XXVIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo

Buenos Aires 2022

Suelos saludables,
sustento de la sociedad y el ambiente

ACTAS Tomo 4

Biología y Agroecología de Suelos

Génesis, Clasificación, Cartografía y Mineralogía de Suelos

Educación, Extensión y Transferencia de la Ciencia del Suelo

ISBN: 978-987-48396-7-1

PRODUCTIVIDAD Y MICROBIOTA RIZOSFÉRICA ASOCIADA A UNA PASTURA MIXTA FERTILIZADA CON ESTIÉRCOL SECO

Oyharçabal, E.[1,2,*], F. Covacevich[1,3], I. Bain[2], C.S. Acuña[2], G.D. Berone[24]

[1] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET);
[2] Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA);
[3] Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC);
[4] Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Mar del Plata (FCA-UNMdP);
*25 de Mayo 4870 Trelew (CP 9100), Provincia del Chubut, Patagonia Argentina, oyharcabal.estefania@inta.gob.ar

RESUMEN

Las pasturas mixtas leguminosa-gramínea son un componente importante para lograr productividad y calidad en esquemas agroecológicos. En estas pasturas, la fertilización con nitrógeno (N) sintético aumenta la productividad, reduce la leguminosa y a la nodulación radical, pudiendo afectar a los hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Evaluamos en una pastura mixta, el efecto de dos fuentes de N (estiércol y urea), sobre la producción de forraje, la proporción de leguminosa (LEG%), la colonización por HMA (total M% y formación de arbúsculos A%) y la cantidad de nódulos de rizobios. En la EEA INTA Chubut (Valle Inferior del Río Chubut, Patagonia Argentina) sobre una pastura mixta *Lotus tenuis* (LEG) *Festuca arundinácea* (GRA), se evaluaron 7 tratamientos (DBCA; n=4) de fertilización: 0N (control), 60U, 120U, 240U, 60B, 120B y 240B; resultantes de dos fuentes (U, urea y B, estiércol bovino seco) y tres dosis de N (60, 120, 240 kg ha^{-1} $año^{-1}$). El agregado de N como estiércol (240B) logró similar incremento en producción de forraje que el logrado con urea (120U y 240U). Sin embargo, mientras que el incremento logrado en 120U y 240U se debió a un fuerte aumento del componente GRA en detrimento de LEG, el incremento que generó 240B, también produjo un aumento del componente GRA, pero no afecto la LEG%. La reducción observada en LEG se asoció con una disminución en la cantidad de nódulos, mientras que la colonización de HMA (M% y A%) no se vio modificada por los tratamientos. Estos resultados permiten inferir que el estiércol bovino seco puede ser utilizado como fuente de N para incrementar la productividad forrajera de pasturas mixtas sin afectar negativamente al componente LEG, a la cantidad de nódulos fijadores de N y a la micorrización. Nuestros resultados contribuyen a reducir el uso de urea en estos sistemas agropecuarios.

Palabras clave: leguminosas, colonización micorrícica, nódulos

INTRODUCCIÓN

Las pasturas mixtas leguminosa-gramínea (LEG:GRA) contribuyen a la búsqueda de esquemas agropecuarios sustentables, ya que permiten mantener elevados niveles de productividad, reducir el uso de agroquímicos sintéticos (fertilizantes y plaguicidas), aumentar biodiversidad y el secuestro de carbono en el suelo (Lüscher *et al*., 2014). La fertilización con nitrógeno (N) en estos sistemas implica el riesgo de reducir la proporción de LEG (Nyfeler *et al*., 2009). Los estiércoles han sido menos explorados respecto a los fertilizantes sintéticos para incrementar rendimientos en pasturas (Elgersma & Søegaard, 2016). Los abonos naturales además de aportar nutrientes en forma directa, mejoran la estructura y porosidad del sistema edáfico con el incremento de la materia orgánica, favoreciendo el almacenaje de agua y la regulación de la temperatura y el pH (Du *et al*., 2020). Por otra parte, no es frecuente que se considere el efecto de la fertilización sobre microorganismos que cumplen roles en el incremento de la nutrición y productividad de las pasturas, así como en la calidad y la salud del suelo, tal es el caso de los hongos formadores de micorrizas arbusculares, HMA (Mendoza *et al*.,

