

**CARENCIA DE MICRONUTRIENTES EN RUMIANTES.
SUPLEMENTACIÓN ALTERNATIVA MEDIANTE EL
ENRIQUECIMIENTO DE FORRAJES.**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Área
Ciencias Veterinarias*

Ramos María Laura
Veterinaria - UBA - 2010

Directora de tesis
Dra. Alicia Fernández Cirelli

Co-director de tesis
Dr. Carlos Hernán Moscuza

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones en Producción Animal (**INPA-UBA-
CONICET**)

Centro de estudios Transdisciplinarios del Agua (**CETA-FVET-UBA**).



Escuela para Graduados "Dr. Ernesto G. Capaul"
Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad de Buenos Aires



Dedicatoria

A mi mamá Irma

A mi papá Dardo y mi hermana Eva

Agradecimientos

Agradezco a la Dra. Alicia Fernández Cirelli, quien confió en mi inquietud y mis ganas por aprender, y de la cual admiro su capacidad de trabajo, su agilidad e inteligencia, su fuerza y su permanente estímulo para llevar a cabo este proyecto.

A mi papá, a mi hermana, a Tobías, mis familiares y amigos quienes me han acompañado permanentemente en este camino y me han dado fuerzas siempre para seguir adelante.

Al Dr. Carlos Hernán Moscuza, por su colaboración y asesoramiento en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Alejandra Volpedo y el Dr. Alejo Pérez Carrera, quienes con su experiencia han estado siempre acompañando y guiándome en este proyecto desde el conocimiento.

A mis compañeros y amigos, Fernanda Jimena Vázquez, Roberta Callicó Fortunato, Cinthya Corroto, Esteban Avigliano, Natalia Yoshida, Nahuel Schenone, Juan José Troncoso, Melina Álvarez, Julián Rodríguez Vida, Flavia Arellano, Fernanda Biolé. A todos ellos gracias, por ayudarme y trabajar conmigo codo a codo, por estar ahí siempre en las buenas y malas, para aconsejarme y trabajar la tierra como si este trabajo fuera suyo también, gracias solo gracias.

Por los consejos, asesoramientos permanentes y desinteresados del Dr. Diego Grassi, quien estuvo ahí para ayudarme en este nuevo mundo que la química significaba para mí.

A todo el personal docente y no docente de la cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas la cual siempre ha sido como mi segunda casa. Al Instituto de Investigaciones en Producción Animal y Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua.

Al Dr. Gustavo Jaurena y la Dra. Marisa Wawrzkievicz, quienes me ofrecieron desinteresadamente todo su apoyo y me facilitaron todo lo que estaba a su alcance para el desarrollo de parte de este proyecto. Al personal docente y no docente de la Cátedra de Nutrición y Alimentación Animal, FAUBA por su enorme colaboración.

Resumen

El crecimiento demográfico y la creciente demanda de alimentos de origen animal han originado una intensificación de los sistemas de producción ganadera. La aplicación de excretas de feedlot como fertilizantes a suelos agrícolas es una fuente relevante de incorporación de metales al suelo, debido principalmente a la suplementación mineral en las raciones de los animales engordados en confinamiento. En los sistemas pastoriles de producción ganadera, los proveedores naturales de minerales son las pasturas y el agua de bebida. Por lo tanto, la fertilización de los forrajes que consumen los bovinos con enmiendas orgánicas ricas en elementos traza, se presenta como una alternativa a la suplementación animal de minerales usualmente realizada vía sistémica.

El objetivo general del presente trabajo de Tesis Doctoral ha sido evaluar el enriquecimiento de forrajes destinados a rumiantes con micronutrientes mediante la aplicación de enmiendas orgánicas y su absorción a nivel ruminal.

Los contenidos del trabajo de tesis incluyen:

- a) Micronutrientes en excretas de sistemas intensivo de engorde bovino. En este Capítulo se evaluó en primer lugar, la evolución de la ganadería hacia la intensificación de sistemas ganaderos. Posteriormente se analizaron características generales de los sistemas intensivos de producción, producción de excretas y análisis de su composición, haciendo énfasis en el contenido total y biodisponibilidad de micronutrientes (Cu, Zn, Co y Mo).
- b) Carencia de micronutrientes en sistemas extensivos de ganadería bovina. En este Capítulo se realizó una revisión de los factores determinantes de carencias minerales y una descripción de los cuadros carenciales de presentación frecuente en nuestro país. Así mismo, se evaluó el contenido total y la biodisponibilidad de micronutrientes (Cu, Zn, Co, Mo y Se) en suelos de la provincia de Buenos Aires donde fue reportada la carencia.
- c) Enriquecimiento de forrajes con micronutrientes: prueba preliminar de fertilización en microcosmos y ensayo en parcelas. En estos capítulos, se presentan ensayos de fertilización, donde se utilizan excretas provenientes de sistemas intensivos de producción, ricas en micronutrientes (Cu y Zn), como enmiendas orgánicas.

- d) Metabolismo de micronutrientes en rumiantes. En este Capítulo se evalúa la liberación en rumen de elementos minerales (Cu y Zn), a partir de mezclas forrajeras con y sin tratamiento de fertilización con micronutrientes.

Los resultados obtenidos a partir de los estudios realizados permiten concluir:

- Las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina, presentan altos contenidos totales de Cu y Zn provenientes de la dieta. A partir del fraccionamiento secuencial de las mismas; se determinó un mayor porcentaje de fracción soluble o intercambiable de elementos traza respecto de excretas provenientes de sistemas extensivos de producción sin suplementación mineral.
- Las muestras de suelos analizadas, presentaron valores de concentración total Cu, Zn y Se cercanos al límite inferior del rango considerado normal para suelos agrícolas, perteneciendo las mismas a zonas de la Región Pampeana donde se reportó la carencia de dichos minerales. Así mismo, a partir del fraccionamiento secuencial, se determinó que las muestras de suelo analizadas presentaron baja disponibilidad de Cu, Co y Mo; mientras que para Zn la biodisponibilidad varió considerablemente entre las distintas muestras.
- A partir de la prueba preliminar de fertilización en macetas, se obtuvieron respuestas positivas al agregado de excretas como enmiendas orgánicas, habiéndose observado un incremento en el porcentaje de materia seca determinada por maceta, y una mejora en los parámetros de crecimientos de las especies forrajeras utilizadas (raigrás perenne y trébol blanco).
- La incorporación de excretas provenientes de sistemas intensivo de producción, permite incrementar las concentraciones de Cu y Zn en la biomasa foliar de las especies forrajeras analizadas, 30 días post siembra de las mismas. Esta mayor asimilación de dichos metales traza, se ve favorecido por el mayor contenido total y mayor porcentaje de fracción soluble de dichos metales traza, aportado por las excretas a los suelos.
- A partir de los resultados obtenidos del ensayo de fertilización en parcelas, se pudo corroborar el enriquecimiento de Cu y Zn en forrajes implantados a partir del agregado de excretas intensivas a los 30 días post aplicación de las mismas.

- Así mismo, se obtuvieron mejores respuestas a la fertilización con enmiendas orgánicas respecto al uso de fertilizantes inorgánicos (CuSO_4 – ZnSO_4), independientemente de la dosis utilizada.
- La aplicación de excretas provenientes de sistemas intensivos a los suelos como fertilizantes, promueve un efecto sobre la movilidad y liberación gradual de elementos traza desde fracciones menos disponibles para las plantas (como la fracción unida a materia orgánica e fracción inorgánica) obtenidas por fraccionamiento secuencial.
- La forma de aplicación, dosis y persistencias de sulfato de Cu y sulfato de Zn en los suelos luego de su aplicación, son factores que condicionan incorporación de dichos elementos trazas a los forrajes.
- Las concentraciones determinadas de Cu y Zn en las muestras de forrajes obtenidas en las experiencias en parcelas 30 post aplicación de los diferentes tratamientos de fertilización, permitirían cubrir los requerimientos de dichos micronutrientes en bovinos de carne, debiendo también considerarse factores del animal y del alimento.
- A tiempos de cosecha más tardíos (90 días pos aplicación de los tratamientos), se obtuvieron respuestas variables a la aplicación de enmiendas orgánicas y fuentes inorgánicas de fertilización.
- La dinámica de crecimiento de las especies forrajeras, el envejecimiento de los tejidos de las plantas y la defoliación pueden explicar las menores concentraciones de Cu y Zn en la biomasa foliar a tiempos más tardíos de cosecha independientemente del tratamiento de fertilización aplicado.
- La incubación ruminal de forrajes frescos (enriquecidos en Cu y Zn, y sin fertilización) mostró altos porcentajes de degradabilidad de la materia seca total acompañado por altos porcentajes de liberación de Cu y Zn al medio ruminal a tiempos cortos de incubación (3 – 9 horas). El secado en estufa de las muestras de forraje disminuye la degradabilidad de la materia seca incubada afectando la disponibilidad posterior de nutrientes contenidos en el alimento.

La aplicación de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina como fertilizantes, favorece la incorporación de Cu y Zn en especies forrajeras debido principalmente a los mayores contenidos y aporte de formas biodisponibles de dichos metales a los suelos. De esta forma, la reutilización de dichas enmiendas orgánicas disminuye el peligro potencial de contaminación ambiental a partir del excedente de micronutrientes eliminados en excretas; como así también permite compensar carencias de Cu y Zn en zonas de cría de ganado vacuno. El aporte de micronutrientes a partir de los forrajes, permite cubrir los requerimientos minerales del ganado vacuno; hecho favorecido por la alta tasa de liberación ruminal de elementos traza a partir de los mismos.

Abstract

The population growth and the increasing demand of animal source foods have contributed to the intensification of cattle production systems. The use of cattle manure as fertilizer in agricultural soils is an important source of metals, mainly due to the added in high rates of core mineral in animal feed in confined production systems, have resulted in corresponding rise of trace elements in manure. In cattle grazing systems, the natural sources of minerals include forage and water. Therefore, the use of organic amendments rich in trace elements for the forage employed in animal nutrition is an alternative to the mineral supplementation by intravenous injection.

The main goal of this PhD Thesis was to evaluate the enrichment of forages with micronutrients by means of organic amendment and the corresponding absorption by ruminants.

The results of the present study are presented in several chapters:

- a) Micronutrients in cattle manure coming from intensive production systems. In this Chapter, the evolution of the cattle industry towards the intensification of production systems was evaluated. In addition, the general characteristics of the intensive production systems and its effect on the composition of the manure were analysed, with special focus on the total content and bioavailability of micronutrients (Cu, Zn, Co and Mo).
- b) Micronutrients deficiency in extensive livestock production systems. In this Chapter the relevant sources of mineral deficiency were reviewed and some common deficiency cases in our country were described. Moreover, the total content and availability of micronutrients (Cu, Zn, Co, Mo and Se) were determined in soils corresponding to areas with mineral deficiency from Buenos Aires province.
- c) Forage enrichment with micronutrients: experience in plant pot and plot. In this Chapter the results from sowing tests were presented. In these tests, excrement coming from intensive production systems containing high

concentration of micronutrients (Cu and Zn) was employed as organic amendment.

d) Micronutrient metabolism in ruminants. In this Chapter, the release of minerals (Cu and Zn) in the rumen was evaluated by employing different forage mixtures with and without micronutrients fertilization.

The obtained results in the different tests conducted during this study led to the following conclusions:

- The cattle manure coming from intensive production systems presented high total content of Cu and Zn related with the feed consumed by livestock. The sequential extraction for the speciation of these trace metals revealed a higher percentage of the soluble or exchangeable fractions compared with excrement obtained from extensive production systems without the use of mineral supplements.
- The soil samples analysed presented Cu, Zn and Se concentration close to the lower limit of the normal range for agricultural land. The aforementioned samples were obtained from the Pampa area where a deficiency of such metals was reported. In addition, the sequential extraction showed that these soil samples contained low concentration of bioavailable Cu, Co and Mo whereas the concentration of bioavailable Zn changed significantly among the different samples measured.
- The fertilization in plant pot showed positive results from the addition of cattle manure as organic amendments. An increase in the percentage of dry matter and an improvement in the growing parameters of the forage species employed were observed (*Lolium Perenne* and *Trifolium Repens*).
- The addition of intensive cattle manure led to an increase in Cu and Zn concentration in the foliar biomass of the forage species analysed after 30 days from the sowing time. The increased uptake is favoured by the higher total content and the higher percentage of soluble fraction of such trace metals, provided by the excrement addition.

- The results obtained in the fertilization tests showed the enrichment in Cu and Zn in the forages treated with excrement from intensive systems after 30 days from the sowing.
- Besides, the response to the fertilization with organic amendments was better compared with the use of inorganic fertilizers ($\text{CuSO}_4 - \text{ZnSO}_4$), regardless of the employed dosage.
- The use of cattle manure coming from intensive production systems as fertilizers promoted the mobility and gradual release of trace elements from lower bioavailable fractions for plants (such as the fraction of metal complexed to organic matter or the inorganic fraction) obtained by sequential extraction.
- The addition strategy, doses and persistence in the soils of CuSO_4 and ZnSO_4 are variables that influenced the incorporation of trace metals in the forages.
- The forage samples obtained in the tests conducted in plots 30 days after the different fertilizer treatments presented a concentration of Cu and Zn that would be adequate to cover the metal trace requirements in beef cattle. However, other variables concerning the animal and the diet should be considered.
- Later sowing times (90 days after the treatment) showed variable results to the addition of organic amendments and inorganic fertilization.
- The lower concentration of Cu and Zn in the foliar biomass measured at later sowing times for all the different fertilization treatments could be explained by the growing dynamics of the forage species, the aging of plant tissues and defoliation process.
- The ruminal incubation of fresh forages (enriched with CuSO_4 and ZnSO_4 and without fertilization) showed high percentages of total dry matter degradability and high release percentages of Cu and Zn into the rumen at short incubation times (3 – 9 h). Drying of the forage samples in an oven led to

a decrease in the dry matter degradability modifying the subsequent bioavailability of the nutrients.

The use of cattle manure coming from intensive production systems as fertilizer contributed the uptake of Cu and Zn in forage species mainly due to the higher concentration and the higher content of bioavailable fractions of such trace metals in soils. Therefore, the use of those organic amendments reduces the risk of environmental pollution due to the excess of micronutrients. In addition, Cu and Zn deficiencies could be balanced in different cattle production areas. The micronutrients contribution to forage can supply the required minerals for cattle production, favoured by the high level of trace elements release in the rumen.

Índice general

Dedicatoria	I
Agradecimientos	II
Resumen	III
Abstract	VII
Índice general	XI
Introducción	1
Hipótesis	2
Objetivos	3
Capítulo 1.	4
Micronutrientes en excretas de sistemas intensivos de engorde bovino	4
1.1. Introducción	4
1.1.1. Evolución de la ganadería en la Argentina hacia la intensificación de los sistemas de producción.	4
1.1.2. Los sistemas tradicionales de producción de carne bovina	7
1.1.3. Los sistemas intensivos de engorde bovino-: distribución y características generales.	10
1.1.4. Importancia de la producción de excretas en sistemas intensivos de producción y su composición.....	18
1.1.5. Los micronutrientes en las excretas	20
1.2. Materiales y Métodos	26
1.2.1. Toma de muestras y caracterización fisicoquímica de excretas bovinas	26
1.2.2. Determinación del contenido total y fraccionamiento secuencial de elementos traza en excretas	27
1.3. Resultados y discusión	29
1.3.1. Características fisicoquímicas de las muestras de excretas.....	29
1.3.2. Contenido total de micronutrientes en excretas	30
1.3.3. Estimación de la excreción de Cu, Zn, Co y Mo en sistemas intensivos de engorde bovino	32
1.3.4. Estimación del riesgo de acumulación de metales traza en suelos a partir de la aplicación de excretas provenientes de SI como enmiendas orgánicas	35
1.3.5. Análisis de biodisponibilidad de elementos traza en muestras de excretas	38
1.4. Conclusiones preliminares	43
1.5. Referencias	44
Capítulo 2.	50
Carencias de micronutrientes en sistemas extensivos de ganadería bovina	50
2.1. Introducción	50

2.1.1.	Factores que condicionan la presentación de cuadros de carencias minerales.....	51
2.1.2.	Principales carencias de micronutrientes que afectan los sistemas extensivos de producción ganadera en la Argentina	54
2.2.	Materiales y Métodos	71
2.2.1.	Sitio de muestreo.....	71
2.2.2.	Toma de muestras.....	74
2.2.3.	Caracterización físico química de las muestras	75
2.2.4.	Determinación del contenido total y fraccionamiento secuencial de elementos traza en muestras de suelo	77
2.3.	Resultados y discusión	78
2.3.1.	Características físico químicas de las muestras de suelo	78
2.3.2.	Contenido total de micronutrientes en suelos	84
2.3.3.	Análisis de la biodisponibilidad de Cu, Zn, Co, Mo en las muestras de suelo	87
2.3.4.	Cálculo de la tasa de aplicación de fertilizantes orgánicos según deficiencias minerales ⁹⁷	
2.4.	Conclusiones preliminares	101
2.5.	Referencias	102
Capítulo 3.	113
Enriquecimiento de forrajes con micronutrientes: experiencia en macetas		113
3.1.	Introducción.....	113
3.1.2.	Las pasturas como fuente de alimentación para el ganado.....	115
3.1.3.	La fertilización como estrategia de reposición de nutrientes	121
3.1.4.	Fertilización de cultivos con micronutrientes.....	124
3.2.	Materiales y Métodos	131
3.2.1.	Experiencia de fertilización en macetas	131
3.3.	Resultados y discusión	136
3.3.1.	Producción de biomasa y parámetros de crecimiento	136
3.3.2.	Concentración de cobre y zinc en forrajes	146
3.4.	Conclusiones preliminares	162
3.5.	Referencias	164
Capítulo 4.	172
Enriquecimiento de forrajes con micronutrientes: experiencia en parcelas		172
4.1.	Introducción.....	172
4.1.1.	Respuesta a la fertilización de cultivos implantados con micronutrientes	173
4.2.	Materiales y métodos.....	176
4.2.1.	Experiencia de fertilización en parcelas	176
4.3.	Resultados y discusión	180
4.3.1.	Concentración de Cu y Zn en la biomasa aérea a los 30 días (C1)	180
4.3.2.	Concentración de Cu y Zn en la biomasa aérea foliar a los 90 días (C2)	186

4.4. Conclusiones preliminares	197
4.5. Referencias	198
Capítulo 5.	203
Metabolismo de micronutrientes en rumiantes	203
5.1. Introducción	203
5.1.1. Aspectos generales del metabolismo del Cu y Zn en rumiantes	204
5.1.2. Factores del alimento que influyen en la utilización de cobre y zinc	208
5.2. Materiales y métodos	212
5.2.1. Animales y tratamientos	212
5.2.2. Ensayo de degradabilidad in situ o in sacco	213
5.3. Resultados y discusión	214
5.3.1. Desaparición de la materia seca en rumen.....	214
5.3.2. Desaparición de Cu y Zn en rumen.....	221
5.4. Conclusiones preliminares	226
5.5. Referencias	228
Conclusiones finales	235
Índice de cuadros	241
Índice de figuras	245

Introducción

El incremento de la superficie de tierra destinada al cultivo de soja trajo aparejado la sustitución de otros cultivos, habilitación de tierras a partir del desmonte y desplazamiento de la ganadería. Los sistemas de engorde intensivo bovino fueron desarrollados como una alternativa viable a la disminución del área destinada a la siembra y al engorde extensivo de ganado. Las excretas provenientes de sistemas de producción bovina, han sido utilizadas para mejorar la calidad de los suelos y para reciclar fósforo, carbono y nitrógeno, nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas. El uso de suplementos minerales como aditivos en la alimentación de bovinos criados en forma intensiva, determina la eliminación de determinados metales (Cu y Zn) vía excretas. Su acumulación tiene un efecto potencialmente negativo sobre el ambiente. En los sistemas pastoriles de producción ganadera, los proveedores naturales de minerales son las pasturas y el agua de bebida. Por lo tanto, la fertilización de los forrajes que consumen los bovinos con enmiendas orgánicas ricas en minerales (Cu y Zn), para que una vez que sean incorporados al vegetal, el animal pueda ingerirlos, se presenta como una alternativa a la suplementación animal de minerales usualmente realizada vía sistémica.

Se presentan a continuación las hipótesis y objetivos inicialmente propuestos para el desarrollo de esta tesis doctoral.

Hipótesis

- Los niveles de micronutrientes en forrajes están condicionados por factores físico-químicos del suelo que alteran su biodisponibilidad.
- Las condiciones del ambiente ruminal afectan la biodisponibilidad de micronutrientes.
- Las interacciones entre elementos traza, cationes y aniones mayoritarios afecta la biodisponibilidad de micronutrientes.
- El uso de excretas sólidas procedentes de sistemas intensivos de producción bovina como fertilizante de cultivos forrajeros, es una alternativa de suplementación de micronutrientes en sistemas pastoriles de producción ganadera.

Objetivos

En los últimos años, la deficiencia de micronutrientes se presenta naturalmente en suelos de la región pampeana como consecuencia de un agotamiento de las formas fitodisponibles de los micronutrientes en los suelos. Los sistemas de engorde bovino en confinamiento utilizan alimento balanceado al que se incorpora un núcleo vitamínico-mineral. El excedente de elementos traza que no son incorporados a través del alimento, es eliminado a través de las excretas hacia el medio ambiente. La reutilización de las excretas procedentes de estos sistemas como fuente de fertilización orgánica podría reducir el riesgo de contaminación y a su vez compensar las carencias de estos micronutrientes en suelos destinados a la implantación de forrajes para consumo del ganado.

En el marco de las hipótesis anteriormente descritas se plantean los siguientes objetivos:

- Objetivo general

Evaluar el enriquecimiento de forrajes destinados a rumiantes con micronutrientes mediante la aplicación de enmiendas orgánicas y su absorción a nivel ruminal.

- Objetivos específicos
 - Determinar niveles y biodisponibilidad de micronutrientes en excretas procedentes de sistemas intensivos de producción bovina.
 - Determinar niveles y biodisponibilidad de micronutrientes en suelos, agua de bebida y forrajes en zonas de emplazamiento de sistemas extensivos de producción de rumiantes.
 - Evaluar el enriquecimiento de forrajes con micronutrientes mediante la fertilización con excretas procedentes de sistemas intensivos de producción bovina y los factores que modifican su biodisponibilidad.
 - Evaluar interacciones entre micronutrientes contenidos en suelo y agua que interfieran con el enriquecimiento de los forrajes.
 - Analizar la absorción ruminal de micronutrientes contenidos en forrajes.
 - Evaluar interacciones entre micronutrientes contenidos en forrajes y agua de bebida que interfieran con la absorción en el ambiente ruminal.

Capítulo 1.

Micronutrientes en excretas de sistemas intensivos de engorde bovino

1.1. Introducción

1.1.1. Evolución de la ganadería en la Argentina hacia la intensificación de los sistemas de producción.

El stock de bovinos de la Argentina en los últimos cinco años ha representado alrededor del 5, 5% del stock mundial (MinAgri, 2014). Aproximadamente, el 90% del ganado total del país está relacionado a la producción de carne (INDEC, 2010). Durante los últimos diez años, la ganadería bovina mantuvo su stock de cabezas en aproximadamente 51 millones (MinAgri, 2014; INDEC 2014) (Figura 1.1).

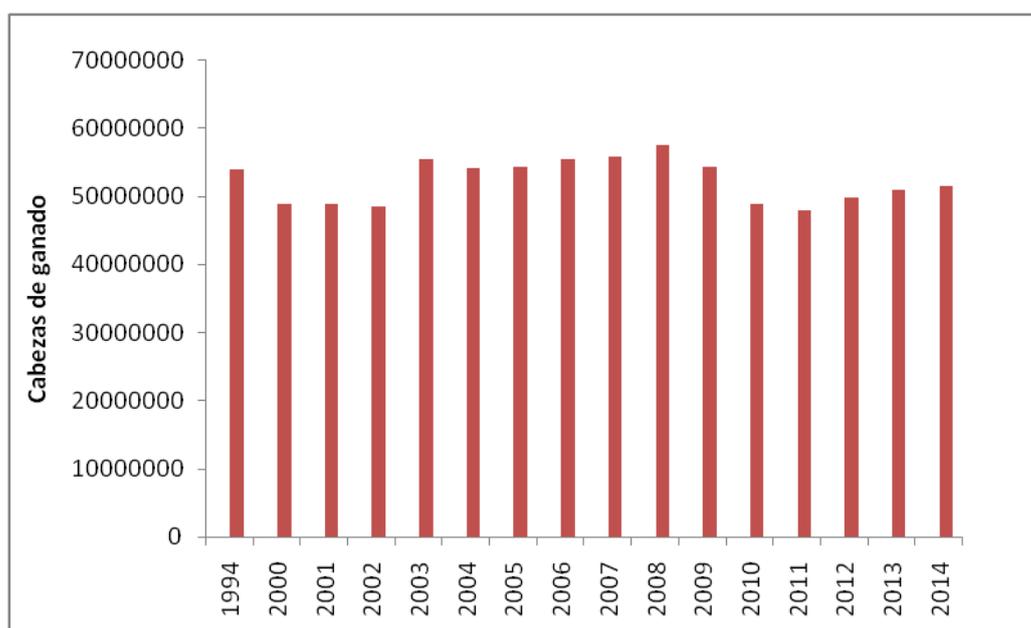


Figura 1.1 Evolución del stock ganadero (en cabezas de ganado) 1994-2014. Elaboración propia a partir de datos del MinAgri 2014 e INDEC 2014

El ganado bovino se encuentra distribuido en todo el país, sin embargo, las condiciones agroecológicas cambiantes condicionan la implementación de los diferentes sistemas de producción de carne y la densidad animal. Esto permite considerar cinco grandes regiones ganaderas: Región pampeana, Región Noroeste (NOA), Región Noreste (NEA), Región de Cuyo y Patagonia.

Como se observa en la Figura 1.2, la región Pampeana es la región ganadera principal con un 53%, seguida por NEA y NOA que en conjunto suman un 40%, completando el 10% restante las regiones de Cuyo y Patagónica (INDEC, 2014).

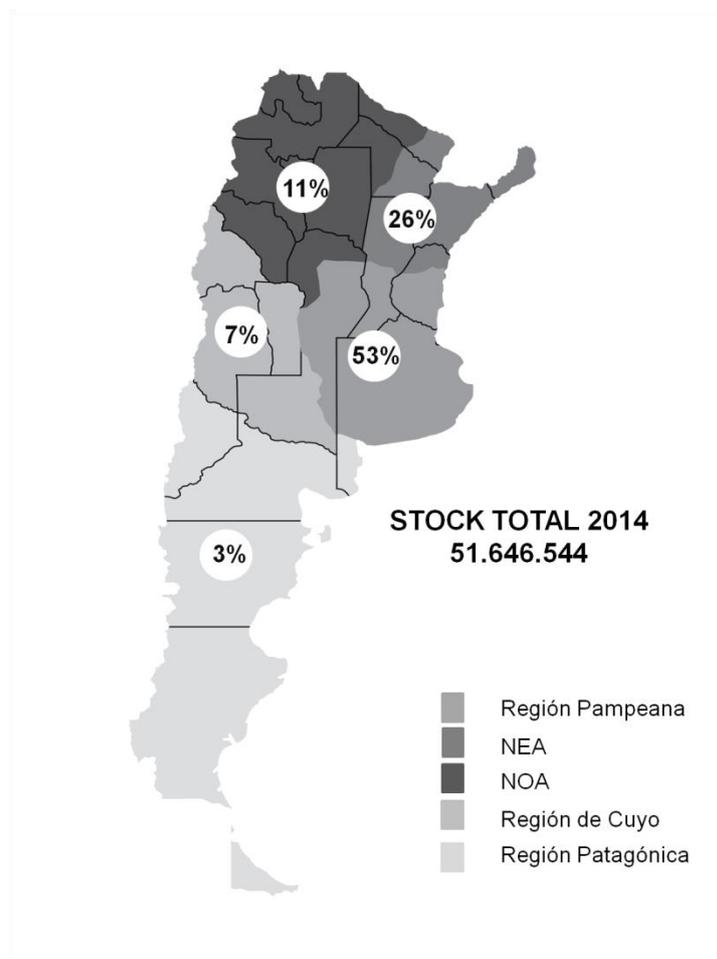


Figura 1.2 Distribución (en porcentaje) del stock ganadero según regiones geográficas de la República Argentina. Datos provenientes de INDEC (2014).

Si bien la disminución del stock ganadero a nivel nacional no ha sido muy demarcada en estos últimos años, se han registrado algunos cambios cuantitativos en las distintas regiones. La Región Pampeana es en la que se observan las pérdidas más importantes durante el período 2008 – 2011 (18% de su stock). La misma tendencia se observa en el NEA, la segunda región ganadera del país, con el 26% del stock; aquí la merma fue de un 15%. Como hecho destacable surge que las regiones con mayor participación en el stock nacional perdieron entre un 15 y 18% de su hacienda (casi 8 millones de cabezas) y que la disminución del stock de la región Pampeana (5, 6 m) es mayor a la disminución del stock de las otras cuatro regiones juntas (4, 3 m).

Las provincias que albergan el mayor porcentaje de bovinos (Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba) a su vez concentran la mayor parte de las actividades de cría, engorde y producción de leche. Así mismo, si analizamos la evolución del stock ganadero desde 2008 hasta la actualidad, dichas provincias han presentado las mermas más importantes (Figura 1.3).

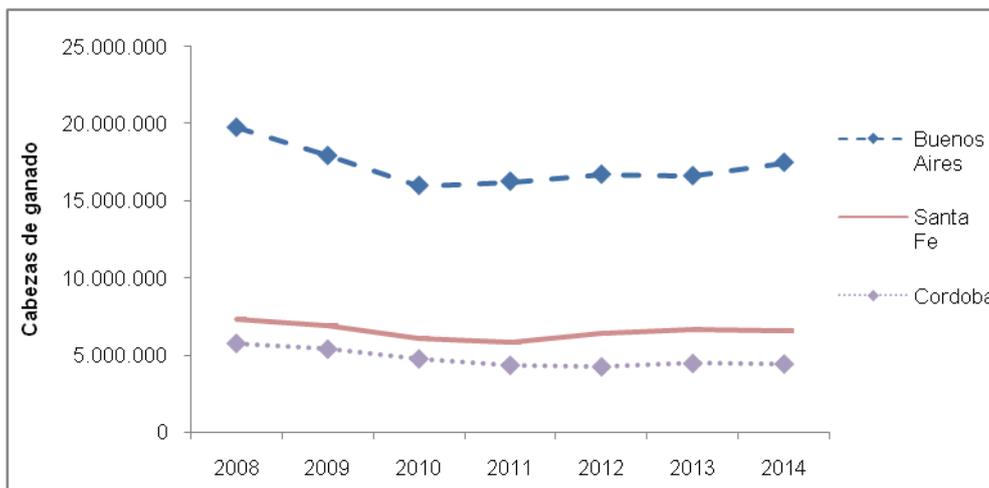


Figura 1.3 Evolución del stock ganadero según provincias (2008 – 2014). Elaboración propia a partir de datos del MinAgri 2014.

Las variables que han influido para que se presente una mayor concentración de ganado en estas zonas son de índole climática, edáfica y político-social. Estas provincias presentan climas templados y subtropicales con lluvias que permiten el desarrollo de pastizales, pasturas y verdeos que representan el sustento nutricional de la ganadería en su conjunto. Además, se localizan los centros urbanos más poblados y los puertos, dos particularidades que favorecen el comercio de la carne con destino al consumo interno y exportación (Moscuza, 2009).

La cría o producción de terneros, es la actividad ganadera más relevante en las Regiones extra pampeanas (Figura 1.4). Esto es posible ya que los requerimientos nutricionales de las hembras gestantes son bajos en relación a los requerimientos nutricionales de los animales en engorde, exceptuando el último tercio de gestación.

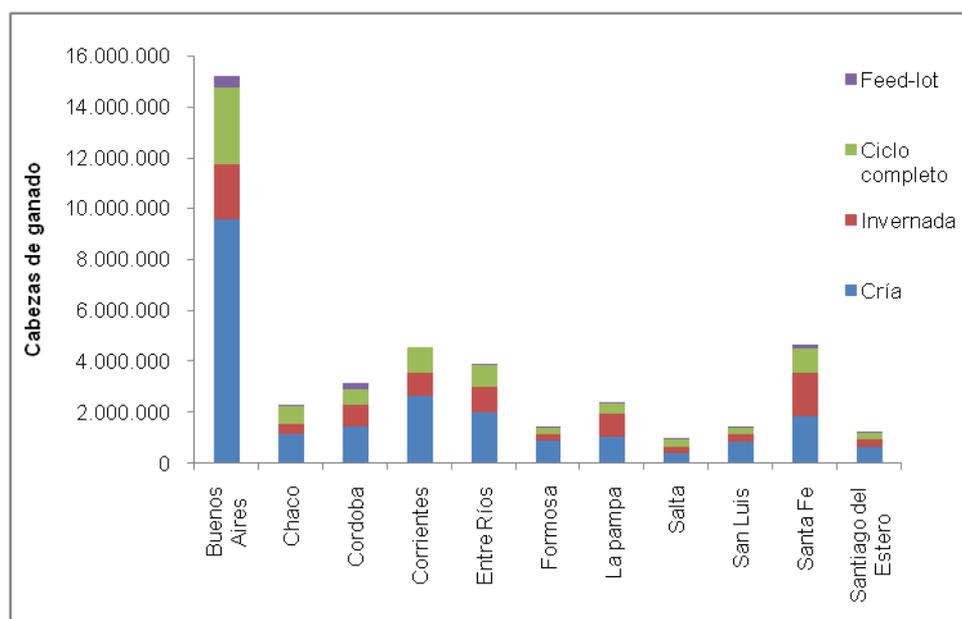


Figura 1.4 Stock ganadero por provincia discriminado por el tipo de actividad ganadera. Elaboración propia a partir de datos de INDEC, 2010.

1.1.2. Los sistemas tradicionales de producción de carne bovina

La producción de carne en Argentina se basa en el pastoreo directo de pastizales naturales y pasturas cultivadas, suministrando alimentos procesados o concentrados sólo por cortos períodos de tiempo cuando los nutrientes aportados por las pasturas resultan insuficientes para satisfacer los requerimientos de los animales (Rearte, 2007; 2010). El sector primario de producción de carne bovina está compuesto por dos actividades: la cría y la recría-engorde.

Actividad de cría

La actividad de cría tiene por objetivo principal la producción de terneros/as siendo su principal destino el engorde para la producción de carne. Algunas hembras se mantienen en los rodeos para recría y reposición de vientres. Las vacas permanecen todo el año en pastoreo, paren naturalmente y sin asistencia directamente en el potrero. El manejo básico de un rodeo de cría consta de concentrar las pariciones al inicio de la primavera, en coincidencia con uno de los momentos de mayor oferta forrajera de pastizales naturales y pasturas implantadas (anuales o perennes). En primavera las vacas disponen de abundante forraje de calidad lo que les permite recuperar el peso y la condición corporal perdida durante el invierno para poder reiniciar la actividad ovárica post-parto y manifestar estros en el menor tiempo posible. Luego de un período de gestación de nueve meses y, bajo condiciones adecuadas de

alimentación, las vacas pueden expresar celo nuevamente, alrededor de los 50 días post-parto, repitiéndose cada 21 días, hasta la nueva preñez. Por lo tanto, una vaca producirá potencialmente un ternero por año. El servicio natural con toros se realiza a campo durante la primavera e inicio del verano. La práctica de inseminación artificial es común sólo en los productores más avanzados (Carrillo, 2008).

La productividad de la cría en la Región Pampeana promedia los 70-80 kg/ha/año, sin embargo los productores más eficientes llegan a producir 150-200 kg/ha/año (MinAgri, 2014). Los mejores índices productivos se logran a través de un mejor manejo sanitario y nutricional. En estos casos la alimentación del rodeo se basa en un porcentaje variable de pasturas cultivadas que producen 3-4 veces más que el pastizal natural.

Invernada (recría y engorde)

La actividad ganadera de base pastoril cuya finalidad es lograr el desarrollo adecuado de distintas categorías bovinas llevándolas a condiciones óptimas de faena se denomina genéricamente invernada. A fin de lograr que los animales sean recriados y engordados más eficientemente, esta actividad se desarrolla en zonas de mejores suelos y clima donde la producción y calidad de las pasturas es superior. De acuerdo al tipo de animal y el grado de intensificación del sistema, será el tiempo en el cual un novillo alcance el grado de terminación adecuado, logrando así niveles de producción biológicamente factibles y económicamente viables (Rearte, 2007; Alvarado, 2011).

El uso de pasturas de alta calidad permite satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales en pastoreo quedando esto limitado por la producción estacional de forraje. Una pradera implantada puede llegar a producir entre 4-5 a 12-15 toneladas MS/año, dependiendo esta variabilidad, a su vez, de las especies forrajeras implantadas, el nivel de fertilización aplicado, y las condiciones de suelo y clima (Elizalde y Santini, 1992). Avena, centeno y cebada son las especies forrajeras anuales utilizadas durante el invierno y sorgo o maíz durante el verano. Las principales especies incorporadas en las pasturas son *Festuca arundinacea*, *Dactylis glomerata*, *Phalaris aquatica* L., *Lolium perenne*, *Bromus sp.*, *Agropyron elongatum*, etc. entre las gramíneas y *Trifolium pratense*, *Trifolium Repens*, *Medicago sativa*, *Melilotus officinales*, etc., entre las leguminosas. Otro factor limitante es el potencial de producción de una pastura nueva comparada con una pradera degradada, un aspecto bastante característico de las praderas de la pampa húmeda (Rearte, 2003).

Los sistemas pastoriles han sido intensificados en la última década aumentando la producción forrajera y la carga animal a través de la fertilización nitrogenada y la suplementación estratégica con silo de maíz y/o concentrado, pero manteniendo al forraje proveniente del pastoreo como principal componente de la dieta. Cuando la producción de forraje disminuye, como por ejemplo ocurre en invierno, los animales pueden ser suplementados a fin de mantener la producción de carne obtenida (Riffel y Elizalde, 2011). En estos casos, el suplemento adicionará nutrientes al animal y la ganancia de peso obtenida será un reflejo de la calidad de forraje base y la calidad del suplemento. La ganancia de peso promedio diaria es de 0.4-0.5 kg/día pero variable a través del año. La productividad promedio de la invernada alcanzada en sistemas netamente pastoriles es de 550-600 kg/ha/año, llegando a valores de 800 kg/ha/año en sistemas con suplementación estratégica (Di Marco, 2004).

Las provincias que actualmente concentran la mayor cantidad de bovinos engordados en condiciones extensivas son Buenos Aires y Santa Fe; siendo Entre Ríos, La pampa y Córdoba provincias que también albergan gran parte del stock bovino en invernada (Figura 1.5).

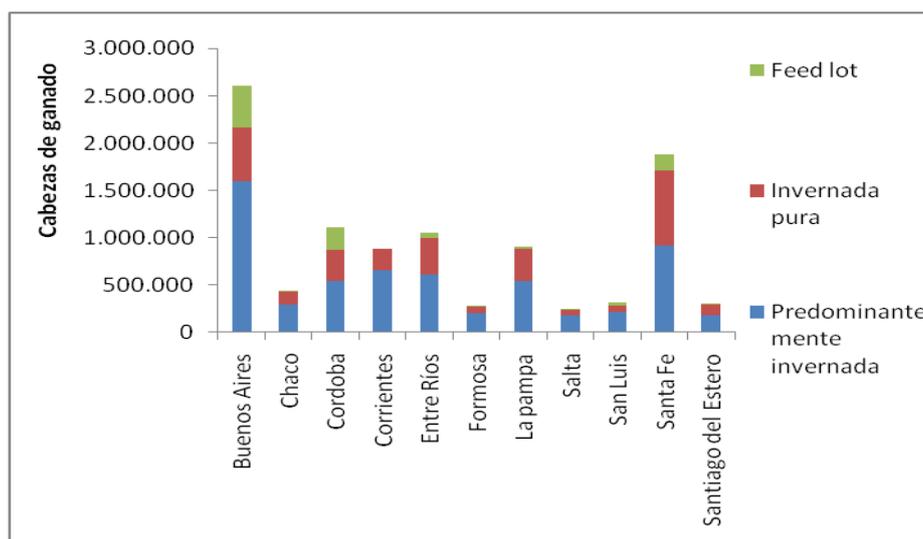


Figura 1.5 Distribución del ganado bovino según tipo de sistema de engorde. Elaboración propia a partir de datos de SENASA 2010.

La edad, el sexo del animal y su tipo (raza o cruce), son factores del animal que están muy vinculados a la ganancia de peso y a su comportamiento para producir en condiciones de pastoreo. La máxima respuesta en ganancia de peso se obtiene en el momento de inicio de la etapa reproductiva entre los 8 y 12 meses. Hasta el año de edad el novillo está genéticamente capacitado para alcanzar la mitad de su peso

adulto. Entre los 12 y 18 meses, el potencial de crecimiento también es alto. El ternero de destete hasta el año de edad es la categoría que mejor convierte el forraje, si éste no es deficitario en algún nutriente.

1.1.3. Los sistemas intensivos de engorde bovino-: distribución y características generales.

El engorde intensivo de bovinos ha sido en nuestro país una alternativa para la producción de carne durante los últimos 20 años. En algunos casos es utilizado para convertir granos a carne si económicamente la conversión es factible, y en otros se lo incluye en el conjunto del sistema de producción para liberar lotes, eliminar cultivos forrajeros de las rotaciones de suelos, incrementar la carga y cantidad de animales, asegurar la terminación y la salida, la edad a faena, manejar flujos financieros, diversificar la producción, etc. (Pordomingo, 2013).

Actualmente en Argentina este tipo de sistemas de producción ha ido creciendo y se ha ido instalando en varias regiones del país. Según datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, al año 2011 el 52% del stock total de bovinos a nivel nacional fue engordado en sistemas intensivos. Sin embargo, cuando se analiza el porcentaje de bovinos engordados a corral en relación a la actividad de invernada en las provincias que presentan el mayor stock de bovinos acumulados, se observa que sólo 1.005.827 de bovinos son engordados con sistemas intensivos, mientras 3.102.080 de bovinos por sistemas de invernada tradicional. El 85 % de los animales terminados en sistemas intensivos de engorde a corral corresponden a establecimientos emplazados en sólo tres provincias, Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. En menor medida, las provincias de Entre Ríos, San Luis y La Pampa nuclea el 10, 7% del total de animales engordados a corral (Figura 1.6).

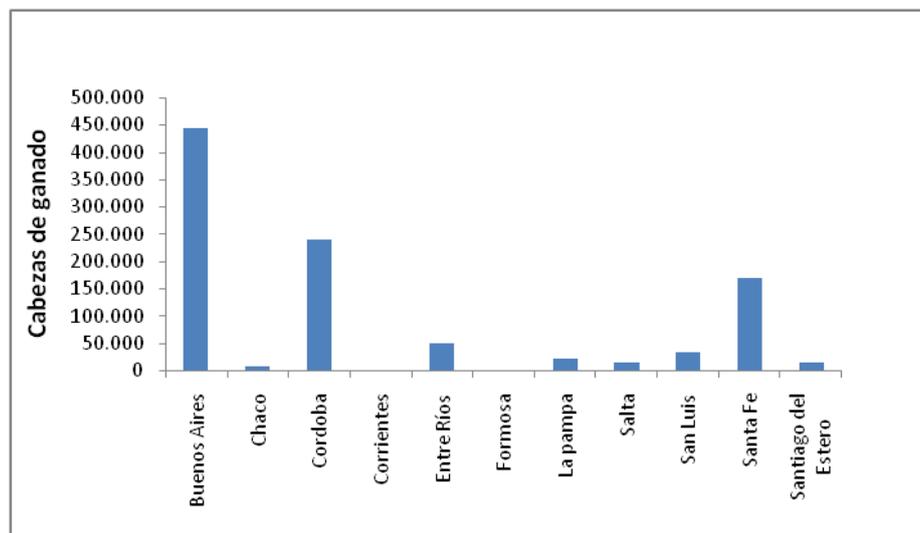


Figura 1.6 Existencias de animales engordados a corral por provincia. Elaboración propia a partir de datos de MAGyP-SENASA, 2011.

Se define *feedlot* a un área confinada con comodidades adecuadas para una alimentación completa con propósitos productivos. Esta definición no incluye encierres temporarios para destetar terneros, encierres por emergencias sanitarias, climáticas, u otros encierres transitorios. Las instalaciones para acopio, procesado y distribución de alimentos se las considera parte de la estructura del *feedlot* (NSW Agriculture, 1998; Sweeten, 2000).

Las instalaciones

En Argentina, los diseños implementados son de baja infraestructura, basados en pisos de tierra compactada con mayor superficie por animal, localizados en ambientes secos. Se prefieren regiones con bajas precipitaciones anuales (menos de 750 mm anuales) y con lluvias de baja intensidad a fin de reducir el riesgo de anegamiento; combinando con terrenos donde el drenaje natural es bueno. El piso debe poseer una pendiente general que debería no superar el 4 % en el sentido opuesto a la ubicación del comedero y no ser menor del 2% para que el agua de lluvia y excrementos líquidos tenga una salida rápida del corral (Lawrence *et al.*, 2001). El suelo debería ser el más firme posible para que los efluentes líquidos movilizados por la lluvia no infiltren o infiltren poco. En primer lugar la infiltración provoca anegamientos y compromete el espacio disponible para el animal, dificulta el movimiento de los animales y expone a afecciones de patas y de prepucio por estar en contacto con ese medio húmedo y sucio permanentemente. El anegamiento afecta además al consumo y a la eficiencia

de conversión. Los animales comen menos y convierten ineficientemente debido a la dificultad y el gasto energético que se produce al deambular en un medio anegado. En segundo lugar, la infiltración genera lixiviación de contaminantes, transportando elementos excretados vía heces y orina, como nitrógeno, azufre, magnesio, sodio y potasio, contaminantes potenciales de aguas subterráneas. Es importante remarcar que en aquellos corrales que no presentan una pendiente marcada, se hace necesario recurrir a lomas (2 m de ancho y 1 m de altura en el centro) dentro de los mismos para mantener áreas bien drenadas (Pordomingo, 2013).

Debe tenerse en cuenta la distancia de cuencas hídricas (al menos de 1 km) como así también la distancia a centros urbanos y recreativos (más de 8 km), debido al escurrimiento superficial, y los olores y polvos. La distancia a vías de alto tránsito está asociada a la seguridad pública y al concepto de paisaje. La mejor opción es la instalación del *feedlot* a una distancia prudencial de las rutas asfaltadas, sugerida de al menos de 3 km (Pordomingo, 2003).

Moscuzza (2009) efectuó un relevamiento de establecimientos intensivos tipo en las provincias de Buenos Aires y San Luis. A partir del mismo, describe la distribución espacial de los componentes de un sistema intensivo de engorde bovino, en donde los corrales de engorde se disponen en forma de serie consecutiva, con otra serie de corrales dispuestos en imagen especular, separados entre sí por una calle destinada a la distribución del alimento mediante un camión tolva. Éstas calles denominadas "limpias", debieran corresponderse con los sectores más altos del predio, con drenaje en un sentido (alejándose de las instalaciones de preparación de alimentos y de alto tránsito) y abovedadas para que no acumulen agua y barro. Los corrales donde los animales pasan la mayor parte del tiempo y donde son alimentados deberían contar con una superficie mínima de 15-20 m² por animal. Los corrales de encierro permanente deberían planearse para tamaños de lotes no mayores de 250 animales livianos (novillitos o vaquillonas) y no más de 200 novillos grandes en terminación (NSW Agriculture, 1998). Es muy importante armar lotes parejos. De poder planearse la forma, se sugiere que los corrales sean de 60 m de frente por 50 o 60 m de fondo. A su vez, las calles por las que transitan los animales (o calles sucias) hacia los corrales de alimentación o viceversa son calles que se deberían ubicar sobre el lado opuesto a los comederos. Éstas suelen localizarse en áreas bajas coincidentes con la recolección de efluentes líquidos de los corrales. A sus lados debieran planearse los canales colectores del drenaje de los corrales en tránsito hacia una laguna de decantación o sectores de anegamiento (Pordomingo, 2003). También poseen una

serie de corrales denominados de “recepción” donde se realiza el ingreso y egreso de los animales al establecimiento, y corrales “sanitarios” que mantienen a los animales enfermos separados de los animales en engorde. Las instalaciones de manejo de los animales (manga) y la balanza, están siempre emplazados en relación a los corrales de “recepción y sanitarios”. La planta de alimentación presenta infraestructura de almacenamiento (silos y pistas) y procesamiento (*mixer*) de alimentos.

La alimentación en el *feedlot*

En la Argentina, la mayoría de los *feedlots* elaboran su propio alimento. Todos éstos establecimientos poseen la maquinaria específica para el armado de la ración diaria donde se mezcla el grano (molido, aplastado o entero) con un concentrado proteico (concentrados comerciales, o subproductos de la industria aceitera como la harina de girasol, de soja o de semilla de algodón) y un núcleo vitamínico-mineral que provee los macro y microminerales; a los que se les suma una fuente de fibra en forma de rollo, heno (ofrecido entero, desmenuzado o molido) o en forma de ensilajes. Frecuentemente se agrega urea para aportar nitrógeno, promover la producción de proteína ruminal y reducir la necesidad de harinas proteicas (Koenig y Beauchemin, 2013).

El cambio brusco de una dieta cuyo componente principal son los forrajes, a una dieta con alta cantidad de granos, requiere que el rumen modifique su microflora ruminal (bacterias predominantemente celulolíticas a amilolíticas) y fauna de manera que pueda realizar el trabajo fermentativo (Giurardo, 2006).

Por eso, el manejo de la alimentación podría dividirse en tres etapas:

Primeros 5 días: la alimentación en esta etapa debe contener un 75 % de fibra y el 25 % de balanceado.

Del 6 día al 10: la alimentación debe comprender un 50 % de fibra y un 50 % de balanceado.

Del 11 día al 15 de acostumbramiento: para esta etapa, la fibra sólo es del 25 %, siendo el restante 75 % el balanceado.

A partir del 16º día: la dieta estará compuesta por un 90 % de balanceado y un 10 % de fibra efectiva.

Gran parte del éxito de esta etapa y del engorde a corral está relacionado con la ubicación, tamaño y forma de los comederos. Por motivos de higiene, protección del piso y de funcionalidad en la distribución es importante que los comederos estén sobre uno de los lados del corral y no dentro del mismo. Se considera que 30 cm de frente de comedero por animal son suficientes. Ese frente mínimo permite que entre el 65 y el 75% de los animales tengan acceso simultáneo a los comederos. Es importante situarlos en las partes más altas del corral para que no haya riesgo de acumulación de agua y barro. Si bien el material utilizado dependerá del costo se recomienda que el más liso posible, de caras internas redondeadas, sin ángulos que dificultan la recolección del alimento por el animal o la limpieza rápida. En su exterior es deseable que sea de caras o lados rectos. En corrales permanentes, el levantado del piso, enriquecido con cemento, arcillas (entoscado), es necesario para soportar la acción de los animales. Se requiere también una protección de hierro y alambre por encima de los comederos a fin que los animales no se metan, que desperdicien el alimento o que salten por encima.

Composición de la ración

Los rumiantes, no requieren el consumo de granos para producir carne, pero la inclusión de los mismos a la dieta, como una fuente altamente concentrada de energía, puede incrementar la eficiencia de producción y la rentabilidad del negocio (FAO, 2014). La composición de la dieta (Cuadro 1.1) es uno de los factores que limitará el consumo (que en bovinos se aproxima al 3% de peso vivo en MS) y, por lo tanto, la ganancia de peso de los animales en sistemas de engorde intensivo:

Maíz entero	72, 6
Silaje maíz	8
Harina soja 50%PB	18, 3
Carbonato de calcio	1, 52
Sal	0, 5
Premezclavitam. ADE ^a	0, 05
Premezcla mineral ^b	0, 05
Rumensin 80	0, 02
Tylan 40	0, 01
ENm, Mcal/kgMS	2, 17
ENg, Mcal/kgMS	1, 5
Calcio, %	0, 69
Fósforo, %	0, 39
MS, %	75, 74
PB, %	14, 61
Extracto graso, %	4, 5

Cuadro 1.1 Composición de dieta (en %) de feedlot a base de maíz entero. Extraído de Felton y Kerley (2004).^a premezcla ADE contiene: vitamina A: 1.814.388 UI/kg; vitamina D3: 362.878 U/kg; vitamina E: 544 UI/kg. ^bpremezcla mineral contiene un mínimo de 10% Fe, 2% mínimo de Mn y Zn, 500 ppm de Cu, 1.000 ppm de Co y I; y 1.500 ppm de Se. ENm = Concentración de energía neta para mantenimiento; ENg = Concentración de energía neta para aumento de peso; MS = Materia seca; PB Proteína bruta.

El grano es el componente mayoritario en las dietas de *feedlot* clásico, comúnmente excede el 65% del total del alimento y define la oferta de energía metabolizable y las características físicas del alimento. El tipo de grano y el procesado o la presentación

definen el grado de aprovechamiento a nivel ruminal a partir de la fermentación microbiana (Zilic *et al.*, 2011).

El concentrado proteico es agregado en las dietas de los bovinos sólo a fin de cubrir los requerimientos mínimos necesarios del animal. El requerimiento de proteína bruta y metabolizable decrece con el incremento de la edad, del peso y del nivel de engorde del animal. Los concentrados proteicos más comunes en la región pampeana son las harinas de girasol y de soja. La semilla de algodón y el *gluten feed* (sub-producto proteico de la industria del maíz) son también utilizados en las regiones del centro y norte del país. También pueden usarse como alternativa los suplementos proteicos comerciales con un 40 % de proteína bruta lo que permite la reducción de uso al mínimo contribuyendo a disminuir los costos (Pordomingo, 2013). Es importante considerar que la proteína metabolizable para los rumiantes no es solo aquella aportada por la dieta sino también la que proviene de la actividad ruminal (proteína microbiana). También suelen utilizarse fuentes de nitrógeno no proteico (urea) en algunas categorías de engorde.

El aporte de fibra dietaria es un factor importante para evitar bajas en la eficiencia de conversión de los animales. La misma posee una función más bien física que nutricional. El principal objetivo de la fibra en estos casos es el de reducir la tasa de consumo y promover la rumia, la salivación y la consecuente producción de buffer ruminal para disminuir el riesgo de acidosis (Hales *et al.*, 2013). El oferente de fibra más común utilizado en la mayoría de los sistemas de alimentación en confinamiento es el heno (rollo o fardos) procesados picados o molidos gruesos y de calidad intermedia o baja. Otros oferentes de fibra son los silajes de planta entera (ej. silaje de maíz, silaje de pasturas o alfalfa, silajes de raigrás, avena o cebada). Algunos de éstos son también buenos oferentes de energía por su contenido de grano (silajes de maíz, sorgo, avena o cebada) o la alta digestibilidad total (silaje de raigrás) (Hales *et al.*, 2013; Keady *et al.*, 2013; Zaman *et al.*, 2002). Entre las alternativas en el suministro de fibra en la forma de heno, se encuentran las cáscaras de semillas (cáscara de semilla de algodón, de semilla de girasol, de soja, de arroz o de maní), residuos fibrosos de la agro-industria (raicillas, afrechillos, etc.).

El núcleo vitamínico-mineral

El rol que cumple la suplementación de vitaminas y minerales en este tipo de planteo productivo es clave a fin de evitar carencias y deterioros en la conversión. El uso del

núcleo vitamínico-mineral está ampliamente difundido en sistemas de engorde intensivos en nuestro país. La eficiencia de utilización del animal de los minerales contenidos en la dieta depende de elementos contenidos, de la sal utilizada en su formulación, de su dosificación en la ración y del metabolismo animal (Moscuza, 2009). En el Cuadro 1.2 se muestran en detalle la composición de éstos suplementos, teniendo en cuenta la cantidad utilizada y las formas de suplementación.

Sales del núcleo mineral	%
Sulfato de Cu	2, 200
Iodato de Ca	0, 060
Carbonato de Co	0, 021
Oxido de Mn	10, 000
Sulfato de Zn	10, 080
Selenito de Na	0, 021
Sulfato ferroso	5, 820
Carbonato de Ca	4, 000
Exipc.s.p.	100, 000

Cuadro 1.2 Caracterización del núcleo mineral utilizado en raciones de engorde bovino en confinamiento (Moscuza, 2009).

El uso de conchilla (carbonato de calcio) es común como fuente de calcio pero de escaso valor biológico. Existen en el mercado concentrados minerales comerciales con fuentes de calcio y fósforo de mayor valor biológico. También se utilizan óxidos de calcio y sulfatos de calcio. El fosfato dicálcico es una fuente común de fósforo y calcio. Las formas orgánicas de presentación de los minerales (quelatos) son de mayor disponibilidad biológica y, por lo tanto, más eficientes, pero su costo y disponibilidad las hace frecuentemente inviables en el país. El aporte de zinc, cobre, selenio, molibdeno, cobalto, hierro, boro, y manganeso es necesario (Hill *et al.*, 1996). En particular, los dos primeros son frecuentemente deficitarios en muchos suelos y aguas de la mayor región ganadera de Argentina.

Las dietas de los bovinos suelen estar adicionadas con compuestos ionóforos, principalmente la monensina (Yoshida *et al.*, 2007). Los mecanismos de acción son

variados, pero todos actúan como estabilizadores de la flora ruminal promoviendo la fermentación ruminal, reduciendo la metanogénesis, la proteólisis y la población de protozoarios. La dosis dependerá principalmente de la composición dietaria, la forma de presentación y el compuesto activo.

1.1.4. Importancia de la producción de excretas en sistemas intensivos de producción y su composición

En bovinos, la naturaleza de las excretas producidas depende de una gran variedad de factores, entre los que cuentan principalmente la raza, el consumo de materia seca y la composición de la dieta (Cole *et al.*, 2006). La frecuencia e intensidad de las lluvias, el tamaño y diseño de los corrales y la frecuencia de limpieza de las excretas condicionan también la cantidad y composición del efluente.

En el *feedlot* la materia fecal y la orina forman un sólo tipo de residuo, que se denomina estiércol, ya que no se pueden separar. Un vacuno excreta por día alrededor del 5 al 6% de su peso vivo. En un novillo de 400 Kg de peso vivo sería alrededor de 20 a 25 kg diarios de estiércol. Dado su porcentaje de humedad del 80 - 85%, finalmente serían unos 3 kg diarios de residuo sólido por animal, en promedio, que se eliminarían al corral. Las deyecciones contienen una alta cantidad de nutrientes ya que los bovinos retienen menos del 20% de lo que consumen en la dieta.

El contenido de nutrientes presentes en excretas provenientes de sistemas intensivos de producción de carne se describe en el Cuadro 1.3:

Parámetro	Unidad	Promedio	Rango	Biodisponibilidad
Materia Seca (MS)	%	60	50 a 70	-
Nitrógeno total (N total)	%	2, 18	1 a 3	20 – 50
Amonio	%	0, 038	0, 036 a 0, 169	-
Fósforo total (P total)	%	0, 8	0, 1 a 1, 3	60 – 90
Potasio (K)	%	2, 38	1, 5 a 4, 0	> 85
Sodio (Na)	%	0, 61	0, 3 a 1, 3	-
Cloro (Cl)	%	1, 35	0, 7 a 2, 3	-
Magnesio (Mg)	%	0, 76	-	40 – 55
Calcio (Ca)	%	1, 98	-	40 – 55
Hierro	Ppm	3200	-	40 – 55
Zinc	Ppm	140	-	40 – 55
pH		6, 85	55 a 8, 6	-
Conductividad eléctrica	dS/m	12, 39	8 a 15	-

Cuadro 1.3 Composición típica de las excretas provenientes de *feedlots* y biodisponibilidad de nutrientes para las plantas según Eck y Stewart, 1995.

Las excretas provenientes de *feedlots* son recursos importantes para la producción forrajera y la conservación del suelo ya que son una importante fuente de macro (N, P y K) y micronutrientes. Asimismo son una excelente fuente de materia orgánica lo que permite que sean utilizadas como fertilizante (Barker *et al.*, 2001). Es importante considerar el hecho de que las excretas producidas por estos sistemas de producción pueden ser una fuente potencial de contaminación de cursos de agua, atmosférica y de los suelos a partir del exceso de nitratos, sales minerales, microorganismos y patógenos. La producción de gases de invernadero es otro factor a considerar para el manejo de excretas.

Dentro de los nutrientes excretados, el N y el P toman relevancia cuyo se trata de residuos provenientes de corrales de engorde. Afortunadamente, ambos pueden ser manejados con éxito y son valiosos nutrientes que se pueden utilizar en la producción de cultivos. Sin embargo, también pueden ser perjudiciales para el medio ambiente si no se gestionan adecuadamente. Estimar la cantidad de N y P excretados por el ganado en terminación es algo complejo ya que depende de varios factores: la composición y la digestibilidad de la dieta, el tamaño y peso vivo de los animales, el

rendimiento del ganado y la producción diaria de excretas. Si se considera un bovino de 500 kg engordado a corral, el mismo produciría 170 g de N y 55 g de P por día. Llevado a una escala mayor, 1000 bovinos en engorde de un peso medio de 340 kg excretarían aproximadamente 15000 kg de materia seca, 900 kg de nitrógeno, 122 kg de fósforo y 272 kg de potasio (Eghball y Powel, 1994).

En la literatura, se ha reportado una gran variación del contenido de N y P en excretas (Davis *et al.*, 2012). El Cuadro 1.4 muestra la producción en kg/año de sólidos totales, sólidos volátiles, nitrógeno y fósforo para un bovino de 600 kg de peso vivo engordado en *feedlot*, según cuatro fuentes diferentes.

Composición	ASAE (1998)	MWPS (1985)	Barth <i>et al.</i> (1999)	Watts <i>et al.</i> , (1994)
Sólidos totales	1861, 5	1857, 1	1294, 3	1300
Sólidos volátiles	1576, 8	1576, 8	1191, 4	1105
Nitrógeno	74, 5	75, 3	65, 7	76, 7
Fósforo	20, 1	54, 3	20, 6	20, 8

Cuadro 1.4 Comparación de la producción de sólidos y nutrientes para un bovino 600kg PV (g/año). Extraído de Davis *et al.*, 2012.

1.1.5. Los micronutrientes en las excretas

Las actividades ganaderas intensivas aumentaron progresivamente el uso de metales traza como suplementos alimenticios para mejorar la salud animal y la productividad (Nicholson *et al.*, 1999). Un porcentaje importante de estos metales se excreta en las heces y la orina. Existe mucha bibliografía que analiza el contenido de metales presentes en excretas provenientes de engordes a corral (Benckiser y Simarmata, 1994; Bolan *et al.*, 2003; Richards *et al.*, 2004; Sager, 2007; Westing *et al.*, 1985). La aplicación de residuos provenientes de las diferentes actividades agropecuarias como fertilizantes en áreas de siembra es una práctica que ha ido creciendo a nivel mundial. Debido a su baja degradabilidad, los metales pueden acumularse en los suelos, pudiendo así causar serios problemas en un futuro cercano, especialmente si consideramos aquellos que están unidos fuertemente a la materia orgánica (Bolan *et al.*, 2003). Estudios efectuados en Reino Unido, determinaron altos contenidos de metales (Zn, Cu, Ni, Pb, Cd, As) en excretas provenientes de diferentes tipos de producciones animales, observándose una acumulación de éstos en los suelos

agrícolas luego de recibir altas tasas de aplicación de excretas como fertilizantes orgánicos (Nicholson *et al.*, 1999).

En la actualidad, la mayoría de los estudios se ha centrado en la contaminación del suelo y biotransferencia hacia otras matrices de contaminantes orgánicos e inorgánicos (metales) presentes en los lodos de depuradora municipal (Alcock *et al.*, 1996; Perez-Murcia *et al.*, 2006; Walter *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 1996); sin embargo, se ha prestado poca atención a las excretas como fuente de contaminación por metales (Moscuza y Fernández-cirelli, 2009). Una revisión efectuada por Bolan *et al.* (2004) mostró el impacto del incremento en el uso de excretas ricas en ciertos metales en relación a su distribución en los suelos posterior a su aplicación y su biodisponibilidad para las plantas y posterior fitotoxicidad. De hecho, altos niveles de elementos traza en plantas que crecen sobre suelos que han recibido aplicación sucesiva de excretas han sido reportados (Zhou *et al.*, 2005). La acumulación de metales en el suelo no sólo se traduce en concentraciones significativas en las plantas, sino también en el ganado alimentado en las pasturas fertilizadas (Franco *et al.*, 2006).

Según bibliografía, se han reportado valores variables de concentración total de elementos traza en excretas bovinas provenientes de sistemas intensivos de producción (Cuadro 1.5):

Autores	Zn	Cu	Ni	Pb	Cr	As	Cd	Fe	Mn	Mo	Co	Se
Chambers <i>et al.</i> , 1998	63	15,6	2,1	1,4	1,5	0,7	0,1	-	-	-	-	-
Sager M., 2007	164	51	6,3	4,1	6,6	0,3	0,3	-	180	3,5	2,1	0,6
Raven y Loepfert, 1997	178	13	6,9	4,1	7,4	4,4	0,5	-	-	-	-	-
Arora <i>et al.</i> , 1975	75	6,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Westing <i>et al.</i> , 1985	101,6	221,1	0,6	1,89	14,7	0,1	7,2	5,8	247,4	2,44	4,6	1,9
Yriulo, <i>et al.</i> , 2003	79	12,8	-	13,5	-	6,4	-	-	-	-	-	-
Moscuzza y Fernández Cirelli, 2009	155	20,1	7,5	0,7	8,6	0,7	<0,01	3157,3	291,7	0,6	1,3	0,2

Cuadro 1.5 Concentraciones totales (en mg/kg) determinadas en excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina. Elaboración propia a partir de datos obtenidos en bibliografía nacional e internacional.

La mayoría de los minerales se encuentran en concentraciones suficientes en las raciones formuladas ofrecidas a los bovinos en la práctica diaria. Sin embargo, algunos minerales se hallan en bajas concentraciones en las dietas, por lo que resulta necesaria su suplementación para optimizar los rendimientos productivos y cuidar la salud animal. Suplementar en exceso conlleva a un incremento en las concentraciones de estos micronutrientes en las excretas bovinas; lo cual debe ser evitado a fin de reducir los problemas ambientales relacionados a pérdidas por escorrentía y acumulación de metales en suelos (NRC, 2000). Los requerimientos diarios de minerales en los bovinos en engorde se encuentran en el Cuadro 1.6

Mineral	Unidad	Requerimiento	Concentración máxima tolerable
Cromo	mg/kg	-	1.000
Cobalto	mg/kg	0, 1	10
Cobre	mg/kg	10	100
Iodo	mg/kg	0, 5	50
Hierro	mg/kg	50	1000
Magnesio	%	0, 1	0, 4
Manganeso	mg/kg	20	1000
Molibdeno	mg/kg	-	5
Niquel	mg/kg	-	50
Potasio	%	0, 6	3
Selenio	mg/kg	0, 1	2
Sodio	%	0, 06-0, 08	-
Azufre	%	0, 15	0, 4
Zinc	mg/kg	30	500

Cuadro 1.6 Requerimientos minerales y concentraciones máximas tolerables de minerales en bovinos en terminación (NRC, 2000).

No todos los elementos traza son considerados como micronutrientes cuyos aportes son esenciales para el desarrollo sanitario y productivo del animal. Como micronutrientes se incluyen: Co, Cu, Fe, Mn, Se y Zn. Los elementos traza que producen efectos adversos sobre animales son considerados como microcontaminantes (As, Ba, Be, Cd, Cr, Mo, Ni, Pb y V). La variedad de ingredientes utilizados para la formulación de las raciones así como el agua de bebida pueden contenerlos.

En estudios previos en nuestro laboratorio, se analizó el contenido de metales traza en excretas de sistemas intensivos de engorde bovino de Argentina y su acumulación en suelos y aguas. Se observó que la incorporación de excretas con altos niveles de metales al suelo produce la acumulación, principalmente de cobre y de zinc en esta matriz (Moscuza y Fernández Cirelli, 2009). Conocer los requerimientos dietarios es esencial para poder efectuar un correcto manejo de la suplementación mineral dietaria en sistemas de engorde intensivo, ya que como se dijo anteriormente lo que no es aprovechado por el animal, es excretado y acumulado en otras matrices constituyendo así un riesgo de contaminación ambiental.

La determinación de la concentración total de metales presentes en excretas no es suficiente para poder predecir el efecto que resulta de la aplicación de dichos desechos como fertilizantes orgánicos (Qian *et al.*, 1996). Conocer las formas químicas en la que los metales pueden encontrarse en dicha matriz, suele ser de mucha ayuda a fin de predecir su potencial movilidad hacia cursos de aguas, su fitobiodisponibilidad y el riesgo de transferencia a la cadena agroalimentaria.

Las técnicas de extracción secuencial son comúnmente utilizadas a fin de extraer las diferentes formas de los metales presentes en suelos, así como en suelos enmendados con biosólidos (Pichtel y Yerson, 1997; Sims *et al.*, 2005; Sposito *et al.*, 1982; Tessier *et al.*, 1979). En esta técnica, las diferentes matrices están sujetas a una serie de reactivos químicos con efecto creciente, donde la movilidad y biodisponibilidad de los elementos traza decrece en el orden de los pasos de la extracción (Mbila *et al.*, 2001). Los esquemas de fraccionamiento secuencial no han sido estandarizados y en la literatura se describen procesos que remueven elementos traza de distintas matrices. Las fracciones habitualmente estudiadas son: soluble e intercambiable, unida a materia orgánica, unida a oxihidróxidos de Fe y Al, unida a carbonatos y remanente. Las formas solubles se consideran móviles, mientras que los elementos traza incorporados en cristales y arcillas se los considera inactivos. Las otras formas pueden ser más o menos móviles dependiendo de la combinación de las propiedades físicas y químicas de cada matriz (Amir *et al.*, 2005).

Así mismo, las extracciones secuenciales pueden ser criticadas, ya que la solución utilizada como extractante, puede disolver menos de una fracción determinada o llegar a afectar a otra fracción; o bien los metales pueden coprecipitar o adsorberse en otros componentes (Miller y McFee, 1983; Sheppard y Stevenson, 1995; Sloan *et al.*, 1997). Además, las fracciones no son estables y varían a lo largo del tiempo. En los suelos, las formas químicas de un elemento están influenciadas primariamente por su origen. En el caso de las enmiendas orgánicas (excretas, compost, desechos municipales, lodos de depuradoras) dependen de las características físico químicas de la matriz, de los procesos aeróbicos o anaeróbicos que se utilizan para el tratamiento de estos efluentes y del posterior uso de las mismas como fuente de fertilización (alto contenido de materia orgánica, variaciones de pH, etc.). Esto conlleva a que la interpretación de una extracción secuencial debe ser muy cautelosa.

Del mismo modo, el uso de técnicas de extracción secuencial sobre las matrices individuales, está poco estudiado. Se han publicado trabajos sobre el contenido total y

las formas químicas en suelos que han recibido aplicación de fertilizantes orgánicos por largos períodos de tiempo, donde se evalúan los cambios en la biodisponibilidad de elementos traza a partir del uso de esquemas de extracción secuencial (Achiba *et al.*, 2010; Brock *et al.*, 2006; Han y Banin, 1999; Pichtel y Yerson, 1997; Torri y Lavado, 2008; Torri y Lavado, 2008); como así también trabajos que analizan los cambios en la especiación a lo largo del proceso de compostaje (Greenway y Song, 2002; Smith, 2009; Tao *et al.*, 2004). En nuestro país los estudios acerca de la composición de excretas en micronutrientes y las formas químicas presentes son escasos (Yriulo *et al.*, 2003; Moscuza y Fernández-cirelli, 2009). Implementar un monitoreo de micronutrientes en excretas se hace necesario a fin de reconocer los elementos traza que podrían llegar a eliminarse en altas concentraciones en excretas y así afectar a las matrices ambientales suelo y agua.

El **objetivo** de este capítulo es evaluar el contenido total de micronutrientes (Cu, Zn, Co y Mo) en excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina, y analizar las formas químicas de dichos metales en esa matriz a partir de técnicas de extracción secuencial.

