INTENSIFICACIÓN SOSTENIBLE DE SISTEMAS GANADEROS CON LEGUMINOSAS: PLATAFORMA DE COOPERACIÓN LATINOAMERICANA Y DEL CARIBE

Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno, gases de efecto invernadero, stock de carbono del suelo e impacto de la incorporación de leguminosas en la producción animal

Alejandro Oscar Costantini
Mercedes Busto
Franco Alexis González
(compiladores)

2020

N°001

PROCISUR

FONTAGRO

Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un programa de cooperación administrado por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), pero con su propia membresía, estructura de gobernabilidad y activos. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo, FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido compilado por Alejandro Costantini (INTA, Argentina), Mercedes Busto y Franco González (Facultad de Agronomía, UBA), siendo sus capítulos elaborados por Fernando Lattanzi (INIA, Uruguay), Bruno Alves (Embrapa, Brasil), Francisco Salazar, Marta Alfaro, Sara Hube, Camila Muñoz y Emilio Ungerfeld (INIA, Chile), Adriana Rodríguez y Elizabeth Jacobo (Facultad Agronomía. UBA, Argentina).

Copyright © 2020 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:
FONTAGRO
Banco Interamericano de Desarrollo
1300 New York Avenue, NW, Stop W0908
Washington, D.C., 20577

Correo electrónico: fontagro@iadb.org

www.fontagro.org

Introducción

El presente material ha sido generado como un insumo fundamental para el desarrollo del Proyecto “Intensificación sostenible de sistemas ganaderos con leguminosas: plataforma de cooperación Latinoamericana y del Caribe” financiado por Fontagro y Procisur, y que reúne la participación de 8 países de la mencionada región, a saber: Argentina, Brasil, Chile, Uruguay, Paraguay, Ecuador, Nicaragua y República Dominicana.

Dada la diversidad de metodologías propuestas en la bibliografía internacional y su diferente grado de adopción según usos, costumbres y disponibilidad / accesibilidad de materiales, es que los integrantes del grupo de investigadores que componen este proyecto convinieron en la necesidad de unificar las metodologías a ser utilizadas en una guía que sirviera de orientación para los grupos y permitiera la comparación de resultados obtenidos en diferentes regiones.

Esta diversidad se presenta también en las situaciones de estudio, que pueden ir desde áreas de producción extensiva hasta superficies experimentales bien menores en lo que hace a superficie, por lo que se ha convenido también que se presenten diseños estadísticos básicos que puedan ser utilizados en una gama amplia de situaciones. Ello es también fundamental no sólo a la hora de la comparación de resultados entre países, sino también para su rigurosidad científica y confiabilidad de la información obtenida.

Cada capítulo de esta guía ha sido redactado por el grupo responsable de cada actividad del denominado Componente 2 del Proyecto ATN/RF-16926-RG. FONTAGRO - PROCISUR, cuyo liderazgo corresponde a Uruguay en el tema Fijación Biológica de Nitrógeno, a Brasil en Secuestro de carbono, a Chile en Emisiones de gases de efecto invernadero y a la Argentina en Impacto sobre la productividad animal.

Los investigadores que conformamos este proyecto creemos que este material no es solamente un insumo importante para nuestras tareas específicas, sino también para otros grupos de investigación que deseen iniciarse en la temática. El material que se presenta es sintético, concreto en cuanto a conceptos, con bibliografía actualizada y con una buena cantidad de imágenes ilustrativas.

La Coordinación de este trabajo ha estado a cargo del Dr. Alejandro Costantini de INTA Argentina, con la colaboración del grupo de investigación del Instituto de Suelos de esa Institución y de los Lic. Mercedes Busto y Franco González, docentes de la Facultad de Agronomía de la UBA.

Dr. Alejandro Costantini
Líder proyecto. INTA. Argentina

Fijación biológica de nitrógeno (FBN)

Instituciones Responsables: INIA-Uruguay, INIAP-Ecuador
Autor: Dr. Fernando A. Lattanzi (INIA – Uruguay)

La fijación bilógica de nitrógeno atmosférico (FBN) por parte de especies leguminosas se determina por medio del método de abundancia natural de los isótopos de nitrógeno (^{15}N y ^{14}N) estimándose la relación entre ambos ($\delta^{15}N$), según la metodología descrita por Högberg (1997).

Tipo de muestreo:

Muestreo extensivo y de alta intensidad espacial de pasturas puras de leguminosa y mezcla leguminosas/gramíneas de las regiones ganaderas del país (Fotografías 1 y 2). Se realiza en dos años consecutivos durante la estación de mayor crecimiento de la leguminosa (ej. primavera en climas templados y subtropicales húmedos, verano en climas tropicales con estación seca).

Fotografías 1 y 2: Pasturas de leguminosas y mixtas

Forma de toma de las muestras

Se muestrea una alta cantidad de sitios dentro de las regiones principalmente ganaderas del país o región, de manera de obtener una buena representatividad del sitio en cuestión, incluyendo pasturas de diferentes edades, con diferentes especies leguminosas, y sobre diferentes tipos de suelos. Se prevé un mínimo de 50 sitios por región.

