. La prolina fue cuantificada en un espectrofotómetro (Hewlett Packard 8452) a 520 nm, usando L-prolina para la curva de calibración.

El contenido foliar de glicina betaina (GB) se determinó siguiendo el método descrito por Grieve y Grattan, (1983). Para ello dos gramos de tejido foliar de las plantas de las cuatro variedades fue finamente molido y agitado mecánicamente con 20 ml de agua desionizada durante 24 horas a una temperatura de 25 °C.

Posteriormente las muestras se filtraron y el filtrado se diluyó a 1:1 con 2 NHO. Las alícuotas se almacenaron a 4 °C durante 16 horas, posteriormente se centrifugaron a 10.000 revoluciones por minuto durante 15 minutos a una temperatura de 0 °C. El sobrenadante se separó suavemente con un capilar de cristal. Los cristales se disolvieron en 9 mL de 1,2-dicloroetano. Después de 2 horas de reposo, se midió la absorbancia a 365 nm, en un espectrofotómetro (Hewlett Packard 8452), utilizando glicina betainato ionizada (GBI) para la curva de calibración.

El contenido de proteínas solubles totales se determinó por el método descrito por Prakash y Prathapesan (1988). Una muestra de 1.0 g de material fresco finamente cortado se depositó en un mortero y se maceró. La extracción se realizó con 40.0 mL de una solución buffer de fosfato a pH 6.86 preparado a partir de fosfato de potasio, solución que se adicionó lentamente mientras se efectuaba la extracción. El extracto se decantó en tubos de centrifugación de 50 mL y se centrifugó a 10.000 revoluciones por minuto durante un tiempo de 7 min. Finalmente, la solución sobrenadante separada se trasvasó a matraces volumétricos de 50 mL. Se agregó un volumen de 0.25 mL del reactivo Folin-Ciocalteu diluido (concentración ácida 1 M). El contenido de proteína solubles totales fue cuantificado mediante fotometría de absorción en un espectrofotómetro Hewlett Packard 8452, a una longitud de onda de 750 nm.

Se determinó la concentración de pigmentos (clorofila a y carotenoides), de acuerdo a la metodología de Lichtenthaler y Wellburn (1984). Se tomó una masa de un gramo de tejido foliar, formado por fragmentos de la parte media de la tercera y cuarta

hoja. Cada fragmento obtenido se cortó en pequeños pedazos y se maceraron con alcohol etílico (96 v/v), se filtró a través de un papel de filtro de poros finos y se completó hasta un volumen de 50 mL con alcohol. Posteriormente se leyó la absorbancia a 665, 649 y 470 nm para la clorofila a, b y los carotenoides respectivamente y se calculó la concentración de pigmentos en mg g  $m^{-1}$ , además se calculó la relación clorofila a/ clorofila b.

Se realizó un muestreo de hojas terminales (quinta y sexta hojas) y raíces a las que se le midió *in situ* el potencial total de agua con la cámara de Schollander. Para conocer el potencial de solutos, la muestra en condición de peso túrgido fue congelada en N<sub>2</sub> líquido. Luego, se descongeló y se obtuvo una muestra de savia que fue colocada en la celda de un psicrómetro (Wescor HR33T) para medir su concentración de solutos. El potencial de solutos se calculó de acuerdo a:  $\psi_s = -CRT$  donde: C es la concentración de solutos expresada como molaridad, R es la constante de los gases 0.00831Kg MPa mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup> y T es la temperatura absoluta.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, con seis repeticiones por tratamiento. Se determinó la media y su desviación típica para todos los indicadores evaluados en ambas condiciones (tratamiento salino y tratamiento control) y se establecieron las diferencias entre tratamientos mediante la prueba de t de Student, comparando cada variedad en el medio salino, con su respectivo control, para niveles de significación del 5% y el 1%. Con el propósito de determinar los indicadores que más contribuyen a evaluar la tolerancia a la salinidad se realizó un análisis de conglomerado jerárquico de ligamiento completo con base en una matriz de distancia euclíadiana.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Potencial hidrárico y osmótico

El potencial hidrárico radicular y el foliar fueron diferentes entre el tratamiento control y el salino en las cuatro variedades estudiadas. Se observó una significativa disminución del indicador desde la raíz hasta las hojas. Tal comportamiento evidenció la existencia de un gradiente de potenciales en todas las variedades, para mantener la entrada de agua desde el medio en el cual se establecieron hasta todas las partes aéreas (figura 1). La disminución del potencial hidrárico fue significativa en las variedades Amalia y Vyta.

Las variedades Claudia y Campbell-28 no disminuyeron su potencial hidrárico en más de -0.05 bares (0.005 MPa) respecto

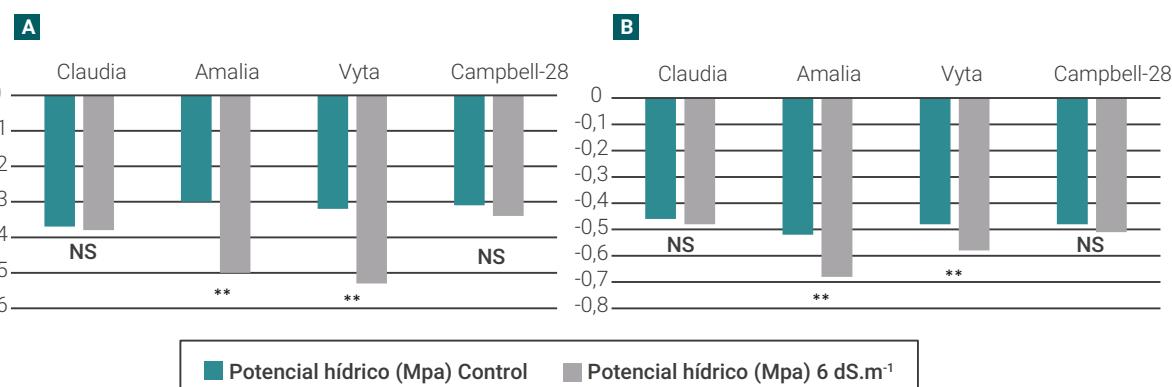


Figura 1. Efecto del estrés salino en el potencial hidrárico en las variedades de tomates estudiadas en raíces (izquierda) y hojas (derecha).

al control en ninguno de los órganos (figura 1). Este resultado sugiere que estas variedades requieren de un mayor ajuste metabólico para lograr disminuir su potencial hídrico y poder absorber agua en condiciones salinas. Cuando el potencial hídrico de los tejidos disminuye por causa de un estrés salino, una reducción en el potencial osmótico permite minimizar los efectos negativos de este cambio sobre el potencial de presión debido al mantenimiento de un gradiente de potencial de agua entre el suelo y las raíces que permite la absorción de agua desde el suelo (Munns, 2008; Munns y Tester, 2008).

El potencial osmótico foliar presentó diferencias altamente significativas ( $p=0.0014$ ) entre el tratamiento control y el estrés en las variedades Vyta, Amalia y Claudia, la variedad Campbell-28 mostró los resultados más bajos, solo existiendo diferencias significativas (figura 2).

En estudios desarrollados por Morales et al. (2002) se encontró que las relaciones hídricas de las variedades de tomate Amalia, INCA 9 y P-73 se afectan significativamente con el incremento de la conductividad eléctrica en el medio donde se cultivaron las plantas. Estos resultados explican la disminución de la intensidad de flujo del agua desde la raíz a la parte aérea, pues a una menor conductancia estomática le corresponderá un menor intercambio de vapor de agua con una menor transpiración y como consecuencia un menor movimiento del agua en la planta, con una menor hidratación de la parte aérea de la planta, provocando una depresión en los potenciales hídrico y osmótico.

Todos los cultivares estudiados desarrollaron el ajuste osmótico, incluso cuando la concentración de NaCl en el medio fue de  $6 \text{ dS m}^{-1}$ , lo que demuestra la capacidad de esta especie para adaptarse a condiciones desfavorables de este tipo.

