



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

INTERSIEMBRA DE LEGUMINOSA SOBRE *Thinopyrum ponticum*
COMO MEJORADORA DE LA BIOMASA FORRAJERA, VALOR
NUTRICIONAL Y ESTADO ORGÁNICO DEL SUELO

Tesis presentada para optar al grado de
DOCTOR EN AGRONOMÍA

Por: Ing. Agr. Mariano Menghini

DIRECTOR: Ing. Agr. Hugo Mario Arelovich, MSc., PhD.

CO-DIRECTOR: Ing. Agr. Juan A. Galantini, Mg., Dr.

Departamento de Agronomía
Universidad Nacional del Sur
Bahía Blanca, abril de 2018

Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre el 8/03/2012 y el 30/03/2018, bajo la dirección del Dr. Hugo M. Arelovich y la co-dirección del Dr. Juan A. Galantini.

Agradecimientos

A la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por financiar mi proyecto y formación.

Al Dto. De Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, por brindarme la posibilidad de capacitarme y trabajar respetando un marco de independencia y libertad intelectual.

A mi director de tesis, Dr. Hugo Arelovich por la atención y dedicación brindada en todo momento, por sus enseñanzas que sirven de guía y su gran amistad.

A mi Co-Director de tesis, Dr. Juan Galantini por su interés en brindarme la posibilidad de desarrollarme como profesional y su gran dedicación.

Al Ing. Agr. Cristian Kleine y al Sr. Gabriel Elizondo por colaborar activamente en la realización de mis experimentos en sus respectivos establecimientos.

Al grupo de Nutrición Animal del Dto. De Agronomía (UNS) Dra. Marcela Martínez, Mg. Rodrigo Bravo y Lic. Delia Chamadoira por su incondicional apoyo tanto profesional como personal, por la colaboración en la realización de análisis en laboratorio y gran su amistad.

A Romina Andrioli, Francisco Blazquez, Juan Manuel Martínez, Matias Duval, Fernando López, Cecilia Constantino y Martín de Lucia, del Dto. De Agronomía que de una u otra forma me han ayudado.

A mi familia y amigos por ser el motivo de mi vida.

Resumen

La incorporación de leguminosas en los agroecosistemas ganaderos, presenta una serie de ventajas productivas y ambientales, respecto a los sistemas basados únicamente en gramíneas. El objetivo del trabajo fue analizar el efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas puras de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) en la región semiárida. Para ello, se condujeron una serie de experimentos con el objetivo de evaluar específicamente (1) el efecto de la intersembra con vicia (*Vicia villosa*) sobre la biomasa forrajera, valor nutricional de la pastura y dinámica de las fracciones orgánicas del suelo en tres ambientes del sudoeste bonaerense (Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo), (2) el efecto de la densidad de intersembra con vicia o trébol de olor blanco (*Melilotus albus*), sobre los cambios de valor nutricional en función de la composición botánica, y por último, (3) determinar el momento de corte óptimo para la confección de reservas (heno o ensilaje) y estudiar el efecto de la incorporación de grano de cereal en ensilaje de pasturas consociadas. Las mezclas forrajeras se realizaron intersembrando vicia o trébol en otoño de cada año, sobre agropiro implantado. El forraje se cortó manualmente, sobre una superficie de 0,4 m² y la frecuencia de defoliación estuvo basada en el crecimiento de agropiro. Durante un período de dos años sobre una pastura monofítica de agropiro y una consociación con vicia (20 kg ha⁻¹), se evaluó la biomasa forrajera y su valor nutricional (FDN, FDA, LDA, DIVMS y PB). Durante este ensayo se realizó un fraccionamiento físico del suelo, para separar las diferentes fracciones que componen la materia orgánica hasta la profundidad de 0-20 cm. En otro ensayo, se decidió estudiar el efecto de las densidades de intersembra, se incluyeron en este caso dos especies de leguminosas (vicia o trébol). Ambas, se intersembraron separadamente a tres densidades diferentes, en función de plantas agropiro:leguminosa (80:20, 70:30 y 60:40). Por su parte, para el estudio de reservas forrajeras, en otro ensayo, se cortó una pastura pura de agropiro en cinco estados fenológicos, desde vegetativo (7/11/2012) hasta grano pastoso (14/02/2013) para la elaboración de heno y ensilaje en cada fecha. Con esta información, en un último ensayo se estudió el efecto de la inclusión de una leguminosa (trébol) y grano de avena en ensilajes de agropiro. Las mezclas de forraje y grano se realizaron en laboratorio combinando tres proporciones de trébol (T0: sin trébol, agropiro puro; T20: 20% trébol y T40: 40% trébol) y dos niveles de grano (G0: sin grano y G1: 30% de grano) en base a la MS. Cuando se intersembró vicia o trébol sobre agropiro, se registró en todos los sitios un aumento en la producción forrajera anual que fue del 28 a 190%, salvo para la localidad de Cabildo que la producción no cambió ($p=0,08$). Analizando la producción de agropiro separadamente no se observa una disminución con la inclusión de vicia. Por lo tanto, se entiende que la leguminosa acompañante, explora recursos que el agropiro no hace. En cambio, se encontró que trébol ejerció una competencia con agropiro avanzada la primavera, porque a medida que aumentó la biomasa de trébol disminuyó linealmente la biomasa de agropiro. Comparando la producción forrajera de vicia y trébol, ambas especies mostraron una buena capacidad de compensación en el crecimiento, ya que no mostraron diferencias