En cada sitio se toman dos muestras apareadas de la pastura, una con presencia y otra con ausencia de leguminosas, a una distancia menor a los 5 m, buscando reducir eventuales variaciones entre las muestras apareadas asociadas al suelo y al manejo (fertilización, pastoreo, cortes, cierres, etc.).

Se relevan variables de manejo a partir de la información brindada por cada productor (edad,

fertilización, especies sembradas, tipo de suelo).

Mediciones a realizar:

En cada sitio se cuantifica:

(i) biomasa verde (kg MS ha^{-1})

(ii) concentración de nitrógeno total de la biomasa verde (%N = g N g MS^{-1} x 100)

(iii) estimación del índice de nutrición nitrogenada (INN) de esas pasturas y de sus componentes leguminosa y no leguminosa usando la curva de referencia de especies C3 o C4, según corresponda, siguiendo la metodología descripta por Gastal and Lemaire (2002)

$$INN = \%\ N_{muestra} / (4.8 * MS^{-0.32})$$

(iv) relación de isótopos estables de nitrógeno $^{15}N/^{14}N$ ($\delta^{15}N$)

(v) estimación de la proporción del nitrógeno derivado de fijación biológica (N_{fix}) (Högberg 1997):

$$\%N_{fix} = 100 * (\delta^{15}N_{especie\ no\ fijadora} - \delta^{15}N_{Leguminosa})/\delta^{15}N_{especie\ no\ fijadora} - \beta$$

(vi) estimación de la eficiencia de FBN en kg N fijado por tt de materia seca de leguminosa:

$$N_{fix} / tt\ MS\ leguminosa = \%N_{fix} * \%\ N\ de\ la\ leguminosa$$

donde B es el $\delta^{15}N$ de una leguminosa solo con acceso a nitrógeno atmosférico y $\delta^{15}N_{especie\ no\ fijadora}$ es el $\delta^{15}N$ de especies gramíneas presente en la pastura. Estas tres variables se miden en muestras cosechadas en varios marcos de 34 x 50 cm en los que se separan las leguminosas-objetivo del resto de las especies (usualmente, gramíneas). El valor $\delta^{15}N_{especie\ no\ fijadora}$ se mide en material de especies gramíneas presentes en la pastura. El valor B se determina según Unkovich et al. (2008).

(vii) Evolución temporal del NDVI de la pastura muestreada usando el *dataset* de la plataforma satelital SENTINEL de la *European Space Agency* accedido a través de la herramienta Google Engine.

(viii) Asociado a cada muestreo de pastura se obtienen dos muestras de suelo (0-3 cm y 0-15 cm) en las que se determinan:

a. pH

b. fósforo disponible (ppm)
c. potasio intercambiable ($cmol_c\ kg^{-1}$ suelo)
d. carbono orgánico (g C kg^{-1} suelo)
e. conductividad eléctrica sobre el extracto de saturación de las muestras de suelo
f. relación de adsorción de sodio (RAS)

Finalmente, las variables climáticas precipitación, temperatura del suelo y radiación se derivan de los productos de NASA/POWER (NASA *Prediction Of Worldwide Energy Resources*; https://power.larc.nasa.gov/).

Análisis estadístico:

Para el análisis de los datos se usan herramientas de carácter descriptivas, como cuadros de frecuencia e histogramas. La influencia de las diferentes variables auxiliares de suelo, de clima y del estado de la leguminosa en el nivel de FBN se evalúa inicialmente utilizando matrices de correlación simples, y modelos de regresión lineal múltiple.

Para algunas variables de especial interés se compara el valor de cada variable auxiliar para el percentil 15 *vs.* 85 de las variables respuesta a través de una prueba-*t*, y se exploran funciones de frontera para ver el grado de limitación dado por el factor evaluado.

Para cada región se realizan semivariogramas para evaluar la correlación espacial existente, y eventualmente, se realizan interpolaciones (*kriging*) y se elaboran mapas.

Resultados esperados:

Mapa del funcionamiento (=variabilidad) de la FBN en las principales forrajeras utilizadas en sistemas de producción de forraje de la región bajo estudio, y datos que permitan llevar adelante (1) un primer análisis de posibles causas de dicha variabilidad asociadas a factores de química de suelo, y (2) un primer análisis de posibles consecuencias productivas de dicha variabilidad (estimada como diferencias en INN y en niveles medios anuales de NDVI).

Evaluación de emisiones de GEI (N_2O y CH_4) desde el suelo

Instituciones Responsables: INIA-Chile, INIAF-Rep. Dominicana
Autores: Dres. Marta Alfaro, Francisco Salazar y Sara Hube (INIA – Chile)

Las emisiones de óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4) desde el suelo se determinan por medio del uso de cámaras estáticas (Fotografías 3 y 4), según la metodología descrita por De Klein y Harvey (2015).

Fotografías 3 y 4: Cámaras estáticas.