1.2. Materiales y Métodos

1.2.1. Toma de muestras y caracterización fisicoquímica de excretas bovinas

A fin de obtener muestras de excretas bovinas, se seleccionaron tres establecimientos de producción intensiva (SI) emplazados en la provincia de Buenos Aires. El primero de ellos (denominado **SI I**) se encontraba localizado en el partido de Navarro, perteneciente al borde septentrional de la Pampa Deprimida en la zona transicional con la Pampa Ondulada. Los otros dos sistemas muestreados (denominados **SI II** y **SI III**), estaban localizados en el partido de San Antonio de Areco, perteneciente a la ecorregión Pampa Ondulada. A modo comparativo, se obtuvieron muestras de excretas de un campo de cría bovina con alimentación a base de pasturas implantadas sin suplementación mineral situado en el partido de Roque Pérez (denominado **SE**).

En cada sistema de producción, se obtuvieron 30 submuestras de excretas de aproximadamente 0,5 kg recolectadas al azar utilizando una pala plana y evitando la incorporación de suelo. Las submuestras fueron mezcladas para obtener una muestra homogénea de 1 kg que se preservó a 4 °C en doble bolsa plástica.

En el laboratorio, las muestras fueron secadas al aire, molidas y tamizadas (2mm). Así mismo, se efectuaron determinaciones de pH, conductividad eléctrica, nitrógeno total Kjeldahl, fósforo extractable y carbono fácilmente oxidable. A continuación se describen brevemente las técnicas utilizadas:

2.2.1 a) Determinación de pH

Para la determinación de pH se realizó una dispersión de una muestra de excreta en agua manteniendo una relación de 1: 2,5 (Sparks *et al.*, 1996). Posteriormente se realizó una agitación mediante agitador magnético. Las mediciones se realizaron con un pHmetro Hanna, modelo HI 9025.

2.2.1 b) Determinación de conductividad eléctrica

Para la determinación de conductividad eléctrica se realizó una dispersión de una muestra de excreta en agua manteniendo una relación de 1: 2,5 (Jackson, 1964). Posteriormente se realizó una agitación mediante agitador magnético. Las mediciones se realizaron con un conductímetro Hanna, modelo HI 9033 W.

2.2.1 c) Determinación de carbono fácilmente oxidable (Cox)

El procedimiento para la determinación de carbono orgánico del suelo se realizó a través del método de Walkley y Black (Page, 1982). Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. El dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso. El contenido de Cox se expresa en %.

2.2.1 d) Determinación de nitrógeno total

El método microKjeldahl se utilizó para la determinación de nitrógeno en excretas. Este método sirve para determinar el contenido en nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas. Se basa en la digestión de la muestra en ácido sulfúrico concentrado a ebullición, con la adición de un catalizador. La muestra se digiere hasta disolución y oxidación de la muestra. El nitrógeno contenido en la muestra se convierte en sulfato de amonio. Añadiendo un exceso de solución de hidróxido de sodio, el ion amonio es liberado en forma de amoníaco, y mediante una destilación de arrastre por vapor es recogido sobre una solución de ácido bórico. El amoníaco recogido es determinado con una solución valorada de ácido sulfúrico (Sparks *et al.*, 1996).

2.2.1 e) Determinación de fósforo extractable

El método Bray y Kurtz se utilizó para la determinación de las formas de fósforo disponible para las plantas. Este método se efectúa a través de una extracción con una solución mezcla de NH_4F 0, 03N y HCl 0, 025N, que se basa en el efecto solubilizador del H^+ sobre el P de la matriz analizada y la capacidad del ión F^- de bajar la actividad del Al^{+3} , evitando la readsorción de los fosfatos en el sistema de extracción (Bray y Kurtz, 1945, 1945; Sparks *et al.*, 1996).

1.2.2. Determinación del contenido total y fraccionamiento secuencial de elementos traza en excretas

Para determinar la concentración total de elementos traza (Cu, Zn, Co y Mo), 0, 5 gr de excretas (secas y tamizadas) fueron tratados con una mezcla de ácidos inorgánicos concentrados (HNO_3 , HCl principalmente) a altas temperaturas y presiones ($180\pm 5^\circ\text{C}$; 25 atm.) mediante una digestión asistida por microondas (Microwave 3000, AntonPaar; Método EPA 3051 A).

El fraccionamiento secuencial de elementos traza fue llevado a cabo mediante la técnica de McGrath y Cegarra (1992). Para dicho procedimiento, 3 gr de muestra se colocaron en tubos de polipropileno de 50 ml. Las fracciones obtenidas a partir de cada paso fueron las siguientes: i) intercambiable (INT) utilizando 30 ml de CaCl_2 0, 01 M, ii) unida a materia orgánica (MO) utilizando 30 ml de NaOH 0, 5 M, iii) unida a carbonatos (INORG) utilizando 30 ml de Na_2EDTA 0, 05 M; y iv) residual (RES) calculada como la diferencia entre la concentración total y la suma de las fracciones anteriores. Para cada fracción, las muestras fueron agitadas durante 16 h con agitador mecánico sin temperatura, centrifugadas a 3600 rpm y luego filtradas mediante papel Whatman N° 42 para su posterior análisis. Debido a que el uso de NaOH puede disolver también materia orgánica, el sobrenadante fue digerido con agua regia (HNO_3 : HCl 3:1).

Si bien la técnica anteriormente descrita es utilizada en muestras de suelos o materiales de composición similar (biosólidos, sedimentos, etc), debido a su amplia difusión y uso en la literatura citada, se decidió en este trabajo unificar el procedimiento de extracción secuencial empleado para todas las matrices estudiadas en este trabajo de tesis.

1.3. Resultados y discusión

Como se mencionó anteriormente los establecimientos muestreados estaban localizados en la provincia de Buenos Aires, en los partidos de Navarro (**SI I**) y San Antonio de Areco (**SI II** y **SI III**).

1.3.1. Características fisicoquímicas de las muestras de excretas

Las características físico-químicas de las excretas recolectadas en los diferentes sistemas de producción muestreados se describen en el Cuadro 1.7.

	SE	SI I	SI II	SI III
pH ^a	7, 3	7, 8	7, 6	8, 7
CE ^b (dS m ⁻¹)	-	0, 6	2, 2	1, 4
P Ext. ^c (mg kg ⁻¹)	-	139, 6	143, 1	143, 9
C O ^d (%)	24, 2	29, 6	22, 5	31, 6
NTK ^e (%)		1, 6	1, 6	1, 8

Cuadro 1.7 Características físico-químicas de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina. ^apH ; ^b conductividad eléctrica; ^c fósforo extractable ; ^d carbono orgánico; ^e Nitrógeno total Kjeldahl; SI: sistema intensiva de producción bovina; SE: sistema extensivo de producción bovina.

Los niveles de nitrógeno hallados en las excretas de corrales de engorde bovino se encuentran dentro del rango reportado en bibliografía para esta matriz (2-2, 5%). El contenido de fósforo extractable, es menor al reportado en bibliografía (0, 98 mg/g). El pH obtenido de las muestras se encuentra dentro del rango esperable para este tipo de excretas bovinas (5, 5-8, 6). Se observan también altos contenidos de carbono orgánico total siendo el rango encontrado en bibliografía internacional 5 a 16% (USEPA 1996, USDA-USEPA, 2003; ASAE 2005; Eghball y Power, 2004). Las excretas son ampliamente utilizadas para mejorar la calidad de los suelos y para reciclar fósforo, carbono y nitrógeno, nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas, que como se observa en el Cuadro 1.7, se encuentran alto porcentaje en excretas provenientes de sistemas intensivo de producción. La adición de excretas animales y compost incrementan el contenido de materia orgánica, mejora la

estabilidad de los agregados del suelo, la porosidad y la capacidad de retención e infiltración de agua (Sager, 2007).

1.3.2. Contenido total de micronutrientes en excretas

Como se mencionó anteriormente, dentro de los elementos considerados traza, los micronutrientes son aquellos esenciales para el desarrollo productivo y el bienestar sanitario de los animales. Los metales traza considerados como micronutrientes, que se seleccionaron para ser analizados según el aporte dietario en este estudio fueron Cu, Zn y Co.

Para el caso particular de Cu y Zn, este trabajo tuvo base en un monitoreo previo efectuado en nuestro laboratorio donde se determinaron altas concentraciones de ambos metales en excretas provenientes de SI de producción, lo que consecuentemente conllevó a la acumulación en suelos de corrales de corta edad de emplazamiento, constituyendo un riesgo de contaminación ambiental (Moscuza, 2009).

Así mismo, como se estudiará en capítulos posteriores, el uso de estas excretas con alto contenido de metales podría contribuir al enriquecimiento de forrajes utilizados en la alimentación de sistemas extensivos de producción bovina. El Mo, considerado generalmente como microcontaminante, es un elemento traza que participa en la génesis de las deficiencias de Cu en plantas y animales, ya que interfiere en la absorción ruminal y por parte de las especies forrajeras de dicho metal. Si bien no es suplementado en dietas administradas a bovinos en confinamiento, y no se han reportado altas concentraciones de dicho metal en excretas bovinas; el análisis de dicho elemento traza en este estudio se hace necesario debido a lo mencionado anteriormente.

Las concentraciones totales de Cu, Zn, Co y Mo (en mg/kg) determinadas en las muestras de excretas procedentes de los diferentes SI muestreados se encuentran reportados en la siguiente tabla (Cuadro 1.8).

Muestras	Cu	Zn	Mo	Co
Sistema extensivo	16, 6 ± 0, 3	65, 4 ± 5, 6	4, 9 ± 0, 2	1, 5 ± 0, 1
Sistema Intensivo I	59, 2 ± 0, 9	214, 2 ± 1, 7	1, 5 ± 0, 1	1, 4 ± 0, 1
Sistema Intensivo II	22, 5 ± 0, 4	162, 4 ± 4, 2	3, 5 ± 0, 1	1, 7 ± 0, 7
Sistema Intensivo III	25 ± 0, 4	87, 3 ± 2, 3	3, 7 ± 0, 1	1, 5 ± 0, 7

Cuadro 1.8 Concentración total y desvío estándar de elementos traza en excretas de sistemas intensivos de engorde bovino (en mg/kg).

De los metales analizados, las concentraciones halladas de cobre en excretas provenientes de SI de producción se hallaron en el rango de 22, 46 – 59, 2 mg/kg, y fueron superiores a la concentración hallada para la muestra de excreta proveniente del SE (16, 6 mg/kg). Estos resultados coinciden con los rangos reportados en la bibliografía 6, 7 a 51 mg/kg (Benckiser y Simarmata, 1994; Bolan *et al.*, 2003; Nicholson *et al.*, 1999; Sager, 2007; Westing *et al.*, 1985). Las concentraciones de zinc halladas en las muestras de excretas de SI se encontraron en un rango de 87, 3-214, 2 mg/kg y fueron similares a las reportadas en bibliografía (63-178 mg/kg) (Webber y Webber, 1983; Fleming y Mordenti, 1993; Menzi y Kessler, 1998; Nicholson *et al.*, 1999). Así mismo, son superiores a las concentraciones determinadas las excretas provenientes de sistemas extensivos de producción bovina (65, 4 mg/kg).

Westing *et al.*, (1985) reporta valores de Cu 221 mg/kg en excretas provenientes de bovinos alimentados a base de concentrados mientras que aquellos animales no suplementados tienen valores de 122 mg/kg. Para el zinc encontraron diferencias de 101, 6 a 8, 8 mg/kg respectivamente.

A nivel nacional, pocos trabajos han estudiado la concentración de elementos traza en excretas provenientes de *feedlots*; Yriulo *et al.* (2003) reporta valores de Zn de 79, 2 mg/kg y 12, 8 mg/kg de Cu. Moscuzza y Fernández Cirelli (2009), evaluaron la concentración de micronutrientes en diferentes sistemas intensivos de producción en nuestro país hallando rangos de Zn de 77, 1- 286, 1 mg/kg, y rangos de 9, 2 - 37, 4 mg/kg de Cu.

Es importante destacar que si bien en las muestras de SI los valores de Cu y Zn hallados fueron altos, no exceden las concentraciones promedio aceptables para todos

aplicables a suelos agrícolas según USEPA (1999), Cu: 4300 mg/kg; Zn: 7500 mg/kg; y la Ley de Residuos Peligrosos, Cu: 4300 mg/kg.

A diferencia de los resultados obtenidos para el Cu y el Zn, las concentraciones de cobalto y molibdeno encontradas en las excretas procedentes de SI fueron iguales o menores a las halladas en las excretas procedentes de SE (Cuadro 1.8).

Las concentraciones de metales traza presentes en las excretas están directamente relacionadas con las concentraciones de dichos metales en el alimento consumido por los animales y con la eficiencia de conversión del mismo (Miller *et al.*, 1991; Nicholson *et al.*, 1999). La principal fuente de elementos traza es el núcleo mineral agregado; el porcentaje de núcleo agregado al alimento de bovinos en confinamiento, condiciona el contenido de elementos traza en las excretas. Los requerimientos de Co y Mo en bovinos en engorde son bajos, por lo que la suplementación en las raciones de alimento para el ganado no son significantes (Bolan *et al.*, 2004).

1.3.3. Estimación de la excreción de Cu, Zn, Co y Mo en sistemas intensivos de engorde bovino

A partir de datos bibliográficos, se puede efectuar una estimación de la cantidad de metal excretado por animal por día considerando la cantidad de MS producida por bovinos en confinamiento, como así también se puede estimar la cantidad de metal en las excretas según la superficie ocupada dentro de estos sistemas productivos.

La estimación de materia seca está sujeta a variaciones dependientes del balance entre los requerimientos nutricionales y la dieta (composición y digestibilidad), pero el principal factor que afecta la producción de heces en bovinos es el peso vivo. Se han desarrollado varias ecuaciones para efectuar el cálculo de producción de heces en bovinos en confinamiento (NSW Agriculture, 1998; NRC 1996). Debido a los múltiples factores que pueden afectar la producción de heces, para efectuar la estimación de la excreción de metales traza, se consultaron diferentes fuentes bibliográficas (Cuadro 1.9).

Fuente Bibliográfica	Producción de MS (kg/animal/día)	Producción de estiércol húmedo (kg/animal/día)
USEPA (1992)	12, 5	20, 9
NCSU (2002)	8, 72	21, 8
Cole <i>et al.</i> , 2006	15	-
Pordomingo, 2013	10, 8	27
ASAE Estandars (2005)	7, 26	22
Manure Management Systems Series (2000)	15, 28	32, 8

Cuadro 1.9 Producción de heces estimada (en base seca y base húmeda) por animal por día en sistemas de engorde bovino. Elaboración propia a partir de revisión bibliográfica. USEPA: Environmental Protection Agency; NCSU: North Carolina State University; ASAE: American Society of Agricultural Engineers.

A partir de las concentraciones de Cu, Zn, Co y Mo determinadas en las muestras de excretas provenientes de SI; asumiendo que el número de animales máximo por corral recomendado para estos sistemas de producción es de 250 bovinos y una dimensión promedio de corral de 4000 m² (Pordomingo, 2013), se puede efectuar un cálculo que permite estimar la cantidad de metales excretados por unidad de superficie ocupada (Cuadro 1.10).

Fuente Bibliográfica	SI I				SI II				SI III			
	Cu	Zn	Co	Mo	Cu	Zn	Co	Mo	Cu	Zn	Co	Mo
USEPA, 1992	46,3	167,3	1,1	1,2	17,5	126,9	1,3	2,8	19,5	68,2	1,2	2,9
NCSU, 2002	32,3	116,7	0,8	0,8	12,2	88,5	0,9	1,9	13,6	47,6	0,8	2,0
Cole <i>et al.</i> ,2007	55,5	200,8	1,4	1,3	21,1	152,3	1,6	3,3	23,5	81,9	1,4	3,5
Pordomingo, 2013	40,0	144,6	1,0	1,0	15,2	109,6	1,1	2,4	16,9	58,9	1,0	2,5
ASAE Standars, 2005	26,9	97,2	0,6	0,7	10,2	73,7	0,8	1,6	11,4	39,6	0,7	1,7
Manure Management Systems, 2000	56,5	204,6	1,4	1,4	21,4	155,1	1,6	3,4	23,9	83,4	1,4	3,5

Cuadro 1.10 Estimación de la cantidad de Cu, Zn, Co y Mo (en mg/m²) excretado por unidad de superficie ocupada por animal para los diferentes SI de engorde muestreados.

En promedio, los niveles de Cu (en mg) excretados por unidad de superficie según el sistema intensivo muestreado son: SI I= 42, 9±12, 1; SI II= 16, 3±4, 6; SI III= 18, 1±5, 1. Para el Zn, los niveles calculados por unidad de superficie en promedio fueron: SI I= 155, 2±43, 9; SI II= 117, 7±33, 3; SI III= 63, 3±17, 9.

A partir de los datos bibliográficos descriptos anteriormente, también se puede efectuar una estimación de la cantidad de Cu, Zn, Co y Mo excretadas por corral, asumiendo el número de animales límite y las dimensiones óptimas de dichos corrales descriptos para estos sistemas de producción (Cuadro 1.11):

Fuente Bibliográfica	SI I				SI II				SI III			
	Cu	Zn	Co	Mo	Cu	Zn	Co	Mo	Cu	Zn	Co	Mo
USEPA, 1992	185	669,4	4,5	4,7	70,2	507,6	5,3	11	78,2	273	4,7	12
NCSU	129	467	3,1	3,3	49	354,1	3,7	7,7	54,5	190	3,3	8,1
Cole <i>et al.</i> ,2007	222	803,3	5,4	5,6	84,2	609,2	6,3	13	93,8	327	5,6	14
Pordomingo, 2013	159,8	578,3	3,9	4,1	60,6	438,6	4,5	9,5	67,6	236	4,1	10
ASAE Standars 2005	107,5	388,8	2,6	2,7	40,8	294,8	3	6,4	45,4	158	2,7	6,7
Manure Management Systems, 2000	226,1	818,2	5,5	5,7	85,8	620,5	6,4	13	95,6	334	5,7	14

Cuadro 1.11 Gramos de Cu, Zn, Co y Mo excretados por corral de engorde.

A partir de dicha estimación, se desprende que la excreción en promedio de Cu y Zn (metales eliminados en altas concentraciones en excretas provenientes de SI), en gr de metal por corral de engorde es: SI I= 171, 6±48, 5; SI II= 65, 1±18, 4; SI III=72, 5±20, 5 para Cu y SI I= 620±175, 5; SI II=470, 8±130, 1; SI III= 253, 1±71, 5 para Zn.

1.3.4. Estimación del riesgo de acumulación de metales traza en suelos a partir de la aplicación de excretas provenientes de SI como enmiendas orgánicas

En los sistemas intensivos de producción, donde no se aplica un manejo racional de excretas, los residuos no reciben un tratamiento específico, sino que son acumulados en los corrales durante largos períodos de tiempo. Esto resulta en una acumulación de los metales contenidos en el suelo de los corrales (sobre todo en las cercanías de la superficie). Por otra parte, la aplicación como fertilizante orgánico de residuos de la ganadería con altas concentraciones de metales, puede resultar en el incremento de las concentraciones de los metales en los suelos. Los riesgos ambientales están vinculados con la contaminación de cuerpos de agua por lixiviación o escorrentía, toxicidad en plantas y acumulación en plantas que son utilizadas como alimento para el ganado.

A nivel internacional, la Agencia de Protección del Medioambiente (Environmental Protection Agency - EPA), propone una ecuación básica que combina varios factores a fin de calcular la adición de metales a los suelos a partir del uso de fertilizantes (USEPA, 1999):

$\text{mg x/kg suelo} = \text{mg x / kg fertilizante} \times 1 \text{ kg de fertilizante} / (\%Y/100) \text{ kg a. i} \times \text{AR (kg a.i/ha)} \times \text{ha}/2.000.000 \text{ kg suelo (1)}$

Donde

- ❖ X: concentración de metal (mg/kg)
- ❖ Y: nutriente principal del fertilizante aplicado
- ❖ AR: tasa de fertilización (*application rate*)
- ❖ a.i: contenido del ingrediente activo del fertilizante utilizado

Esta ecuación (1) combina la concentración de metal (mg/kg) determinada en el fertilizante empleado y el contenido del ingrediente activo del mismo, con la tasa promedio de fertilización anual. Los 2.000.000 kg de suelo son calculados a partir de una segunda ecuación la cual utiliza y asume que la densidad del suelo es de 1,33 gr/cm^3 (US EPA, 1995; Foth, 1990; Manrique y Jones, 1991; US EPA, 1997) y que la profundidad del suelo es de 15 cm (0,15 m) (Rothbaum *et al.*, 1986).

Utilizando las concentraciones de Cu, Co, Zn y Mo determinadas para las muestras de excretas de los SI de engorde bovino muestreados (Cuadro 1.8), al aplicar la ecuación (1) puede calcularse la adicción anual de dichos metales a los suelos, producto de la aplicación de dichas excretas como fertilizante orgánico (Cuadro 1.12).

Elemento traza	Tasa de fertilización según NTK		
	Adición anual (kg/ha)		
	SI I	SI II	SI III
Cu	0, 0037	0, 0014	0, 0016
Zn	0, 0134	0, 0102	0, 0055
Co	0, 0001	0, 0001	0, 0001
Mo	0, 0001	0, 0002	0, 0002

Cuadro 1.12 Adición anual de Cu, Zn, Co y Mo (kg/ha) a suelos agrícolas a partir del uso de excretas intensiva bovinas, a tasas de fertilización de 250 kg NTK/ ha.

La EPA define para fertilizantes inorgánicos (NPK, P_2O_4 , micronutrientes, etc.) la adición media anual de metales a los suelos, para cada producto específico utilizado, según la tasa máxima, mínima y promedio de fertilización estandarizada para dicho producto (FAO, 2006, USDA-NASS data base). Sin embargo, para enmiendas orgánicas como las excretas, los biosólidos, compost, productos de lagunajes, no se han realizados los cálculos debido principalmente a que no se encuentran completamente definidas las tasas medias de aplicación anual sobre suelos agrícolas.

La tasa de fertilización anual con excretas provenientes de SI bovinos utilizada para los cálculos en este estudio (250 kg NTK/ha/año), estuvo basada en publicaciones y normativas establecidas para el uso de residuos provenientes de la actividad ganadera, las cuales consideran que la aplicación de excretas a los campos debe basarse en un “balance” para evitar que las mismas se desplacen con las lluvias y lleguen a las aguas superficiales o lixivien y contaminen las napas (Burton y Turner 2003, USDA – EPA 1999 citada por Kaplan *et al.*, 2004) El nutriente principal considerado para dicha fertilización es el nitrógeno total Kjeldahl (NTK), el cual fue determinado analíticamente para cada una de las muestras (Cuadro 1.7).

Como puede verse en el Cuadro 1.12, la mayor adición de Cu y Zn (kg/ha) a los suelos puede ser debida a las altas concentraciones de dichos metales en las excretas provenientes de los sistemas intensivos muestreados. Del mismo modo, el aporte de Co y Mo a los suelos a partir del uso de excretas como fertilizantes no es de gran significancia. Así mismo, el acta regulatoria canadiense para fertilizantes y los estándares 40 CRF Part 503 para biosólidos, establece límites máximos de adición

anual acumulativa de metales a suelos, y puede ser utilizado a fin de establecer comparaciones con los cálculos efectuados en este trabajo (Zn: 8, 22 kg/ha; Cu: límites no establecidos; Zn: 140 kg/ha; Cu: 75 kg/ha respectivamente). De los valores calculados, ninguno sobrepasa los límites descriptos anteriormente.

1.3.5. Análisis de biodisponibilidad de elementos traza en muestras de excretas

La distribución de Cu, Zn, Co y Mo en las diferentes fracciones obtenidas a partir de la extracción secuencial de las muestras de excretas procedentes de SI y SE de producción bovina se muestran en el Cuadro 1.13.

	SE (%)	SI I (%)	SI II (%)	SI III (%)
¹ INT – Cu	0,7	3,3	6,9	6,7
² MO – Cu	13,2	38,6	51,2	22,7
³ INOR – Cu	30,7	13,1	14,1	45,2
⁴ RES – Cu	55,4	45,1	27,7	25,4
Total Cu (mg kg⁻¹)	16,6	59,2	22,5	25,0
INT – Zn	2,2	2,0	4,4	9,5
MO – Zn	12,7	25,2	25,4	15,3
INOR – Zn	12,9	9,0	21,8	25,6
RES – Zn	72,3	63,8	48,4	49,6
Total Zn (mg kg⁻¹)	65,4	214,2	162,4	87,3
INT – Co	4,8	6,3	11,3	8,9
MO – Co	6,9	7,0	6,7	9,5
INOR – Co	<ld*	<ld	18,0	6,0
RES – Co	88,4	86,7	54,0	43,5
Total Co (mg kg⁻¹)	1,5	1,4	1,5	1,7
INT – Mo	1,4	20,0	22,1	18,9
MO – Mo	9,2	54,0	7,1	13,5
INOR – Mo	29,4	21,3	13,6	9,2
RES – Mo	61,4	24,7	57,2	58,4
Total Mo (mg kg⁻¹)	4,9	1,5	3,5	3,7

Cuadro 1.13 Concentración total (mg/kg) y distribución (como %) de Cu, Zn, Co y Mo en excretas provenientes de SI y SE de producción a través de las diferentes fracciones. ¹INT: Fracción intercambiable o soluble; ²MO: Fracción unida a materia orgánica, ³INORG: Fracción inorgánica o unida a carbonatos; ⁴RES: Fracción residual. <ld: menor al límite de detección de la técnica empleada (Cu: 0,06 ppm; Zn: 0,02 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm).

Las formas extractables de metales por agua o soluciones diluidas de CaCl₂, son aquellas consideradas más lábiles o fácilmente disponibles para las plantas y microorganismos del suelo (Petruzelli *et al.*, 1989). Para las excretas bovinas

provenientes de los SI de producción, se determinó un contenido mayor de fracción intercambiable de todos los metales analizados en comparación a las excretas provenientes de SE (Cuadro 1.13). Estos resultados señalan una posible contribución de formas lábiles de elementos traza a los suelos, al utilizar dichas excretas como fertilizantes orgánicos. Esto es debido no sólo al aporte de formas biodisponibles, sino también al mayor porcentaje de fracción INOR y unida a MO presentes en las excretas, que son más lábiles en el medioambiente que aquellas fracciones residuales de origen geológico presentes en los suelos. Así mismo es importante considerar que la aplicación de enmiendas orgánicas conlleva a un cambio en la distribución de los metales en los suelos, siendo los cambios de pH y la adición de materia orgánica quienes juegan un rol principal en la liberación de metales desde las diferentes fracciones obtenidas.

Así mismo, las muestras de excretas procedentes de SI I y II, el Cu se distribuyó de manera similar en todas las fracciones obtenidas, observándose un predominio de Cu-MO (22, 7 – 51, 2%). Para el SI III, el mayor porcentaje de cobre fue recuperado de la fracción INORG (45, 24%). El Zn fue obtenido mayormente como RES (48, 4 – 63, 8 %) aunque también se obtuvieron altos porcentajes de recuperación con otros tratamientos (Zn-MO: 15, 3 – 25, 4%; Zn-INOR: 9, 0 – 21, 8%). En general, los porcentajes de los metales en las fracciones MO, INORG y INT fueron mayores en las muestras provenientes de SI comparado a las muestras provenientes de SE de producción, donde los metales fueron recuperados mayormente en la fracción RES. El contenido de Co y Mo en las todas las muestras de excretas analizadas fue recuperado principalmente como fracción residual, lo que podría relacionarse con las bajas concentraciones totales de estos elementos traza determinadas en dichas matrices.

Los valores de Cu-MO y Zn-MO obtenidos para las muestras de excretas de SI fueron considerablemente mayores que aquellos encontrados en excretas provenientes de SE (Cu-MO: 13.19 %; Zn-MO: 12.66 %). Esto puede ser atribuido al alto contenido de carbono orgánico total en las muestras de excretas de SI (22, 5 – 31, 6 %) y la capacidad de estos metales de complejarse con los ligandos-base de carbono orgánico.

La bibliografía encontrada sobre la distribución y el comportamiento de los elementos traza a partir del fraccionamiento secuencial de matrices orgánicas como las excretas es por demás escasa. Petrucelli *et al.* (1989) evaluó la distribución de algunos metales

en compost originado de residuos sólidos municipales a través de un procedimiento de extracción secuencial desarrollado para el análisis en suelos. En su estudio, distingue tres fracciones principales: la fracción soluble en agua, más móvil; la fracción intercambiable con KNO_3 que extrae aquellas formas de metales complejadas a la matriz del compost por fuerzas de Van der Waals o de naturaleza Columbia; y la fracción adsorbida o complejada a componentes orgánicos de la matriz con EDTA. De las fracciones extractables analizadas en dicho trabajo (H_2O y KNO_3), los valores obtenidos para Cu fueron 9, 9 mg/kg H_2O ; 4 mg/kg KNO_3 ; y para Zn: 11, 4 mg/kg H_2O ; 3, 7 mg/kg KNO_3 siendo éstos valores superiores a los obtenidos en nuestro estudio para la fracción INT en excretas SI (Cu SI I: 1, 94 mg/kg; SI II 1, 54 mg/kg; SI III 1, 67 mg/kg; Zn SI I: 4, 94 mg/kg; SI II: 7, 07 mg/kg; SI III: 8, 31 mg/kg). Las mayores concentraciones fueron obtenidas en la fracción extraíble con EDTA (Cu: 11, 4 mg/kg; Zn 76, 6 mg/kg), el cual permite obtener las formas químicas de los metales adsorbidos en las diferentes superficies presentes en la matriz compost. En nuestro estudio, la fracción extraída con EDTA representa aquella fracción de metales unida a carbonatos o INORG, siendo los valores obtenidos también menores (Cu-INORG SI I: 7, 74 mg/kg; SI II 3, 27 mg/kg; SI III 11, 32 mg/kg; Zn-INORG SI I: 19, 32 mg/kg, SI II 35, 44 mg/kg; SI III 22, 39 mg/kg).

Así mismo, Amir *et al.* (2005) utilizaron un método de extracción secuencial para determinar los cambios en las distribuciones de metales pesados (Cu, Zn, Ni, Pb) entre las diferentes fracciones estudiadas durante el compostaje de lodos de aguas residuales. En este estudio, la mayor proporción de los metales pesados analizados en el compost se asociaron con la fracción residual (70-80%) y las fracciones más resistentes a la extracción (NaOH = orgánicamente unido, EDTA = orgánicamente complejoado o carbonatos y HNO_3 = sulfuros) (12-29%). Se detectó menos del 2% de los metales en las fracciones potencialmente disponibles ($\text{KNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$). En otros trabajos publicados, se determinó que una proporción significativa de los metales contenidos en los compost derivados de residuos sólidos municipales fue obtenida de la fracción ligada a materia orgánica. Por ejemplo, He *et al.* (2005) demostraron que más de 50 a 80% de Zn se extrajo de la fracción orgánica relativamente lábil. El cobre, por otra parte, estaba ligado a la materia orgánica más humificada (aproximadamente 50%) y, por lo tanto, se consideró que era relativamente inmóvil. Si bien los resultados de estos trabajos podrían ser comparables a lo obtenido en excretas provenientes de SI de producción, es importante considerar que el proceso de compostaje puede originar variaciones en la extractabilidad y solubilidad de los metales pesados, debido

principalmente a los cambios asociados en el pH, contenido de sustancias húmicas y materia orgánica del producto final respecto del material de origen (lodos de aguas residuales, lodos de lagunas anaeróbicas, lodos municipales, excretas, etc.).

En nuestro país, Torri y Lavado (2008 a), b)) efectuaron el fraccionamiento secuencial de lodos de depuradora, recuperando el mayor porcentaje de Cu de la fracción residual. Sólo un 17-20% del Cu fue obtenido como Cu-MO. Asimismo, el Zn fue obtenido mayormente como RES e INORG. A fines comparativos, debe considerarse que estos materiales son originados a partir de actividades industriales y que, a su vez reciben, un tratamiento de estabilización lo que hace que no puedan relacionarse directamente con lo obtenido en excretas de SI.

1.4. Conclusiones preliminares

Los resultados obtenidos de este estudio son una de las primeras contribuciones a la determinación de la concentración total y el fraccionamiento secuencial de metales traza en excretas provenientes de sistemas intensivos de producción animal en nuestro país.

De las muestras de excretas analizadas, se encontró que aquellas provenientes de SI de producción presentaron mayor contenido total de Cu y Zn respecto de las excretas provenientes de SE de producción. A partir del fraccionamiento secuencial, se observó para las muestras de excretas provenientes de SI un mayor porcentaje de fracción intercambiable para todos los metales analizados (Cu, Zn, Co y Mo) respecto a las excretas extensivas.

Estos resultados indicarían que las excretas de sistemas intensivos de engorde bovino aportan formas más disponibles a los suelos cuando son utilizadas como fertilizantes orgánicos. Así mismo, el potencial uso de estas excretas como enmiendas orgánicas contribuye a reducir el impacto ambiental que origina la acumulación de las mismas en los corrales.

1.5. Referencias

- Achiba, W. Ben, Lakhdar, A., Gabteni, N., Du, G., Verloo, M., Boeckx, P., Cleemput, O. Van, Jedidi, N., Gallali, T., 2010. Accumulation y fractionation of trace metals in a Tunisian calcareous soil amended with farmyard manure y municipal solid waste compost. *Journal of Hazardous Materials* 176, 99–108. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.11.004
- Alcock, R.E., Bacon, J., Bardget, R.D., Beck, A.J., Haygarth, P.M., Lee, R.G.M., Parker, C.A., Jones, K.C., 1996. Persistence y fate of polychlorinated biphenyls (PCBs) in sewage sludge-amended agricultural soils. *Environmental Pollution* 93, 83–92. doi:10.1016/0269-7491(96)00002-4
- Alvarado, P.I., 2011. Produccion de carne en Argentina [WWW Document]. Producción de Carne En Argentina-Curso Materia Prima Agroindustrial. URL www.vetunicen.edu.ar
- Amir, S., Hafidi, M., Merlina, G., Revel, J.C., 2005. Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. *Chemosphere* 59, 801–810. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.11.016
- Yriulo, A., Sasal, C., Améndola, C., Rimatori, F., 2003. Impacto de un sistema intensivo de producción de carne vacuna sobre algunas propiedades del suelo y del agua. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 32, 27–56.
- ASAE , 2005. Manure production y characteristics, American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Barker, J.C., Hodges, S.C., Walls, F.R., 2001. Livestock Manure Production Rates y Nutrient Content. *North Carolina Agricultural Chemicals Manual* 1–4.
- Benckiser, G., Simarmata, T., 1994. Environmental impact of fertilizing soils by using sewage y animal wastes. *Fertilizer Research* 37, 1–22. doi:10.1007/BF00750669
- Bolan, N.S., Khan, M.A., Donaldson, J., Adriano, D.C., Matthew, C., 2003. Distribution y bioavailability of copper in farm effluent. *Science of the Total Environment* 309, 225–236. doi:10.1016/S0048-9697(03)00052-4
- Bray, R.H., Kurtz, L.T., 1945. Determination of Total, Organic, y Available Forms of Phosphorus in Soils. *Soil Science*. doi:10.1097/00010694-194501000-00006
- Brock, E.H., Ketterings, Q.M., McBride, M., 2006. Copper y Zinc Accumulation in Poultry y Dairy Manure-Amended Fields. *Soil Science* 171, 388–399. doi:10.1097/01.ss.0000209360.62945.95
- Burton, C.H., Turner C., 2003. Manure management. Treatment strategies for sustainable agriculture. 2nd ed. Silsoe Research Institute. Silsoe Bedford. pp. 451.
- Carrillo, J., 2008: Manejo de un rodeo de cría. Ediciones Hemisferio Sur; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina. pp 194.
- Cole, N.A., Brown, M.S., Varel, V.H., 2006. Beef Cattle: Manure Management.
- Davis, R., Watts, P., McGahan, E.J., 2012. Quantification of Feedlot Manure Output for Beef-bal Model Upgrade , (Rirdc).

- Duarte-Davidson, R., Jones, K.C., 1996. Screening the environmental fate of organic contaminants in sewage sludges applied to agricultural soils: II. The potential for transfers to plants y grazing animals. *Science of Total Environment* 185, 59-70.
- Dimarco, O.N. 2004. Fisiología del crecimiento de vacunos. Curso de posgrado actualización en invernada Módulo I. F.C.V. de la U.N. La Pampa y C.M.V. de La Pampa. Disponible en http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/externor/16-fisiologia_del_crecimiento.pdf
- Eck, H.V., Stewart, B.A., 1995. Manure. En: *Soil Amendments y Environmental Quality*. Lewis Publishers: Boca Raton, 169-198.
- Eghball, B., Power, J., 1994. Beef cattle feedlot manure management. *Journal of soil y water conservation*. 49, 113-122.
- Elizalde, J.C., Santini, F.J., 1992. Factores nutricionales que limitan las ganancias de peso en bovinos en el período otoño invierno. *Boletín Técnico* Nro. 104. EEA INTA Balcarce.
- EPA's Environmental Protection Agency 1996: *Compilation of EPA's sampling y analysis methods*. Washington D. C. USA p. 1696.
- FAO, 2014. *El estado mundial de la agricultura y la alimentación, 2014*. Organización de La Naciones Unidas Para La Alimentación Y La Agricultura. doi:0251-1371
- FAO, 2006. *Fertilizer use by crop*. FAO Fertilizer y Plant Nutrition Bulletin.
- Fleming, G.A., Mordenti, A. 1993. The production of animal wastes. En: L'Hermite, P., Sequi y Voorburg, J.H. (Eds.). *Scientific basis for environmentally safe y efficient management of livestock farming: report of the Scientific Committee of the European Conference Environment, Agriculture y Stock Farming in Europe*. Mantova 1991-1992, Mantua, Italy: European Conference.
- Giraudó, P., 2006. El ingreso y acostumbramiento en los feedlots. *Producir XXI*, Buenos Aires. 14, 35-38.
- Greenway, G.M., Song, Q.J., 2002. Heavy metal speciation in the composting process. *Journal of Environmental Monitoring* 4, 300–305. doi:10.1039/b110608m
- Hales, K.E., Freetly, H.C., Shackelford, S.D., King, D.A., 2013. Effects of roughage concentration in dry-rolled corn-based diets containing wet distillers grains with solubles on performance y carcass characteristics of finishing beef steers. *Journal of Animal Science* 91, 3315–3321. doi:10.2527/jas.2012-5942
- Halpin, C.G., Harris, D.J., Caple, I.W., Petterson, D.S., 1984. Contribution of cobalamin analogues to plasma vitamin B12 concentrations in cattle. *Res Vet Sci* 37, 249–251.
- Han, F.X., Banin, A., 1999. Long-term transformation y redistribution of potentially toxic heavy metals in arid-zone soils: II. Incubation at the field capacity moisture content. *Water, Air, y Soil Pollution* 114, 221–250. doi:10.1023/A:1005006801650
- He, Z.L., Yang, X.E., Stoffella, P.J., 2005. Trace elements in agroecosystems y impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine y Biology*. doi:10.1016/j.jtemb.2005.02.010

- Hill, W.J., Secrist, D.S., Owens, F. N., Strasia, C.A, Gill, D.R., Basalan, M., Johnson, A.B., 1996. Effects of trace mineral supplements on performance of feedlot steers. Okla. Agric. Exp. Sta.Misc. Pub. P. 951, 153-163
- INDEC. 2002. Censo Nacional Agropecuario, CNA. www.indec.gov.ar
- INDEC. 2014. Censo Nacional Agropecuario, CNA. www.indec.gov.ar
- Jackson, M.L. 1964. Análisis químico de suelos. Barcelona, Ed. Omega, 662 pp
- Kaplan, J.D., Robert, C. J., Peters M. 2004. "The Manure Hits the Ly: Economic y Environmental Implications When Ly Application of Nutrients Is Constrained." American Journal of Agricultural Economics. 86,688-700.
- Keady, T.W.J., Hanrahan, J.P., Marley, C.L., Scollan, N.D., 2013. Production y utilization of ensiled forages by beef cattle, dairy cows, pregnant ewes y finishing lambs - A review. Agricultural y Food Science.
- Koenig, K.M., Beauchemin, K.A., 2013. Nitrogen metabolism y route of excretion in beef feedlot cattle fed barley-based finishing diets varying in protein concentration y rumen degradability. Journal of Animal Science 91, 2310–2320. doi:10.2527/jas.2012-5653
- Lawrence, J., Harmon, J., Lorimor, J., Williams, E., Loy, D. 2001. Beef feedlot systems manual. Cattle feeding in Iowa for the 21st Century. Iowa, USA, 26 pp.
- Liu, Y., Ma, L., Li, Y., Zheng, L., 2007. Evolution of heavy metal speciation during the aerobic composting process of sewage sludge. Chemosphere 67, 1025-1032.
- MAGyP 2014. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Presidencia de la Nación. Indicadores ganaderos. Anuario 2014. pp 16.
- MAGyP. 2014 Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Presidencia de la Nación. En base a datos de SENASA. Existencias Bovinas. pp 14.
- Manrique, L. a., Jones, C. a., 1991. Bulk Density of Soils in Relation to Soil Physical y Chemical Properties. Soil Science Society of America Journal 55, 476. doi:10.2136/sssaj1991.03615995005500020030x
- Mbila, M.O., Thompson, M.L., Mbagwu, J.S., Laird, D. a, 2001. Distribution y movement of sludge-derived trace metals in selected Nigerian soils. Journal of Environmental Quality 30, 1667–1674. doi:10.2134/jeq2001.3051667x
- Mc Geough, E. J.; O’Kiely, P.; Hart, K. J.; Moloney, A. P.; Boly, T. M.; Kenny, D. A., 2010. Methane emissions, feed intake, performance, digestibility, y rumen fermentation of finishing beef cattle offered whole-crop wheat silages differing in grain content. Journal of Animal Science. 88, 2703-2716
- McGrath, S.P., Cegarra, J., 1992. Chemical extractability of heavy metals during y after long- term applications of sewage sludge to soil. Journal of Soil Science 43, 313–321. doi:10.1111/j.1365-2389.1992.tb00139.x
- Menzi, H., Kessler, J., 1998. Heavy metal content of manure in Switzerly. En: Martinez, J. (Ed.) Proc. of the FAO-Network on Recycling Agric., Municipal y Industrial Residues in Agric. (RAMIRAN 98), Rennes, France, 495–506.
- Miller, W. P., Mc Fee, W. W. 1983. Distribution of Cadmium, Zinc, Copper, y Lead in

- Soils of Industrial Northwestern Indiana. *Journal of Environmental Quality* 12,29-33
- Moscuzza, C.H., Fernández-cirelli, A., 2009. Trace Elements in Confined Livestock Production Systems In the Pampean Plains of Argentina 7, 1583–1590.
- Moscuzza, C.H., 2009. Dinámica de nutrientes en sistemas intensivos de engorde bovino. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. U.B.A.
- MWPS 2000, Manure Characteristics, MWPS-18 Section 1. MidWest Plan Service, Iowa St. University, Ames, IA.
- Nicholson, F.A., Chambers, B.J., Williams, J.R., Unwin, R.J., 1999. Heavy metal contents of livestock feeds y animal manures in Englyy Wales. *Bioresource Technology* 70, 23–31. doi:10.1016/S0960-8524(99)00017-6
- NRC, 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Nutrient Requirements of Beef Cattle. doi:10.17226/9791
- NCSU. Nutrient management in North Carolina. [http://nutrients.soil.ncsu.edu/manures/Final-Tables-\(Ag-Chem-Manual-Version\).pdf](http://nutrients.soil.ncsu.edu/manures/Final-Tables-(Ag-Chem-Manual-Version).pdf)
- NSW Agriculture, December 1998. Policy for Sustainable Agriculture in New South Wales. pp16.
- NSW Agriculture, 1998. The New South Wales feedlot manual. The Inter-Department Committee on Intensive Animal Industries (Feedlot Section) (2 nd ed.): Update 98/1.
- Page, A.L. 1982. Methods of soil analysis. Madison, Wisconsin. USA. Soil Sci. Soc. Am. Inc. Publisher Agron.9,(2).
- Perez-Murcia, M.D., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Espinosa, A., Paredes, C., 2006. Use of composted sewage sludge in growth media for broccoli. *Bioresource Technology* 97, 123–130. doi:10.1016/j.biortech.2005.02.005
- Petruzzelli, G., Szymura, I., Lubrano, L., Pezzarossa, B., 1989. Chemical speciation of heavy metals in different size fractions of compost from solid urban wastes. *Environmental Technology* 10, 521-526.
- Pichtel, J., Yerson, M., 1997. Trace metal bioavailability in municipal solid waste y sewage sludge composts. *Bioresource Technology* 60, 223–229. doi:10.1016/S0960-8524(97)00025-4
- Pordomingo, A.J., 2013. Feedlot: Alimentación, diseño, y manejo. Publ. Técnica N°62, INTA, EEA Anguil.
- Pordomingo, A.J., 2003. Gestión ambiental en el feedlot Guía de buenas prácticas.
- Qian, J., Wang, Z.J., Shan, X.Q., Tu, Q., Wen, B., Chen, B., 1996. Evaluation of plant availability of soil trace metals by chemical fractionation y multiple regression analysis. *Environmental Pollution* 91, 309–315. doi:10.1016/0269-7491(95)00066-6
- Rearte, D. 2003. Distribución regional de la ganadería Argentina. Congreso Nacional de Cría, AACREA. <http://www.aacrea.com.ar>

- Rearte, D. 2007. La Producción de Carne de Argentina, INTA, Bs.As.http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/origenes_evolucion_y_estadisticas_de_la_ganaderia/48-ProdCarneArg_esp.pdf
- Rearte, D. 2007. Situación de la ganadería Argentina en el contexto mundial. Programa Nacional de Carnes. <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/indices/tematica/ganad/bovi/carne.htm>.
- Richards, B.K., Schulte, B.M., Heilig, A., Steenhuis, T.S., McBride, M.B., Harrison, E.Z., Dickson, P., 2004. Environmental impacts of applying manure, fertilizer, y sewage biosolids on a dairy farm. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 40, 1025–1042. doi:10.1111/j.1752-1688.2004.tb01064.x
- Riffel, S.L. Elizalde, J.C., 2011. Costos de producción de carne vacuna en diferentes planteos de cría y terminación en la región pampeana. *PlanteosGanaderos. Asoc.Aeg. Prod. S. Directa.* 25-41
- Rothbaum, H.P., Goguel, R.L., Johnston, A.E., Mattingly, G.E.G., 1986. Cadmium Accumulation in Soils from Long-Continued Applications of Superphosphate. *J. Soil Science.* 37, 99-107
- Sager, M., 2007. Trace y nutrient elements in manure, dung y compost samples in Austria. *Soil Biology y Biochemistry* 39, 1383–1390. doi:10.1016/j.soilbio.2006.12.015
- Sheppard, M.I., Stephenson, M., 1997. Critical Evaluation of Selective Extraction Methods for Soils y Sediments, Contaminated Soils. INRA (Les Colleeagues, 85), Paris
- Sims, J.T., Bergstrom, L., Bowman, B.T., Oenema, O., 2005. Nutrient management for intensive animal agriculture: policies y practices for sustainability. *Soil Use y Management* 21, 141–151. doi:10.1079/sum2005301
- Sloan, J.J., Dowdy, R.H., Dolan, M.S., Linden, D.R. 1997. Long-term effects of biosolids applications on heavy metal bioavailability in agricultural soils. *Journal of Environmental*
- Sposito, G., Lund, L.J., Chang, A.C., 1982. Trace Metal Chemistry in Arid-zone Field Soils Amended with Sewage Sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, y Pb in Solid Phases. *Soil Science Society of America Journal* 46, 260. doi:10.2136/sssaj1982.03615995004600020009x
- Smith, S. R., 2009. A critical review of the bioavailability y impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environment international* 35, 142-156.
- Sweeten, J.M. 2000. Manure y Wastewater Management for Cattle Feedlots. *Reviews of Environmental Contamination y Toxicology.* 167, 121-153.
- Sparks, D. L. 1996. *Methods of Soil Analysis: Part 3—Chemical Methods.* SSSA Book Series, ASA, Madison, Wisconsin, USA. p. 1309.
- Tessier, a, Campbell, P.G.C., Bisson, M., 1979. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry* 51, 844–851. doi:10.1021/ac50043a017

- Torri, S.I., Lavado, R., 2008. Zinc distribution in soils amended with different kinds of sewage sludge. *Journal of Environmental Management* 88, 1571–1579. doi:10.1016/j.jenvman.2007.07.026
- Torri, S.I., Lavado, R.S., 2008. Dynamics of Cd, Cu y Pb added to soil through different kinds of sewage sludge. *Waste Management* 28, 821–832. doi:10.1016/j.wasman.2007.01.020
- USEPA, 1995. A Guide to the Biosolids Risk Assessments for the EPA Part 503 Rule. U.S. EPA, Economics, Exposure y Technology Division, Office of Pollution Prevention y Toxics (1997); The U.S. Fertilizer Industry: A Profile.
- U.S. Department of Agriculture (USDA). Economic Research Service, Natural Resources y Environment Division, Agricultural Resources y Environmental Indicators, Agricultural Hybook No. 705.
- U.S. Department of Agriculture (USDA). 2003. Agricultural Statistics. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC
- USEPA, 1999. Background Report on Fertilizer Use, Contaminants y Regulations. U.S. Environmental Protection Agency EPA 747-R-, 1–395.
- Walter, I., Martínez, F., Cala, V., 2006. Heavy metal speciation y phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental Pollution* 139, 507–514. doi:10.1016/j.envpol.2005.05.020
- Webber, M.D. y Webber, L.R. 1983. Micronutrients y heavy metals in livestock y poultry manures. In: *Farm Animal Manures in the Canadian Environment*. Publication N°
- Westing, T.W., Fontenot, J.P., McClure, W.H., Kelly, R.F., Webb Jr., K.E., 1985. Characterization of Mineral Element Profiles in Animal Waste y Tissues from Cattle Fed Animal Waste. I. Heifers Fed Broiler Litter. *J. Anim Sci.* 61, 670–681.
- Yoshida, N; Moscuza, C; Du Mortier, C; Castro, M y FernándezCirelli, A. 2007. Environmental effects of therapeutic agents used in veterinarian medicine. En: *Environmental change y rational water use*. 458 pp.
- Zaman, M.S., Mir, Z., Mir, P.S., El-Meadawy, A., McAllister, T.A., Cheng, K.J., ZoBell, D., Mathison, G.W., 2002. Performance y carcass characteristics of beef cattle fed diets containing silage from intercropped barley y annual ryegrass. *Animal Feed Science y Technology* 99, 1–11. doi:10.1016/S0377-8401(02)00148-7
- Zhou, D.M., Hao, X.Z., Wang, Y.J., Dong, Y.H., Cang, L., 2005. Copper y Zn uptake by radish y pakchoi as affected by application of livestock y poultry manures. *Chemosphere* 59, 167–175. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.11.008
- Zilic, S., Milasinovic, M., Terzic, D., Barac, M., Ignjatovic-Micic, D., 2011. Grain characteristics y composition of maize specialty hybrids. *Spanish Journal of Agricultural Research* 9, 230–241. doi:10.5424/sjar/20110901-053-10

Capítulo 2.

Carencias de micronutrientes en sistemas extensivos de ganadería bovina

2.1. Introducción

La incesante búsqueda por maximizar la producción ganadera lleva a que los requerimientos nutricionales sean cada vez más altos. La energía y la proteína son los factores primarios a tener en cuenta, pero su aporte se hace ineficiente si no se considera su interacción con los minerales y las vitaminas, nutrientes esenciales en la alimentación animal. Los micronutrientes, también conocidos como elementos traza o minerales traza, incluyen aquellos elementos que son requeridos en pequeñas cantidades por los animales, plantas y humanos. Sin embargo, esto no hace referencia a un rol menor en el metabolismo. Su deficiencia puede causar serios problemas en los rendimientos de cosecha como así también en la salud de los animales (Gupta *et al.*, 2008).

Veintidós elementos minerales son considerados esenciales para el crecimiento de las plantas y para la vida animal: 7 macronutrientes – calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio y azufre- y 15 elementos minerales traza o micronutrientes- hierro, yodo, zinc, cobre, manganeso, cobalto, molibdeno, selenio, vanadio, sílice y boro (Underwood y Suttle, 1999).

En los animales, los minerales realizan cuatro grandes grupos de funciones: estructurales, conformando parte estructural de órganos y tejidos; fisiológicas, como regulación de la presión osmótica, regulación de pH, permeabilidad de membrana y transmisión del impulso nervioso; catalíticas, conformando parte estructural de metaloenzimas y hormonas o activadores; reguladoras, participando en la replicación celular y diferenciación (Suttle, 2010). En el caso de los rumiantes, no debemos minimizar su intervención en el metabolismo ruminal. Las bacterias y protozoos presentes en este medio, como en todo ser vivo, requieren minerales para lograr un óptimo crecimiento, reproducción y también para lograr producir la degradación fermentativa de los alimentos. Gran parte de las mermas que se suscitan en la producción de los rumiantes por deficiencias minerales se deben a una baja eficiencia

de conversión alimenticia, debido a una menor digestibilidad y aprovechamiento de nutrientes (Fisher y Director, 2008).

2.1.1. Factores que condicionan la presentación de cuadros de carencias minerales

Como se vio anteriormente en el Capítulo 1, los sistemas de engorde bovino en confinamiento utilizan alimento balanceado al que se incorpora un núcleo mineral cuyos componentes básicos son Fe, Se, I, Mn, Co, Cu y Zn. De esta manera, la mayoría de dichos minerales se encuentran en concentraciones suficientes en las raciones formuladas ofrecidas a los animales. A su vez, los requerimientos minerales de los animales confinados dependerán principalmente del tipo y del nivel de producción; por lo que la suplementación mineral resulta necesaria para optimizar rendimientos productivos y cuidar la salud animal. Anteriormente también se evaluó que el excedente de elementos traza incorporados a través del alimento, es eliminado por excretas al ambiente y su concentración está notoriamente relacionada con el contenido en las raciones consumidas y con la eficiencia de conversión del animal.

En oposición al escenario anterior, los rodeos de cría enfrentan problemas más serios ya que dependen casi exclusivamente del pastoreo a campo, sin recibir en muchos casos ninguna suplementación. En los sistemas de producción ganadera en base pastoril, el ganado normalmente obtiene la mayoría de los minerales del forraje consumido y del agua de bebida. A su vez, el contenido de minerales de las plantas depende, desde un punto de vista amplio, de cuatro factores: el genotipo de la planta, el ambiente del suelo, el clima y el estado de maduración. La relevancia de los factores anteriormente mencionados varía entre los minerales, y es influenciado por otros aspectos del cultivo y la producción forrajera como el uso de fertilizantes, enmiendas del suelo, riego, rotación de cultivos, cultivos intercalados y cultivares de alto rendimiento (Kabata-Pendias, 2011).

En este contexto y dado que las pasturas obtienen los compuestos asimilables en el suelo donde crecen, las carencias de minerales se encuentran altamente asociadas al tipo de agua y suelo de cada región; coincidiendo en una alta proporción las áreas deficientes con áreas marginales de cría (Suttle *et al.*, 1980).

En nuestro país, la actividad de cría se desarrolla principalmente en regiones extrapampeanas dado principalmente a los menores requerimientos. Como puede observarse en la Figura 2.1, la región pampeana es la principal región con existencias

bovinas a nivel nacional, siendo la cría la principal actividad, ya sea de forma pura o predominante, realizándose en el 59% de los establecimientos emplazados en dicha región (MAGyP, 2011). La provincia de Buenos Aires aporta el 34% de las cabezas de ganado bovino del país con un total de 17.284.318 cabezas. La mitad del stock de la provincia (48%) se encuentra en la región Cuenca del Salado y Depresión de Laprida, siendo ésta la región de cría más importante del país y que concentra el 50% de las cabezas correspondientes a las categorías vacas, terneros, terneras, toros y reteniendo el 47% de las vaquillonas de la provincia (MAGyP, 2015). Esta actividad es desarrollada principalmente en las zonas donde los suelos son más pobres, no cultivables y con limitaciones de drenaje (Cuenca del Salado).

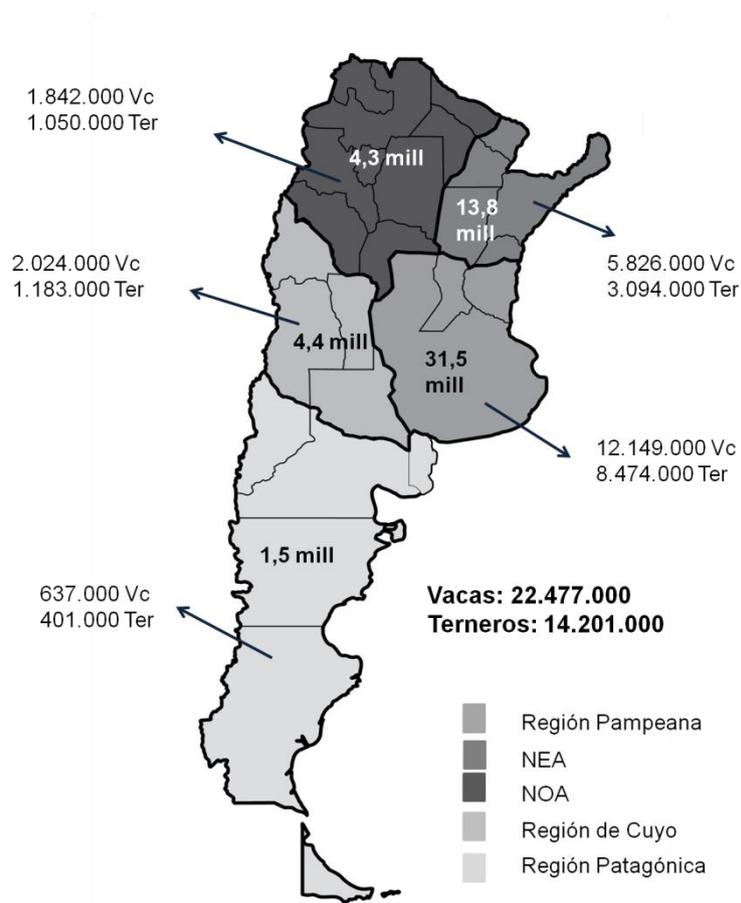


Figura 2.1 Distribución geográfica de la ganadería extensiva (MAGyP, 2014). Vc: vaca; Ter: ternero.

Adicionalmente pueden citarse el NEA como segunda región ganadera del país y la segunda región en términos de existencias bovinas, donde el 57% de los

establecimientos productores de la zona realiza la cría como actividad principal. El NEA se divide en dos sub-regiones separadas por el Río Paraná, siendo la región este carente de fósforo y sodio. Al oeste del Río Paraná, las lluvias decrecen hacia el oeste convirtiéndose la falta de agua en una severa limitante a la producción (Rearte, 2007).

El NOA que según datos del Ministerio de Agricultura (MAGyP, 2011) en el año 2011 se registraron 41.242 establecimientos con stock bovino en la región, con el 45% de los mismos con actividad principal la cría, concentrando el 50% del stock de la región. Las precipitaciones se concentran en verano-otoño, generando una prolongada época seca en invierno y primavera. Los suelos son poco profundos, deficientes en materia orgánica y nitrógeno, de reacción neutra a alcalina. La vegetación dominante es la característica del Bosque Chaqueño, alternando con pastizales abiertos y áreas arbustivas (Cabido *et al.*, 1994). Estas características climáticas y forrajeras determinan que la actividad ganadera predominante sea la cría.

La Región de Cuyo presenta como actividad con mayor preponderancia respecto de las demás regiones la cría, ya sea en forma pura o predominante, concentrando el 62% del stock regional (MAGyP, 2011). El clima templado seco y los pastizales naturales como principal oferta forrajera apoyan el desarrollo de la cría como actividad preponderante (Basualdo, 2006). La Región Patagónica abarca la zona más desértica del país, la actividad ganadera de cría se desarrolla como la actividad principal concentrando el 63% del stock regional y se concentra en el valle inferior del Río Negro (Iglesias *et al.*, 2015).

Es importante también destacar que las enfermedades carenciales, no son de etiología única. Por un lado, puede originarse a partir de una insuficiente concentración mineral de los pastos ingeridos, lo que se conoce como deficiencia primaria; o bien puede originarse de la interacción o interferencia por parte de otros elementos presentes en las pasturas que impiden la correcta absorción mineral. A este cuadro se lo denomina como deficiencia secundaria o condicionada (Repetto *et al.*, 2004).

En términos generales, podemos resumir que las deficiencias minerales que más afectan la producción de los bovinos para carne en la Argentina, son las originadas por insuficientes niveles de fósforo, magnesio, sodio, zinc y/o selenio en las pasturas. Por otra parte, las carencias de cobre (sumamente importantes, en muchas zonas de nuestro país) son inducidas por interferencias, debidas a los excesos de molibdeno, sulfatos o hierro.

A continuación se realizará una revisión bibliográfica de las carencias de micronutrientes de presentación más frecuente en nuestro país donde se detallarán los factores que influyen en su presentación, el impacto sobre la salud animal y algunas pautas de suplementación. A su vez, esto reviste importancia dado que algunos de dichos elementos traza (Cu y Zn) se encuentran presentes en altas concentraciones en las excretas bovinas provenientes de sistemas intensivos de producción; de modo tal que la reutilización de las excretas procedentes de estos sistemas como fuente de fertilización orgánica podría reducir el riesgo de contaminación y a su vez compensar las carencias de estos micronutrientes en suelos destinados a la implantación de forrajes para consumo del ganado.

2.1.2. Principales carencias de microminerales que afectan los sistemas extensivos de producción ganadera en la Argentina

Carencia de Zinc

Las funciones del zinc en el organismo son múltiples. Es parte estructural de diversas metaloenzimas y, a su vez, es requerido para la estructura y la integridad funcional de más de 2000 factores de transcripción (Beattie y Kwun, 2004; Cousins *et al.*, 2006). En el ganado vacuno, las funciones más importantes que se ven afectadas ante la carencia del mineral son: expresión de genes; su participación en la síntesis de ADN y la síntesis proteica puede provocar alteraciones en el crecimiento y desarrollo fetal; regulación del apetito, la carencia de zinc puede reducir la tasa de ingesta diaria estando esto ligado a la expresión de hormonas reguladoras del apetito; absorción de grasas, se ha estudiado que el zinc participa en la formación de quilomicrones los cuales facilitan la absorción de grasas a nivel intestinal; defensa antioxidante, la carencia de zinc incrementa la susceptibilidad de las células endoteliales al stress oxidativo (Hambidge y Krebs, 2007).

En todas las especies domésticas, la carencia de zinc se encuentra caracterizada por: pérdida del apetito o anorexia, es uno de los síntomas más tempranos de la carencia severa de este mineral, y en general la mayoría de los otros signos clínicos son secundarios a la pérdida del apetito: baja tasa de crecimiento, alteraciones en el desarrollo del esqueleto, anormalidades de piel/apéndices (Miller *et al.*, 1965). El engrosamiento, endurecimiento y agrietamiento de la piel (paraqueratosis) es un signo tardío de la privación de zinc en todas las especies (Cuadro 2.1.). A su vez, puede generar fallas reproductivas, con una disminución de la espermatogénesis, reducción

del diámetro testicular en machos, y bajos pesos y bajas tasas de supervivencia en los recién nacidos (Miller, 1970).

Deficiencia	Consecuencia patológica	Defecto asociado al metabolismo.
Zinc (Zn)	<p>Anorexias</p> <p>Retraso en el crecimiento</p> <p>Paraqueratosis</p> <p>Mortalidad Perinatal</p> <p>Involución del timo</p> <p>Defectos en las células reguladoras de la respuesta inmune</p>	<p>Síntesis, transcripción y traslación de polinucleótidos</p>

Cuadro 2.1 Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Zn.

Trabajos previos han estimado el requerimiento de Zn en bovinos, a partir de la asociación entre la concentración dietaria de dicho metal y los desórdenes observados a campo, ensayos de alimentación y métodos factoriales (Aholae *et al.*, 2004). Así mismo en animales en producción, los requerimientos pueden variar según la etapa del ciclo productivo en la cual se encuentran. El requerimiento diario recomendado de Zn en dietas destinadas a bovinos de carne es de 30 mg/kg (NRC, 2000). Estos valores de Zn satisfacen los requerimientos de bovinos en engorde en la mayoría de las situaciones. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que los requerimientos para bovinos de carne alimentados sobre base pastoril, se encuentran menos estudiados (Spears y Kegley, 2002).

La absorción de Zn en rumiantes ocurre principalmente a nivel de abomaso e intestino delgado. Dicha absorción se encuentra controlada homeostáticamente y se ajusta a la concentración dietaria de zinc basada en los requerimientos del ganado en crecimiento o lactación. Los factores que afectan la absorción de Zn en rumiantes aún no son bien comprendidos (Hambidge y Krebs, 2007). Los fitatos no reducen la absorción del mineral en animales con un rumen funcional. Se sabe que un alto porcentaje del Zn en forrajes se encuentra unido a la pared celular de las células vegetales por lo que dietas con alto contenido de fibra podrían disminuir la absorción (Spears, 2003).

Las fuentes naturales de zinc son los forrajes y los alimentos concentrados. Gran parte de los valores obtenidos de Zn en pasturas arrojan un rango de 25-50 mg/kg de MS producida (Minson, 1990). Las concentraciones de Zn en las pasturas están influenciadas por numerosos factores entre ellos, la especie forrajera, el estado madurativo y el contenido del elemento en el suelo.

- Zn en suelos

El contenido de micronutrientes en el suelo y su disponibilidad para las plantas están determinados por el contenido del mineral en el material parental original y por los procesos de meteorización que han tenido lugar en los últimos años. En general, los suelos lixiviados altamente erosionados de las regiones cálidas y húmedas contienen menores cantidades de micronutrientes que los suelos en las regiones frías y secas. Sin embargo, la cantidad total de un elemento en el suelo generalmente no refiere a la cantidad disponible para la absorción de la planta (Voss, 1998).

La cantidad de cada micronutriente en el suelo varía considerablemente. El Zn es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre con un valor aproximado de 70 mg/kg (Krauskopf, 1979). El contenido promedio de Zn en suelos a nivel mundial está entre 40-50 mg/kg; en suelos agrícolas se han determinado concentraciones dentro de un rango de 50-300 mg/kg (Berrow y Reaves, 1984). En nuestro país, estudios previos han determinado el contenido total de Zn en suelos del este de la región pampeana un promedio de 38,4 mg/kg (Buffa y Ratto, 2009; Lavado, 2006; Lavado *et al.*, 2004).

El 50% de los suelos cultivables a nivel mundial tiene un bajo contenido de Zn biodisponible, el cual se encuentra mayormente retenido dentro de complejos intercambiables del suelo, como la superficie de las arcillas o la materia orgánica. La mayoría del Zn en suelos se encuentra en formas poco disponibles, como óxidos de Fe y Mn (Alloway, 2013). El contenido de Zn intercambiable puede estar entre 2-25 ppm. La cantidad de Zn disponible depende de factores como el pH del suelo, la textura, el contenido del fósforo y las condiciones climáticas. La forma Zn^{+2} es la que las plantas captan de los suelos. La biodisponibilidad de Zn decrece en suelos con pH por encima de 6,5 y en suelos con texturas arenosas o franco arenosas y aquellos ricos en materia orgánica. Los altos niveles de fósforo en los suelos puede inducir deficiencia de Zn en cultivos en suelos donde el contenido de Zn disponible es bajo o suficiente (Adriano, 2001).

Roca *et al.* (2007) analizaron la biodisponibilidad en suelos mediante la extracción con DPTA de Zn en el NO argentino encontrando un 20% de los suelos deficientes en Zn y un 53% de los suelos pobres en dicho metal. Lavado y Porcelli (2000) analizaron la biodisponibilidad de micronutrientes en seis localidades del norte de la Provincia de Buenos Aires (Pampa Ondulada), encontrando que el Zn se encuentra mayormente como formas insolubles para las plantas, coincidente con otros trabajos publicados que definen a ésta área como deficiente del metal. En la Región Pampeana, se ha estudiado ampliamente la disponibilidad de varios micronutrientes a fin de definir zonas carentes. Minzuno *et al.*, 1988 observaron la distribución de Zn a lo largo de los horizontes en dos suelos típicos de la región encontrando una disminución de la biodisponibilidad en el horizonte rizosférico. Torri y Lavado (2008) analizaron mediante extracción secuencial de McGrath y Cegarra la distribución del Zn a lo largo de diferentes fracciones geoquímicas en el horizonte superficial de suelos prístinos de la Región Pampeana encontrando el siguiente orden RES-Zn > INOR-Zn > OM- Zn > EXCH-Zn, lo que indicaría que en suelos no contaminados la mayor proporción de Zn se encuentra en formas poco reactivas dentro de cristales minerales.

- Zn en plantas

Como se mencionó anteriormente, la deficiencia de micronutrientes esenciales se manifiesta principalmente por bajo crecimiento de las plantas y bajos rendimientos de cosecha. Cuando los niveles son suficientemente bajos comienzan a aparecer en los cultivos los signos de una deficiencia: a) clorosis, lo que se manifiesta con un color amarillos en las hojas de los cultivos por insuficiente síntesis de clorofila; b) necrosis o muerte de los tejidos de la planta; c) menor cantidad de brotes nuevos o terminales; d) acumulación de antocianinas (Hafeez *et al.*, 2013).

Para cultivos como el maíz, la soja y la cebolla, la deficiencia de Zn aparece principalmente con clorosis como síntoma principal. La deficiencia de Zn aparece durante la etapa de crecimiento en la estación fría y húmeda dado que la incorporación de Zn por parte de la planta es menor en esta estación (Tsonev y Lidon, 2012). Así mismo, los cultivos que crecen en suelos compactos con baja capacidad de drenaje suelen ser deficientes ya que presentan un pobre desarrollo radicular (Mattiello *et al.*, 2015). En términos generales, las plantas con contenidos de Zn menores a 20 µg/g de peso seco se consideran deficientes. En especies forrajeras de interés agropecuario se ha mencionado un rango normal de Zn de 27 a 150 µg/g en hojas maduras (Jones, 1972). Las especies leguminosas contienen en general mayores niveles de Zn que las

gramíneas. Los granos de cereales contienen entre 23-30 mg Zn/kg, mientras que las fuentes de proteína vegetal contienen entre 50 y 70 mg Zn/kg (Minson, 1990).

- Suplementación mineral de Zn en rumiantes

En bovinos estabulados, la carencia de zinc puede prevenirse fácilmente ya bajo costo mediante la adición de dicho metal a los suplementos minerales o raciones mixtas completas. La suplementación con 50 mg Zn kg⁻¹ MS es más que suficiente. Las formas inorgánicas de Zn más comúnmente utilizadas en las raciones de los animales son el óxido de Zn (ZnO) y el sulfato de Zn para alimentación (ZnSO₄·7H₂O), ambas con biodisponibilidad semejante en rumiantes (Suttle, 2010). Las formas orgánicas de Zn (Zn- metionina, Zn-proteinato) presentan resultados semejantes de absorción respecto de ZnO, pero la metabolización posterior es diferente.

Carencia de Cobre

El cobre conforma parte de la estructura y es esencial para el funcionamiento de una gran variedad de enzimas, co-factores y proteínas reactivas. Estas enzimas Cu-dependientes son esenciales para procesos tales como el desarrollo óseo y la reproducción; pero sólo dos procesos tienen dependencia inequívoca sobre una enzima dependiente de cobre específica: la pigmentación (tirosinasa) y el desarrollo del tejido conectivo (lisil-oxidasas) (Suttle, 1987a; Prohaska, 2006).

Dentro de las funciones enzimáticas en las que se encuentran involucradas proteínas Cu-dependientes se encuentran: la respiración celular; se ha observado una menor actividad del complejo enzimático citocromo C oxidasa, el cual es esencial en el transporte de electrones en la cadena respiratoria celular para obtención de ATP; transporte de hierro, la actividad de la enzima hepatesina se encuentra disminuida en animales con carencia de cobre lo que implica acumulación de hierro a nivel hepático; protección sobre agentes oxidantes, el cobre protege a las células del stress oxidativo provocado por radicales libres, incluso aquellos generados a partir de la respiración celular, e interactúa con otros nutrientes con propiedades antioxidantes (Prohaska, 2006; McDowel, 1992).