2016). El objetivo del trabajo fue comparar a campo en una pastura mixta, el empleo de estiércol bovino seco y urea como fuentes contrastantes de N, sobre el rendimiento forrajero, la proporción de LEG, la colonización espontánea por HMA nativos y nódulos fijadores de N.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó en la EEA INTA Chubut (Valle Inferior del Río Chubut, Patagonia Argentina), durante dos años (año1: 2018-2019; año2: 2019-2020), sobre una pastura mixta de 10 años de edad, dominada por *Lotus tenuis* (LEG) y *Festuca arundinácea* (GRA), con riego gravitacional (~1000 mm año^{-1}). El clima es árido templado-frío (13,4 °C de temperatura media anual y 180 mm de precipitación anual). El suelo es franco arcilloso (3,88 %MO, 0,23 %N total, 1044 mg kg^{-1} P total, 20,2 mg kg^{-1} P disponible, 8,45 pH, y 9,76 C:N). En parcelas (4m^2; 50% leguminosa) se evaluaron 7 tratamientos (60U, 120U, 240U, 60B, 120B, 240B y 0N) resultantes de 2 fuentes de fertilizante (U, urea y B, estiércol seco) en 3 Dosis (60, 120, 240 kg N ha^{-1} año^{-1}) más un control (sin fertilización), que fueron dispuestas en un DBCA con cuatro repeticiones. La fertilización se fraccionó 60% primavera y 40% verano. El estiércol bovino seco, de animales que consumían heno de alfalfa (EEA Chubut), presentó valores medios de 1,3 %N total, 0,38% P total y 12 C:N. Previo al experimento, la pastura fue pastoreada con ovinos. Se realizaron cuatro cosechas de biomasa aérea (0,25 m^2 a 4 cm altura) por año (noviembre a abril), en base a la vida media foliar de festuca. Previo al secado del forraje (60°C, 72 horas) para determinar el rendimiento de materia seca (t MS ha^{-1}), se determinó la proporción de leguminosa (LEG%) por separación manual. Además, se realizaron colectas de raíces en las estaciones de primavera y verano, 20 días después de cada fertilización en ambos años (4 submuestras por parcela 30 cm^2; 0 – 20 cm profundidad, que fueron homogeneizadas). Se cuantificó el número total de nódulos (NTN) radicales de bacterias fijadoras de N y se estimó el grado de colonización micorrícica total (M%) y de formación de arbúsculos (A%) en las raíces de la pastura mixta. La micorrización se determinó por observación y cuantificación microscópica (20X) de diferentes estructuras fúngicas (hifas, arbúsculos y vesículas), previa tinción con azul de tripán en lactoglicerol de acuerdo al método de Phillips y Hayman (1970) modificado (LAM China, 2001) en el que se omitió el fenol en la solución de tinción.

Los resultados fueron sometidos a análisis de la varianza (ANOVA) para determinar diferencias entre las medias de los tratamientos y para cada estación (primavera y verano) y fechas de muestreo por separado para analizar la evolución temporal. En todos los casos la comparación de medias fue mediante prueba de Tukey ($p=0,05$). Se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2020.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ninguna de las variables estudiadas se detectó interacción año x estación x tratamiento ($p>0,05$). La mayor producción de materia seca se logró con 240U, 120U y 240B, pero este último no fue diferente ($p>0,05$) a 120B, 60B ni 60U (Fig. 1a). Estos resultados de productividad estuvieron dentro del rango reportado para pasturas mixtas (Nyfeler *et al*., 2009). El componente GRA se comportó de manera similar a la biomasa total y 240U logró el mayor valor (Fig. 1b). Esta fuerte respuesta de la GRA al agregado de N con dosis altas, fue reportada también en otros trabajos (Nyfeler *et al*., 2011) y explica los altos rendimientos alcanzados en la pastura mixta, particularmente cuando se aplicó urea. La biomasa del componente LEG se vio reducida ($p<0,05$) con las dosis media y alta de urea (Fig. 1c).

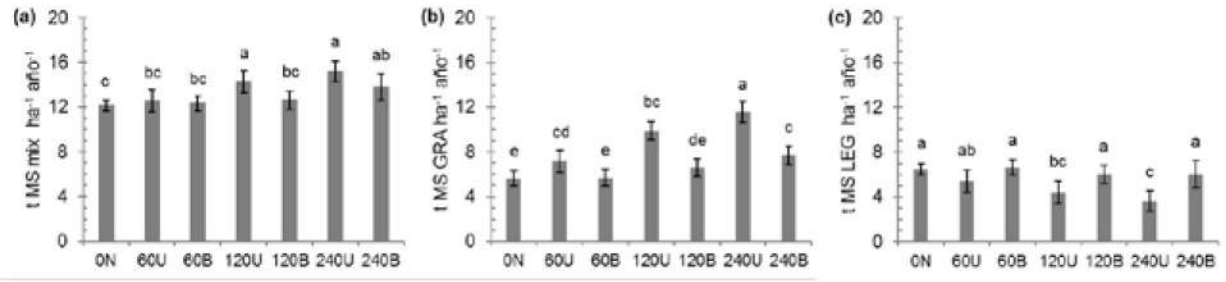

Figura 1. Valores medios de materia seca (MS) acumulada total (a) y de cada componente GRA (b) y LEG (c) de la pastura mixta para los tratamientos de fertilización (0N, 60U, 120U, 240U, 60B, 120B y 240B). Las líneas en las barras indican ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey p<0,05) entre tratamientos.