Colecta de muestras de gas:

- Muestreo una vez al día, 10-13 hs (cada país definirá el momento más representativo según curva de emisión diaria de N_2O).
- Uso de viales al vacío previamente etiquetados/identificados.
- Se colecta una muestra de aire atmosférico previo al inicio de colecta de muestras de las cámaras.
- Se colectan muestras con sobre-presión (30 mL en viales de 22 mL, 10 mL en viales de 6 mL, 15 mL en viales de 10 mL, etc).
- Las muestras se colectan en períodos fijos en cámaras (tiempo de muestreo entre cámaras, por ejemplo 1 min).
- Se utiliza una jeringa por cámara.
- Previa colecta de la muestra final en cada cámara se debe mezclar el aire de la parte aérea de la cámara (dos veces).
- Muestreo en tiempos: 0, 20 y 40 minutos luego de colocar la cámara sobre el suelo. Pueden emplearse rangos de tiempos menores o mayores, según las concentraciones

acumuladas por tiempo. En cualquier caso, debe asegurarse un periodo de acumulación lineal al interior de la cámara.
- Al finalizar el muestreo de cada fecha se debe retirar las tapas de las cámaras.
- Se realiza una medición de gases antes de aplicar los tratamientos (previo a aplicación), esto permite tener una estimación de la variabilidad espacial en el sitio del experimento además de brindar una idea de la variabilidad de los valores basales (ej. Ambientales).
- Las muestras se equilibran a presión ambiente previo análisis (con una aguja en un vaso con agua).

<u>Muestreo post aplicación de tratamientos:</u>
- La frecuencia de muestreo debe organizarse según el objetivo del experimento. Para Factores de Emisión, la frecuencia sugerida es:
  - Primera semana: el primero de estos muestreos se realiza el mismo día de aplicación de tratamientos, inmediatamente después, luego se realizan 3 muestreos al día 1, 3 y 7 post-aplicación.
  - Segunda semana: 3 veces/semana.
  - Tercera a quinta semana: 2 veces/semana.
  - Sexta semana hasta nivel basal: 1 vez a la semana.
- Además, se debe contabilizar por los eventos de lluvia, de manera que se tiene que muestrear durante 2 o 3 días posteriores a un evento mayor a la precipitación/riego crítico de cada situación climática (por ejemplo, 10 mm en sistemas templados del sur de Chile).
- Cuando sea posible, y para cada fecha de muestreo, se debe de tomar un muestreo para control de linealidad, esto es, muestras en una cámara por tratamiento a los 0, 20, 40 y 60 min para verificación de aumento lineal de concentración de N_2O en el tiempo.

<u>Factores externos a considerar:</u>
- Descripción del sitio experimental: latitud, longitud, tipo de suelo, textura, tipo de pradera, uso de suelo previo.
- Registro de variables climáticas: precipitación y temperatura del aire/día (estación meteorológica).

<u>Otros muestreos a realizar:</u>
- Aire, una por fecha de muestreo, para registro de nivel atmosférico.
- Temperatura al interior y exterior de la cámara durante el muestreo.
- Humedad y temperatura de suelo (0-10 cm) por día de muestreo (utilización de sensores).
- Previo a la aplicación de los tratamientos, el suelo de cada parcela se muestrea a una profundidad de 0 a 10 cm, para determinar carbono orgánico total (g kg^{-1}), pH, densidad aparente, NO_3^- y NH_4^+. Durante el período experimental los muestreos de suelo se realizan una vez en la semana a la misma profundidad para determinación de NO_3^- y NH_4^+. Se pueden considerar mayores profundidades dependiendo del sistema radicular de las praderas consideradas, pero se debe contar con el dato de 0-10 cm.

- Rendimiento y contenido de N en la pradera, según lo requiera su crecimiento. Corte y análisis por parcela.
- En caso de almacenaje de muestras previo análisis en cromatografía gaseosa, se toma al menos una muestra de un estándar conocido que es almacenado y analizado bajo las mismas condiciones de las muestras recolectadas, como sistema interno de control de calidad.

Gases a analizar y reportar por cromatografía gaseosa:

- N_2O, CH_4, CO_2. Este último para chequeo de funcionamiento adecuado de cámaras de acumulación. El análisis de los datos de GEI obtenidos se realiza usando la metodología propuesta por Venterea et al. (2015). Las emisiones instantáneas son correlacionadas con parámetros climáticos y de suelo medidas. Los datos de producción, calidad del cultivo y de emisiones de GEI son analizados vía análisis de varianza y comparación de medias empleando el software estadístico a definir por cada país.

Almacenaje de muestras:

- De ser necesario el almacenaje de muestras, éstas se mantienen a temperatura ambiente, bajo condiciones de oscuridad y evitando fluctuaciones de temperatura.