El cuadro clínico originado a partir de la carencia de cobre se encuentra caracterizado por una serie de signos clínicos, agrupados bajo el término de hipocuprosis (Cuadro 2.2). Entre los signos clínicos se citan: anemia, crecimiento reducido, despigmentación y alteraciones en el crecimiento y apariencia física del pelo, falla cardíaca, fragilidad ósea y predisposición a la fractura, baja tasa de reproducción debida al estro retardado

o suprimido y diarrea (Underwood, 1999; Alloway, 2013). La susceptibilidad de los animales y la aparición de la signología dependen del tiempo de exposición a la carencia de cobre. La acromotriquia es, en general, uno de los signos de aparición temprana en bovinos. En animales en pastoreo, se ha observado un incremento a la susceptibilidad a infecciones (Scheiber *et al.*, 2013).

Deficiencia	Consecuencia Patológica	Defecto asociado al metabolismo.
Cobre (Cu)	Producción defectuosa de melanina	Tirosina/DOPA oxidación
	Defectuosa queratinización (Pelo, lana)	
	Defectos en tejidos conectivos	Lisil oxidasas
	Ataxia	Citocromo oxidasa
	Aplasia mieloide	
	Retraso en el crecimiento	
	Anemia	
	Uricemia	Urato oxidasa

Cuadro 2.2 Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Cu.

Los requerimientos de cobre pueden variar de 4 hasta 15 mg/kg dependiendo principalmente del contenido dietario de azufre y molibdeno. La concentración diaria recomendada en dietas para bovinos de carne es de 10 mg/kg de cobre, considerando que esas dietas no exceden un 0,25 mg/kg de azufre y niveles dietarios de Mo menores de 2 mg/kg. En animales estabulados los requerimientos pueden ser menores a 10 mg/kg ya que el cobre se encuentra en formas químicas más disponibles en las raciones de concentrado (Gooneratne *et al.*, 2011).

La absorción de cobre es un proceso que se encuentra regulado a nivel de la mucosa intestinal por metaloproteínas divalentes específicas y no específicas, y estrictamente regulado por las necesidades del animal. Así mismo en rumiantes, parte del cobre liberado puede precipitar como CuS en el rumen conformando un compuesto de baja absorción a nivel intestinal (Gould y Kendall, 2011).

El exceso de cobre ingerido en la dieta es mayormente excretado vía biliar a través de las excretas, y en menor proporción vía urinaria. Existe también un extenso almacenamiento de cobre a nivel hepático. La deficiencia de cobre es más probable en aquellos animales que consumen dietas con altos contenidos de sulfatos y molibdeno (Rosa *et al.*, 2008). La acción antagónica del molibdeno se incrementa cuando hay altas concentraciones de sulfuros en rumen. Se ha estudiado ampliamente la interacción entre el molibdato y los sulfatos a nivel ruminal, originando tiomolibdatos en el rumen (Suttle, 1991). El cobre reacciona con los tiomolibdatos en el rumen para formar complejos insolubles que no se absorben; algunos tiomolibdatos son absorbidos y afectan el metabolismo sistémico de cobre (Gould y Kendall, 2011). Las altas concentraciones de hierro y zinc también reducen el estado de cobre y pueden aumentar los requerimientos de cobre (Rosa *et al.*, 2008).

- Cu en los suelos

La concentración de cobre en suelos puede variar entre 2 a 100 mg/kg, reportándose una concentración promedio total en suelos del mundo de 20-30 mg/kg (Adriano, 2001). En la naturaleza, aparece como mineral nativo o formando sulfuros, sulfatos, sulfosales o carbonatos. La calcopirita (CuFeS_2) es el mineral de cobre más abundante en la corteza terrestre; los dos factores principales que rigen el estado inicial del Cu en suelos son los procesos de formación y el material parental. El Cu^{+2} es la forma biodisponible de cobre dentro del complejo de intercambio de cationes del suelo. La materia orgánica y pH del suelo son los factores dominantes que afectan a la disponibilidad de las plantas (Voss, 1998). La materia orgánica se une al Cu con más fuerza que otros micronutrientes. En general, a medida que aumenta la materia orgánica, la disponibilidad de Cu disminuye. Aunque la unión con la materia orgánica reduce la fijación por los minerales del suelo y la lixiviación, también reduce la disponibilidad de Cu para las plantas. Como resultado se producen la mayoría de las deficiencias de Cu en suelos con alto contenido de materia orgánica como compost y humus (Georgopoulos *et al.*, 2001). En suelos encalados, el aumento del pH conduce a una mayor cantidad de Cu unido a arcillas y a materia orgánica disminuyendo su disponibilidad. Los suelos con un pH superior a 7,5 son más propensos a ser Cu-deficientes. Se puede producir deficiencia de cobre, aunque poco probable, en suelos minerales ácidos, fuertemente cultivados o fertilizados con N, P y K (Harter, 1983).

Como se mencionó anteriormente, en nuestro país existen varios estudios que analizan el contenido total y biodisponible de diferentes elementos traza en suelos a fin

de establecer zonas potencialmente carentes de dichos micronutrientes (de Miguez y Fata, 1990; Lavado y Porcelli, 2000; Lavado *et al.*, 2004; Roca *et al.*, 2007). Torri *et al.*, 2011 reporta valores de Cu^{+2} por debajo del límite de detección analítica en tres suelos prístinos representativos ($<0,5 \text{ mg Cu kg}^{-1}$) de la Región Pampeana. Según la literatura, los suelos arenosos son más a menudo asociados con la deficiencia de Cu (Fageria *et al.*, 2002). Los suelos de la Pampa Semiárida argentina incluyen Ustipsamments típicos, Haplustolls y Hapludolls énticos. González y Buschiazzo (1996) establecieron que los contenidos en el suelo de Fe, Cu, Mn y Zn extraídos con EDTA y su relación con los parámetros edáficos, indicando deficiencias de Cu en la mayoría de los suelos de la provincia de la Pampa. Pérez Carrera (2006) analizó el contenido total de elementos traza en suelos pertenecientes a establecimientos lecheros del Departamento de Unión en la provincia de Córdoba, encontrando niveles de Cu por encima de los valores promedios reportados para la provincia de Buenos Aires.

- Cu en plantas

El contenido de cobre en forrajes y pasturas depende de la especie, el estado de maduración de la planta, como así también de ciertas condiciones del suelo (contenido de materia orgánica y en menor medida el pH) y el uso de fertilizantes (Gupta *et al.*, 2008).

En general, el requerimiento por parte de los cultivos es bajo, entre 5-20 mg/kg se consideran adecuados para el crecimiento y el desarrollo de los cultivos (Jones, 1972). Los forrajes contienen generalmente entre 3 y 8 mg/kg de materia seca. En la bibliografía nacional, se han reportado valores de Cu en praderas y pasturas de la provincia de Buenos Aires de 3,8 a 8,5 mg/kg (Lavado, 2006). Las gramíneas templadas contienen mayor contenido de Cu respecto de las leguminosas que crecen bajo las mismas condiciones (4,7 vs 7,8 mg/kg de MS respectivamente) pero en condiciones tropicales, esto puede verse revertido. Las concentraciones de cobre pueden variar desde 4,5 hasta 21,1 mg/kg de materia seca entre especies de gramíneas cultivadas en el mismo suelo (Underwood y Suttle, 1999). Los granos de cereales contienen generalmente de 4 a 8 mg Cu/kg, y harinas de semillas oleaginosas y semillas de leguminosas contienen de 15 a 30 mg Cu/kg. Los productos derivados de la destilería de granos son fuentes ricas en cobre, dado que el proceso de fermentación disuelve el cobre inmóvil (NRC, 2000; Suttle y Blake 2006). La deficiencia de cobre en muchas plantas se muestra como el marchitamiento o la falta

de turgencia y el desarrollo de un tinte verde azulado antes que las puntas de las hojas se vuelvan cloróticas y mueran (Silva *et al.*, 2014).

Las concentraciones de molibdeno, hierro y sulfuros son determinantes de la absorción de cobre por parte de las plantas (Minson, 1990).

- Suplementación de cobre en rumiantes

El uso de fertilizantes que contienen cobre mejora los rendimientos de cosecha y elevan los contenidos de cobre en las pasturas y especies forrajeras; de todos modos los requerimientos de los animales son ampliamente superiores respecto de los requerimientos de las plantas (McFarlane *et al.*, 1990). Las fuentes más comunes de cobre utilizadas para incorporar a los suelos son los sulfatos, los óxidos, quelatos y complejos. Pueden ser aplicados en bandas sobre los suelos o bien en spray sobre las hojas (Voss, 1998). El cobre se complementa generalmente a las dietas en las formas sulfato, carbonato, o de óxido. Estudios recientes indican que el óxido de cobre como aditivo es de menor disponibilidad en relación al sulfato de cobre (Kegley y Spears, 1994). En los primeros estudios, la disponibilidad del carbonato de cobre era al menos igual a la del sulfato de cobre (Chapman y Bell, 1963). Varias formas orgánicas de cobre están también disponibles. En terneros alimentados con dietas altas en molibdeno, el uso de proteinato de cobre permite una mejor disponibilidad que el sulfato de cobre (Kincaid *et al.*, 1986). Sin embargo, Wittenberg *et al.* (1990) encontró disponibilidad similar para ambos aditivos en novillos alimentados con dietas ricas en molibdeno. Ward *et al.* (1993) analizó la disponibilidad de cobre a partir del uso de Cu-lisina como aditivo; reportando una biodisponibilidad similar al sulfato de cobre cuyo se lo incorpora al alimento de ganado; sin embargo, Nockels *et al.*, (1993) encontraron que la Cu-lisina era más disponible que el sulfato de cobre. Las formas inyectables de cobre tales como glicinato de cobre o EDTA de cobre se han dado en intervalos de 3 a 6 meses para prevenir la deficiencia de cobre (Underwood, 1981).

- **Carencia de cobalto**

El cobalto (Co) cumple funciones importantes en el organismo como parte de la vitamina B12 (cobalamina). Los rumiantes no necesitan de un aporte dietario de dicha vitamina ya que es sintetizada a nivel ruminal por los microorganismos a partir del Co dietario (Stanglet *et al.*, 2000). Las enzimas metilmalonilCoAmutasa y metionina sintasa son vitamina B12-dependiente. Se producen en los tejidos de mamíferos y son esenciales para el metabolismo de propionato a succinato, y la transferencia de grupos

metilo a partir de 5-metiltetrahidrofolato a la homocisteína para formar metionina y tetrahidrofolato. Esta reacción es importante en el reciclaje de metionina después de la transferencia de su grupo metilo (Smith, 1987).

La pérdida moderada de peso o el retraso en el crecimiento pueden ser signos tempranos de una deficiencia de cobalto (Cuadro 2.3). En los trastornos crónicos, la inapetencia progresiva conduce a la pérdida marcada de peso, apatía, pérdida de masa muscular (marasmo) y pica (apetito depravado). Otro trastorno producto de la carencia de cobalto es la anemia, la cual se manifiesta con palidez de mucosa, piel blanca y frágil (Duncan *et al.*, 1986). La enfermedad del hígado blanco aparece conjuntamente con signos de fotosensibilización y daño hepático, producto de una infiltración grasa de los hepatocitos. Puede afectar también la capacidad de los neutrófilos para controlar las infecciones generando mayor susceptibilidad a las mismas (Hersom, 2013).

Deficiencia	Consecuencia Patológica	Defecto asociado al metabolismo.
Cobalto (Co)	Anorexia	Metilmalonil-CoAMutasa
	Deterioro en la oxidación del propionato	Tetrahidratofolatometiltransferasa
	Anemia	

Cuadro 2.3 Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Co.

Los requerimientos de cobalto en las raciones alimenticias varían entre especies según las diferencias en vitamina B12, energía y metabolismo de aminoácidos sulfurados. Así mismo, el tipo y la cantidad de cereales en las dietas, la etapa del ciclo reproductivo y el criterio de adecuación utilizado son factores que pueden modificar los requerimientos de dicho mineral. Los niveles de cobalto en las dietas de 0,10 mg/kg de materia seca son suficientes para satisfacer los requerimientos diarios del ganado vacuno; varios estudios reportan como concentraciones suficientes entre 0,07 y 0,11 por ciento de cobalto en la ración (Schwarz *et al.*, 2000).

Las categorías más jóvenes en crecimiento presentan una mayor susceptibilidad a la deficiencia de cobalto respecto de animales adultos. La alimentación de una dieta alta en concentrado puede deprimir la síntesis ruminal de la vitamina B12 y aumentar la

producción de análogos de B12. El cobalto dietario es sólo de utilidad para los rumiantes si es incorporado a la vitamina B12 por los microorganismos ruminales; asimismo, la mayor parte del cobalto suministrado se incorpora también a análogos inactivos fisiológicamente de la vitamina (corrinoídes). Se sabe que la eficiencia de conversión a cobalamina depende también del suministro dietario de cobalto, pero también se encuentra afectado por la fuente de cobalto, el tipo de dieta y la especie animal (Beaudet, 2014; Halpin *et al.*, 1984).

- Co en suelos

El cobalto es un elemento que en la corteza presenta valores promedio de entre 20-25 ppm. En general, los suelos desarrollados de rocas ultrabásicas poseen usualmente altos niveles de cobalto. En este tipo de suelos se encuentra asociado a silicatos de hierro y magnesio. A nivel mundial, se han registrado niveles de Co entre 2 – 40 ppm (Young, 1979). En nuestro país, estudios realizados en suelos de la región pampeana reportaron niveles totales promedio de Co de 37 ppm (Lavado *et al.*, 2004, 1998). Las formas biodisponibles se encuentran relacionadas con la interacción de los suelos con extractantes químicos desarrollados para representar la absorción por las plantas. La concentración de Co extractable se encuentra en un rango de entre 0,1 a 2 ppm. Los suelos se consideran deficientes de cobalto cuyo los valores se encuentran por debajo de los 0,3 ppm de cobalto extractable. Se encontró que la capacidad de sorción de Co al suelo presenta una alta correlación con el área superficial y en menor medida con el contenido de Mn, arcillas y pH. La adsorción a los oxihidroxidos de Fe y Al depende ampliamente del pH del suelo (Takkar, 2015). Existen pocos estudios de la biodisponibilidad de Co en nuestro país; Lavado y Porcelli, (2000) analizaron en suelos (Argiudoles Típicos) de seis localidades del norte de la provincia de Buenos Aires, la situación de 12 elementos traza en tres fracciones de suelo de diferente disponibilidad. Dichos autores encontraron que el Co se halla mayormente en formas insolubles en los suelos, debido principalmente a que los minerales nativos del suelo que contienen dicho elemento traza son prácticamente inertes.

- Co en plantas

No se ha demostrado que el cobalto sea un elemento esencial para el crecimiento de las plantas mayores, pero si se sabe que es requerido por el *Rhizobium*, bacteria que participa en la fijación de N₂ atmosférico, presente en los nódulos radiculares de las leguminosas (Reisenauer, 1960).

Su nivel en los tejidos vegetales es de importancia debido a la esencialidad del cobalto en la nutrición animal. Young (1979) reporta valores de 0,07 ppm de Co en el heno administrado al ganado como suficientes para cubrir los requerimientos de los animales. Los rumiantes muestran pérdida de apetito, disminución del crecimiento o pérdida de peso, seguido de otros signos de carencia cuyo se encuentran consumiendo dietas con menos de 0,07 a 0,11 ppm de Co. Las plantas de hoja suelen presentar mayores valores relativos de Co comparado a las especies forrajeras y cerealeras. Comparando las especies forrajeras, las leguminosas captan más cobalto y son más dependientes de los niveles de cobalto en el suelo (Underwood y Suttle, 1999). Como regla general, los forrajes que crecen en suelos con bajas concentraciones de Co poseen bajos niveles en sus tejidos vegetales. Las deficiencias de cobalto ocurren más comúnmente en suelos áridos, altamente erosionados y arenosos; en suelos derivados de granito y suelos altamente calcáreos. Los forrajes poseen un normal crecimiento en suelos que contienen < 0,07 a 0,08 ppm de cobalto, las condiciones de deficiencia severa generalmente ocurren por debajo de los 0,04 ppm (Mills, 1981). En los forrajes, el Co se encuentra asociado a las raíces aunque se puede traslocar al follaje (MacPhearson, 2000). Varios factores pueden influenciar la biodisponibilidad de Co para las plantas; las propiedades del suelo, incluyendo los niveles de Fe y Mn, el pH y la humedad, factores propios de la planta como la especie, el estado del crecimiento y el tipo de órgano. Prokhorov *et al.* (1979) reportó que de todas las propiedades estudiadas que pueden afectar la captación de Co por la planta, el pH es la que mayores efectos sobre la sorción de Co en los suelos tiene. Con el incremento del pH de los suelos se produce una drástica depleción de la toma de Co; la acidificación de los suelos incrementa la biodisponibilidad de Co a Co^{+2} . En Argentina, existe muy poca información respecto a los niveles de cobalto en forrajes. Balbuena *et al.*,(2003) analizaron muestras de forrajes provenientes de 11 áreas agroecológicas homogéneas a fin de obtener información preliminar sobre la nutrición mineral de los bovinos para carne del este de las provincias de Chaco y Formosa. A partir de este estudio, considerándose niveles críticos de Co para forrajes de 0,1 mg/kg de materia seca un 27% de las muestras analizadas fueron clasificadas como deficientes en cuanto al aporte de dicho mineral.

- Suplementación de Cobalto

El cobalto puede suplementarse fácilmente a partir del agregado de pre-mezclas minerales en la ración, bloques de sales minerales o en el agua de bebida. Estudios mostraron que las inyecciones de vitamina B12 aliviaron rápidamente signos de

privación en corderos, pero la dosis utilizada (0,1 mg kg⁻¹) mantuvo niveles séricos normales sólo por menos de 6 semanas (Underwood y Suttle, 1999). La administración oral es igualmente eficaz, pero la frecuencia requerida de dosificación (cada 2-4 semanas) hace que sea poco práctica a menos que se combine con otras terapias como la desparasitación (Suttle *et al.*, 1989). Se debe administrar cobalto adicional a fin de mantener en el líquido ruminal niveles críticos de 5 mg l⁻¹, y esto se puede lograr mediante el uso de pellets o bolas que contienen cobalto. El cobalto se puede complementar a la dieta en mezclas minerales de libre elección. Las fuentes de cobalto más comúnmente utilizadas incluyen sulfato de cobalto y carbonato de cobalto. No está claro cómo estas dos formas de cobalto se comparan en términos de biodisponibilidad relativa para la síntesis de la vitamina B₁₂ (Grace *et al.*, 1997). Pellets que contenían óxido de cobalto y hierro finamente dividido, y gránulos de vidrio de liberación controlada que contienen cobalto se han utilizado en rumiantes en pastoreo. Ambos tipos de gránulos permanecen en el retículo-rumen y liberan cobalto durante un período prolongado (Henry *et al.*, 1997).

Carencia de Selenio

El rol bioquímico específico del selenio en los tejidos surgió a partir del descubrimiento de la glutatión peroxidasa (GPX), una seleno-proteína, y la correlación de la síntesis de dicha enzima con la ingesta diaria de dicho elemento traza (Beckett y Arthur, 2005). Con la identificación de numerosas seleno-proteínas (PrSe) biológicamente activas, cada una con su requerimiento aparente de selenio; y la interacción de éste con otros micronutrientes tales como el yodo, el rol del selenio fue tomando una perspectiva mucho más compleja dentro de los organismos vivos (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

Recientemente, una segunda selenometaloenzima, la yodotironina 5'-deiodinasa, se identificó (Hoffmann y Solter, 2008). Esta enzima cataliza la desyodación de la tiroxina (T4) a la triyodotironina más metabólicamente activa (T3) en los tejidos. La mayoría de las PrSe protegen el tejido de los daños que se producen a partir de especies reactivas de oxígeno (ROS) - los subproductos de los procesos oxidativos esenciales - y se cree que juegan un papel importante en la señalización celular y la transcripción. Si la peroxidación se sale de control, puede iniciar reacciones en cadena de generación de ROS y causar daño tisular (MacPhearson *et al.*, 1994). Las anomalías bioquímicas y clínicas causadas por la falta de selenio muestran respuestas variables ante el suministro de vitamina E. La vitamina E es un antioxidante soluble en lípidos, presente en las membranas celulares; el selenio, como GPX, es

soluble en agua y actúa principalmente como un antioxidante intracelular. Las consecuencias clínicas de la carencia de selenio varían entre especies y son reflejo de la vulnerabilidad de la célula al daño oxidativo en etapas críticas del desarrollo (Underwood y Suttle, 1999) (véase Cuadro 2.4)

Desorden	Descripción y consecuencias	Sitio de lesión	Especies afectadas
Enfermedad del músculo blanco	Distrofia del músculo estriado: Miopatía	Músculo esquelético, corazón, molleja	A, B, Ca, Ce, E, O, P
Diátesis exudativa	Incremento de la permeabilidad de los capilares: edema, hinchazón, moretones	Tórax, cuello, ala	A > P
Hepatitis	Necrosis	Hígado	P
Enfermedad cardíaca de la mora	Microangiopatía	Corazón, cerebro	P

Cuadro 2.4 Consecuencias clínicas de la carencia de Se. A: aves; B: bovino; C: caprino; Ce: ciervo; E: equino; O: ovino; P: porcino.

Así mismo, la deficiencia de selenio puede verse asociada a trastornos clínicos específicos tales como: desórdenes reproductivos y neurodegenerativos, mortalidad peri y post natal, y disminución de la capacidad de respuesta inmunológica a determinadas infecciones (Finch y Turner, 1996). También pueden aparecer sintomatologías poco específicas asociadas a un cuadro subclínico tales como: retardo en el desarrollo, menor producción de lana, trastornos en la sangre, menor producción de leche diaria, etc (Fordyce, 2013).

Con base en los datos de investigación disponibles, el requerimiento de selenio en ganado vacuno puede satisfacerse mediante la administración de 0,1 mg Se / kg. Los signos clínicos o subclínicos de la deficiencia de selenio se han reportado en vacas de carne y terneros que reciben forrajes que contienen 0,02 a 0,05 mg Se / kg (Hidiroglou *et al.*, 1985; Morris *et al.*, 1984).

La absorción de Se ocurre primariamente en el intestino delgado, con muy escasa participación del rumen y el abomaso. En rumiantes la absorción de selenio es menor debido principalmente a la reducción del selenito a formas insolubles (Shini *et al.*, 2015). La excreción fecal de selenio es mayor en bovinos adultos respecto de la

urinaria. En general, los factores que afectan los requerimientos de selenio no están aún bien estudiados.

Dada la relación entre el contenido de vitamina E y el consumo de selenio, cuyo las dietas poseen bajos niveles de dicha vitamina se requiere un incremento en los niveles dietarios de selenio. Las dietas con altos niveles de azufre pueden incrementar los requerimientos de Se. Los altos porcentajes dietarios de calcio puede disminuir a muy bajos niveles la absorción de selenio. Factores estresantes dietarios o ambientales y una alta concentración de ácidos grasos insaturados en dietas pueden aumentar considerablemente los requerimientos de selenio (Spears *et al.*, 1986).

- Se en suelos

Los suelos derivados de roca volcánica son pobres en selenio mientras que aquellos que derivan de rocas sedimentarias contienen buenos niveles de selenio. El contenido promedio de Se encontrado en suelos no carentes se encuentra entre 0,1 a 2 ppm, pero puede variar desde prácticamente indetectable a 100 ppm. A nivel mundial se han informado valores promedio de 0,4 mg/kg (Ure y Berrow, 1982).

Las principales formas geoquímicas de este micronutriente son selenato y selenito, siendo este último el más biodisponible, predominante en suelos ácidos o neutros pero fácilmente adsorbidos por los diferentes componentes del mismo (oxihidróxidos de hierro y aluminio, y materia orgánica). La interacción del selenito con los oxi-hidroxidos de hierro y aluminio es un fenómeno dominado por el pH; pH menores a 4 incrementan la adsorción del selenito a estas especies transformando en formas no asimilables para las plantas (Adriano, 2001).

La deficiencia de Se en ganado ha sido observada en gran cantidad de países. Wells (1996), trabajando en suelos de Nueva Zelanda, propuso una clasificación de los suelos de acuerdo al contenido de Se (en mg/kg): menos a 0,3 muy bajo; 0,3-0,5 bajo; 0,5 a 0,9 medio; 0,9 a 1,5 alto; mayor a 1,5 muy alto y mayor a 2 suelos seleníferos. En Argentina, se han reportado valores promedio de Se en la Región Pampeana de 0,54 ppm. Estudios, detectaron suelos con bajos y muy bajos contenidos de selenio, de acuerdo a la escala previamente descrita, en suelos en la provincia de Córdoba (0,2 a 0,8 ppm). Watts *et al.*,(2010) efectuó un estudio a fin de obtener un panorama general de los niveles de selenio en suelos agrícolas, agua de riego y agua de bebida, en el oeste semiárido andino de la provincia de San Juan y la estepa baja de la

provincia de La Pampa, reportando rangos de valores de 0,12 a 0,65 ppm en la primer región analizada y de 0,14 a 0,71 en la segunda región.

- Se en plantas

El status de Se en las plantas puede variar ampliamente en las diferentes especies, siendo la especie uno de los factores que más influye en el contenido de Se en las plantas. Se han clasificado las plantas en tres grupos principales: acumuladoras primarias, acumuladoras secundarias y no acumuladoras de Se (Rosenfeld y Beath, 1964).

Un aporte de Se de 0,10 ppm a partir del consumo de forraje, previene alteraciones en el ganado; mientras que concentraciones por encima de 3-4 ppm son consideradas tóxicas. Se han reportado concentraciones de 0,05 ppm en forrajes frescos, pero en zonas donde se reporta más frecuentemente la carencia como Nueva Zelanda se han reportado 50% menos de Se contenido en plantas. Las leguminosas tienden a contener menos de selenio que los gramíneas, pero la diferencia disminuye a medida que disminuye el nivel de selenio del suelo (Minson, 1990), siendo la alfalfa una excepción a la regla.

Los granos de cereales y otras semillas varían ampliamente en contenido de selenio según citas en diversos países. A modo de ejemplo, los valores medios para el cultivares de trigo en el Reino Unido, los EE.UU. y Canadá se han calculado en 0,03, 0,37 a 0,46 y 0,76 mg kg⁻¹ MS, respectivamente (Adams *et al.*, 2002). Las diferencias entre los granos son relativamente pequeños, pero se han clasificado en el trigo>arroz> maíz> cebada> avena (Lyons *et al.*, 2005). Los subproductos de cereales tales como el pienso de gluten de maíz, harina de salvado de arroz y granos oscuros de destilería son buenas fuentes de selenio (0,24 ± 0,09, 0,16 ± 0,06 y 0,18 ± 0,18 mg kg⁻¹ MS, respectivamente) (MAFF, 1990).

En zonas donde se utilizan fertilizantes a base de azufre, la absorción de selenio por las plantas se ve disminuida (Gupta y Watkinson, 1985; Welner, 1996). La presencia de sulfatos deprime fuertemente la captación de selenatos, que parecen ser absorbidos a través del sistema de transporte de sulfato en las raíces. También se encuentra reportado un fuerte antagonismo entre HSeO₃ y H₂PO₄ (Hopper y Parker, 1999). En Argentina, no se han reportado valores de Se en forrajes. Un trabajo realizado por el INTA en las provincias de Chaco y Formosa arrojó valores de 0,04 a

0,1 ppm en muestras de forrajes destinados a la alimentación del ganado (Balbuena *et al.*, 2003).

- Suplementación de Se

En las dietas de los sistemas intensivos de producción vacuna, el selenio puede ser suplementado de forma ajustada a fin de lograr dosis de 3 mg/cabeza/día o bien 0,3 mg/kg de ración administrada. Así mismo, se puede efectuar una suplementación sistémica mediante inyecciones de selenio cada 3 a 4 meses o en las etapas críticas del ciclo productivo, y el uso de bolos ruminales que liberan selenio durante un período de meses (Campbell *et al.*, 1990; Hidiroglou *et al.*, 1985). Los suelos o los forrajes pueden ser tratados con soluciones de selenito; los fertilizantes a base de selenio poseen una mala absorción por parte de las plantas, especialmente cuando se aplican sobre suelos ácidos, y los efectos residuales pueden ser pequeños después de un primer corte (Underwood y Suttle, 1999). El uso de una forma menos soluble de selenio (selenato de bario, BaSeO_4) a 10 g Se ha^{-1} en forma de gránulos (granular) puede ser eficaz durante 3 años, sin embargo la normalización en el nivel de selenio en animales de pastoreo puede tardar 6 semanas a materializarse (Whelan *et al.*, 1994b). Las mezclas con el selenato de sodio más soluble (Na_2SeO_4) resuelven este problema. Se están utilizando tres formas de selenio orgánico como formas alternativas de suplementación, a saber: levadura de selenio (Se Y,) Se-Metionina y seleniometalosales (mezclas de selenio inorgánico y aminoácidos) (Bodnaret *al.*, 2016).

El **objetivo** de este capítulo es determinar la concentración total de Cu, Zn, Co, Se y Mo en suelos de la provincia de Buenos Aires donde se encuentra reportada la carencia de dichos elementos traza. Así mismo, se evaluó la biodisponibilidad de dichos elementos traza en los suelos mediante un procedimiento de extracción secuencial a fin de establecer el estatus de micronutrientes asimilables para las plantas en los suelos muestreados.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Sitio de muestreo

La provincia de Buenos Aires no es uniforme en relación a sus características edafoclimáticas. Se divide en ocho regiones con diferentes características: el Sistema de Tandilia y Ventania, la Pampa Ondulada, la Pampa Interserrana, la Pampa Deprimida, la Pampa Arenosa, el Sistema de las Encadenadas, el Sector Patagónico y el Delta.

Para nuestro trabajo, se tomaron muestras de suelo correspondientes a partidos emplazados principalmente en Pampa ondulada (Baradero y Navarro), Pampa ondulada baja, transición a la Pampa Arenosa (Las Flores y Roque Pérez), Sistema de Tandilia (Tandil). Estudios previos determinaron bajas concentraciones para los elementos traza analizados en este capítulo en dichas regiones (Torri *et al.*, 2011) (Figura 2.2).

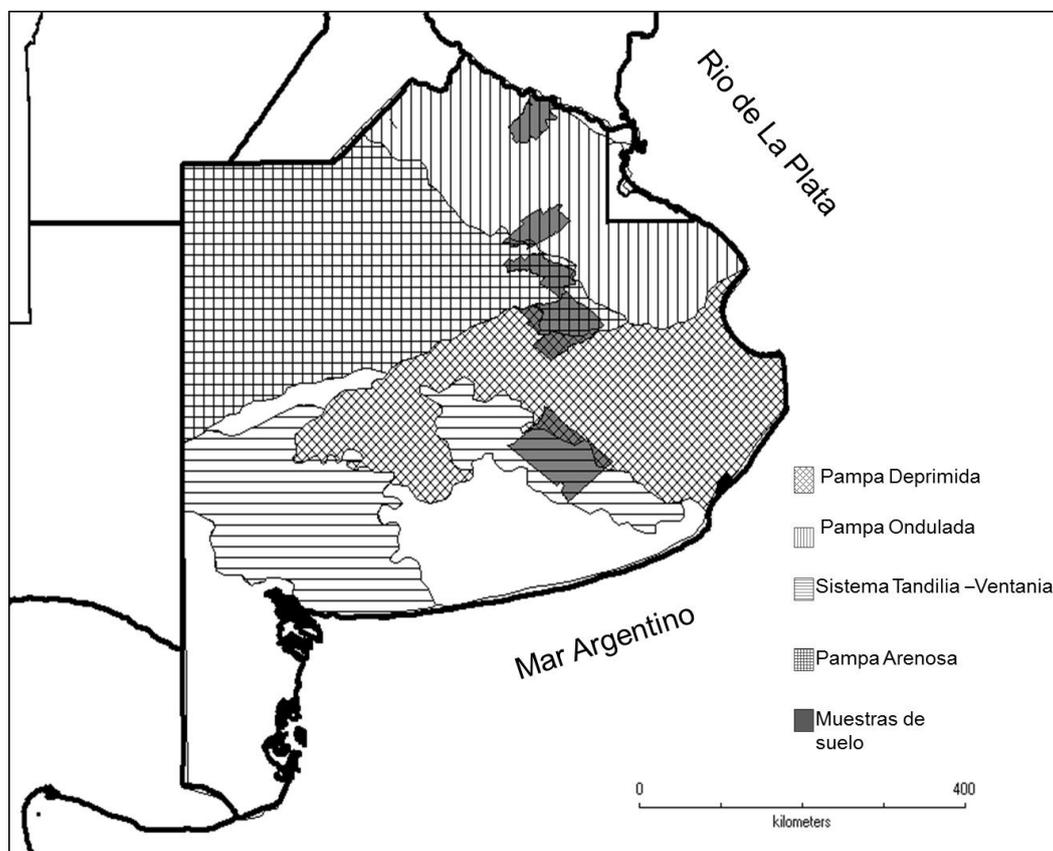


Figura 2.2 Diferentes zonas agro-ecológicas de la provincia de Buenos Aires y muestras de suelo, adaptado de SAGPyA; 1995.

Debido a las diferencias mencionadas y a la contribución posterior al análisis de situación planteado en nuestro trabajo se describen algunas características de relevancia de las regiones correspondientes a las áreas de emplazamiento de los sitios de muestreo.

Pampa Ondulada

Constituye una franja de 120-180 km de ancho que corre paralela al río Paraná desde el sur de la provincia de Santa Fe, atravesando el norte de la provincia de Buenos Aires hasta las localidades de Pipinas y Pila. Penetra en la provincia de Córdoba, en el Sudeste un poco más arriba del río Calamuchita en el Carcarañá. Su extensión es de 76.720 km² (Morello *et al.*, 2012).

- Clima

El clima puede clasificarse como subtropical húmedo o como templado oceánico, con precipitaciones todo el año. La temperatura media anual varía entre 17-18°C al norte y 14-15 °C al Sur. Las precipitaciones medias anuales varían entre 1000-2000 mm en el nordeste hasta 800-900 en el sudoeste. Las precipitaciones son ligeramente mayores de otoño a verano con gran variabilidad interanual; los períodos secos de magnitud variable se producen principalmente en verano. Las heladas son poco frecuentes (Matteuci, 2012).

- Geología y Geomorfología

El Complejo Pampa Ondulada, morfogenéticamente es un área de disección, con una gruesa cobertura de sedimentos loésicos, con basamento cristalino no muy profundo, cuya granulometría decrece de SO a NE. Los sedimentos loésicos se encuentran dispuestos en lomadas lo que da al terreno un relieve suavemente ondulado. Las altitudes varían entre 5 y 50 m; el relieve relativo es bajo. Las pendientes no alcanzan el 2 %, aunque localmente hay sectores que llegan al 5%. Hacia el norte, esta zona posee máxima heterogeneidad de ambiente en parte por las inundaciones de tres orígenes y la alta energía de relieve local (Álvarez *et al.*, 2002).

En la región se alternan suelos orgánicos de humedales, suelos con alto contenido de sodio (natracualfes), suelos hidromórficos no alcalinos (Argiboles) de textura muy fina en las depresiones, suelos sueltos de alta permeabilidad y textura gruesa en barrancas no anegables, y albardones arenosos sujetos a hidroperíodos diarios de inundaciones. Predominan los Argiudoles típicos. Son suelos profundos, bien

drenados, neutros, bien desarrollados, con secuencia de horizontes ("A", "B", "C") bien diferenciados. El horizonte superior, en general, presenta textura franco-limosa, estructura granular, está bien provisto de materia orgánica (entre 2 y 4 %) y tiene alta capacidad de intercambio (Salazar y Moscatelli, 1989).

- Potencial natural de producción

La Pampa ondulada tiene los mejores suelos agrícolas de la Región Pampeana. El clima favorable, atemperado por la presencia de grandes ríos y la disponibilidad del acuífero Puelche, permite realizar dos cultivos anuales. El potencial es netamente agropecuario.

La limitación más importante de los suelos de la Pampa Ondulada radica en la susceptibilidad a la erosión hídrica, producida por la inclinación y longitud de las pendientes, la relativamente baja permeabilidad del horizonte "B" y los suelos alcalinos propios de cañadas y sectores adyacentes a depresiones.

Complejo de Sierras Bonaerenses

El complejo comprende dos sectores separados correspondientes a las sierras septentrionales (Sierras de Tandilia) al este y a las sierras australes (Sierras de la Ventania) al oeste. Su superficie total es de 51.704 km². Los dos sectores están separados al sur por el complejo interserrano y al norte con la pampa deprimida (Morello *et al.*, 2012).

- Clima

El clima del complejo es templado-frío y seco según algunos autores, y subhúmedo y seco según otros. Se registran a veces nevadas invernales. La temperatura media anual disminuye de NE a SO. Las temperaturas medias anuales en la zona de Tandilia rondan los 14,1°C y las precipitaciones medias anuales son de 855 mm. El relieve irregular del sistema serrano origina microclimas locales (MinAgri, 2016).

- Geología y geomorfología

Las sierras de Tandilia constituyen una cadena de cerros aislados en cuyas cúspides afloran rocas consolidadas de edad antigua, que alcanzan un máximo de 500 m. Los piedemontes serranos están formados por loess de 1-2 m de espesor, depositados sobre una costra calcárea (tosca), que suele aflorar en las lomas. Estas ondulaciones alcanzan pendientes que superan los 5 grados, y se atenúan al acercarse a la llanura

circundante. La red de drenaje es bien definida. En esta subunidad predominan los suelos someros, limitados en profundidad por roca (Hapludol lítico) (Salazar y Moscatelli, 1989).

- Potencial natural de producción

El complejo de sierras bonaerenses tiene aptitud para las actividades agropecuarias. En líneas generales, en las sierras septentrionales (Tandilia) se practica agricultura en los flancos y en las australes (Ventania), ganadería en las crestas y agricultura y ganadería en los flancos. Anteriormente, la agricultura se practicaba en los valles y faldeos bajos donde la pedregosidad y rocosidad no interfería con la maquinaria agrícola. Actualmente, gracias a la inserción del sistema de labranza cero, suelos de uso ganadero, con grandes limitaciones de profundidad efectiva, pasaron a ser aprovechados por la agricultura. La ganadería característica es de cría e invernada.

2.2.2. Toma de muestras

Se seleccionaron 5 sitios de muestreo teniendo en cuenta la variabilidad físico ambiental de las regiones bajo estudio a saber:

Establecimiento 1, partido de Baradero (33° 48' 57" S - 59° 32' 03" O)

Establecimiento 2, partido de Navarro (34° 58' 19" S - 59° 08' 22" O)

Establecimiento 3, partido de Las Flores (35° 51'54"S - 58° 54' 43" O)

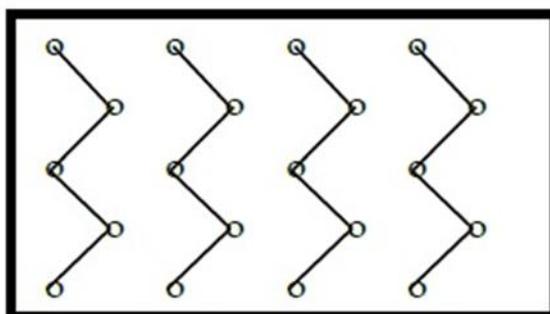
Establecimiento 4, partido de Roque Pérez (35° 21' 30" S - 59° 30' 49" O)

Establecimiento 5, partido de Tandil (37° 19' 55" S – 59° 02' 25" O)

Para cada establecimiento se seleccionaron ambientes uniformes con mínima perturbación antrópica producto de laboreos, siendo la superficie de muestreo de 2 a 3 hectáreas. La profundidad de muestreo fue de 0 – 10 cm, de acuerdo a lo recomendado para praderas y terrenos con césped (INTA, 2012). Se conformaron muestras compuestas con un total de 20 alícuotas siguiendo un patrón en forma de zig-zag, asegurando la equidistancia entre los puntos de muestreo (véase esquema 1). En cada uno de ellos se procedió a la extracción de la muestra con barretero de aspas. Posteriormente, se juntaron las alícuotas desmenuzando los terrones hasta un tamaño de 1 cm aproximadamente, y se obtuvo un peso final de muestra de 1 kg por cuarteo de la muestra conjunto. Las mismas se acondicionaron en dobles bolsas plásticas y se identificaron a fin de ser remitidas al laboratorio para su posterior

procesamiento. Para las determinaciones efectuadas, todas las muestras de cada uno de los sitios de interés seleccionados fueron secadas al aire, molidas y tamizadas (< 2 mm) al ingreso al laboratorio. Asimismo, se utilizaron las cartas de suelo de la provincia de Buenos Aires, provistas por el Instituto de Suelos del INTA a fin de caracterizar los ambientes muestreados (INTA, GeoINTA, 1988).

Patrón de zig-zag – 20
alícuotas para muestra
completa (1kg)



Área uniforme muestreada –
2 a 3 ha

Esquema 1. Esquema de la toma de muestras completas de suelo en cada establecimiento.

2.2.3. Caracterización físico química de las muestras

Se realizaron determinaciones de carbono orgánico total, el cual fue determinado oxidación húmeda (Amato, 1983); el contenido de N total utilizando el método Kjeldahl (Keeney *et al.*, 1966) y el contenido de P soluble fue determinado empleando el método método Bray y Kurtz. Se determinó el pH (1:2,5 en agua con pHmetro) y conductividad eléctrica (1:2,5 en agua con conductímetro) para todas las muestras. Las técnicas se describieron en el Capítulo 1 para las muestras de excretas. Adicionalmente se efectuaron determinaciones de capacidad de intercambio catiónico (CIC) y de textura las cuales se describen a continuación.

2.2.2 a) Determinación de la textura

La textura del suelo se define como la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas. La determinación de la textura del suelo se realizó por el método de Bouyoucos. El método se basa en la toma de lecturas de un hidrómetro a los 40 segundos y después de 2 horas de terminada la dispersión con el agitador. Se determina el porcentaje de las fracciones arena, limo y arcilla cuyos límites

granulométricos fueron establecidos por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 1993). Los porcentajes obtenidos se ingresan al triángulo textural para determinar la clase textural de cada suelo (Figura 2.3).

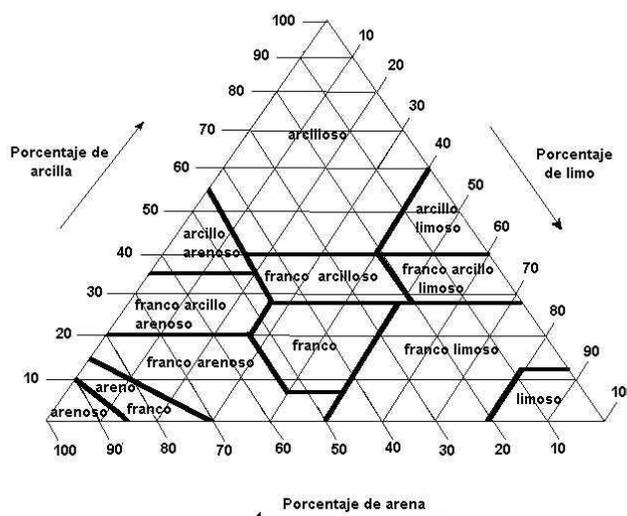


Figura 2.3 Triángulo textural (USDA, 1993).

2.2.2 b) Determinación de cationes

Las determinaciones de Na, K, Ca y Mg se realizaron utilizando técnicas de espectrometría de absorción atómica (Sparks *et al.*, 1996). La espectrometría de adsorción atómica usa la adsorción de la luz para medir la concentración de la fase gaseosa de átomos. Los átomos o iones de los analitos son vaporizados ante una flama. Los átomos adsorben luz visible o ultravioleta y hacen transiciones a niveles de energía más altos. La concentración del analito es determinada por la cantidad de adsorción. Las mediciones de concentración son determinadas de una curva de calibración, después de haber calibrado el aparato con los estándares de concentración conocida. Para la construcción de la misma, se preparan soluciones patrón mixtas de concentración 1000 ppm final de cada uno de los cationes, utilizando soluciones de NaCl, K₂SO₄, CaCO₃ y (CH₃COO)₂Mg.4H₂O. Posteriormente se preparan patrones secundarios a partir de los patrones primarios, de 5, 10, 20, 40, 80, y 160 ppm, tomando la respectiva alícuota del patrón primario, agregando 2 ml de Oxido de Lantano (que evita las interferencias provocadas por los aniones en la medición) y aforando a 100 ml con Acetato de Amonio.

2.2.2 c) Determinación de la capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es la capacidad que tiene un suelo para retener y liberar iones positivos, merced a su contenido en arcillas. Éstas están cargadas negativamente, por lo que suelos con mayores concentraciones de arcillas exhiben capacidades de intercambio catiónico mayores. La determinación de la capacidad de intercambio catiónico y bases intercambiables del suelo se realizó a través del método acetato de amonio.

El método para la determinación consiste en la saturación de la superficie de intercambio con un catión índice, el ion amonio; lavado del exceso de saturante con alcohol; desplazamiento del catión amonio con sodio y determinación del amonio mediante destilación. El amonio se emplea como catión índice debido a su fácil determinación, poca presencia en los suelos y porque no precipita al entrar en contacto con el suelo (Sparks *et al.*, 1996).

2.2.4. Determinación del contenido total y fraccionamiento secuencial de elementos traza en muestras de suelo

Para determinar la concentración total de Cu, Zn, Co y Mo se utilizó una digestión ácida asistida por microondas, la cual fue descrita con más detalle en el Capítulo 1 para las muestras de excretas. Para la determinación de Se, se probaron además dos técnicas de digestión ácida en plancha caliente bajo reflujo a fin de evaluar el porcentaje de recuperación de metal en cada una de ellas. La primera de las técnicas utiliza 1,5 gr de suelo (seco y tamizado 2 mm) y una mezcla de HNO₃ 3:1 HCl (agua regia) (González-Nieto *et al.*, 2006; ISO Norm 11466, 1995). La mezcla se conserva a temperatura ambiente, luego un calentamiento a reflujo de 2 horas, a fin de prevenir las pérdidas de selenio por volatilización. La segunda técnica utiliza para 1 gr de suelo (seco y tamizado) HNO₃ concentrado hasta que no se observe la producción de vapores de coloración marrón, y posterior agregado de H₂O₂ hasta que no se observe más reacción de peroxidación (EPA Method 3050B, 1996). Para la determinación de las diferentes fracciones geoquímicas de metales en las muestras de suelo se utilizó el procedimiento de extracción secuencial de McGrath y Cegarra (1992) descrito en el primer capítulo para las muestras de excretas.

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Características físico químicas de las muestras de suelo

El partido de Baradero se encuentra al NO de la Pampa Ondula, lindando con la provincia de Entre Ríos. Las muestras de suelo analizadas se correspondieron a un establecimiento situado en Colonia Suiza. La ubicación geográfica del establecimiento fue 33° 48' 57" S 59° 32' 03" O. En la subregión denominada Pampa Ondulada Alta se localiza el partido de Navarro. La ubicación geográfica del establecimiento muestreado en este partido fue 34° 58' 19" S y 59° 08' 22" O.

Los resultados de los análisis físico-químicos de los sitios de trabajo correspondientes a los Establecimientos 1 y 2 se muestran en el Cuadro 2.5.

Partido	Baradero	Navarro
Arcilla (%)	27,5	20
Limo (%)	53,5	56,2
Arena (%)	19	23,8
Clase textural	Franco arcilloso	Franco
pH	6,9	6,4
CE(dS m ⁻¹)	0,2	0,3
P extractable (mg kg ⁻¹)	4,3	54,2
CO (%)	1,3	1,8
NTK (%)	0,1	0,2
Ca (cmolc kg ⁻¹)	7,6	13,6
Mg (cmolc kg ⁻¹)	1,4	1,9
Na (cmolc kg ⁻¹)	0,4	0,3
K (cmolc kg ⁻¹)	0,9	1,5
CEC(cmolc kg ⁻¹)	13	21

Cuadro 2.5 Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes a los partidos de Baradero y Navarro. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <ld: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada.

De acuerdo a la ubicación georeferenciada del punto de muestreo y la analogía en algunas características físico-químicas, la muestra de suelo del Establecimiento 1 se correlaciona con la serie Atucha (At) (carta de suelos INTA, número 3360-35-Baradero), la cual es descripta como “*suelo oscuro y profundo, de aptitud agrícola, se encuentra en los llanos extendidos de la Región Pampa Ondulada alta, en lomas, moderadamente bien drenado, formado en sedimentos loésicos franco arcillo limosos del bonaerense superior, no alcalino, no salino, con pendientes de 0 a 0,5 %*” (<http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/series/Atucha.htm>). Taxonomicamente, los suelos son clasificados como Argiudol Abrúptico y Argiudol Típico (Soil Taxonomy 2006).

La muestra de suelo del Establecimiento 2 de acuerdo a la ubicación georeferenciada y a la concordancia en algunos parámetros físico químicos analizados, se correlaciona con la serie Navarro (Na) (carta de suelos INTA, número 3560-17- Tomás Jofré) descrita como “*suelo pardo grisáceo muy oscuro, profundo, de aptitud ganadera, que se encuentra en los planos relativamente altos pobremente drenados, de la Subregión Pampa Ondulada alta, en posición de bajo, formado sobre sedimentos de textura franco limosa, no alcalino, no salino con pendientes de 0 a 0,5 %*” (<http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/series/Navarro.htm>). Taxonomicamente los suelos son clasificados como Argialbol Argiácuico (Soil Taxonomy V., 2006).

Los partidos de Las Flores y Roque Pérez están localizados en el centro-oeste de la provincia de Buenos Aires que se encuentra en una planicie muy extendida de la Subregión Pampa Ondulada baja, transición a la Subregión Pampa Arenosa. La ubicación geográfica de los establecimientos donde se colectaron la muestras son: 35° 51'54"S - 58° 54' 43" O en el Partido de Las Flores; 35° 21' 30" S - 59° 30' 49" O en el partido de Roque Pérez.

Los resultados de la caracterización físico-química de las muestras de suelos correspondientes a los Establecimientos 3 y 4 se describen en el siguiente cuadro (Cuadro 2.6):

Localidad	Las Flores	Roque Pérez
Arcilla (%)	15	15
Limo (%)	43,9	42,1
Arena (%)	38,1	42,9
Textura	Franco	Franco
pH	6,9	8,1
CE (dS m ⁻¹)	0,1	0,3
P Ext. (mg kg ⁻¹)	35,7	5,1
CO (%)	2,6	2,1
NTK (%)	0,2	0,2
Ca (cmol kg ⁻¹)	14,6	11,9
Mg (cmol kg ⁻¹)	2	1,4
Na (cmol kg ⁻¹)	0,3	0,3
K (cmol kg ⁻¹)	1,4	1
CEC (cmol kg ⁻¹)	23,6	15,2

Cuadro 2.6 Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes a los partidos de Las Flores y Roque Pérez. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <Id: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada

De acuerdo a la ubicación georeferenciada del punto de muestreo y la analogía en algunas características físico-químicas, la muestra de suelo del Establecimiento 3 se correlaciona con la serie Tronconi (Tri) (carta de suelos INTA, número 3560-35-Juan Blaquier), la cual es descripta como “*un suelo pardo grisáceo, somero, fuertemente desarrollado, de aptitud ganadera que se encuentra en una planicie muy extendida de la Subregión Pampa Ondulada baja, transición a la Subregión Pampa Arenosa, ocupando los microrelieves, formado sobre sedimentos loéssicos limosos finos, algo pobremente drenado, alcalinidad sódica, moderada salinidad con pendientes de 0-0,5 %*” (<http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/series/Tronconi.htm>). Taxonomicamente, los suelos son clasificados como Duracul Nátrico (Soil Taxonomy 2006).

La muestra de suelo del Establecimiento 4 de acuerdo a la ubicación georeferenciada y a la concordancia en algunos parámetros físico químicos analizados, se correlaciona

con la serie Pueblitos (Pu) (carta de suelos INTA, hoja 3560 – 29, Roque Pérez) descrita como “*suelo oscuro, profundo, de aptitud ganadero que se encuentra en un paisaje suavemente ondulado a muy suave con ligeras depresiones y cubetas de la Subregión Pampa Arenosa, en posición de bajo, pobremente drenado, formado sobre sedimentos loésicos limosos finos, con ligera alcalinidad , no salino con pendientes de 0-0,51 %*”(http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/series/Pueblitos.htm). Taxonomicamente los suelos son clasificados como Argiacuol Típico y Argialbol Argiácuico (Soil Taxonomy V., 2006).

Los resultados de la caracterización físico-química de las muestras correspondiente al Establecimiento 5, sobre el complejo de sierras de Tandilia, se encuentran reportadas en el Cuadro 2.7.

Localidad	Tandil
Arcilla (%)	15,0
Limo (%)	51,7
Arena (%)	33,3
Textura del suelo	Franco

pH	6,5
CE (dS m ⁻¹)	0,1
P Ext. (mg kg ⁻¹)	33,3
CO (%)	2,8
NTK (%)	0,2
Ca (cmol kg ⁻¹)	16,9
Mg (cmol kg ⁻¹)	2,2
Na (cmol kg ⁻¹)	0,2
K (cmol kg ⁻¹)	1,5
CEC (cmol kg ⁻¹)	26,0

Cuadro 2.7 Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes al partido de Tandil. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <ld: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada.

De acuerdo a la ubicación georeferenciada del punto de muestreo y la analogía en algunas características físico-químicas, la muestra de suelo del Establecimiento 5 se correlaciona con la serie Tandil (Ta) (carta de suelos INTA, hoja 3760-23 – Serie Tandil) donde se describen como *“suelo oscuro, profundo, con fuerte desarrollo, su aptitud es agrícola, se encuentra en un área de paisaje serrano ondulado con pendientes suaves, medias y largas de la Subregión Pampa Austral Interserrana, ocupando la media loma, bien drenado, desarrollado en sedimentos loésicos franco fino sobre una costra calcárea de extensión regional, no salino, no alcalino en pendientes de 1-3 %”*. La clasificación taxonómica lo define como Argiudol Típico.

Adicionalmente al análisis anterior, a partir de los resultados obtenidos para todas las muestras de suelo se pudo observar un gradiente norte-sur del contenido de arcilla y arena. Los suelos del norte de la provincia de Buenos Aires (Baradero y Navarro) presentan niveles más altos del porcentaje de arcilla en comparación con los departamentos del sur. En el caso del porcentaje de arena, los suelos de los partidos localizados hacia el sur de la provincia mostraron los niveles más altos (Las Flores y Roque Pérez). Estos gradientes obtenidos son típicos en los suelos de la Región Pampeana (Salazar y Moscatelli, 1989). Los valores de pH determinados en las muestras de suelos fueron ligeramente ácidos a excepción de la muestra correspondiente al partido de Roque Pérez, mostrando valores bajos de CE. Las muestras correspondientes a los partidos de Las Flores, Roque Pérez y Tandil presentaron altos niveles de CO y N; mientras que las muestras de suelo correspondientes al partido de Navarro presentaron altos contenidos de fósforo extractable. Además se observó una gran variabilidad en valores de CIC lo que puede estar relacionado con el tamaño y tipo de arcilla, y el porcentaje de CO de cada una de las mismas.

2.3.2. Contenido total de micronutrientes en suelos

Como se mencionó anteriormente, el Cu, Zn, Co, Se y Mo son micronutrientes cuya carencia puede afectar los rendimientos de cosecha y la salud animal. Los niveles de estos micronutrientes en los suelos, conjuntamente con el aporte dietario de dichos elementos traza, son determinantes para el desarrollo de la carencia mineral.

En el siguiente cuadro (Cuadro 2.8) se reportan los valores de Cu, Zn, Co, Mo y Se (en mg/kg) determinados en las muestras de suelos obtenidas en los diferentes partidos bonaerenses muestreados:

Elementos traza	Las Flores	Baradero	Navarro	Tandil	Roque Perez
Cu	10,9 ± 1,7	14,4 ± 0,2	12,6 ± 0,2	8,8 ± 0,1	6,2 ± 0,1
Zn	95,1 ± 2,5	42,4 ± 1,1	59,4 ± 1,5	47,7 ± 1,2	34,2 ± 0,9
Mo	3,3 ± 0,7	4,0 ± 1,8	3,5 ± 0,5	4,7 ± 2,7	<ld
Co	4,3 ± 2,2	5,9 ± 2,8	5,2 ± 0,4	6,5 ± 1	<ld
Se	0,5 ± 0,04	<ld	0,7 ± 0,06	0,2 ± 0,01	<ld

Cuadro 2.8 Concentración total (en mg/kg) de Cu, Zn, Co y Mo determinadas en las muestras de suelos. <ld: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada (Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm; Se: 0,05 ppm).

De acuerdo a lo publicado en la bibliografía, el rango de concentración para cada uno de estos elementos traza analizados en suelos es bastante amplio, sin embargo, los niveles hallados en el presente trabajo se encuentran dentro del rango esperado para suelos no contaminados (Cu: 1-50 mg/kg; Zn: 1-2900 mg/kg; Mo: 0,1-40 mg/kg; Se: 0,1-4,3; Co: 2-40 mg/kg) (Adriano, 2001) y ninguno supera el límite máximo considerado por la Ley 24051 para suelos agrícolas.

A nivel internacional numerosos trabajos han sido publicados respecto del contenido total de diferentes micronutrientes en suelos. Achiba *et al.* (2010) analizó los efectos de la aplicación repetida de compost de residuos sólidos municipales en comparación con excretas animales, en la acumulación y la distribución de los metales traza, así como carbono orgánico y nitrógeno en suelos calcáreos de Túnez. Previo a la fertilización realizó un testeo inicial de los niveles de Cu, Zn, Cd, Pb, Ni, Cr en suelos encontrando para Cu: 50 ± 7 y para Zn: 86 ± 8 mg/kg totales. Los suelos muestreados eran suelos alcalinos no salinos, con buen porcentaje de materia orgánica, de textura arcillo limosa. Estos valores superan ampliamente los valores encontrados para los suelos muestreados en Cu y en Zn excepto para el suelo de Las Flores.

Roca-Perez *et al.* (2010) analizaron los niveles totales de Se, Li, Sr, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn, Fe, Mn y Ba en 32 muestras del horizonte superficial de suelos naturales (no contaminados), suelos agrícolas e industriales, a fin de establecer la concentración geoquímica basal y determinar la relación entre las características físico

químicas (pH y % de arcillas) de los suelos y algunos elementos traza analizados. El rango de concentración obtenido en dicho estudio para Se fue de 0,06 a 1,5 mg/kg; para Co de 1 a 20 mg/kg; Cu 2 a 538 mg/kg; Zn 6 a 823 mg/kg; correspondiéndose los menores valores a aquellos suelos naturales o prístinos (valores medios en mg/kg: Se: 0,4; Co: 8; Cu: 12; Zn 56) y los valores de mayores a suelos agrícolas (valores medios en mg/kg: Se: 0,4; Co: 11; Cu: 65; Zn 175).

Soriano-Disla *et al.* (2010) efectuaron un análisis del contenido total de metales y la biodisponibilidad en muestras de suelo con un rango variable de características físico químicas y con rangos variable de metales traza (ya sea por cercanía a industrias, aplicación de residuos orgánicos, etc.). Para las muestras de suelo utilizadas como control sin adición de metal las concentraciones encontradas para Cu y Zn fueron coincidentes con las encontradas para algunas de las muestras de suelo tomadas en este trabajo (6,7 y 90,3 mg/kg respectivamente).

Qian *et al.* (2003) analizaron el contenido de metales y la distribución entre las diferentes fracciones geoquímicas de los mismos en suelos canadienses antes y luego de la aplicación repetida de estiércol bovino y suino. El estatus inicial de los suelos muestreados arrojó rangos de valores de Cu 12,6 – 19,2 mg/kg y rangos de concentración de 62,5 – 71,7 mg/kg para Zn.

A nivel nacional se han publicado trabajos que determinan la concentración total de elementos traza en suelos. Roca *et al.* (2012) estudiaron los niveles de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en suelos agrícolas contenidos en zonas suburbanas en la provincia de Catamarca, en la región semiárida. Los suelos muestreados pertenecían a diferentes sitios de muestreo, con características diferentes, separados principalmente por su contenido sódico y su salinidad en dos grupos. Los rangos encontrados para Cu y Zn fueron de 14,9 – 25,6 y 45,9 – 85,2 mg/kg respectivamente según los diferentes órdenes taxonómicos de los suelos muestreados. En nuestro estudio, para los suelos muestreados los valores de Cu fueron inferiores a los determinados en suelos áridos, a excepción del partido de Baradero uno de los suelos con mayor porcentaje de arcillas.

Lavado *et al.* (2004) determinaron en diferentes muestras de suelos la concentración de elementos potencialmente tóxicos en los horizontes superficiales y los diferentes perfiles; como así también la relación entre la concentración de elementos traza con las propiedades de los suelos muestreados incluyendo las unidades taxonómicas. Para suelos clasificados como Argiudols Típicos se encontraron en nuestro trabajo,

valores semejantes de Cu y Zn a los reportados por el autor (18; 48 mg/kg respectivamente). Para Co fueron muy inferiores los valores encontrados para esta clase de suelos en nuestro trabajo respecto a lo reportado por el autor (Co: 29,76 mg/kg). Para aquellos suelos clasificados como Natracuolf típicos, los valores de Cu y Zn reportados por el autor fueron menores (10,5 mg/kg; 35 mg/kg) que en nuestro trabajo, no habiendo detectado Co y Se. Watts *et al.*,(2010) reportaron valores de selenio en suelos de la Pampa de 0,1 – 0,5 mg/kg y en la provincia de San Juan de 0,1 – 0,7mg/kg; no encontrando relación alguna entre el contenido total de selenio determinado con el porcentaje de carbono orgánico y el pH de los suelos

2.3.3. Análisis de la biodisponibilidad de Cu, Zn, Co, Mo en las muestras de suelo

El contenido total de micronutrientes del suelo, por lo general, incluye fracciones que no son inmediatamente disponible para las plantas, microorganismos y la fauna del suelo (Zhang *et al.*, 2001). Desde el punto de vista agrícola, la disponibilidad de micronutrientes es más importante que su concentración total. La deficiencia de micronutrientes para un cultivo puede ser vista como una combinación de ineficiencia del suelo en el suministro de micronutrientes en formas disponibles para las plantas y/o ineficiencia planta en la asimilación de micronutrientes. La extracción secuencial es una técnica útil para la determinación de la naturaleza de la asociación de micronutrientes con componentes del suelo. Dicha información es valiosa para predecir la biodisponibilidad, las tasas de lixiviación de metales y las transformaciones entre formas físico-químicas en los suelos agrícolas y contaminados (Torri y Lavado, 2008; Torri y Lavado, 2008 b).

Las concentraciones (en mg/kg) para Cu, Zn, Co y Mo determinadas en los extractos obtenidos a partir del fraccionamiento secuencial de las muestras de suelo se presentan en el Cuadro 2.9.

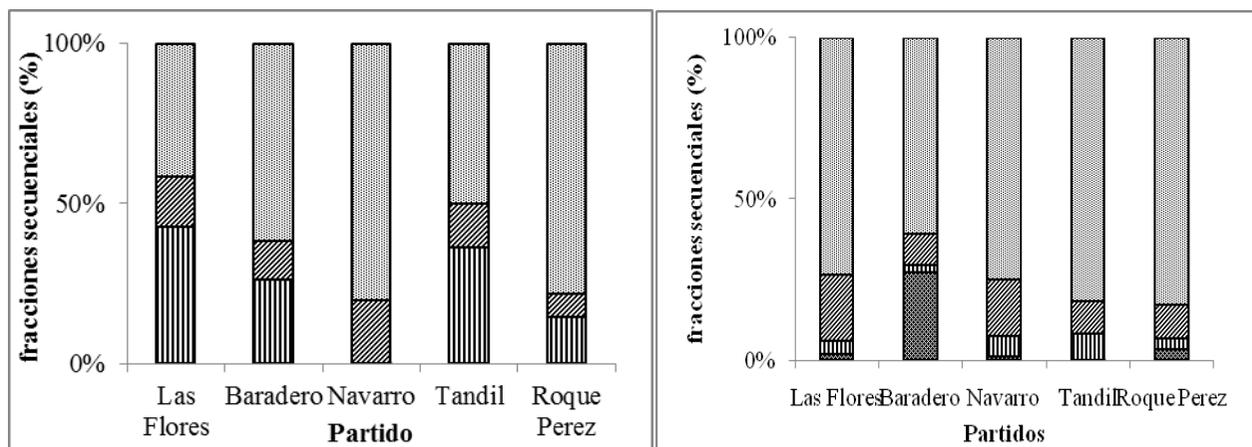
	Baradero	Navarro	Las Flores	Roque Pérez	Tandil
¹ INT -Cu	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
² MO - Cu	3,8	0,1	4,7	0,9	3,2
³ INOR - Cu	1,7	2,5	1,7	0,5	1,2
⁴ RES - Cu	8,9	10	4,5	4,8	4,4
Total Cu	14,4	12,6	10,9	6,2	8,8
INT -Zn	11,7	0,7	2	1,3	0,3
MO - Zn	0,9	3,7	3,9	1,1	3,7
INOR - Zn	4,1	10,4	1,5	3,6	4,8
RES - Zn	25,7	44,5	6,7	28,2	38,9
Total Zn	42,4	59,4	9,1	34,2	47,7
INT -Co	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
MO - Co	0,1	0,4	0,5	<ld	0,4
INOR - Co	0,2	0,3	0,3	<ld	0,3
RES - Co	5,6	4,5	3,5	<ld	5,8
Total Co	5,9	5,2	4,3	<ld	6,5
INT - Mo	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
MO - Mo	<ld	0,5	0,2	<ld	0,5
INOR - Mo	<ld	0,5	0,3	<ld	0,4
RES - Mo	4	2,5	2,8	<ld	3,8
Total Mo	4	3,5	3,3	<ld	4,7

Cuadro 2.9 Concentración de Cu, Zn, Co y Mo (en mg/kg) para las fracciones obtenidas del procedimiento de extracción secuencial. INT: fracción soluble/intercambiable; MO: fracción unida a materia orgánica; INORG: fracción inorgánica; RES: fracción residual. <ld: menor al límite de detección de la técnica utilizada (Cu: 0,06 ppm; Zn: 0,02 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm)

Los niveles de selenio se encontraron por debajo de los límites de detección de la técnica analítica utilizada en cada una de las fracciones obtenidas del procedimiento de extracción secuencial usado en este trabajo, debido principalmente a la complejidad de los métodos utilizados para la extracción y posterior determinación de dicho metal (límite de detección de Se: 0,05 ppm). En muestras biológicas el selenio

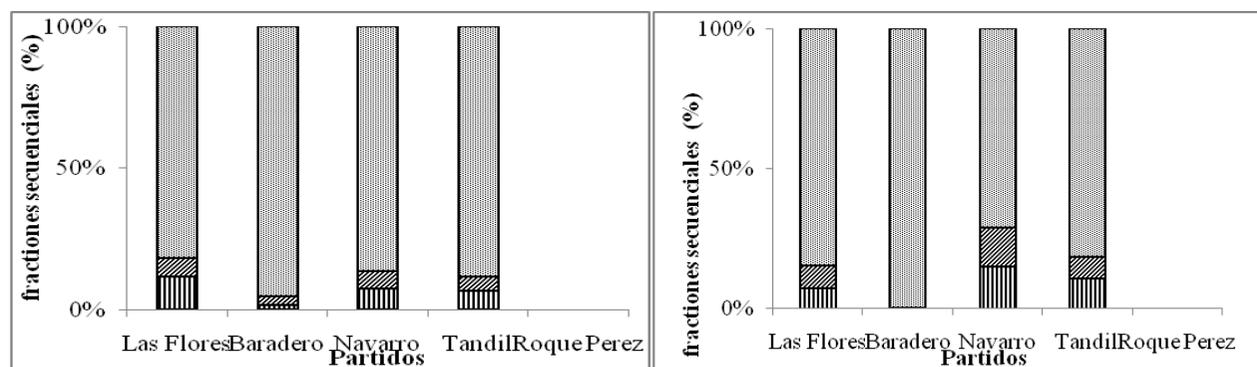
puede presentarse en formas inorgánicas (selenato, selenito, selenio elemental y seleniuro) como así también en formas orgánicas (compuestos metilados, selenoaminoácidos, etc) (Ortuno *et al.*, 1996). Así mismo las formas inorgánicas de selenio pueden transformarse en formas volátiles de selenio tales como dimetilseleniuro ($(\text{CH}_3)_2\text{Se}$) a partir de la acción de microorganismos o plantas (Pilon-Smits, 2015). La determinación de Se total y sus especies puede ser dificultosa, más aun cuando las concentraciones de las especies presentes son muy bajas lo que es común en muestras de suelo, agua, plantas, etc. (Pyrzynska, 2002). Adsorción, desorción, degradación térmica, descomposición lumínica y contaminación ambiental de las muestras son algunos de los procesos que pueden interferir en la determinación de dicho metal. Así mismo, los métodos analíticos de detección para selenio presentan especificaciones para el pre-tratamiento de las muestras las cuales deben ser tenidas en cuenta. El uso de digestiones ácidas asistidas con microondas y posterior uso de HG-AAS es uno de los procesos recomendados para la determinación de niveles traza de selenio, ya que previene las pérdidas del metal cloruro de selenio (volátil) (Dedina, 1982). Como el suelo es una matriz compleja afectada por una gran cantidad de factores inestables, no existe una metodología sistemática para determinar Se total y las especies presentes. Al igual que para otros metales, las extracciones secuenciales se han utilizado con el fin de evaluar la distribución y la movilidad del selenio en suelos (Bassil *et al.*, 2016). Como se describió anteriormente estos procedimientos involucran de cinco a siete extracciones sucesivas con etapas de lavado entre cada extracción, lo que lleva a un gran factor de dilución. Estos procedimientos no se encuentran adaptados a suelos que contienen concentraciones relativamente bajas de Se (en niveles de $\mu\text{g/g}$). Por otra parte, requieren una serie de procesos de agitación, centrifugado y de filtración que aumentan el riesgo de la pérdida de Se, la contaminación y la redistribución de especies de Se (Ruzik *et al.*, 2016).

Los resultados para Cu, Zn Co y Mo obtenidos a partir del fraccionamiento secuencial en las muestras de suelo, presentados como porcentaje de la concentración total determinada previamente, se presentan en la Figura 2.4



(a) Cu

(b) Zn



(c) Co

(d) Mo

Figura 2.4 Distribución de Cu (a), Zn (b), Co (c) y Mo (d) obtenidas a través del procedimiento de extracción secuencial realizado en los suelos muestreados (en %). INT: fracción intercambiable MO: fracción unida a materia orgánica INOR: fracción inorgánica RES: fracción residual

La distribución de Cu, Zn, Co y Mo entre las fracciones obtenidas a partir de dicha extracción depende del tipo de suelo considerado y las características físico químicas del mismo. El mayor porcentaje de Cu fue obtenido como Cu-RES en la mayoría de las muestras de suelo, con la excepción del suelo correspondiente al partido de Las Flores donde se distribuye uniformemente entre Cu-OM y Cu-RES (Figura 2.4 a). Las muestras de suelo de Roque Pérez, Baradero y Tandil mostraron una distribución similar entre Cu-MO y Cu-INOR, mientras que en el suelo de Navarro, se encontró un mayor contenido de Cu-INOR (79,9%). En los cinco muestras de suelo, Cu-INT estaba por debajo del límite de detección de la técnica analítica utilizada ($\leq 0,06$ ppm) (Figura 2.4 a). De acuerdo con estos resultados, las muestras de suelo extraídas no presentan especies completamente disponibles de Cu, pero muestran altos porcentajes de las otras especies.

En las muestras de suelo estudiadas, el mayor porcentaje de Zn fue encontrado como Zn-RES, alcanzando valores relativos cercanos al 80%. Por otra parte, la fracción Zn-INOR fue mayor que el Zn-MO en todas las muestras de suelos (Figura 2.4 b). Estos resultados son coherentes ya que en la mayoría de los suelos no contaminados, el Zn se encuentra presente en formas no reactivas, conformando parte de las redes cristalinas de los minerales del suelo (Shuman, 1999). En todas las muestras de suelo analizadas se determinó fracción intercambiable de Zn (0,2 – 12 mg/kg). Estos resultados indican una contribución de formas fácilmente asimilables de Zn desde el suelo a las plantas.

Para Co y Mo, ambos metales se distribuyeron uniformemente entre las fracciones INORG y MO; aunque la mayor proporción fue encontrada como Co-RES y Mo-RES (Figura 2.4 c y d). Es de importancia destacar que la fracción residual se encuentra relacionada con las formas poco disponibles para las plantas ya que representa la fracción de metal incluido en silicatos, redes cristalinas y complejos arcillosos del suelo (Soriano-Disla *et al.*, 2010).