La evolución de la proporción de LEG (Fig. 2) muestra que 0N y 60B lograron los mayores valores y permanecieron dentro del rango óptimo (40-60%, Nyfeler *et al*., 2009). En contraste, las pasturas que recibieron 120U y 240U mostraron los más bajos valores de LEG%, siendo notoria la caída por debajo del valor del 40% a partir de finales del año1 y durante todo el año2 (Fig. 2). Los menores valores de LEG% con 120U y 240U, se asocian al incremento de la GRA que tiene una gran habilidad competitiva tanto en lo que hace a la absorción de agua y nutrientes como de la captura de luz (Mendoza *et al*., 2016; Aydin & Uzun, 2005).

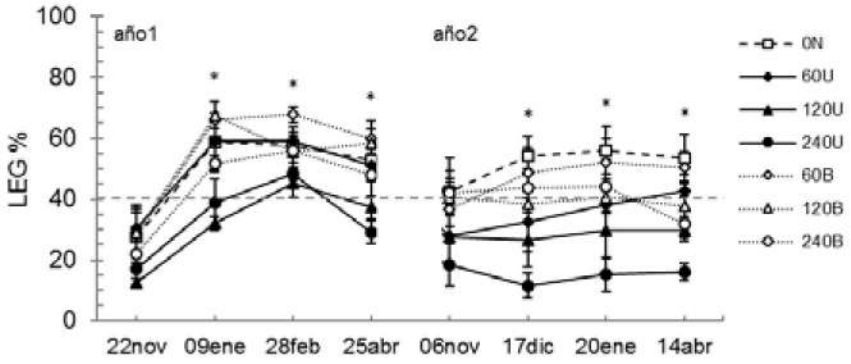

*Figura 2. Evolución temporal de los valores medios de la proporción de LEG (%) de la pastura mixta, para cada tratamiento (0N, 60U, 120U, 240U, 60B, 120B y 240B). La línea horizontal discontinua indica LEG a 40%. Las líneas en los puntos indican ± error estándar. El símbolo * indica las cosechas donde se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tukey p<0,05).*

La colonización micorrícica en raíces de la pastura mixta, en sus dos parámetros estimados (M% y A%), no presentó efectos significativos (p>0,05) de la fuente y dosis de fertilización. La M% presentó valores alrededor de ~79,2% y A% de ~50% en todos los tratamientos. Cuando se analizaron los resultados por estación de muestreo, la colonización de raíces por HMA en general, no evidenció diferencias (p>0,05) entre los tratamientos (Fig. 3). Solo se detectaron incrementos (14%) significativos (p<0,05) en M% para las dosis 120B y 240B (Fig. 3b) con respecto a las raíces de las plantas que recibieron 240U. Sin embargo, este efecto solo se evidenció en el verano del año1. La A% no evidenció diferencias (p>0,05) para ninguna de las condiciones evaluadas. El escaso a nulo efecto de la fertilización con N sobre la colonización de HMA coincide con reportes previos en macetas, donde emplearon fuentes sintéticas de N y estiércol líquido (Joner, 2000; Mendoza *et al*., 2016).