Colecta de orina bovina:

- Ubicar a las vacas en cepo o similar o en antesala del tambo para el caso de bovinos lecheros.
- Estimular manualmente la vulva y colocar una jarra plástica para colectar la orina.
- Traspasar la orina colectada a un recipiente grande (en donde se acumularán todas las orinas) y homogeneizar lo colectado del mismo tratamiento a evaluar.
- Una vez recolectados los litros de orina necesarios tomar tres muestras de orina de 100 ml, agregar 5 ml de ácido sulfúrico (al 5%) a cada una, para inmovilizar el nitrógeno, identificarlas y poner en frío para análisis de nitrógeno total por metodología de Kiejdhal.
- Guardar en el freezer al menos una contra muestra como respaldo.
- Traspasar la orina a botellas/envases plásticos y aplicar dentro de las cámaras instaladas en el campo cubriendo toda la superficie.
- Aplicar orina en la parcela contigua a la cámara en superficie equivalente a la de la cámara para evaluar el impacto productivo de la aplicación. Lo ideal es aplicar la orina lo más pronto que se pueda luego de la colecta, evitando su almacenaje.

Seguridad:

- El manejo de agujas debe realizarse con cuidado y calma.
- Al insertar agujas en septas, éstas deben afirmarse desde su base para evitar torceduras y pinchazos.
- Es conveniente arrodillarse al realizar cada muestreo, para de esa manera evitar problemas lumbares.

- Es conveniente contar con un botiquín de primeros auxilios básico en campo.
- Las agujas dadas de baja deben almacenarse en contenedor impermeable cerrado (no bolsas), e idealmente con su cubre puntas hasta disposición final.

Diseño experimental:

Se sugiere bloques completos al azar, con 4 o 5 repeticiones.

Tratamientos mínimos requeridos a implementar:

i) Control (sin orina)

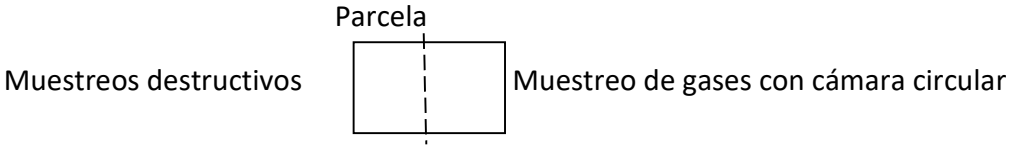
ii) Orina bovina de animales consumiendo pradera de leguminosas

iii) Orina bovina de animales consumiendo pradera sin leguminosas

Los países podrán incorporar otros tratamientos que sean relevantes a sus circunstancias nacionales, pero el set de tratamientos mínimos debe ser considerado. El tratamiento sin orina tiene por objetivo poder emplear los resultados de esta evaluación para la generación de factores de emisión. Si este no es el objetivo en un país específico, pudiera obviarse.

Para ensayos de campo:

- Tamaño de parcelas: al menos 2 x 1 m ($2m^2$).
- Cámaras de gases: como mínimo 1 por parcela (PVC o acero inoxidable).
- Aplicación de tratamientos a parcelas y cámaras previo corte de homogenización.
- Muestreo diferenciado en la parcela (sector para análisis destructivos, sector para determinación de gases -> cámaras) según el siguiente diagrama:



Para ensayos bajo condiciones controladas se sugiere la metodología descrita por Alfaro et al. (2018). En breve, se utilizan minilisímetros de PVC de 20 cm (Fotografía 5). Que en su interior tienen bloques intactos de suelo (0-15 cm) con pradera en su parte superior. Los lisímetros son mantenidos bajo condiciones de humedad contante y a temperatura controlada (ej. 20°C). En la pradera al interior de los minilisímetros se aplican los distintos tratamientos a evaluar, sugiriéndose el uso de 4 repeticiones y en un diseño de bloques completamente al azar. Sobre los lisímetros son instalados cámaras dinámicas para medición de amoníaco y para óxido nitroso se utilizan cámaras estáticas (Fotografía 6).

Fotografía 5: Minilisímetros de PVC de 20 cm.

Fotografía 6: Cámaras estáticas para medición de N_2O.

Protocolo para determinación de emisiones de metano (CH_4) entérico en vacas lecheras

Instituciones Responsables: INIA-Chile, INIAF-Rep. Dominicana
Autores: Dres. Camila Muñoz y Emilio M. Ungerfeld (INIA – Chile)

Técnica de medición de emisión de CH_4:

La producción de CH_4 es evaluada por 6 días utilizando la técnica del hexafluoruro de azufre (SF_6) (Muñoz et al., 2019). Brevemente, las vacas recibirán por vía oral un tubo de permeación con gas SF_6 con una tasa de permeación previamente determinada. Diariamente, una muestra continua de los gases espirados y eructados será recolectada en forma individual por animal en contenedores de PVC al vacío (Fotografía 7), también se colectarán muestras de gases ambientales durante el periodo de medición. La concentración de gases metano y SF_6 contenido en los collares será determinada utilizando cromatografía gaseosa. La producción de metano será calculada a partir de esta información. Además, muestras de alimentos ofrecidos y rechazados, orina, fecas, y leche son tomadas y analizadas para determinar valor nutricional, calcular digestibilidad de la dieta, energía metabolizable, balance y eficiencia de utilización de nitrógeno. Los datos son analizados como *crossover* incluyendo los efectos fijos del tratamiento y periodo y el efecto aleatorio de la vaca.