Resultados similares a los aquí mostrados, en cuanto a la respuesta de las plantas expuestas a tratamientos salinos fueron estudiados en diferentes cultivares de tomate (Alarcón et al., 1994), en plantas de remolacha azucarera (Katergi et al., 1997) y en diferentes especies del género *Triticum* (Morant-Avice et al., 1998). Estas afectaciones han sido atribuidas a la alta absorción radicular de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  que inicialmente realizan las plantas, que produce una disminución importante del potencial osmótico sin grandes pérdidas de turgencia.

El potencial osmótico puede disminuir porque se reduce el volumen de agua simplástica originando una mayor concentración de los solutos existentes en proporción a la cantidad

de agua perdida, este proceso es el que se conoce como osmorregulación (Jadhav et al., 2022). La reducción del potencial osmótico también puede originarse por un incremento neto en la cantidad de solutos existentes, esta capacidad de acumular solutos que se produce en respuesta a un déficit hídrico causado por el estrés salino y que determina un mantenimiento total o parcial de la presión celular se denomina capacidad de ajuste osmótico (Leidis, 2007).

La variabilidad en la respuesta del potencial hídrico y osmótico frente al estrés salino entre variedades de una misma especie demuestra la heterogeneidad natural existente para la tolerancia a la salinidad en el germoplasma aquí estudiado. Tales resultados contribuyen a la evaluación de la tolerancia para la regionalización de variedades según las condiciones edáficas (niveles de salinidad en el extracto de saturación) donde se pretenda establecer este cultivo. En este sentido, se ha encontrado en diferentes especies una amplia variabilidad en el grado de tolerancia a la salinidad basada en la determinación del potencial hídrico, quedando demostrado que sus valores pueden variar a lo largo del ciclo ontogénico del cultivo, dependiendo de las variaciones de la conductividad eléctrica del extracto de saturación de los suelos. La variación del potencial hídrico en condiciones de salinidad de los suelos se ha propuesto como un indicador eficiente para la evaluación de tolerancia a este tipo de estrés (Munns, 2008).

### Contenido de prolina

El contenido de prolina, tanto en las raíces como en hojas, se incrementó significativamente en las plantas sometidas al medio salino en todas las variedades estudiadas. Las variedades Amalia y Vyta presentaron mayor acumulación, los valores en las raíces se incrementaron en promedio  $9.11$  y  $7.01 \text{ mg g}^{-1} \text{ mf}$  respectivamente (tabla 1).

En relación con la tolerancia varietal a la salinidad, las variedades Amalia y Vyta fueron las que más prolina acumularon en las raíces y hojas y las de menor potencial osmótico (figura 2) e hídrico (figura 1) en el tratamiento salino. Similar comportamiento se presentó en el follaje, con un incremento superior a los  $18 \text{ mg g}^{-1} \text{ mf}$  en las hojas (tabla 1).

Sin embargo, las variedades Claudia y Campbell-28 presentaron el menor incremento del contenido radicular de prolina con un promedio de  $4.45$  y  $3.61 \text{ mg.g}^{-1} \text{ mf}$  (tabla 1). El incre-

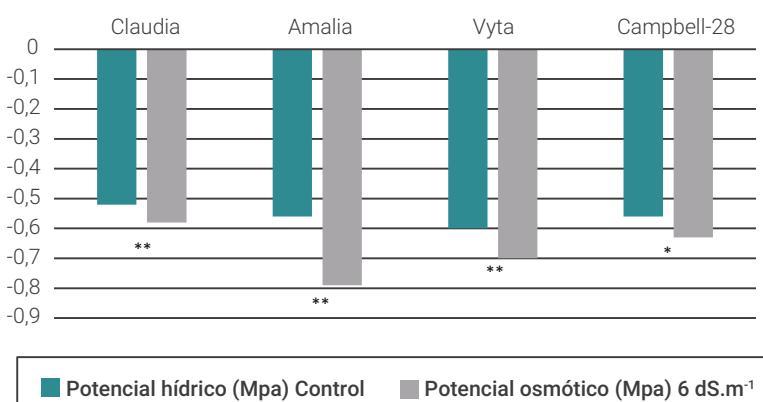


Figura 2. Efecto del estrés salino en el potencial osmótico foliar en las variedades de tomates estudiadas.

mento de prolina en las variedades pudo provocar el ajuste osmótico en función de este compuesto osmóticamente activo con vistas a mantener el potencial hídrico a nivel muy bajo que permitiera absorber el agua en condiciones de estrés salino. Estos resultados sugieren que la acumulación de prolina en las raíces puede ser considerada como un indicador de sensibilidad al estrés salino en tomate, además de contribuir como una respuesta adaptativa a la disminución del potencial osmótico en el citoplasma (Pérez-Alfocea et al., 1993).

La prolina es uno de los osmoprotectores más importantes en las plantas. Bajo estrés por salinidad, la mayoría de las especies de plantas exhiben un aumento notable en su contenido. La prolina actúa como un soluto fisiológicamente compatible que aumenta según sea necesario para mantener un potencial osmótico favorable entre la célula y sus alrededores (Patel y Pandey 2008; Dasgan et al., 2009).

Las variedades que toleran ciertos niveles de salinidad al ser sometidas a condiciones salinas después de la germinación realizan un rápido ajuste osmótico generalmente en función de compuestos orgánicos (prolina, glicina betaina y proteínas solubles totales) y así reducen el potencial hídrico celular (Wyn y Gorham, 1983).

Dogan et al. (2010) reportan que niveles de prolina en hojas de plantas de tomate no tolerantes al estrés salino fueron mayores que en los cultivares tolerantes a la salinidad. También algunos investigadores informan una correlación negativa entre la acumulación de prolina y la tolerancia a la salinidad en el tomate y *Aegiceras corniculatum* y sugieren que la acumulación de prolina fue una reacción al estrés salino y no una respuesta de la planta asociada con la tolerancia (Parvaiz y Satyawati, 2008).

Sin embargo, se ha planteado que el aumento de prolina es solamente uno de los factores que ayuda a las células a mantener el bajo potencial osmótico y en consecuencia el potencial hídrico; mientras que otros procesos deben llevarse a cabo para aumentar la habilidad de las plantas a fin de tolerar la deficiencia fisiológica de agua y vencer el estrés osmótico para sostener su crecimiento y desarrollo mediante la síntesis de otros compuestos osmóticamente activos como la glicina betaina y las proteínas solubles totales (Archieu, 2005).

#### Contenido foliar de glicina betaina

El contenido de glicina betaina se incrementó significativamente ( $p=0.2111$ ) en el follaje en todas las variedades excepto Claudia en el tratamiento salino y su incremento superó los 2 mg g<sup>-1</sup> ms a la concentración existente en el tratamiento

control, siendo altamente significativo en las variedades Vyta y Amalia y Claudia en las que los valores llegaron a duplicar los registrados en el medio no salino (figura 3), siendo este uno de los elementos que explica la mayor tolerancia de estas variedades en comparación con la Campbell-28. La glicina betaina y la prolina son los aminoácidos de mayor importancia en la adaptación de vegetales a la salinidad (Steudle, 2000).

Una de las vías es la síntesis de glicina betaina (GB), que es un potente osmoprotector que se acumula durante la floración de las plantas, es la actividad de la enzima colina monoxigenasa (CMO) (García et al., 2005). Se ha estudiado que esta enzima es susceptible a condiciones de estrés por sequía y en algunas especies por salinidad, por lo cual cultivares o especies que mantengan altos valores en medio salino, respecto al control, como las aquí evaluadas pueden ser promisorias para elevar la resistencia a sequía en plantas. La obtención de plantas genéticamente modificadas con mayor capacidad de acumulación de compuestos orgánicos con función protectora como la prolina, betaina y glicina betaina ha resultado en fenotipos con mayor tolerancia a salinidad, por lo cual, las variedades evaluadas en el presente trabajo que han resultado en altos valores de este osmolito pueden ser posibles parentales para programas de mejoramiento genético (Argentel et al., 2010).