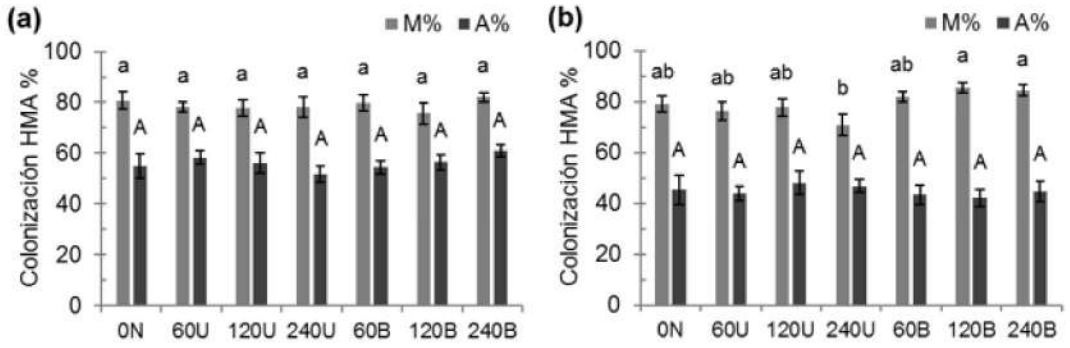

Figura 3. Valores medios de colonización por HMA (%) en raíces de la pastura mixta en función de la fertilización, analizada en primavera (a) y verano (b). Variables de frecuencia de colonización micorrícica total (M%) y frecuencia de arbúsculos (A%) para cada tratamiento de fertilización (0N, 60U, 120U, 240U, 60B, 120B y 240B). Líneas sobre las barras indican ± error estándar de la media de cada tratamiento. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey p<0,05) entre tratamientos para cada variable.

Las relaciones sinérgicas multicomponente entre los grupos microbianos y las plantas hospedantes son frecuentes de encontrar (Mendoza *et al*., 2016). Cabe mencionar que en este mismo estudio la cuantificación de nódulos radicales de bacterias fijadoras de N en las muestras de raíces (Fig. 4), fue disminuyendo a lo largo del estudio en los tratamientos donde se aplicó urea, en parte como consecuencia a la disminución del componente LEG con quien se asocia (Fig. 2), a profundizar en futuros estudios. En términos de costo-beneficio entre simbionte y planta hospedante (*i.e.* intercambio de carbohidratos por nutrientes), las respuestas estarían mayormente condicionadas por la disponibilidad de los nutrientes y la demanda de las plantas (Corkidi *et al*., 2002; Mendoza *et al*., 2016). Es decir que la obtención de nutrientes del suelo para las plantas es menos costosa respecto a la vía en la que intervienen otros organismos (*e.g.* HMA, bacterias), así cuanto mayor es la cantidad de nutriente disponible en el suelo menor es la infección y actividad microbiana (Elgersma *et al*., 2000; Nyfeler *et al*., 2009). Corkidi *et al* (2002) observaron que el agregado de N al mejorar la nutrición nitrogenada de la planta aumenta la absorción de P y favorece la micorrización. No obstante, los resultados del presente trabajo muestran asociación micorrícica con formación de arbúsculos (donde ocurre el intercambio entre simbiontes) independientemente de la fuente y/o dosis de N aplicada, lo que sugiere que hay otros factores involucrados que no fueron aun considerados en este estudio.

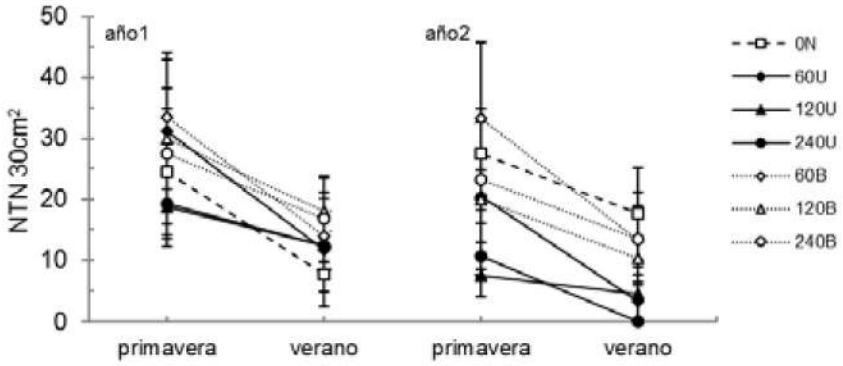

Figura 4. Evolución temporal de los valores medios del número total de nódulos (NTN 30 cm²) encontrados en raíces de la pastura mixta en primavera y verano, para cada tratamiento (0N, 60U, 120U, 240U, 60B, 120B y 240B). Las líneas en los puntos indican ± error estándar.

En síntesis, este trabajo muestra que agregar N bajo la forma de estiércol (240B) permite incrementar la producción de forraje (Fig. 1) en cantidad similar que aplicando N con la fuente sintética (120U y 240U), a través de vías diferentes. Como se mencionó anteriormente, los incrementos logrados en 120U y 240U se debieron al fuerte incremento de GRA en detrimento del componente LEG (Fig. 2), mientras que el incremento que generó 240B, se asoció a un incremento del componente GRA, pero sin generar reducciones en la propor-

ción del componente LEG (Fig. 2). A su vez, aunque la aplicación de urea deprimió la formación de nódulos de rizobios (Fig. 4), probablemente debido a la reducción del componente LEG (Fig. 2), ninguna de las dos fuentes de N estudiadas, ni sus dosis, afectó negativamente la colonización de los HMA (Fig. 3). Inferimos que, en pasturas mixtas, el agregado de nutrientes bajo la forma de estiércol seco, es una vía que permite sostener niveles de producción, mantener óptimos niveles del componente LEG, reducir el uso de N-sintético y favorecer los procesos naturales con beneficios productivos que se buscan lograr en los sistemas forrajeros altamente productivos; aproximándonos a sistemas agroecológicos.