en el rendimiento a diferentes densidades. En general, la intersembra con leguminosas aumenta el contenido de PB (entre 1,0 y 1,4% cada 10% de leguminosa en la composición), DIVMS y LDA de la pastura, mientras que disminuyó los contenidos de FDN (1,5% cada 10% de leguminosa) y FDA. Además, se identificó transferencia de nitrógeno de vicia y trébol hacia agropiro por mayor contenido de PB del agropiro consociado, tanto en primavera como en otoño. La inclusión de vicia incrementó el contenido de Carbono orgánico particulado (COP) grueso (hasta 42%) y fino (hasta 13%) del suelo, sin modificar el contenido de carbono orgánico total. Para Cabildo y Bahía Blanca la inclusión de vicia también generó un aumento (12%) del nitrógeno de la materia orgánica particulada. Respecto a la elaboración de reservas de agropiro, se encontró que el heno mantuvo mejor el valor nutricional que el ensilaje. Aunque, la mayor fuente de variación se relacionó al estado fenológico de la pastura en el momento de corte y no al tipo de reserva elaborada. Para la elaboración de un adecuado ensilaje de agropiro, el período óptimo de corte va desde espiga embuchada a antesis, mientras que para henificación el período óptimo es mayor, desde estado vegetativo hasta antesis. La incorporación de una leguminosa como el trébol y el grano de avena al ensilaje de agropiro generó aumentos en el contenido de PB y disminuciones en FDN, FDA. La adición de grano, mejora la DIVMS en los tratamientos con menor cantidad de trébol (T0 y T20). A medida que aumentó la participación de trébol, los valores de pH se incrementaron progresivamente de 3,78 (T0) a 4 (T40). Sin embargo, la adición de grano generó una disminución de pH. El ensilaje con trébol de olor blanco hasta el 40%, no presentó un problema para la realización de un adecuado ensilaje, resultando la mejor alternativa junto con la incorporación de grano.