#### Contenido de proteínas solubles totales en la hoja

El contenido de proteínas solubles totales se incrementó significativamente en las variedades Vyta, Amalia y Campbell-28 en el medio salino respecto al control, mientras que en la variedad Claudia disminuyó, existiendo variabilidad en los resultados (figura 4). En la variedad Claudia se produjo una disminución del contenido de proteínas solubles totales probablemente para disminuir su potencial hídrico y mantener la entrada de agua (Leidis, 2007).

Manaa et al. (2011) reportan en el cultivo del tomate una disminución en el contenido de proteína de raíz en todos los genotipos estudiados en un rango del 12 a 25% por la presencia de salinidad. Un mayor contenido de proteínas en cultivares tolerantes en condiciones de control ya ha sido informado en varias plantas, así como una disminución debido a la presencia de estrés salino (Ashraf y Harris, 2004; Debouba et al., 2006).

Conforme a lo aquí observado, en condiciones de salinidad, en muchas especies, primeramente se produce un incremento del contenido de proteínas solubles totales, pero estos valores van descendiendo debido a la actividad de las proteasas para emplear los aminoácidos para el recambio proteico, como fuente de energía, como fuente carbonada o nitrogenada, ade-

Variedades	Prolina (mg g mf)					
	(raíces)			(hojas)		
	Control	Salino	Incremento	Control	Salino	Incremento
Amalia	2.23	11.34**	9.11	3.72	15.12**	11.4
Claudia	2.52	6.97**	4.45	4.11	12.49**	8.38
Vyta	2.8	9.49**	7.01	4.84	23.73**	18.89
Campbell-28	2.34	5.95 **	3.61	4.97	28.67**	23.7

Tabla 1. Contenido de prolina en hojas y raíces de las plantas de variedades estudiadas en medio salino y control.

\*\* Representa diferencias significativas para 1% el respectivamente, por la prueba de t-Student.

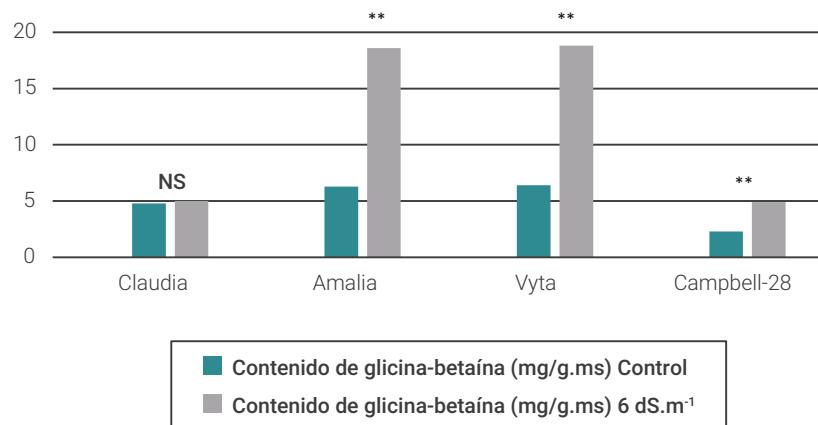


Figura 3. Contenido de glicina betaína en plántulas de las variedades estudiadas en condiciones de salinidad.

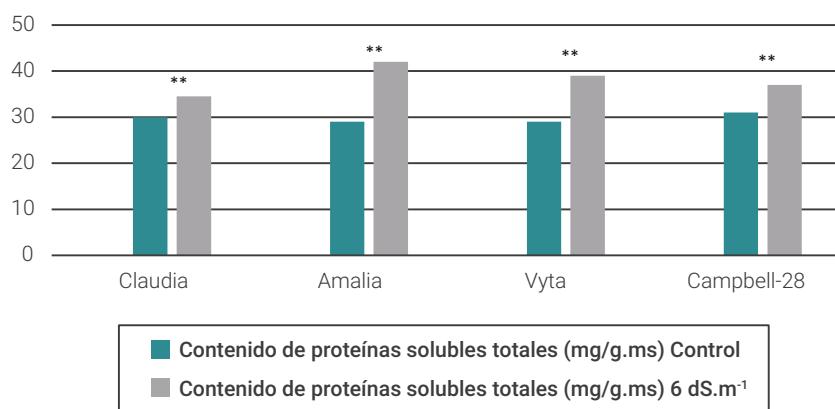


Figura 4. Contenido de proteínas solubles totales en las variedades de tomate en condiciones de salinidad y su respectivo control.

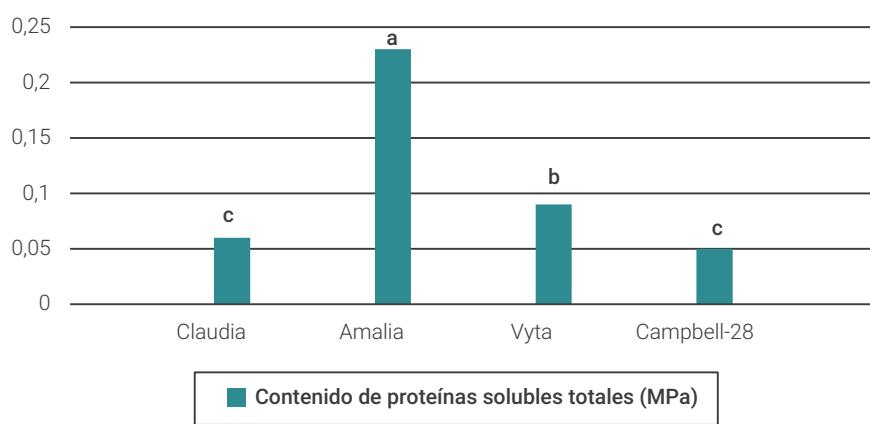


Figura 5. Ajuste osmótico en hojas de las variedades de tomate estudiadas en el medio salino.

más de emplear, en un primer paso, los aminoácidos para el incremento de la concentración de compuestos osmóticamente activos y así asegurar la disminución del potencial osmótico y en consecuencia el potencial hídrico celular (Leidis, 2007).

### Ajuste osmótico

En condiciones de salinidad todas las variedades realizaron el ajuste osmótico producto al incremento de la concentración de solutos osmóticamente activos con respecto al control. Los valores más significativos los presentaron Amalia y Vyta con 0.22 y 0.9 MPa respectivamente (figura 5), siendo estas las variedades que más acumularon prolina en las raíces y en las hojas, con excepción de Campbell-28, que en este último órgano alcanzo la mayor concentración. Estos resultados concuerdan con lo informado por Hongbo (2006) señalando que en tomate el principal contribuyente al ajuste osmótico es la prolina.

La capacidad de ajuste osmótico encontrada en las variedades permite profundizar en otros estudios para su posible aplicación en el mejoramiento genético. El Ajuste osmótico es un carácter fisiológico asociado al estrés salino y se propuso como variable de selección para el mejoramiento genético en arroz, maíz y trigo. La respuesta al estrés salino mediante la disminución del potencial hídrico producto a la capacidad de ajuste osmótico es un carácter de tipo aditivo y de fácil herencia por lo que se puede introducir sin complicaciones en programas de mejoramiento para la obtención de materiales tolerantes a estrés salino e hídrico (Munns, 2008).

### Concentración de pigmentos fotosintéticos

El principal pigmento encontrado en la mayoría de los organismos fotosintéticos oxigenados es la clorofila y su contenido es uno de los principales factores que reflejan la tasa fotosintética (Mao et al., 2007). La variación en el contenido de pigmentos clorofílicos puede proporcionar información valiosa sobre el rendimiento fisiológico de las hojas e indica su capacidad fotosintética así como la presencia de estrés o enfermedades (Boquera y Morales, 2010).

En este estudio, la concentración de pigmentos fotosintéticos evaluados disminuyó significativamente en las hojas, de todas las variedades evaluadas cultivadas bajo condiciones de estrés (tabla 2), destacándose una mayor afectación en el contenido de clorofilas con relación a los carotenoides.