-La aplicación de estiércol bovino seco en este trabajo mostró resultados promisorios que sugieren la necesidad de profundizar, con experimentos de mayor durabilidad, otros aspectos relacionados a su utilización; tales como el aporte de esporas de HMA y de residuos antibióticos de uso veterinario que podrían contener los estiércoles, ambos posiblemente intervinientes en procesos ecológicos con potencial efecto sobre la salud del suelo y la productividad de las pasturas.

CONCLUSIONES

Se concluye que la fertilización con estiércol bovino seco permite igualar la producción de forraje lograda con urea a similar dosis de N (240 kg N ha^{-1} $año^{-1}$) con permanencia del componente LEG; contrariamente la fertilización con N-sintético (urea) reduce la proporción de leguminosas por debajo del rango óptimo (<40%) con la consecuente disminución del número de nódulos de rizobios. A su vez, el alto grado de colonización micorrícica espontánea en raíces de la pastura mixta estudiada en el Valle Inferior del Río Chubut, no fue afectado por los tratamientos analizados. El uso de estiércol seco pareciera ser una opción posible para sostener productividad con permanencia de LEG, sin afectar a la microbiota rizosférica nativa asociada (HMA y nódulos). Nuestros resultados contribuyen a reducir el uso de urea (N-sintético) en la producción forrajera de los sistemas agropecuarios.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible mediante una beca doctoral CONICET - INTA e integra capítulos de tesis del proyecto "Aporte de la fertilización nitrogenada y la microbiota rizosférica nativa a la producción de pasturas mixtas" FCA-UNMdP; con financiación del INTA a través de los proyectos PEI007 Pasturas y Forrajes Conservados, PI037 Biodiversidad Edáfica y de la FCA-UNMdP-AGR603-20. Agradecemos a G. Ramos por el aporte estadístico, a ayudantes de campo de la EEA INTA Chubut y a Tito Defossé.

BIBLIOGRAFÍA

Aydin I & Uzun F. 2005. Nitrogen and phosphorus fertilization of rangelands affects yield, forage quality and the botanical composition. European Journal of Agronomy 23:8-14.

Corkidi L, Rowland D, Johnson N & Allen E. 2002. Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. Plant & Soil 240:299–310.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, & Robledo CW. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, UNC, Argentina.

Du Y, Cui B, Zhang Q, Wang Z, Sun J, & Niu W. 2020. Effects of manure fertilizer on crop yield and soil properties in China: A meta-analysis. Catena 193(4).

Elgersma A, Schlepers H & Nassiri M. 2000. Interactions between perennial ryegrass (*Lolium perenne L*) and white clover (*Trifolium repens L*) under contrasting nitrogen availability: Productivity, seasonal patterns of species composition, N2 fixation, N transfer and N recovery. Plant & Soil 221(2):281–299.

Elgersma A & Søegaard K. 2016. Effects of species diversity on seasonal variation in herbage yield and nutritive value of seven binary grass-legume mixtures and pure grass under cutting. European Journal of Agronomy 78:73–83.

Joner EJ. 2000. The effect of long-term fertilization with organic or inorganic fertilizers on mycorrhiza-mediated phosphorus uptake in subterranean clover. Biology & Fertility of Soils 32(5):435–440.

LAM China. 2001. Mycorrhiza Manual. Arbuscular mycorrhizal fungi in plant production systems: detection, taxonomy, conservation and ecophysiology. Retrieved from

Lüscher A, Mueller-Harvey I, Soussana JF, Rees RM & Peyraud JL. 2014. Potential of legume-based grassland-livestock systems in Europe: A review. Grass & Forage Science 69(2):206–228.

Mendoza R, García I, Deplama D & López CF. 2016. Competition and growth of a grass-legume mixture fertilized with nitrogen and phosphorus: Effect on nutrient acquisition, root morphology and symbiosis with soil microorganisms. Crop & Pasture Science, 67(6):629-640.

Nyfeler D, Huguenin-Elie O, Suter M, Frossard E, Connolly J & Lüscher A. 2009. Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding. Journal of Applied Ecology 46(3):638–691.

Nyfeler D, Huguenin-Elie O, Suter M, Frossard E & Lüscher A. 2011. Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources. Agriculture, Ecosystems & Environment 140:155–163.