Maity *et al.* (2016) encontró una correlación positiva entre el porcentaje de limo y arcilla y carbono total con los metales. Para este trabajo, los suelos pertenecientes a las áreas de muestreo situadas al NO de Buenos Aires presentaron mayor porcentaje de arcillas y menor porcentaje de arena coincidiendo esto con los mayores contenidos totales para el caso de Cu y Zn. Las áreas situadas más al sur presentan mayor porcentaje de arena y menor de arcilla, con menores contenidos totales de dichos metales. Así mismo, dichos autores han encontrado una relación entre el pH, CEC y la

concentración de CaCO_3 y la concentración de metales presentes en los suelos, con menor influencia. Luo *et al.* (2012) determinaron una correlación negativa entre el pH y la CE de muestras de suelos con los porcentajes de Cu y Zn obtenidos a partir de una extracción en batch simple con CaCl_2 (fracción efectivamente disponible). Esto podría explicar la moderada a baja disponibilidad encontrada para Cu y Zn en las muestras de suelo analizadas en este trabajo dado que poseen pH en el rango de la neutralidad (6,4- 6,9) y alcalinos (8,0), a excepción del partido de Baradero que mostró altos porcentajes de fracción soluble o intercambiable. Así mismo, el cloruro de calcio extrae principalmente los metales presentes en la solución del suelo y aquellos intercambiables, débilmente adsorbidos en las superficies cargadas negativamente del suelo. Dichos autores encontraron correlaciones positivas entre el porcentaje de Zn extraído con CaCl_2 y el contenido de arcilla de las muestras de suelo analizadas lo que podría explicar el hecho anteriormente mencionado.

Los metales pesados son retenidos en las superficies de carga negativa de las partículas de materia orgánica y arcilla coloidal del suelo mediante uniones electrostáticas (Adriano, 2001; Alloway 1990). Sungur *et al.* (2014) encontró correlaciones positivas entre el contenido de arcilla y el contenido de metales sobre todo en las fracciones menos móviles (unida a materia orgánica y residual), e indicó que los metales son retenidos sobre las superficies negativas de las capas de arcilla. Así mismo, determinó que el proceso de adsorción a las capas de arcilla fue un proceso dominante sobre la unión a la matriz del suelo de metal. En nuestro trabajo, se observó para Cu un mayor porcentaje de la fracción residual y unida a materia orgánica en las muestras de suelo pertenecientes al partido de Baradero y Navarro, determinándose mayores porcentajes de arcilla en dichas muestras.

A nivel internacional, se han publicado numerosos trabajos que evalúan el contenido biodisponible y la distribución de elementos traza en diferentes fracciones obtenidas a partir del fraccionamiento secuencial en suelos. Qian *et al.* (2003) estudiaron el contenido total y la distribución de elementos traza en varias fracciones lábiles y estables químicamente en suelos de una provincia del oeste de Canadá tras la aplicación sucesiva de estiércol bovino y suino durante largos períodos de tiempo. En dicho estudio, se evaluaron las características básicas de suelo en muestras de suelo provenientes de las parcelas control que nunca habían recibido estiércol, y se determinó a partir de una extracción en paso único con DPTA niveles de Cu y Zn extractables de 0,7 - 0,9 mg/kg de Cu y 0,9- 1,8 mg/kg de Zn. A diferencia de nuestro trabajo, los suelos presentaron formas biodisponibles o fácilmente asimilables de Cu.

En el caso del Zn los valores para esta fracción fueron semejantes en ambos trabajos a excepción de una de las muestras tomadas en nuestro estudio (perteneciente al partido de Baradero) donde las concentraciones determinadas fueron mayores (11,7 mg/kg). Posteriormente, se efectuó el fraccionamiento secuencial de los suelos controles, utilizando una versión modificada de la técnica de Liang *et al.* (1990) propuesta por Miller *et al.* (1986). En este trabajo la mayor parte del Zn fue determinada en la fracción RES en coincidencia con nuestro resultados (60 – 83 % del Zn recuperado como fracción RES); encontrando en el caso del Cu un alto porcentaje ligado a la materia orgánica y para el Zn más vinculado a la fracción inorgánica (representada en esta técnica por la porción ligada a oxihidroxidos de Fe y Al), tendencia que se observa también para los suelos extraídos en nuestro trabajo.

En un estudio previo efectuado por Achiba *et al.* (2010) se efectuó el fraccionamiento secuencial de suelos control, tratados con excretas de corral y compost de desechos sólidos municipales mediante la técnica de BCR determinando para las muestras de suelo sin tratamiento la mayor proporción de Cu como Cu-RES (60%) y como fracción reducible de Cu (30%). También fue determinado para los suelos muestreados, la fracción extractable con ácido acético (0,053 mg/kg). El Zn presentó un comportamiento similar, siendo predominantes las fracciones residual y reducible.

En otro estudio, Krishnamurti y Naidu (2002) analizaron la distribución de Cu y Zn en suelos no contaminados de una región de Australia utilizando un esquema de extracción secuencial. En este trabajo, el cobre en estos suelos se presentó predominantemente (40,5%) asociado con redes cristalinas minerales (como Cu residual). En promedio, el 32,4% de Cu en los suelos analizados estaba unido a compuestos orgánicos, de los cuales el 70,6% conformó parte de lo que se conoce como el complejo fúlvico. Para Zn, un gran porcentaje (52,4%) del metal, se halló asociado con estructuras cristalinas minerales del suelo (Zn residual) seguido de un alto porcentaje asociado con los sitios de unión orgánicos, resultados muy similares a los obtenidos para el Cu en nuestro estudio. A diferencia de nuestro trabajo, se determinó fracción intercambiable para ambos metales (Cu: 0,3 mg kg⁻¹; Zn: 1 mg kg⁻¹).

A nivel nacional también se han presentado varios trabajos que analizan la biodisponibilidad de micronutrientes en suelos, sobre distintas regiones del país. Roca *et al.* (2007) analizaron la disponibilidad y las zonas de deficiencia de micronutrientes en suelos agrícolas, suelos agrícolas con riesgo de salinización y suelos salinos del NO argentino en la Región Semiárida. Para la determinación del metal extractable, se

utilizó la técnica de DPTA (ácido dietilentriaminopentaacético), obteniéndose valores promedio para Cu de 0,9 mg/kg; y para Zn de 0,6 mg/kg. Así mismo, a partir de dichos valores se determinó que el 20% de los suelos muestreados fueron deficientes y un 53% se consideraron pobres en Zn ya que los valores denominados críticos para los suelos son 0,5 – 0,8 mg/kg (Brown *et al.*, 1971).

Por otra parte, Lavado *et al.* (1999) determinaron en suelos de la Pampa Ondulada el efecto de la labranza y la fertilización de fósforo sobre el contenido y la estratificación de elementos traza en los diferentes horizontes. Así mismo, se efectuó una determinación del metal extractable mediante la técnica de DPTA para los suelos de todos los tratamientos efectuados (tanto niveles de fertilización como diferentes tipos de labranza para sembrado). De los metales analizados, no fue determinado Mo extractable en ningún suelo muestreado, mientras que para Cu se obtuvieron valores máximos de 1,5 mg/kg; para Zn 2 mg/kg y para Co 0,3 mg/kg. Estos resultados, difieren de los obtenidos para los suelos muestreados de la Pampa Ondulada (Baradero, Navarro) en nuestro trabajo, donde sólo se determinó fracción soluble o intercambiable para Zn (11,7; 0,7 mg/kg respectivamente).

En otro estudio, Torri y Lavado (2008) analizaron mediante el procedimiento de extracción secuencial de McGrath y Cegarra (1992), la biodisponibilidad de metales en suelos pertenecientes al orden de los Molisoles de la Región Pampeana determinando que para los diferentes tipos de suelos analizados (Argiudols típicos, Natraquols típicos y Hapludols típicos) la fracción intercambiable de Cu no fue determinada; siendo los valores obtenidos para las fracciones MO y INORG similares en todos los suelos. A diferencia de las muestras presentadas en nuestro trabajo donde el Cu fue recuperado en mayor proporción de la fracción inmóvil (residual), el Cu-RES sólo fue mayor en los suelos Hapludols típicos. De los metales analizados (Cu, Zn, Cd y Pb) sólo se obtuvo fracción intercambiable para Zn (1 – 1,7 mg/kg); siendo el mayor porcentaje recuperado como Zn- RES al igual que los suelos muestreados en el presente trabajo.

Torri y Lavado (2008), analizaron la distribución en diferentes fracciones geoquímicas obtenidas del fraccionamiento secuencial (utilizando la técnica anteriormente mencionada) de suelos típicos de La Pampa, que recibieron diferentes tratamientos de fertilización con biosólidos. Para los suelos prístinos, el Zn nativo se determinó principalmente como Zn-RES, obteniendo valores superiores al 84% respecto al contenido total. El orden de la concentración de Zn en las fracciones de los tres suelos

no tratados fue: Zn-RES; Zn-INOR; Zn-MO y Zn-EXCH. Esta distribución es típica en suelos no contaminados, donde el Zn se encuentra sobre todo en formas no reactivas dentro de redes cristalinas de los minerales del suelo (Shuman, 1999). A excepción del suelo del partido de Las Flores el patrón de distribución en nuestro trabajo fue similar.

Se han observado variaciones marcadas en el rango de la disponibilidad del Zn en los suelos de la Región Pampeana según bibliografía consultada (Cuadro 2.10). En estos trabajos, utilizan extracciones únicas o en batch con agentes quelantes como el EDTA y DPTA los cuales extraen las formas de metales más lábiles del suelo, y además forman uniones complejas de alta constante de estabilidad con cationes como el Zn. En nuestro trabajo, se utilizó para la obtención de la fracción soluble o intercambiable de metales CaCl_2 como agente extractante dentro del procedimiento de extracción secuencial de McGrath y Cegarra (1992) obteniéndose valores comparables en algunos de los casos.

Tipo de suelos	Rango (mg kg^{-1})	
	DPTA/EDTA ¹	CaCl_2 ²
Argiudolls Típicos	0,3 - 2,6	0,3
Argiudolls	2,1 - 13,2	11,7
Argiudolls y Haplustolls	0,4 - 2,5	-
Haplustolls	1,4 - 15	-
Duracol Nátrico	-	2
Argialbol Argiácuico	-	0,7 - 1,3

Cuadro 2.10 Datos de biodisponibilidad de zinc en suelos representativos de la región Pampeana, revisión bibliográfica. Adaptado de Torri *et al.*, 2011. DPTA: ácido dietilentríaminopentaacético; EDTA: ácido etilendiaminotetracético. ¹: Datos bibliográficos. ²-. Datos propios

En la Región Pampeana, estudios realizados determinaron valores promedio de Cu biodisponible de $2,1 \text{ mg kg}^{-1}$, considerándose valores de 1 mg kg^{-1} como suelos de baja disponibilidad. Así mismo, se determinaron valores menores en la región centro de Buenos Aires y centro-sur de Córdoba (Cruzate *et al.*, 2006). El cobre es un metal con gran afinidad a los compuestos orgánicos, lo que hace que normalmente esté ligado a la materia orgánica del suelo (Pinto *et al.*, 2004). En nuestro trabajo, en casi todos los suelos a excepción del perteneciente al partido de Navarro, la segunda fracción con mayor contenido de Cu fue Cu-MO. Se determinó una muy baja disponibilidad de Mo (de $0,01$ a $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$) para suelos Argiudoles típicos de la región norte de la provincia de Buenos Aires, lo que en el caso de nuestro estudio es

coincidente, ya que no se determinó fracción intercambiable o soluble de dicho metal en ninguna de las muestras de suelos analizadas. En dicho estudio también se determinó a partir del uso de dos extractantes diferentes (HNO_3 2N y DPTA) la biodisponibilidad en suelos de Cu: 5,7-1,4; Zn: 2,3-1,5; y Co: 5,4 – 0,1 mg kg^{-1} (Lavado y Porcelli, 2000). Conti *et al.* (1982) determinaron mediante una extracción con EDTA en suelos de la zona norte de la provincia de Buenos Aires y sur de Santa Fe la biodisponibilidad de Cu, Zn y Mo encontrando valores en mg kg^{-1} para Cu: 1,4-3; para Zn 2,4-5,3; Mo 0,07-0,1.

Ratto *et al.* (1997) determinaron en un suelo Argiudol típico de la localidad de Pergamino, para Cu y Zn la disponibilidad en suelos siendo los valores en mg/kg 0,9-0,8 respectivamente.

A fin de establecer un rango de interpretación de biodisponibilidad de micronutrientes para suelos de la región Pampeana, clasificándolos como suelos con alta moderada y baja disponibilidad; varios autores efectuaron una serie de análisis en suelos típicos de la región estableciendo los siguientes valores (Cuadro 2.11):

Disponibilidad	Cobre	Hierro	Manganeso	Zinc	Boro
Alta	>1,4	> 67	> 155	> 1,5	> 1,5
Moderada	1 - 1,4	30 – 67	50 – 100	1 - 1,5	0,5 - 1,5
Baja	< 1	< 30	< 50	< 1	< 0,5

Cuadro 2.11 Rangos de interpretación de micronutrientes disponibles (en ppm) para los suelos de la región pampeana, revisión bibliográfica (Ratto *et al.*, 1999; Silampaa, 1982; Follet y Westfall, 2004; Grinch *et al.*, 2000). Extraído de Carrasco y Zamora, 2002; INTA Barrow.

Para los suelos analizados el cobre presenta una baja disponibilidad (en todos los suelos muestreados fue menos al límite de detección de dicho metal: 0,01 ppm), mientras que para el zinc, los suelos de Tandil y Navarro presentan baja disponibilidad (con valores de 0,3 y 0,7 ppm respectivamente), Baradero y Las Flores alta (con valores de 11,7 y 2 ppm respectivamente) y Roque Pérez moderada (habiéndose determinado un valor de 1,3 ppm).

2.3.4. Cálculo de la tasa de aplicación de fertilizantes orgánicos según deficiencias minerales

En el Capítulo 1 se determinó, a partir del fraccionamiento secuencial, que las excretas provenientes de SI de producción aportan formas biodisponibles de todos los elementos traza analizados en este trabajo (Cuadro 2.12).

Elementos traza	SI I	SI II	SI III
Cobre (Cu)	3,3 ± 2,1	6,9 ± 1,9	6,7 ± 2,2
Zinc (Zn)	2 ± 0,8	4,4 ± 0,4	9,5 ± 2,4
Cobalto (Co)	6,3 ± 1,8	11,3 ± 6,8	8,9 ± 2,8
Molibdeno (Mo)	20 ± 8,2	22,1 ± 8,2	18,9 ± 1,2

Cuadro 2.12 Concentración (en mg/kg) de la fracción soluble/intercambiable (extraída con CaCl₂) de Cu, Zn, Co y Mo determinadas en las muestras de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina.

Al evaluar la biodisponibilidad de dichos elementos traza en las muestras de suelos, la fracción soluble o intercambiable para todos los metales a excepción del Zn, se encontró por debajo del límite de detección de la técnica utilizada. Dado que dicha fracción se relaciona con la fitobiodisponibilidad de los micronutrientes, se desprende de éstos resultados que el aporte de formas asimilables de micronutrientes al cultivo desde los suelos es mínimo (Cuadro 2.13).

Elementos traza	Baradero	Navarro	Las Flores	Roque Pérez	Tandil
Cobre (Cu)	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Zinc (Zn)	11,7 ± 3,2	0,7 ± 0,17	2 ± 1,4	1,3 ± 1,4	0,3 ± 0,4
Cobalto (Co)	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
Molibdeno (Mo)	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld

Cuadro 2.13 Concentración (en mg/kg) de la fracción soluble/intercambiable (extraída con CaCl₂) de Cu, Zn, Co y Mo, determinada en las muestras de suelos analizados. <ld: menor al límite de la técnica de determinación utilizada. Cu: 0,06 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm

Según datos bibliográficos, los requerimientos minerales para su normal crecimiento de las especies forrajeras utilizadas comúnmente en pasturas consociadas son:

Elementos traza	Especies gramíneas	Especies leguminosas
Cobre (Cu)	5,0 - 12,0	10,0 - 12,0
Zinc (Zn)	26	15
Cobalto (Co)	1	1
Molibdeno (Mo)	0,2-0,7	0,5

Cuadro 2.14 Requerimientos de micronutrientes (en mg kg⁻¹) de distintas especies forrajeras. Datos recopilados de distintas fuentes bibliográficas. Extraído de García *et al.*, 2002.

Si consideramos el aporte total de micronutrientes de las excretas provenientes del SI, un primer cálculo teórico de agregado de excretas como fertilizantes (kg MS/ha) podría desarrollarse. Las tasas de fertilización (para fertilizantes orgánicos) se encuentran predeterminadas, utilizando el porcentaje de nitrógeno total Kjeldahl como parámetro limitante a considerar para su aplicación. La EPA (1999) establece que para suelos normales una tasa de fertilización alta implica 250 kg de N total Kjeldahl por hectárea sembrada. De la caracterización físico-química de las excretas provenientes de SI en este trabajo se define que según el porcentaje de N total determinado en las muestras obtenidas (1,6-1,8 gr de N/ 100 gr MS) el agregado de excretas necesario es de 15625 kg de materia seca por hectárea. Conociendo a partir de estos datos el aporte total (en mg totales) de cada uno de los metales analizados por parte de las excretas y los requerimientos a satisfacer en un cultivo de especies forrajeras (tanto gramíneas como leguminosas), se obtienen los siguientes valores de agregado de excretas en promedio para los tres sistemas de producción para aportar lo necesario a fin de satisfacer los requerimientos de los cultivos (Cuadro 2.15):

Excretas agregadas por fertilización (kg MS/ha)		
	Gramíneas	Leguminosas
Cu	1,7	2,2
Zn	7,3	4,2
Co	0,1	0,1
Mo	0,02	0,02

Cuadro 2.15 Agregado de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina (en kg MS/ha), calculado en base a datos propios y de revisión bibliográfica.

Como se mencionó anteriormente, la concentración total de metales tanto en suelos como en excretas no se encuentra necesariamente relacionada con su biodisponibilidad, ya que también comprende fracciones geoquímicas poco reactivas. Las formas biodisponibles de metales en suelo se han relacionado con aquellas que las plantas utilizan a lo largo de su periodo de crecimiento (Torri y Lavado, 2009). En este sentido, se podría efectuar el cálculo de agregado de excretas intensivas bovinas según los niveles biodisponibles suficientes (en mg/kg) en suelos que no son considerados carentes de micronutrientes y el aporte de formas biodisponibles determinado para las muestras de excretas intensivas analizadas en este trabajo (Cuadro 2.13). Para ello, se consideró el aporte de formas fácilmente asimilables para cada metal analizado de las muestras de suelos tomadas y el aporte realizado por las excretas intensivas. El agregado de excretas (en gr de MS por kg de suelo) fertilizado se encuentra reportado en el Cuadro 2.16

	Aporte de formas biodisponibles en suelos muestreados (mg/kg)	Niveles disponibles suficientes en suelos (mg/kg)	Agregado excretas SI (g/kg)
Cu	<ld	2,5	500,5
Zn	0,7	2	352,8
	0,3		478,8
	1,3		198,8
Co	<ld	0,2	239,5
Mo	<ld	2	9,8

Cuadro 2.16 Cálculo del agregado de excretas provenientes de SI (gr/kg) a suelos, según el aporte fracción soluble/intercambiable determinada para cada metal en las muestras de suelo. <ld: menor al límite de detección de la técnica utilizada (Cu: 0,06 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm)

Si bien, la tasa de fertilización con excretas en este caso particular, es según el contenido de micronutrientes se efectuó el cálculo de agregado de nitrógeno (según el porcentaje presente en las excretas determinado analíticamente), y en ninguno de los casos sobrepasa lo estipulado por la bibliografía para fertilizantes orgánicos.

Como puede observarse, en los suelos muestreados el único metal determinado en la fracción extractable con CaCl_2 fue el Zn. De estas muestras, sólo tres (Navarro, Tandil y Roque Pérez) se encuentran con niveles por debajo de los suficientes para el desarrollo del cultivo y pueden considerarse de baja disponibilidad. En este caso, se calculó el agregado de excretas en gramos por kilogramo de suelo a fertilizar de acuerdo al aporte de formas solubles de los metales por parte de las excretas. Es importante considerar que las excretas pueden también aportar, a través de fracciones menos asimilables, metales a los suelos una vez aplicadas a los mismos, y puede, a su vez, modificarse la dinámica a lo largo del proceso de compostaje en suelos enmendados.

2.4. Conclusiones preliminares

Los suelos de los partidos bonaerenses muestreados en este trabajo son, en general, de textura franca, aptos para las actividades agropecuarias, con valores de pH cercanos a la neutralidad (a excepción del partido de Roque Pérez) y de bajo contenido salino.

En nuestro país, son escasos los estudios de los niveles base de elementos traza por lo que las determinaciones efectuadas en este trabajo constituyen un aporte importante. Las concentraciones totales determinadas de Cu, Zn, Se, Co y Mo en las muestras de suelo analizadas se encuentran dentro del rango considerado para suelos no contaminados y en ningún caso superó los límites establecidos para suelos agrícolas por la Ley 24051. Así mismo, los resultados obtenidos fueron coincidentes con los reportados para suelos de la región pampeana en otros estudios. Si bien el contenido total de elementos traza en suelos no puede relacionarse directamente con la carencia de un mineral; en las muestras analizadas los valores de Cu, Zn y Se obtenidos, se encuentran cercanos a los límites inferiores de concentración para suelos no contaminados, perteneciendo las mismas a zonas de la región pampeana donde fue reportada previamente la deficiencia mineral de dichos micronutrientes.

Se analizó la biodisponibilidad de Cu, Zn, Co y Mo mediante el fraccionamiento secuencial de los suelos muestreados, determinándose sólo para Zn una fracción soluble o intercambiable en dichas muestras. Para Cu, Co y Mo los niveles de formas solubles o intercambiables estuvieron por debajo del límite de detección de la técnica utilizada. En el caso particular de selenio, dado a los niveles totales bajos determinados, el fraccionamiento secuencial arrojó valores no detectables para la técnica analítica utilizada en la determinación en los extractos obtenidos.

A partir de los resultados obtenidos se puede establecer que los suelos analizados presentaron baja disponibilidad Cu, Co y Mo. En el caso del Zn, la biodisponibilidad varió considerablemente entre las distintas muestras, encontrándose las muestras de Navarro y Tandil con bajos niveles de fracción soluble o intercambiable.

2.5. Referencias

- Achiba, W. B., Lakhdar, A., Gabteni, N., Du, G., Verloo, M., Boeckx, P., Cleemput, O. Van, Jedidi, N., Gallali, T., 2010. Accumulation y fractionation of trace metals in a Tunisian calcareous soil amended with farmyard manure y municipal solid waste compost 176, 99–108. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.11.004
- Adams, M.L., Lombi, E., Zhao, F.J., McGrath, S.P., 2002. Evidence of low selenium concentrations in UK bread-making wheat grain. *Journal of the Science of Food y Agriculture* 82, 1160–1165. doi:10.1002/jsfa.1167
- Adriano, D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability y risks of metals. Springer-Verlag, New York 32, 374. doi:10.2134/jeq2002.3740
- Ahola, J.K., Baker, D.S., Burns, P.D., Mortimer, R.G., Enns, R.M., Whittier, J.C., Geary, T.W., Engle, T.E., 2004. Effect of copper, zinc, y manganese supplementation y source on reproduction, mineral status, y performance in grazing beef cattle over a two-year period. *Journal of Animal Science* 82, 2375–2383.
- Alloway, B. J. 2013. Bioavailability of elements in soil. In: *Essentials of medical geology*. Springer, Netherlys. pp. 351-373.
- Alcock, R.E., Bacon, J., Bardget, R.D., Beck, A.J., Haygarth, P.M., Lee, R.G.M., Parker, C.A., Jones, K.C., 1996. Persistence y fate of polychlorinated biphenyls (PCBs) in sewage sludge-amended agricultural soils. *Environmental Pollution* 93, 83–92. doi:10.1016/0269-7491(96)00002-4
- Alvarado, P.I., 2011. Produccion de carne en Argentina. Disponible en: www.vetunicen.edu.ar
- Amato, M., 1983. Determination of carbon 12 C y 14 C in plant y soil. *Soil Biology y Biochemistry* 15, 611-612.
- Amir, S., Hafidi, M., Merlina, G., Revel, J.C., 2005. Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. *Chemosphere* 59, 801–810. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.11.016
- Yriulo, A., Sasal, C., Améndola, C., Rimatori, F., 2003. Impacto de un sistema intensivo de producción de carne vacuna sobre algunas propiedades del suelo y del agua. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 32, 27–56.
- Balbuena, O., Mcdowell, L.R., Luciani, C.A., Conrad, J.H., Martin, N.W.F.G., 2003. Estudios de la Nutrición Mineral de los Bovinos para carne del este de las provincias de Chaco y Formosa (Argentina). 5 . Cobalto y Selenio 1–6.
- Barker, J.C., Hodges, S.C., Walls, F.R., 2001. Livestock Manure Production Rates y Nutrient Content. *North Carolina Agricultural Chemicals Manual* 1–4.
- Bassil, J., Naveau, A., Bueno, M., Di Tullo, P., Grasset, L., Kazpard, V., Razack, M., 2016. Determination of the distribution y speciation of selenium in an argillaceous sample using chemical extractions y post-extractions analyses: application to the hydrogeological experimental site of Poitiers. *Environmental Science y Pollution Research* 23,9598 -9613.
- Basualdo, E.M., 2006. Evolución y situación actual del ciclo ganadero en la Argentina.

Realidad Económica 221, 1–24.

- Beattie, J.H., Kwun, I.-S., 2004. Is zinc deficiency a risk factor for atherosclerosis? *The British Journal of Nutrition* 91, 177–181. doi:10.1079/BJN20031072
- Beaudet, V., 2014. Effets de la composition de la ration sur la synthèse apparente de vitamines B dans le rumen de la vache laitière. Doctoral dissertation, Université Laval.
- Berrow, M.L., Ure, A.M., 1989. Geological materials y soils. In: Ilnat, M. (Ed.), *Occurrence y Distribution of Selenium*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 213–242
- Beckett, G.J. y Arthur, J.R. (2005) Selenium y endocrine systems. *Journal of Endocrinology* 184, 455–465.
- Berrow, M.L., y G.A. Reaves. 1984. Background levels of trace elements in soils. p. 333–340. In *Proc. 1st Int. Conf. on Environmental Contamination*. CEP Consultants. Edinburgh, Scotly.
- Behne, D., Kyriakopoulos, A., 2001. Mammalia selenium-containing proteins. *Annual Review of Nutrition* 21, 457–473. doi:10.1146/annurev.nutr.21.1.453
- Bremner, J. M., & Keeney, D. R. (1966). Determination y isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. Exchangeable ammonium, nitrate, y nitrite by extraction-distillation methods. *Soil Science Society of America Journal*, 30(5), 577-582.
- Bodnar, M., Szczyglowska, M., Konieczka, P., Namiesnik, J., 2016. Methods of Selenium Supplementation: Bioavailability y Determination of Selenium Compounds. *Critical Reviews in Food Science y Nutrition* 56, 36–55. doi:10.1080/10408398.2012.709550
- Bolan, N.S., Khan, M.A., Donaldson, J., Adriano, D.C., Matthew, C., 2003. Distribution y bioavailability of copper in farm effluent. *Science of the Total Environment* 309, 225–236. doi:10.1016/S0048-9697(03)00052-4
- Brown, A.L., Quick, J., Edding, J.L., 1971. A comparison of analytical methods for soil zinc. *Soil Science Society American Proceedings* 35, 105-107.
- Buffa, E. V., Ratto, S. E., 2009. Contenido pseudototal de Cobre, Cinc, Hierro y Manganeseo como estimador del fondo geoquímico en suelos de la Llanura Chaco-Pampeana de Córdoba, Argentina. *Ciencia del suelo* 27, 185-198
- Cabido, M., Manzur, A., Carranza, L., González-Albarracín, C., 1994. La vegetación y el medio físico del Chaco Árido en la provincia de Córdoba, Argentina Central. *Phytocoenologia* 24, 423-460.
- Campbell, D.T., Maas, J., Weber, D.W., Hedstrom, O.R., Norman, B.B., 1990. Safety y efficacy of two sustained-release intrareticular selenium supplements y the associated placental y colostrum transfer of selenium in beef cattle. *American Journal of Veterinary Research* 51, 813–817.
- Carrasco, N., Zamora, M., 2002. Disponibilidad de micronutrientes en los suelos después de 50 años de producción agrícola. Convenio INTA-MAA; INTA Barrows.
- Carrillo, J., 2003: Manejo de Pasturas. EEA INTA Balcarce. Ediciones Instituto

- Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina. pp 458.
- Chapman, H.L., Bell, M.C., 1963. Relative absorption y excretion by beef cattle of copper from various sources. *Journal of Animal Science* 22, 82–85.
- Conti, M. E., de López Camelo, L. G., de Tiraboschi, D. B., Sesé, Z. M., Arrigo, N., 1982. Caracterización de micronutrientes en la zona norte y oeste de la región triguera argentina. *Revista Facultad de Agronomía* 3, 181-188.
- Cousins, R.J., Liuzzi, J.P., Lichten, L.A., 2006. Mammalian zinc transport, trafficking, y signals. *Journal of Biological Chemistry*. doi:10.1074/jbc.R600011200
- Cruzate, G. A., Rivero, E., Turati, R., 2006. Cobre, Hierro y Manganeseo: Mapas de disponibilidad y respuesta a la fertilización en suelos de la región pampeana. En: *Actas del XX Congreso Argentino de la Ciencia del suelo*.
- Dedina, J., 1982. Interference of volatile hydride-forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry* 54, 2097-2102
- de Miguez, S. R., Fatta, N., 1990. Disponibilidad de micronutrientes en suelos del área maicera núcleo. *Ciencia del Suelo*, 9-15
- Duncan, I. F., Greentree, P. L., Ellis, K. J., 1986. Cobalt deficiency in cattle. *Australian veterinary journal* 63, 127-128.
- EPA's Environmental Protection Agency 1996: *Compilation of EPA's sampling y analysis methods*. Washington D. C. USA. pp. 1696
- Fageria, N.K., Baligar, V.C., Clark, R.B., 2002. Micronutrients in Crop Production, *Advances in Agronomy*. doi:10.1016/S0065-2113(02)77015-6
- Finch, J.M., Turner, R.J., 1996. Effects of selenium y vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Research in Veterinary Science* 60, 97–106. doi:10.1016/S0034-5288(96)90001-6
- Fisher, G. E., Director, O., 2008. Micronutrients y animal nutrition y the link between the application of micronutrients to crops y animal health. *Turkish Journal of Agriculture y Forestry* 32, 221-233.
- Fordyce, F.M., 2013. Selenium deficiency y toxicity in the environment, in: *Essentials of Medical Geology: Revised Edition*. pp. 375–416. doi:10.1007/978-94-007-4375-5_16
- García, F., Micucci, F., Rubio, G., Rufo, M., Daverede, I., 2002. Fertilización de forrajes en la región pampeana: Una revisión de los avances en el manejo de la fertilización de pasturas, pastizales y verdeos. *INPOFOS Cono Sur, Argentina*. pp. 72.
- Georgopoulos, P.G., Roy, a, Yonone-Lioy, M.J., Opiekun, R.E., Lioy, P.J., 2001. Environmental copper: its dynamics y human exposure issues. *Journal of Toxicology y Environmental Health. Part B, Critical Reviews* 4, 341–394. doi:10.1080/109374001753146207
- González, G. P., Buschiazzi, D. E., 1996. Contenidos de hierro, cobre, manganeseo y cinc en suelos de la provincia de La Pampa, Argentina. En: *Actas del XV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, La Pampa, Argentina*. pp. 179.

- González-Nieto, J., López-Sánchez, J.F., Rubio, R., 2006. Comparison of chemical modifiers for selenium determination in soil aqua regia extracts by ZETAAS. *Talanta* 69, 1118–1122. doi:10.1016/j.talanta.2005.12.012
- Gooneratne, S., Buckley, W., Christensen, D., 2011. Review of copper deficiency y metabolism in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 69, 819–845. doi:10.4141/cjas89-096
- Gould, L., Kendall, N.R., 2011. Role of the rumen in copper y thiomolybdate absorption. *Nutrition Research Reviews* 24, 176–82. doi:10.1017/S0954422411000059
- Grace, N.D., Munday, R., Thompson, A.M., Towers, N.R., O'Donnell, K., McDonald, R.M., Stirnemann, M., Ford, A.J., 1997. Evaluation of intraruminal devices for combined facial eczema control y trace element supplementation in sheep. *New Zealy Veterinary Journal* 45, 236–238. doi:10.1080/00480169.1997.36036
- Gupta, U.C., Watkinson, J.H., 1985. Agricultural significance of selenium. *Outlook on Agriculture*.
- Gupta, U.C., Wu, K., Liang, S., 2008. Micronutrients in Soils, Crops, y Livestock. *Earth Science Frontiers* 15, 110–125. doi:10.1016/S1872-5791(09)60003-8
- Hafeez, B., Khanif, Y. M., Saleem, M., 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. *American Journal of Experimental Agriculture* 3, 374-391.
- Hales, K.E., Freetly, H.C., Shackelford, S.D., King, D.A., 2013. Effects of roughage concentration in dry-rolled corn-based diets containing wet distillers grains with solubles on performance y carcass characteristics of finishing beef steers. *Journal of Animal Science* 91, 3315–3321. doi:10.2527/jas.2012-5942
- Halpin, C.G., Harris, D.J., Caple, I.W., Petterson, D.S., 1984. Contribution of cobalamin analogues to plasma vitamin B12 concentrations in cattle. *Research of Veterinary Science* 37, 249–251.
- Hambidge, K.M., Krebs, N.F., 2007. Zinc Deficiency: A Special Challenge. *Journal of Nutrition*. 137, 1101–1105. doi:137/4/1101 [pii]
- Harter, R. D., 1983. Effect of soil pH on adsorption of lead, copper, zinc, y nickel. *Soil Science Society of America Journal* 47, 47-51.
- Henry, P. R., Littell, R. C., Ammerman, C. B., 1997. Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 1. Effects of time y dietary cobalt concentration on tissue cobalt concentration. *Nutrition research* 17, 947-955.
- Hersom, M., 2013. The Interaction of Nutrition y Health in Beef Cows. 62nd Annual Florida Beef Cattle Short Course.
- Hidiroglou, M., Proulx, J., Jolette, J., 1985. Intraruminal selenium pellet for control of nutritional muscular dystrophy in cattle. *Journal of Dairy Science* 68, 57–66. doi:10.3168/jds.S0022-0302(85)80797-9
- Hoffmann, W.E., Solter, P.F., 2008. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals, in: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. pp. 351–378. doi:10.1016/B978-0-12-370491-7.00012-X
- Hopper, J.L., Parker, D.R., 1999. Plant availability of selenite y selenate as influenced

by the competing ions phosphate y sulfate. *Plant y Soil* 210, 199–207. doi:10.1023/A:1004639906245

Iglesias, R., Schorr, A., Villa, M., y Vozzi, A. (2015). Situación actual y perspectiva de la ganadería en patagonia sur. Centro regional patagonia sur INTA. Disponible en http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_situacion_actual_perspectivas_ganaderia_patagonia_sur_0.

INTA, GeoINTA, 1988. CARTAS DE SUELOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA - Provincia de Buenos Aires. Disponible en: <http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/index.htm>. Accedido 12/12/2016.

INTA, 2012. Técnicas de toma y remisión de muestras de suelos. Ediciones Instituto Nacional de Teanología Agropecuaria.

Jones Jr., 1972. Micronutrientes in agricultura. In: J. Mortvedt, *et al.*, eds. *Soil Sci Soc Am*, Madison, WI.

Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils y plants, CRC Press. doi:10.1201/b10158-25

Kegley, E.B., Spears, J.W., 1994. Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle. *Journal of Animal Science* 72, 2728–2734.

Kincaid, R.L., Blauwiel, R.M., Cronrath, J.D., 1986. Supplementation of Copper as Copper Sulfate or Copper Proteinatate for Growing Calves Fed Forages Containing Molybdenum. *Journal of Dairy Science* 69, 160–163. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80381-2

Krauskopf, K. 1979. Introduction to geochemistry, 2nd ed. McGraw-Hill, NY

Krishnamurti, G. S., Naidu, R., 2000. Speciation y phytoavailability of cadmium in selected surface soils of South Australia. *Soil Research* 38, 991-1004

Krishnamurti, G.S.R., Naidu, R., 2002. Solid-solution speciation y phytoavailability of copper y zinc in soils. *Environmental Science y Technology* 36, 2645–2651. doi:10.1021/es001601t

Lavado, R.S., 2006. Concentration of potentially toxic elements in field crops grown near y far from cities of the Pampas (Argentina). *Journal of Environmental Management* 80, 116–119. doi:10.1016/j.jenvman.2005.09.003

Lavado, R.S., Porcelli, C.A., 2000. Contents y main fractions of trace elements in Typic Argiudolls of the Argentinean Pampas. *Chemical Speciation y Bioavailability* 12, 67–70. doi:10.3184/095422900782775553

Lavado, R.S., Porcelli, C.A., Alvarez, R., 1999. Concentration y distribution of extractable elements in a soil as affected by tillage systems y fertilization. *Science of the Total Environment* 232, 185–191. doi:10.1016/S0048-9697(99)00095-9

Lavado, R.S., Rodriguez, M.B., Scheiner, J.D., Taboada, M. a, Rubio, G., Alvarez, R., Alconada, M., Zubillaga, M.S., 1998. Heavy metals in soils of Argentina: comparison between urban y agricultural soils. *Communications in Soil Science y Plant Analysis* 29, 1913–1917. doi:10.1080/00103629809370081

Lavado, R.S., Zubillaga, M.S., Alvarez, R., Taboada, M.A., 2004. Baseline Levels of Potentially Toxic Elements in Pampas Soils. *Soil y Sediment Contamination* 13,

329–339. doi:10.1080/10588330490500383

- Luo, X. S, Yu, S., Li, X. D, 2012. The mobility, bioavailability, y human bioaccessibility of trace metals in urban soils of Hong Kong. *Applied Geochemistry* 27, 995–1004. doi:10.1016/j.apgeochem.2011.07.001
- Lyons, G., Ortiz-Monasterio, I., Stangoulis, J., Graham, R., 2005. Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding?, in: *Plant y Soil*. pp. 369–380. doi:10.1007/s11104-004-0909-9
- MacPherson, A., Garnsworthy, P. C., Cole, D. J. A., 1994. Selenium, vitamin E y biological oxidation. In: *Recent advances in animal nutrition*. Nottingham University Press. pp. 3-30.
- MacPherson, A., 2000. Trace-mineral stauts of forages. In D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford, & H. M. Omed (eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition* (Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing), pp. 345-371.
- MAFF (1990) *UK Tables of the Nutritive Value y Chemical Composition of Foodstuffs*. In: Givens, D.I. (ed.) Rowett Research Services, Aberdeen, UK
- MAGyP, 2011
- MAGyP, 2015. Sistema de monitoreo del sector de la carne bovina. Caracterización de la producción bovina. Red de conocimiento del sector pecuario. MAGyP-INTA-SENASA. Disponible en http://inta.gov.ar/sites/default/files/inta_caracterizacion_de_la_produccion_bovina.pdf
- Maity, S., Sahu, S. K., Pyit, G. G., 2016. Trace Metals Distribution y their Dependence on Some Physico-Chemical Parameters in Creek Sediment. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 1-30
- Mattiello, E.M., Ruiz, H.A., Neves, J.C.L., Ventrella, M.C., Araújo, W.L., 2015. Zinc deficiency affects physiological y anatomical characteristics in maize leaves. *Journal of Plant Physiology* 183, 138–143. doi:10.1016/j.jplph.2015.05.014
- Matteucci, S., 2012. Ecorregión Pampa. Morello, J., Matteucci, S., Rodríguez, A. y Silva, M.: Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Buenos Aires: Ed. Orientación Gráfica, 391-446.
- McDowell, L.R. (1992). *Minerals in Animal y Human Nutrition*. New York: Academic Press.
- McFarlane, J.D., Judson, J.D. yGouzos, J., 1990 Copper deficiency in ruminants in the south east of Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*30, 187–193.
- McGrath, S.P., Cegarra, J., 1992. Chemical extractability of heavy metals during y after long-term applications of sewage sludge to soil. *Journal of Soil Science* 43, 313–321. doi:10.1111/j.1365-2389.1992.tb00139.x
- Miller, W.J., 1970. Zinc nutrition of cattle: a review. *Journal of Dairy Science* 53, 1123–1135. doi:10.3168/jds.S0022-0302(70)86355-X
- Miller, W.J., Morton, J.D., Pitts, W.J., Clifton, C.M., 1965. The effect of zinc deficiency y restricted feeding on wound healing in the bovine. *Proceedings of the Society for*

Experimental Biology y Medicine 118, 427–431

- Mills, C.F. 1981. Cobalt deficiency y cobalt requirements of ruminants. in *Recent Advances in Animal Nutrition*, W.Haresign, ed. Boston: Butterworths. pp. 129–141
- Minson, D.J., 1990. Forage in Ruminant Nutrition, *Forage in Ruminant Nutrition*. doi:10.1016/B978-0-12-498310-6.50007-9
- Mizuno, I., Villa, Jiménez, A.M., Moretti, M., Sanguesa, V., Efron, D., Berasategui, L., 1988. Elementos mayores y menores en algunos perfiles de suelos de la provincia de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Agronomía*.
- Morello, J., Matteucci, S. D., y Rodríguez, A. F. S., 2012. Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Ediciones FADU. Buenos Aires. 719 pp
- Morris, J.G., Cripe, W.S., Chapman, H.L., Walker, D.F., Armstrong, J.B., Alexyer, J.D., Mirya, R., Sanchez, A., Sanchez, B., Blair-West, J.R., 1984. Selenium deficiency in cattle associated with Heinz bodies y anemia. *Science (New York, N.Y.)* 223, 491–3.
- Nockels, C.F., DeBonis, J., Torrent, J., 1993. Stress induction affects copper y zinc balance in calves fed organic y inorganic copper y zinc sources. *Journal of Animal Science* 71, 2539–2545.
- NRC, 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Nutrient Requirements of Beef Cattle. doi:10.17226/9791
- Ortuno, J., Ros, G., Periago, M. J., Martinez, C., y Lopez, G., 1996. Biodisponibilidad del selenio y métodos de evaluación Selenium bioavailability y methods of evaluation. *Food Science y Technology International* 2, 135-150.
- Pérez Carrera A., 2006. Evaluación de elementos traza en agua, suelo y forraje. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias U.B.A.
- Pilon-smits, E.A.H., 2015. Selenium in Plants. *Progress in Botany* 76, 93–107. doi:10.1016/S0031-9422(00)88944-X
- Pinto, A.P., Mota, A.M., De Varennes, A., Pinto, F.C., 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper y iron by sorghum plants. *Science of the Total Environment* 326, 239–247. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.01.004
- Prohaska, J.R. (2006) Copper. In: Filer, L.J. y Ziegler, E.E. (eds) *Present Knowledge in Nutrition*, 7th edn. International Life Science Institute–Nutrition Foundation, Washington, DC.
- Pyrzynska, K., 2002. Determination of Selenium Species in Environmental Samples. *Microchimica Acta* 140, 55–62. doi:10.1007/s00604-001-0899-8
- Qian, J., Wang, Z.J., Shan, X.Q., Tu, Q., Wen, B., Chen, B., 1996. Evaluation of plant availability of soil trace metals by chemical fractionation y multiple regression analysis. *Environmental Pollution* 91, 309–315. doi:10.1016/0269-7491(95)00066-6
- Qian, P., Schoenau, J.J., Wu, T., Mooleki, S.P., 2003. Copper y zinc amounts y distribution in soil as influenced by application of animal manure in east-central Saskatchewan 2–7.

- Richards, B.K., Schulte, B.M., Heilig, A., Steenhuis, T.S., McBride, M.B., Harrison, E.Z., Dickson, P., 2004. Environmental impacts of applying manure, fertilizer, y sewage biosolids on a dairy farm. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 40, 1025–1042. doi:10.1111/j.1752-1688.2004.tb01064.x
- Ratto, S., y Chiffre, L., 1997. Variación espacial de micronutrientos en suelo y planta en un molisol.
- Reisenauer, H. M., 1960. Cobalt in nitrogen fixation by a legume. *Nature* 186, 375-6.
- Repetto, J., Donovan, A., García, F., 2004. Carencias minerales, limitantes de la producción. *Sitio Argentino de Producción Animal* 2, 6-7.
- Roca, N., Pazos, M.S., Bech, J., 2012. Background levels of potentially toxic elements in soils: A case study in Catamarca (a semiarid region in Argentina). *Catena* 92, 55–66. doi:10.1016/j.catena.2011.11.009
- Roca, N., Pazos, M.S., Bech, J., 2007. Disponibilidad de cobre, hierro, manganeso, zinc en suelos del no Argentino. *Ciencia Del Suelo* 25, 31–42.
- Roca-Perez, L., Gil, C., Cervera, M.L., González, A., Ramos-Miras, J., Pons, V., Bech, J., Boluda, R., 2010. Selenium y heavy metals content in some Mediterranean soils. *Journal of Geochemical Exploration* 107, 110–116. doi:10.1016/j.gexplo.2010.08.004
- Rosa, D.E., Fazzio, L.E., Picco, S.J., Furnus, C.C., Mattioli, G.A., 2008. Metabolismo y deficiencia de Cobre en bovinos. *Analecta Veterinaria* 28, 34–44.
- Rosa, D. E., Fazzio, L. E., Picco, S. J., Furnus, C., Mattioli, G. A., 2008. Metabolismo y deficiencia de zinc en bovinos. *Analecta Veterinaria*, 28.
- Rosenfeld, I., Beath, O.A., 1964. Selenium: Geobotany, Biochemistry, Toxicity y Nutrition. Academic Press, New York, pp. 411.
- Ruzik, L., Pawlak, K., Jarosz, M., 2016. Inorganic y Bioinorganic Speciation Analysis: Problems y Prospects. In: *Hybook of Trace Analysis*. Springer International Publishing. pp. 333-370
- Salazar, C. y Moscatelli, G. (Eds.). 1989. Mapa de suelos de la Provincia de Buenos Aires, Instituto de suelos, INTA, Buenos Aires, 525 pp.
- Scheiber, I., Dringen, R., Mercer, J.F.B., 2013. Copper: Effects of deficiency y overload. *Metal Ions in Life Sciences* 13, 359–387. doi:10.1007/978-94-007-7500-8-11
- Schwarz, F.J., Kirchgessner, M., Stangl, G.I., 2000. Cobalt requirement of beef cattle - feed intake y growth at different levels of cobalt supply. *Journal of Animal Physiology y Animal Nutrition* 83, 121–131. doi:10.1046/j.1439-0396.2000.00258.x
- Shuman, L.M., 1999. Organic waste amendments effect on zinc fractions of two soils. *Journal of Environmental Quality* 28, 1442–1447.
- Silva, D.A.S., da Silva Júnior, M.L., de Jesus Matos Viégas, I., da Silva Lobato, A.K., de Melo, V.S., Botelho, S.M.A., da Silva, G.R., de Freitas, J.M.N., de Oliveira Neto, C.F., de Lima, S.S., 2014. Growth y visual symptoms of nutrient deficiencies in young mentha piperita plants. *Journal of Food, Agriculture y Environment* 12, 292–296.

- Smith, R.M., 1987. Cobalt. In Trace Elements in Human y Animal Nutrition. Mertz, W. Ed. New York: Academic Press. pp. 143–183.
- Soil Survey Staff. 2014. Keys to Soil Taxonomy, 12th ed. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.
- Soriano-Disla, J.M., Speir, T.W., Gómez, I., Clucas, L.M., McLaren, R.G., Navarro-Pedreño, J., 2010. Evaluation of Different Extraction Methods for the Assessment of Heavy Metal Bioavailability in Various Soils. *Water, Air, & Soil Pollution* 213, 471–483. doi:10.1007/s11270-010-0400-6
- Spears, J.W., Harvey, R.W., Segerson, E.C., 1986. Effect of marginal selenium deficiency on growth, reproduction y selenium status of beef cattle. *Journal of Animal Science* 63, 586–594
- Spears, J.W., Kegley, E.B., 2002. Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) y level on performance, carcass characteristics, y immune response of growing y finishing steers. *Journal of Animal Science* 80, 2747–2752.
- Spears, J.W., Spears, J.W., 2003. Comparative Trace Element Nutrition. *Animal Science* 1506–1509.
- Stangl, G.I., Schwarz, F.J., Müller, H., Kirchgessner, M., 2000. Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B12, folate, homocysteine y methylmalonic acid. *The British Journal of Nutrition* 84, 645–653. doi:10.1017/S0007114500001987
- Sungur, A., Soylak, M., Yilmaz, E., Yilmaz, S., Ozcan, H., 2014. Characterization of Heavy Metal Fractions in Agricultural Soils by Sequential Extraction Procedure: The Relationship Between Soil Properties y Heavy Metal Fractions. *Soil y Sediment Contamination: An International Journal* 00–00. doi:10.1080/15320383.2014.907238
- Suttle, N.F., Field, A.C., Nicolson, T.B., Mathieson, A.O., Prescott, J.H., Scott, N., Johnson, W.S., 1980. Some problems in assessing the physiological y economic significance of hypocupraemia in beef suckler herís. *Veterinary Record* 106, 302–304.
- Suttle, N.F., Brebner, J., Munro, C.S. y Herbert, E., 1989. Towards an optimum dose of cobalt inanthelmintics in lambs. *Proceedings of the Nutrition Society* 48, 87A.
- Suttle, N.F., 1987 The nutritional requirement for copper in animals y man. In: Howell, J. McC. Y Gawthorne, J.M. (eds) *Copper in Animals y Man. Volume I*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 21–44.
- Suttle, N.F., 1991. The interactions between copper, molybdenum y sulfur in ruminant nutrition. *Annual Revision of Nutrition* 11, 121–140.
- Suttle, N.F. y Blake, J.S., 2006. Effects of adding a ‘cocktail’ of copper antagonists, molybdenum, sulfur y zinc, on liver copper accumulation in Texel rams given a concentrate diet. *Proceedings of the British Society of Animal Science* 72, 63.
- Suttle, N.F., 2010. *Mineral Nutrition of Livestock*, 4th Edition, Nutr.Soc. doi:10.1079/9781845934729.0000
- Takkar, P.N., 2015. Long-term effect of rice-wheat cropping system on cobalt in relation to manganese y iron content in coarse textured calcareous alluvial soils.

- Proceedings of the Indian National Science Academy 81, 663–682. doi:10.16943/ptinsa/2015/v81i3/48225
- Tao, S., Liu, W.X., Chen, Y.J., Xu, F.L., Dawson, R.W., Li, B.G., Cao, J., Wang, X.J., Hu, J.Y., Fang, J.Y., 2004. Evaluation of factors influencing root-induced changes of copper fractionation in rhizosphere of a calcareous soil. *Environmental Pollution* 129, 5–12. doi:10.1016/j.envpol.2003.10.001
- Torri, S., Lavado, R., 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils y correlation with soil chemical speciation. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1459–1465. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.12.075
- Torri, S.I., Lavado, R., 2008. Zinc distribution in soils amended with different kinds of sewage sludge. *Journal of Environmental Management* 88, 1571–1579. doi:10.1016/j.jenvman.2007.07.026
- Torri, S.I., Lavado, R.S., 2008. Dynamics of Cd, Cu y Pb added to soil through different kinds of sewage sludge. *Waste Management* 28, 821–832. doi:10.1016/j.wasman.2007.01.020
- Torri, S. I., Urricariet, S., Lavado, R. S., 2011. Micronutrient availability in crop soils of the pampas region, Argentina.
- Tsonev, T., Lidon, F.J.C., 2012. Zinc in plants - An overview. *Emirates Journal of Food y Agriculture*. doi:10.1016/B978-0-12-077125-7.50013-X
- Underwood, E.J. y Suttle, N.F. (1999). *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK. Underwood, E. J. (1981) . *The mineral Nutrition of Livestock*. 2nd ed. C.A.B. Farnham Royal. Engly
- USEPA, 1999. Background Report on Fertilizer Use, Contaminants y Regulations. U.S. Environmental Protection Agency EPA 747-R-, 1–395.
- Voss, R., 1998. Micronutrients 1–10.
- Ward, J.D., Spears, J.W., y Kegley, E.B., 1993. Effect of copper level y source (copper lysine versus copper sulfate) on copper status, performance, y immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum y sulfur. *Journal of Animal Science* 71, 2748–2755.
- Watts, M.J., O'Reilly, J., Maricelli, A., Coleman, A., Yer, E.L., Ward, N.I., 2010. A snapshot of environmental iodine y selenium in La Pampa y San Juan provinces of Argentina. *Journal of Geochemical Exploration* 107, 87–93. doi:10.1016/j.gexplo.2009.11.002
- Welner, M., 1996. Best preventive of illness was found 400 year ago. Dozens of recent clinical tests finally prove it works. *The Herald News*.
- Whelan, B.R., Barrow, N.J., Peter, D.W., 1994. Selenium fertilizers for pastures grazed by sheep. II. Wool y liveweight responses to selenium. *Australian Journal of Agricultural Research* 45, 875–886.
- Wittenberg, K.M., Boila, R.J., Shariff, M.A., 1990. Comparison of copper sulfate y copper proteinate as copper sources for copper depleted steers fed high molybdenum diets. *Canadian Journal of Animal Science* 70, 895–904.
- Young, R.S. (1979). *Cobalt in Biology y Biochemistry*. Academic Pr, New York.

- Zaman, M.S., Mir, Z., Mir, P.S., El-Meadawy, A., McAllister, T.A., Cheng, K.J., ZoBell, D., Mathison, G.W., 2002. Performance y carcass characteristics of beef cattle fed diets containing silage from intercropped barley y annual ryegrass. *Animal Feed Science y Technology* 99, 1–11. doi:10.1016/S0377-8401(02)00148-7
- Zhang, H., Zhao, F.J., Sun, B., Davison, W., Mcgrath, S.P., 2001. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. *Environmental Science y Technology* 35, 2602–2607. doi:10.1021/es000268q
- Zilic, S., Milasinovic, M., Terzic, D., Barac, M., Ignjatovic-Micic, D., 2011. Grain characteristics y composition of maize specialty hybrids. *Spanish Journal of Agricultural Research* 9, 230–241. doi:10.5424/sjar/20110901-053-10

Capítulo 3.

Enriquecimiento de forrajes con micronutrientes: experiencia en macetas

3.1. Introducción

En los últimos años, la ganadería Argentina está enfrentando cambios que afectan la producción animal, como la reducción de la superficie ganadera debido al progresivo incremento de la agricultura (en 8 a 10 millones de hectáreas), o al aumento en el precio de los granos que reduce la conveniencia de la suplementación. En este contexto, la productividad y la sustentabilidad de los sistemas ganaderos (principalmente en la Región Pampeana) dependen en gran medida de la eficiencia en la producción y utilización del pasto (Marino y Agnusdei, 2009).

Como fue descrito en capítulos previos, la Región Pampeana que incluye total o parcialmente las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, y La Pampa, constituye la zona de mayor desarrollo ganadero del país. Dentro de la región pampeana, la provincia de Buenos Aires presenta la mayor superficie implantada con forrajeras anuales y perennes y de pastizales naturales (Cuadro 3.1) (INDEC, 2008). En dicha región, las condiciones agroecológicas permiten que el pasto sea el forraje más económico y de acceso directo para el ganado. Un primer paso para la intensificación productiva debería pasar por producir mayor volumen de forraje utilizándolo eficientemente y reduciendo de esta forma los costos fijos por kg de materia seca (MS).

Provincia	Superficie implantada por grupo de cultivos					Forrajeras			
	Total	Porcentaje (%)	Cereales para grano	Oleaginosas	Cultivos industriales	Cultivos para producción comercial de semillas	Legumbres	Anuales	Perennes
Total del país	38064983,4		9985954,5	12938127,1	794522,9	233077,6	174952,7	4260067,6	7883596,8
Buenos Aires	12100200,7	31,8	4042566,1	3493021,6	325	91827	8171,2	1325413,9	2986768,2
Córdoba	8786524,3	23,1	2229528,7	3710543,9	489,7	12564,2	356,5	1194433,9	1580745,8
Entre Ríos	2102438,2	5,5	614336,8	899956,1	191	8336	70,1	139772	275884,4
Santa Fe	5428341,1	14,3	1513681,2	2683958,8	13279,1	29941,3	15910,9	398853,5	747166,2
La Pampa	2752919,3	7,2	555053,5	403583	10	32663,5	30	765660,5	992383,2

Cuadro 3.1 Superficie implantada en las explotaciones agropecuarias (EAP) con y sin límites definidos, por grupo de cultivos. Se refiere total país y provincias de la Región Pampeana. Fuente: INDEC, 2008. Censo Nacional Agropecuario

En un sistema ganadero de tipo pastoril, existen algunas diferencias respecto a los sistemas netamente agrícolas. El objetivo principal del primero es lograr la máxima cantidad de biomasa aérea total por unidad de superficie, y no de sólo una porción de la parte aérea como ocurre en cultivos de granos. Esta biomasa aérea debe presentar características especiales de calidad, accesibilidad y estacionalidad (Castaldo *et al.*, 2006). La recirculación de nutrientes es un componente muy importante de análisis y varía mucho de acuerdo al uso del recurso vegetal (ya sea para pastoreo o para corte) (Augustine, 2006).

En la Región Pampeana, éste tipo de sistemas ganaderos se basan principalmente en el pastoreo directo de pasturas, fundamentalmente compuestas por gramíneas y leguminosas. Dada la importancia de este tipo de recursos forrajeros como fuente de alimentación para el ganado, a continuación se realizará una descripción de las características básicas de los mismos, el valor nutricional y la relevancia de conocer la ecofisiología del cultivo a fin de implementar estrategias básicas de fertilización que permitan optimizar el uso de pasturas como alimento para el ganado.

3.1.2. Las pasturas como fuente de alimentación para el ganado

Puede definirse a una pastura como “la comunidad de plantas resultantes de la interacción de estas plantas entre sí y de las mismas con el ambiente, donde los árboles están ausentes, o sólo presentes en forma esporádica y donde predominan las especies herbáceas no leñosas, especialmente gramíneas y pastos; que se utilizan normalmente para la alimentación del ganado (Carrillo, 2003).

Existen varios criterios para la clasificación de las pasturas; uno de los más importantes es aquel que las clasifica según su origen, ya sean naturales o cultivadas (Carambula, 2003). Las naturales son aquellas integradas por especies espontáneas, mientras que las cultivadas son aquellas originadas por la intervención del hombre y en la que predominan las especies domesticadas, preferentemente seleccionadas y mejoradas, con la finalidad primordial de alimentar a su ganado (Arévalo y Rivera, 2013).

Las especies forrajeras cultivadas más comunes en la zona templada se incluyen en el Cuadro 3.2 donde se asigna su duración y época de producción. Las plantas forrajeras más importantes corresponden a dos familias botánicas: gramíneas y leguminosas; si bien existen especies de otras familias son de escaso uso en el país (Barnes *et al.*, 1995).

Nombre vulgar	Nombre latino	Duración	Época de producción
Agropiro alargado	<i>Thinopyrum ponticum</i>	P	O-I-P
Avena amarilla	<i>Avena bizantina</i>	A	O-I-P
Avena blanca	<i>Avena sativa</i>	A	O-I-P
Cebada	<i>Hordeum vulgare</i>	A	O-I-P
Cebadilla criolla	<i>Bromus unioloides</i>	A OB	O-I-P
Centeno	<i>Secale cereale</i>	A	O-I-P
Falaris bulbosa	<i>Phalaris aquatica</i>	P	O-I-P
Festuca alta	<i>Festuca arundinacea</i>	P	O-I-P
Maíz	<i>Zea Mays</i>	A	O-I-P
Mijo	<i>Panicum Miliaceum</i>	A	P-E
Moha de Hungría	<i>Setaria itálica</i>	A	P-E
Pasto miel	<i>Paspalum dilatatum</i>	P	P-E-O
Pasto ovillo	<i>Dactylis glomerata</i>	P	O-I-P
Raigrás bianual híbrido	<i>Lolium multiflorum * lolium</i>	B	O-I-P
Raigrás criollo	<i>Lolium multiflorum</i>	A	O-I-P
Raigrás perene	<i>Lolium perenne</i>	P	O-I-P
Sorgo azucarado	<i>Sorghum saccharatum</i>	A	E
Sudangras	<i>Sorghum sudaense</i>	A	E
Trigo doble propósito	<i>Triticum aestivum</i>	A	O-I

Nombre vulgar	Nombre latino	Duración	Época de producción
Trébol rojo	<i>Trifolium pratense</i>	B	P-E
Trébol subterráneo	<i>Trifolium subterraneum</i>	A	O-I-P
Trébol blanco	<i>Trifolium repens</i>	P	O-I-P
Trébol frutilla	<i>Trifolium fragiferum</i>	P	O-I-P
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	P	P-E
Tréboles de carretilla	<i>Medicago arabica/polymorpha</i>	A	O-I-P
Trébol de olor amarillo	<i>Melilotus officinalis</i>	B	O-I-P
Trébol de olor blanco	<i>Melilotus albus</i>	A	O-I-P
Tréboles de los cuernitos	<i>Lotus corniculatus</i>	P	P-E
Lotus o pata de pájaro	<i>Lotus tenuis</i>	P	P-E

Cuadro 3.2 Gramíneas y leguminosas forrajeras más utilizadas en la región del sudeste bonaerense. Extraído de Carrillo, 2003. P: perenne; A: anual; B: bianual; OIP: otoño-inverno-primaveral; P-E-O: primavera-estivo-otoñal; P-E: primavera-estival; E: estival.

Las pasturas cumplen la doble función de producir forraje para producción animal y reestablecer la fertilidad física, biológica y química de los suelos al incrementar la estabilidad de los agregados y los contenidos de materia orgánica (García *et al.*, 2002). La ecofisiología de las plantas forrajeras comprende el estudio sobre el funcionamiento de las plantas presentes en distintos tipos de recursos vegetales, cuyo principal destino es la alimentación animal; por lo cual no sólo son evaluados por su producción “verde” per se sino que también deben contemplarse los efectos de la acción del ganado vacuno sobre el mismo (especie, categoría, objetivo de producción, etc.) (Ugarte, 2013). Conocer los principios que regulan la producción de pastos es importante porque no sólo determinan el manejo del recurso forrajero, sino que también afectan directamente a la productividad secundaria (producción de carne, leche, cueros, etc.); siendo aplicables a distintos sistemas de producción de forraje como pastizales, pasturas, o verdeos (Earl, 2014). Por

otra parte, conocer los procesos involucrados en la producción de biomasa permite identificar potenciales y limitantes presentes en los sistemas de producción actuales, mejorando la valorización del uso de los recursos forrajeros y brindando herramientas sobre el impacto de la producción animal en el agroecosistema (flujo de carbono, ciclo de nutrientes y del agua) (Figura 3.1) (Lemaire *et al.*, 2011).

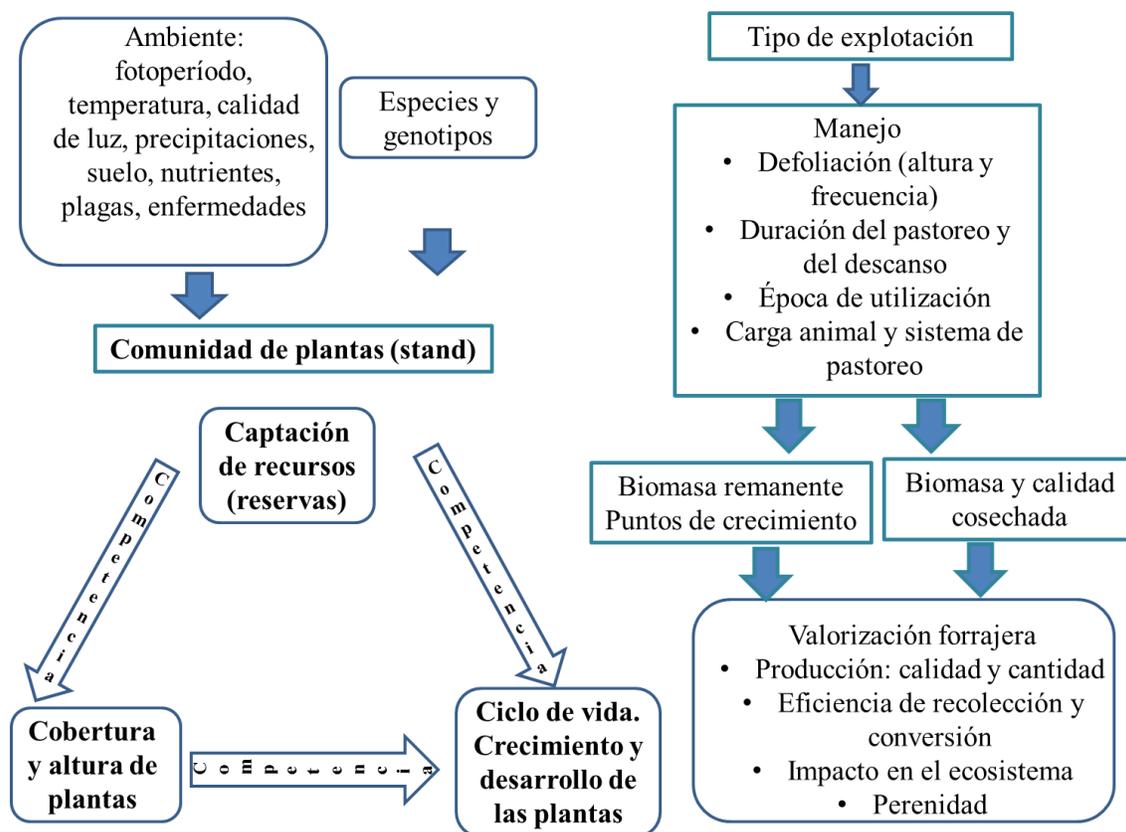


Figura 3.1 : Producción y utilización de forrajes. Adaptado de Ugarte, 2013.

Del mismo modo, al considerar las pasturas como un alimento para el ganado, se hace evidente la importancia de su valor nutricional o valor nutritivo (VN) concepto relacionado con la capacidad de las especies forrajeras como fuente de nutrientes. En el Cuadro 3.3 y el Cuadro 3.4, se indican los requerimientos promedio de 12 nutrientes esenciales para algunas especies forrajeras:

Especie	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio	Azufre
kg/ton MS						
Alfalfa	25-30	2,2-3,3	18-25	11-12,5	2-3,7	2,5-5
Trébol Rojo	22	2,7-3,2	27			5-6
Trébol Blanco	35	3,4	19			
Pasto Ovillo	25	3,6	23-25		2,2	2,2
Festuca	19	3,5-4	24-28	4,6	2	2
Raigrás	20-25	2,4-3,7	24-28		2	2-3
Sorgo forrajero	8	3,1	11,7		1,2	
Gramilla	8,6	2	9,6		0,6	1

Cuadro 3.3 Requerimiento de macronutrientes en diferentes especies forrajeras. Recopilación bibliográfica. Extraído de (García et al., 2002).

Especie	Boro	Cobre	Hierro	Manganeso	Molibdeno	Zinc
kg/ton MS						
Alfalfa	25-30	7	30-50	25	0,1-1	15
Trébol Rojo	21-45	10-12			0,45	
Festuca		14		62	0,7	26
Gramíneas	10-50	5-12			0,2-0,7	

Cuadro 3.4 Requerimiento de macronutrientes en diferentes especies forrajeras. Recopilación bibliográfica. Extraído de (García et al., 2002).

Los nutrientes vegetales se clasifican de diversas formas, siendo la clasificación más difundida aquella que los divide en macro y micronutrientes. Esta clasificación tiene en cuenta la concentración en la planta. Entre los macronutrientes se encuentran el nitrógeno (N), el fósforo (P), el potasio (K), el azufre (S), el calcio (Ca), el cloro (Cl) y el magnesio (Mg). Los micronutrientes son el boro (B), el cobre (Cu), el hierro (Fe), el manganeso (Mn), el molibdeno (Mo), el níquel (Ni) y el zinc (Zn). Existe otro grupo de elementos que no son esenciales pero sí beneficiosos para el desarrollo vegetal. En este grupo se encuentran el sodio, el silicio y el cobalto. La principal estrategia para la nutrición de las plantas en la agricultura ecológica es el mantenimiento de la fertilidad de los suelos la cual

depende del aporte y el contenido de materia orgánica en los mismos (Tisdale *et al.*, 1985; Krishna, 2002).

Los suelos argentinos son considerados como unos de los de mayor fertilidad del mundo, aunque debido a prácticas de manejo inadecuadas (excesivo laboreo, abuso del cultivo de soja, erosión inducida, inadecuada reposición de nutrientes con los cultivos) actualmente muchos de ellos presentan severas limitaciones de productividad para cultivos agrícolas y forrajeros (Fontanetto y Bianchin, 2010). Uno de los problemas de pérdida de fertilidad, es la referente a la "fertilidad química del suelo", que se conoce como una "deficiencia de nutrientes" (Beaton y Nelson, 2005). Esto significa que uno o más nutrimentos están en el suelo en una cantidad que no permite que un cultivo satisfaga sus necesidades y entonces se presenten problemas de crecimiento, desarrollo y producción. Los signos pueden ser: la reducción del área foliar que provoca una menor intercepción de la radiación, resultando en plantas más chicas, deficientes y con menor rendimiento (Jones y Tirado-Corbalá, 2013). Básicamente, el suelo y la materia orgánica en vías de descomposición proveen los elementos minerales esenciales para la nutrición de los cultivos. La mayor parte de estos elementos minerales se encuentran en formas disponibles, intercambiables o adsorbidas que se van intercambiando dentro del suelo y las plantas los van absorbiendo a lo largo de su ciclo. Todos estos elementos minerales tienen una función específica sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (Fontanetto y Bianchin, 2010).

El suelo contiene reservas naturales de nutrientes en cantidades que dependen de la composición del suelo y de su etapa de edafización (FAO, 1999). Estas reservas están generalmente en forma inaccesible para las plantas y sólo una pequeña porción se libera cada año a través de una actividad biológica o un proceso químico. Esta liberación es muy pequeña para compensar la extracción de nutrientes que se lleva a cabo con la producción agrícola, especialmente en los trópicos húmedos, donde el suelo está fuertemente edafizado. Las cantidades de nutrientes disponibles para un cultivo están determinadas por el suministro de nutrientes al cultivo, sea de fuente interna o externa, por la absorción del cultivo y por las pérdidas de nutrientes hacia el medio ambiente (Palm *et al.*, 1997). De esta manera, la reserva de los nutrientes de las plantas está cambiando constantemente. La capacidad del suelo de almacenar los nutrientes de las plantas que

son fácilmente disponibles, es un factor importante en el manejo de la nutrición de las plantas.

3.1.3. La fertilización como estrategia de reposición de nutrientes

Con el principio de la intensificación de la agricultura y el consiguiente deterioro de los suelos, la respuesta a los fertilizantes pasó a ser muy evidente. El consumo de fertilizantes es función del área cultivada, del área fertilizada y de la dosis de fertilizante aplicado por hectárea. Durante los años 1960 no había prácticamente uso de fertilizantes en los cultivos extensivos en la región Pampeana. Fue durante los años 70, especialmente con la introducción de cultivos mejoradas genéticamente, que la respuesta al nitrógeno llegó a ser evidente (FAO, 2002). En los finales de los años 1990, con la creciente intensificación de la agricultura y los decrecientes niveles de los nutrientes del suelo, se identificaron respuestas a otros nutrientes además de N y P. Se identificaron deficiencias de azufre especialmente en suelos con bajos contenidos de materia orgánica y que habían sido cultivados por un largo período (Melgar *et al.*, 1998; Melgar *et al.*, 2002). También fueron reportadas deficiencias en potasio y en micronutrientes tales como zinc y boro (Ratto de Miguez y Fatta, 1990; Melgar, 2001).