Fotografía 7: Técnica de medición de CH4 entérico en vacas bajo pastoreo.

Se cuantifican variables productivas (de forraje y producción animal), las emisiones de CH_4 entérico y el consumo animal individual. Las emisiones de metano se expresarán como g CH_4 d^{-1} y g CH_4 kg^{-1} MS consumida.

Diseño experimental:

Para este experimento se utilizarán como mínimo 8 vacas multíparas en lactación media en un experimento con un diseño experimental *crossover* con 2 tratamientos y 2 periodos, de 4 semanas cada uno (3 semanas de adaptación a la dieta y 1 semana de mediciones). Los tratamientos consisten en el reemplazo de heno de gramínea (por ejemplo, ballica o ryegrass) por heno de leguminosa (por ejemplo, alfalfa) en la dieta de las vacas en lactancia media. Así, la dieta control consiste en 7 kg de materia seca (MS) de heno de gramínea, 6 kg MS de ensilaje de pastura y 4 kg MS de concentrado. La dieta con leguminosa es similar, pero se reemplaza el heno de gramínea con 7 kg MS de heno de leguminosa. Las vacas son evaluadas estabuladas individualmente, donde se ordeñan 2 veces por día. Durante la semana de medición de cada periodo se determina la ingesta y rechazo de alimentos, y se realiza colección total de fecas y orina.

Impacto de la incorporación de leguminosas en la pastura sobre la productividad animal

Institutciones Responsables: INTA-Argentina, INIA-Uruguay, IPTA-Paraguay
Autoras: Dras. Elizabeth Jacobo y Adriana Rodríguez. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires

Protocolo de toma de muestras y alternativa de diseños estadísticos:

Objetivo: Cuantificar el impacto de la incorporación de leguminosas en la pastura en la productividad animal.

A. En sistemas de producción de carne vacuna:

Los sistemas de producción de carne vacuna se componen en general, de dos etapas: 1) la cría de terneros hasta el destete, usando como principal fuente de alimentación los pastizales naturales, y 2) la recría de los terneros y posterior engorde o terminación hasta el peso de faena, cuya fuente de alimentación son recursos forrajeros cultivados como pasturas polifíticas, verdeos, forraje conservado, granos y suplementos, en combinaciones variables según el grado de intensificación del sistema. Por lo tanto, cuantificar el impacto de la incorporación de leguminosas en la productividad animal requiere evaluar cada una de las etapas de la producción de carne. Se debe evaluar el impacto de la promoción o incorporación de leguminosas en pastizales naturales sobre la productividad secundaria de los sistemas de cría vacuna, como así también en sistemas dedicados a la recría y engorde. Para ello se debe evaluar la productividad primaria neta aérea, el consumo animal y la digestibilidad del forraje, permitiendo estimar la producción animal según la distinta contribución de leguminosas en los pastizales y en las pasturas.

A.1) Cría vacuna y pastizales

Diseño estadístico:

Dado que el pastoreo rotativo incrementa la contribución de leguminosas del pastizal (Jacobo et al. 2006), se deben seleccionar al menos tres establecimientos ganaderos dedicados a la cría vacuna en los cuales se aplique manejo rotativo del pastoreo, y al menos otros tres establecimientos que apliquen pastoreo continuo. En cada uno de los establecimientos se selecciona un lote de pastizal natural sobre suelos que correspondan a la misma serie en todos los establecimientos.

Protocolo de toma de muestras:

Se evalúa la productividad primaria neta aérea anual y su patrón estacional, así como el consumo animal, a partir de cosechas sucesivas de biomasa.

En cada lote (repetición) se colocan 10 jaulas de 1m x 1m. En los establecimientos que aplican

pastoreo rotativo, al finalizar el período de ocupación se cosecha la biomasa acumulada dentro de cada jaula desde el inicio del periodo de descanso. Se toman dos muestras de 0,5 x 0,5 m por jaula, una muestra se corta al ras para estimar productividad y la otra muestra se corta a una altura similar al remanente fuera de la jaula para estimar el consumo. En los establecimientos que aplican pastoreo continuo se aplica el mismo procedimiento y los mismos períodos de acumulación de biomasa dentro de las jaulas que el de los establecimientos con pastoreo rotativo. Las jaulas se cambian de ubicación dentro de cada lote luego de cada cosecha.

La biomasa cosechada se separa en al menos dos componentes: pastos y leguminosas, se seca en estufa a 65 º C durante 48 hs o hasta alcanzar peso constante, y posteriormente se pesa.

Se estima la digestibilidad aparente (DMS) de las muestras de biomasa cortadas para estimar el consumo aplicando la ecuación sumativa de Goering y Van Soest (1970), para lo cual se deben determinar las concentraciones de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina y cenizas (Van Soest et al. 1991); y la concentración de proteína cruda (CP), multiplicando el nitrógeno obtenido por Kjeldahl por 6,25 (AOAC, 1984).