Las variedades con tendencia a la tolerancia, Vyta y Amalia, mostraron una menor disminución del contenido de caroteno con 0.06 y 0.05 respectivamente. Las variedades Claudia y Campbell-28 redujeron los valores en 0.15 y 0.18 respectivamente, al comparar las plantas cultivadas en el medio salino con el con-

trol. Los carotenoides también desempeñan un rol fundamental dentro del sistema antioxidante celular no enzimático (Ahmad et al., 2010) por ello las variedades de menor disminución ante el estrés salino respecto al control tienen más posibilidades de tolerar una oxidación inducida por la salinidad, lo que en ocasiones provoca una más rápida senescencia y abscisión y por consiguiente la muerte de los órganos foliares (Borbély, Poór y Tari, 2020). El incremento de los carotenoides en conjunto con la irradiancia ha sido atribuido a la síntesis de pigmentos protectores, como las xantofilas, diadinoxantinas y diatoxantinas las cuales juegan un rol fundamental en la prevención de daños al aparato fotosintético expuesto a elevadas irradiancias (Lavaud et al., 2002; Serpa y Calderón, 2006).

Estos resultados están en correspondencia con los reportes de Bacha et al. (2017), Noreen et al. (2009) y Kaya et al. (2009) que observaron una pérdida de contenido de clorofila en plantas sometidas a estrés salino. Las alteraciones inducidas por la sal en el contenido de clorofila de la hoja podrían deberse a la alteración de su biosíntesis o a la degradación acelerada del pigmento. El efecto se atribuye a un aumento foliar del nivel de Na<sup>+</sup> (Yang et al., 2011). Algunos estudios sugieren que la acumulación de clorofila bajo estrés salino podría usarse como un marcador bioquímico para la tolerancia a la sal en diferentes cultivos (Akramand y Ashraf, 2011).

Sin embargo, otros estudios sugieren que el contenido de clorofila no siempre está asociado con la tolerancia al estrés salino. Juan et al. (2005), en su estudio sobre cultivares de tomate bajo estrés salino, observaron una débil correlación entre los pigmentos fotosintéticos y el contenido de Na<sup>+</sup> de la hoja. De igual manera Bacha et al. (2017) reportan que las clorofilas no pueden considerarse como buenos indicadores para la tolerancia a la salinidad en el cultivo del tomate.

La menor afectación obtenida de los carotenoides con relación a la clorofila en la mayoría de las variedades pudiera relacionarse con el papel estabilizador de la membrana que tienen los carotenos, a su capacidad antioxidante y fundamentalmente a su combinación con otros compuestos de considerable peso molecular, además por su participación en el ciclo de las xantofilas (Taylor, 1996). De acuerdo con Zhang y Kirkhan (1996) los carotenoides pueden reaccionar con especies reactivas del oxígeno o con los estados excitados de la clorofila, apagándolos antes de que ocurra el daño. Raya-Pérez (1998) y Spyropoulos y Maurommatis (1998) señalan que la disminución de las clorofilas con respecto a los carotenoides pudiera ser un rasgo de tolerancia a la salinidad en tomate por lo que las variedades que mostraron tal comportamiento se pueden catalogar como tolerantes a este tipo de estrés.

A partir de los resultados de las variables fisiológicas y bioquímicas estudiadas, mediante el análisis de componentes

Variedades	Clorofila a (mg g m s)			Carotenos (mg g m s)		
	Control	Salino	Diferencia	Control	Salino	Diferencia
Amalia	3.41	3.23*	0.18	0.63	0.58*	0.05
Claudia	3.25	2.49**	0.76	0.48	0.33*	0.15
Vyta	2.53	2.38*	0.15	0.47	0.41*	0.06
Campbell-28	4.12	3.03**	1.09	0.54	0.36*	0.18

Tabla 2. Concentración de pigmentos fotosintéticos en plántulas de tomate cultivadas en condiciones de estrés salino.

\* y \*\* Representan diferencias significativas para el 5% y 1% el respectivamente por la prueba de t-Student.

Variables	Componentes principales	
	1	2
Potencial hídrico en raíces	0.812613	0.07387
Potencial hídrico foliar	0.837142	0.02858
Potencial osmótico	0.735001	0.094999
Contenido de prolina	0.723312	0.106688
Contenido de glicina betaina	0.111123	0.028877
Contenido de proteínas solubles totales	-0.134232	0.028009
Ajuste osmótico	0.820136	0.03997
Concentración de pigmentos fotosintéticos	0.52021	0.07999
Autovalores	6.301	2.604
Porcentaje de contribución	65.82	23.24
Contribución total	89.06	

Tabla 3. Variables y componentes principales para la diferenciación del germoplasma y su contribución. (Valores superiores al 0.7 presentaron una contribución significativa).

principales, se obtuvo que en los primeros dos componentes se acumuló el 89.06 de la variabilidad total existente en las variedades estudiadas y que las variables: potencial hídrico radicular y foliar, potencial osmótico, ajuste osmótico y el contenido de prolina en el primer componente fueron las variables de mayor contribución (tabla 3), coincidiendo tales variables con estudios de tolerancia a la salinidad realizados en otros cultivos como el arroz (Munns, 2008).

La contribución de estas variables corrobora la importancia de experimentarlas de manera detallada para la evaluación de tolerancia al estrés salino. Estos resultados coinciden con lo informado por varios autores, los cuales, a través de indicadores fisiológicos de relaciones hídricas y el desarrollo han obtenido elementos importantes para la identificación y evaluación de tolerancia a la salinidad (Udovenko, 1985; Paellob, 2010).

El carácter poligénico de la tolerancia al estrés salino ha sido el principal obstáculo para la mejora genética después del proceso de identificación y evaluación (Shannon, 1997) sin embargo, por métodos de mejora genética tradicional, a partir de la evaluación de tolerancia basada en indicadores fisiológicos y agronómicos, se han identificado variedades más productivas para condiciones de salinidad en cultivos como alfalfa, arroz, cebada, sorgo, tomate y trigo (Flowers y Yeo, 2000).

## CONCLUSIONES

El régimen hídrico de las plantas de todas las variedades se afectó por el efecto de la salinidad, produciéndose una significativa disminución de los potenciales hídrico y osmótico con mayor disminución en las variedades Vyta y Amalia.

El metabolismo de compuestos osmóticamente activos fue muy variable en el germoplasma estudiado siendo el contenido de prolina el de mayor contribución a la disminución del potencial hídrico y, en consecuencia, el potencial osmótico.

Los indicadores estudiados, tal como el potencial hídrico radicular y foliar, potencial osmótico, ajuste osmótico y el contenido de prolina pueden ser utilizados como criterios de tolerancia al estrés salino en programas de selección de genotipos tolerantes a la salinidad en etapas tempranas de de-

sarrollo del cultivo del tomate. Las variedades Vyta y Amalia presentaron la mejor respuesta en la condición de salinidad.