Todos los cultivos, los forrajeros también, requieren de una adecuada provisión de agua y nutrientes entre otros factores, para alcanzar y mantener en el tiempo las altas producciones y a su vez, que la calidad de las cosechas sea adecuada a las exigencias de los mercados. Sin embargo lo enunciado no se cumple en la mayoría de las explotaciones argentinas y esto, asociado al aumento del potencial de rendimientos de los cultivos, hicieron que los suelos perdieran su alta fertilidad natural (química, física y biológica), llegando a extremos de limitar su productividad (Fontanetto y Bianchini, 2010).

El buen manejo de la fertilidad de los suelos permite incrementar los rendimientos de cosecha y mejorar parámetros de calidad forrajera. Éstas mejoras se logran más fácilmente mediante el uso de fertilizantes y es más eficaz respecto de métodos mecánicos (aeración, desgarradora y la luz arado de disco) o interseembra, y generalmente menos costosas que la resiembra (OlsonRutz y Jones, 2015). Sin embargo, la decisión del uso de tratamientos de fertilización puede promover el crecimiento y mejora para especies que no son deseables, de modo tal que deben aplicarse medidas de control de malezas maximizar el retorno de la inversión de fertilizantes.

Es abundante la información local (Mazzanti *et al.*, 1997; Lattanzi, 1998; Agnusdei *et al.*, 2001; García *et al.*, 2002) e internacional (Whitehead, 1995; Lemaire *et al.*, 1996) referida al efecto de las deficiencias nutricionales limitando el crecimiento y la producción de forraje. Uno de los criterios utilizados para definir el requerimiento de fertilización en cada ciclo de crecimiento (anual o estacional) es la realización de balances entre la oferta y la demanda de nutrientes en cada recurso forrajero (Bedada *et al.*, 2014).

A modo general, para tomar la decisión de fertilizar un lote o pastura deberían considerarse varios puntos estratégicos, entre ellos: la evaluación de las condiciones climáticas y edáficas del lote a fertilizar, como así también la historia previa en cuanto al uso de dicho lote (cultivos previos, rotaciones, fertilizaciones anteriores) (García *et al.*, 2002).

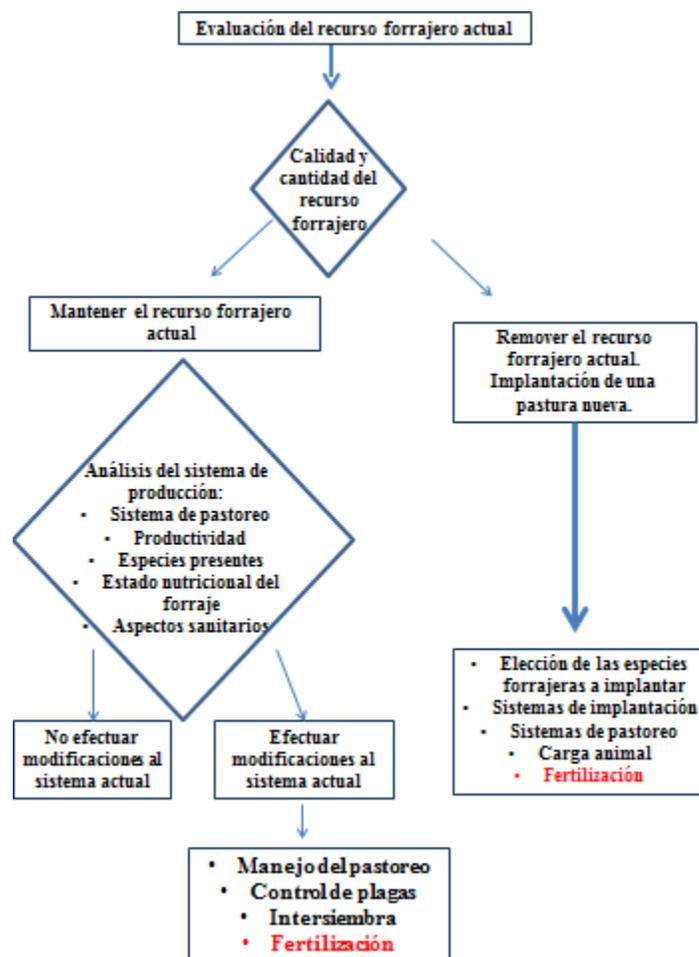


Figura 3.2 Ubicación de la fertilización en el marco de la toma de decisiones en un sistema productivo. Extraído de García *et al.*, 2002.

A los fines prácticos la aplicación de fertilizantes debe considerar:

- Las fuentes de fertilización, no todas las fuentes de fertilizantes proporcionan nutrientes en formas disponibles de la planta. Las fuentes de nutrientes que necesitan ser descompuestos en el suelo para convertirse en disponible para la planta (por ejemplo, fosfato de roca, azufre elemental, o estiércol) tendrán un efecto tardío y requerirán activarse para estar disponibles para el forraje. Las fuentes más solubles (como los sulfatos), son rápidamente asimiladas por las plantas pero son más susceptibles a pérdidas desde el suelo respecto las anteriores. Decidir la fuente está limitado por el precio por kilogramo de nutrientes disponibles, facilidad de aplicación, y los posibles problemas de germinación de semillas durante su aplicación (Malhi *et al.*, 2005).
- La tasa de aplicación; la dosis suficiente de fertilizantes es considerada aquella cantidad mínima necesaria para optimizar los rendimientos netos de cosecha (Heminway, 1999). En general, si la fertilidad del suelo es baja, se debe añadir nutrientes para satisfacer los niveles de suficiencia. Si las pruebas de suelo indican la fertilidad es óptima, se considera la aplicación de fertilizantes en base a la tasa de extracción del nutriente por los cultivos. Esto depende del balance de nutrientes en el suelo el cual debe ser evaluado previamente (Grings *et al.*, 1996). Si los niveles de nutrientes son superiores al óptimo, no se necesita fertilizante adicional. Los síntomas de deficiencia visual nutrientes de las plantas también se pueden utilizar para decidir las tasas de aplicación nutrientes.
- Frecuencia de aplicación; la frecuencia de aplicación de fertilizantes generalmente depende de la fuente y la movilidad de los nutrientes en el suelo, como así también de las características edáficas conjuntamente con las condiciones climáticas que influyen en la velocidad a la que los nutrientes se vuelven disponibles a partir de las diferentes fuentes (Berg *et al.*, 2007).
- Método de aplicación; éste debe ser seleccionado para maximizar la absorción de fertilizante para los cultivos de plantas con una perturbación mínima. En general, el seguimiento y las medidas de control de malezas son más importantes con la aplicación de fertilizantes sobre la superficie respecto de los métodos de aplicación del subsuelo.

3.1.4. Fertilización de cultivos con micronutrientes

Los micronutrientes requieren una atención y cuidado especial debido al estrecho margen entre el exceso y la deficiencia en las plantas. Los micronutrientes son necesarios sólo en pequeñas cantidades siendo las aplicaciones excesivas nocivas o tóxicas en el cultivo y / o en el cultivo subsiguiente (Farooq *et al.*, 2011). Los fertilizantes compuestos pueden ser preparados conteniendo micronutrientes conjuntamente con los grados de NPK para suelos y cultivos en los cuales se han diagnosticado deficiencias. Existen una gran variedad de factores medioambientales que alteran la disponibilidad de los micronutrientes hacia las plantas (materia orgánica del suelo, textura, agua disponible, etc). En muchos casos, las deficiencias de los microelementos son causadas por variaciones en el pH del suelo, uno de los factores más importantes que regulan la fitobiodisponibilidad de elementos traza; lo que puede ocasionar variaciones en las formas disponibles para las plantas (Voss, 1998). Todos estos factores deben ser considerados a la hora de decidir la aplicación de fertilizantes con micronutrientes, generando dosis de aplicación más exactas y logrando también la mayor eficiencia posible a través del uso de métodos de aplicación específicos, tales como, la pulverización o de tratamientos de semillas con micronutrientes (formulados como polvos o líquidos) (Farooq *et al.*, 2009).

En el Cuadro 3.5 se mencionan algunos de los factores que pueden limitar la movilidad y biodisponibilidad de los macro y micronutrientes en los suelos:

Nutriente	Condiciones limitantes	Movilidad en suelos	Causas de pérdida de nutrientes
Fosforo (P)	Frío, sequía, condiciones climáticas, arena, suelos con altos contenidos de calcio pH <6 o pH> 7,5	Inmóvil	La erosión, la unión con el calcio, aluminio, o hierro
Potasio (K)	Frío, sequía y saturado, arena, alto contenido de calcio, magnesio, o N, bajo contenido de materia orgánica del suelo	Relativamente inmóvil	Unión entre las capas de arcilla
Azufre (S)	Frío, suelos bajos, materia orgánica del suelo, suelos erosionados ácidos	Movilidad en suelos	Lixiviado, complejo con Ca
Cloro (Cl) y Boro (B)	Frío, <2% contenido de materia orgánica húmeda, los suelos de textura gruesa pH <7 u> 8.5 (B)	Movilidad en suelos	Lixiviado
Microminerales: Cu, Fe, Mn, Zn	Fresco, húmedo, <2% materia orgánica del suelo, los suelos de textura gruesa pH> 7	Inmóvil	Unido fuertemente al suelo o formas mineralizadas.

Cuadro 3.5 Condiciones que limitan la disponibilidad de P, K, S y micronutrientes, su movilidad en el suelo, y las causas comunes de la pérdida de nutrientes disponibles en los sistemas de producción, además de la cosecha. Extraído de Olson-Rutz, y Jones (2015).

Se considera que la absorción de micronutrientes por las plantas es un proceso que se produce en dos etapas (Kochian, 1991). Una primera etapa donde los micronutrientes en sus formas iónicas se mueven por difusión o flujo de masas entre dos espacios, considerado como lo inmediatamente disponible. Éste mecanismo o movimiento de iones se considera pasivo. La segunda etapa, es la absorción de nutrientes mediante transporte activo de iones a través de una membrana en células interiores y en el xilema. El transporte activo implica que la energía se gasta por la planta y es, por lo tanto, un

proceso metabólico (Welch y Schuman, 1995). En el Cuadro 3.6 se muestran la forma más común de absorción de los metales traza en forma iónica:

Elemento traza	Formas iónicas absorbidas por la plantas
Boro (B)	$B(OH)_3$
Cloro (Cl)	Cl^-
Cobre (Co)	Cu^{+2}
Hierro (Fe)	$Fe^{+2}; Fe^{+3}$
Manganeso (Mn)	Mn^{+2}
Molibdeno (Mo)	MoO_4^{-2}
Zinc (Zn)	$Zn^{+2}; Zn(OH)_2$

Cuadro 3.6 Formas iónicas de metales presentes en suelos absorbidas por las plantas

A continuación se describen algunas fuentes de micronutrientes que pueden ser aplicadas a los suelos, entre las que se incluyen sulfatos, cloruros, óxidos y oxisulfatos (mezclas de sulfatos y óxidos) (Mortvedt, 1999):

- **Sulfatos ($SO_4^{=}$)** de Cu, Fe, Mn y Zn son probablemente las fuentes más comúnmente utilizados. Ya sea en forma de polvo o granulado, que son completamente solubles en agua y son rápidamente a disposición de la planta después de la aplicación al suelo (Schuman, 1998). Los sulfatos también se puede aplicar vía foliar.
- **Cloruro (Cl^-)** de Cu, Fe, Mn y Zn están disponibles principalmente como líquidos para uso en aplicaciones de líquidos.
- **Óxidos** de Cu, Mn y Zn en forma granular son insolubles en agua y su disponibilidad depende de su reacción una vez aplicados en el suelo, el método de aplicación, y la reacción con el carrier si se aplica con otro material fertilizante (Montalvo *et al.*, 2016).
- **Oxisulfatos** son compuestos de óxidos que se han aciduladas parcialmente con ácido sulfúrico. El grado de acidificación determina el grado de micronutrientes

solubles en agua en el producto. La solubilidad en agua varía desde un 3 por ciento a 30 por ciento o más. Algunos investigadores sugieren Mn y Zn fuentes deben ser 50 por ciento o más solubles en agua para ser eficaz la estación de aplicación (Byyopadhyay *et al.*, 2014). Dependiendo de la materia prima original, oxisulfatos pueden contener varias concentraciones de "metales pesados", por ejemplo, cadmio, plomo y cobre.

- **Complejos Zn-amonio (solución de sulfato de zinc amoniacal)** son comunes con los lodos de depuradora y aguas residuales de la industria usados como fertilizantes líquidos y se mezclan fácilmente con soluciones de polifosfato amónico (Mordvet y Gilkes, 1993). Estos son considerados de solubilidad intermedia entre el sulfato de zinc y quelatos en su disponibilidad.
- **Fuentes orgánicas** son compuestos quelados orgánicos sintéticos o naturales de los micronutrientes metálicos Cu, Fe, Mn y Zn. Los agentes quelantes tienden a mantener los micronutrientes en solución y permiten que estén disponibles en condiciones de pH del suelo en el que los nutrientes que normalmente forman compuestos insolubles (Alloway, 2008). Bajo ciertas condiciones de los suelos las formas orgánicas pueden ser igual de eficientes que las formas inorgánicas. Las estimaciones de su eficiencia en comparación con un rango de origen inorgánico 10-1 a ser iguales. Los quelatos suelen tener valores superiores de costo. Las formas quelatadas más comunes son EDTA, DTPA, etc. (Gangloff *et al.*, 2006).

A modo de ejemplo, en las siguientes tablas se informa las formas más comunes de aplicación de micronutrientes (utilizando criterios guía de fertilización en zonas de deficiencia de los mismos) y las respuestas comunes de gramíneas y leguminosas pos fertilización de las mismas (Cuadro 3.7 y Cuadro 3.8).

Respuesta					
Forraje	Boro	Cobre	Hierro	Manganeso	Zinc
Alfalfa	Alto	Alto	N/A	Bajo	Bajo
Gramínea	Bajo	Bajo	Alto	medio	Bajo

Cuadro 3.7 Respuesta relativa a la aplicación de fertilizantes de micronutrientes en cultivos de alfalfa y gramíneas.

			Tasa de fertilización (lb/acre)		
Nutriente	Formas de fertilización	Frecuencia	Difusión e incorporación	Lugar de siembra	Aplicación foliar
Boro	Borato de sodio	primavera	0,5 - 1,5	NR	0,3 - 0,5
Cobre	Sulfato	primavera u otoño	3,5 – 5	NR	NR
	Oxysulfato	otoño	5	NR	NR
	Quelatos	primavera	0,5	0,25 - 0,5	0,2 - 0,25
Hierro	Quelatos	primavera	NR	NV	0,15
Manganeso	Sulfato	primavera	50 – 80	4 - 20	NR
	Quelato	primavera	NR	NR	0,5 – 1
Zinc	Sulfato	primavera u otoño	3,5 – 5	NR	NR
	Oxysulfato	otoño	5 – 10	NR	NR
	Quelatos	primavera	1	NV	0,3 - 0,4

Cuadro 3.8 Criterios generales de aplicación de micronutrientes en suelos deficientes. NR: no recomendado; NV: no verificado. Extraído de Olson-Rutz, y Jones (2015).

Como fue mencionado en el Capítulo 1 las excretas provenientes de diferentes sistemas de producción animal son recursos importantes para la producción forrajera y la conservación del suelo ya que son una importante fuente de macro (N, P y K) y micronutrientes. Así mismo son una excelente fuente de materia orgánica cuyo se utilizan como fertilizante (Chang *et al.*, 1991). Dentro de los nutrientes excretados, el N y el P

toman relevancia cuyo se trata de residuos provenientes de corrales de engorde. Afortunadamente, ambos pueden ser manejados con éxito y son valiosos nutrientes que se pueden utilizar en la producción de cultivos (Eghball y Power, 1994).

Existen numerosos trabajos realizados sobre la respuesta a la fertilización con excretas provenientes de sistemas ganaderos de producción (Schröder, 2005; Mooleki *et al.*, 2004; Cherney *et al.*, 2001; Langmeier *et al.*, 2001; Schilsy Kok, 2003; Richards *et al.*, 1998; Eghball *et al.*, 2003; Nazli *et al.*, 2015; Yootsanong *et al.*, 2015). En dichos estudios se concluye que la aplicación en tasas recomendadas de excretas y productos del compostaje de las mismas, en reemplazo de los fertilizantes inorgánicos o en complemento a dicha actividad, mejoran sensiblemente los rendimientos de cosecha y la calidad del forraje empleado para pasturas, como así también poseen un efecto positivo sobre la incorporación de N y la fertilidad de los suelos. A nivel nacional, la literatura sobre la respuesta a la fertilización con excretas provenientes de sistemas de producción es muy escasa; sin embargo, se han desarrollado trabajos respecto a la respuesta en los rendimientos de cosecha luego de la aplicación de N y P inorgánico (Berardo, 1998; Costa y García, 1997; Díaz Zorita y Fernández Canigia, 1998; Díaz Zorita *et al.*, 1998). En estos casos particulares también se obtuvieron aumentos en la producción de forraje por unidad de superficie. Este aumento en la producción de forraje por unidad de superficie permite 1) aumentar la carga animal de la explotación, y/o 2) redimensionar el área que anualmente se dedica a estos cultivos, pudiendo liberarse lotes para otras actividades productivas.

En base al análisis efectuado en los capítulos previos, se concluyó que las excretas bovinas provenientes de sistemas intensivos de producción poseen altas concentraciones de Cu y Zn respecto de suelos y excretas provenientes de sistemas extensivos de producción con alimentación de base pastoril y sin suplementación mineral. Así mismo, a partir del fraccionamiento secuencial se determinó que para las excretas intensivas, ambos metales se encuentran en formas biodisponibles para las plantas, habiéndose determinado mayores concentraciones de fracción soluble o intercambiable de Cu y Zn respecto suelos y excretas extensivas. Debido a esto, si bien las excretas animales han sido utilizadas como fertilizantes orgánicos debido a sus elevados niveles de nitrógeno, fósforo y materia orgánica, es importante considerar también el aporte de metales presentes en dichas excretas. La reutilización de las excretas procedentes de estos

sistemas como fuente de fertilización orgánica podría reducir el riesgo de contaminación y a su vez, compensar las carencias de estos micronutrientes en suelos destinados a la implantación de forrajes para consumo del ganado.

El **objetivo** de este capítulo es evaluar la capacidad de enriquecimiento en Cu y Zn y el efecto sobre los parámetros de crecimiento de dos especies forrajeras ampliamente utilizadas en pasturas implantadas (*Lolium Perenne* y *Trifolium Repens*), mediante experiencias de fertilización en macetas con excretas bovinas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina con altas concentraciones de dichos metales.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Experiencia de fertilización en macetas

Se efectuó una prueba preliminar de fertilización en microcosmos utilizando *Lolium Perenne* y *Trifolium Repens* como especies forrajeras. Para dicha prueba, se utilizaron 12 macetas (cuatro tratamientos por tres repeticiones). Las macetas eran de policloruro de vinilo (PVC) con capacidad de 2,5 litros, 17 cm de diámetro y altura de 14,5 cm; a las cuales se les incorporó 1,5 kg de suelo base con baja disponibilidad de Cu y Zn, y con mínima perturbación antrópica en los últimos años (Figura 3.3). Las muestras de suelo se corresponden con aquellas pertenecientes al Establecimiento 5 analizadas en el Capítulo 2.

Se realizaron los siguientes tratamientos de fertilización:

- A) Macetas control, sin fertilización;
- B) Macetas fertilizadas con excretas provenientes de un campo de cría bovina con alimentación a base de pasturas implantadas sin suplementación mineral (SE);
- C) Macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI I
- D) Macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI II.

Las muestras de excretas utilizadas corresponden a las mismas analizadas en el Capítulo 1 (véase Capítulo 1, ítem 1.2.1).



Figura 3.3 Ensayo preliminar de fertilización en microcosmos.

Las muestras de suelo y heces bovinas fueron secadas al aire, molidas y tamizadas (2 mm) para su análisis en el laboratorio. Se efectuaron determinaciones de pH, conductividad eléctrica, nitrógeno total Kjeldahl, fósforo extractable y carbono fácilmente oxidable para las excretas intensivas. En el caso del suelo base, se efectuó además un análisis de textura y determinaciones de cationes solubles y CEC. Tanto en el suelo base como las excretas provenientes de SI y SE de producción bovina fueron analizados el contenido total y se efectuó el fraccionamiento secuencial de ambas matrices para Cu y Zn. Para mayor detalle de las metodologías analíticas utilizadas para dichas determinaciones y los resultados de las mismas, refiérase al capítulo 1 (Cuadro 1.7 y Cuadro 1.13) y al capítulo 2 (Cuadro 2.7 y Cuadro 2.9).

La fertilización efectuada tanto con excretas intensiva como excretas extensiva, fue en superficie. La tasa de fertilización se basó en el contenido de nitrógeno total Kjeldahl de las excretas utilizadas. Se determinaron valores de aproximadamente 2% para las excretas utilizadas. La tasa de fertilización considerada para el ensayo fue de 250 kg de NTK/ hectárea, una tasa de fertilización media según reglamentaciones USDA – EPA 1999; adicionándose 20 gr de excretas por reactor fertilizado.

La densidad de siembra utilizada fue de 100 ± 20 semillas/ m^2 con una tasa promedio de germinación de 95% para ambas especies. La prueba de fertilización fue llevada a cabo a la intemperie, en condiciones naturales de temperatura ($12 - 15$ °C) y humedad relativa media (69,7%); y con un fotoperíodo de 11,24 – 12,42 hs.min (datos obtenidos del Centro Regional de Agrometeorología, Universidad Nacional del Centro). Una vez fertilizados, las macetas se mantuvieron con riego diario, utilizando agua destilada al 80% de capacidad de campo. La fecha de siembra fue 28 de agosto de 2012, efectuándose 2 cortes: corte 1 (C1) a los 30 días de la siembra; y corte 2 (C2) a los 90 días de la siembra. Los cortes fueron efectuados a 5 cm por encima de la superficie del suelo sembrado, dado que la parte más superficial es aquella que se relaciona con la que los animales en pastoreo consumen. La biomasa aérea fue secada en estufa a 72°C durante 72 horas hasta peso constante para determinar producción de materia seca por maceta. Al C1 se obtuvieron muestras de planta entera y se realizaron determinaciones no destructivas de área foliar (representándose los bordes sobre un papel milimetrado), altura (desde la base del tallo al ápice del mismo), diámetro a la altura de corte (sólo para Raigrás), longitud de raíz y cantidad de hojas por plántula (Figura 3.4 y Figura 3.5).



Figura 3.4 Planta entera de Trébol blanco y Raigrás perenne

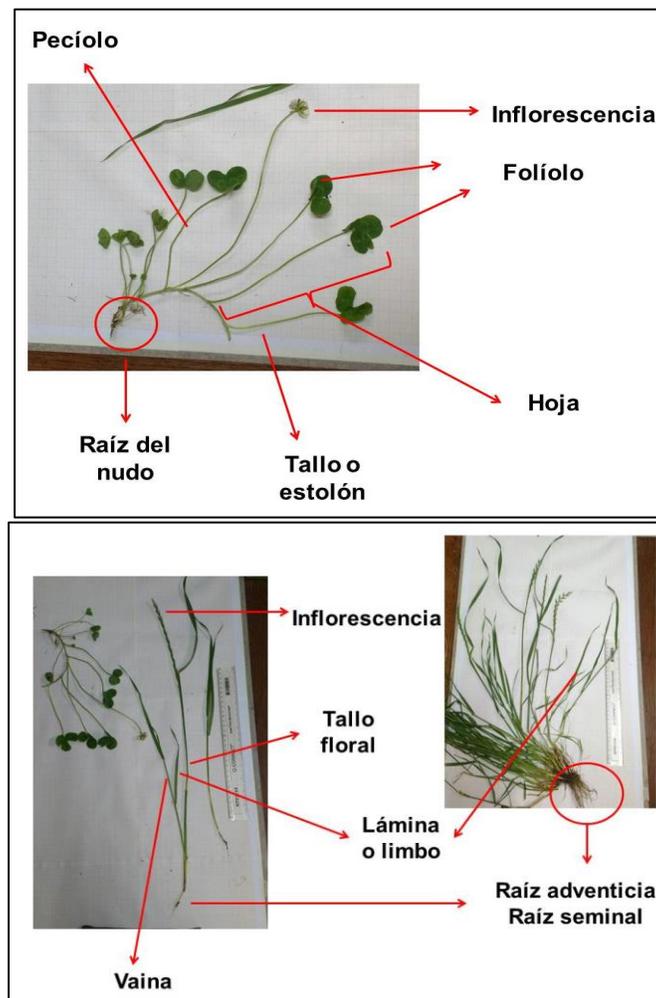


Figura 3.5 Morfología de las especies forrajeras Raigrás perenne (arriba); Trébol blanco (abajo) utilizadas en el ensayo de siembra.

A fin de determinar las concentraciones totales de los metales traza, los cortes de forraje fueron digeridos en plancha caliente utilizando una mezcla de HNO_3 y HClO_4 (3:1 v/v) (Zhao *et al.*, 1994). Todos los extractos se analizaron por espectrometría de emisión atómica (ICP-OES Optima 2000 DV). En todos los casos, los análisis fueron realizados por triplicado con un error relativo menor al 1 %. Así mismo, se utilizó material de referencia (spinach leaves, NIST 1570a) con porcentajes de recuperación de 90% para Cu y 70% para Zn.

Los valores obtenidos para producción de biomasa (en gr de MS), parámetros de crecimiento y concentración de Cu y Zn fueron analizados mediante estadística no paramétrica, ya que no pudo demostrarse la normalidad y homogeneidad de varianza

(Test Shapiro-Wilks $p < 0,05$). Los valores promedios obtenidos de todas las variables analizadas fueron analizados mediante una Prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias entre los diferentes tratamientos de fertilización utilizados. Se utilizó para el análisis estadístico el software INFOSTAT®.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Producción de biomasa y parámetros de crecimiento

Los nutrientes que necesitan las plantas para su crecimiento y desarrollo se toman del aire y del suelo. Si el suministro de nutrientes en el suelo es amplio, los cultivos probablemente crecerán mejor y producirán mayores rendimientos (FAO, 2002). Sin embargo, si aún uno sólo de los nutrientes necesarios es escaso, el crecimiento de las plantas es limitado y los rendimientos de los cultivos son reducidos. En consecuencia, a fin de obtener altos rendimientos, los fertilizantes son necesarios para proveer a los cultivos con los nutrientes del suelo que están faltando.

El uso de excretas provenientes de los diferentes sistemas de producción como fertilizantes orgánicos es una de las formas de disposición final de estos desechos más ampliamente utilizadas (Lory *et al.*, 2008). Las diferentes fuentes de abono orgánico son muy valiosas porque mejoran las condiciones del suelo en general. La materia orgánica aportada mejora la estructura del suelo, reduce la erosión del mismo, tiene un efecto regulador en la temperatura del suelo y le ayuda a almacenar más humedad, mejorando significativamente de esta manera su fertilidad (Chirinda *et al.*, 2010). Además, la materia orgánica es un alimento necesario para los organismos del suelo. Así mismo, la mineralización de los compuestos orgánicos a través de microorganismos del suelo permite la liberación de nutrientes (como el nitrógeno) que inicialmente no se encuentran totalmente disponibles (FAO, 2006).

Es debido a esto que se requiere la evaluación de los nutrientes disponibles en el estiércol, el cálculo de la tasa apropiada para proporcionar los nutrientes necesarios para el cultivo y la aplicación del estiércol de manera uniforme en todo el campo a fin de determinar el valor de la excreta como fertilizante (Schröder, 2005).

En la Figura 3.6 se muestra la masa foliar de raigrás perenne y de trébol blanco medida en gramos promedio de materia seca (MS) por maceta a los 30 días (C1) comparando las macetas fertilizadas en superficie con excretas intensivas (EI) y extensivas (EE) y los testigos sin fertilización.

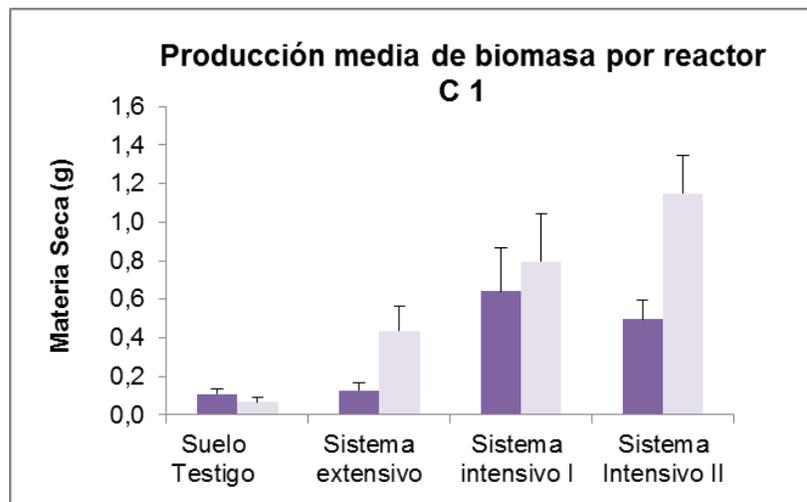


Figura 3.6 Producción promedio (en gr de MS) de biomasa producida de Raigrás Perenne y Trébol Blanco para macetas testigo y fertilizadas con excretas provenientes de SI y SE de producción al primer corte (C1). Barras de error representan el desvío estándar.

El contenido de materia seca (MS) obtenido al primer corte (C1) para raigrás perenne en las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción bovina (indicado en valores relativos) fue aproximadamente un 60% mayor al obtenido en macetas no fertilizadas. En macetas fertilizadas con excretas provenientes de SE de producción, los incrementos de MS obtenidos fueron sensiblemente menores, alcanzando valores relativos del 12% (Figura 3.6). Para trébol blanco, la producción de MS al primer corte obtenida para las macetas fertilizadas con excretas intensivas, superó más de un 100% a la producción de MS obtenida para los testigos sin fertilización, mientras que para las fertilizadas con excretas extensivas los incrementos determinados de MS sólo fueron del 60%.

El contenido de MS (en gramos) por maceta según los diferentes tratamientos efectuados para ambas especies forrajeras en ambos cortes (C1 y C2), fueron analizados mediante un análisis no paramétrico de la varianza (prueba Kruskal-Wallis). Los valores promedios obtenidos se encuentran reportados en el Cuadro 3.9. Al primer corte se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) para los gramos promedio de MS por maceta (para ambas especies forrajeras) entre aquellas fertilizadas con excretas provenientes de SI respecto de las fertilizadas con excretas extensivas y testigo sin fertilización. Así mismo, la diferencia entre los valores promedio de MS en testigos y macetas fertilizadas con

excretas extensivas no arrojó diferencias significativas ($p>0,05$) al igual que los valores promedio obtenidos para los recipientes fertilizados con excretas provenientes de los SI I y II. Esto se debe principalmente al similar contenido de N, P y MO de dichas enmiendas.

Enmienda Orgánica	Promedio de MS Raigrás (g)	Promedio de MS Trébol (g)
Suelo Testigo	0,1±0,03 a	0,07±0,02 a
Sistema extensivo	0,1±0,04 a	0,4±0,1 a
Sistema intensivo I	0,6±0,2 ab	0,8±0,3 ab
Sistema Intensivo II	0,5±0,1 ab	1,2±0,2 ab

Cuadro 3.9 Promedio de materia seca (MS) y desviación estándar (en g) producidos según el tratamiento de fertilización aplicado. Valores promedio con diferente combinación de letras presentaron diferencias significativas para la prueba de K-W (p -valor $<0,05$) con un nivel de significancia del 5%.

En la Figura 3.7 se muestran los valores promedio (en gramos de materia seca) de raigrás perenne y trébol blanco para macetas fertilizadas con excretas extensivas e intensivas y para los testigo a los 90 días (C2). Se observó para raigrás perenne un incremento en el % relativo de materia seca en las macetas fertilizadas con excretas provenientes de sistemas intensivos respecto al testigo sin fertilización y al control fertilizado con excretas extensivas sin adición de núcleo mineral (aproximadamente del 30%). Para trébol blanco, los incrementos obtenidos fueron similares (aproximadamente del 60%) para todas las macetas fertilizadas (tanto con excretas provenientes de SI como de SE) respecto del testigo sin fertilización.

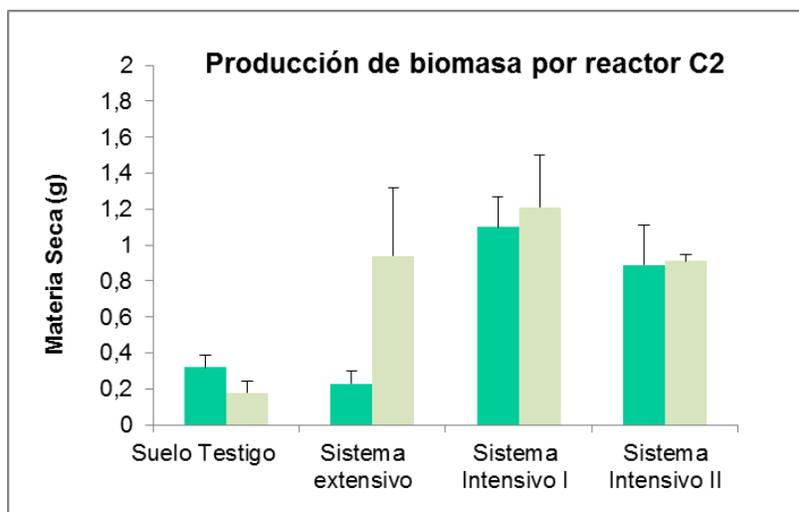


Figura 3.7 Promedio de MS de Raigrás perenne y Trébol blanco (en g) obtenidos para macetas testigo y fertilizadas con excretas extensivas e intensivas al segundo corte (C2). Barras de error representan la desviación estándar.

Los valores de biomasa foliar producida para raigrás perenne y trébol blanco, en gramos promedio de materia seca, para macetas sin fertilización y fertilizadas con excretas intensivas y extensivas al C2 se encuentran reportados en el Cuadro 3.10. Las pruebas de Kruskal Wallis para producción promedio de materia seca para raigrás perenne no arrojó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las macetas testigo y fertilizadas con excretas provenientes de SE. El análisis estadístico sólo arrojó diferencias significativas ($p < 0,05$) para los valores promedio de MS producida en las macetas fertilizadas con excretas provenientes del SI I respecto del testigo. Las pruebas de comparaciones de medias no arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización empleados. Para el trébol blanco, fueron significativas ($p < 0,05$) las diferencias obtenidas en la producción promedio de MS obtenida para macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI I y el testigo, no observándose diferencias significativas entre los restantes tratamientos de fertilización y de éstos respecto al testigo ($p > 0,05$).

Muestras	Promedio MS Raigrás (g)	Promedio MS Trébol (g)
Suelo Testigo	0,3± 0,1 a	0,2±0,1 a
Sistema extensivo	0,2±0,1	0,9±0,4
Sistema Intensivo I	1,1±0,2 a	1,2±0,3 a
Sistema Intensivo II	0,9±0,2	0,9±0,04

Cuadro 3.10 Promedio de materia seca y desviación estándar (en g) producidos según tratamiento de fertilización aplicado al segundo corte. Medias con igual letra presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para la prueba de K-W.

La respuesta positiva a la fertilización observada para ambos cortes efectuados se debe principalmente el aporte de macronutrientes, como carbono orgánico total, nitrógeno y fósforo de las excretas. Así mismo, la actividad microbiológica del suelo sobre la materia orgánica aportada por las excretas, promueve la liberación de formas de nitrógeno que no se hallan totalmente disponibles en las excretas, favoreciendo los rendimientos de cosecha y producción de biomasa (Olesen *et al.*, 2009). De igual forma, el mayor contenido de materia orgánica y micronutrientes de las excretas provenientes de SI podría explicar las diferencias encontradas en la producción de MS respecto a las macetas fertilizadas con excretas extensivas. Al comparar los resultados de ambas especies, se observa un menor crecimiento de trébol blanco respecto del raigrás para los testigos sin fertilización, debido principalmente a las altas exigencias de luz, temperatura y humedad de dicha leguminosa forrajera (Moot *et al.*, 2000). Sin embargo, el trébol blanco presentó una mejor respuesta a la fertilización con ambos tipos de excretas respecto del raigrás.

Se han efectuado numerosos estudios que analizan el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas (biosólidos, lodos de depuradora, excretas, compost) sobre el crecimiento de diversos tipos de plantas (tanto forrajeras como así también para consumo y ornamentales) (Korboulewsky *et al.*, 2002; Mohammad Rusan *et al.*, 2007; Moscuza *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2005; Zubillaga y Lavado, 2001). En todos los casos, se observó un incremento en la biomasa producida de aquellas plantas cultivadas en suelos fertilizados con diferentes sustratos respecto de los controles. Los mayores valores de biomasa total obtenidos para los tratamientos de fertilización aplicados en dichos trabajos se debieron principalmente al aporte de nitrógeno y fósforo y los nutrientes agregados con las diferentes tipos de enmiendas aplicadas. Así mismo, los aumentos en los rendimientos de

cosecha también pueden ser debido al efecto beneficioso del abono sobre la estabilidad de los agregados de la rizósfera, lo que podrían favorecer a la actividad de los microorganismos del suelo sobre los nutrientes aportados y a la mejora de la biomasa (Caravaca *et al.*, 2002).

Como se mencionó en la sección de materiales y métodos, al primer corte se efectuaron determinaciones no destructivas de los siguientes parámetros de crecimiento en ambas especies forrajeras implantadas: área foliar en mm² (sólo para trébol blanco; representándose los bordes sobre un papel milimetrado), altura en cm (desde la base del tallo al ápice del mismo), diámetro en mm a la altura de corte (sólo para raigrás), longitud de raíz en cm y cantidad de hojas por plántula. Los valores promedio para cada uno de los parámetros de crecimiento de raigrás analizados en las muestras de planta entera obtenidas al primer corte se muestran en la Figura 3.8

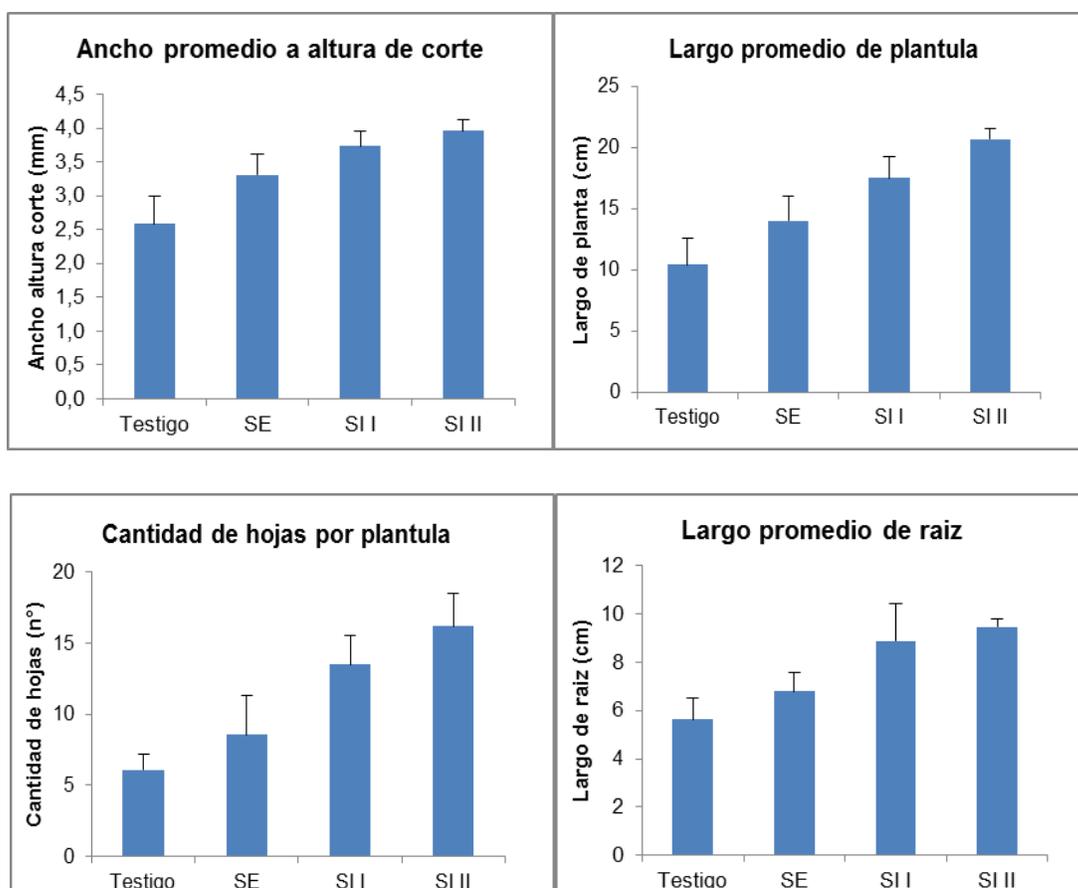


Figura 3.8 Parámetros de crecimiento evaluados sobre muestras de planta entera para raigrás perene según tratamiento al primer corte (C1). Barras de error representan la desviación estándar.

Todos los parámetros de crecimiento evaluados para los testigos (sin fertilización) y los distintos tratamientos de fertilización efectuados fueron sometidos a una prueba de Kruskal Wallis a fin de evaluar el efecto de la fertilización con diferentes tipos de excretas sobre la calidad y el crecimiento de ambas especies forrajeras.

Para raigrás perenne, el largo promedio de planta (en cm) mostró diferencias significativas entre las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI respecto de los testigos y macetas fertilizadas con excretas extensivas ($p < 0,05$). Así mismo, no se observaron diferencias significativas entre los testigos sin fertilizar y macetas fertilizadas con excretas extensivas (EE) obteniéndose valores de $p > 0,05$; como tampoco entre macetas fertilizadas con excretas provenientes de los SI I y II. Para el largo promedio de raíz (en cm) y el ancho promedio a la altura de corte (en mm), se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los testigo y macetas fertilizadas con las excretas provenientes de SI I y II. También se observaron diferencias significativas entre macetas fertilizadas con EE y las fertilizadas con excretas provenientes del SI II. No se observaron diferencias significativas para las macetas fertilizadas con excretas extensivas y los testigo ($p > 0,05$). Para la cantidad de hojas por plántula se observaron diferencias entre las fertilizadas con EI y el testigo no habiéndose encontrado diferencias significativas entre las fertilizadas con EE y los testigos, como así también entre los diferentes tratamientos de fertilización empleados.

Los valores promedio para cada uno de los parámetros de crecimiento de trébol blanco analizados en las muestras de planta entera obtenidas al primer corte se muestran en la Figura 3.9:

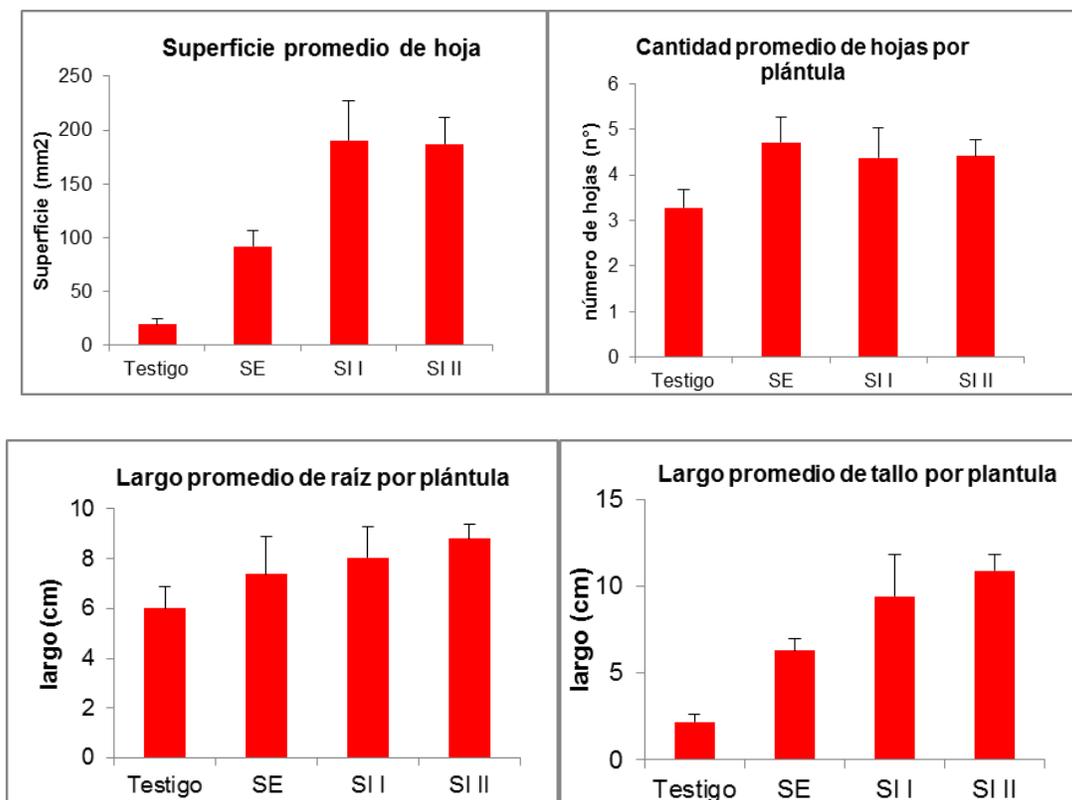


Figura 3.9 Parámetros de crecimiento evaluados sobre muestras de planta entera para trébol blanco según tratamiento al primer cote (C1). Barras de error representan la desviación estándar.

Para trébol blanco, la prueba de Kruskal Wallis aplicada sobre el largo promedio de raíz determinado para los testigo y macetas fertilizadas con excretas extensivas e intensivas no arrojó diferencias significativas ($p=0,0752$). Tanto para cantidad de hojas y largo promedio de tallo (en cm) se observaron diferencias significativas entre las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI y el testigo sin fertilización, mientras que no se observaron diferencias con $p>0,05$ entre los testigo y aquellas fertilizadas con EE como así también entre los diferentes tratamientos de fertilización empleados. Para la superficie promedio de hoja (mm^2), se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los testigo y macetas fertilizadas con las excretas provenientes de SI I y II. También se observaron diferencias significativas entre macetas fertilizadas con EE y las fertilizadas con excretas provenientes del SI I. No se observaron diferencias significativas para macetas fertilizadas con excretas extensivas y los testigo sin fertilización ($p>0,05$).

Existen estudios que evalúan la capacidad de captación y acumulación de metales traza en especies ornamentales de plantas o especies destinadas al consumo humano fertilizadas con lodos de aguas residuales provenientes de actividades industriales. Dichos estudios centran su análisis en los efectos de fertilización sobre los diversos parámetros de crecimiento y calidad que afecten su producción y/o venta. Singh y Agrawal (2007) evaluaron el efecto de diferentes tasas de aplicación de lodos de depuradora sobre las características fisiológicas y de rendimiento de plantas de *Beta vulgaris sp.* En este estudio la aplicación de lodos de depuradora a los suelos generó la reducción de las longitudes del tallo y la raíz, el número de hojas y el área foliar de las plántulas analizadas en comparación con las cultivadas en suelos no enmendados. Dichos autores concluyeron que el estrés causado por la aplicación de lodos de depuradora con altos niveles de metales pesados en el medio ambiente del suelo, produjeron una reducción en el crecimiento de las plantas, una disminución de la acumulación de biomasa y del rendimiento durante el presente estudio.

Grigatti *et al.* (2007) evaluaron el comportamiento agronómico de diversas especies ornamentales anuales cultivadas en un compost producido a partir de residuos lignocelulósicos, aguas residuales y lodos de depuradora de una planta de procesamiento de alimentos. Los efectos sobre el crecimiento de las plantas estuvieron estrechamente relacionados con las especies de plantas utilizadas en los ensayos y la cantidad de compost agregado en los medios de cultivo. Obtuvieron respuestas variables respecto de los diversos parámetros analizados sobre las plantas a los tratamientos de compost aplicados, dependiendo de la especie, el origen y la cantidad de abono orgánico utilizado. Los autores concluyeron que hubo un efecto beneficioso sobre el crecimiento de las plantas utilizando dosis moderadas (hasta 30%) de compost en las mezclas.

Korboulewsky *et al.* (2002) estudiaron los efectos de un compost de lodos de depuradora en la nutrición mineral, crecimiento dinámico y fenología de las especies silvestres de *Brassica*, comunes en áreas mediterráneas: *Diplotaxis eruroides L.* Dichos autores observaron que las plantas cultivadas en los suelos donde se aplicó compost modificaron un sistema proporcionalmente más grandes de la raíz, lo que se debe a la mejoras de las características físicas del suelo (McConnell *et al.*, 1993) que facilitan el crecimiento de raíces y la penetración en el suelo. La fertilización aumentó el área foliar desde los 46 días después de la germinación hasta el final del ciclo biológico. Las plantas

en los tratamientos de fertilización y de compost tenían el doble de inflorescencias por planta respecto al control, mientras que el número de flores por inflorescencia fueron similares. Los aumentos del rendimiento de las semillas, los incrementos en la biomasa y los mejores valores obtenidos para los parámetros morfológicos en los reactores fertilizados con el compost se debieron principalmente al aporte de nutrientes de dichas enmiendas orgánicas.

Así mismo, estudios utilizaron diversas especies de plantas a fin de evaluar la capacidad de fitoremediación de suelos con altas concentraciones de metales traza, debido a las aplicaciones sucesivas de lodos industriales. En este sentido, Bharagava *et al.* (2008) evaluaron el potencial de la planta de la mostaza india (*Brassica nigra* L.) para absorber y acumular varios elementos traza (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni y Zn) en sus partes superiores y subterráneas y su efecto sobre los parámetros bioquímicos, debido a que la respuesta bioquímica de la planta a la presencia de elementos traza es una manifestación de daño de tejido/célula (Haag-Kerwer *et al.*, 1999). Los parámetros de crecimiento evaluados en las plantas ensayadas (*Brassica nigra* L.) por los autores fueron: longitud de la raíz, longitud de brotes y número de hojas. Aquellos suelos que recibieron un porcentaje superior al 50% (volumen de suelo / volumen de efluente de destilería como enmienda orgánica), demostraron una disminución significativa en los valores de los parámetros morfológicos evaluados respecto a las plantas control. El aumento máximo de longitud de la raíz y del tallo, el número de hojas y el peso seco total producido se registraron en las muestras de planta de mostaza que fueron fertilizados con una aplicación del 50% (v/v) del efluente. Por otra parte, las plantas de mostaza tratadas con 75% (v/v) de efluente, mostraron inicialmente un crecimiento vigoroso, pero a posteriori, se observó una reducción del crecimiento de las plantas, un retardo en la floración y la fructificación en comparación con el control. La aplicación de una mayor concentración de dicha enmienda en los suelos agrícolas pudo dar como resultado un aumento en el pH y la conductividad eléctrica, lo que afectó adversamente el crecimiento de plantas de mostaza. La reducción en los parámetros de crecimiento de las plantas a un mayor contenido podría ser también debido a la entrada de elementos traza potencialmente tóxicos en el protoplasma resulta en la pérdida de los metabolitos intermedios, que son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estos resultados se corroboraron en gran medida con los resultados reportados anteriormente (Alia *et al.*, 1995). Al mismo tiempo, una mayor

biomasa promedio por reactor se observó con la aplicación de hasta un 50% (v/v) de la concentración del efluente frente al control.

Zubillaga y Lavado (2001) evaluaron los efectos de mezclas de sustratos en diferentes proporciones de compost de biosólidos en el crecimiento y rendimiento para dos plantas, *Petunia hybrida* y *Vinca* sp. En este sentido, encontraron mejoras en todos los parámetros de crecimiento evaluados cuyo se utiliza un sustrato de cultivo conformado por 25 a 75% de compost+suelo.

En especies forrajeras destinadas al ganado bovino no se han reportado datos respecto de la variación de los parámetros de crecimiento de dichas especies de acuerdo al uso de fertilizantes orgánicos. Del análisis efectuado en éste estudio se desprende que, para ambas especies analizadas, el incremento de MS por maceta se encuentra acompañado por un aumento en los valores promedio de todos los parámetros de crecimiento tomados sobre las muestras de planta entera al primer corte en macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción respecto a los testigos sin fertilización. Como puede desprenderse de lo anterior, algunos resultados revelan una mejora en los parámetros de crecimiento (área foliar, superficie, longitud de tallo y raíz, producción de biomasa) a bajos porcentajes de aplicación de éstas enmiendas orgánicas. Esto se encuentra relacionado con los cambios de pH, conductividad eléctrica y la modificación en la biodisponibilidad de los nutrientes inducidos por la aplicación de diferentes enmiendas orgánicas en los suelos, como así también con la especie vegetal utilizada en los ensayos (Moreno-Caselles *et al.*, 1997). En contraste a esto, también se desprende de la revisión bibliográfica que con altos porcentajes de aplicación de enmiendas o largos períodos de aplicación de las mismas, la presencia de metales pesados y su incremento en la incorporación por las plantas pueden inducir cambios tóxicos generando una marcada disminución de dichos parámetros (Alia *et al.*, 1995).

3.3.2. Concentración de cobre y zinc en forrajes

Los principales proveedores de minerales en los sistemas de producción pastoril en Argentina son los forrajes y el agua de bebida animal. Una alternativa al uso de suplementos minerales a fin de corregir carencias de los mismos, es la fertilización de dichos forrajes con enmiendas orgánicas enriquecidas en elementos traza. Como se vio en capítulos anteriores las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción

presentan altas concentraciones de Cu y Zn; asimismo aportan formas biodisponibles de dichos micronutrientes que podrían ser fácilmente asimiladas por los forrajes. De esta manera, los forrajes enriquecidos aportarían micronutrientes a los animales que los consuman.

En el Cuadro 3.11 se encuentran las concentraciones totales (en $\mu\text{g/g}$) obtenidas al primer corte para raigrás perene y trébol blanco para macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI y SE y macetas testigo sin fertilización.

	Raigrás Perenne		Trébol Blanco	
	Cu	Zn	Cu	Zn
Testigo s/fertilización	5,2 \pm 0,6	67,6 \pm 14,3	3,0 \pm 2,8	45,7 \pm 20,9
Excretas Sistema Extensivo	9,7 \pm 2,5	93,0 \pm 56,3	1,7 \pm 0,5	15,7 \pm 8,8
Excretas Sistema intensivo I	14,1 \pm 1,8	87,5 \pm 15,8	14,6 \pm 1,5	84,1 \pm 12,1
Excretas Sistema Intensivo II	12,5 \pm 6,5	80,4 \pm 41,1	11,4 \pm 0,7	75,2 \pm 10,0

Cuadro 3.11 Concentraciones totales de Cu y Zn (en $\mu\text{g/g}$) en la biomasa foliar obtenidas al primer corte (C1) para Raigrás perenne y Trébol Blanco.

Para raigrás perenne, las concentraciones promedio obtenidas de Cu y Zn para las macetas fertilizadas con excretas intensivas son mayores que las concentraciones obtenidas para ambos metales en testigos sin fertilización. Esto indicaría una tendencia al incremento del contenido de metales traza en macetas fertilizadas con excretas intensivas para esta especie. En el caso de las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SE de producción, para Cu las concentraciones obtenidas fueron menores respecto al testigo y las macetas fertilizadas con excretas intensivas, mientras que para el Zn las concentraciones halladas fueron similares para los tres tratamientos empleados y mayores al testigo. Para evaluar las diferencias estadísticas entre las concentraciones promedio de Cu y Zn según los tratamientos de fertilización empleados y el testigo, se efectuó una prueba de Kruskal Wallis. Los resultados obtenidos no arrojaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tratamientos empleados. Esto podría deberse al uso de un número (n) de réplicas bajo lo que no permite evidenciar diferencias visibles

mediante el análisis estadístico aplicado. Los p valores obtenidos fueron marginales (0,1065) de modo tal que las diferencias podrían evidenciarse al incrementar el número de macetas por tratamiento aplicado. Si bien no pueden evidenciarse las diferencias entre los tratamientos aplicados estadísticamente, se puede observar una tendencia de incremento de las concentraciones de Cu y Zn en las plantas para las macetas fertilizadas con excretas intensivas respecto los testigos sin fertilización (Figura 3.10).

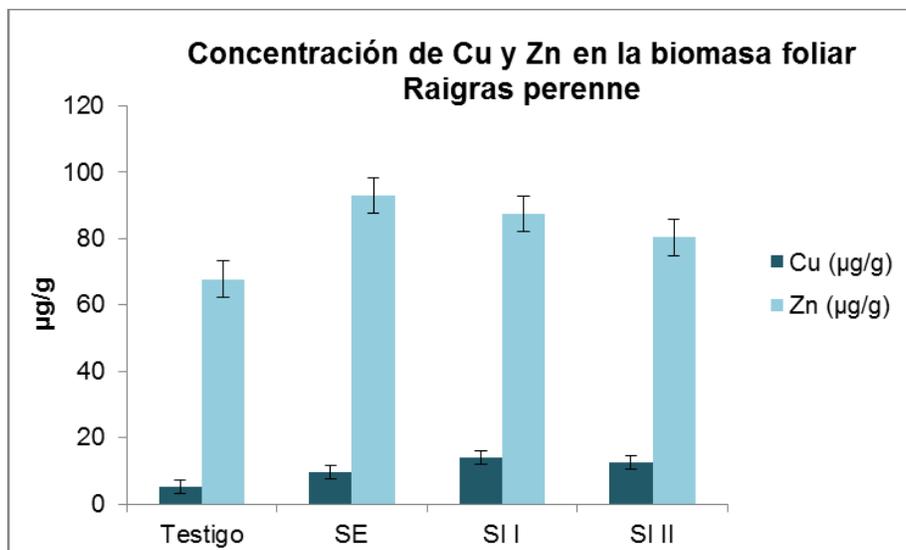


Figura 3.10 Concentración promedio de Cu y Zn en µg/g determinadas en la biomasa foliar de Raigrás perenne, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados. SE: excretas provenientes de sistemas extensivos de producción. SI: excretas provenientes de sistemas intensivos de producción.

Debido a la variación obtenida en gramos de MS por reactor al primer corte para trébol blanco, se aplicó un análisis de la covarianza (ANCOVA, con los gramos de MS por reactor como co-variable) a fin de evaluar el efecto del contenido de MS por maceta (en g) en la concentración de Cu y Zn obtenida en la biomasa aérea. El contenido de MS (en g) presentó correlación significativa ($p < 0,05$) sobre las concentraciones de Cu y Zn en la biomasa foliar. Para esta especie forrajera, los valores promedios de Cu y Zn obtenidos al primer corte para las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción fueron mayores respecto a los obtenidos para los testigos y macetas fertilizadas con excretas extensivas. Del análisis no paramétrico de la varianza aplicado sobre las concentraciones promedio de Cu y Zn para cada tratamiento, se obtuvieron diferencias

significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones promedio de Cu para las macetas fertilizadas con excretas intensivas respecto el testigo y aquellas fertilizados con excretas extensivas. Así mismo, no se observaron diferencias significativas entre los valores promedio de Cu para las macetas fertilizadas con excretas extensivas y los testigo sin fertilización, como así también entre excretas intensivas utilizadas (SI I y SI II). Para las concentraciones promedio de Zn, sólo se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las macetas fertilizadas con excretas extensivas y aquellas fertilizados con excretas provenientes de SI II respecto al testigo sin fertilización. .

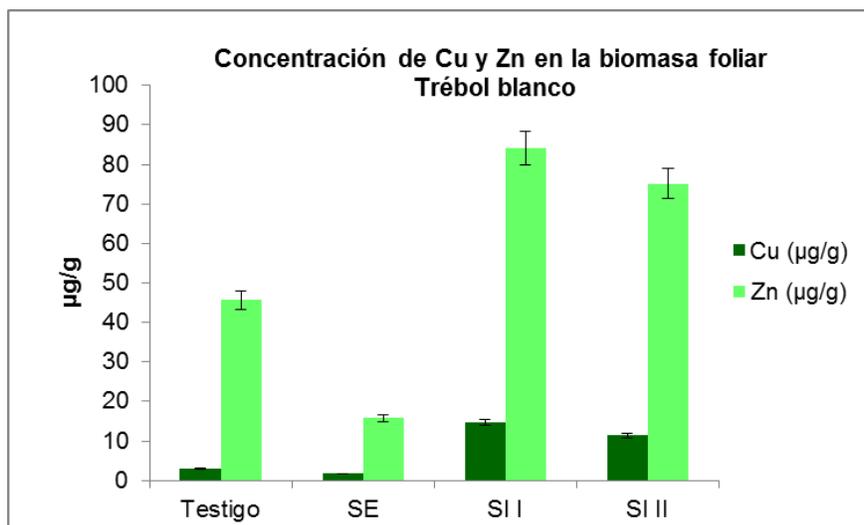


Figura 3.11 Concentración promedio de Cu y Zn en $\mu\text{g/g}$ determinadas en la biomasa foliar de Trébol blanco, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados. SE: excretas provenientes de sistemas extensivos de producción. SI: excretas provenientes de sistemas intensivos de producción.

Para su normal crecimiento los forrajes tienen requerimientos relativamente bajos de Cu (5 a 20 mg/kg), < de 4 mg/kg es considerado deficiente y más de 20 mg/kg es considerado tóxico para algunos cultivos (Jones, 1991). Estudios realizados encontraron una concentración media de 8,4 mg/kg de Cu en leguminosas con un rango de (8-20 mg/kg) mientras que en las gramíneas fue menor la media (1-16 mg/kg) (Kubota 1983; Davis *et al.*, 1978). A nivel nacional, se ha reportado un rango de concentraciones de 3,8 a 8,5 mg/kg de Cu en pasturas y praderas de la provincia de Buenos Aires (Lavado, 2006). En nuestro estudio, las concentraciones promedio halladas para los reactores testigo sin fertilización estuvieron sobre el límite inferior en el caso de raigrás (5,21 $\mu\text{g/g}$) y por

debajo del rango considerado normal en la literatura para trébol blanco (3,04 $\mu\text{g/g}$). Para las macetas fertilizadas, las mayores concentraciones de Cu se obtuvieron en aquellas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción bovina respecto del testigo sin fertilización y aquellas fertilizadas con excretas provenientes de SE sin adición de núcleo mineral. En este último caso las concentraciones obtenidas fueron similares a las macetas testigo.

El rango de valores normales de Zn en forrajes está definido entre 25 y 150 mg/kg; plantas con contenidos de Zn menores a 20 $\mu\text{g/g}$ (en base seca) se consideran deficientes. En nuestro país Lavado (2006) menciona niveles de Zn de 35,6 a 42,5 en praderas y de 27,7 a 32,4 mg/kg en pasturas implantadas. En nuestro trabajo, las concentraciones de Zn halladas para el C1 en los reactores testigo sin fertilización se encontraron dentro de los rangos considerados normales para dicho metal en ambas especies forrajeras utilizadas para el ensayo (trébol blanco: 45,65 mg/kg; raigrás perenne: 67,75 mg/kg). Se observó un incremento de las concentraciones de Zn para ambas especies forrajeras utilizadas en aquellas macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción animal, obteniéndose mejores respuestas en el caso del trébol blanco respecto del raigrás.

Las características químicas y la concentración de elementos traza en las excretas provenientes de SI y en el suelo afectan directamente la captación de dichos elementos traza por las plantas. El aporte de formas biodisponibles a partir de la aplicación de dichas matrices como así de formas orgánicas puede afectar de forma variable el contenido de metales en las plantas (Logan *et al.*; 1997 Leita *et al.* 1999). En nuestro estudio, los resultados obtenidos del fraccionamiento secuencial efectuado previamente sobre el suelo base, descriptos en profundidad en el capítulo 2; mostraron que el Cu no se encontraba en formas biodisponibles para las plantas mientras que para el Zn el suelo aportaba un porcentaje bajo de formas biodisponibles de dicho metal (Zn-INT: 0,6%). Al efectuarse un cálculo del porcentaje de metal biodisponible aportado por las excretas a cada maceta en función de la tasa de fertilización, se obtuvieron valores de Cu del 100% y del Zn de alrededor de un 20% de aporte de las excretas para ambos SI muestreados. Las mayores concentraciones totales de Cu y Zn en las excretas provenientes de SI como así también el aporte de formas biodisponibles de dichos micronutrientes, podrían explicar las

mayores concentraciones obtenidas para las macetas fertilizadas con dichas excretas en ambas especies forrajeras.

Se han efectuado varios estudios que evalúan la variación en la concentración de Cu, Zn y otros oligoelementos en diferentes especies forrajeras que han sido fertilizadas con enmiendas orgánicas y otros residuos industriales. Russan *et al.* (2007) evaluó el impacto de la aplicación de aguas residuales durante largos períodos de tiempo sobre la posible acumulación de metales en el sistema suelo-planta utilizando cebada. Los resultados indican que los contenidos de Cu y Zn en la planta fueron los más altos en las muestras de cebada que fueron cultivadas en suelos fertilizados con aguas residuales tras dos años de aplicación. Mosquera-Losada *et al.* (2001) evaluó el efecto de aplicación de diferentes dosis de lodos de depuradora a una mezcla de pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) y trébol (*Trifolium repens*), sobre la producción de materia seca, la composición botánica de la pradera, la calidad del forraje, y los cambios en las propiedades químicas del suelo. Así mismo evaluó la concentración de Cu y Zn en los forrajes tras la aplicación de dichos lodos en diferentes tasas de fertilización encontrando un incremento de las concentraciones de ambos metales en aquellas parcelas que recibieron tratamiento al primer corte, el cual se realizó al año y medio de efectuada la siembra de la pastura. La concentración de Cu en los forrajes para este trabajo estuvo ligada ampliamente a una disminución del pH del suelo tras la aplicación de dichos lodos como fertilizantes orgánicos, ya que la solubilidad de dicho metal en suelos ácidos es mayor. Korboulewsky *et al.* (2002) evaluó el efecto de la aplicación de un compost de desechos con altos contenidos de metales sobre la capacidad hiper-acumuladora de metales de *Diplotaxis erucoides* L. Los reactores tratados con compost mostraron pequeñas diferencias en las concentraciones de Cu y Zn respecto a los reactores testigos, obteniéndose para cobre mayores valores en la raíz respecto del tallo y las hojas. La baja respuesta a la fertilización para Cu se atribuyó a la baja solubilidad del metal en las condiciones del suelo que se utilizó en la experiencia. Así mismo, el Zn mostró mejores respuestas a la fertilización debido principalmente a su baja afinidad por la materia orgánica y la presencia en mayores formas biodisponibles respecto otros metales analizados. En nuestro estudio, el análisis resultó similar a lo recién expuesto para las concentraciones de Cu y Zn en las hojas, no habiéndose analizado todas las partes de las plantas debido a la importancia de la biomasa aérea en la alimentación para el ganado en pastoreo. Pascual *et al.* (2004) analizaron el efecto del déficit hídrico sobre la biodisponibilidad de metales pesados en

suelos enmendados con altas dosis de un compost rural. En aquellos suelos enmendados que no fueron sometidos a stress hídrico, se obtuvieron mayores concentraciones de todos los metales analizados en los brotes y las raíces de las plantas de *Lolium Multiflorum*, especie utilizada para dicha experiencia. De igual forma, las mayores concentraciones fueron encontradas en las raíces, debido a la contaminación del suelo, precipitación o adsorción de los metales en la superficie de la raíz y/o a una estrategia específica de la planta para el almacenamiento y la inactivación de elementos tóxicos acumulados en las paredes celulares de las raíces. Mantovi *et al.* (2003) evaluaron el grado de contaminación con cobre y zinc de los suelos sometidos a diferentes niveles de fertilización con estiércol líquido; y las concentraciones de cobre y zinc en los tejidos comestibles de los tres cultivos (maíz, remolacha azucarera y alfalfa) obtenidas en dichos suelos fertilizados. Para las diferentes especies vegetales analizadas, encontraron una gran variabilidad en las concentraciones de Cu y Zn en respuesta a la fertilización con excretas líquidas. La absorción de zinc fue mayor que la captación de cobre para cada cultivo examinado. Las concentraciones de cobre y zinc en la biomasa aérea de las plantas de alfalfa fueron considerablemente más altas que las que se encontraron en las semillas de maíz y raíces de remolacha azucarera. Esto era de esperarse debido a la mayor absorción de metales mostrada por las leguminosas (Clarkson y Hanson, 1980). Sin embargo, la tendencia a la acumulación de metales pesados en los suelos tras aplicaciones sucesivas de estiércol no se corresponde con una tendencia similar en las plantas cultivadas en ellos. La biodisponibilidad reducida de cobre y zinc en los suelos de la muestra podría depender de factores edafológicos, tales como el pH del suelo (> 7,5 para todas las muestras), la textura, la composición química, y el contenido de materia orgánica, lo que podría limitar su solubilidad y movilidad. Shober *et al.* (2007) analizaron la correlación entre las diferentes fracciones geoquímicas de varios elementos traza (Cr, Cu, Zn y Ni) en suelos (tras dos años consecutivos de aplicación de biosólidos provenientes de granjas) obtenidas a partir de un procedimiento de extracción secuencial (procedimiento de fraccionamiento secuencial BCR). Así mismo, evaluaron la correlación entre dichas fracciones y las concentraciones de dichos elementos traza en los tejidos de diversas especies forrajeras: soja (*Glycine max* Merr.), alfalfa (*Medicago sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.), y pasto sudán (*Sorghum bicolor* L.). A partir de los resultados obtenidos, no se encontró una correlación entre las fracciones operacionalmente definidas a partir del procedimiento de extracción secuencial y la

acumulación de metales en los tejidos de las diferentes especies forrajeras utilizadas en el ensayo en suelos fertilizados con bajas tasas de aplicación de Cu (38 kg ha^{-1}) y Zn (48 kg ha^{-1}). Sin embargo, en los sitios que fueron tratados con altas tasas de aplicación de biosólidos, las concentraciones de Cu y Zn en los tejidos para pasto ovillo y pasto sudán, fueron mayores cuyo los cultivos se hicieron crecer en suelos enmendados con biosólidos, encontrándose correlaciones positivas entre éstas y las concentraciones de Cu y Zn en las fracciones de suelo. Estos resultados demuestran que el fraccionamiento secuencial químico del suelo puede detectar aumentos en las fracciones más lábiles Cu y Zn, relacionándose con el aumento de la fitodisponibilidad. Ahumada *et al.* (2009) evaluaron la biodisponibilidad de Zn y Cu en suelos chilenos enmendados con lodos de depuradora estabilizados, a través de un procedimiento de extracción secuencial y establecieron su relación con el contenido de estos metales en los tejidos de raigrás (*Lolium perenne* L.) y trébol subterráneo (*Trifolium subterraneum* L.) cultivados en invernadero. Se encontraron mayores concentraciones de ambos metales en las raíces de las plantas que crecieron en suelos enmendados con biosólidos, siendo mayor la tasa de absorción de Zn por las plantas respecto del cobre. El incremento de los niveles de Zn tanto a nivel radicular como en los brotes obtenidos para ambas especies se halló relacionado con la mayor concentración de dicho metal en los suelos enmendados respecto del control como así también al incremento de fracciones lábiles de zinc encontradas en dichos suelos fertilizados. Dichos autores concluyeron que las plantas de raigrás mostraron una mayor absorción de los dos metales, concentrándose en su mayoría en la raíz de ambas especies. Para raigrás, la captación de zinc fue mayor que la de trébol en suelos enriquecidos con dichos lodos de depuradora. Así mismo, en dicho trabajo se pudo establecer una correlación entre la concentración de zinc en los brotes y la raíz con las fracciones intercambiables, unida a carbonatos y formas de metal unidas a oxi-hidróxidos de hierro y aluminio en los suelos enmendados. Mendoza *et al.* (2006) evaluaron el efecto de la aplicación de dos tipos de lodos en la disponibilidad de metales pesados y la absorción de metales por las plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) que crecen en suelos con alto y bajo contenido de cobre. En este estudio a diferencia de otros trabajos, la aplicación de enmiendas orgánicas provocó una menor concentración en las hojas de las plantas de sorgo obtenidas respecto el control, a pesar del mayor porcentaje de fracción lábil de dicho metal en los suelos enmendados determinada a través de la extracción secuencial; con una gran acumulación de dicho metal en las

raíces. Para el Cu, los niveles encontrados para cada uno de los tratamientos aplicados no mostraron diferencias significativas respecto de los suelos control, obteniéndose concentraciones similares en las hojas de las plantas. A su vez, tampoco hubo correlación entre el Cu extractable y la concentración en las plantas. En este caso, los autores explican este hecho por la homeostasis del cobre a nivel célula vegetal, un efecto que ha sido ampliamente demostrado en varias especies de plantas (Cobbett y Goldsbrough, 2002).