A.2) Recría y engorde en pasturas polifíticas

Diseño estadístico:

Se deben seleccionar al menos seis establecimientos ganaderos dedicados a la recría y engorde vacuno con distinta composición, con al menos un 50% de base pastoril, que difieran en la proporción de leguminosas que incluyen en las pasturas, y que apliquen pastoreo rotativo con criterios similares entre sí. Se identifica un lote en cada establecimiento que corresponda a la misma serie de suelo, y que la pastura haya sido sembrada en el mismo año.

Protocolo de toma de muestras:

Se evalúa la productividad primaria neta aérea anual y su patrón estacional, así como el consumo animal, a partir de cosechas sucesivas de biomasa. En cada lote (repetición) se colocan 10 jaulas de 1m x 1m. Al finalizar el periodo de ocupación se cosecha la biomasa acumulada dentro de cada jaula desde el inicio del periodo de descanso. Se toman dos muestras de 0.5 x 0.5 m por jaula, una muestra se corta al ras para estimar productividad y la otra muestra se corta a una altura similar al remanente fuera de la jaula para estimar el consumo.

La biomasa cosechada se separa en al menos dos componentes: pastos y leguminosas, se seca en estufa a 65 º C durante 48 hs o hasta alcanzar peso constante, y posteriormente se pesa.

Se estima la digestibilidad aparente (DMS) de las muestras de biomasa cortadas para estimar el consumo aplicando la ecuación sumativa de Goering y Van Soest (1970), para lo cual se deben determinar las concentraciones de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina y cenizas (Van Soest et al. 1991); y la concentración de proteína cruda (CP), multiplicando el nitrógeno obtenido por Kjeldahl por 6.25 (AOAC 1984).

B. En sistemas de producción de leche

Se evalúa el impacto de la incorporación de leguminosas en sistemas de producción de leche seleccionando al menos diez establecimientos con distinta proporción de dieta pastoril. En cada establecimiento se releva la superficie y composición de cada recurso forrajero utilizado para las vacas en ordeñe, así como la composición de la dieta no pastoril, suministrada durante los últimos dos años y se debe relacionar con los registros de producción de leche diarios. Por diferencia entre la dieta pastoril y no pastoril se determinará la producción de leche que proviene del consumo de forraje por pastoreo directo, la que se relaciona con la proporción de leguminosas relevada en los recursos forrajeros en cada establecimiento.

Evaluación del stock de carbono del suelo

Instituciones Responsables: EMBRAPA-Brasil, INTA-Nicaragua
Autor: Dr. Bruno J. R. Alves (Embrapa – Brasil)

Los muestreos pueden ser realizados en experimentos de largo plazo (con parcelas y diseños experimentales) o en cronosecuencias, siempre que exista una pastura con y sin asociación con leguminosas y se conozcan bien sus datos históricos. Es preferible tener en la cronosecuencia varias situaciones en cuanto a cantidad de años de consorcio gramínea – leguminosa. La existencia de un área lo menos alterada posible y representativa de la condición original es también muy deseable y de mucho valor para estos estudios. Para conocer los datos de las cronosecuencias es importante que se hagan consultas a propietarios o responsables de los establecimientos, acerca del manejo del área y todo aquello que hace a su historia de uso. Las imágenes de satélite a lo largo de los años son excelentes herramientas para reconstruir la historia de uso. La evaluación de uniformización entre áreas en lo que hace al tipo de suelo, espesor de los horizontes, densidad debajo de los 40 cm, textura de los horizontes y si fuera posible, la distribución del ^{13}C en el perfil del suelo, son medidas muy importantes para determinar la calidad de la cronosecuencia que va a ser utilizada.

En cada unidad de muestreo (bosque o área lo más inalterada posible, pastura o pastizal de gramíneas con y sin asociación con leguminosas), y en cada una de las situaciones de antigüedad a estudiar, se abren calicatas (Fotografía 8) cuyo número será decidido en función del grado de heterogeneidad de área, sugiriéndose para la mayoría de las situaciones entre 2 y 3, y de ellas se toman muestras de suelo. Idealmente en las profundidades 0-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-80, 80-100 cm, o hasta que se encuentre la capa freática u otro impedimento (ej. duripan). Si bien se considera esta la situación ideal, en caso que la logística se complique o el número de muestras se vuelva demasiado elevado podrían disminuirse estos estratos, tomando solamente los 3 primeros, que es la profundidad mínima indicada por el IPCC. Si se percibiera abundancia de raíces por debajo de los 30 cm debería profundizarse un poco más hasta disminución importante de su presencia.

Fotografía 8: Calicata para la toma de muestras de suelo.

En tres paredes de la calicata se toman muestras de suelo deformadas y también se obtienen otras no alteradas (de paredes opuestas de la calicata) utilizando anillos de metal con volumen interno conocido (anillos de Kopeck), con el fin de determinar densidad aparente del suelo. Alrededor de las calicatas, en un radio de 5 a 10 m, otros cuatro puntos de muestreo deben ser incluidos, pero sólo con uso del barreno, y en las profundidades de 0-10, 10-20 y 20-30 cm, donde se esperan los cambios más importantes.