Abstract

The inclusion of legumes in livestock agroecosystems have production and environmental advantages, compared to systems based only on grasses. The objective of this work was to analyze the effect of the inclusion of legumes in pure pastures of tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum*). A series of experiments were conducted with the objective of evaluating, (1) the effect of interseeding hairy vetch (*Vicia villosa*) over the forage biomass, nutritional value of pasture and dynamics of soil organic matter fractions in three representative semiarid environments of the Buenos Aires province, Argentina (Bahía Blanca, Tornquist and Cabildo), (2) the effect of the density of interseeding with hairy vetch or white sweetclover (*Melilotus albus*) over nutritional value depending on the botanical composition, and finally, (3) determining the optimal cutting moment for the preparation of reserves and study the effect of the incorporation of grain in silage of mixture pastures. The forage mixtures were made by interseeding hairy vetch or clover in the autumn of each year, on implanted tall wheatgrass. The forage was cut manually, on a surface of 0,4 m² and the frequency of defoliation was based on the growth of tall wheatgrass. During a two-year period, on tall wheatgrass monoculture and mixture with hairy vetch (20 kg ha⁻¹), biomass yield and its nutritional value (NDF, ADF, ADL, IVDMD and CP) were evaluated. During this period, soil organic matter fractions were separated by size using a wet-sieving method up to the depth of 0-20 cm. Besides, to study the effect of interseeded densities, another test was realized that included two species of legumes (hairy vetch or white sweetclover). Separately, both legumes were interseeded at three different densities based on the tall wheatgrass:legume plant relationships of 80:20, 70:30 and 60:40. Finally, for the study of reserves, a pure pasture of tall wheatgrass was cut in five phenological stages from vegetative (11/7/2012) to dough-grain (2/14/2013) for the preparation of hay and silage on each date. With this information, in another trial the effect of the inclusion of a legume (clover) and grain of oats in silages of tall wheatgrass was studied. The mixtures of forage and grain were made in the laboratory combining three proportions of clover (T0: without clover, pure tall wheatgrass, T20: 20% clover and T40: 40% clover) and two grain levels (G0: no grain and G1: 30 % grain) based on the MS. When hairy vetch or clover was interseeded over tall wheatgrass, an increase in annual yield biomass was recorded from 28 to 190%, except in Cabildo, where production did not change. Analyzing tall wheatgrass biomass separately, there is no decrease in production with hairy vetch inclusion. Therefore, the accompanying legume, seems to use the resources that tall wheatgrass leaves available. Instead, the clover competed with tall wheatgrass in late spring, thus, as the biomass of clover increased, the biomass of tall wheatgrass decreased linearly. Hairy vetch and clover plants showed growth compensation because there was no difference in forage yield at different density. In general, the hairy vetch or clover interseeding increased total CP (between 1,0 - 1,4% every 10% of legume in the composition), IVDMD and ADL, while the NDF (1,5 % every 10% of legume in the composition) and ADF decreased. In addition, the nitrogen transfer from the legume

appear to be responsible for the increase in the CP content of tall wheatgrass when growing together. This was evident in both seasons spring and fall. Hairy vetch increased the content of particulate organic carbon (POC) in fraction $>105\mu\text{m}$ (up to 42%) and fraction between 53 and $105\mu\text{m}$ (up to 13%) of the soil. The total organic carbon in soil (SOC) content did not change, therefore the relationship (POC/SOC) was increased. For Cabildo and Bahía Blanca hairy vetch inclusion enhanced the N content (12%) of the particulate organic matter. Regarding the preparation of wheatgrass reserves, it was found that hay maintained its nutritional value better than silage. Although, the greatest source of variation can be attributed to the phenological stage of the pasture and to a lesser extent to the type of reserve. For the best silage of tall wheatgrass, the optimal cutting period was from booting to anthesis, whereas, for haymaking the optimal period extends from vegetative to anthesis. Inclusion of clover and grain increased silage CP content and decreased NDF and ADF. In addition, grain incorporation improved IVDMD in treatments with less clover (T0 and T20). The highest proportion of clover in the mixture reduced FDN and FDA. As clover participation was greater, the silage pH values increased progressively from 3.78 (T0) to 4 (T40). However, the addition of grain decreased pH. According to these results, a silage including white sweetclover up to 40%, was not a restriction to obtain a fairly good quality silage, being the best alternative when also combined with grain.