## BIBLIOGRAFÍA

- AHMAD, P.; JALEEL, C.A.; SALEM, M.A.; NABI, G.; SHARMA, S. 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. Critical Reviews in Biotechnology, 30(3), 161-175.
- AKRAM, N.A.; ASHRAF, M. 2011. Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. Agrochimica 55, 94-104.
- ALARCÓN, J.J.; SÁNCHEZ-BLANCO, M.J.; BOLARÍN, M.C.; TORRECILLAS, A. 1994. Growth and osmotic adjustment of two tomato cultivars during and after saline stress. Plant and Soil, vol. 166. 73-82 pp.
- ARCHIEU, R. 2005. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Plant Biol. 6, 441-445.
- ARGENTEL, L.; FONSECA, I.; GONZÁLEZ, L.M.; LÓPEZ, D.R. 2010. Contenidos de prolina, glicina betaina y proteínas solubles totales en 12 variedades cubanas de trigo en condiciones salinas. Cultivos Tropicales, 31(4), 00-00.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166, 3-16.
- AVILA-AMADOR, C.Á.; ALGENTEL-MARTÍNEZ, L.; PEÑUELAS-RUBIO, O.; AGUILERA, J.G.; REYNA, I.F. 2022. Respuesta del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la aplicación de QuitoMax® en condiciones de salinidad. Research, Society and Development, 11(12). Doi e10111233870-e10111233870
- BACHA, H.; TEKAYA, M.; DRINE, S.; GUASMI, F.; TOUIL, L.; ENNEBA, E.; TRIKI, T.; CHEOUR, F.; FERCHICHI, A. 2017. Impact of salt stress on morphophysiological and biochemical parameters of *Solanum lycopersicum* cv. Mictom leaves. South African Journal of Botany 108. 364-369.
- BATES, L.; WALDREN, R.; TEARE, I. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant and Soil, 39, 205-207.
- BOQUERA, M.L.E.; MORALES, P. 2010. Leaf chlorophyll content estimation in the monarch butterfly biosphere reserve. Revista Fitotecnia Mexicana 33, 175-181.
- BORBÉLY, P.; POÓR, P.; TARI, I. 2020. Changes in physiological and photosynthetic parameters in tomato of different ethylene status under salt stress: Effects of exogenous 1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid treatment and the inhibition of ethylene signalling. Plant Physiology and Biochemistry, 156, 345-356.
- CARBAJAL-VÁZQUEZ, V.H.; GÓMEZ-MERINO, F.C.; ALCÁNTAR-GONZÁLEZ, E.G.; SÁNCHEZ-GARCÍA, P.; TREJO-TÉLLEZ, L.I. 2022. Titanium Increases the Antioxidant Activity and Macronutrient Concentration in Tomato Seedlings Exposed to Salinity in Hydroponics. Plants, 11(8), 1036.

- CHINNUSAMY, V.; JAGENDORF, A.; ZHU, J.-K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. 45: 437-448.
- DASGAN, H.Y.; KUSVURAN, S.; ABAK, K.; LEPORT, L.; LARHER, F.; BOUCHE-REAU, A. 2009. The relationship between citrulline accumulation and salt tolerance during the vegetative growth of melon (*Cucumis melo* L.). *Plant, Soil and Environment*, 55: 51-57.
- DE LA PENA, R.; HUGHES, J. 2007. Improving vegetable productivity in a variable and changing climate. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 4, 1-22.
- DEBOUBA, M.; GOUIA, H.; SUZUKI, A.; GHORBEL, M.H. 2006. NaCl stress effects on enzymes involved in nitrogen assimilation pathway in tomato 'Lycopersicon esculentum' seedlings. *Journal of Plant Physiology* 163, 1247-1258.
- DOGAN, M.; TIPIRDAMAZ, R.; DEMIR, Y. 2010. Salt resistance of tomato species grown in sand culture. *Plant Soil Environ.* 56 (11): 499-507.
- EZNIN, V.; DE LA PENA, R.; AHANCHEDE, A. 2010. Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages. *Brazil. J. plant physiol.* 22 (1):131-142.
- FLOWERS, T.J.; YEO, A.R. 2000. QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *Journal of Experimental Botany*, 51: 99-106.
- FOOLAD, M.R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int J Plant Genomics*, Article ID 64358. 52 p.
- GARCÍA, N.C.; TREJO, R.; PEDROZA, A.; GÓMEZ, F.; ESPARZA, J.H.; SEPÚLVEDA, M. 2005. Bases moleculares de la resistencia a sequía en plantas. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 4(2), 65-74.
- GRIEVE, C.M.; GRATTAN, S.R. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds, *Plant Soil*, 70: 303-307.
- Hernández-Herrera, R.M.; Sánchez-Hernández, C.V.; Palmeros-Suárez, P.A.; Ocampo-Alvarez, H.; Santacruz-Ruvalcaba, F.; Meza-Canales, I.D.; Beccerril-Espinoza, A. 2022. Seaweed Extract Improves Growth and Productivity of Tomato Plants under Salinity Stress. *Agronomy*, 12(10), 2495.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, A.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular, 347. 32 p.
- HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S. 2006. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids and Surf. BiotInterfaces* 47 (2): 132-139.
- JADHAV, S.S.; KUMARI, R.; MAHTHA, S.K.; PURAMA, R.K.; LAMBA, V.; YADAV, G. 2022. Metabolomics and Molecular Physiology Perspective for Drought and Salinity Stress Tolerance. Response of Field Crops to Abiotic Stress. CRC Press. 153-166 pp.
- JUAN, M.; RIVERO, R.M.; ROMERO, L.; RUIZ, J.M. 2005. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 54, 193-201.
- KARAN, R.; SUBUDHI, P.K. 2012. A stress inducible SUMO conjugating enzyme gene of a grass halophyte *Spartina alterniflora* (SaSce9) enhances salinity and drought stress tolerance in Arabidopsis. *BMC Plant Biology* 12:187.
- KARIMI, G.; GHORBANLI, M.; HEIDARI, H.; KHAVARI, NEJAD, R.A.; ASSAREH, M.H. 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. *Biología Plantarum* 49 (2): 301-304.
- KATERJI, N.; VAN HOORN, J.W.; HAMDY, A.; MASTRORILLI, M.; MOUKARZEI, E. 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*. Volume 34, Issue 1. 57-69 pp.
- KAYA, C.; ASHRAF, M.; SONMEZ, O.; AYDEMIR, S.; TUNA, A.T.; CULLU, M.A. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Scientia Horticulturae* 121, 1-6.
- LAVAUD, J.; ROUSSEAU, B.; Van GORKOM, H.J.; ETIENNE, A. 2002. Influence of the Diadinoxanthin Pool Size on Photoprotection in the Marine Planktonic Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant Physiol.* 129(3):1398-1406.
- LEIDIS, E. 2007. Control of abscisic synthesis, protein synthesis under osmotic regulation. *J. Exp. Bot.* 51, 1563-1574.
- LICHTENTHALER, H.K.; WELLBURN, A.R. 1984. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 603: 591-592.
- MAGGIO, A.; DE PASCALE, S.; ANGRILINO, G.; RUGGIERO, C.; BARBIERI, G. 2004. Physiological response of tomato to saline irrigation in long-term salinized soils. *Eur. J. Agron.* 21:149-159.
- MANAA, A.; AHMED, A.; VALOT, B.; BOUCHET, J.; ASCHI-SMITI, S.; CAUSESE, M.; FAUROBERT, M. 2011. Salt and genotype impact on plant physiology and root proteome variations in tomato. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 62, N.º 8. 2797-2813 pp.
- MAO, F.; LEUNG, W.Y.; XIN, X. 2007. Characterization of EvaGreen and the implication of its physicochemical properties for qPCR applications. *BMC Biotechnology* 7, 76.
- MORALES, D.; RODRÍGUEZ, P.; SÁNCHEZ-BLANCO, M.; TORRESILLAS, A. 2002. Respuesta a la salinidad de tres variedades de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales*, vol. 23, N.º 3.71-76 pp.
- MORANT-AVICE, A.; PRADIERAND, E.; HOUCHI, R. 1998. Osmotic adjustment in triticales grown in presence of NaCl. *Biología Plantarum*, vol. 41, N.º 2. 227-234 pp.
- MUNNS, R. 2008. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25, 239-250.
- MUNNS, R.; TESTER, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann Rev Plant Biol* 59:651-681.
- NOREEN, S.; ASHRAF, M.; HUSSAIN, M.; JAMIL, A. 2009. Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany* 41, 473-479.
- PAELLOB, F. 2010. Root length, ion uptake and its relationship with salinity tolerant in wheat, rice and preiff. *Plant Growth Regulation*, 1:1. 46-54.
- PARVAIZ, A.; SATYAWATI, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant, Soil and Environment*, 54: 89-99.
- PATEL, A.D.; PANDEY, A.N. 2008. Growth, water status and nutrient accumulation of seedlings of *Holoptelea integrifolia* (Roxb.) Planch in response to soil salinity. *Plant, Soil and Environment*, 54: 367-373.
- PEREZ-ALFOCEA, F.; ESTAN, M.T.; SANTA-CRUZ, A.; BOLARIN, M.C. 1993. Effects of salinity on nitrate, total nitrogen, soluble protein and free amino acid levels in tomato plants. *Journal-of-Horticultural-Science*. 68 (6): 1021-1027.
- PRAKASH, L.; PRATHAPASENAN, G. 1988. Putrescine reduces NaCl-induced inhibition of germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Aust. J. Plant. Physiol.*, 15:761-767.
- RAYA-PÉREZ, J.C. 1998. Resistencia a sequía, un avistamiento. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 4(2): 267-272.
- REINA-SÁNCHEZ, A.; ROMERO-ARANDA, R.; CUARTERO, J. 2005. Plant water uptake and water use efficiency of greenhouse tomato cultivars irrigated with saline water. *Agricultural Water Management*. 78. (1-2):54-66.
- ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. 2001. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*. 160: 265-272.
- SAIRAM, R.K.; TYAGI, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr Sci India* 86(3):407-421.
- SERPA, R.; CALDERÓN, A. 2005. Efecto del estrés por salinidad en cuatro cepas de *Dunaliella salina* Teod. en el Perú. *Ecol. Aplic. 4(1-2):127-133.*
- SHANNON, M.C. 1997. Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agriculture*, 60. 75-120 pp.
- SINGH, G.; RAI, I.D.; RAWAT, G.S. 2012. The mortality of banj oak (*Quercus leucotrichophora* A. Camus) trees in Mussoorie, Uttarakhand: is it an alarming call for rapid degradation?. *Current Sci.*, 102 (12): 1622-1623.
- SPYROPOULUS, C.G.; MAUROMMATIC, M. 1998. Effect of water stress on pigment formation in *Quercus* species. *J. Experimental Botany*, 29: 273-477.
- STEUDLE, E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *J. Exp. Bot.* 51(350), 1531-1542.
- TAYLOR, C.B. 1996. Control of cyclic carotenoid biosynthesis: no lutein, no problem. *Plant Cell*, 8: 1447-1450.
- UDOVENKO, G.V. 1985. Vías para la elevación de la productividad de las plantas cultivadas en suelos salinizados. *Ciencias de la Agricultura*, 25:77-84.
- WYN, J.; GORHAM, J. 1983. Physiological effects of salinity: scope for genetic improvement. Improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses. Proceeding of the International Symposium, Cordoba, Spain, 177-201.
- YANG, C.Z.; YANIGER, S.I.; JORDAN, V.C.; KLEIN, D.J.; BITTNER, G.D. 2011. Most plastic products release estrogenic chemicals: a potential health problem that can be solved. *Environmental Health Perspectives* 119, 989-996.
- ZHANG, H.X.; BLUMWAL, E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnology*, 19: 765-768.
- ZHANG, J.; KIRKHAN, M.B. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytology*, 132: 361-373.