A nivel nacional, son pocos los estudios efectuados sobre los efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas sobre la concentración de elementos traza en especies forrajeras. Como antecedentes en nuestro laboratorio, Moscuzza *et al.* (2012) realizaron ensayos de siembra de raigrás perene en macetas, utilizando suelos deficientes de micronutrientes, a fin de evaluar la eficacia del enriquecimiento de forraje a través de la fertilización con excretas compostadas. Para ello, excretas provenientes de bovinos sin suplementación mineral fueron compostadas con soluciones de concentración creciente de CuSO_4 y ZnSO_4 (SN1: 7,5 mg / L de Cu y 60 mg / L de Zn, SN2: 25 mg / L de Cu y 200 mg / L de Zn, y SN: 50 mg / L de Cu y 400 mg / L de Zn) durante 15 días. Se efectuó siembra y posterior fertilización (superficial y por homogeneización), realizando cortes de la biomasa aérea a los 30 y 60 días posteriores a la siembra. Los resultados evidenciaron diferencias en las concentraciones de Cu y Zn entre los reactores fertilizados y no fertilizados. No se observaron diferencias en las concentraciones halladas de Cu y Zn considerando la metodología de fertilización (homogeneización o superficial). Se observó un enriquecimiento en Cu y Zn para las muestras de forraje obtenidas de a partir de las soluciones más concentradas y los niveles obtenidos en raigrás estuvieron por encima del límite de la deficiencia reportado en la literatura.

Torri y Lavado (2009) investigaron la relación entre la absorción de Cd, Cu, Pb y Zn para *Lolium perenne* L. en suelos enmendados con lodos de depuración de aguas residuales y las diferentes fracciones geoquímicas de los metales en dichos suelos enmendados a través de un método de extracción secuencial. Para el Cu, los autores no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos empleados respecto del control para las concentraciones en la biomasa aérea, mientras que el para Zn al primer corte se obtuvieron incrementos significativos de las concentraciones de Zn en la biomasa aérea de Raigrás en aquellos reactores fertilizados respecto el testigo. Los autores

correlacionan este hecho con el aporte de formas biodisponibles en los suelos enmendados respecto al testigo. La concentración de Zn en las plantas al primer corte se halló significativamente correlacionada con la fracción soluble o intercambiable de dicho metal en suelos. En el caso del cobre, la mayor proporción de metal se encontró como fracción residual (inmóvil) para todos los tratamientos probados, hecho que podría explicar las no diferencias encontradas según los tratamientos empleados. Así mismo, la absorción de Cu por las plantas está ampliamente relacionada con el contenidos de arcillas (a las cuales el Cu presenta alta afinidad para su adsorción en sitios específicos) y materia orgánica debido a la formación de complejos de unión. Así mismo, la concentración de estos elementos en el tejido aéreo considerando los umbrales especificados por el Consejo Nacional de Investigación (NRC, 1984), sugiere que el consumo de *L. perenne* crecido en suelos fertilizados con lodos no supondría ningún riesgo para los animales que pastan.

Como se observa en el Cuadro 3.12, al segundo corte las concentraciones de Cu determinadas en la biomasa foliar para raigrás perenne no presentaron diferencias entre las macetas fertilizadas respecto a los controles sin fertilización; mientras que para trébol blanco hubo un pequeño incremento de las concentraciones de dicho metal para macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI respecto los controles. En el caso del zinc, para raigrás se observó una pequeña disminución de la concentración de dicho metal en la biomasa foliar en macetas fertilizadas con excretas intensivas respecto el testigo sin fertilización; mientras que para el trébol se observó igual tendencia que para el Cu. El análisis estadístico efectuado (Prueba de Kruskal Wallis, análisis no paramétrico de la varianza) sobre las concentraciones promedio de Cu y Zn para cada uno de los tratamientos efectuados, no reveló diferencias significativas ($p > 0,05$) en ninguno de los casos.

Tratamiento	Raigrás Perenne		Trébol Blanco	
	Cu	Zn	Cu	Zn
Testigo s/fertilización	12,0±3,3	86,4±31,0	6,3±3,4	41,6±13,8
Excretas Sistema Extensivo	11,5±4,6	71,4±24,9	8,9±2,5	55,9±0,6
Excretas Sistema intensivo I	12,0±6,3	56,1±31,3	9,7±0,7	67,2±19,1
Excretas Sistema Intensivo II	10,0±3,9	53,5±22,7	10,4±3,9	53,0±25,0

Cuadro 3.12 Concentraciones totales de Cu y Zn (en $\mu\text{g/g}$) en la biomasa foliar obtenidas al primer corte para Raigrás perenne y Trébol Blanco al segundo corte (C2).

De modo tal que podría considerarse que el agregado de excretas provenientes de SI y SE de producción bovina no ejerce ningún efecto sobre la concentración de los metales traza analizados respecto a los testigos sin fertilización (Figura 3.12 a y b).

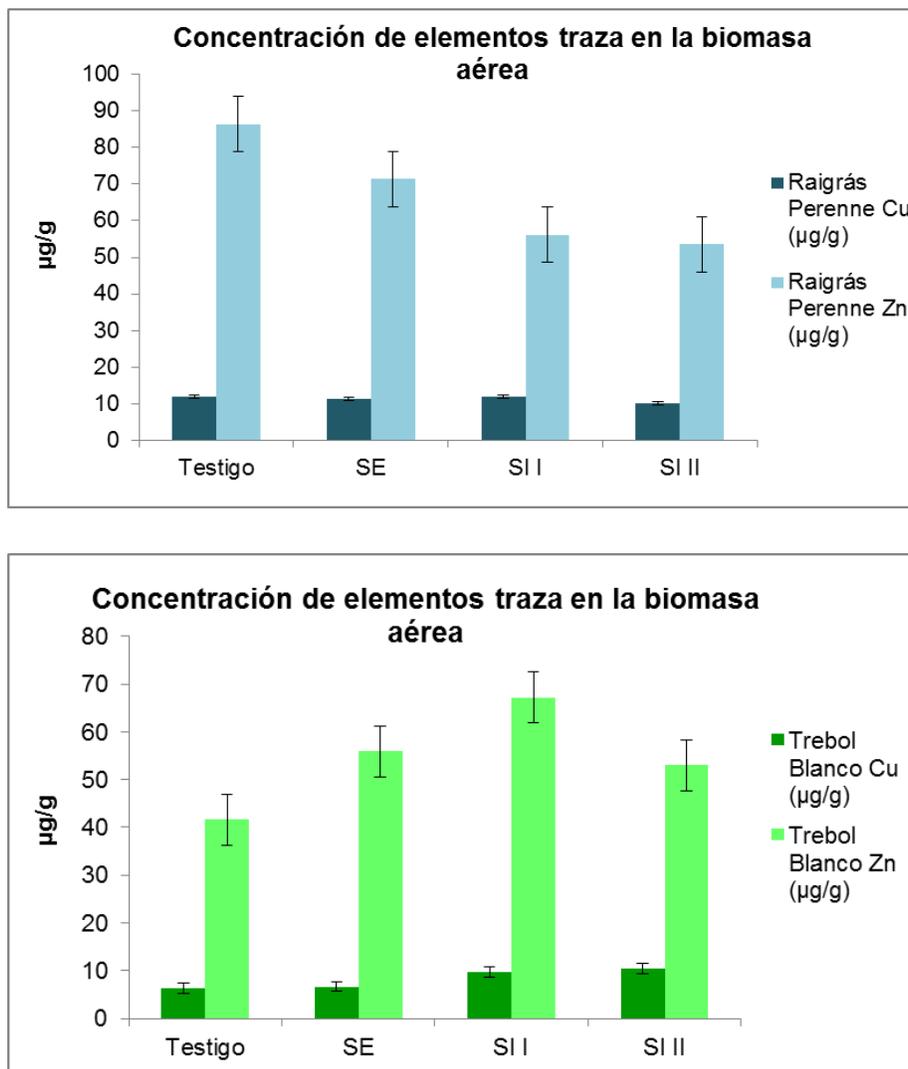


Figura 3.12 a) y b) Concentración (en $\mu\text{g/g}$) de Cu y Zn determinada en la biomasa aérea foliar para Raigrás perenne y Trébol blanco, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados, al segundo corte (C2).

Cuando se comparan los valores de Cu y Zn para cada tratamiento a través de los cortes efectuados (C1-C2) se observa una disminución de la concentración de Cu y Zn en las macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción animal al segundo corte (90 días) respecto a las macetas fertilizantes con dichas excretas al C1 para ambas especies forrajeras utilizadas en el ensayo. Así mismo, para comparar los resultados obtenidos para cada metal analizado al C1 y C2, se efectuó una prueba de Wilcoxon para

muestras apareadas, a fin de comparar las concentraciones promedio de Cu y Zn para cada tratamiento en los dos tiempos en los que se efectuaron los cortes de forraje. Las pruebas no arrojaron diferencias significativas entre las concentraciones halladas al C1 para cada tratamiento respecto las obtenidas al C2 en ambas especies forrajeras. Esto indicaría que si bien al primer corte se observa una tendencia al incremento de las concentraciones de Cu y Zn en aquellas macetas fertilizadas con excretas provenientes de SI de producción, las cuales poseen altas concentraciones totales de dichos metales y con mayores porcentajes de formas biodisponibles para las plantas; no habría una variación en la concentración en la biomasa foliar del forraje entre el C1 y el segundo corte.

La biodisponibilidad de elementos traza para las plantas se rige por un pseudo-equilibrio entre la fase acuosa y la fase sólida del suelo, y no por el contenido total de metales en dicha matriz. Las plantas consideradas como hiperacumuladoras son conocidas por su extraordinaria capacidad de absorción de metal, pero, incluso para estas plantas, la absorción de metales y, por tanto, la cantidad total de metal extraído depende de la disponibilidad de metal en el suelo (McGrath *et al.*, 1997; Wenzel *et al.*, 2003). La modificación de la especiación y biodisponibilidad de los elementos traza en la rizósfera son el resultado de los cambios de pH, pCO₂, pO₂, potencial redox, la concentración de ligandos orgánicos y la biomasa microbiana (Puschenreiter *et al.* 2005; Martínez- Alcalá *et al.*, 2009). Este efecto rizósfera difiere según las especies de plantas (debido a las diferencias en la naturaleza de sus exudados, las estrategias de adquisición de nutrientes, y la arquitectura del sistema de la raíz), el tipo y las propiedades de suelo, y varía en el espacio y en el tiempo (Hinsinger y Courchesne, 2007). Los exudados de las raíces pueden influir en el comportamiento de los nutrientes y metales traza, potenciando o reduciendo su disponibilidad a largo plazo, al afectar directamente a las reacciones de acidificación, quelación, precipitación y redox, o indirectamente, a través de sus efectos sobre la actividad microbiana, propiedades físicas y químicas de la rizósfera y el patrón de crecimiento de las raíces (Tao *et al.* 2004; Uren y Reisenauer, 1988). El agotamiento o la acumulación de metales traza dependerán de su tasa de absorción por las plantas/microorganismos o de la modificación de la química de la rizósfera, por ejemplo, la acidificación-alkalinización, desorción-adsorción, fenómenos de disolución-precipitación (Hinsinger y Courchesne, 2007). Además, las condiciones de crecimiento experimentales utilizadas en diversos estudios que analizan la modificación de la biodisponibilidad en

suelos de metales traza y la dinámica de absorción por parte de las plantas (por ejemplo, el cultivo hidropónico, las macetas, los suelos) son factores que también influyen en la dinámica rizósfera-plantas.

Debido a esto, los estudios efectuados respecto la absorción de metales traza en cultivos que han sido cultivados en suelos enmendados con lodos de depuradora, compost, biosólidos y excretas provenientes de sistemas de producción animal, muestran una gran variabilidad respecto de las concentraciones de metales traza en los tejidos de dichas plantas a lo largo del tiempo. Bharagava *et al.* (2008) evaluaron el efecto de la aplicación de un compost producto de destilería sobre la biodisponibilidad y absorción de varios elementos traza en plantas de *Brassicca* (con capacidad para acumular altas concentraciones de metales pesados y tolerante a las altas concentraciones), encontrando incrementos en la concentración de dichos metales tanto a los 30, 60 y 90 post comienzo de ensayo de siembra para aquellos reactores fertilizados respecto a los controles sin fertilización. En contraste, Walker *et al.* (2004) determinaron la capacidad de dos abonos orgánicos, compost y estiércol, para mejorar el crecimiento de *C. álbum*, y el efecto de dichas enmiendas sobre la biodisponibilidad de metales traza. Los resultados obtenidos mostraron que la aplicación de compost y excretas animales disminuyeron las concentraciones tisulares en los brotes de *C. álbum* para Cu y Zn a los 83 y 119 días post siembra. Si bien se encontraron correlaciones muy significativas entre las concentraciones de Cu y Zn extraíble con CaCl_2 (que representan las fracciones solubles y fácilmente intercambiables) en suelos no enmendados y las halladas en los brotes; se observó que la adición de materia orgánica, en particular a partir de estiércol, promueve una disminución de los niveles solubles/intercambiables de todos los elementos traza analizados en dicho estudio, tal como se encuentra previamente descrito para el zinc en diferentes tipos de suelo fertilizados con estiércol de vaca (Narwal y Singh, 1998; Walker *et al.*, 2003). Los efectos de las enmiendas orgánicas sobre la solubilidad de metales pesados también dependen en gran medida del grado de humidificación de su materia orgánica y su efecto sobre el pH del suelo (Narwal y Singh, 1998; Shuman, 1999; Walker *et al.*, 2003). En este estudio, los efectos del compost y las excretas sobre el pH del suelo parecían ser los principales determinantes de la disponibilidad y absorción en el caso del Zn y del Mn. Finalmente los autores concluyeron que el estiércol de vaca era capaz, en el corto plazo, de la prevención de la acidificación del suelo y la disminución de la biodisponibilidad de metales pesados, y podría ayudar a facilitar el restablecimiento de la vegetación inicial de

suelos contaminados. El aumento de pH del suelo causado por la adición de estiércol era el factor principal de la reducción de la disponibilidad de metal. Es de vital importancia controlar la disponibilidad de metales pesados en suelo, después de la aplicación de sustratos con altos contenidos de materia orgánica, ya que a lo largo del tiempo pueden sufrirse cambios a partir de las transformaciones microbiológicas de los compuestos orgánicos. Por otra parte, en su estudio Torri y Lavado (2009) observaron una disminución de las concentraciones de Cu y Zn en la biomasa foliar de raigrás perenne 90 días post aplicación de biosólidos a suelos respecto de los valores obtenidos al primer corte (30 días post aplicación). Así mismo, las concentraciones de Cu y Zn encontradas a los 90 días fueron superiores en suelos enmendados respecto los suelos controles. Por lo general, se considera que las fracciones del suelo obtenidas a partir de técnicas de extracción secuencial son, idealmente, indicativas de la biodisponibilidad potencial de los elementos traza, con fitodisponibilidad decreciente en el orden de la etapa de extracción secuencial. En general, se considera que las fracciones orgánicas e inorgánicas, son de baja disponibilidad; los microorganismos del suelo afectan la disponibilidad de los metales traza, promoviendo la mineralización de la materia orgánica o por medio de la liberación de agentes quelantes y la solubilización de fosfatos. Serían estos los mecanismos principales que dominan la dinámica del Cu a lo largo de los cortes sucesivos. Alternativamente, la complejidad de la relación suelo-planta puede inducir cambios en las propiedades de la rizósfera del suelo a través de cambios en el pH o de variaciones en el potencial redox, y, por consiguiente, los cambios inducidos en la especiación de metal (Philippe, 1999). Para el Zn, se observó una disminución significativa a nivel de la biomasa aérea en comparación con la primera cosecha en los suelos enmendados con biosólidos. La disminución de la concentración de Zn en la biomasa aérea de raigrás probablemente fue originada por una disminución inicial de la concentración de Zn soluble o intercambiable aportada por lodos aplicados. Sin embargo, al igual que para el cobre, la concentración de Zn en reactores fertilizados fue superior a los controles sin aplicación de biosólidos. Se ha postulado que a muy altas tasas de aplicación de enmiendas orgánicas, esta matriz comenzaría a ejercer su influencia en la formación de complejos de unión de metales (Merrington *et al.*, 2003). Después de un primer agotamiento de la fracción disponible de Zn, la absorción de este elemento puede ser determinada por su unión a la materia orgánica aportada por los lodos de depuradora. Estos resultados también pueden

indicar que hay un proceso de equilibrio dinámico continuo entre fracciones de Zn de diferente biodisponibilidad.

3.4. Conclusiones preliminares

Las mayores concentraciones de Cu y Zn presentes en las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción animal respecto de suelos testigo y excretas provenientes de sistemas extensivos de cría de bovinos, conjuntamente con la presencia de mayores porcentajes de formas solubles e intercambiables de los metales en dichas excretas nos indujo a pensar que podrían ser utilizadas como fuente de fertilización mineral en pasturas implantadas a fin de compensar carencias de dichos micronutrientes en suelos.

A partir del ensayo preliminar en microcosmos, se obtuvieron respuestas positivas a los tratamientos de fertilización efectuados, habiéndose observado un incremento en los gramos de materia seca producidos por maceta y una mejora en los parámetros de crecimiento para ambas especies forrajeras utilizadas (raigrás perenne y trébol blanco). Esto se atribuye al aporte de nutrientes básicos (N, P, y K) y materia orgánica que las excretas realizan a los suelos al ser utilizadas como enmiendas orgánicas.

Del ensayo de fertilización en microcosmos, se obtuvo un incremento de las concentraciones de Cu y Zn determinadas en la biomasa aérea cosechada a los 30 días post implantación, tanto para raigrás perenne como trébol blanco. Al segundo corte, efectuado a los 90 días post siembra, las concentraciones obtenidas de Cu y Zn en la biomasa aérea para macetas fertilizadas varió de acuerdo al metal y al tratamiento de fertilización aplicado. El mayor porcentaje de fracción soluble e intercambiable aportado por las excretas intensivas es reflejado por el aumento de las concentraciones de ambos metales al primer corte, evidenciando así el vínculo de dicha fracción con la fitodisponibilidad de estos elementos. Los cambios a nivel de pH, potencial redox generados por las excretas sobre la rizósfera y el agregado de materia orgánica a lo largo del tiempo de incubación pueden modificar la biodisponibilidad de los metales agregados con dicha matriz de forma tal que a largo plazo la respuesta de la planta puede ser variable. Esto podría explicar los resultados encontrados a los 90 días post siembra.

Estos resultados son una primera aproximación al posible uso de las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción como fuente de micronutrientes para los forrajes implantados. Las excretas aportan nutrientes básicos en formas disponibles a los suelos permitiendo así el incrementos en los rendimientos de cosechas de las

pasturas. En este sentido, las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción, al ser aplicadas como enmiendas orgánicas; aportan formas asimilables de Cu y Zn reflejado esto en aumento de la concentración de los metales en los tejidos de los forrajes en un corto plazo. De esta manera, no sólo se logra reducir el impacto ambiental que provoca la acumulación durante largos períodos de tiempo de dichas excretas en los corrales de engorde; sino que también permitiría compensar las deficiencias de micronutrientes que se presentan en los suelos de la Región Pampeana.

3.5. Referencias

- Agnusdei, M.G., Colabelli, M.R., Fernández Grecco, R. C., 2001. Crecimiento estacional de forraje de pasturas y pastizales naturales para el sudeste bonaerense. *Boletín Técnico* 152, 1–47.
- Ahumada, I., Gudenschwager, O., Carrasco, M.A., Castillo, G., Ascar, L., Richter, P., 2009. Copper y zinc bioavailabilities to ryegrass (*Lolium perenne* L.) y subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) grown in biosolid treated Chilean soils. *Journal of Environmental Management* 90, 2665–2671. doi:10.1016/j.jenvman.2009.02.004
- Alia, Prasad, K.V.S.K., Pardha Saradhi, P., 1995. Effect of zinc on free radicals y proline in *Brassica* y *Cajanus*. *Phytochemistry* 39, 45–47. doi:10.1016/0031-9422(94)00919-K
- Alloway, B.J., 2008. Micronutrient deficiencies in global crop production, *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*. doi:10.1007/978-1-4020-6860-7
- Arévalo, L.A.P., Joel Carrillo Rivera, J., 2013. Definición de zonas de recarga y descarga de agua subterránea a partir de indicadores superficiales: Centro-sur de la Mesa Central, México. *Investigaciones Geograficas* 81, 18–32. doi:10.14350/rig.30518
- Augustine, D.J., McNaughton, S.J., 2006. Interactive effects of ungulate herbivores, soil fertility, y variable rainfall on ecosystem processes in a semi-arid savanna. *Ecosystems* 9, 1242–1256. doi:10.1007/s10021-005-0020-y
- Barnes, R.F., Miller, D.A., Nelson, C.J., 1995. Forages: an introduction of grassland production. Iowa State University press, Iowa, USA. pp 15-70.
- Bedada, W., Karlton, E., Lemenih, M., Tolera, M., 2014. Long-term addition of compost y NP fertilizer increases crop yield y improves soil quality in experiments on smallholder farms. *Agriculture, Ecosystems y Environment* 195, 193–201. doi:10.1016/j.agee.2014.06.017
- Berardo A., 1998. Fertilización de pasturas. En 5º Seminario de Actualización Técnica CPIA -SRA. Buenos Aires
- Berg, W.K., Brouder, S.M., Joern, B.C., Johnson, K.D., Volenec, J.J., 2003. Enhancing alfalfa production through improved potassium management. *Better Crops* 87, 8-11.
- Bharagava, R.N., Chyra, R., Rai, V., 2008. Phytoextraction of trace elements y physiological changes in Indian mustard plants (*Brassica nigra* L.) grown in post methanated distillery effluent (PMDE) irrigated soil. *Bioresource Technology* 99, 8316–8324. doi:10.1016/j.biortech.2008.03.002
- Byyopadhyay, S., Ghosh, K., Varadachari, C., 2014. Multimicronutrient slow-release fertilizer of zinc, iron, manganese, y copper. *International Journal of Chemical Engineering* 2014. doi:10.1155/2014/327153
- Carámbula, M., 2003: Pasturas y Forrajes. Potenciales y alternativas para producir forraje. Tomo I. 1ª ed. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Caravaca, F., Hernández, T., García, C., Roldán, A., 2002. Improvement of rhizosphere

- aggregate stability of afforested semiarid plant species subjected to mycorrhizal inoculation y compost addition. *Geoderma* 108, 133–144. doi:10.1016/S0016-7061(02)00130-1
- Carrillo, J., 2003: Manejo de Pasturas. EEA INTA Balcarce. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina. pp 458.
- Castaldo, A., Acero, R., Falcón, J. P., Martos, J., Valerio, D., 2006. Tipología de los sistemas de producción de engorde bovino en la Pampa Argentina. *Archivos de zootecnia* 55, 183-193.
- Chang, C., Sommerfeldt, T.G., Entz, T., 1991. Soil Chemistry after Eleven Annual Applications of Cattle Feedlot Manure. *Journal of Environmental Quality* 20, 475–480. doi:10.2134/jeq1991.00472425002000020022x
- Cherney, D.J.R., Cherney, J.H., Mikhailova, E.A., 2002. Orchardgrass y tall fescue utilization of nitrogen from dairy manure y commercial fertilizer. *Agronomy Journal* 94, 405–412.
- Chirinda, N., Olesen, J.E., Porter, J.R., Schj??nning, P., 2010. Soil properties, crop production y greenhouse gas emissions from organic y inorganic fertilizer-based arable cropping systems. *Agriculture, Ecosystems y Environment* 139, 584–594. doi:10.1016/j.agee.2010.10.001
- Clarkson, D.T., Hanson, J.B., 1980. The Mineral Nutrition of Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology*. doi:10.1146/annurev.pp.31.060180.001323
- Cobbett, C., Goldsbrough, P., 2002. Phytochelatin y metallothioneins: roles in heavy metal detoxification y homeostasis. *Annual Review of Plant Biology* 53, 159–182. doi:10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154
- Costa J.L., García F.O., 1997: Respuesta de un pastizal natural a la fertilización con P y N en un natracuol. *RIA* 28, 31-39.
- Davis, R., Beckett, P., Wollan, E., 1978. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant y Soil* 408, 395–408.
- Díaz Zorita M., Fernandez Canigia, M.V., 1998. Azufre y nitrógeno en la implantación de pasturas perennes en la región de la pampa arenosa argentina. *Ciencia del Suelo* 16, 103-106.
- Díaz Zorita M., Peralta O., Grosso G., 1998. Fertilización con nitrógeno y producción de pasturas con base alfalfa en el noroeste bonaerense. *Revista Argentina de Producción Animal* 18, 97-98.
- Earl, J., 2014. Grazing and pasture management and utilization in Australia. En: Kahn, L. *Beef Cattle Production and Trade*. CSIRO PUBLISHING. pp 584.
- Eghball, B., Power, J., 1994. Beef cattle feedlot manure management. *Journal of soil and water conservation* 49, 113-122.

- Eghball, B., Ginting, D., Gilley, J.E., 2004. Residual effects of manure y compost applications on corn production y soil properties. *Agronomy Journal* 96, 442–447. doi:10.2134/agronj2004.4420
- FAO, 1980. *Soils Bulletin 38/1. Soil and Plant Testing and Analysis*. pp 250.
- FAO, 2006. *Fertilizer use by crop.*, *FAO Fertilizer y plant nutrition bulletin*.
- FAO, 2002. *Los fertilizantes y su uso*, lfa.
- FAO, 1999. *Guía para el manejo eficiente de la nutrición de las plantas*, Dirección de Fomento de Tierras y Aguas.
- FAO, 2004. *Uso de fertilizantes por cultivo en Argentina*. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A., Khaliq, A., Kobayashi, N. 2009. Rice seed invigoration. En: E. Lichtfouse (ed.). *Sustainable Agriculture Reviews*, Springer, the Netherlands. pp. 137–175.
- Farooq, M., Wahid, A., Siddique, K.H.M., 2012. Micronutrient application through seed treatments: a review. *Journal of Soil Science y Plant Nutrition* 12, 125–142. doi:10.4067/S0718-95162012000100011
- Fontanetto, H., Bianchin, A., 2010. Análisis de suelos, la base para fertilizar adecuadamente los cultivos forrajeros. *Producir XXI* 19, 1–3.
- Gangloff, W.J., Westfall, D.G., Peterson, G. a., Mortvedt, J.J., 2006. Mobility of Organic y Inorganic Zinc Fertilizers in Soils. *Communications in Soil Science y Plant Analysis* 37, 199–209. doi:10.1080/00103620500403200
- García, F., Micucci, F., Rubio, G., Rufo, M., Daverede, I., 2002. Fertilización de forrajes en la Región pampeana Una revisión de los avances en el manejo de la fertilización de pasturas, pastizales y verdes. ... *Avances En El Manejo De La* 1–61.
- Grigatti, M., Giorgioni, M.E., Ciavatta, C., 2007. Compost-based growing media: Influence on growth y nutrient use of bedding plants. *Bioresource Technology* 98, 3526–3534. doi:10.1016/j.biortech.2006.11.016
- Grings, E.E., M.R. Haferkamp, R.K. Heitschmidt and M.G. Karl., 1996. Mineral dynamics in forages of the Northern Great Plains. *Journal of Range Management* 49, 234-240
- Haag-Kerwer, A., Schafer, H.J., Heiss, S., Walter, C., Rausch, T., 1999. Cadmium exposure in Brassica juncea causes a decline in transpiration rate and leaf expansion with out effect on photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 50, 1827–1835.
- Hemingway, R.G., 1999. The effect of changing patterns of fertilizer applications on the major mineral composition of herbage in relation to the requirements of cattle: a 50-year review. *Animal Science* 69, 1–18.
- Hinsinger, P., Courchesne, F., 2007. Biogeochemistry of Metals y Metalloids at the Soil-Root Interface, in: *Biophysico-Chemical Processes of Heavy Metals y Metalloids in Soil Environments*. pp. 265–311. doi:10.1002/9780470175484.ch7

- Jones, J., 1991. Micronutrients in Agriculture 2nd ed. En: J. Mortvedt, et al., (eds.) Soil Science Society American, Madison, WI.
- Jones, J.B., Tirado-Corbalá, R., 2013. Plant Nutrition y Soil Fertility Manual, Second edition. Soil Science Society of America Journal 77, 1460. doi:10.2136/sssaj2013.0002br
- Kochian, L. V., 1991. Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. Micronutrients in agriculture, 229-296.
- Korboulewsky, N., Bonin, G., Massiani, C., 2002. Biological y ecophysiological reactions of white wall rocket (*Diplotaxis erucoides* L.) grown on sewage sludge compost. Environmental Pollution 117, 365–370. doi:10.1016/S0269-7491(01)00165-8
- Krishna, K. R., 2002. Soil fertility and crop production. Science Publishers, Inc. pp 2002.
- Kubota, J., 1983. Copper status of United States soils and forage plants. Agronomy Journal 75, 913-918.
- Lattanzi, F., Mazzanti, A.E., 1997. Fertilización nitrogenada de pasturas en Festuca arundinacea de tipo templado y mediterráneo. Crecimiento otoño-invernal. Actas 21^o Congreso Argentino de Producción Animal. pp 166-167.
- Lavado, R.S., 2006. Concentration of potentially toxic elements in field crops grown near y far from cities of the Pampas (Argentina). Journal of Environmental Management 80, 116–119. doi:10.1016/j.jenvman.2005.09.003
- Leita, L., De Nobili, M., Mondini, C., Muhlbachova, G., Marchiol, L., Bragato, G., Contin, M., 1999. Influence of inorganic y organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient y heavy metal bioavailability. Biology y Fertility of Soils 28, 371–376. doi:10.1007/s003740050506
- Lemaire, G., Chapman, D., Hodgson, J., Illius, A. W., 1996. The ecology and management of grazing systems. CAB International. pp.1996.
- Logan T.J., Lindsay, B.J., Goins, L.E., Ryan J.A., 1997. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops: sludge rate response. Journal of Environmental Quality 26, 534–550.
- Lory, J.A., Massey, R., Joern, B.C., 2008. Using Manure as a Fertilizer for Crop Production. Society 105–116.
- Malhi, S.S., Cowell, L., Kutcher, H.R., 2005. Relative effectiveness of various sources, methods, times y rates of copper fertilizers in improving grain yield of wheat on a Cu-deficient soil. Canadian Journal of Plant Science 85, 59–65. doi:10.4141/p04-089
- Mantovi, P., Bonazzi, G., Maestri, E., Marmiroli, N., 2003. Accumulation of copper y zinc from liquid manure in agricultural soils y crop plants. Plant y Soil 250, 249–257. doi:10.1023/A:1022848131043
- Marino, A., Agnusdei, M., 2009. Nutricion mineral en verdeos y pasturas: manejo de alto impacto productivo. En: Actas de Jornada técnica sobre Sanidad Animal y Nutrición Mineral en Recursos forrajeros, 267–280.

- Martinez-Alcala, I., Clemente, R., Bernal, M.P., 2009. Metal availability and chemical properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* L. growing in a high-metal calcareous soil. *Water Air and Soil Pollution* 201, 283–293.
- Mazzanti A., Marino M.A., Lattanzi, F., Echeverría H., Andrade, F., 1997. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento y la calidad del forraje de avena y raigrás anual en el sudeste bonaerense. *Boletín Técnico* N°. 143. EEA INTA Balcarce, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
- McConnell, D.B., Shirlipour, A., Smith, W.H., 1993. Compost application improves soil properties. *Biocycles* 4, 61–67.
- McGrath, S.P., Shen, Z.G., Zhao, F.J., 1997. Heavy metal uptake y chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* y *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant y Soil* 188, 153–159. doi:10.1023/A:1004248123948
- Melgar, R.J., Diaz Zorita M., Caamaño, A., 1998. Sulfur - Another nutrient to consider in cereal fertilization in pampean Argentina. XV International Soil Science Congress. Montpellier, France 1998.
- Melgar, R. J., Torres Duggan M., Ventimigli, L., 2001. Respuesta a la fertilización con boro y zinc en sistemas intensivos de producción de maíz. *Ciencia del Suelo* 19, 109-124.
- Melgar, R.J., Torres Duggan, M., 2002. Evolución histórica y perspectivas del mercado argentino de fertilizantes. En: *Productos y Servicios en el Comercio Moderno de Fertilizantes*. In press 276 pp. INTA. Pergamino.
- Mendoza, J., Garrido, T., Castillo, G., Martin, N.S., 2006. Metal availability y uptake by sorghum plants grown in soils amended with sludge from different treatments. *Chemosphere* 65, 2304–2312. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.012
- Merrington, G., Oliver, I., Smernik, R.J., McLaughlin, M.J., 2003. The influence of sewage sludge properties on sludge-borne metal availability. *Advances in Environmental Research*. doi:10.1016/S1093-0191(02)00139-9
- Mohammad Rusan, M.J., Hinnawi, S., Rousan, L., 2007. Long term effect of wastewater irrigation of forage crops on soil y plant quality parameters. *Desalination* 215, 143–152. doi:10.1016/j.desal.2006.10.032
- Montalvo, D., Degryse, F., Silva, R.C., Baird, R., Mclaughlin, M.J., 2016. Agronomic Effectiveness of Zinc Sources as Micronutrient Fertilizer, *Advances in Agronomy*. doi:10.1016/bs.agron.2016.05.004
- Mooleki, S. P., Schoenau, J. J., Charles, J. L., Wen, G., 2004. Effect of rate, frequency and incorporation of feedlot cattle manure on soil nitrogen availability, crop performance and nitrogen use efficiency in east-central Saskatchewan. *Canadian Journal of Soil Science* 84, 199-210.
- Moot, D.J., Scott, W.R., Roy, A. M., Nicholls, A. C., 2000. Base temperature y thermal time requirements for germination y emergence of temperate pasture species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 43, 15–25. doi:10.1080/00288233.2000.9513404

- Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A., Moral, R., 1997. Heavy metal pollution in sewage sludges y agricultural impact. *Fresenius Environmental Bulletin* 6, 519–524.
- Mortvedt, J.J., 1991. Micronutrient fertilizer technology, in: *Fertilizer Technology y Use*. pp. 523–548.
- Mortvedt, J. J., Gilkes, R. J., 1993. Zinc fertilizers. En: *Zinc in soils and plants*. pp. 33-44. Springer Netherlands.
- Moscuzza, C.H., Pérez-Carrera, A.L., Volpedo, A. V., Fernández-Cirelli, A., 2012. Forage enrichment with copper y zinc in beef grazing systems in Argentina. *Journal of Geochemical Exploration* 121, 25–29. doi:10.1016/j.gexplo.2012.06.008
- Mosquera-Losada, M.R., López-Díaz, L., Rigueiro-Rodríguez, A., 2001. Sewage sludge fertilisation of a silvopastoral system with pines in northwestern Spain. *Agroforestry Systems* 53, 1–10. doi:10.1023/A:1012239419829
- Narwal, R.P., Singh, B.R., 1998. Effect of organic materials on partitioning, extractability y plant uptake of metals in an alum shale soil. *Water, Air, y Soil Pollution* 103, 405–421. doi:10.1023/A:1004912724284
- National Research Council (NRC). 1984. *Nutrient requirements of domestic animals*, 7th ed. National Academy of Science, National Academy Press, Washington, DC.
- Nazli, R. I., Inal, I., Kusvuran, A., Demirbas, A., Tansi, V., 2015. Effects of Different Organic Materials on Forage Yield and Nutrient Uptake of Silage Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Nutrition*, (just-accepted), 00-00.
- Olesen, J.E., Askegaard, M., Rasmussen, I.A., 2009. Winter cereal yields as affected by animal manure y green manure in organic arable farming. *European Journal of Agronomy* 30, 119–128. doi:10.1016/j.eja.2008.08.002
- Olson-Rutz, K., Jones, C., 2015. Soil nutrient management for forages phosphorus, potassium, sulfur and micronutrients. Documentp disponible en línea: animalrangeextension.montana.edu/forage/documents/ForagePKSMEB0217.pdf
- Palm, C.A., Myers, R.J.K., Nywa, S.M., 1997. Combined Use of Organic y Inorganic Nutrient Sources for Soil Fertility Maintenance y Replenishment, in: *Replenishing Soil Fertility in Africa*. pp. 193–217. doi:10.2136/sssaspecpub51.c8
- Pascual, I., Antolín, M.C., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M., 2004. Plant availability of heavy metals in a soil amended with a high dose of sewage sludge under drought conditions. *Biology y Fertility of Soils* 40, 291–299. doi:10.1007/s00374-004-0763-1
- Philippe, H., 1999. Bioavailability of trace elements as related to rootinduced chemical changes in the rhizosphere En: W.W. Wenzel, D.C. Adriano, B. Alloway, H.E. Doner, C. Keller, N.W. Lepp, M. Mench, R. Naidu, G.M. Pierzynski (Eds.), *Proceedings of Extended Abstracts of 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements*, Vienna, Austria. pp. 152–153.
- Puschenreiter, M., Schnepf, A., Millán, I.M., Fitz, W.J., Horak, O., Klepp, J., Schrefl, T.,

- Lombi, E., Wenzel, W.W., 2005. Changes of Ni biogeochemistry in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Plant y Soil* 271, 205–218. doi:10.1007/s11104-004-2387-5
- Ratto de Míguez, S., Fatta, N., 1990. Disponibilidad de micronutrientes en suelos del área maicera núcleo. *Ciencia del Suelo* 8, 9-15.
- Richards, I. R., Turner, I. D. S., Wallace, P. A., 1999. Manure and fertilizer contributions to soil mineral nitrogen and the yield of forage maize. *Nutrient cycling in Agroecosystems* 55, 175-185.
- Schils, R.L.M., Kok, I., 2003. Effects of cattle slurry manure management on grass yield. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* 51, 41–65. doi:10.1016/S1573-5214(03)80026-X
- Schröder, J., 2005. Revisiting the agronomic benefits of manure: A correct assessment y exploitation of its fertilizer value spares the environment, in: *Bioresource Technology*. pp. 253–261. doi:10.1016/j.biortech.2004.05.015
- Shober, A.L., Stehouwer, R.C., MacNeal, K.E., 2007. Chemical fractionation of trace elements in biosolid-amended soils y correlation with trace elements in crop tissue. *Communications in Soil Science y Plant Analysis* 38, 1029–1046. doi:10.1080/00103620701280068
- Shuman, L. M., 1998. Micronutrient fertilizers. *Journal of crop production* 1, 165-195.
- Shuman, L.M., 1999. Effect of Organic Waste Amendments on Zinc Adsorption By Two Soils. *Soil Science* 164, 197–205.
- Singh, R.P., Agrawal, M., 2007. Effects of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation y consequent responses of *Beta vulgaris* plants. *Chemosphere* 67, 2229–2240. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.12.019
- Tao, S., Liu, W.X., Chen, Y.J., Xu, F.L., Dawson, R.W., Li, B.G., Cao, J., Wang, X.J., Hu, J.Y., Fang, J.Y., 2004. Evaluation of factors influencing root-induced changes of copper fractionation in rhizosphere of a calcareous soil. *Environmental Pollution* 129, 5–12. doi:10.1016/j.envpol.2003.10.001
- Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D., 1985. *Soil fertility and fertilizers*. Collier Macmillan Publishers.
- Torri, S., Lavado, R., 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils y correlation with soil chemical speciation. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1459–1465. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.12.075
- Ugarte, C., 2011. *Ecofisiología de plantas forrajeras*. *Voces y Ecos* 27, 37–42. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/ecofisiologia-de-plantas-forrajeras>.
- Uren, N.C., Reisenauer, H.M., 1988. The role of root exudates in nutrient acquisition. In: Tinker, P.B., Lauchli, A. (Eds.), *Advances in Plant Nutrition*, vol. 3. Praeger, New York, pp. 79–114.
- USEPA, 1999. Background report on fertilizer use, contaminants and regulations. National

program chemicals division Office of pollution prevention and toxics U.s. environmental protection agency Washington, d.c. 20460

- U.S. Department of Agriculture (USDA). Economic Research Service, Natural Resources and Environment Division, Agricultural Resources and Environmental Indicators, Agricultural Handbook No. 705.
- Voss, R., 1998. Micronutrients. Iowa State Univ., Ames, IA. Disponible en: <http://www.agronext.iastate.edu/soilfertility/nutrienttopics/secmicronutrients.html>
- Walker, D.J., Clemente, R., Roig, A., Bernal, M.P., 2003. The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. *Environmental Pollution* 122, 303–312. doi:10.1016/S0269-7491(02)00287-7
- Welch, R.M., 1995. Micronutrient Nutrition of Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 14, 49–49. doi:10.1080/713608066
- Wenzel, W.W., Bunkowski, M., Puschenreiter, M., Horak, O., 2003. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator y excluder plants on serpentine soil. *Environmental Pollution* 123, 131–138. doi:10.1016/S0269-7491(02)00341-X
- Whitehead, D. C. 1995. Grassland nitrogen. CAB international, Wallingford. pp 397.
- Yootasanong, C., Pholsen, S., Higgs, D. E. B., 2015. Dry Matter Yields and Forage Quality of Grass Alone and Grass Plus Legume Mixture in Relation to Cattle Manure Rates and Production Methods. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 18, 324.
- Zhao, F., McGrath, S.P., Crosly, a R., 1994. Comparison of three wet digestion methods for the determination of plant sulphur by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). *Communications in Soil Science y Plant Analysis* 25, 407–418. doi:10.1080/00103629409369047
- Zhou, D.M., Hao, X.Z., Wang, Y.J., Dong, Y.H., Cang, L., 2005. Copper y Zn uptake by radish y pakchoi as affected by application of livestock y poultry manures. *Chemosphere* 59, 167–175. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.11.008
- Zubillaga, M.S., Lavado, R.S., 2001. Biosolids compost as component of potting media for bedding plants. *Gartenbauwissenschaft* 66, 304–309.

Capítulo 4.

Enriquecimiento de forrajes con micronutrientes: experiencia en parcelas

4.1. Introducción

Como se vio anteriormente en el Capítulo 3, la decisión de fertilizar conlleva tener en cuenta una serie de factores: las características edáficas del lote y climáticas de la zona; historia previa y manejo del suelo del lote; análisis de suelo y análisis de la planta (García *et al.*, 2002). Así mismo, es importante considerar también los requerimientos de las diferentes especies forrajeras para cada uno de los macro y micro nutrientes de importancia. Los factores que regulan el contenido y la disponibilidad de los elementos minerales de los forrajes son diversos y no siempre bien conocidos, entre ellos se destacan la especie y variedad forrajera, las características del suelo, y el estadio vegetativo de las plantas (Cruzate *et al.*, 2006).

Las plantas extraen principalmente Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K) (denominados macronutrientes); luego Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Azufre (S) (mesonutrientes) y en menor cantidad: Hierro, Zinc, Molibdeno, Boro, Cobre, Manganeso, Cloro, Aluminio, Sodio y Cobalto (micronutrientes) (Gardner *et al.*, 2003). Luego de cumplido el ciclo en un cultivo, parte de estos nutrientes regresan al suelo a través de los rastrojos. En cambio en cultivos destinados a la confección de reservas, como silajes o henos, la extracción de nutrientes es mucho mayor debido a que prácticamente no quedan rastrojos, por lo tanto el reciclado de nutrientes es prácticamente nulo. Básicamente, el suelo y la materia orgánica en vías de descomposición proveen los elementos minerales esenciales para la nutrición de los cultivos (FAO, 1999). La mayor parte de estos elementos minerales se encuentran en formas disponibles o adsorbidas que se van intercambiando dentro del suelo, y las plantas los van absorbiendo a lo largo de su ciclo. El análisis de suelos debe servir de base para decidir las tasas de fertilización de macro y micronutrientes, como así también para detectar una deficiencia de nutrientes antes de que se vea comprometido el rendimiento del cultivo (Cruzate y Casas, 2003).

4.1.1. Respuesta a la fertilización de cultivos implantados con micronutrientes

A nivel mundial, los altos rendimientos de cosecha y el uso de altas dosis de macronutrientes han dado como resultado el agotamiento de los micronutrientes disponibles en los suelos. Por otra parte, el aumento en el rendimiento de la cosecha de granos en las últimas cuatro décadas se ha visto acompañado por una disminución en las concentraciones de minerales en dicho producto (Fan *et al.*, 2008; Garvin *et al.*, 2006). Como se vio en capítulos anteriores, la carencia de micronutrientes se produce en todo el mundo, pero las variaciones en las condiciones del suelo; el clima, los genotipos de los cultivos y manejo resulta en una variable incidencia de estos problemas (Torri *et al.*, 2011). En Argentina, algunas deficiencias de micronutrientes se observaron en estos últimos años como resultado de la degradación de los suelos y el agotamiento nutrientes, la adopción de genotipos de alto rendimiento y la mejora de la mecanización agrícola; lo que ha resultado en altos rendimientos de cultivo por unidad de superficie, y por tanto el uso de fertilizantes con un mayor grado de pureza o simplemente debido a desequilibrios nutricionales (Andrade y Sadras 2000; Urricarriet y Lavado 1999).

En este sentido, se han efectuado a nivel país numerosos estudios de respuesta a la fertilización con micronutrientes en zonas donde previamente se ha diagnosticado la carencia de dichos elementos. Espósito *et al.* (2011) evaluó la respuesta a la fertilización con Zn de cultivos de trigo en la provincia de Córdoba. Previamente los suelos fueron testeados, mediante el método de extracción con ácido dietilen-triamín-pentaacético (DPTA) para disponibilidad de Zn siendo ésta menos a 1 mg/kg. En dicho estudio se observó una mejora en el rendimiento de cosecha, producción de granos por m² e indicadores indirectos de rendimiento (número de espiga, recuento de espiga y número de granos por espiga) encontrándose diferencias significativas entre las áreas tratadas con fertilizante respecto el testigo. Así mismo, se analizó la respuesta de cultivos de maíz a la fertilización con dicho metal en zonas de baja disponibilidad hallándose mayor rendimiento de maíz como consecuencia del agregado de Zn al suelo, lo que se vio reflejado en un mayor número de granos producidos por metro cuadrado sin haber sido afectado el peso de los mismos. Melgar *et al.*, (2001) determinó la respuesta del cultivo de maíz al agregado de B y Zn, en ambientes de alto potencial de rendimiento de la región maicera núcleo y relacionó contenido de nutrientes en la hoja de la espiga con los niveles de disponibilidad de B y Zn en el suelo a la siembra. Como resultado de este trabajo, se

encontraron diferencias significativas en las áreas tratadas con ambos micronutrientes con incrementos de rendimiento de cosecha; pero dado que los niveles de Zn extractable determinados se encontraron dentro del rango suficiente para dicho metal la relación entre el aumento de cosecha logrados con el agregado de Zn y los niveles disponibles de dicho metal no fue significativo. Sainz Rosas *et al.* (1993) analizaron la respuesta a la fertilización con Cu y Zn de cultivos de trigo en la zona del sudeste bonaerense. El sudeste bonaerense se caracteriza por presentar suelos con elevados contenidos de materia orgánica (MO) y valores de pH oscilando desde moderadamente ácidos a sub-ácidos (5,5-6,4) (Echeverría y Ferrarí, 1993). Dichas variables regulan la disponibilidad de micronutrientes como el zinc (Zn) y el cobre (Cu), la que es elevada en suelos con altos contenidos de MO y valores de pH como los mencionados (Moraghan y Mascagni, 1991). Los autores finalmente concluyeron que para los suelos del sudeste bonaerense, no hubo incrementos en los rendimientos de grano de cultivos de trigo por el agregado de Zn y Cu.

En el Capítulo 1 se realizó una extensa revisión sobre el valor de las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina como fertilizantes orgánicos. La aplicación de dichas excretas como enmiendas orgánicas, es un mecanismo económico y ambientalmente sostenible para aumentar la producción de cultivos. Los nutrientes en el estiércol del ganado pueden sustituir a los fertilizantes comerciales. Así mismo, estas enmiendas orgánicas permiten también mejorar la estructura del suelo y aumentar el rendimiento de los cultivos, proporcionando grandes aportes de macronutrientes (N y P principalmente) y materia orgánica (Chang *et al.*, 1991). Éste aporte puede variar de acuerdo a: si se utiliza estiércol fresco o compostado; el tipo de ganado, la edad, la composición de las raciones de alimentación; y las formas de almacenamiento y manejo del estiércol. A partir del análisis realizado en dicho capítulo también se determinó que las excretas presentan altas concentraciones de ciertos micronutrientes (Cu y Zn) y que a su vez aportan formas biodisponibles de ambos metales en los suelos.

En nuestro laboratorio, se efectuaron estudios previos que dieron base a las experiencias de fertilización efectuadas en este trabajo de tesis doctoral. Dichos estudios, evaluaron el enriquecimiento en Cu y Zn de una especie forrajera (raigrás perenne), a través de experiencias de fertilización con excretas bovinas adicionadas con concentraciones conocidas de estos elementos traza (Moscuzza *et al.*, 2012). Para ello, excretas

provenientes de bovinos sin suplementación mineral fueron compostadas con soluciones de concentración creciente de CuSO_4 y ZnSO_4 (SN1: 7,5 mg / L de Cu y 60 mg / L de Zn, SN2: 25 mg / L de Cu y 200 mg / L de Zn, y SN3: 50 mg / L de Cu y 400 mg / L de Zn) durante 15 días. Se efectuó siembra y posterior fertilización (superficial y por homogeneización), realizando cortes de la biomasa aérea a los 30 y 60 días posteriores a la siembra. Los resultados evidenciaron diferencias en las concentraciones de Cu y Zn entre las macetas fertilizadas y no fertilizadas. No se observaron diferencias en las concentraciones halladas de Cu y Zn considerando la metodología de fertilización (homogeneización o superficial). Entre el primer y segundo corte se observó un aumento de la concentración de zinc en las muestras de raigrás para todas las concentraciones evaluadas. Se observó un incremento en la concentración al aumentar la concentración de este elemento en las excretas enriquecidas. En el caso de las plantas fertilizadas adicionadas con cobre (SN2 y SN3), para el segundo corte, se observó un nivel de cobre superior al hallado en los testigos.

En base a estos análisis preliminares, en el Capítulo 3 se efectuó una prueba preliminar de fertilización en microcosmos, utilizando excretas provenientes de sistemas intensivos y extensivos (sin suplementación mineral) de producción bovina. A partir de este ensayo, se observó un incremento de las concentraciones de Cu y Zn determinadas en la biomasa aérea cosechada 30 días pos siembra y fertilización en ambas especies forrajeras utilizadas (raigrás perenne y trébol blanco). Esto se vio explicado por los mayores contenidos totales y aporte de formas biodisponibles de dichos elementos traza de las excretas intensivas. A mayores tiempos de cosecha, la respuesta a la fertilización varió de acuerdo al metal y el tratamiento aplicado.

A fin de obtener mayor información respecto al uso de excretas de SI como fuente de micronutrientes; el **objetivo** planteado en este capítulo es evaluar mediante un ensayo de en microparcela la respuesta a la fertilización en Cu y Zn a partir de la aplicación de excretas provenientes de SI de producción y de fuentes inorgánicas de ambos metales (sulfatos) de una pastura consociada de base gramínea.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Experiencia de fertilización en parcelas

A partir de los resultados obtenidos en la prueba preliminar de fertilización descrita en el Capítulo 3, se llevó a cabo un ensayo de fertilización en microparcela. Para dicho fin, se seleccionó una parcela de 2 * 2,5 m (5 m²) dentro de FVET-UBA con mínima perturbación antrópica. La misma se encontraba ocupada por una pastura en base gramínea (cuya especie predominante era *Bromus unioloides*). Previo al montaje del ensayo, se procedió a cortar al ras y se efectuó una mejora de la misma mediante la siembra al voleo de *Lolium Perenne*. El ensayo fue llevado a cabo durante los meses de septiembre/octubre/noviembre de 2014. Las precipitaciones para dicho período informadas por el SMN se encontraron en un rango de 73,3 a 119 mm. Debido a las bajas precipitaciones, se procedió al riego por aspersión con agua destilada, utilizando una regadera de 10 lt de capacidad. El riego se repitió tres veces por semana sobre la totalidad de la superficie de parcela. La temperatura promedio registrada para el área del ensayo fue de 19°C. Según la Carta Geotécnica de la Ciudad de Buenos Aires, los suelos predominantes de la zona pertenecen a los Argiudoles típicos y Argiudols vérticos con las siguientes características (Cuadro 4.1):

Parámetros	Argiudol Típico	Argiudol Vértico
Arcilla (%)	23	33
Limo (%)	62,9	56,1
Arena (%)	14,1	10,9
pH	6,1	6,8
CO (%)	2,0	1,9
NTK (%)	0,2	0,2
Ca (cmol kg ⁻¹)	14,4	12,2
Mg (cmol kg ⁻¹)	2,1	2,8
Na (cmol kg ⁻¹)	0,2	0,2
K (cmol kg ⁻¹)	2,3	2,4
CEC (cmol kg ⁻¹)	19	18,1

Cuadro 4.1 Características físico-químicas de suelos pertenecientes a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. Extraído de Carta Geotécnica de la Ciudad de Buenos Aires.

El diseño experimental utilizado fue en franjas aleatorizadas y se realizaron 5 tratamientos por franja a saber:

T0: testigo sin fertilización.

TI: excretas provenientes de SI (caracterizadas en el Capítulo 1) a razón de 1,3 kg (de excreta fresca previamente estabilizada en agua destilada mediante agitación) por metro cuadrado de superficie implantada. De esta manera, se aplicó sobre la superficie 30 mg de Cu y 150 mg de Zn, determinado previamente por digestión ácida de la muestra de excreta.

TII: excretas proveniente de SI a razón de 2,6 kg (de excreta fresca estabilizada previamente con agua destilada mediante agitación) por metro cuadrado de superficie. De esta manera se duplicó el contenido de Cu y Zn aplicado sobre la superficie.

TIII: Solución de CuSO₄ y ZnSO₄ con los mismos contenidos totales de Cu y Zn que las excretas intensivas en el tratamiento I.

TIV: Solución de CuSO_4 y ZnSO_4 basada en la concentración que se utiliza normalmente en el campo de ambas sales para corregir la deficiencia de Cu y Zn en suelos a campo. Zn total: 5,6 – 11,2 Kg/ha; Cu total: 3,4 kg/ha.

Todos los tratamientos de fertilización fueron aplicados al inicio de la experiencia por vez única. La fertilización orgánica se efectuó en superficie y la aplicación de los fertilizantes inorgánicos fue mediante aplicación por difusión, directa al suelo. En el siguiente cuadro se reportan las características fisicoquímicas y el contenido total y biodisponible de Cu y Zn de las excretas provenientes de SI utilizadas para los tratamientos de fertilización orgánica descritos anteriormente:

Parámetros	Excretas SI	Parámetros	Excretas SI
pH	7,6	Total Cu (mg kg^{-1})	28,7
CEC (cmol Kg^{-1})	2,2	Total Zn (mg kg^{-1})	150,5
P Ext. (mg kg^{-1})	143,1	Cu-INT (mg kg^{-1})	0,9
CO (%)	22,5	Zn-INT (mg kg^{-1})	3,8
NTK (%)	1,6		

Cuadro 4.2 Características fisicoquímicas, contenido total y biodisponible (mg kg^{-1}) de Cu y Zn en excretas provenientes de SI de producción utilizadas como fertilizantes en la experiencia. CEC: capacidad de intercambio catiónico; P Ext: fósforo extractable, CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldhal

Cada franja (de 1 m^2 de superficie) fue subdividida en 4 réplicas a fin de obtener a fin de obtener un pool promediable de muestras de forraje. Las mismas fueron colectadas mediante un aro metálico (rectangular) abarcando $0,0625 \text{ m}^2$. Así mismo, cada tratamiento se aisló mediante un espacio buffer a modo de surco de 10 cm de profundidad (Figura 4.1).

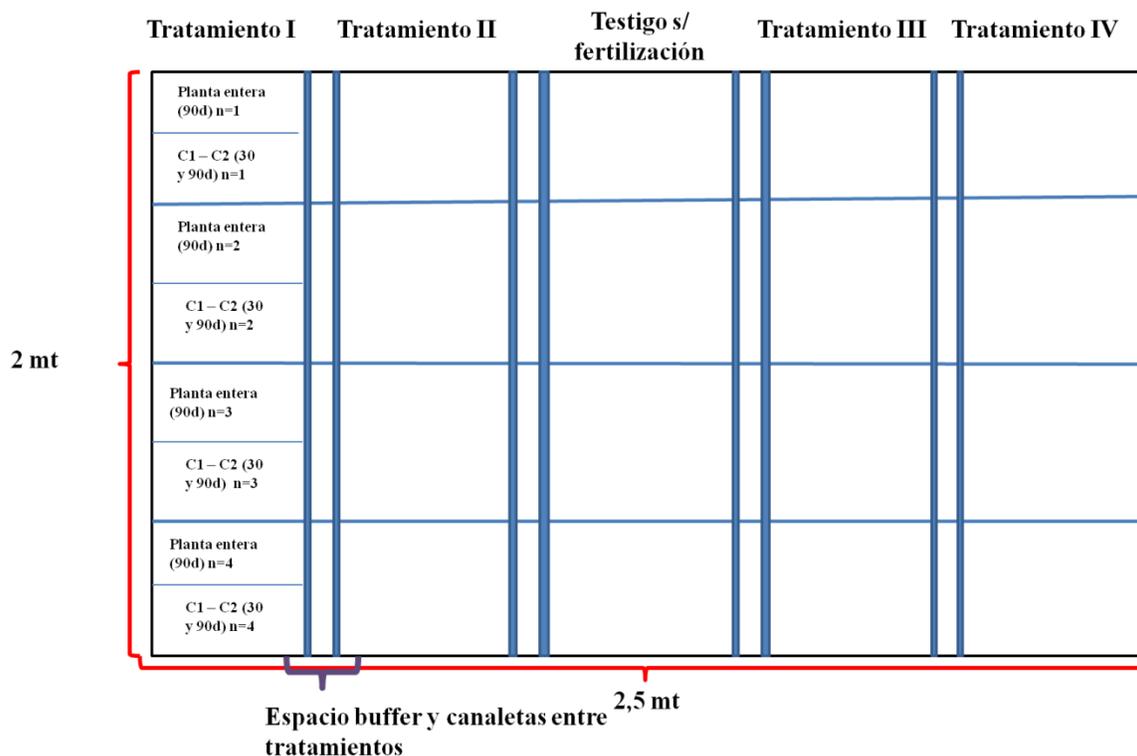


Figura 4.1 Esquema de parcela de fertilización. Se esquematizan las franjas aleatorizadas con cada tratamiento correspondiente; las réplicas de tratamiento y las muestras de planta entera y cortes (C1 y C2).

Se efectuaron dos cortes a los 30 y 90 de la biomasa aérea (de mayor relevancia para animales en pastoreo) a fin de determinar la concentración de Cu y Zn mediante una digestión ácida en plancha caliente, utilizando una mezcla de HNO_3 : HClO_4 (3:1 v/v). A fin de la experiencia, se tomaron muestras de planta entera a fin de determinar la concentración de Cu y Zn en tallo, hoja, inflorescencia y raíz. Para ello se reservó parte de la franja sin cosechar hasta el día 90 (Figura 4.1).

A fin de completar el análisis, se tomaron muestras de suelo (0-10 cm) con barrenero de aspas al día 90 para cada franja a fin de determinar el contenido total de Cu y Zn; como así también se efectuó el fraccionamiento secuencial para determinar la redistribución de dichos elementos traza en los suelos de los diferentes tratamientos. Las técnicas fueron descriptas exhaustivamente en el Capítulo 2.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Concentración de Cu y Zn en la biomasa aérea a los 30 días (C1)

En el Cuadro 4.3 se encuentran reportados los valores de Cu y Zn obtenidos en la biomasa foliar de forraje en la primera cosecha a los 30 días post fertilización (C1) para cada uno de los tratamientos probados.

Tratamiento	Cu-C1	Zn-C1
Testigo sin fertilización	16,1 ± 6,3	37,9 ± 4,1
Tratamiento I	32,9 ± 5,3	109,3 ± 25,3
Tratamiento II	20,3 ± 4,1	89,1 ± 17,1
Tratamiento III	15,6 ± 4,2	73,6 ± 26,5
Tratamiento IV	13,2 ± 2,9	61,4 ± 18,4

Cuadro 4.3 Concentración en µg/g obtenido en las muestras de forrajes al C1 (30 días)

Como puede observarse, las muestras correspondientes al testigo sin fertilización arrojaron valores para los elementos traza analizados que se encuentran dentro de las concentraciones medias consideradas normales para pasturas en base gramínea. Como se describió con más detalle en el Capítulo 3, la literatura internacional reporta para las gramíneas un rango de concentración para Cu de 1-16 mg/kg (Kubota 1983; Davis *et al.*, 1978). A nivel nacional, se ha reportado un rango de concentraciones de 3,8 a 8,5 mg/kg de Cu en pasturas y praderas de la provincia de Buenos Aires (Lavado, 2006). En el caso del Zn el rango de concentración media considerado normal para el crecimiento de forrajes está definido entre 25 y 150 mg/kg, plantas con contenidos de Zn menores a 20 µg/g (en base seca) se consideran deficientes (Adriano, 2001). En nuestro país Lavado (2006) menciona a nivel nacional niveles de Zn de 35,6 a 42,5 en praderas y de 27,7 a 32,4 mg/kg en pasturas implantadas.

Para el Cu, las concentraciones halladas al primer corte en la biomasa aérea fueron superiores en el tratamiento I (1 kg de excreta) respecto al tratamiento II (2 kg de excreta) (Figura 4.2). Así mismo, en ambos casos la aplicación de excretas provenientes de SI de

producción incrementa los valores de concentración promedio de dicho elemento traza respecto del testigo sin fertilización; para cada dosis aplicada (Testigo s/fertilización: 16,07 $\mu\text{g/g}$; T1: 32,93 $\mu\text{g/g}$; TII: 20,29 $\mu\text{g/g}$ de biomasa foliar). Para los tratamientos de fertilización inorgánica implementados no se observó un incremento en la concentración de Cu en las muestras de forraje analizadas, independientemente de las dosis aplicación.

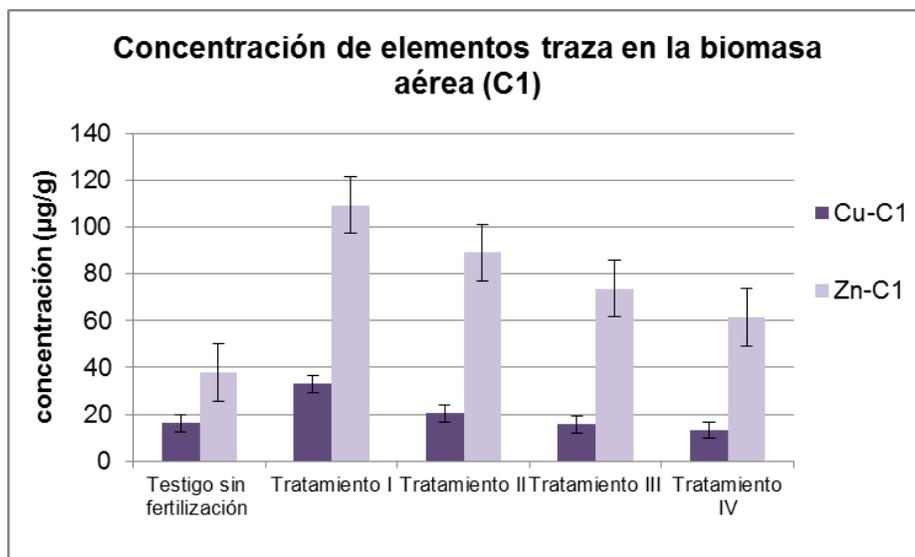


Figura 4.2 Concentración de Cu y Zn al primer corte (C1: 30 días) determinado en las muestras de forraje.

Se efectuó un análisis estadístico no paramétrico de la varianza (prueba de Kruskal Wallis) para las concentraciones medias de Cu en la biomasa foliar para cada uno de los tratamientos aplicados respecto al testigo sin fertilización. Dicho análisis arrojó diferencias significativas (p valor= 0,0319) para los tratamientos I y II respecto del testigo sin fertilización. Las pruebas de comparación de medias no fueron significativas para los tratamientos III y IV respecto al testigo sin fertilización. De estos resultados también se desprende que la aplicación de enmiendas orgánicas fue más efectiva respecto a la aplicación en bandas de las soluciones de CuSO_4 probadas.

Para el Zn, los resultados obtenidos muestran una respuesta positiva a la aplicación de todos los tratamientos de fertilización aplicados respecto al testigo (Figura 4.2). Al igual que para el cobre, los incrementos en la concentración promedio en la biomasa foliar fueron superiores ante el agregado de excretas intensivas en el tratamiento I respecto el tratamiento II (T1: 109,3 $\mu\text{g/g}$; TII: 89,05 $\mu\text{g/g}$; Testigo sin fertilización: 37,87 $\mu\text{g/g}$). En cuanto a la aplicación en bandas de las diferentes soluciones de ZnSO_4 probadas, los

incrementos en la concentración promedio de Zn en las muestras de forraje permiten inferir una respuesta positiva a la fertilización respecto a las muestras correspondientes al testigo; sin embargo las respuestas obtenidas respecto a la aplicación de excretas intensivas fueron menores.

Del análisis no paramétrico de la varianza, se obtuvieron diferencias significativas para la concentración media de Zn determinada en la biomasa foliar, para todos los tratamientos de fertilización aplicados (orgánicos e inorgánicos) respecto al testigo sin fertilización (p valor=0,0148). Así mismo, cabe destacar que las concentraciones promedio de Zn obtenidas a partir de la aplicación de enmiendas orgánicas presentaron diferencias significativas respecto al testigo sin fertilización mientras que las concentraciones promedio de Zn para los tratamientos inorgánicos mostraron semejanzas al testigo sin fertilización en la comparación de medias a pares.

Como se discutió en el Capítulo 3, las muestras de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción animal analizadas en este trabajo de tesis presentaron mayores concentraciones de Cu y Zn respecto a excretas provenientes de sistemas pastoriles sin suplementación. Así mismo, del fraccionamiento secuencial de dichas excretas se obtuvieron mayores porcentajes de fracción soluble e intercambiable para dichos metales en comparación a las excretas extensivas. Estos resultados señalan una posible contribución de formas lábiles de elementos traza a los suelos, al utilizar dichas excretas como fertilizantes orgánicos. Esto es debido no sólo al aporte de formas biodisponibles sino también las formas relativamente resistentes (unida a materia orgánica y unida a carbonatos o fracción inorgánica) presentes en las excretas, ya que son más lábiles en el medioambiente que aquellas fracciones residuales de origen geológico presentes en los suelos.

De la prueba preliminar de fertilización efectuada en el Capítulo 3, se obtuvieron mayores concentraciones de Cu y Zn en la biomasa foliar de las especies forrajeras utilizadas (raigrás perenne y trébol blanco) al primer corte (30 días). Este hecho podría ser explicado debido principalmente al aporte de formas biodisponibles de las excretas intensivas utilizadas como enmiendas orgánicas calculada en función de la tasa de fertilización utilizada en dicha experiencia. Así mismo, la revisión bibliográfica realizada a nivel nacional e internacional no sólo permitió apoyar éstos resultados obtenidos, sino que contribuyó a la suma de factores que afectan la solubilidad y la movilidad de los metales

traza en suelos enmendados y que por tanto afectan la fitobiodisponibilidad de los mismos (pH del suelo, potencial redox, materia orgánica, etc.) (Ahumada *et al.*, 2009; Leita *et al.*, 1999; Logan *et al.*, 1997; Mendoza *et al.*, 2006; Torri y Lavado, 2009).

En el ensayo efectuado en parcelas se decidió fertilizar según el contenido total de Cu y Zn determinado previamente en las excretas procedentes de sistemas intensivos de producción bovina. Si bien la aplicación de fertilizantes orgánicos se efectúa a partir del contenido de N total de los mismos; a partir de los resultados obtenidos la prueba preliminar de fertilización en el Capítulo 3 se determinó que el aporte total y de formas biodisponibles de Cu y Zn utilizando una tasa de fertilización de 250 kg N / ha era bajo. Sin embargo, la utilización de mayores cantidades de excretas no implicó un exceso en la proporción de N total permitido para la aplicación en suelos. Así mismo, el incremento del porcentaje de materia orgánica agregada y los cambios en el pH de los suelos enmendados, podrían explicar la menor respuesta a la fertilización en el TII respecto al TI y el testigo sin fertilización para ambos metales analizados, lo que también se corresponde a los resultados obtenidos en trabajos publicados y discutidos en el capítulo anterior (Korboulewsky *et al.*, 2002; Mantovi *et al.*, 2003).

Para ambos metales analizados, la respuesta a la fertilización con formas inorgánicas de Cu y Zn (tratamientos III y IV), fue menor respecto al agregado de enmiendas orgánicas. Para el Cu, las concentraciones halladas al primer corte fueron similares a las determinadas para el testigo sin fertilización, no habiéndose encontrado diferencias significativas para las concentraciones promedio de ambos metales en las muestras de forraje analizadas (Figura 4.2). En el caso del Zn, las concentraciones determinadas en la biomasa aérea de las muestras correspondientes a los tratamientos 3 y 4 fueron mayores que el testigo sin fertilización; y menores respecto a los obtenidos para la fertilización orgánica (tratamientos I y II). Así mismo, no se encontraron diferencias significativas en la concentración promedio de Zn determinada en la biomasa foliar para los tratamientos inorgánicos respecto al testigo sin fertilización ni con los tratamientos de fertilización orgánica en la comparación de medias de a pares.

La eficiencia de la aplicación de fertilizantes inorgánicos en los forrajes depende principalmente de la forma de incorporación de los metales por la planta. Uno de los principales factores involucrados en la captación de metales por parte de las plantas es el contacto del nutriente con la raíz (Voss, 1998). Existen tres mecanismos de contacto del

micronutriente con la raíz a saber: intercepción, flujo de masas y difusión. La importancia de cada uno de estos mecanismos en la dinámica de absorción por la planta es lo que define una guía para el mecanismo de aplicación de micronutrientes a partir de fertilizantes más adecuada. El mecanismo de intercepción se da a partir del contacto con los iones que se encuentran en el complejo de intercambio de arcillas y materia orgánica del suelo. El cobre y el hierro por lo general se llevan a cabo en el complejo de cambio, y en menor medida para el zinc. La difusión es el movimiento de iones a partir de una concentración más alta a una de menor concentración (Grusak *et al.*, 1999). Ya sea que los nutrientes lleguen a la superficie de la raíz por la intercepción de la raíz o de flujo de masa y son absorbidos por la planta, la concentración de los nutrientes baja y se puede producir difusión. La captación de manganeso, zinc, y en cierta medida de hierro y molibdeno se ha demostrado estar relacionada con el movimiento por difusión en el suelo (Kumar *et al.*, 2016). Siendo entonces la intercepción de raíz y la difusión los mecanismos de absorción de Cu y Zn respectivamente, se sugiere a partir de esto la aplicación en bandas o por difusión. Si bien lo explicado anteriormente tiene gran relevancia, la captación de micronutrientes por las plantas es un proceso complejo que también depende de muchos otros factores que incluyen; la concentración de los nutrientes, características físicas y químicas del suelo, el sistema de raíz de la planta, el régimen de agua en el suelo, y la evapotranspiración de la planta (Darrah, 1993). Así mismo, dado que la incorporación de Cu y Zn en primera instancia por parte de las plantas es mayormente por difusión de iones en solución, y las formas más comunes son Cu^{+2} y Zn^{+2} , la elección de sulfato de zinc y sulfato de cobre es siempre la más utilizada, ya sea en forma de polvo o granulada, debido a que son completamente solubles en agua y son de rápida disposición de la planta después de la aplicación al suelo. Así mismo, se sugiere siempre tasas de aplicación altas debido a la interacción de los metales con el suelo, ya sea, por ejemplo, por complejación con materia orgánica como en el caso del Cu (Obrador *et al.*, 2013; Zaho *et al.*, 2015). De esta forma, la gran variedad de factores mencionados anteriormente que pueden modificar la respuesta a la aplicación de fertilizantes inorgánicos, podrían haber estado implicados en las diferentes respuestas a la fertilización en nuestro ensayo.