Después de la toma e identificación de las muestras, ellas deben ser secadas al aire, desterronadas y tamizadas en tamiz con malla de 2 mm. Deben tomarse cuidados especiales en el muestreo de las capas superficiales del suelo, evitando al máximo la inclusión de raíces finas visibles en la muestra, cuyos contenidos de C y N no forman parte de los compuestos orgánicos coloidales estables de la materia orgánica del suelo, pudiendo conducir a errores en la interpretación de la acumulación de C y N en el perfil del suelo. Otro aspecto que debe observarse es si el área recibió aplicación de cal y/o si existe una cantidad significativa de carbonato de calcio. Se recomienda que antes de la determinación de C orgánico total, que las muestras sean evaluadas en cuanto a la reactividad de los carbonatos minerales ($CaCO_3$ y $MgCO_3$) en medio ácido, como un indicativo de cantidades perceptibles de éstos a punto de influir en el resultado final del análisis de carbono orgánico total (se detecta frente a la adicción gradual de gotas de HCl 1M, lo que induce a una efervescencia). En caso de reacción positiva se debe proceder a un tratamiento de destrucción de carbonatos.

En las muestras tamizadas se analiza la textura, algunas variables químicas atendiendo a particularidades locales de los suelos y los contenidos de C y N. Para la exactitud en las determinaciones de C y N totales en las muestras de suelo y para fines de uniformidad metodológica, es esencial que todas las muestras sean analizadas a través del método de

oxidación seca, empleando equipo auto-analizador de C y N total. Para facilitar y aumentar la calidad de los análisis, las muestras deben ser molidas finamente, lo que se consigue utilizando un molino de rodillos, atendiendo a las exigencias de los equipos de análisis.

Los diferentes manejos adoptados en las áreas dentro de cada cronosecuencia pueden resultar en diferencias entre las densidades del suelo. Sin embargo, la comparación entre las áreas de los tratamientos en estudio, dentro de un determinado sitio experimental, deben ser realizada en base a la misma masa de suelo del perfil del tratamiento de referencia, o sea, toda la comparación se realiza respecto de la misma masa de suelo. Este procedimiento asume que la compactación resultante de las operaciones mecánicas afecta más significativamente a las capas superficiales del perfil del suelo. Así, para ajustarse al perfil de suelo del sistema referencia, los contenidos de C y N en los perfiles de suelo de los sistemas agrícolas se calculan restando de la capa más profunda (80-100 cm) el contenido de C y N totales acumulados en la masa extra de suelo de esta profundidad. Se debe destacar que siempre se debe respetar la masa de suelo del perfil del sistema de referencia.

Esta corrección fue calculada matemáticamente, expresándose a través de siguiente ecuación:

$$Cs = \sum_{i=1}^{n-1} C_{Ti} + \left[M_{Tn} - \left(\sum_{i=1}^{n} M_{Ti} - \sum_{i=1}^{n} M_{Si} \right) \right] C_{Tn}$$

Donde, Cs es la acumulación (stock) de C (Mg C ha^{-1}) en el suelo en una profundidad donde la masa de suelo sea la misma de aquella observada en el perfil de suelo utilizado como referencia;

$\sum_{i=1}^{n-1} C_{Ti}$ es la suma del contenido de C total (Mg ha^{-1}) desde la capa 1 (superficie) hasta la capa 'n –1' (penúltima) en el perfil del suelo bajo el tratamiento;

$\sum_{i=1}^{n} M_{Si}$ es la suma de la masa de suelo (Mg ha^{-1}) desde la capa 1 (superficie) hasta la cama 'n' (última capa) en el perfil del suelo referencia;

$\sum_{i=1}^{n} M_{Ti}$ es la suma de la masa de suelo (Mg ha^{-1}) desde la capa 1 (superficie) a la capa 'n' (última capa) del perfil del tratamiento y MTn y CTn son respectivamente la masa de suelo y concentración de carbono en la última capa del perfil del suelo bajo el sistema en evaluación.

Los factores de manejo de los pastos deben calcularse de acuerdo con la metodología propuesta por el IPCC (IPCC, 2006). Esta metodología se basa en la integración del contenido de carbono del suelo en los primeros 30 cm después del cambio de manejo. Lo mismo debe realizarse hasta las profundidades alcanzadas en cada región teniendo los 100 cm como el factor anual de cambio del stock de C del suelo se calcula por la razón entre el stock de C del suelo bajo la pradera sin, o

con leguminosa, y el stock del suelo bajo vegetación nativa (los datos de bosques son considerados como referencia para los cálculos de los factores en las regiones tropicales).

Los suelos minerales constituyen un depósito de carbono que se ve influenciado por las actividades de uso y manejo de la tierra. El uso de la tierra puede tener un efecto de magnitud sobre el tamaño de este depósito mediante actividades como la conversión de tierras forestales en pastizales, por la que se puede perder un porcentaje de las existencias originales de C edáfico. El factor anual de cambio del stock de C del suelo se calcula por la razón entre el stock de C del suelo bajo la pradera sin, o con leguminosa, y el stock del suelo bajo vegetación nativa (los datos de bosque son considerados como referencia para los cálculos de los factores en las regiones tropicales, siendo que otras regiones deberán considerar la vegetación que sea pertinente a sus sistemas originales).