# Avances sobre el manejo de arvenses en la huerta agroecológica

April 26, 2023

Filippi, M.A.<sup>1</sup>; Godoy, I.<sup>2</sup>; Rossi, A.L.<sup>3</sup>; Marcozzi, P.<sup>4</sup>

## RESUMEN

En la agricultura convencional el barbecho químico es una práctica eficiente para contrarrestar el efecto de arvenses en el cultivo, aunque con riesgos de impacto ambiental. La agroecología propone prácticas de manejo amigables con el ambiente para reducir su competencia. La técnica del acolchado o “mulch” ha demostrado ser eficiente y constituye una opción de manejo agroecológico frente al uso de herbicidas. Este trabajo propuso evaluar el efecto de una cubierta de polietileno previo al cultivo (barbecho) y durante el cultivo a manera de coberturas (mulch de paja y polietileno) sobre la biomasa de arvenses en un sistema de huerta agroecológica. Las arvenses presentes fueron identificadas como anuales diferenciándolas en gramíneas y latifoliadas; y las especies perennes encontradas fueron cebollín (*Cyperus rotundus L.*), gramón (*Cynodon dactylon L.*) y lágrima (*Nothoscordum gracile*). Se implantaron dos asociaciones de cultivo: acelga-puerro y habas-lechuga en un diseño de parcelas distribuidas al azar (Test de Tukey 0,05%). Se evaluó el efecto sobre las arvenses de las dos asociaciones combinado el tratamiento “barbecho” con polietileno y las coberturas durante el cultivo. En las condiciones del ensayo las asociaciones de cultivos no influyeron en el crecimiento de las arvenses ( $p=0,6$ ). No se detectó interacción entre los ambientes precultivo y los tratamientos de cobertura en la biomasa de arvenses anuales: gramíneas y latifoliadas ( $p=0,6$ ). Las coberturas de suelo durante el cultivo, paja y polietileno negro, fueron igualmente efectivas para disminuir la biomasa de arvenses anuales, independientemente de su tipo ( $p=0,003$ ). La combinación de la práctica de barbecho previo con polietileno y mulch de paja durante el cultivo disminuyó la biomasa de gramón ( $p=0,01$ ) y cebollín ( $p=0,02$ ) aunque no tuvieron efecto sobre el crecimiento de lágrima ( $p=0,5$ ).

**Palabras clave:** coberturas, barbecho, arvenses, agroecología.

## ABSTRACT

*In conventional agriculture, chemical fallow is an efficient practice to counteract the effect of weeds on the crop, although with risks of environmental impact. Agroecology proposes environmentally friendly management practices to reduce competition. The mulch technique has proven to be efficient and constitutes an agroecological management option against the use of herbicides. This work proposed to evaluate the effect of a polyethylene cover prior to cultivation (“fallow”) and during cultivation as a cover (straw and polyethylene mulch) on weed biomass in an agroecological garden system. The weeds present were identified as annual: differentiating them into grasses and broadleaved and the perennial species found were: chives (*Cyperus rotundus L.*), gramón (*Cynodon dactylon L.*) and teardrop (*Nothoscordum gracile*). Two cultivation associations were implanted: (chard-leek) and (broad beans-lettuce) in a randomly distributed plot design (Tukey's test < 0.05%). covers during cultivation. Under the test conditions,*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino, Agencia de Extensión Rural (AER) Chivilcoy, Carlos Ortiz 46 (6620) Chivilcoy, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: filippi.monica@inta.gob.ar

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino, Ruta 32 km 4,5 (2700) Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Norte (CRBAN) Ruta 32, km 4,5 (2700) Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro, Agencia de Extensión Rural (AER) San Pedro, Bartolomé Mitre 299 (2930) San Pedro, Buenos Aires, Argentina.

*crop associations did not influence weed growth ( $p=0.6$ ). No interaction was detected between the pre-cultivation environments and cover treatments in the biomass of annual weeds: grasses and broadleaves ( $p=0.6$ ). Ground cover during cultivation: straw and black polyethylene, were equally effective in reducing the biomass of annual weeds, regardless of their type ( $p=0.003$ ). The combination of prior fallow practice with polyethylene and straw mulch during cultivation crop, decreased the biomass of grass ( $p=0.01$ ) and chives ( $p=0.02$ ) although they had no effect on tear growth ( $p=0.5$ ).*