Índice de contenidos

Título	Página
Prefacio	i
Agradecimientos	iii
Resumen	v
Abstract	vii
Índice de contenidos	ix
Índice de tablas	xii
Índice de figuras	xv
Abreviaturas	xvii
CAPÍTULO I	
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
1.1 Las pasturas en los sistemas ganaderos	1
1.2 Consociación gramínea-leguminosa	3
1.2.1 Biomasa forrajera y valor nutricional	5
1.2.2 Fracciones de la materia orgánica del suelo	7
1.2.3 Reservas forrajeras	10
1.3 Agropiro alargado (<i>Thinopyrum ponticum</i>)	13
1.4 Vicia (<i>Vicia villosa</i>)	15
1.5 Trébol de olor blanco (<i>Melilotus Albus</i>)	17
1.5 HIPÓTESIS GENERAL	18
CAPÍTULO II. Intersiembra de <i>Vicia villosa</i> sobre <i>Thinopyrum ponticum</i>: Productividad forrajera, valor nutricional y cambios en la composición química del suelo	
2.1 INTRODUCCIÓN	19
2.2 HIPÓTESIS	20
2.3 OBJETIVOS	20
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	
2.4.1 Caracterización del sitio experimental	21
2.4.2 Diseño experimental y tratamientos	22
2.4.3 Muestreo de forraje y determinaciones químicas	23
2.4.4 Muestreo y acondicionamiento de suelo	25
2.4.5 Determinaciones analíticas de suelo	26
2.4.6 Análisis estadístico	26
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
2.5.1 Resultados. Biomasa forrajera total y por especie	28
2.5.2 Resultados. Valor nutricional del forraje	30
2.5.3 Discusión. Biomasa forrajera total y por especie	36
2.5.4 Discusión. Valor nutricional del forraje	38
2.5.5 Resultados. Contenidos de carbono y nitrógeno de las fracciones orgánicas y humedad de suelo	45
2.5.6 Discusión. Contenidos de carbono y nitrógeno de las fracciones orgánicas y humedad de suelo	51
2.5.7 Resultados. Índices edáficos basados en el contenido de carbono y nitrógeno de las diferentes fracciones	56

2.5.8 Discusión. Índices edáficos basados en el contenido de carbono y nitrógeno de las diferentes fracciones	61
2.5.9 Discusión. Impacto ambiental de la intersembra con leguminosas	63
2.6 CONCLUSIONES	65
CAPÍTULO III. Efectos de las densidades de <i>Vicia villosa</i> o <i>Melilotus albus</i> intersemebrada con <i>Thinopyrum ponticum</i> sobre productividad forrajera y valor nutricional	
3.1 INTRODUCCIÓN	67
3.2 HIPÓTESIS	68
3.3 OBJETIVOS	68
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS	
3.4.1. Caracterización del sitio experimental	69
3.4.2 Diseño experimental y tratamientos	70
3.4.3 Muestreo de forraje y determinaciones analíticas	70
3.4.4 Análisis estadístico	71
3.5 RESULTADOS	
3.5.1 Producción de biomasa forrajera	73
3.5.2 Valor nutricional de la pastura	76
3.5.3 Composición química en función de la participación proporcional de leguminosas	78
3.6. DISCUSIÓN	
3.6.1 Producción de biomasa	83
3.6.2 Valor nutricional de la pastura	86
3.7 CONCLUSIONES	89
CAPÍTULO IV. Efecto del tipo de reserva en <i>Thinopyrum ponticum</i> y la incorporación de <i>Melilotus albus</i> y grano de cereal sobre la fermentación y composición química del ensilaje	
4.1 INTRODUCCIÓN	91
4.2 HIPÓTESIS	92
4.3 OBJETIVOS	92
4.4 MATERIALES Y MÉTODOS	
4.4.1 EXPERIMENTO I	
4.4.1.1 Características del sitio experimental	93
4.4.1.2 Diseño experimental y tratamientos	94
4.4.1.3 Obtención de las muestras y determinaciones analíticas	94
4.4.1.4 Análisis estadístico	95
4.4.2 EXPERIMENTO II	
4.4.2.1 Caracterización del sitio experimental y las pasturas	96
4.4.2.2 Diseño experimental y Tratamientos	97
4.4.2.3 Confección de microsilos	98
4.4.2.4 Determinaciones en material forrajero	98
4.4.2.5 Análisis estadístico	99
4.5 RESULTADOS	
4.5.1 EXPERIMENTO I	
4.5.1.1 Características de la pastura de agropiro al momento de corte	100
4.5.1.2 Valor nutricional de reservas forrajeras	101