De la revisión bibliográfica realizada, los estudios que analizan la efectividad de la fertilización inorgánica respecto la aplicación de enmiendas orgánicas como fuente de elementos traza, son por demás escasos y de larga data. Debido a esto, el ensayo de

fertilización en parcela efectuado en este trabajo de tesis doctoral es una de las primeras contribuciones efectuadas en el tema, de importancia en nuestro país.

Gupta (1989) analizó la repuesta a la aplicación de diferentes tasas de sulfato de Cu en alfalfa, raigrás perenne y algunos cereales. La aplicación tanto foliar como a los suelos de tasas crecientes de sulfato de cobre resultó en un incremento en la concentración de dicho metal en el forraje. Así mismo, los incrementos observados fueron muy bajos respecto al control sin fertilización, sobre todo en aquellas muestras correspondientes al agregado de CuSO_4 a los suelos, ya que la aplicación foliar permite una adsorción de Cu a la pared de la hoja lo que mejora la respuesta a la fertilización. En nuestro trabajo no se utilizó fertilización foliar ya que no se recomienda la misma por el alto riesgo de daño de la hoja. Wang *et al.* (2012) realizó un estudio para determinar la eficacia de los métodos de aplicación de Zn en: (i) el rendimiento de la producción de materia seca y grano de maíz y trigo, y (ii) las concentraciones de Zn y Fe de granos de maíz y trigo. A partir de dicho estudio se obtuvieron respuestas positivas a la fertilización con sulfato de zinc siendo más efectivo la aplicación de sulfato de Zn en el suelo respecto a la aplicación foliar en la concentración de Zn encontrada en las hojas de aparición más temprana (Control: $22,98 \text{ mg kg}^{-1}$; Suelo: $26,42 \text{ mg kg}^{-1}$, Foliar: $25,50 \text{ mg kg}^{-1}$). No se encontraron respuestas positivas a la fertilización con Zn en los suelos y la concentración en granos de maíz y trigo. La efectividad de aplicación de sulfato de zinc sobre los suelos y su relación con la concentración a nivel de grano de maíz se encontró relacionada con el contenido DPTA extractable de zinc. Esto fue altamente dependiente con la tasa de aplicación y la repetitividad de la misma. El efecto de la aplicación Zn a los suelos sobre la concentración de Zn en los granos de trigo y maíz, dependieron en dicho estudio según las características del suelo que afectan la disponibilidad Zn, incluyendo altos valores de pH de los suelos y la alta concentración de Ca^{+2} (Alloway, 2009). En este experimento, se lograron más alto de granos concentraciones de Zn utilizando aplicación foliar así como aplicaciones foliares y de suelo simultáneas. Los autores concluyeron que las aplicaciones de Zn directamente sobre los suelos no son eficaces para corregir la deficiencia de Zn en cultivos de maíz y de trigo. Por otra parte, estudios que analizan los cambios en la concentración de DTPA-extraíble de zinc, hierro, manganeso y cobre en los suelos después de la fertilización, explican que el uso de fertilizantes inorgánicos de forma directa a los suelos modifica el porcentaje de formas extractables de metales traza lo que debe ser considerado conjuntamente con el poder residual post aplicación de los mismos.

De forma general las formas solubles y extractables de Cu y Zn decrece rápidamente luego de la primera semana pos aplicación del producto (Follett y Lindsay, 1971).

4.3.2. Concentración de Cu y Zn en la biomasa aérea foliar a los 90 días (C2)

Al segundo corte (C2: 90 días), las concentraciones promedio de Cu y Zn determinadas en la biomasa aérea para los diferentes tratamientos aplicados se reportan en el Cuadro 4.4:

Tratamiento	Cu-C2	Zn-C2
Testigo sin fertilización	6,7 ± 1,7	34,1 ± 6,3
Tratamiento I	7,9 ± 2,2	35,9 ± 6,5
Tratamiento II	9,6 ± 2,1	42,4 ± 12,0
Tratamiento III	6,7 ± 1,7	35,2 ± 4,7
Tratamiento IV	6,1 ± 2,0	30,7 ± 12,6

Cuadro 4.4 Concentración en µg/g obtenido en las muestras de forrajes al segundo corte (C2: 90 días)

Al segundo corte, las concentraciones de Cu y Zn determinadas en la biomasa foliar para el testigo sin fertilización de encontraron dentro del rango considerado normal para especies forrajeras. En la Figura 4.3 se puede observar que las concentraciones determinadas de Cu y Zn en los forrajes que recibieron la aplicación de excretas intensivas fueron levemente superiores respecto al testigo sin fertilización, mientras que las concentraciones determinadas para los forrajes de los tratamientos III y IV no mostraron diferencias respecto al testigo sin fertilización.

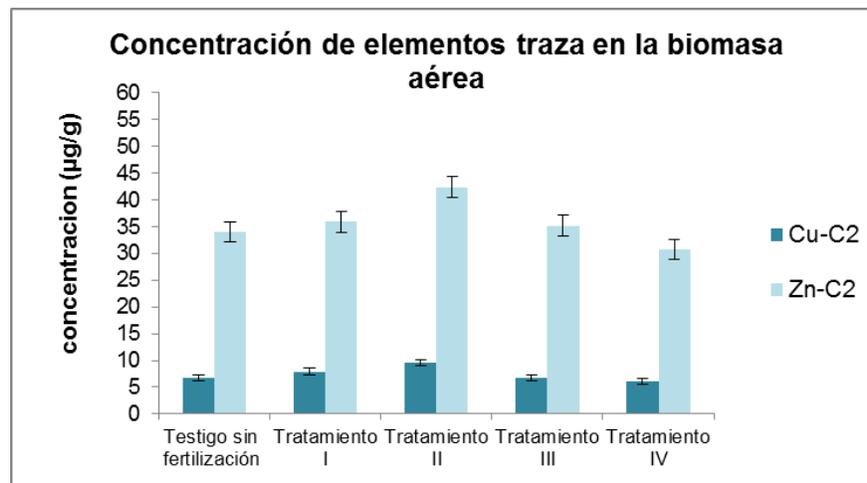


Figura 4.3 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Cu y Zn determinados en las muestras de forraje obtenidas al segundo corte (C2) a los 90 días post fertilización.

Del análisis estadístico no paramétrico de la varianza, no se obtuvieron diferencias significativas en las concentraciones promedio de Cu y Zn en la biomasa foliar para los diferentes tratamientos aplicados en el ensayo en parcelas desarrollado ($p > 0,05$).

Si se comparan los resultados de ambos cortes, se puede observar una disminución en los valores de concentración promedio de Cu y Zn en todas las muestras de forraje obtenidas al primer corte respecto las concentraciones obtenidas de las muestras de forrajes obtenidas al segundo corte, hecho que se da en todos los tratamiento aplicados. De esta manera, se observa que respecto al primer corte no sólo no se observan diferencias entre las concentraciones promedio de los metales analizados los 90 días post aplicación de los diferentes tratamientos de fertilización aplicados, sino que se produce una disminución de la concentración promedio de los diferentes metales evaluados. Los resultados reportados anteriormente podrían verse explicados a partir de factores propios de la dinámica de crecimiento de forraje a lo largo del período evaluado, factores propios de los tipos de fertilizantes utilizados, como así también factores del sistema suelo-planta que modifican la movilidad de elementos traza post aplicación de tratamientos.

Las pasturas son entidades dinámicas en las cuales la producción y pérdida de forraje ocurren en forma simultánea (Colabelli *et al.*, 1998), como consecuencia de los procesos

de crecimiento y senescencia. Por ello, la cuantificación de los procesos de aparición, expansión y senescencia foliar a nivel de macollos de gramíneas (morfogénesis), brinda información básica para comprender la dinámica de la producción y pérdida de forraje. Particularmente las gramíneas muestran un sincronismo entre la aparición de una hoja nueva y el comienzo de la senescencia de la hoja más vieja (Agnusdei *et al.*, 2001), lo cual explica que la velocidad de producción de órganos foliares esté en relación directa con el crecimiento neto de la cubierta vegetal (crecimiento neto = crecimiento bruto - senescencia). Las hojas de las gramíneas tienen un ciclo de vida limitado. Luego de crecer, cada hoja comienza a senescer y muere. Las gramíneas forrajeras tienen un máximo número de hojas vivas y llegado ese valor, por cada hoja nueva que se produce, la hoja más vieja muere (Davies, 1988). Por ejemplo, en raigrás perenne el promedio de hojas vivas por macollo raramente excede 3, y la aparición de una cuarta hoja tiende a ser contrabalanceada por la pérdida de la primera que se formó. De esta manera, la tasa de recambio foliar es la que limita la utilización de la pastura ya que cuanto más alta es la tasa de aparición de hojas producen más altas pérdidas de defoliación por senescencia, como es el caso de raigrás perenne y especies forrajeras similares. A modo de ejemplo, en el Cuadro 4.5 se adjuntan datos de disponibilidad para una pastura implantada dentro del predio de la facultad cuya composición principal es raigrás perenne para el período experimental evaluado en nuestro trabajo. Puede observarse que la productividad de la pastura presenta un pico máximo dos semanas post pastoreo al ras de la misma, decayendo posteriormente, siendo coincidente esto con los incrementos máximos de tasa de crecimiento, dados cada 15 días

Fecha	Tasa crecimiento (kg MS/ha/d)	Productividad Pastura (kg MS/ha/sem)	Stock de forraje (kg MS/ha)
04-sep	23	158	1256
11-sep	44	309	1359
26-sep	46	1010	1721
10-oct	67	470	1650
17-oct	41	285	1866
27-oct	116	1390	1877
03-nov	94	281	2250

Cuadro 4.5 Tasa de crecimiento, productividad y stock de pastura implantada de *Raigrás Perenne* sometida a pastoreo rotacional, durante 90 de evolución. Datos aportados por Cátedra de Nutrición y Alimentación Animal, FAUBA.

Dentro de los factores que afectan al contenido mineral de una especie, las etapas del desarrollo influyen en gran medida sobre las variaciones en su composición. En general, tanto los minerales más importantes, como la digestibilidad y proteínas, declinan con la madurez del forraje a medida que los contenidos celulares y tejido metabólico disminuyen. En la mayoría de las gramíneas, en los estados fenológicos avanzados hay una disminución de la foliosidad y un incremento de la relación tallo:hoja. Esto ocasiona grandes diferencias en el valor nutritivo de dichas partes de la planta. Todos estos factores determinan la necesidad de poseer información detallada de las fracciones de la planta (principalmente hoja y pseudotallo) y en los estados de crecimiento donde se producen los cambios más importantes (Hidalgo *et al.*,2002).

Existen trabajos publicados respecto a la variación del contenido mineral en forrajes de acuerdo a la dinámica de crecimiento. Grings *et al.* (1995) evaluó la variación espacial y temporal de las concentraciones de minerales en los principales forrajes que crecen en la Gran Llanura del Norte, en EE. UU., encontrando una gran variabilidad en la concentración de minerales en tejidos vivos y muertos de acuerdo a la estacionalidad del crecimiento. Hidalgo *et al.* (2002) evaluó a nivel nacional las concentraciones de calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio en especies forrajeras típicas de pastizales de la

Pampa Deprimida en la provincia de Buenos Aires (Argentina). Los autores determinaron que para la mayoría de los macrominerales se encontró una disminución del contenido mineral con el aumento de la madurez de las especies forrajeras analizadas. Así mismo, concluyeron que la variabilidad fenológica observada en las especies estudiadas se debería a los cambios que el contenido mineral sufre con la estación del año, ya que la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la capacidad del sistema radical de absorberlos están afectados por los patrones climáticos (Greene *et al.*, 1987). Asimismo, la madurez fisiológica de la planta ejerce un importante control sobre la absorción de nutrientes (Mayland y Shewmaker, 1997). Fleming y Murphy (1968) determinaron para Cu una disminución del contenido en plantas con estado de madurez avanzado mientras que para Zn no determinó cambios según el estado de madurez. El cambio en el contenido del elemento mineral que se produce durante el crecimiento de una hierba es en parte un efecto de dilución. La absorción de minerales y elaboración fotosintética de los hidratos de carbono no tienen lugar en la misma proporción. Cuando las especies forrajeras se encuentran en estadios tempranos del desarrollo, la absorción mineral es relativamente rápida y mientras que la producción de materia seca es más bien lento (Yoshihara y Sato, 2013). A medida que el crecimiento continúa, cuando se están formando las áreas fotosintéticas grandes y activas, la producción de materia seca puede superar a la absorción de elementos minerales, conduciendo a una reducción en el nivel cuando se calcula sobre una base de materia seca. Durante este tiempo también hay una redistribución de los elementos dentro de la planta y la variación entre, e incluso dentro de los diferentes órganos puede ser bastante grande (Gosh *et al.* 2015).

En relación a lo mencionado anteriormente, en el Cuadro 4.6 y el Cuadro 4.7 se muestran los datos obtenidos de la concentración de Cu y Zn en ppm en las diferentes partes de muestras de planta entera tomadas al azar luego de 90 días pos aplicación de los tratamientos a evaluar. Como se explicó en la sección de materiales y métodos, dentro de cada franja de 1 m² de superficie correspondiente a los diferentes tratamientos de fertilización, se procedió a la subdivisión de la parcela en cuatro a fin de obtener réplicas para cada corte. Así mismo, una parte de estas réplicas fue preservada sin cortar a fin de obtener datos del contenido minerales en las plantas que no fueran sometidas a corte, y continuaran el ciclo de crecimiento completo (véase Figura 4.1). Como puede observarse en el Cuadro 4.8, la comparación entre la concentraciones de Cu y Zn determinadas en la biomasa aérea correspondiente a los cortes (30 y 90 días) respecto a las concentraciones

determinadas en las hojas en las muestras de planta entera (obtenidas 90 días post fertilización, sin corte alguno), se puede observar que independientemente del tratamiento de, las muestra de forraje correspondientes a periodos de cosecha más largos, poseen menores contenidos de Cu y Zn. Esto podría corresponderse con un envejecimiento de las plantas, acompañado por defoliación natural que sufren los pastizales; o bien también por un efecto dilutorio de crecimiento de la pastura como se discutió anteriormente para otros trabajos publicados.

Concentración de Cu (en $\mu\text{g/g}$)					
Partes de la planta	Testigo	Tratamiento I	Tratamiento II	Tratamiento III	Tratamiento IV
Hoja	10,3 \pm 1,7	12,1 \pm 1,9	9,9 \pm 3,3	11,3 \pm 3,6	9,1 \pm 6,0
Tallo	7,9 \pm 1,7	12,3 \pm 2,0	5,1 \pm 1,0	13,1 \pm 6,5	7,1 \pm 1,8
Raíz	17,6 \pm 1,7	19,1 \pm 6,2	12,7 \pm 2,2	16,7 \pm 3,2	21,7 \pm 2,7
Inflorescencia	8,6 \pm 1,9	11,9 \pm 4,6	6,7 \pm 5,2	18,0 \pm 2,9	10,8 \pm 1,3

Cuadro 4.6 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Cu determinada en las diferentes muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia

Concentración de Zn (en $\mu\text{g/g}$)					
Partes de la planta	Testigo	Tratamiento I	Tratamiento II	Tratamiento III	Tratamiento IV
Hoja	40,6 \pm 6,0	43,0 \pm 2,9	43,2 \pm 5,0	42,9 \pm 7,2	73,5 \pm 1,4
Tallo	45,9 \pm 9,2	62,8 \pm 3,3	31,6 \pm 11,6	79,8 \pm 6,2	31,9 \pm 1,3
Raíz	94,4 \pm 16,8	122,0 \pm 4,8	247,8 \pm 11,5	61,6 \pm 2,8	97,5 \pm 9,3
Inflorescencia	41,9 \pm 4,6	32,7 \pm 13,0	28,2 \pm 6,9	54,5 \pm 2,9	43,4 \pm 4,4

Cuadro 4.7 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Zn determinada en las diferentes muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia.

Concentración en hojas	Cu			Zn		
	Corte 1	Corte 2	Planta entera	Corte 1	Corte 2	Planta entera
Testigo sin fertilización	16,1 ± 6,3	6,7 ± 1,7	10,3 ± 1,7	37,9 ± 4,1	34,1 ± 6,3	40,6 ± 6,0
Tratamiento 1	32,9 ± 5,3	7,9 ± 2,2	12,1 ± 1,9	121,1 ± 25,3	35,9 ± 6,5	43,0 ± 2,9
Tratamiento 2	20,3 ± 4,1	9,6 ± 2,1	9,9 ± 3,3	97,2 ± 17,1	42,4 ± 12,0	43,2 ± 5,0
Tratamiento 3	15,6 ± 4,2	6,8 ± 1,7	11,3 ± 3,6	62,5 ± 26,5	35,2 ± 4,7	42,9 ± 7,2
Tratamiento 4	14,5 ± 2,9	6,1 ± 2,0	9,1 ± 6,0	53,0 ± 18,4	30,7 ± 12,6	73,5 ± 1,4

Cuadro 4.8 Cuadro comparativo de las concentraciones de Cu y Zn (en µg/g) obtenidas para las muestras de forraje correspondientes a los cortes 1 y 2 y a las muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia.

Como se explicó en la sección de materiales y métodos, a los 90 días post inicio del ensayo, se colectaron muestras de suelo correspondientes a cada franja de tratamiento y se efectuó el fraccionamiento secuencial de las mismas. En el Cuadro 4.9 se reportan los datos correspondientes a la concentración (en µg/g) y como porcentaje del total (%) de Cu y Zn obtenidos en las muestras de suelo para cada una de las fracciones a saber: INT: intercambiable o soluble; MO: unida a materia orgánica; INORG: inorgánica o unida a carbonatos; RES: residual.

Fracciones	Testigo sin fertilización	Tratamiento I	Tratamiento II	Tratamiento III	Tratamiento IV
INT – Cu	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
OM – Cu	10,8 (32,6%)	7,4 (23,5%)	8,6 (25,6%)	8,8 (25,1%)	8,3 (25,8%)
INOR – Cu	5,5 (16,7%)	3,5 (11,2%)	4,9 (14,6%)	4,8 (13,8%)	3,7 (11,3%)
RES – Cu	6,0 (18,1%)	13,1 (41,9%)	11,4 (34,2%)	12,6 (36,0%)	12,0 (37,1%)
Total Cu (mg/kg)	33,2	31,4	33,4	34,9	32,3
INT – Zn	0,6 (0,6%)	0,8 (0,8%)	0,5 (0,5%)	0,8 (0,8%)	0,4 (0,4%)
OM – Zn	2,3 (2,2%)	2,3 (2,4%)	2,0 (2,1%)	1,1 (1,2%)	1,4 (1,6%)
INOR – Zn	19,0 (18,4%)	15,7 (16,5%)	17,3 (18,4%)	16,6 (16,8%)	12,1 (13,2%)
RES – Zn	79,5 (77,2%)	74,9 (78,6%)	73,0 (77,4%)	79,8 (80,9%)	76,9 (83,7%)
Total Zn (mg/kg)	103,1	95,3	94,3	98,61	91,80

Cuadro 4.9 Contenido de Cu y Zn (en µg/g y como % del total) para las fracciones obtenidas del procedimiento de extracción secuencial. INT: fracción soluble/intercambiable; MO: fracción unida a materia orgánica; INORG: fracción inorgánica; RES: fracción residual. <ld: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada.

Como se desprende del cuadro anterior, ninguno de los tratamientos de fertilización aplicados promueve incrementos en el contenido total de metales respecto al testigo sin fertilización, luego de finalizada la experiencia (90 días). A su vez, los mayores porcentajes de Cu se encuentran en las fracciones unidas a MO y RES independientemente del tratamiento de fertilización aplicado. Cabe destacar que en el caso del Cu la aplicación de los tratamientos promueve un incremento de las formas residuales de Cu, siendo estas aquellas que no pueden ser utilizadas por las plantas. Para el Zn la redistribución se da en mayor porcentaje en las fracciones unida a carbonatos (INORG) y RES, y de manera homogénea para todas las muestras de suelo independientemente del tratamiento aplicado. Así mismo, el aporte de formas biodisponibles es escaso o nulo en el caso del Cu.

Es importante destacar que la aplicación de diferentes tipos de fertilizantes a los suelos (ya sea enmiendas orgánicas o fertilizantes inorgánicos) modifican la distribución del metal en las diferentes fracciones geoquímicas de los elementos traza. Como se analizó en capítulos anteriores el fraccionamiento secuencial de las excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina utilizadas como enmiendas orgánicas en ensayos de siembra y fertilización, arroja resultados bastante diferentes respecto de la matriz suelo. Según la bibliografía consultada, se esperaría que los metales incorporado al suelo a partir de la fertilización se adicione a las fracciones en que se los encuentra principalmente (unida a materia orgánica y residual en el caso del Cu y fracción inorgánica y residual en caso del Zn) generando aumentos en las mismas (Mendoza *et al.*, 2006). Se ha postulado que una vez que los fertilizantes (sobre todo las enmiendas orgánicas) se aplican al suelo, las propiedades de los mismos predominarían en la química de los metales en el corto alcance y que estas propiedades tendría una influencia más pequeña a lo largo de tiempo, siendo el control de las características del suelo las que se fortalecen (Smith, 1996). Así mismo, estos hechos pueden apoyarse en el bajo porcentaje o nulo de formas disponibles de los metales, lo que podría deberse a una mayor sorción de metales a componentes del suelo a tiempos mayores pos aplicación de fertilizantes. Este efecto de menor solubilidad y fitobiodisponibilidad de elementos traza en mayor cuando se incorporan excretas u otras enmiendas orgánicas debido a un contenido significativo de sorbentes aplicados al suelo (Basta *et al.*, 2004). Por otra parte, la disminución observada está de acuerdo con las variaciones de pH que se encuentran en suelos enmendados (Qiao *et al.*, 2003).

En referencia a la interacción suelo enmendado-absorción de metales por la planta, Parkpain *et al.*, (2000) informaron de que la inmovilización de metales aumentó con el tiempo en los suelos sometidos a fuertes aplicaciones de lodos de aguas residuales; sin embargo, una pequeña cantidad de Cu, Zn y Mn se midieron en solución como parte de la fracción biodisponible de las muestras de suelo analizadas. Moreno *et al.* (2002) también informó de una reducción de la toxicidad de metales pesados debido a la adsorción de dichos elementos traza en suelos enmendados, debido principalmente a la adición de materia orgánica y sustancias húmicas presentes en los lodos. Así mismo, según lo informado por Leita *et al.* (1999) los metales que se añaden al suelo luego de la aplicación de este tipo de enmiendas se encuentran en formas orgánicas que no son más disponibles que los metales nativos.

En contraste a diferentes publicaciones consultadas la aplicación de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción con mayores contenidos de Cu y Zn total que la determinada para el suelo control, no incrementa la concentración de dichos metales en las muestras de suelo compostado (Mendoza *et al.*, 2006; Pascual *et al.*, 2004; Torri y Lavado, 2009; Zohu *et al.*, 2005). De igual forma, la aplicación de formas inorgánicas de Cu y Zn no contribuye a incrementar los contenidos totales en los suelos a los 90 días post aplicación. Si bien en la mayoría de los estudios se evalúa el efecto de la aplicación repetida de enmiendas orgánicas, diferentes tasa de aplicación o altas dosis de fertilizantes orgánicos que poseen altos contenidos totales de metales traza, los fines prácticos son los efectos de remediación y potencial de contaminación. Así mismo en la revisión bibliográfica realizada, se encontraron pocos estudios en relación a la incorporación de metales por las plantas pos aplicación de fertilizantes inorgánicos, los efectos de estas aplicaciones sobre la dinámica de metales en suelos y que efectúen una comparación con los efectos de la aplicación de enmiendas orgánicas a largo plazo.

En base al objetivo planteado en este capítulo, el análisis de la incorporación de excretas como fuente de Cu y Zn para las plantas y la comparación con métodos de fertilización inorgánica a través del ensayo en parcela, permite evaluar si las concentraciones alcanzadas post aplicación de las diferentes fuentes de fertilización (orgánica e inorgánica) en las muestras de forrajes analizadas, alcanza o no para satisfacer los requerimientos animales cuando éstos son alimentados a base de pasturas. Es por esto que para poder evaluar el aporte nutricional de las especies forrajeras analizadas en este

trabajo, es importante relacionar su contenido mineral con los requerimientos del ganado. En la Cuadro 4.10 se reportan los valores de Cu y Zn recomendados por el National Research Council (NRC, 2000) para bovinos de carne:

Mineral(mg/k g MS)	Novillos crecimiento y terminación	Vacas de cría		Concentración Máxima Tolerable	Nuestro trabajo	
		Principios de Gestación	Lactación		C1	C2
Cobre (ppm)	10	10	10	100	14,5 - 32,9	6,1 - 8,8
Zinc (ppm)	30	30	30	500	37,9 - 121,1	30,7 - 38,0

Cuadro 4.10 Tabla comparativa de requerimientos de Cu y Zn (mg/kg de materia seca (MS) consumida) en diferentes categorías de bovinos de carne y rango de concentración (en ppm) determinada en las muestras de forrajes obtenidas a los 30 y 90 días (C1-C2)

Como puede observarse en el Cuadro 4.10, independientemente del tratamiento de fertilización utilizado, los valores de Cu y Zn obtenidos al primer corte en las muestras de forraje lograrían cubrir los requerimientos minerales para bovinos de carne. Al segundo corte, las concentraciones alcanzadas en los forrajes, no lograrían cubrir los requerimientos animales de Cu. En el caso del Zn las concentraciones obtenidas se encuentran muy cerca del límite inferior de lo requerido por el ganado. Sin embargo, si bien se establecen los requerimientos específicos para cada mineral, es importante considerar la interacción de los minerales interactúan con otros minerales y otros nutrientes a nivel del tracto gastrointestinal en bovinos. Asimismo, el requerimiento específico de un mineral depende del nivel de los otros minerales presentes en las dietas administradas. Es por esto que deben considerarse todos aquellos factores que afectan los requerimientos minerales. Según la literatura, se sabe que el azufre reduce la absorción de cobre, tal vez a través de la formación de tiomolibdatos a nivel ruminal y de sulfuro de cobre en el intestino reduciendo su absorción (Suttle, 1987). Las altas concentraciones de hierro y zinc también reducen la absorción de cobre y pueden aumentar los requerimientos de dicho micronutriente. Los factores dietéticos que afectan los requerimientos de zinc en los rumiantes aún no se encuentran muy estudiados. Una porción relativamente grande del zinc en los forrajes está asociada con la pared celular de

la planta, pero no se sabe si zinc se asocia con la fibra reduce la absorción (Whitehead *et al.*, 1985). Estos temas serán abordados con mayor detalle en el Capítulo 5.

4.4. Conclusiones preliminares

A partir de los resultados obtenidos del ensayo de fertilización en parcelas, se pudo corroborar que el agregado de excretas provenientes de SI de producción bovina permite incrementar el contenido de Cu y Zn en la biomasa foliar de las muestras de forraje obtenidas al primer corte a los 30 días. Así mismo, se obtuvieron mejores respuestas a la fertilización orgánica utilizando dichas excretas, respecto al uso de fertilizantes inorgánicos, independientemente de la dosis utilizada. Esto puede atribuirse principalmente al mayor contenido de metales en las excretas intensivas y al aporte de formas de elementos traza biodisponibles por parte de las excretas, como así también al efecto que resulta de la aplicación de dichas enmiendas sobre la movilidad y la liberación gradual desde fracciones menos disponibles como las fracciones orgánicas e inorgánicas.

Así mismo, las menores respuestas a la fertilización con sulfato de Cu y sulfato de Zn pueden relacionarse con la forma de aplicación, la dosis y la persistencia del producto en los suelos luego de su incorporación.

Por otra parte, se obtuvieron menores concentraciones de Cu y Zn en las muestras de forraje a tiempos de cosecha más tardíos (90 días pos aplicación de los tratamientos), independientemente del tipo de fertilización aplicado. Esto se relacionó con la dinámica de crecimiento de la pastura, el envejecimiento de los tejidos de las plantas y la defoliación, como así también con un incremento en las formas residuales de Cu y Zn en los suelos enmendados.

Las concentraciones determinadas de Cu y Zn en las muestras de forraje a los 30 días pos aplicación de los tratamientos permitirían cubrir los requerimientos de bovinos de carne para dichos elementos traza, debiendo considerarse también factores del animal y del alimento que pudieran modificar dichos requerimientos.

4.5. Referencias

- Adriano, D.C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals, Environmental Chemistry. doi:10.1007/978-0-387-21510-5
- Agnusdei, M.G., Colabelli, M.R., Fernandez, R., 2001. Crecimiento estacional de forraje de pasturas y pastizales naturales para el sudeste bonaerense. Boletín Técnico 152, 522- 548.
- Ahumada, I., Gudenschwager, O., Carrasco, M.A., Castillo, G., Ascar, L., Richter, P., 2009. Copper and zinc bioavailabilities to ryegrass (*Lolium perenne* L.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) grown in biosolid treated Chilean soils. Journal of Environmental Management 90, 2665–2671. doi:10.1016/j.jenvman.2009.02.004
- Alloway, B.J., 2009. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans, in: Environmental Geochemistry and Health. pp. 537–548. doi:10.1007/s10653-009-9255-4.
- Alloway, B. J., 2008. Micronutrients and crop production: An introduction. En: Micronutrient deficiencies in global crop production, Springer Netherlands. pp. 1-39.
- Andrade, F., Sadras, V., 2000. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. Ed Médica Panamericana. pp 207-232.
- Basta, N.T., Ryan, J. a, Chaney, R.L., 2004. Trace element chemistry in residual-treated soil: key concepts and metal bioavailability. Journal of Environmental Quality 34, 49–63. doi:10.2134/jeq2005.0049dup
- Chang, C., Sommerfeldt, T.G., Entz, T., 1991. Soil chemistry after eleven annual applications of cattle feedlot manure. Journal of Environmental Quality 20, 475–480. doi:10.2134/jeq1991.00472425002000020022x
- Colabelli, M., Agnusdei, M., Mazzanti, A., Labreuveux, M., 1998. El proceso de crecimiento y desarrollo de gramíneas forrajeras como base para el manejo de la defoliación. Boletín técnico, 148.
- Cruzate, G., Casas, R., 2003. Balance de nutrientes. Fertilizar *INTA8*, 7-13.
- Cruzate, G. A., Rivero, E., Turati, R., 2006. Cobre, hierro y manganeso: mapas de disponibilidad y reposición en suelos de la región pampeana. En: Actas del XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, I Reunión de Suelos de la Región Andina, Salta.
- Darrah, P.R., 1993. The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. Plant and Soil 155–156, 1–20. doi:10.1007/BF00024980
- Davies, P., 1988. Estudio sobre interferencia en la etapa de establecimiento de especies forrajeras utilizadas en el mejoramiento de zonas altas (Gran Bretaña). En: Jornadas Técnicas de la Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.

- Davis, R. D., Beckett, P. H. T., Wollan, E., 1978. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant and Soil* 49, 395-408.
- Echeverría H.E, Ferrari J., 1993. Relevamiento de algunas características de los suelos agrícolas del sudeste bonaerense. Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce. Boletín Técnico 112.
- Espósito G., Balboa, G., Castillo C., Balboa R., 2011. Disponibilidad de zinc y respuesta a la fertilización del trigo en el sur de Córdoba. En: 8^{vo} Simposio Fertilidad 2011: La nutrición de cultivos integrada al sistema de producción. F.O. García y A.A. Correndo (Eds.). IPNI-Fertilizar AC.
- Fan, M.S., Zhao, F.J., Fairweather-Tait, S.J., Poulton, P.R., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2008. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 22, 315–324. doi:10.1016/j.jtemb.2008.07.002
- FAO, 1999. Guía para el manejo eficiente de la nutrición de las plantas, Dirección de Fomento de Tierras y Aguas.
- Fleming, G. A., Murphy, W. E., 1968. The uptake of some major and trace elements by grasses as affected by season and stage of maturity. *Grass and Forage Science* 23, 174-185.
- Follett, R.H., Lindsay, W.L., 1971. Changes in DTPA-extractable zinc, iron, manganese, and copper in soils following fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 35, 600–602. doi:10.2136/sssaj1971.03615995003500040034x
- Gardner, F. P., Pearce, R. B., Mitchell, R. L., 2003. *Physiology of crop plants*. Iowa State University Press, Ames 1985. pp 327.
- García, F., Micucci, F., Rubio, G., Rufo, M., Daverede, I., 2002. Fertilización de forrajes en la Región pampeana Una revisión de los avances en el manejo de la fertilización de pasturas, pastizales y verdeos. ... *Avances En El Manejo De La* 1–61.
- Garvin, D.F., Welch, R.M., Finley, J.W., 2006. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentration of US hard red winter wheat germplasm. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2213–2220. doi:10.1002/jsfa.2601
- Ghosh, P. K., Palsaniya, D. R., Rai, A. K., & Kumar, S. (2015). Strategies for Higher Nutrient Use Efficiency and Productivity in Forage Crops. In *Nutrient Use Efficiency: from Basics to Advances* (pp. 329-342). Springer India.
- Greene, L. W., Pinchak, W.E., Heitschmidt, R.K., 1987. Seasonal dynamics of mineral forages at the Texas Experimental Ranch. *Journal of Range Management* 40, 502-506.
- Grings, E.E., Haferkamp, M.R., Heitschmidt R.K., Karl, M.G., 1996. Mineral dynamics in forages of the Northern Great Plains. *Journal of Range Management* 49, 234-240
- Grusak, M.A., Pearson, J.N., Marentes, E., 1999. The physiology of micronutrient homeostasis in field crops. *Field Crops Research* 60, 41–56. doi:10.1016/S0378-

4290(98)00132-4

- Gupta, U.C., 1989. Copper nutrition of cereals and forages grown in Prince Edward Island. *Journal of Plant Nutrition* 12, 53–64. doi:10.1080/01904168909363935
- Hidalgo, L.G., Bianchini, M.R., Eyherabide, G., n.d. Composición mineral en especies de pastizal de la Pampa Deprimida 17, 5–10.
- Korboulewsky, N., Bonin, G., Massiani, C., 2002. Biological and ecophysiological reactions of white wall rocket (*Diplotaxis eruroides* L.) grown on sewage sludge compost. *Environmental Pollution* 117, 365–370. doi:10.1016/S0269-7491(01)00165-8
- Kubota, J., 1983. Copper status of United States soils and forage plants. *Agronomy Journal* 75, 913-918.
- Kumar, V., Kumar, M., Shrivastava, N., Bisht, S., Sharma, S., Varma, A., 2016. Interaction Among Rhizospheric Microbes, Soil, and Plant Roots: Influence on Micronutrient Uptake and Bioavailability. En: *Plant, Soil and Microbes*. Springer International Publishing. pp. 169-185
- Lavado, R.S., 2006. Concentration of potentially toxic elements in field crops grown near and far from cities of the Pampas (Argentina). *Journal of Environmental Management* 80, 116–119. doi:10.1016/j.jenvman.2005.09.003
- Logan T.J., Lindsay, B.J., Goins, L.E., Ryan J.A., 1997. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops: sludge rate response. *Journal of Environmental Quality* 26, 534–550.
- Leita, L., Nobili, M. De, Mondini, C., Mulbachova, G., Marchiol, L., Bragata, G., Contin, M., 1999. Influence of inorganic and organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient and heavy metal bioavailability. *Biology and Fertility of Soils* 28, 371–376.
- Mantovi, P., Bonazzi, G., Maestri, E., Marmioli, N., 2003. Accumulation of copper and zinc from liquid manure in agricultural soils and crop plants. *Plant and Soil* 250, 249–257. doi:10.1023/A:1022848131043
- Mayland, H.F., Shewmaker, G.E., 1997. Seasonal changes in forage quality of C-3 grasses on sagebrush grasslands. En: *Proceedings of XXIII International Grassland Congress*. Session 17, 17-18. Winnipeg, Saskatoon, Canadá.
- Melgar, R.J., Lavandera, J., Torres-Duggan, M., Ventimiglia, L., 2001. Respuesta a la fertilización foliar con boro y zinc en sistemas intensivos de producción de maíz. *Ciencia Del Suelo* 19, 109–114.
- Mendoza, J., Garrido, T., Castillo, G., Martin, N.S., 2006. Metal availability and uptake by sorghum plants grown in soils amended with sludge from different treatments. *Chemosphere* 65, 2304–2312. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.012
- Moraghan J.T., Mascagni, H.J., 1991. Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities. En: *Micronutrients in Agriculture*. S.H. Mickelson, R.J. Luxmoore. 2nd ed.-SSA Book Series, no. 4. pp. 371

- Moreno, J.L., Hernández, T., Pérez, A., García, C., 2002. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effects of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. *Apply Soil and Ecology* 21, 149–158
- Moscuzza, C.H., Pérez-Carrera, A.L., Volpedo, A. V., Fernández-Cirelli, A., 2012. Forage enrichment with copper and zinc in beef grazing systems in Argentina. *Journal of Geochemical Exploration* 121, 25–29. doi:10.1016/j.gexplo.2012.06.008
- NRC, 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Nutrient Requirements of Beef Cattle. doi:10.17226/9791
- Obrador, A., Gonzalez, D., Alvarez, J.M., 2013. Effect of inorganic and organic copper fertilizers on copper nutrition in *Spinacia oleracea* and on labile copper in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 4692–4701. doi:10.1021/jf305473f
- Parkpain, P., Sreesai, S., Delaune, R.D., 2000. Bioavailability of Heavy Metals in Sewage Sludge-Amended Thai Soils. *Water, Air & Soil Pollution* 122, 163–182. doi:10.1023/A:1005247427037
- Pascual, I., Antolín, M.C., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M., 2004. Plant availability of heavy metals in a soil amended with a high dose of sewage sludge under drought conditions. *Biology and Fertility of Soils* 40, 291–299. doi:10.1007/s00374-004-0763-1
- Qiao, X.L., Luo, Y.M., Christie, P., Wong, M.H., 2003. Chemical speciation and extractability of Zn, Cu and Cd in two contrasting biosolids-amended clay soils. *Chemosphere* 50, 823–829.
- Rozas, S., Echeverría, H.E., Calviño, P.A., Barbieri, P., Redolatti, M., 1993. Respuesta del cultivo de trigo al agregado de zinc y cobre en el sudeste bonaerense. *Ciencia del suelo* 21, 52-58.
- Shuman, L. M., 1998. Micronutrient fertilizers. *Journal of crop production* 1, 165-195.
- Smith, S.R., 1996. Agricultural recycling of sewage sludge and the environment, Agricultural recycling of sewage sludge and the environment. doi:10.2134/jeq1996.00472425002500060044x
- Suttle, N.F. (1987) The nutritional requirement for copper in animals and man. In: Howell, J. McC. And Gawthorne, J.M. (eds) *Copper in Animals and Man. Volume I*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 21–44.
- Torri, S. I., Urricariet, S., Lavado, R. S., 2011. Micronutrient availability in crop soils of the pampas region, argentina. In: *Soil Nutrients*. Nova Science Publishers, Inc. Editor: Mohammad Miransari, pp.
- Urricariet, S., Lavado, R.S., 1999. Indicadores de deterioro en suelos de la Pampa Ondulada. *Ciencia del Suelo* 17: 37-44.
- Torri, S., Lavado, R., 2009. Plant absorption of trace elements in sludge amended soils and correlation with soil chemical speciation. *Journal of Hazardous Materials* 166, 1459–1465. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.12.075
- Voss, R., 1998. Micronutrients. Iowa State Univ., Ames, IA. Disponible en:

<http://www.agronext.iastate.edu/soilfertility/nutrienttopics/secmicronutrients.html>

- Wang, J., Mao, H., Zhao, H., Huang, D., Wang, Z., 2012. Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau, China. *Field Crops Research* 135, 89–96. doi:10.1016/j.fcr.2012.07.010
- Whitehead, D. C., Goulden, K. M., Hartley, R. D., 1985. The distribution of nutrient elements in cell wall and other fractions of the herbage of some grasses and legumes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36, 311-318.
- Yoshihara, Y., Sato, S., 2013. Seasonal change and distribution of grass nutritive values and minerals in an open pasture surrounded by forest. *Agroforestry Systems* 87, 901–907. doi:10.1007/s10457-013-9606-0
- Zhao, A. Q., Tian, X. H., Chen, Y. L., Li, S., 2015. Application of ZnSO₄ or Zn-EDTA fertilizer to a calcareous soil: Zn diffusion in soil and its uptake by wheat plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96, 1484–1491. Doi: 10.1002/jsfa.7245
- Zhou, D.M., Hao, X.Z., Wang, Y.J., Dong, Y.H., Cang, L., 2005. Copper and Zn uptake by radish and pakchoi as affected by application of livestock and poultry manures. *Chemosphere* 59, 167–175.

Capítulo 5.

Metabolismo de micronutrientes en rumiantes

5.1. Introducción

En capítulos anteriores se realizó una descripción detallada de la composición de las raciones de alimentos en animales en confinamiento. Así mismo, se refirió que dichas raciones incluyen suplementos vitamínico/minerales que contienen macro y micronutrientes en distintas formas químicas. Los elementos traza suelen aportarse en formas de sales como por ejemplo los sulfatos de cobre y zinc, o selenito de sodio para el selenio (Thompson *et al.*, 1990). El criterio para la utilización de dichas fuentes de suplementación depende de factores tales como la absorción del elemento, deposición en los tejidos, producción de compuestos metabólicamente activos, etc.

Del mismo modo, en el Capítulo 2 se mencionó que el principal aporte de minerales a los animales en pastoreo, se realiza mediante plantas y productos vegetales; de modo tal que la especie y la fase de madurez de las plantas, el tipo de suelo y el clima, así como las condiciones estacionales resultan factores importantes en la nutrición mineral (Kabata-Pendias, 2011). La suplementación mineral en animales de pastoreo puede resultar problemática; ya que la ingestión de los suplementos (por ejemplo bloques de sales) depende de la estación, las condiciones climáticas, situación y número de bloques, frecuencia de renovación y disponibilidad de agua (Suttle, 2010).

Ciertos elementos traza pueden administrarse en forma de bolos o píldoras intraruminales mediante el uso de pistolas dosificadoras. Este tipo de suplementación permite la liberación lenta y progresiva de los elementos minerales a suplementar. Una de las ventajas está en la inclusión de más de un elemento traza como así también la administración conjunta con suplementos vitamínicos o bien antihelmínticos (Kendal *et al.*, 2001).

En este sentido, a fin de satisfacer los requerimientos minerales de los animales, es importante no sólo conocer la concentración de los elementos traza presentes en los alimentos y suplementos dietarios ofrecidos, sino también el grado en que éstos son

solubilizados en el tracto gastrointestinal. En rumiantes, la cavidad rumino-reticular debe ser considerada como el sitio más importante del tracto digestivo, ya que factores tales como el pH, osmolaridad e interacción con otros elementos minerales en el ambiente ruminal pueden condicionar la disponibilidad biológica de los minerales, lo que determinaría una baja absorción y una menor eficiencia de utilización de los mismos.

A continuación se realizará una breve descripción de los aspectos más relevantes del metabolismo del cobre y el zinc en rumiantes, y los factores del alimento que influyen en la disponibilidad de los mismos a nivel ruminal.

5.1.1. Aspectos generales del metabolismo del Cu y Zn en rumiantes

Estudios previos efectuados sobre animales de laboratorio muestran que la absorción de cobre (A_{Cu}) es facilitada por proteínas específicas (CRT1) y no específicas (DMT) de transporte en la mucosa intestinal, regulado esto fuertemente por los requerimientos de cobre de los animales (Prohaska, 2006; Hansen *et al.*, 2008a). Sin embargo, en los rumiantes destetados la A_{Cu} está determinada en gran medida por los procesos digestivos en el rumen. Los rumiantes degradan fuentes orgánicas e inorgánicas de azufre a sulfuro (S^{2-}), sumando a este hecho fallas en la degradación de un 30-50% de la materia orgánica (Minatel *et al.*, 2013). Gran parte del cobre que se libera durante la digestión ruminal se precipita como sulfuro de cobre (CuS) y no es absorbida, mientras que la liberada durante la digestión postruminal puede llegar a ser complejada con componentes no digeridos (Rosa *et al.*, 2008). Los protozoos del rumen son particularmente importantes como generadores de S^{2-} y de modo tal que el aislamiento o la administración de ionóforos anti protozoarios pueden aumentar la A_{Cu} (Newbold *et al.*, 2015). La capacidad de un alimento en satisfacer las necesidades de cobre o causar envenenamiento crónico (CCP) depende más de A_{Cu} que de la concentración de cobre que la alimentación contiene. Los incrementos en la concentración de azufre y molibdeno en los forrajes poseen mayores efectos inhibidores sobre la A_{Cu} . Cuando se ofrecen alimentos con altos contenidos de molibdeno, así como también azufre, se promueve la formación de tiomolibdatos (TMS) a nivel ruminal (Engle y Sellings, 2015). Estos no sólo forman complejos estables con el cobre sino que también lo dejan firmemente unido al material particulado, lo que reduce aún más A_{Cu} , disminuyendo su absorción hasta el 1 % del Cu ingerido. Algunos tiomolibdatos se absorben y afectan el metabolismo sistémico de cobre (Clarke y Laurie, 1980). Los tiomolibdatos pueden encontrarse fuertemente unidos a la albúmina

plasmática, generando que el Cu no esté disponible para las funciones bioquímicas, y pueden así también inhibir directamente ciertas enzimas cobre-dependientes. Antagonismos entre el cobre y el hierro también influyen en la absorción de cobre dietario (Suttle, 2012). El uso de suplementos con bajas concentraciones de cadmio puede reducir la transferencia placentaria de cobre en ovejas y vacas, y esta interacción puede ser importante cuando se ha aumentado el contenido de cadmio en forraje por el uso de superfosfatos con alto contenido de este metal pesado (Zantopoulos *et al.*, 1999). Del mismo modo, los valores bajos A_{Cu} observados en el otoño en animales en pastoreo pueden reflejar en parte un aumento en la infección por nematodos de las larvas en el pasto (Hucker y Young, 1986).

Tantos los cuadros de deficiencia como de toxicidad por Cu se explican entendiendo aspectos importantes del metabolismo de dicho elemento traza. Los ajustes a la gran variabilidad de fuentes de suplementación de Cu, están en su mayor parte controlados por la absorción, almacenamiento hepático y secreción biliar del mismo (López-Alonso *et al.*, 2005). La importancia relativa de cada proceso y los resultados de la suplementación u oferta dietaria (marcada por la relación Cu en la dieta vs. cobre hepático) varían ampliamente entre las especies; aquellos que se enfrentan a los riesgos endémicos de deficiencia de cobre (ej. los rumiantes) tienen relativamente pobre control sobre la absorción y la avidez en almacenar el exceso de cobre; mientras que las especies que se encuentran bajo riesgo no endémico de deficiencia (es decir, los no rumiantes) tienen un buen control sobre la absorción y la secreción biliar; lo que les permite mantener los niveles de cobre hepático bajos en un amplio intervalo de cobre ofertado en la en la dieta (Suttle, 1991).

La unión del cobre a proteínas transportadoras no específicas (PTM) en la mucosa intestinal es un medio importante de restringir la captación de dicho metal en los no rumiantes expuestos a un exceso de cobre dietario y pueden contribuir a la adaptación en ovinos expuestos a altos niveles dietarios de dicho mineral (Woolliams *et al.*, 1983). Normalmente, el cobre luego de ser absorbido, se une a proteínas específicas de transporte (CRT1), siendo de allí captado por vectores que promoverán el paso final a través de la membrana basolateral hacia el torrente sanguíneo portal, donde la mayoría del metal absorbido llega a unirse a la albúmina. Sin embargo, el transporte de cobre en los tejidos puede tener lugar sin albúmina (Prohaska, 2006). Al alcanzar el hígado, el

cobre es incorporado en un proceso de dos etapas: una primera unión a glutatión y luego a PTM, para luego repartirse entre la secreción biliar y la síntesis de ceruloplasmina (Cp) y almacenamiento (Gooneratne *et al.*, 2011). En los rumiantes, la Cp normalmente constituye una menor proporción de cobre total en plasma respecto a los no rumiantes (80% frente a 95%); las aves tienen muy poco Cp en el torrente sanguíneo. La absorción extra-hepática de cobre se puede llevar a cabo por receptores de Cp en las membranas celulares (McArdle, 1992; Saenko *et al.*, 1994).

La secreción biliar de cobre se encuentra inactiva a nivel fetal, pero se activa luego del nacimiento a fin de permitir tanto el reciclaje entero-hepático de cobre como la excreción de excesos (Prohaslka, 2006). Las pérdidas de cobre por vía biliar en ovinos pueden aumentar más de cinco veces a medida que aumenta la concentración de cobre en hígado (Suttle *et al.*, 2002). En las ingestas elevadas de cobre, el ganado bovino limita el almacenamiento hepático, mientras que en ovinos se activan los mecanismos de secreción biliar. La diferencia puede ser explicada por un umbral más bajo para el almacenamiento de cobre en los lisosomas de la especie bovina (López-Alonso *et al.*, 2005). La excreción urinaria de cobre es normalmente pequeña, constante y no es afectada por la ingesta de cobre en todas las especies, aunque se incrementa en las ovejas por la exposición a molibdeno (Smith *et al.*, 1968).

La absorción de Zn es un proceso homeostáticamente controlado, y regulado por los requerimientos de crecimiento y lactación. La misma puede llevarse a cabo a partir de un mecanismo activo saturable, el cual se produce primariamente en el abomaso y duodeno (Davies, 1980). El ganado ovino y vacuno puede absorber Zn con valores máximos de eficiencia ($^{max}A_{Zn}$) de 0,75 (Underwood y Suttle, 1999). En los animales no rumiantes, los antagonistas de la dieta, pueden establecer un límite en la $^{max}A_{Zn}$; uno de los más potentes de estos antagonistas son los fitatos dietarios, que forman complejos no absorbibles con zinc. En contraste a ello, la presencia de fitatos en la dieta no afecta a la absorción de zinc en los rumiantes con un rumen funcional. Puede destacarse también un segundo proceso de absorción, A_{Zn} pasiva, resultado de la inducción de síntesis de proteínas ligantes de metales (MT proteínas) en la mucosa intestinal (Cousins *et al.*, 2003). Este mecanismo, puede mejorar la absorción de Zn con bajos niveles de zinc dietario, y disminuir la absorción de dicho metal durante la sobrecarga dietaria proveniente de la administración de suplementos (Lönnerdal, 2000). Una porción relativamente grande

del zinc en los forrajes está asociada con la pared celular de la planta, pero no se sabe si esta asociación del zinc con la fibra reduce la absorción (Whitehead *et al.*, 1985).

El zinc absorbido es transportado en el torrente sanguíneo portal ligado a la albúmina plasmática, lo que representa alrededor de dos tercios de las concentraciones plasmáticas de zinc. El zinc también está presente en el plasma como una α -2-macroglobulina y como trazas de metalotioneína (MT). La inducción de la síntesis hepática de MT, juega un papel clave en la eliminación de zinc de la circulación portal y la partición entre las diversas vías metabólicas en las que participa (Pechova *et al.*, 2009). Los glucocorticoides y citoquinas actúan regulando dicho proceso (Cousins, 1996). La concentración plasmática de Zn puede encontrarse afectada por varios factores además del aporte dietario, como por ejemplo infecciones microbianas, ayunos prolongados, partos difíciles y estrés calórico (Goff y Stabel, 1990; Orr *et al.*, 1990). A nivel celular, la absorción de zinc se produce por endocitosis del complejo Zn-albúmina presente en el plasma (Rowe y Bobilya, 2000) siendo procesado por transportadores y proteínas Zip. Algunos de estos procesos son estimulados por una baja ingesta de zinc. Al analizar la distribución del Zn en el cuerpo, se observa que el músculo constituye un sitio de reserva y es uno de los tejidos con mayores contenidos de zinc, seguido por el hueso, pero ambos son superados por la lana en ovinos. La mayor parte del zinc en el torrente sanguíneo (80%) está presente en los eritrocitos. La capacidad de almacenar el zinc está poco desarrollada y estudios a corto plazo han mostrado pocos cambios en el tejido de zinc cuando el suministro de zinc en la dieta es variado en un rango moderado (Kincaid, 1999).

La excreción de zinc se produce predominantemente a través de las secreciones pancreáticas y las heces, con poco zinc eliminado en la orina. Sin embargo, existe poca evidencia de la regulación de la pérdida endógena fecal de Zn (Petersen *et al.*, 2007). Experiencias efectuadas en ovinos adultos alimentados a base de heno, que definieron estimaciones directas de pérdidas endógenas fecales de Zn arrojaron resultados de 100 μg de Zn kg^{-1} de peso vivo (PV) y no se vieron afectadas por la ingesta de zinc por encima de lo marginal (Suttle *et al.*, 1982). De todos modos, las pérdidas endógenas fecales de Zn no contribuyen en mayor proporción a la homeostasis de dicho metal, de modo tal que la retención de zinc está estrechamente relacionada con la absorción de zinc (Underwood y Suttle, 1999).

5.1.2. Factores del alimento que influyen en la utilización de cobre y zinc

El nivel de minerales absorbidos y utilizados por los animales depende de muchos factores tales como: el tipo de alimento y la especie animal, el contenido mineral, la ingesta y la digestibilidad de la dieta, la forma y la disponibilidad de los minerales en la dieta, así como el estado mineral del animal (Flachowsky *et al.*, 1994). En el metabolismo mineral, en general se reconoce que el contenido total de un elemento en un componente particular de una ración completa tiene poco significado a menos que se considere su disponibilidad biológica para los animales (Čerešňáková *et al.*, 2005). La relación entre las concentraciones de elementos traza en las plantas, y las cantidades absorbidas y utilizadas realmente por el animal; es compleja y depende de factores tales como la selectividad en pastoreo, el grado de dependencia del animal en la hierba como una fuente de elementos traza, la ingesta alimentaria, la digestibilidad de la dieta, la forma y la disponibilidad de los oligoelementos ingeridos, así como el estado mineral del animal (Kabaija y Smith, 1988).

En la actualidad, los forrajes siguen representando el recurso de alimentación más importante para el ganado. Sin embargo, la calidad del forraje varía según la especie, la variedad, la madurez fisiológica, el nuevo crecimiento, estación, hora de la cosecha, la altura de corte, fertilización y otros factores. En el Capítulo 2 se especificaron las funciones y el contenido de Cu y Zn en los forrajes, fuentes de aporte mineral principales en los sistemas extensivos de producción. En las plantas, el cobre está presente en la activación de varios sistemas enzimáticos y, aparentemente, no puede ser reemplazado por otros iones metálicos. Está implicado en la formación de la pared celular. Es necesario para la síntesis de proteínas y una deficiencia causa una acumulación de compuestos de nitrógeno solubles (Yruela, 2009). El zinc es un componente de varios sistemas de enzimas que intervienen en los mecanismos de transferencia de electrones y en la síntesis de proteínas y la degradación. El zinc es parte de la auxina, una de las enzimas conocidas que regulan el crecimiento de las plantas. Es necesario para la síntesis de la clorofila y la formación de hidratos de carbono (Tsonev y Lidon, 2012).

Las paredes celulares vegetales se encuentran entre los principales factores que han influido en la digestibilidad de los forrajes y su contenido normalmente aumenta en la planta a medida que madura (Decruyenaere *et al.*, 2009). Pocos estudios se han hecho en rumiantes sobre el efecto del contenido de fibra sobre la disponibilidad de minerales o

la desaparición de minerales de los alimentos en el rumen (Flachowsky y Grün, 1992). Estudios realizados se han centrado principalmente en el efecto de las paredes celulares de las plantas o de fibra sobre la digestibilidad de los nutrientes orgánicos, especialmente los hidratos de carbono y las proteínas. Thomson y Weber (1981) especularon que la cantidad de lignina y otros componentes de la fibra dietética pueden actuar como agentes complejantes de los minerales en el intestino. La digestibilidad de la materia seca de los forrajes está influenciada ampliamente por el contenido de las paredes celulares de las plantas. Van Soest (1995), McBumey *et al.* (1983) y otros introdujeron y determinaron la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de las paredes celulares del forraje. Esta es una medida de la capacidad de la matriz fibra de ligar y mantener iones metálicos en su superficie. La presencia de grupos carboxilo, amino u otros sustituyentes hidrófilos puede aumentar el intercambio de iones. La capacidad de intercambio catiónico de las paredes celulares del forraje está relacionado con los efectos de la fibra en la utilización de los minerales en el rumen y el tracto inferior (Van Soest, 1995). Los componentes que contribuyen a la CIC son probablemente lignina, pectinas y, en menor medida, hemicelulosas que contienen los grupos funcionales mencionados anteriormente. Los factores que influyen en la afinidad de los materiales orgánicos en el intercambio catiónico son probablemente los que controlan la adsorción de iones a los coloides del suelo. El porcentaje de desaparición ruminal de los minerales presentes en los alimentos no es equivalente a la disponibilidad de los mismos por los animales, pero permite mostrar algunas conexiones entre los minerales y la degradabilidad ruminal de la pared celular.

Debido a lo mencionado anteriormente, el análisis de los forrajes y alimentos en general es importante para caracterizarlos nutricionalmente y resaltar los nutrientes que son necesarios suplementar, de manera que las raciones se puedan formular de manera efectiva para optimizar la producción animal (Jung y Allen, 1995). Así mismo, permite asegurar la calidad en la elaboración de los mismos, y para la identificación de la presencia y concentración de sustancias indeseables en la alimentación, lo que afecta negativamente a la salud y la productividad de los animales. El análisis de los alimentos es indispensable para el uso eficiente de los recursos y la rentabilidad de la producción ganadera (Givens *et al.*, 2000).

En este sentido, existen diversos métodos de evaluación nutricional de los alimentos, que pretenden predecir la respuesta animal como consecuencia del consumo de distintos tipos

y niveles de alimentos solos o combinados (Jaurena, 2011). En la evaluación de alimentos, el énfasis está centrado en detectar entidades químicas específicas, la capacidad de liberar nutrientes así como características físicas del alimento de importancia relevante. Las valoraciones nutricionales se basan en métodos biológicos siendo las técnicas denominadas *in vivo* aquellas que son usadas como referencia para el desarrollo de otras más sencillas y económicas. La técnica *in situ* o también llamada de la bolsita de nylon (Ørskov *et al.*, 1980) permite estudiar la cinética de desaparición del alimento en el rumen de animales fistulados. El modelo propuesto para describir la cinética de digestión de los alimentos fue Degradabilidad (%) = $a + b(1 - e^{-ct})$, donde:

a = fracción inmediatamente soluble

b = fracción insoluble potencialmente degradable

c = tasa de degradación de b

100 – (a + b) = fracción indigestible

El alimento se coloca dentro de bolsitas de nylon cerradas y luego en el rumen de los animales, el retiro de distintas bolsitas a lo largo del tiempo permite medir la cantidad de material que ha desaparecido. La fracción del alimento que no se recupera dentro de las bolsitas se asume que ha sido degradado, de este modo se construye la curva de desaparición. Esta metodología representó un adelanto muy importante dentro del campo de la nutrición de rumiantes, debido a que permite el estudio de la cinética de degradación. La técnica *in situ* ha mostrado un buen grado de asociación con el consumo y la digestibilidad para alimentos como forrajes frescos y henos (Ørskov, 2000). En el caso de los forrajes frescos y ensilados, es necesario realizar algunas modificaciones a la técnica (ej. incubar material fresco y picado en reemplazo de seco y molido) para garantizar la veracidad de los resultados obtenidos. Varias críticas a la técnica (Huntington y Givens, 1995; Noziere y Michalet-Doreau, 2000; Orskov, 2000) indican que los resultados obtenidos varían de acuerdo con el método de preparación de muestras, lavado y secado, procedimiento, alcance y la naturaleza de las pérdidas de partículas, sitio de incubación, las especies animales huésped y la dieta, tamaño de la bolsa, el tipo de tejido, tamaño de poro, y la eliminación por la contaminación microbiana.

En el Capítulo 2 de este trabajo de tesis doctoral se describieron en detalle los factores propios del suelo y de la planta que podrían dar lugar a la génesis de carencias minerales en sistemas netamente pastoriles de producción animal, haciendo enfoque en cobre, zinc, cobalto y selenio. Así mismo, se describieron los síntomas clínicos que acompañan las deficiencias minerales, y las formas más comunes de suplementación en dichas condiciones de producción. A su vez, en el Capítulo 3 y 4, se evaluó la capacidad de enriquecimiento de forraje en cobre y zinc a partir de excretas enriquecidas en dichos minerales como así también fuentes inorgánicas de fertilización.

Por todo lo descripto anteriormente, y a fin de vincular los contenidos estudiados en capítulos anteriores; se planteó el **objetivo** de evaluar en qué medida los elementos minerales (Cu y Zn) presentes en mezclas forrajeras a base de gramíneas, con y sin aplicación de fertilizantes inorgánicos, son liberados en el rumen a través del uso de la técnica de degradabilidad *in situ*.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Animales y tratamientos

El ensayo se llevó a cabo en el Galpón de Metabolismo de la Facultad de Agronomía (FAUBA), Universidad de Buenos Aires. Se utilizaron cuatro ovinos con cánula ruminal permanente, de raza Texel*Frisona de aproximadamente 80 kg de PV. El ensayo fue presentado y desarrollado bajo las condiciones propuestas por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, a fin de asegurar el bienestar de los animales y el desarrollo de las actividades en el marco de las normas internacionales de ética. Los tratamientos evaluados fueron: forrajes secos y frescos provenientes de un pastizal natural compuestos por especies gramíneas (*Paspalum dilatatum*, *Lolium perenne* y *Stenotaphrum secundatum*), cosechados de una microparcela donde parte de la misma se conservó como testigo sin fertilización; y otra parte fue fertilizada en bandas, directo sobre el suelo, con soluciones de CuSO_4 y ZnSO_4 de alta concentración (1g/L) a capacidad de campo a fin de obtener forrajes enriquecidos en dichos minerales. El ensayo tuvo una duración de 17 días de los cuales 15 fueron de acostumbramiento y 2 de colección de muestras. Los animales fueron alimentados con una dieta base forrajera (pastura implantada cuya especie principal era raigrás perenne), durante el período de acostumbramiento de los mismos. Durante la colección de muestras los animales permanecieron en corrales individuales, siendo los intervalos de pastoreo de las 8:00 a.m. a las 16:00 p.m. durante los 2 días de duración de la incubación. Así mismo, se realizó una estimación indirecta de la disponibilidad forrajera de la parcela utilizada para la alimentación de los animales pre y post pastoreo, mediante la técnica del plato de levante, un instrumento que integra la altura de forraje y la densidad de la pastura en una única medida, denominada "altura del forraje comprimido". El principio de este método es que la biomasa de una pastura podría estar relacionada con la densidad y la altura de sus componentes individuales. A partir de los datos obtenidos se estimó el consumo de materia seca (CMS) por animal, durante dicho período. El agua estuvo disponible durante todo el experimento.

5.2.2. Ensayo de degradabilidad *in situ* o *in sacco*

Las pérdidas de materia seca y minerales (Cu y Zn) *in sacco*, fueron determinadas a partir del uso de la técnica de bolsas de nylon, descrita por Ørscov et al. (1980). Todas las muestras de forraje (control y enriquecido, seco y fresco) fueron procesadas en un animal, con duplicados de las bolsas en cada horario para describir cinética de desaparición. Se depositaron $2 \pm 0,5$ g de materia seca total de forraje en bolsas sintéticas de nylon, con dimensiones de 10 x 5 cm y con un tamaño de poro de 50 ± 3 μ m. El material vegetal (tanto seco como fresco) fue cortado manualmente en fracciones de 1 cm a fin de evitar pérdidas a través de los poros. Las bolsas fueron incubadas en la parte ventral del rumen durante los siguientes tiempos: 3, 6, 9, 12 y 24 h (incubación de orden reverso para cada tiempo, extrayendo todas las bolsas al mismo tiempo). Para asegurar que las bolsas permanecieran en la parte ventral del rumen se agregó una plomada. Así mismo, es importante remarcar que en cada tiempo de extracción se procedió a tomar muestras de licor ruminal (del saco ventral del rumen a través de la misma fístula), las cuales fueron filtradas, y sobre las cuales se efectuaron mediciones del pH ruminal, mediante el uso de un electrodo pHmetro Hanna, modelo HI 9025. Al final de la incubación las bolsas fueron extraídas del rumen, lavadas con agua de corriente (en lavarropas 3 veces x 8 min. c/u) y secadas a 65°C durante 48 h en una estufa de aire forzado para luego ser pesadas. Las pérdidas de materia seca (MS) se estimaron por el cambio en peso de la muestra de alimento en las bolsas antes y después de la incubación ruminal, de acuerdo con la metodología de Ørskov y McDonald(1979), de la siguiente forma:

$$\text{MS desaparecida (\%)} = [(\text{MS inicial} - \text{MS final}) / \text{MS inicial}] \times 100$$

La liberación de Cu y Zn (DM: Desaparición mineral) desde el forraje al rumen fue calculada de la siguiente forma:

$$\text{D M (\%)} = [(\text{contenido mineral (mg) en la MS incubada} - \text{contenido mineral (mg) en el residuo}) / \text{contenido mineral inicial}] \times 100$$

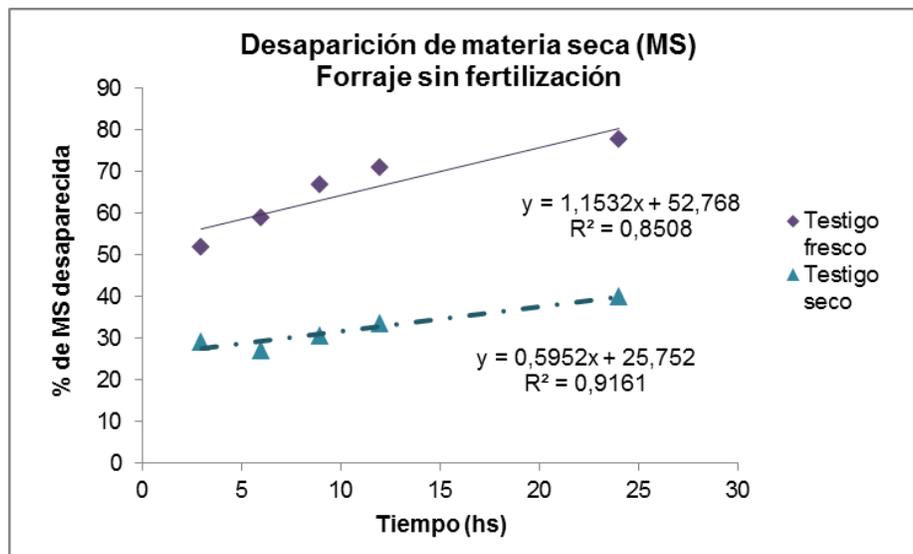
Para la determinación del contenido de Cu y Zn, los residuos incubados, luego del lavado y secado en estufa; se sometió a una digestión ácida en plancha caliente, utilizando una mezcla de HNO₃: HClO₄ (3:1 v/v) (Zhao *et al.*, 1994). Todos los extractos se analizaron por espectrometría de emisión atómica (ICP-OES Optima 2000 DV). En todos los casos, los análisis fueron realizados por triplicado con un error relativo menor al 1 %. Así mismo,

se utilizó material de referencia (spinach leaves, NIST 1570a) con porcentajes de recuperación de 90% para Cu y 70% para Zn.

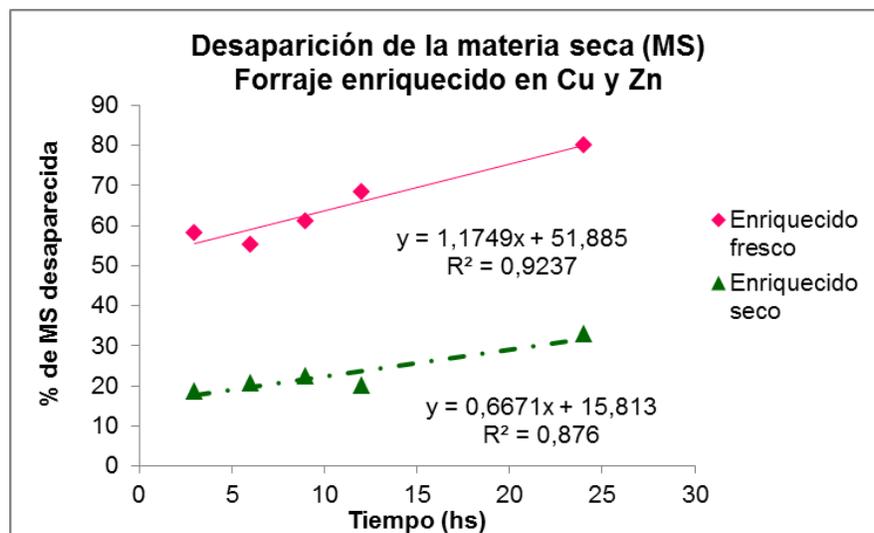
5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Desaparición de la materia seca en rumen

En la Figura 5.1 (a) y (b) se observa que para ambos tratamientos probados (T1: forraje testigo sin fertilización y T2: forraje enriquecido en Cu y Zn) el porcentaje de desaparición de MS en el rumen fue mayor para las muestras de forraje fresco (% MS= 30,4) respecto las muestras de forraje que fueron sometidas a secado en estufa a 65°C (% MS= 87,4) en todos los tiempos de incubación evaluados en el ensayo. Del mismo modo, se efectuó una prueba de comparación de medias para muestras independientes no paramétrica (Prueba de Mann-Withney), arrojando la misma diferencias significativas ($p < 0,0001$) para la degradabilidad promedio de MS en las muestras de forraje fresco respecto de aquel tratado térmicamente en estufa independientemente del uso de tratamiento de fertilización inorgánica.



(a)



(b)

Figura 5.1 a) y b) Porcentaje de desaparición de la materia seca en rumen de las muestras de forraje (fresco y seco) correspondientes al testigo sin fertilización (a) y al forraje enriquecido en Cu y Zn (b).

Se han efectuado varios estudios donde se evalúa el efecto del tratamiento previo de las muestras de forraje (secado en estufa a 65 y 105 °C; frezado de las muestras y posterior secado, secado en microondas, etc.) utilizadas para ensayos de degradabilidad in situ,

como así también trabajos que analizan las diferencias entre sustratos frescos de forraje y el uso de forrajes conservados (henos, silajes, etc.) (Cone *et al.*, 1996; Cushnahan y Gordon, 1995; Dulphy *et al.*, 1999; Hovell *et al.*, 1986; López *et al.*, 1995; Pelletier *et al.*, 2010; Petit y Tremblay, 1992).

Se ha reportado que el tratamiento de secado en estufa de forrajes frescos, puede causar la formación de polímeros de lignina indigestibles (Van Soest y Mason, 1991), lo que puede verse reflejado en un incremento de la concentración de LDA (fracción de lignina detergente ácido). Las altas temperaturas de secado también se asocian con la formación de compuestos químicos derivados del furfural y compuestos fenólicos solubles (Ong y Law, 2010), que puede tener un efecto depresor sobre la degradación de la MS en el rumen. El secado también da lugar a la formación de enlaces puente de hidrógeno entre las cadenas de polisacáridos, sumado a la pérdida de agua, conlleva al colapso de la microestructura de la pared celular y la reducción del volumen de poros accesibles. Los cambios en la microestructura dependen principalmente de la temperatura de secado (Castro *et al.*, 1993), y pueden conducir a una disminución de la accesibilidad a los microorganismos ruminales y enzimas libres. La pérdida de material por volatilización o por formación de complejos (por calentamiento), o el fracaso para exponer el material al ataque microbiano (por maceración inadecuada), promueve principalmente una disminución de las fracciones potencialmente degradables (López *et al.*, 1995).