Según el IPCC, los factores de cambio de las existencias se definen a grandes rasgos e incluyen: 1) un factor de uso de la tierra (FLU) que refleja los cambios en las existencias de C relacionados con el tipo de uso de la tierra, 2) un factor de manejo (FM) que representa la principal práctica de gestión específica del sector de uso de la tierra (por ejemplo, diferentes prácticas de labores en tierras de cultivo), y 3) un factor de aporte (FI) que representa los distintos niveles de aporte de C al suelo.

Dado que la propuesta es estimar un factor de cambio de los stocks de C en el suelo, en la práctica ello sería el producto de FLU, FM y FI. El producto de esos tres factores es una fracción que se multiplicará por el stock original de C del suelo. De esta manera se obtiene la estimación de la reducción de las existencias de carbono sobre la condición nativa o aquella más próxima a esa situación, tomada como línea de base.

Recomendaciones Generales para el trabajo a campo

Aunque en algunos casos ya fue mencionado debe tenerse muy en cuenta algunas medidas mínimas de seguridad para la realización de los muestreos a campo:

1. Tener un recipiente adecuadamente acondicionado en caso de utilizar material de descarte.
2. En caso de tormenta eléctrica retirarse inmediatamente del campo. Hasta tanto se consiga eso, nunca colocarse debajo de los árboles y el vehículo puede ser el lugar más seguro.
3. Llevar un botiquín de primeros auxilios, repelente de insectos y agua potable para el grupo de trabajo.
4. Vestir ropa adecuada para el trabajo. Las prendas de mangas cortas no son las mejores, aún en situaciones en que pueda hacer mucho calor.

En áreas con presencia frecuente de animales ponzoñosos llevar la protección adecuada para trabajar en el campo. No levantar, o hacerlo con mucho cuidado si fuera necesario, troncos o piedras.

Referencias Bibliográficas

Alfaro, M., Salazar, F., Hube, S., Ramírez, L. & Mora, M. (2018). "Ammonia and nitrous oxide emissions as affected by nitrification and urease inhibitors". *Journal of Soil Science and Plant Nutrition.* 18(2), 479-486.

AOAC. (1984). "Official Methods of Analysis". *Association of Official Analytical Chemists*. 14th Edition, AOAC, Arlington.

De Klein, C. & Harvey, H. (2015). "Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines, Version 1.1". *Ministry for Primary Industries*, Wellington (New Zealand). 146p.

Gastal F. & Lemaire G. (2002). "N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective". *Journal of Experimental Botany*. 53, 789-799.

Goering HK & van Soest PJ. (1970). "Forage fiber analysis". *Agriculture Handbook No. 379*. Agricultural Research Service. US Department of Agriculture.

Högberg P. (1997). "^{15}N natural abundance in soil-plant systems". *New Phytologist*. 137, 179-203.

IPCC. (2006). "Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories".

Eggleston, H S, Buendia, L, Miwa, K, Ngara, T, & Tanabe, K. (2006). "IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories". Japan.

Jacobo, E. J., Rodríguez, A. M., Bartoloni, N. & Deregibus, V. A. (2006). "Rotational Grazing Effects on Rangeland Vegetation at a Farm Scale". *Rangeland Ecology & Management*. 59 (3), 249-257pp. ISSN 1550-7424, https://doi.org/10.2111/05-129R1.1.

Ledgard, S.F. (1989). "Factors affecting isotopic fractionation during nitrogen fixation by pasture legumes". In: Association Franc¸aise pour la Production Fourrage`re (Editors). *Proc. XVI Int. Grassland Congress*, I. Nice, INRA, France, pp. 123–126.

Muñoz, C., R. Sánchez, A. M. T. Peralta, S. Espíndola, T. Yan, R. Morales & E. M. Ungerfeld. (2019). "Effects of feeding unprocessed oilseeds on methane emission, nitrogen utilization efficiency and milk fatty acid profile of lactating dairy cows". *Anim. Feed Sci. Technol*. 249,18-30 pp. doi:https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.015.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). "Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition". *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597 pp.

Venterea, R.T., Parkin, T.B, Cardenas, L., Petersen, S.O. & Pedersen, A.R. (2015). "Data analysis considerations". In: De Klein, C. and Harvey, H. (Eds.) *Nitrous Oxide Chamber Methodology Guidelines, Version 1.1.* Ministry for Primary Industries, Wellington (New Zealand). pp. 95-121.

Instituciones participantes

Secretaría Técnica Administrativa

Con el apoyo de:

www.fontagro.org

FONTAGRO
Banco interamericano de Desarrollo
1300 New York Avenue, NW, Stop
W0502, Washington DC 20577
Correo electrónico: fontagro@iadb.org