**Keywords:** cover, fallow, weeds, agroecology.

## INTRODUCCIÓN

En la agricultura convencional el barbecho químico es una práctica eficiente para contrarrestar el efecto de las arvenses (Metzler y Ahumada, 2010) aunque con riesgos de impacto ambiental. En la búsqueda de sistemas alimentarios más equitativos y saludables que respeten los recursos naturales, la agroecología propone nuevos enfoques para su manejo. Existen varias prácticas de manejo amigables con el ambiente que reducen el impacto negativo de las arvenses. Un ejemplo es el uso de coberturas de suelo conocida como técnica del acondicionado o “mulch” que ha demostrado ser eficiente y constituye una opción de manejo agroecológico frente al uso de herbicidas (Anzalone et al., 2011). Su empleo produce cambios físicos en el suelo que afectan la germinación de las semillas de malezas. Los principales factores alterados en el suelo son la humedad, el contenido de  $O_2$ , las semillas de arvenses, incluso ciertas especies de cultivos podrían liberar estas sustancias inhibidoras temperatura y la incidencia de los rayos solares. Sin embargo, también pueden intervenir cambios químicos tales como la liberación de sustancias alelopáticas que afectan la germinación de estas para contrarrestar la competencia de las arvenses (Scianca et al., 2008). Por un lado, la naturaleza del mulch también puede afectar al tipo de la población de arvenses, dependiendo de su composición. Por ejemplo, el uso de mantillos de residuos de especies de hoja ancha afecta a la población de arvenses gramíneas, mientras que las de hoja ancha disminuyen bajo la cobertura de mantillos de gramíneas (Almeida, 1991). Si bien estas prácticas afectan la germinación de arvenses, muchas especies perennes pueden requerir de la integración de varios métodos de control para lograr neutralizar su competencia (Mortimer, 1994). Por otro lado, en el cinturón maicero del norte de Buenos Aires se encuentran disponibles grandes cantidades de deshechos de silobolsa (Seoane Alvite, 2021), constituido por polietileno de 650 micrones que podría ser reutilizado y aprovechado en el manejo de arvenses en sistemas hortícolas intensivos. Contribuir a validar la reutilización de recursos disponibles locales es una alternativa para el diseño de agroecosistemas sustentables locales (Sarandón y Flores, 2014). En este sentido, hay pocos antecedentes respecto al manejo agroecológico de arvenses en sistemas hortícolas combinando coberturas estáticas durante el período de descanso (barbecho) con distintas coberturas durante el cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos asociaciones de cultivo, el tratamiento previo barbecho con polietileno y dos coberturas de suelo: mulch de paja y polietileno sobre la biomasa de arvenses desarrolladas en el cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó durante la temporada 2016-2017 sobre un suelo Arguidol típico Serie Arroyo Dulce con alta infestación de arvenses en la huerta experimental de la EEA INTA Pergamino dependiente del Centro Regional Buenos Aires Norte ( $33^{\circ} 56' 28,02'' S$   $60^{\circ} 33' 32,41'' O$ ). Al inicio de la primavera de 2016 se dividió el terreno en dos parcelas de  $32\text{ m} \times 7\text{ m}$  para diferenciar los dos tratamientos para evaluar. En el ambiente A se instaló durante los meses de setiembre 2016 a febrero 2017 una cubierta de polietileno negro (BPEN). En el ambiente B, durante el mismo período de 6 meses, se mantuvo el suelo cultivado sin cobertura con una asociación de cultivos compuesta por tomate, albahaca hasta abril de 2017. Se practicaron dos desmalezados manuales en el cultivo.

Se laborearon ambas parcelas con pasada de rastra de disco liviana y se terminó de desterronar con herramientas de mano (laya y azada). Se dividió cada tratamiento en 9 parcelas de  $3,4\text{ m}^2$  cada una ( $0,85\text{ m}$  de ancho por  $4\text{ m}$  de largo). En estas se realizaron lomos sobre cada uno de los cuales se trasplantaron dos hileras de plantines con dos asociaciones hortalizadas de otoño-invernales: a) acelga-puerro y b) haba-lechuga. Los plantines se trasplantaron al estado de 6 hojas verdaderas el 5 de abril de 2017 en hileras distanciadas a  $0,40\text{ m}$ . Sobre las parcelas se aplicaron tres tratamientos de cobertura 1) testigo sin cobertura, 2) cobertura de polietileno negro (PEN) y 3) cobertura densa de 8 cm aproximadamente de espesor de mulch de paja de gramíneas con dos repeticiones en cada ambiente. El ensayo se mantuvo sin carpir durante todo el ciclo de los cultivos. La humedad del suelo se mantuvo a capacidad de campo con riego por goteo. Las lluvias totalizaron 782 mm durante el período de setiembre de 2016 a febrero de 2017 y 1332 mm desde el inicio del barbecho hasta la cosecha.

Se evaluó la biomasa acumulada de las arvenses presentes a fines del invierno como promedio de tres repeticiones por parcela en la superficie de un marco de alambre de  $0,50 \times 0,50\text{ m}$  centrado en las dos hileras de cultivo de cada parcela. Las arvenses anuales se clasificaron en dos grupos: gramíneas y latifoliadas. Solo se diferenciaron por especie las perennes encontradas: cebollín (*Cyperus rotundus L.*), gramón (*Cynodon dactylon L.*) y lágrima (*Nothoscordum gracile (Ait.) Stearn. = Nothoscordum inodorum (Soland. ex Ait.)*). Las arvenses colectadas y clasificadas por cada categoría y repetición se secaron en estufa de aire forzado a  $60^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante.

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa Infostat. Las medias de los tratamientos fueron analizadas por el test de Tukey con un nivel de significancia del 0,05%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Scianca et al. (2008) mencionan efectos alelopáticos del cultivo de leguminosas sobre el crecimiento de arvenses. En este ensayo las asociaciones de cultivo acelga-puerro y haba-lechuga no tuvieron diferencia disruptiva sobre las arvenses estudiadas ( $p=0,6$ ). Las arvenses anuales, tanto gramíneas como latifoliadas, mostraron similar respuesta a los tratamientos (figura 1) y no se detectó interacción significativa entre los tratamientos previos al cultivo ( $p=0,6$ ). Los mulch practicados en el cultivo, tanto de paja como polietileno negro fueron igualmente efectivos para el control de arvenses anuales, independientemente del tipo ( $p=0,003$ ). Almeida (1991) señala a las coberturas de paja como más efectivas para controlar arvenses latifoliadas. A diferencia de lo reportado por este autor, en este ensayo, la naturaleza de la cobertura no determinó la población de arvenses, la cubierta de paja logró reducir la biomasa de ambos grupos de arvenses anuales.

En cuanto a las arvenses perennes, la combinación de la práctica de barbecho previo con polietileno negro (BPEN) con las coberturas en el cultivo tuvieron control sobre gramón ( $p=0,01$ ) y cebollín ( $p=0,02$ ). Sin embargo, esa combinación no tuvo efecto sobre el crecimiento de lágrima ( $p=0,5$ ). No hubo efecto diferencial de las asociaciones de cultivo en estudio (acelga-puerro y haba-lechuga) sobre la población de arvenses perennes ( $p=0,6$ ).

Los tratamientos de coberturas durante el cultivo tuvieron distinto efecto según la especie de arvense perenne considerada. En el caso de gramón, la combinación de BPEN con las coberturas logró el mayor efecto supresor ( $p=0,01$ ) y su efecto perduró, incluso, en el tratamiento con suelo sin cobertura (1:A figura 2). Por su parte, el mulch de paja no fue efectivo para controlarla cuando no tuvo el tratamiento previo de BPEN. En cambio, la cubierta de polietileno negro fue efectiva para

disminuir la infestación de gramón, independientemente del tratamiento previo al cultivo.

La combinación del tratamiento previo BPEN con las coberturas tuvo un efecto sinérgico reduciendo marcadamente la biomasa de cebollín ( $p=0,02$ , figura 3). En las condiciones del ensayo, el tratamiento BPEN fue suficiente para controlarla, incluso en el suelo desnudo. En el ambiente B sin barbecho y cobertura previa los dos tipos de mulch (con plástico negro o con paja) redujeron aproximadamente el 60% de la biomasa de maleza respecto al suelo desnudo. La cobertura de polietileno negro durante el cultivo redujo significativamente la presencia del cebollín en ambos ambientes.

En el caso de lágrima no se encontró efecto significativo del tratamiento previo BPEN ( $p=0,6$ ; figura 4) ni tampoco fue significativa la interacción con las coberturas ( $p=0,5$ ). Sin embargo, en las condiciones del ensayo, la cubierta de polietileno negro logró reducir en ambos ambientes la infestación de esta maleza en forma significativa ( $p=0,0027$ ). En cambio, la cobertura de paja no fue efectiva para en el control de lágrima, independientemente del tratamiento previo aplicado.

## CONCLUSIONES

En las condiciones del ensayo, en todos los casos, las asociaciones de hortalizas de otoño invierno acelga-puerro y haba-lechuga cultivadas no interactuaron en el crecimiento de las poblaciones de arvenses estudiadas.

El estudio de las arvenses anuales arrojó que el uso de coberturas (PEN o paja) durante el cultivo fue efectivo para disminuir su infestación, indistintamente del tratamiento barbecho BPEN previo al cultivo.