Para muestras húmedas, el picado previo a la incubación ruminal es probablemente la preparación de la muestra que mejor reproduce la masticación. Sin embargo, el uso de una muestra fresca es difícil; ya que es necesario disponer de los animales y las muestras de forraje en el mismo momento. Por otra parte, son muestras de forraje grosero, por lo que los resultados de la degradación son más variables (Alomar *et al.*, 2003). Se han propuesto varias técnicas para la preparación de las muestras de forraje antes de la incubación en el rumen; estas técnicas afectan de forma variable los valores de degradabilidad de los nutrientes en el rumen; el secado en estufa o liofilización induce cambios físico-químicas de los componentes nitrogenados de los forrajes (Valenciaga y Martínez-Machin, 2000) y es probable que afecte los valores de degradación ruminal obtenidos por el método de las bolsas de nylon. Durante el secado en estufa a temperaturas mayores a 40 °C, las proteínas contenidas en las muestras de forraje fresco pueden ser desnaturalizadas, cambiando así sus propiedades. En presencia de mezclas,

se producen reacciones entre carbohidratos y proteínas (Reacciones de Maillard) que pueden conllevar a una disminución en la degradabilidad de estos constituyentes con temperaturas de calentamiento superiores a los 70 °C (Pelletier *et al.*, 2010). Se pueden también producir cambios en otros componentes de la pared celular. Por ejemplo, los ácidos fenólicos libres pueden unirse a la lignina, hemicelulosa o proteína (Terashima *et al.*, 1993). Se ha sugerido que después de la lignificación de la pared celular y la muerte del protoplasto, algunos constituyentes citoplásmicos, que pueden ser precursores de lignina (Frey-Wyssling 1976), se unen para formar estructuras granulares-globular, generando compuestos de unión con los restos de las membranas de los protoplastos que han sido dañados. Este proceso también se puede acelerar a altas temperaturas durante el secado, disminuyendo la degradabilidad celular de los constituyentes de pared.

La apariencia y la forma física de muestras de forrajes frescos, pueden diferir considerablemente de los de las muestras secas correspondientes. Los materiales de plantas secas pueden inducir cambios químicos y enzimáticos de los componentes de la pared celular, proteínas e hidratos de carbono, y los productos de reacción pueden interferir en la cuantificación de la fracción fibrosa, nitrógeno y carbohidratos solubles en agua (Deinum y Maassen, 1994). Del mismo modo, las características de degradación pueden ser afectadas y por lo tanto el proceso de secado pueden cambiar la muestra (Peyraud, 1990).

A partir de lo descrito anteriormente, es importante destacar que el método de preparación de la muestra para la técnica de degradabilidad *in sacco* puede introducir sesgos en la clasificación de los forrajes por sus características de degradación del rumen, cuando se comparan materiales húmedos y secos. Esto es importante ya que el material es normalmente consumido por el animal en forma fresca (húmeda). Algunos autores han recomendado que los forrajes húmedos (<600 g de materia seca (MS) por kg) debe ser secado (secado al aire o por congelación) a entre 600 y 700 g por kg DM antes de la molienda (Nocek, 1988). Se ha sugerido que cortar el material vegetal antes de la incubación en rumen podría ser un método sencillo que reproduzca la masticación; además de que reduce el trabajo de preparación de la muestra y sólo requiere herramientas simples (Setälä, 1983).

Del mismo modo, se han efectuado trabajos que analizan las diferencias en la degradabilidad ruminal de la MS de forrajes conservados (henos y silajes) respecto

forrajes frescos. Si bien el proceso de henificación supone una pérdida de agua del forraje por evaporación resultante de la exposición del forraje cortado a exposición solar natural; puede modificar la degradabilidad ruminal de las muestras por el secado. En este sentido, Aufrère et al. (2008) analizaron la degradabilidad ruminal de la MS y del nitrógeno contenido en muestras de forrajes frescos (en distintas etapas de madurez) y conservados como silaje y heno. El contenido de FDN del forraje fresco (en etapas tempranas) fue superior al determinado en los ensilajes, pero la digestibilidad de los ensilajes fue ligeramente mayor que la del forraje fresco correspondiente. Para los henos, el contenido de materia orgánica degradable en rumen fue menor a los forrajes frescos y silajes principalmente debido al más alto contenido de fibra. Así mismo, los autores determinaron una degradabilidad de la MS superior para forraje fresco y los ensilajes, significativamente más alta que para el heno, cuya fracción B o potencialmente degradable fue mucho mayor, siendo degradado a una velocidad baja.

Dentro de los factores que pueden influir en la degradabilidad ruminal de la materia seca, es importante destacar también el tipo de dieta base que los animales consumen, y sobre todo, de estar consumiendo pasturas a base de forrajes verdes (como en el caso del ensayo realizado en nuestro trabajo), el estado fenológico de la pastura; ya que puede influir en el ambiente ruminal y, por lo tanto, en la actividad degradativa de los microorganismos. Flachowsky y Grün (1992) analizaron la influencia del tiempo de incubación (0, 6, 12, 24, 48 y 72 h) y el tipo de dieta dado a los ovinos (forraje, concentrado) sobre la degradabilidad de la MS de henos con y sin tratamiento de suplementación con amonio. Los autores destacaron que, en los ovinos alimentados con una dieta a base de forraje, se aumentó el porcentaje de degradabilidad de la MS especialmente durante las primeras horas de incubación. Así mismo, este efecto inicial era más importante para el raigrás respecto del heno. Los resultados pueden ser causados por la mayor actividad celulolítica en el rumen de ovejas alimentadas con mayor proporción de fibra en la dieta (Hoover, 1986).

Del mismo modo, Hoffman *et al.* (1993) evaluaron la cinética de degradación ruminal de la MS, proteína cruda (PC) y FDN ruminal de leguminosas y gramíneas perennes en diferentes etapas de madurez. El análisis efectuado por los autores evidenció variaciones en los contenidos de PC de las especies analizadas según si las especies se hallaban en segundo nodo, arranque o inflorescencia completa, era muy variable, pero no mostraba

ningún patrón característico. Se evidenciaron tendencias claras en la composición nutricional del forraje según el estado de madurez; el contenido de PC disminuyó en las muestras de forraje analizadas, mientras que las fracciones FDA y FDN se incrementaron con el avance de la madurez. Las especies de gramíneas mostraron una disminución de PC superior respecto de las leguminosas. Las leguminosas contienen más lignina que las gramíneas. Tanto la especie como el estado de madurez de la misma, afectó todas las fracciones de degradación y la tasa de degradabilidad. Así mismo, se obtuvieron mayores fracciones degradables en rumen para las leguminosas respecto de las gramíneas, disminuyendo un promedio de 10 unidades porcentuales la fracción degradable en rumen, por cada etapa de avance de la madurez.

En nuestro estudio, se estimó el consumo de MS de los animales mediante el método de plateo y se analizó la composición de la pastura, a fin de complementar los datos obtenidos en el ensayo de degradabilidad (Cuadro 5.1).

Descripción	Pastura base Raigrás Perenne	
MS 65	(%)	16,1
MS 105	(coef.)	0,9
MS total	(%)	15,3
Cen.	(% bs)	11,6
Nt	(% bs)	3,3
PB	(% bs)	20,4
aFDN mo	(% bs)	49,4
FDA mo	(% bs)	23,6
Hemicelulosa	(% bs)	25,8
Celulosa.	(% bs)	18,2
LDA mo	(% bs)	5,4
DIVMS	(% bs)	87,9
Forraje desaparecido por pastoreo	kg MS/ha	734,1
Superficie de la parcela	Ha	0,4
Forraje desaparecido por pastoreo	kg MS	286,3
CMS estimado en 2 días de pastoreo	kg MS/ov/día	2,8

Cuadro 5.1 Composición química y consumo estimado de materia seca (CMS) de la pastura de raigrás perenne utilizada como dieta base de los animales ensayados. MS: materia seca; Cen: Cenizas; Nt: nitrógeno total; PB: proteína bruta; aFDN: fibra detergente neutro con α -amilasa; mo: libre de cenizas; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; DIVMS: digestibilidad in vitro de la materia seca.

Es importante destacar que los rumiantes en pastoreo están expuestos a los cambios cuantitativos y cualitativos en el valor nutritivo de los forrajes durante diferentes períodos

de crecimiento (Buxton y Fales, 1994). Es por esto que la composición del forraje y la degradación ruminal de MS y PC se ven afectados por las especies forrajeras y el grado de madurez (Coblentz *et al.*, 1999). Del mismo modo, existen factores químicos de los alimentos que afectan la digestión de la fibra como el contenido de carbohidratos fácilmente fermentables, ácidos volátiles, cantidades y fuentes de nitrógeno, y algunos de los componentes naturales de las plantas. Todos estos cambios pueden traer aparejado cambios en el ambiente ruminal que promuevan variaciones en el porcentaje de MS degradada en rumen. Un ejemplo de lo mencionado anteriormente es la presencia de hidratos de carbono altamente fermentecibles en la dieta, debido a la preferencia de los microorganismos del rumen por los carbohidratos de fácil fermentación en lugar de la fibra; a una disminución en el pH ruminal causado por la rápida fermentación de los carbohidratos solubles con una resultante depresión en la degradación de la fibra; y la competencia por los nutrientes esenciales que resulta en la proliferación preferencial de microflora celulolítica (Hoover, 1986). En nuestro ensayo, dado que todos los animales recibieron la misma dieta a base de pastura perenne, no se observaron modificaciones evidentes en el pH ruminal (parámetro analizado como representativo del ambiente de rumen) medido en el líquido extraído de los ovinos para todos los tratamientos probados (Figura 5.2).

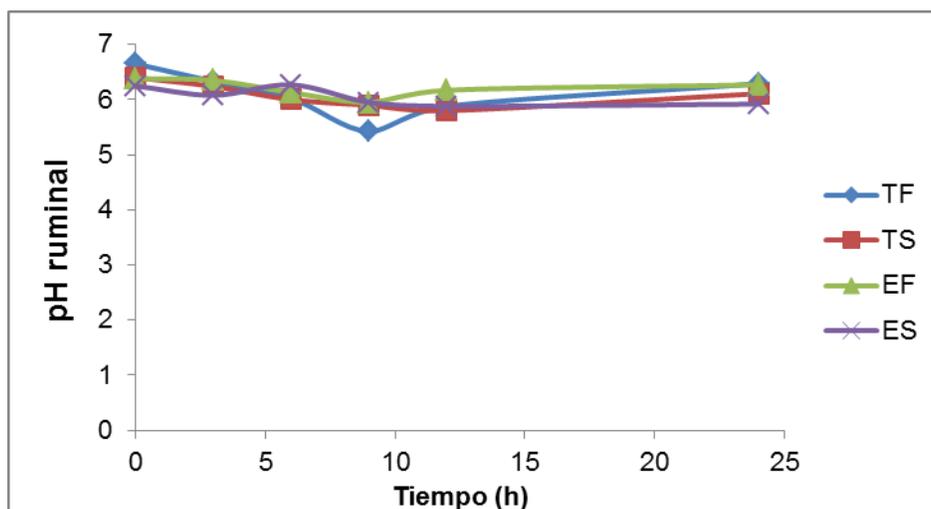


Figura 5.2 Evolución del pH determinado en el líquido ruminal en cada tiempo de incubación evaluado.

5.3.2. Desaparición de Cu y Zn en rumen

Como se vio anteriormente, la naturaleza de los componentes en la dieta influye en la utilización de los elementos traza por los rumiantes. En condiciones de deficiencia, un elemento puede encontrarse en niveles normales en el alimento, pero existen factores que pueden disminuir la disponibilidad de los elementos traza en los animales. Así mismo, las formas y los complejos metálicos formados con los diferentes constituyentes de los vegetales (como la pared celular), pueden condicionar la liberación de elementos traza desde los forrajes hacia los animales. Se sabe muy poco de las formas en las que se producen los elementos traza en las plantas. La mayor proporción del Cu y Zn soluble presentes en las plantas se encuentra relacionada con la formación de complejos de bajo peso molecular, y en menor medida en forma catiónica libre o no compleja (Broadley *et al.*, 2007; Pilon *et al.*, 2006). Así mismo, los extractos acuosos también contienen complejos metálicos de mayor peso molecular correspondientes en alta proporción a metaloenzimas que están presentes en las plantas. Se ha encontrado que existe una correlación entre el Cu y el Zn, con el contenido de proteínas en varias plantas, aunque esto no implica necesariamente una asociación química (Krämer y Clemens, 2006). En el caso del Zn, prácticamente la totalidad de dicho metal se encuentra asociado a la celulosa de la pared celular de las plantas; pero también puede encontrarse conformando parte de complejos lignocelulósicos de la pared.

En base a lo mencionado anteriormente, los minerales en los forrajes pueden encontrarse presentes en tres fracciones: de liberación rápida, que comprende el mineral de alta solubilidad; potencialmente degradable, que comprende los minerales unidos a los componentes de fibra y proteína de pared celular; y la fracción complejada de baja disponibilidad para el animal. La liberación de los minerales de los componentes fibrosos de pared celular puede ser progresiva, solubilizados de forma más lenta y potencialmente menos disponibles. Del mismo modo, las desapariciones minerales de los alimentos en el rumen no son equivalentes a la disponibilidad de minerales por los animales, pero pueden mostrar algunas conexiones entre los minerales y la degradabilidad ruminal de la pared celular y otros componentes de las células vegetales (Genther y Hansen, 2015). Es importante considerar que los elementos inorgánicos son esenciales también para el crecimiento microbiano en el rumen y son responsables de mantener las características de la fase líquida (Underwood, 1977). También deben considerarse factores como el pH,

interacciones y gradientes de flujo propios del ambiente ruminal. Debido a esto, conocer los factores que regulan los niveles de oligoelementos en el rumen, el flujo entre pools y la adsorción de los mismos, desde y al material vegetal o absorción por microorganismos, toma gran relevancia en la nutrición mineral.

A continuación, se muestra la concentración de minerales de las muestras de forraje (tanto testigo sin fertilización como forraje enriquecido en Cu y Zn), antes de la incubación y de sus residuos después de varios tiempos de incubación (Cuadro 5.2).

Forraje Incubado	Pre-Incubación	Tiempo de incubación (hs)				
		3	6	9	12	24
		Cobre (mg/kg)				
Testigo fresco s/fert.	15,9	15,4	17,6	16,3	16,9	16,1
Testigo seco s/ fert.	15,4	34,9	27,1	26,9	29,3	30,2
Enriquecido fresco	139,5	62,8	51,6	71,9	119,0	110,1
Enriquecido seco	94,0	143,3	154,7	77,9	92,1	97,6
		Zinc (mg/kg)				
Testigo fresco s/fert.	94,8	84,0	106,6	89,8	122,7	131,3
Testigo seco s/ fert.	61,8	88,0	77,5	84,6	78,2	74,8
Enriquecido fresco	440,8	110,5	119,3	227,4	273,9	342,3
Enriquecido seco	219,2	137,6	218,5	124,3	154,4	133,8

Cuadro 5.2 Influencia del tiempo de incubación rumen animales en la concentración de Cu y Zn (mg / kg MS) de los residuos de las muestras de forraje testigo y enriquecido.

La concentración de Cu determinada en las muestras incubadas de forraje fresco sin fertilización, no fue significativamente influenciada por el tiempo de incubación ruminal; mientras que en el caso de las muestras de forraje fresco enriquecido, las concentraciones de Cu en las muestras incubadas fueron menores a las determinadas en el material original (Cuadro 5.2). La incubación de las bolsas de nylon en el rumen, incrementó la concentración de Cu en las muestras de forraje seco incubado, independientemente de la aplicación del tratamiento de fertilización aplicado.

En el caso del Zn, se observa una disminución de la concentración determinada en las muestras de forraje fresco enriquecido en todos los tiempos de incubación evaluados; mientras que para los forrajes frescos sin fertilización, las concentraciones se mantienen

durante las primeras 9 horas de incubación, con un leve aumento a tiempos posteriores (Cuadro 5.2). Para las muestras de forraje seco sin fertilización incubadas, se determinó un leve incremento en las concentraciones de Zn determinadas en los residuos respecto al material original, mientras que para las muestras enriquecidas en Cu y Zn, muestran una disminución de la concentración a tiempos de incubación mayores.

Debido al mayor contenido total de Cu y Zn determinado para todas las muestras de forraje seco incubadas en rumen, el porcentaje de liberación mineral calculado en base al contenido del material original, presentó valores numéricos negativos. Debido a que carece de sentido biológico, los mismos no serán presentados en este trabajo. En la Figura 5.3 se muestra el porcentaje de desaparición mineral de las muestras de forraje fresco para ambos tratamientos probados

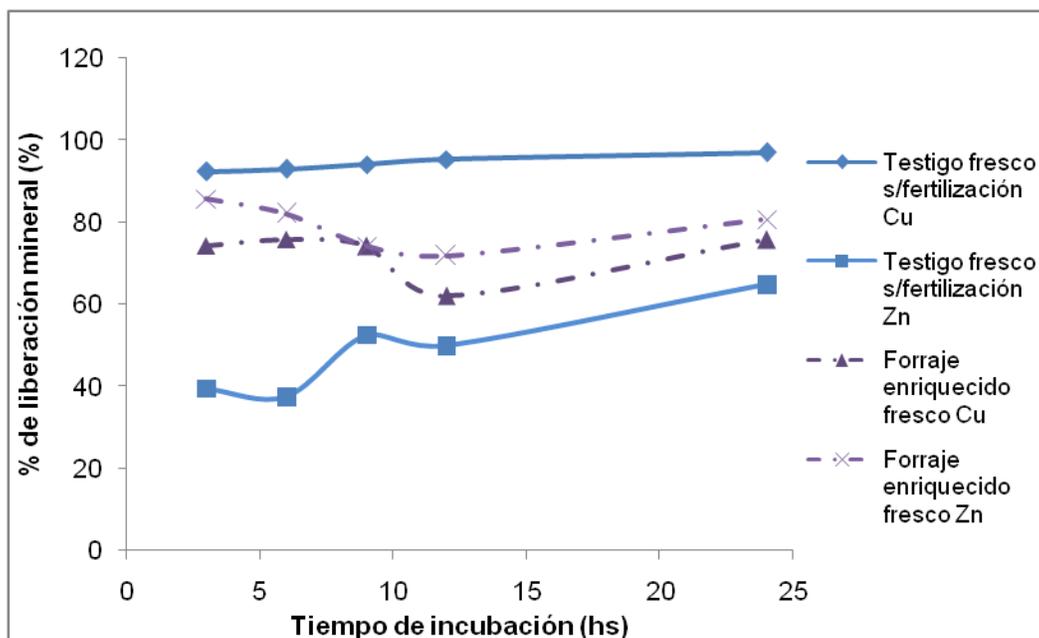


Figura 5.3 Liberación de Cu y Zn (%) en rumen de las muestras de forraje fresco testigo sin fertilización como forraje fresco enriquecido.

Como puede observarse en la figura, el mayor porcentaje de Cu es liberado en rumen ocurre dentro de las primeras seis horas post incubación ruminal. En el caso del Zn, la incubación de forraje fresco sin fertilización muestra una liberación progresiva de dicho elemento traza, con incrementos del porcentaje de mineral liberado a tiempos mayores de incubación. En el caso de las muestras de forraje fresco enriquecido, el comportamiento es similar al determinado para el Cu.

Así mismo, el porcentaje de desaparición para cada mineral determinado en las muestras de forraje fresco no fue consistente entre los tratamientos evaluados. Los mayores porcentajes de desaparición mineral en rumen están relacionados con los mayores porcentajes de DMS determinada en todas las muestras de forraje fresco. Para las muestras de forraje enriquecido fresco incubadas, la concentración de Cu y Zn de los residuos es menor que en el material original, pero posterior a las 12 horas de incubación el contenido aumenta con el incremento del tiempo de permanencia. Bremner (1970) indicó que el Cu y el Zn exhiben diferente comportamiento de solubilidad en el rumen de ovejas, ya que pueden existir en diferentes complejos, que aún en la actualidad no se han caracterizado e identificado en profundidad. Así mismo, esos incrementos determinados pueden deberse a la entrada de microorganismos ruminales con altos contenidos de Cu y Zn en su constitución en las bolsas. Los microbios pueden pasar a través de las bolsas y unirse a los residuos de forraje. En nuestro trabajo, se asumió que todas las bacterias y otros nutrientes introducidos en las bolsas de nylon de los contenidos del rumen fueron removidos a partir de los lavados secuenciales con agua. Es probable que algunas bacterias se mantuvieran en las bolsas de nylon después del lavado. Las cantidades de minerales introducidos a través de dicha contaminación no han sido estimados para los elementos traza.

Otro aspecto que debe ser tenido en cuenta al analizar la liberación ruminal de minerales, es la capacidad de intercambio catiónico (CIC) que posee la pared células de las diferentes especies forrajeras. El efecto de las paredes celulares de las plantas es muy significativo y se ha implicado como un posible factor que afecta a la disponibilidad de iones bivalentes. Esto ha sido mayormente estudiado para el Ca en numerosos trabajos (James, 1980; Flachowsky y Grün, 1992). La alta CIC de algunas paredes celulares de las plantas, puede estar asociada con el contenido de fibra de los forrajes. Los cationes bivalentes parecen necesarios para la fijación de los microorganismos del rumen a los constituyentes de la pared celular. De esta forma, los minerales pueden ingresar desde el lumen ruminal dentro de las bolsas de nylon, estando menos disponibles para su posterior absorción (Flachowsky *et al.*, 1994). En adición a esto, las paredes celulares más lignificadas, sobre todo en forrajes secos con altos contenidos de MS, pueden actuar secuestrando una porción de cada mineral e impidiendo la liberación de esta parte en el rumen; sumado también a la menor degradabilidad de la MS en rumen respecto forrajes frescos, y el menor contenido de agua y metales solubles en solución. Estudios previos

demonstraron que el Cu se fija a los componentes fibrosos de las paredes celulares (FDN y FDA) lo que disminuye su solubilidad y por tanto su liberación en el rumen (Norton, 1994). La presencia de taninos y otros compuestos insolubles de pared (como productos de Maillard), podrían asociarse a la menor liberación de Cu y Zn en el rumen en forrajes secos (Serra *et al.*, 1997).

Se ha determinado que los elementos no liberados de las bolsas de nylon después de las 48 horas de incubación probablemente no se encuentren disponibles para la posterior absorción en el animal (Playne *et al.*, 1978). Esta fracción representa una porción potencialmente disponible para la absorción, aunque la absorción de un mineral en el sitio de absorción está influenciada por varios factores fisiológicos y (dietéticos) como se mencionó anteriormente. La desaparición de minerales de los alimentos en el rumen no permite definir conclusiones directas sobre la absorción de los mismos debido a otras condiciones fisiológicas en el abomaso y el intestino delgado, lugar principal de la absorción de ciertos minerales.

5.4. Conclusiones preliminares

Existe muy poca información en la literatura nacional e internacional acerca de la liberación de elementos traza desde los forrajes al rumen, de modo tal que los resultados obtenidos en este capítulo son una considerable contribución a los datos existentes.

A partir de la incubación de muestras de forraje con y sin tratamiento de fertilización inorgánica con CuSO_4 y ZnSO_4 , se observó en un primer análisis que los tratamientos térmicos de secado, producen menores porcentajes de degradabilidad de la materia seca total, afectando así la disponibilidad posterior de nutrientes contenidos en el alimento. El secado en estufa de las muestras de forraje podría haber incrementado la formación de compuestos poliméricos indigestibles (asociaciones de carbohidratos con lignina, productos de Maillard, compuestos derivados del furfural, compuestos fenólicos, etc.); como así también al disminuir el porcentaje de agua por deshidratación, ocasionar una reducción de la fracción soluble de los nutrientes, de más rápida disponibilidad para el animal. Este efecto podría a su vez explicar los mayores contenidos de Cu y Zn determinados en los residuos de las bolsas de nylon pos incubación en rumen independientemente del tratamiento de fertilización aplicado; ya que el mayor contenido de MS de con alta proporción de compuestos indigestibles, conlleva a un incremento en la posibilidad de formación de complejos insolubles de metal con dichos compuestos. También una mayor colonización y actividad bacteriana puede llevar a un mayor residuo bacteriano rico en minerales que no se eliminó con los lavados secuenciales pos incubación. Este efecto se vio reflejado en los valores negativos obtenidos al calcular el porcentaje de desaparición mineral a todos los tiempos evaluados.

Las muestras de forraje fresco incubadas, presentaron altos porcentajes de degradabilidad de la materia seca total a tiempos cortos de incubación en rumen (3 horas), lo que se relaciona con el alto aprovechamiento de nutrientes rápidamente fermentecibles en rumen y los mayores porcentajes de compuestos solubles liberados a etapas tempranas de incubación. Tanto las muestras de forraje fresco testigo como el enriquecido mediante fertilización, mostraron altos porcentajes de liberación de Cu y Zn al líquido ruminal, durante las primeras 9 horas pos incubación. Así mismo, el pH del rumen no fue un factor que debiera considerarse en este ensayo ya que no mostró variaciones muy amplias durante los períodos de incubación efectuados.

A partir de estos resultados, al analizar la liberación de los elementos traza de bolsas de nylon en el rumen, debe considerarse tanto el contenido mineral y la fuente de la fibra de alimentación que fueron incubadas, los tiempos de incubación y las diferencias en los niveles de minerales de la dieta ofertada a los animales. Son necesarias mayores investigaciones para evaluar la influencia de los componentes de la pared celular de degradación diferente en rumen, y la capacidad de intercambio catiónico de las fracciones fibrosas en la formación de complejos con los minerales del alimento. La contaminación bacteriana de los residuos también debe ser investigada con mayor profundidad en experimentos adicionales.

5.5. Referencias

- Alomar, D., Fuchslocher, R., De Pablo, M., 2003. Effect of preparation method on composition and NIR spectra of forage samples. *Animal Feed Science and Technology* 107, 191–200. doi:10.1016/S0377-8401(03)00124-X
- Aufrère, J., Dudillieu, M., Poncet, C., 2008. In vivo and in situ measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience* 2, 1331–9. doi:10.1017/S1751731108002450
- Bremner, I., 1970. Zinc, copper and manganese in the alimentary tract of sheep. *The British Journal of Nutrition* 24, 769–83. doi:10.1079/BJN19700079
- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A., 2007. Zinc in plants: Tansley review. *New Phytologist* 173, 677–702. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x
- Buxton, D. R., Fales S. L., 1994. Plant environment and quality. En: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. G. C. Fahey, M. Collins, D. R. Mertens, y L. E. Ed. Moser, Madison, WI. pp 155–199.
- Castro, F. B., Hotten, P. M., Ørskov, E. R., 1993. Effects of dilute-acid hydrolysis treatment on the physico-chemical features and bio-utilization of wheat straw. *Animal Feed Science and Technology* 42, 55-67.
- Čerešňáková, Z., Flak, P., Poláčíková, M., Chrenková, M., 2005. In sacco NDF degradability and mineral release from selected forages in the rumen. *Czech Journal of Animal Science* 50, 320-328.
- Clarke, N.J., Laurie, S.H., 1980. The copper-molybdenum antagonism in ruminants. I. The formation of thiomolybdates in animal rumen. *Journal of Inorganic Biochemistry* 12, 37–43. doi:10.1016/S0162-0134(00)80041-0
- Coblentz, W.K., Fritz, J.O., Fick, W.H., Cochran, R.C., Shirley, J.E., Turner, J.E., 1999. In situ disappearance of neutral detergent insoluble nitrogen from alfalfa and eastern gamagrass at three maturities. *Journal of Animal Science* 77, 2803–2809.
- Cone, J.W., van Gelder, A.H., Marvin, H.J.P., 1996. Influence of drying method and ageing on chemical and physical properties and in vitro degradation characteristics of grass and maize samples. *Journal of Agricultural Science* 126, 7–14.
- Cousins, R.J., 1996. Zinc. En: Filer, L.J., Ziegler, E.E. *Present Knowledge in Nutrition*, 7th edn. International Life Science Institute–Nutrition Foundation, Washington, DC. pp 293 - 306
- Cushnahan, A., Gordon, F.J., 1995. The effects of grass preservation on intake, apparent digestibility and rumen degradation characteristics. *Animal Science* 60, 429–438. doi:10.1017/S1357729800013308
- Davies, N.T., 1980. Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *British Journal of Nutrition* 43, 189–203.

- Decruyenaere, V., Buldgen, A., Stilmant, D., 2009. Factors affecting intake by grazing ruminants and related quantification methods: a review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 13, 559–573. doi:/1995.7392774x
- Deinum B., Maassen A, 1994. Effects of drying temperature on chemical composition and *in vitro* digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology* 46, 75–86.
- Dulphy, J.P., Demarquilly, C., Baumont, R., Jailler, M., Lhotelier, L., Dragomir, C., 1999. Study of modes of preparation of fresh and conserved forage samples for measurement of their dry matter and nitrogen degradations in the rumen. *Annales.de.Zootechne*. 48, 275–288.
- Engle, T., Sellins, K., 2015. Copper and Selenium Metabolism and Supplemental Strategies for Grazing Beef Cattle. En: 2015 Florida Ruminant Nutrition Symposium. pp. 119.
- Frey-Wyssling, A., 1976. The plant cell wall. En *Encyclopedia of Plant Anatomy*. Vol. III, Part 4. Berlin: Gebruder Borntraeger. pp 294.
- Flachowsky, G., Grün, M., 1992. Influence of type of diet and incubation time on major elements release in sacco from Italian ryegrass, untreated and ammonia-treated wheat straw. *Animal Feed Science and Technology* 36, 239–254. doi:10.1016/0377-8401(92)90060-J
- Flachowsky, G., Grün, M., Polzin, S., Kronemann, H., 1994. In sacco dry matter degradability and Ca, Mg and P disappearance from italian ryegrass, alfalfa hay and wheat straw in sheep and goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 71, 57–64. doi:10.1111/j.1439-0396.1994.tb00340.x
- Genther, O.N., Hansen, S.L., 2015. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. *Journal of Dairy Science* 98, 566–73. doi:10.3168/jds.2014-8624
- Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M., 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition, *Journal of Chemical Information and Modeling*. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Goff, J.P., Stabel, J.R., 1990. Decreased plasma retinol, alpha-tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period: effect of milk fever. *Journal of Dairy Science* 73, 3195–3199. doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)79010-8
- Gooneratne, S., Buckley, W., Christensen, D., 2011. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 69, 819–845. doi:10.4141/cjas89-096
- Hansen, S.L., Spears, J.W., 2008 Impact of copper deficiency in cattle on proteins involved in iron metabolism. *FASEB Journal* 22, 443–445.
- Hoffman, P.C., Sievert, S.J., Shaver, R.D., Welch, D.A., Combs, D.K., 1993. In Situ Dry Matter, Protein, and Fiber Degradation of Perennial Forages. *Journal of Dairy Science* 76, 2632–2643. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77599-2

- Hovell, F. D. D. B., Nambi, J. W. W., Barber, W. P., Kyle, D. J., 1986. The voluntary intake of hay by sheep in relation to its degradability in the rumen as measured in nylon bags. *Animal Production* 42, 111-118.
- Hoover, W.H., 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science* 69, 2755–66. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80724-X
- Hucker, D.A., Young, W.K., 1986. Effects of concurrent copper deficiency and gastrointestinal nematodiasis on circulating copper and protein levels, liver copper and bodyweight in sheep. *Veterinary Parasitology* 19, 67–76. doi:10.1016/0304-4017(86)90033-6
- Huntington, J.A., Givens, D.I., 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: A review of the procedure. *Nutrition Abstracts and Reviews* 65, 65-93.
- James, W. P. T., 1980. Dietary fiber and mineral absorption: Medical aspects and dietary fiber. Plenum Medical Book Comp., Spiller, G. A.; Kay, R. M. ed., New York and London. pp 239 .
- Jaurena, G., 2011. Programa para el Mejoramiento de la Evaluación de Forrajes y Alimentos (PROMEFA). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 19, 35–37.
- Jung, H.G., Allen, M.S., 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*. doi:/1995.7392774x
- Kabajja, E., Smith, O.B., 1988. The effect of age of regrowth on content and release of manganese, iron, zinc and copper from four tropical forages incubated in sacco in rumen of sheep. *Animal Feed Science and Technology* 20, 171–176. doi:10.1016/0377-8401(88)90041-7
- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils and plants, CRC Press. doi:10.1201/b10158-25
- Kendall, N. R., Jackson, D. W., Mackenzie, A. M., Illingworth, D. V., Gill, I. M., Telfer, S. B., 2001. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on the trace element status of extensively grazed sheep over winter. *Animal Science-Glasgow* 73, 163-170.
- Kincaid, R.L., 1999. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. *Proceedings of the American Society of Animal Science* 1–10. doi:10.2527/jas2000.77E-Suppl1x
- Krämer, U., Clemens, S., 2006. Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. *Topics in Current Genetics*. doi:10.1007/4735_96
- Lønnerdal, B., 2000. Dietary factors influencing zinc absorption. *The Journal of Nutrition* 130, 1378S–83S.
- López, S., Hovell, F.D.D.B., Manyuchi, B., Smart, R.J., 1995. Comparison of sample preparation methods for the determination of the rumen degradation characteristics of fresh and ensiled forages by the nylon bag technique. *Animal Science* 60, 439–450.

doi:10.1017/S135772980001331X

- López-Alonso, M., Prieto, F., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., Benedito, J.L., 2005. The role of metallothionein and zinc in hepatic copper accumulation in cattle. *Veterinary Journal* 169, 262–267. doi:10.1016/j.tvjl.2004.01.019
- McArdle, H., 1992. The transport of iron and copper across the cell membrane: different mechanisms for different metals. *Proceedings of the Nutrition Society* 51, 199–209.
- McBumey, M.I., Van Soest, P.J., y Chase, L.X. (1983). Cation exchange capacity ad buffering capacity of neutral-detergent fibres. *Journal of Animal and Food Science* 34, 910-916.
- Minatel, L., Underwood, S. C., Postma, G. C., Dallorso, M. E., Carfagnini, J. C., 2013. Reproducción experimental de la deficiencia de cobre en bovinos mediante el empleo de altos niveles de molibdeno y sulfato en la dieta. *Revista Argentina de Producción Animal* 27, 179-187.
- Norton, B. W., Gutteridge, R. C., Shelton, H. M., 1994. The nutritive value of tree legumes. *Forage tree legumes in tropical agriculture*, 177-191.
- Newbold, C. J., de la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., McEwan, N. R., 2015. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in microbiology*, 6, 1313. doi: 10.3389/fmicb.2015.01313
- Nocek, J. E., 1988. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. *Journal of Dairy Science* 71, 2051-2069.
- Noziere, P., Michalet-Doreau, B., 2000. *In sacco* methods. In: J.P.F. D'Mello (Editors), *Farm animal metabolism and nutrition*. CAB International, Wallingford, pp. 233-254.
- Ong, S.P., Law, C.L., 2010. Hygrothermal properties of various foods, vegetables and fruits. En: Jangam, S.V., Law, C.L., Mujumdar, A.S. (Eds.), *Drying of Foods, Vegetables and Fruits*, Singapore. pp. 31–58.
- Orr, C.L., Hutcheson, D.P., Grainger, R.B., Cummins, J.M., Mock, R.E., 1990. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J Anim Sci* 68, 2893–2900.
- Ørskov, E.R., Hovell, F.D.D., Mould, F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedsuffs. *Trop Anim Prod* 5, 195–213.
- Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science* 92, 499. doi:10.1017/S0021859600063048
- Ørskov, E.R., 2000. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed (Eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 175-188.
- Pechova, A., Misurova, L., Pavlata, L., Dvorak, R., 2009. The influence of supplementation of different forms of zinc in goats on the zinc concentration in blood plasma and milk. *Biological trace element research* 132, 112-121.

- Pelletier, S., Tremblay, G.F., Bertrand, A., Bélanger, G., Castonguay, Y., Michaud, R., 2010. Drying procedures affect non-structural carbohydrates and other nutritive value attributes in forage samples. *Animal Feed Science and Technology* 157, 139–150. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.02.010
- Petersen, S.O., Sommer, S.G., Böhline, F., Burton, C., Dach, J., Dourmad, J.Y., Leip, A., Misselbrook, T., Nicholson, F., Poulsen, H.D., Provolo, G., Sørensen, P., Vinnerød, B., Weiske, A., Bernal, M.P., Böhm, R., Juhász, C., Mihelic, R., 2007. Recycling of livestock manure in a whole-farm perspective. *Livestock Science* 112, 180–191. doi:10.1016/j.livsci.2007.09.001
- Petit, H. V., Tremblay, G.F., 1992. In Situ Degradability of Fresh Grass Conserved Under Different Harvesting Methods. *Journal of Dairy Science* 75, 774–781. doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)77815-1
- Peyraud, J. L., 1990. Effect of the drying method and of the particle size of forage samples on the estimation of protein degradability in the rumen. *Reproduction Nutrition Development* 2, 153-154.
- Pilon, M., Abdel-Ghany, S.E., Cohu, C.M., Gogolin, K.A., Ye, H., 2006. Copper cofactor delivery in plant cells. *Current Opinion in Plant Biology* 9, 256–263. doi:10.1016/j.pbi.2006.03.007
- Playne, M.I., Echevarria, M.G., Megarrity, R.G., 1978. Release of nitrogen, sulphur, phosphorus, calcium, magnesium, potassium and sodium from four tropical hays during their digestion in nylon bags in the rumen. *Journal of Science Food and Agriculture* 29, 520-526.
- Prohaska, J.R. (2006). Copper. En: Filer, L.J., Ziegler, E.E. (Eds) *Present Knowledge in Nutrition*, 7th edn. International Life Science Institute–Nutrition Foundation, Washington, DC.
- Rosa, D.E., Fazio, L.E., Picco, S.J., Furnus, C.C., Mattioli, G.A., 2008. Metabolismo y deficiencia de Cobre en bovinos. *Analecta Veterinaria* 28, 34–44.
- Rowe, D.J., Bobilya, D.J., 2000. Albumin facilitates zinc acquisition by endothelial cells. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.) 224, 178–86. doi:10.1111/j.1525-1373.2000.22418.x
- Saenko, E.L., Yaroplov, A.I., Harris, E.D., 1994. Biological functions of caeruloplasmin expressed through copper-binding sites. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 7, 69–88.
- Smith, B.S.W., Field, A.C., Suttle, N.F., 1968. Effect of intake of copper, molybdenum and sulfate on copper metabolism in the sheep. III. Studies with radioactive copper in male castrated sheep. *Journal of Comparative Pathology* 78, 449–461. Serra, S.D.,
- Serra, A.B., Ichinohe, T., Fujihara, T., 1997. Ruminant Solubility of Trace Elements from Selected Philippine Forages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 10, 378–384.

- Setala, J., 1983. The nylon bag technique in the determination of ruminal feed protein degradation. *Journal of Science AgricultureSOC. Fin/.* 55, 1-78 (Tesis)
- Suttle, N.F., 2012. Copper Imbalances in Ruminants and Humans: Unexpected Common Ground. *Advances in Nutrition: An International Review Journal* 3, 666–674. doi:10.3945/an.112.002220
- Suttle, N.F., 2010. Mineral nutrition of livestock: Fourth edition, *Mineral Nutrition of Livestock: Fourth Edition.* doi:10.1079/9781845934729.0000
- Suttle, N.F., Davies, H.L., Field, A.C., 1982. A model for zinc metabolism in sheep given a diet of hay. *British Journal of Nutrition* 47, 105–112. doi:10.1079/BJN19820015
- Suttle, N. F., 1991. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. *Annual Review of Nutrition* 11, 121-140.
- Suttle, N.F., Lewis, R.M., Small, J.N., 2002. Effects of breed and family on rate of copper accretion in the liver of purebred Charollais, Suffolk and Texel lambs. *Animal Science* 75, 295–302.
- Terashima, N., Fukushima, K., He, L. F., Takabe, K., 1993. Comprehensive model of the lignified plant cell wall. En: *Forage Cell Wall Structure and Digestibility* (Eds H. G. Jung, D. B. Buxton, R. D. Hatfield, J. Ralph), Madison, WI, USA. pp. 247-270.
- Thompson, J. K., Fowler, V. R., Wiseman, J., Cole, D. J. A., 1990. The evaluation of minerals in the diets of farm animals. En: *Feedstuff evaluation*, Butterworths. pp. 235-259.
- Thomson, S.A., Weber, C. W., 1981. Effect of dietary fiber sources on tissue mineral levels in chicks. *Poultry Science* 60: 840 – 848.
- Tsonev, T., Lidon, F.J.C., 2012. Zinc in plants - An overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture.* doi:10.1016/B978-0-12-077125-7.50013-X
- Underwood, E.J., 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition.* Academic Press, NewYork, 42 pp.
- Underwood, E.J. y Suttle, F. (1999) *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK.
- Valenciaga, D., Martinez-Machin, L.M., 2000. Effect of sample preparation on ruminal protein degradability of King grass (*Pennisetum purpureum* sp.). *Cuban Journal of Agriculture Science* 34, 243–247.
- Van Soest, P.J., 1995. Nutritional ecology of the ruminant., *Livestock Production Science.* doi:10.1016/0301-6226(95)90011-X
- Van Soest, P.J., Mason, V.C., 1991. The influence of the Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. *Animal Feed Science and Technology* 32, 45–53. doi:10.1016/0377-8401(91)90008-G
- Whitehead, D.C., Goulden, K.M., Hartley, R.D., 1985. The distribution of nutrient elements in cell wall and other fractions of the herbage of some grasses and legumes. *Journal*

of Science and Food Agriculture 36, 311–318.

Woolliams, J.A., Suttle, N.F., Wiener, G., Field, A.C., Woolliams, C., 1983. The long-term accumulation and depletion of copper in the liver of different breeds of sheep fed diets of different copper content. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 100, 441–449.

Yruela, I., 2009. Copper in plants: Acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology* 36, 409–430. doi:10.1071/FP08288

Zhao, F., McGrath, S.P., Crosly, a R., 1994. Comparison of three wet digestion methods for the determination of plant sulphur by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). *Communications in Soil Science y Plant Analysis* 25, 407–418. doi:10.1080/00103629409369047

Zantopoulos, N., Antoniou, V., Nikolaidis, E., 1999. Copper, zinc, cadmium, and lead in sheep grazing in North Greece. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 62, 691–699. doi:10.1007/s001289900929

Conclusiones finales

Como consecuencia del avance del proceso de agriculturización de la Pradera Pampeana, los sistemas de producción intensiva de bovinos a corral han crecido instalándose en varias regiones del país. Estos sistemas han sido diseñados exclusivamente para la etapa de terminación del animal (engorde a corral), con el objeto de satisfacer las demandas del mercado, siendo la alimentación el componente más importante del costo.

Los alimentos usualmente empleados para los bovinos en engorde presentan una elevada carga de nutrientes, que incluye minerales, y las excretas, típicamente poseen un remanente considerable de macro- y micronutrientes. Consecuentemente, la acumulación de ellas tiene un efecto potencialmente negativo sobre el ambiente, por lo que la reutilización constituye una alternativa para disminuir los riesgos ambientales.

En este contexto, se propuso primariamente en este trabajo determinar los niveles y biodisponibilidad de micronutrientes en las excretas de bovinos engordados en sistemas de encierre corral. Las excretas analizadas provenientes de sistemas intensivos de producción presentaron mayor contenido total de Cu y Zn con respecto a aquellas provenientes de sistemas extensivos de producción. El fraccionamiento secuencial de las excretas permitió caracterizar la fitobiodisponibilidad de los elementos traza y demostró que las excretas de sistemas intensivos presentaron una mayor fracción intercambiable para Cu, Zn, Co y Mo en comparación con las excretas de sistemas extensivos. Estos resultados indican que las excretas de sistemas intensivos enriquecen a los suelos a los cuales se aplican formas más disponibles de elementos traza.

Las determinaciones efectuadas en este trabajo constituyen un aporte importante ya que en nuestro país, son escasos los estudios que determinan los niveles base de los elementos traza en suelos. Precisamente el segundo objetivo específico de esta tesis fue determinar los niveles y biodisponibilidad de micronutrientes en suelos característicos de sistemas extensivos en virtud de su frecuente carencia. Consecuentemente, se determinaron las concentraciones totales de Cu, Zn, Se, Co y Mo en muestras de la región pampeana donde previamente se habían reportado deficiencias de dichos micronutrientes. Los resultados se ubicaron dentro del rango esperado para suelos no contaminados y fueron coincidentes con los reportados para suelos de la región

pampeana en otros estudios. Si bien el contenido total de elementos traza en suelos no puede relacionarse directamente con la carencia de un mineral; en las muestras analizadas los valores de Cu, Zn y Se se encontraron cercanos a los límites inferiores de concentración.

En adición, el análisis de la biodisponibilidad de Cu, Zn, Co y Mo mostró que sólo para Zn se detectó la fracción intercambiable. Para Cu, Co y Mo los niveles de formas intercambiables estuvieron por debajo del límite de detección. En el caso particular del Se, los niveles totales identificados fueron bajos, y el fraccionamiento secuencial no permitió identificar concentraciones detectables para ninguno de los extractos. Concomitantemente, se pudo establecer que los suelos presentaron baja disponibilidad Cu, Co y Mo. En el caso del Zn, la biodisponibilidad varió considerablemente entre las distintas áreas muestreadas. Éstos resultados tienen gran relevancia ya que indican que la deficiencia de micronutrientes se presenta como consecuencia natural del agotamiento de las formas biodisponibles.

El tercer objetivo específico fue evaluar el enriquecimiento de forrajes con micronutrientes mediante la fertilización con excretas procedentes de sistemas intensivos de producción bovina y los factores que modifican su biodisponibilidad, el que permitió confirmar la hipótesis experimental que indicaba que *“los niveles de micronutrientes en forrajes están condicionados por factores fisicoquímicos del suelo que alteran su biodisponibilidad”*. En la prueba preliminar de fertilización en microcosmos reportada en el Capítulo 3 se obtuvieron respuestas positivas a la fertilización, habiéndose observado un incremento en los parámetros de crecimiento para ambas especies forrajeras (raigrás perenne y trébol blanco). Asimismo, a tiempos cortos post implantación (30 días), se observó un incremento consistente de las concentraciones de Cu y Zn en la biomasa aérea de ambas especies, pero a tiempos de cosecha mayores, las concentraciones de ambos minerales variaron de acuerdo al metal y al tratamiento de fertilización aplicado (excretas “extensivas” o “intensivas”).

En relación al mismo objetivo específico, el ensayo de fertilización en parcelas confirmó que el agregado de excretas provenientes de SI incrementó el contenido de Cu y Zn en la biomasa foliar a los 30 días post fertilización. Adicionalmente, se observaron mejores respuestas a la fertilización con excretas en comparación al uso de fertilizantes inorgánicos, para todas las dosis utilizadas. Independientemente del tipo de fertilización,

se obtuvieron menores concentraciones de Cu y Zn en las muestras de forraje a tiempos de cosecha más tardíos (90 días pos aplicación de los tratamientos).

La disminución en la concentración de los micronutrientes con el tiempo de rebrote, sugiere que debiera considerarse este cambio a los efectos de una eventual refertilización.

En este sentido, la experiencia efectuada en parcelas mostró que otros factores pueden modificar la concentración de elementos traza en la biomasa foliar, tales como el incremento en las formas residuales de Cu y Zn en los suelos enmendados, o la dinámica de crecimiento de la pastura, el envejecimiento de los tejidos de las plantas y la defoliación. Las menores respuestas a la fertilización con Sulfato de Cu y Sulfato de Zn aquí observadas pueden relacionarse con la forma de aplicación, la dosis y la persistencia del producto en los suelos.

Adicionalmente, es de destacar que las concentraciones de Cu y Zn en los forrajes ensayados a los 30 días post aplicación habrían permitido cubrir los requerimientos de bovinos de carne según los estándares del NRC (2001). Sin embargo, luego de 90 días de crecimiento de la pastura, la concentración de Cu cayó ligeramente por debajo del valor estipulado por las tablas nutricionales arriba mencionadas.

El último objetivo perseguido en este trabajo fue evaluar en qué medida los forrajes enriquecidos en micronutrientes eran capaces de ceder dichos minerales hacia los animales; aspecto de sustancial importancia en virtud de la escasa información disponible en la literatura nacional e internacional. El estudio de la degradabilidad *in situ* de los forrajes con y sin tratamiento de fertilización inorgánica (CuSO_4 y ZnSO_4) demostró que el procesamiento de secado (eventualmente análogo a la henificación) redujo la disponibilidad de ambos nutrientes, aumentando las fracciones recuperadas en los residuos para los distintos tiempos de incubación.

La degradabilidad de la materia seca del forraje fresco fue mayor a tiempos cortos de incubación en rumen (3 horas), lo que se relaciona con los mayores contenidos de compuestos solubles. Tanto las muestras de forraje fresco testigo como el enriquecido, mostraron altos porcentajes de liberación de Cu y Zn al líquido ruminal, durante las primeras 9 horas pos incubación.

En síntesis, nuestros resultados mostraron el efecto benéfico de la aplicación de las excretas como fertilizantes orgánicos sobre la producción de cultivos, debido al aporte de nutrientes (N, P, y K) y materia orgánica. El mayor contenido total de metales (Cu y Zn) y el aporte de formas intercambiables de las excretas SI determinó el aumento de las concentraciones de ambos metales al primer corte, como consecuencia directa del vínculo de la fracción intercambiable con la fitodisponibilidad.

Los cambios a nivel de pH, potencial redox generados por las excretas sobre la rizósfera y el agregado de materia orgánica a lo largo del tiempo de incubación pueden modificar la biodisponibilidad de los metales agregados de forma tal que a largo plazo la respuesta de la planta puede ser variable. Este efecto que resulta de la aplicación de enmiendas sobre la movilidad y la liberación gradual desde fracciones menos lábiles (tales como algunas fracciones orgánicas o inorgánicas), puede explicar los resultados más variables encontrados en la concentración de Cu y Zn en la biomasa foliar a tiempos de cosecha más tardíos. En breve, las enmiendas provenientes de SI permitieron aumentar la captación de Cu y Zn por parte de las plantas mejorando su disponibilidad para los rumiantes.

Difusión de los resultados obtenidos

La realización de la presente Tesis Doctoral ha dado lugar a las siguientes publicaciones, presentaciones a congresos y conferencias:

Presentaciones a congresos

- **Micronutrientes en suelos bonaerenses y excretas provenientes de sistemas de producción bovina.** *Ramos María Laura; Troncoso Juan José; Fernández Cirelli Alicia.* XIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2012. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. 6 de agosto de 2012, Rosario, Santa Fe, Argentina.
- **Estudio de micronutrientes en suelos bonaerenses y excretas provenientes de sistemas de producción bovina.** *Ramos María Laura, Troncoso Juan José, Carlos Hernán Moscuzza, Pessagno Romina, Fernández Cirelli Alicia.* XXIX Congreso Argentino de Química, "Centenario de la Asociación Química Argentina". Hotel 13 de Julio. 3 – 5 de octubre de 2012, Ciudad de Mar del Plata, Argentina.
- **Análisis de excretas de sistemas intensivos de producción bovina. Posible uso para el enriquecimiento de forrajes.** *Ramos María Laura, Troncoso Juan José, Carlos Hernán Moscuzza, Pessagno Romina, Fernández Cirelli Alicia.* 2^{das} jornadas interdisciplinarias "ciclo del agua en agroecosistemas". Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 12-14 de septiembre de 2012, Buenos Aires, Argentina.
- **Micronutrientes en excretas bovinas. Comunicación.** *Ramos María Laura, Carlos Hernán Moscuzza, Fernández Cirelli Alicia.* 36º Congreso Argentino de Producción Animal "Ciencia y

tecnología: pilares del desarrollo ganadero sustentable”, AAPA. Hotel Gran Guaraní. 1 al 3 de octubre de 2013, Ciudad de Corrientes, Entre Ríos.

- **Excretas bovinas como fuente alternativa de micronutrientes en forrajes.** *Ramos María Laura, Carlos Hernán Moscuza, Fernández Cirelli Alicia.* 4^{to} Congreso de Ciencias Ambientales- COPIME 2013. Consejo Nacional de Ingeniería Mecánica y Electricista. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 9 al 11 de octubre de 2013.
- **Estudio comparativo de extracciones secuenciales en suelos y excretas de producción bovina.** *Ramos María Laura, Pessagno Romina, Fernández Cirelli Alicia.* 4^{to} Congreso de Ciencias Ambientales- COPIME 2013. Consejo Nacional de Ingeniería Mecánica y Electricista. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 9 al 11 de octubre de 2013.
- **Excretas bovinas como fuente de cobre y zinc para especies forrajeras.** *María Laura Ramos, Hernán Moscuza, Alicia Fernández Cirelli.* 3^{er} jornadas interdisciplinarias “ciclo del agua en agroecosistemas”. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 19-21 de noviembre, Buenos Aires, Argentina, 2014.
- **Enriquecimiento de forrajes en cobre y zinc mediante enmiendas orgánicas.** *María Laura Ramos, Hernán Moscuza, Alicia Fernández Cirelli.* XXIV Congreso Asociación Latinoamericana de Producción Animal /XL Congreso SOCHIPA: “Desafíos de la ciencia animal para abastecer en forma sustentable una demanda creciente de alimento”. Puerto Varas, Chile, 9 y 13 de Noviembre de 2015.
- **Uso de fertilizantes inorgánicos como fuente alternativa de cobre y zinc en forrajes.** *Ramos María Laura, Carlos Hernán Moscuza, Fernández Cirelli Alicia.* V Jornadas de Jóvenes Investigadores en Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 10-12 de junio de 2015, Buenos Aires, Argentina.
- **Degradabilidad “in situ” de forrajes enriquecidos con cobre y zinc.** *Ramos María Laura, Carlos Hernán Moscuza, Fernández Cirelli Alicia.* VI Jornadas de Jóvenes Investigadores en Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 8 al 10 de junio de 2016, Buenos Aires, Argentina.

Asistencia a jornadas y seminarios

- 2010. “3º TALLER INSTITUCIONAL DE LA RED INBA (FAUBA)-CEBB (MDP)-BIOLAB (AZUL)- LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA (FCEN-UBA)-CETA (FCV-UBA)”. 5-6 de agosto. Organización: CETA-INBA
- 2010. JORNADA CIENTÍFICA INSTITUCIONAL: “Las ciencias agrarias y ambientales desde diferentes enfoques y niveles de análisis”. INBA- CONICET. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 21 de mayo de 2010.
- 2011. II JORNADA CIENTÍFICA INSTITUCIONAL: “Las ciencias agrarias y ambientales desde diferentes enfoques y niveles de análisis”. INBA- CONICET. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 20 de Mayo de 2011.
- 2011. 1º TALLER “EL ARSÉNICO COMO FACTOR LIMITANTE EN LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA-GANADERA”. AACS – CETA – INBA. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 1 y 2 de septiembre de 2011.
- 2012. 3º JORNADA CIENTÍFICA INSTITUCIONAL: “Las ciencias agrarias y ambientales desde diferentes enfoques y niveles de análisis”. INBA- CONICET. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. 8 de junio de 2012.

- 2012. XIII JORNADAS DE DIVULGACIÓN TÉCNICO-CIENTÍFICAS 2012. Universidad Nacional de Rosario. 6 de agosto de 2012.
- 2012. 2^{das} JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS “CICLO DEL AGUA EN AGROECOSISTEMAS”, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 12-14 de septiembre de 2012.
- 2012. 2^{das} JORNADAS CIENCIA AL AGUA " Contaminación del agua y valoración económica de las soluciones". Facultad de Ciencias veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 8 de noviembre de 2012.
- 2012. SEMINARIO INTERNACIONAL “AGUA Y VULNERABILIDAD”. Organizado por : Red Internacional del Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, Francia)“Gobernanza del Agua en las Américas” y el Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA - UBA). Centro Argentino de Ingenieros (CAI) Cerrito 1250, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 11 de julio de 2012.
- 2013. "JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS EN LECHERÍA DE PEQUEÑOS RUMIANTES DE LA FCV-UBA". Facultad de Ciencias veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 18 y 19 de marzo de 2013.
- 2014. 3^{eras} JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS “CICLO DEL AGUA EN AGROECOSISTEMAS”, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 19-21 de noviembre de 2014.

Índice de cuadros

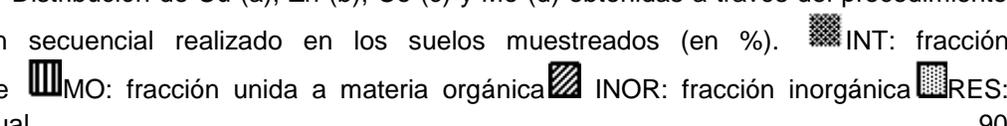
Cuadro 1.1	Composición de dieta (en %) de feedlot a base de maíz entero. Extraído de Felton y Kerley (2004). ^a premezcla ADE contiene: vitamina A: 1.814.388 UI/kg; vitamina D3: 362.878 U/kg; vitamina E: 544 UI/kg. ^b premezcla mineral contiene un mínimo de 10% Fe, 2% mínimo de Mn y Zn, 500 ppm de Cu, 1.000 ppm de Co y I; y 1.500 ppm de Se. ENm = Concentración de energía neta para mantenimiento; ENg = Concentración de energía neta para aumento de peso; MS = Materia seca; PB Proteína bruta.	15
Cuadro 1.2	Caracterización del núcleo mineral utilizado en raciones de engorde bovino en confinamiento (Moscuza, 2009).	17
Cuadro 1.3	Composición típica de las excretas provenientes de feedlots y biodisponibilidad de nutrientes para las plantas según Eck y Stewart, 1995.	19
Cuadro 1.4	Comparación de la producción de sólidos y nutrientes para un bovino 600kg PV (g/año). Extraído de Davis et al., 2012.	20
Cuadro 1.5	Concentraciones totales (en mg/kg) determinadas en excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina. Elaboración propia a partir de datos obtenidos en bibliografía nacional e internacional.	22
Cuadro 1.6	Requerimientos minerales y concentraciones máximas tolerables de minerales en bovinos en terminación (NRC, 2000).	23
Cuadro 1.7	Características físico-químicas de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina. ^a pH ; ^b conductividad eléctrica; ^c fósforo extractable ; ^d carbono orgánico; ^e Nitrógeno total Kjeldahl; SI: sistema intensiva de producción bovina; SE: sistema extensivo de producción bovina.	29
Cuadro 1.8	Concentración total y desvío estándar de elementos traza en excretas de sistemas intensivos de engorde bovino (en mg/kg).	31
Cuadro 1.9	Producción de heces estimada (en base seca y base húmeda) por animal por día en sistemas de engorde bovino. Elaboración propia a partir de revisión bibliográfica. USEPA: Environmental Protection Agency; NCSU: North Carolina State University; ASAE: American Society of Agricultural Engineers.	33
Cuadro 1.10	Estimación de la cantidad de Cu, Zn, Co y Mo (en mg/m ²) excretado por unidad de superficie ocupada por animal para los diferentes SI de engorde muestreados.	34
Cuadro 1.11	Gramos de Cu, Zn, Co y Mo excretados por corral de engorde.	35
Cuadro 1.12	Adición anual de Cu, Zn, Co y Mo (kg/ha) a suelos agrícolas a partir del uso de excretas intensiva bovinas, a tasas de fertilización de 250 kg NTK/ ha.	37
Cuadro 1.13	Concentración total (mg/kg) y distribución (como %) de Cu, Zn, Co y Mo en excretas provenientes de SI y SE de producción a través de las diferentes fracciones. ¹ INT: Fracción intercambiable o soluble; ² MO: Fracción unida a materia orgánica, ³ INORG: Fracción inorgánica o unida a carbonatos; ⁴ RES: Fracción residual. * <Id: menor al límite de detección de la técnica empleada (Cu: 0, 06 ppm; Zn: 0, 02 ppm; Co: 0, 07 ppm; Mo: 0, 08 ppm).	39

Cuadro 2.1	Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Zn.....	55
Cuadro 2.2	Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Cu.	59
Cuadro 2.3	Principales consecuencias clínicas y desórdenes metabólicos asociados a la carencia de Co.	63
Cuadro 2.4	Consecuencias clínicas de la carencia de Se. A: aves; B: bovino, C: caprino; Ce: ciervo; E: equino; O: ovino; P: porcino.....	67
Cuadro 2.5	Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes a los partidos de Baradero y Navarro. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <Id: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada.	79
Cuadro 2.6	Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes a los partidos de Las Flores y Roque Pérez. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <Id: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada	81
Cuadro 2.7	Características físico-químicas de las muestras de suelo pertenecientes al partido de Tandil. CE: conductividad eléctrica; P extractable: fósforo extractable; CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. <Id: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada	83
Cuadro 2.8	Concentración total (en mg/kg) de Cu, Zn, Co y Mo determinadas en las muestras de suelos. <Id: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada (Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm; Se: 0,05 ppm).....	85
Cuadro 2.9	Concentración de Cu, Zn, Co y Mo (en mg/kg) para las fracciones obtenidas del procedimiento de extracción secuencial. INT: fracción soluble/intercambiable; MO: fracción unida a materia orgánica; INORG: fracción inorgánica; RES: fracción residual. <Id: menor al límite de detección de la técnica utilizada (Cu: 0,06 ppm; Zn: 0,02 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm)	88
Cuadro 2.10	Datos de biodisponibilidad de zinc en suelos representativos de la región Pampeana, revisión bibliográfica. Adaptado de Torri et al., 2011. DPTA: ácido dietilentriaminopentaacético; EDTA: ácido etilendiaminotetracético.	95
Cuadro 2.11	Rangos de interpretación de micronutrientes disponibles (en ppm) para los suelos de la región pampeana, revisión bibliográfica (Ratto et al., 1999; Silampaa, 1982; Follet y Westfall, 2004; Grinch et al., 2000). Extraído de Carrasco y Zamora, 2002; INTA Barrow.	96
Cuadro 2.12	Concentración (en mg/kg) de la fracción soluble/intercambiable (extraída con CaCl ₂) de Cu, Zn, Co y Mo determinadas en las muestras de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina.	97
Cuadro 2.13	Concentración (en mg/kg) de la fracción soluble/intercambiable (extraída con CaCl ₂) de Cu, Zn, Co y Mo, determinada en las muestras de suelos analizados. <Id: menor al límite de la técnica de determinación utilizada.Cu: 0,06 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm.....	97
Cuadro 2.14	Requerimientos de micronutrientes (en mg kg ⁻¹) de distintas especies forrajeras. Datos recopilados de distintas fuentes bibliográficas. Extraído de García et al., 2002.	98

Cuadro 2.15	Agregado de excretas provenientes de sistemas intensivos de producción bovina (en kg MS/ha), calculado en base a datos propios y de revisión bibliográfica.	99
Cuadro 2.16	Cálculo del agregado de excretas provenientes de SI (gr/kg) a suelos, según el aporte fracción soluble/intercambiable determinada para cada metal en las muestras de suelo. <ld: menor al límite de detección de la técnica utilizada (Cu: 0,06 ppm; Co: 0,07 ppm; Mo: 0,08 ppm) 100	
Cuadro 3.1	Superficie implantada en las explotaciones agropecuarias (EAP) con y sin límites definidos, por grupo de cultivos. Se refiere total país y provincias de la Región Pampeana. Fuente: INDEC, 2008. Censo Nacional Agropecuario	114
Cuadro 3.2	Gramíneas y leguminosas forrajeras más utilizadas en la región del sudeste bonaerense. Extraído de Carrillo, 2003. P: perenne; A: anual; B: bianual; OIP: otoño-inverno-primaveral; P-E-O: primavera-estivo-otoñal; P-E: primavera-estival; E: estival.	117
Cuadro 3.3	Requerimiento de macronutrientes en diferentes especies forrajeras. Recopilación bibliográfica. Extraído de (García et al., 2002).....	119
Cuadro 3.4	Requerimiento de macronutrientes en diferentes especies forrajeras. Recopilación bibliográfica. Extraído de (García et al., 2002).....	119
Cuadro 3.5	Condiciones que limitan la disponibilidad de P, K, S y micronutrientes, su movilidad en el suelo, y las causas comunes de la pérdida de nutrientes disponibles en los sistemas de producción, además de la cosecha. Extraído de Olson-Rutz, y Jones (2015).	125
Cuadro 3.6	Formas iónicas de metales presentes en suelos absorbidas por las plantas.....	126
Cuadro 3.7	Respuesta relativa a la aplicación de fertilizantes de micronutrientes en cultivos de alfalfa y gramíneas.	128
Cuadro 3.8	Criterios generales de aplicación de micronutrientes en suelos deficientes. NR: no recomendado; NV: no verificado. Extraído de Olson-Rutz, y Jones (2015).	128
Cuadro 3.9	Promedio de materia seca (MS) y desviación estándar (en g) producidos según el tratamiento de fertilización aplicado. Valores promedio con diferente combinación de letras presentaron diferencias significativas para la prueba de K-W (p-valor <0,05) con un nivel de significancia del 5%.	138
Cuadro 3.10	Promedio de materia seca y desviación estándar (en g) producidos según tratamiento de fertilización aplicado al segundo corte. Medias con igual letra presentaron diferencias significativas (p<0,05) para la prueba de K-W.....	140
Cuadro 3.11	Concentraciones totales de Cu y Zn (en µg/g) en la biomasa foliar obtenidas al primer corte para Raigrás perenne y Trébol Blanco al primer corte (C1).	147
Cuadro 3.12	Concentraciones totales de Cu y Zn (en µg/g) en la biomasa foliar obtenidas al primer corte para Raigrás perenne y Trébol Blanco al segundo corte (C2).	156
Cuadro 4.1	Características físico-químicas de suelos pertenecientes a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldahl; CEC: capacidad de intercambio catiónico. Extraído de Carta Geotécnica de la Ciudad de Buenos Aires.	177
Cuadro 4.2	Características fisicoquímicas, contenido total y biodisponible (mg kg ⁻¹) de Cu y Zn en excretas provenientes de SI de producción utilizadas como fertilizantes en la experiencia. CEC:	

capacidad de intercambio catiónico; P Ext: fósforo extractable, CO: carbono orgánico; NTK: nitrógeno total Kjeldhal	178
Cuadro 4.3 Concentración en $\mu\text{g/g}$ obtenido en las muestras de forrajes al C1 (30 días)	180
Cuadro 4.4 Concentración en $\mu\text{g/g}$ obtenido en las muestras de forrajes al segundo corte (C2: 90 días)	186
Cuadro 4.5 Tasa de crecimiento, productividad y stock de pastura implantada de Raigrás Perenne sometida a pastoreo rotacional, durante 90 de evolución. Datos aportados por Cátedra de Nutrición y Alimentación Animal, FAUBA	189
Cuadro 4.6 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Cu determinada en las diferentes muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia	191
Cuadro 4.7 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Zn determinada en las diferentes muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia.	191
Cuadro 4.8 Cuadro comparativo de las concentraciones de Cu y Zn (en $\mu\text{g/g}$) obtenidas para las muestras de forraje correspondientes a los cortes 1 y 2 y a las muestras de planta entera a los 90 días post inicio de la experiencia.	192
Cuadro 4.9 Contenido de Cu y Zn (en $\mu\text{g/g}$ y como % del total) para las fracciones obtenidas del procedimiento de extracción secuencial. INT: fracción soluble/intercambiable; MO: fracción unida a materia orgánica; INORG: fracción inorgánica; RES: fracción residual. <ld: menor al límite de detección de la técnica analítica utilizada.	192
Cuadro 4.10 Tabla comparativa de requerimientos de Cu y Zn (mg/kg de materia seca (MS) consumida) en diferentes categorías de bovinos de carne y rango de concentración (en ppm) determinada en las muestras de forrajes obtenidas a los 30 y 90 días (C1-C2)	195
Cuadro 5.1 Composición química y consumo estimado de materia seca (CMS) de la pastura de raigrás perenne utilizada como dieta base de los animales ensayados. MS: materia seca; Cen: Cenizas; Nt: nitrógeno total; PB: proteína bruta; aFDN: fibra detergente neutro con α -amilasa; mo: libre de cenizas; FDA: fibra detergente ácido; LDA: lignina detergente ácido; DIVMS: digestibilidad in vitro de la materia seca.	219
Cuadro 5.2 Influencia del tiempo de incubación rumen animales en la concentración de Cu y Zn (mg / kg MS) de los residuos de las muestras de forraje testigo y enriquecido.	222

Índice de figuras

Figura 1.1	Evolución del stock ganadero (en cabezas de ganado) 1994-2014. Elaboración propia a partir de datos del MinAgri 2014 e INDEC 2014.....	4
Figura 1.2	Distribución (en porcentaje) del stock ganadero según regiones geográficas de la República Argentina. Datos provenientes de INDEC (2014).	5
Figura 1.3	Evolución del stock ganadero según provincias (2008 – 2014). Elaboración propia a partir de datos del MinAgri 2014.	6
Figura 1.4	Stock ganadero por provincia discriminado por el tipo de actividad ganadera. Elaboración propia a partir de datos de INDEC, 2010.	7
Figura 1.5	Distribución del ganado bovino según tipo de sistema de engorde. Elaboración propia a partir de datos de SENASA 2010.....	9
Figura 1.6	Existencias de animales engordados a corral por provincia. Elaboración propia a partir de datos de MAGyP-SENASA, 2011.	11
Figura 2.1	Distribución geográfica de la ganadería extensiva (MAGyP, 2014). Vc: vaca; Ter: ternero.	52
Figura 2.2	Diferentes zonas agro-ecológicas de la provincia de Buenos Aires y muestras de suelo, adaptado de SAGPyA; 1995.....	71
Figura 2.3	Triángulo textural (USDA, 1993).	76
Figura 2.4	Distribución de Cu (a), Zn (b), Co (c) y Mo (d) obtenidas a través del procedimiento de extracción secuencial realizado en los suelos muestreados (en %).  INT: fracción intercambiable MO: fracción unida a materia orgánica INOR: fracción inorgánica RES: fracción residual	90
Figura 3.1	: Producción y utilización de forrajes. Adaptado de Ugarte, 2013.	118
Figura 3.2	Ubicación de la fertilización en el marco de la toma de decisiones en un sistema productivo. Extraído de García et al., 2002.....	122
Figura 3.3	Ensayo preliminar de fertilización en microcosmos.	132
Figura 3.4	Planta entera de Trébol blanco y Raigrás perenne.....	133
Figura 3.5	Morfología de las especies forrajeras Raigrás perenne (arriba); Trébol blanco (abajo) utilizadas en el ensayo de siembra.	134
Figura 3.6	Producción promedio (en gr de MS) de biomasa producida de Raigrás Perenne y Trébol Blanco para macetas testigo y fertilizadas con excretas provenientes de SI y SE de producción al primer corte (C1). Barras de error representan el desvío estándar.	137
Figura 3.7	Promedio de MS de Raigrás perenne y Trébol blanco (en g) obtenidos para macetas testigo y fertilizadas con excretas extensivas e intensivas al segundo corte (C2). Barras de error representan la desviación estándar.	139

- Figura 3.8 Parámetros de crecimiento evaluados sobre muestras de planta entera para raigrás perene según tratamiento al primer cote (C1). Barras de error representan la desviación estándar. 141
- Figura 3.9 Parámetros de crecimiento evaluados sobre muestras de planta entera para trébol blanco según tratamiento al primer cote (C1). Barras de error representan la desviación estándar. 143
- Figura 3.10 Concentración promedio de Cu y Zn en $\mu\text{g/g}$ determinadas en la biomasa foliar de Raigrás perenne, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados. SE: excretas provenientes de sistemas extensivos de producción. SI: excretas provenientes de sistemas intensivos de producción. 148
- Figura 3.11 Concentración promedio de Cu y Zn en $\mu\text{g/g}$ determinadas en la biomasa foliar de Trébol blanco, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados. SE: excretas provenientes de sistemas extensivos de producción. SI: excretas provenientes de sistemas intensivos de producción. 149
- Figura 3.12 a) y b) Concentración (en $\mu\text{g/g}$) de Cu y Zn determinada en la biomasa aérea foliar para Raigrás perenne y Trébol blanco, según los diferentes tratamientos de fertilización aplicados, al segundo corte (C2)..... 157
- Figura 4.1 Esquema de parcela de fertilización. Se esquematizan las franjas aleatorizadas con cada tratamiento correspondiente; las réplicas de tratamiento y las muestras de planta entera y cortes (C1 y C2). 179
- Figura 4.2 Concentración de Cu y Zn al primer corte (C1: 30 días) determinado en las muestras de forraje. 181
- Figura 4.3 Concentración en $\mu\text{g/g}$ de Cu y Zn determinados en las muestras de forraje obtenidas al segundo corte (C2) a los 90 días post fertilización..... 187
- Figura 5.1 a) y b) Porcentaje de desaparición de la materia seca en rumen de las muestras de forraje (fresco y seco) correspondientes al testigo sin fertilización (a) y al forraje enriquecido en Cu y Zn (b). 215
- Figura 5.2 Evolución del pH determinado en el líquido ruminal en cada tiempo de incubación evaluado. 220
- Figura 5.3 Liberación de Cu y Zn (%) en rumen de las muestras de forraje fresco testigo sin fertilización como forraje fresco enriquecido. 223