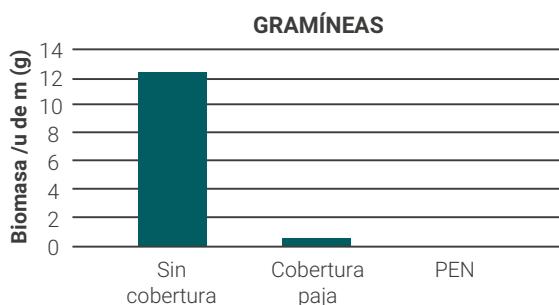
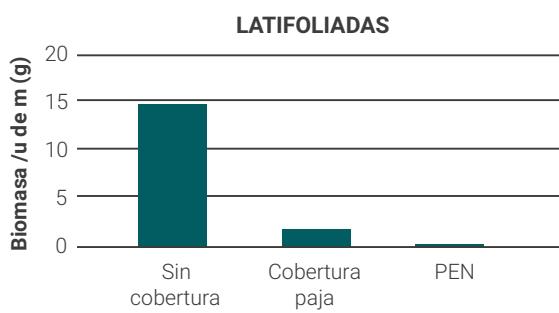


Figura 1. Biomasa aérea promedio por unidad de muestreo en gramos de gramíneas y latifoliadas.

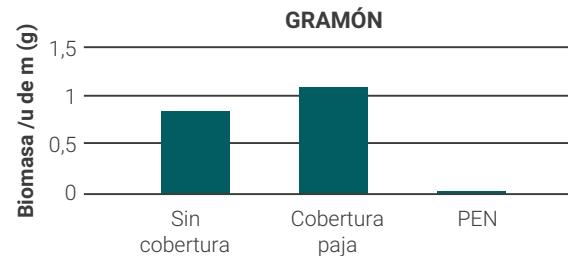


Figura 2. Biomasa aérea promedio por unidad de muestreo en gramos de gramón.

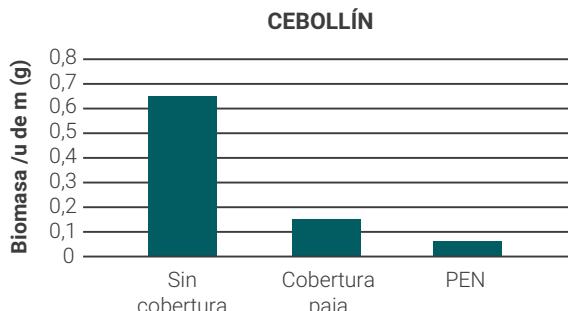
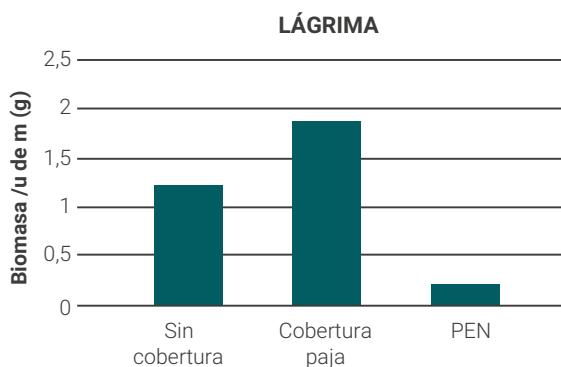


Figura 3. Biomasa aérea promedio por unidad de muestreo en gramos de cebollín.



**Figura 4.** Biomasa aérea promedio por unidad de muestreo en gramos de lágrima.

La realización de un barbecho con polietileno negro (BPEN) durante el período primavero-estival previo al cultivo otoño-invernal resultó efectivo para el control de las arvenses perennes tales como gramón y cebollín, indistintamente del uso o no de coberturas durante el cultivo. En cambio, en el caso de lágrima, el uso de dicha práctica no afectó su biomasa y solo el uso de cobertura de polietileno negro en el cultivo fue efectivo para evitar su competencia.

Por su parte, el uso de coberturas (PEN o paja) en el cultivo resultó efectivo para reducir la infestación de cebollín (>60% de reducción) sin tratamiento previo de BPEN. En el caso de gramón cuando no hubo tratamiento previo, la cobertura de paja no fue efectiva para su manejo, solo el PEN lo fue para gramón en esa condición.

Los resultados de este ensayo sugieren que sería apropiado para el manejo de gramón y cebollín realizar el tratamiento de BPEN combinado con la cubierta de polietileno negro en el cultivo para lograr mayores efectos inhibidores del crecimiento de la biomasa de esas arvenses. Será necesario confirmar estos hallazgos con más experimentación que contemple además, el ajuste tanto de la duración como de la época de permanencia de la cubierta BPEN y su combinación con los distintos tratamientos de coberturas de cultivo.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALMEIDA, F.S. 1991. Controle de plantas daninhas em plantio direto. IA-PAR Circular 67, Londrina, Brasil.
- ANZALONE, A.; RAMÍREZ-GUERRERO, H.; LUGO, J.; CIRUJEDA, A.; ZARAGOZA, C.; AIBAR, J. 2011. Evaluación de cubiertas de suelo para el control de malezas en la producción integrada de tomate. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 28: 71-90.
- METZLER, M.J.; AHUMADA, M. 2010. Estrategias de barbechos para el control de las malezas otoño invierno-primaveral mediante el uso de herbicidas residuales. (Disponible:[https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_las\\_malezas\\_de\\_ciclo\\_otoo-invierno-primaveral.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_las_malezas_de_ciclo_otoo-invierno-primaveral.pdf) verificado: febrero de 2021 ).
- MORTIMER, A.M. 1994. The Classification and Ecology of Weeds. Weed Management for Developing Countries. En: LABRADA, R.; CASELEY, J.C.; PARKER, C. (ed.). Plant Production and Protection Paper N.o 120, FAO, Roma. 7-26 pp.
- SARANDÓN, S.J.; FLORES, C.C. 2014. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. Universidad Nacional de La Plata. La Plata,
- SCIANCA, C.; ÁLVAREZ, C.; BARRACO, M.; QUIROGA, A.; PÉREZ, M. B. 2008. Memoria técnica 2007–2008.
- SEOANE ALVITE, G. A. 2021. Ciclo Rural Recolección de Silo Bolsas en desuso. Tesis de maestría. Universidad San Andres. Argentina. <https://repositorio.udesa.edu.ar/jspui/bitstream/10908/18554/1/%5BP%5D%20%5BW%5D%20MBA%20Seoane%20Alvite%2C%20Gustavo%20Andr%C3%A9s.pdf>

**Effects of protein supplementation on dairy goats naturally infected with gastrointestinal nematodes in Valle de Lerma, province of Salta, Argentina**

Olmos, L.H.; Martínez, G.M.; Alfaro, R.J.; Alfaro, E.J.; Díaz, J.P.; Colque-Caro, L.A.; Moreno, R.D.; Suarez, V.H.

**Experimental poisoning with *Pascalia glauca* in goats**

Medina, D.M.; Colque-Caro, L.A.; Micheloud, J.F.

**Forage production and root perennial biomass in lucerne under two cutting heights**

Blain, G.; Assuero, S.G.; Berone, G.D.

**Pérdidas de nitrógeno por volatilización y eficiencia de uso en maíz desde urea aplicada en diferentes momentos**

Barbieri, P.A.; Echeverría, H.E.; Saínz Rozas, H.R.

**Efecto del estrés salino en el régimen hídrico, concentración de compuestos osmóticamente activos y pigmentos fotosintéticos en cultivares de tomate**

Avila, C.; Argentel-Martínez, L.; Campos-Posada, R.; Campos-Posada, G.; Eichler-Löbermann, B.; Lopez, R.

**Avances sobre el manejo de arvenses en la huerta agroecológica**

Filippi, M.A.; Godoy, I.; Rossi, A.L.; Marcozzi, P.



Instituto Nacional de  
Tecnología Agropecuaria

Secretaría de Agricultura,  
Ganadería y Pesca



Ministerio de Economía  
Argentina