4.5.1.3 Parámetros de fermentación en ensilajes	104
4.5.2 EXPERIMENTO II	
4.5.2.1 Valor nutricional de ensilajes	105
4.5.2.2 Parámetros de fermentación en ensilajes	107
4.5.2.3 Análisis de Componentes principales microsilos de agropiro con la inclusión de trébol de olor y grano de avena	108
4.6 DISCUSIÓN	
4.6.1 EXPERIMENTO I	
4.6.1.1 Características de la pastura	110
4.6.1.2 Valor nutricional en heno y ensilaje	111
4.6.2 EXPERIMENTO II	
4.6.2.1 Valor nutricional de ensilajes	115
4.7 CONCLUSIONES	119
5. CONCLUSIONES GENERALES	121
6. IMPLICANCIAS GENERADAS A PARTIR DEL PRESENTE TRABAJO	123
BIBLIOGRAFÍA	125
ANEXO	153

Índice de tablas

Tabla 2.1 Localización geográfica, condiciones climáticas, características edáficas (0-20 cm) y particularidades de los tres sitios experimentales.....	22
Tabla 2.2 Fechas de intersembrado de <i>V. villosa</i> para cada sitio y año.....	23
Tabla 2.3 Fechas de corte (día/mes) de forraje en cada sitio experimental y año.....	24
Tabla 2.4 Contenido de Proteína Bruta (PB), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA), Digestibilidad "in vitro" de la materia seca (DIVMS) y contenido de materia seca de agropiro (MS), en primavera para Bahía Blanca (temprana y tardía), Tornquist y Cabildo. Valores promedio para 2013 y 2014.....	31
Tabla 2.5 Contenido de Proteína Bruta (PB), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA), Digestibilidad "in vitro" de la materia seca (DIVMS) y contenido de materia seca de agropiro (MS), en otoño para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo. Valores promedio para 2014 y 2015.....	33
Tabla 2.6 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para los cortes de primavera en Bahía Blanca, Cabildo y Tornquist.....	34
Tabla 2.7 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para los cortes de otoño en Bahía Blanca, Cabildo y Tornquist.....	35
Tabla 2.8 Contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg), fino (COPf), carbono orgánico asociado a la fracción mineral (COM) y carbono orgánico total (COT) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo	48
Tabla 2.9 Contenido del nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo.....	51
Tabla 2.10 Relación entre carbono orgánico particulado grueso y carbono orgánico total (COPg:COT), fino y COT (COPf:COT), carbono orgánico asociado a la fracción mineral y COT (COM:COT), COPg y nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (COPg:N-MOPg), COPf y nitrógeno de la materia orgánica particulada fina (COPf:N-MOPf) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo.....	59
Tabla 2.11 Índices edáficos basados en la relación entre las fracciones orgánicas, labilidad del carbono (COPg+f/COM) a diferentes profundidades e índice de estratificación del carbono orgánico total al finalizar el ensayo.....	60
Tabla 3.1 Análisis de suelo (0-20) del sitio experimental al inicio del ensayo.....	68
Tabla 3.2 Contrastes efectuados y coeficientes utilizados en las comparaciones.....	71
Tabla 3.3 Biomasa de agropiro, leguminosa y total para los diferentes tratamientos en cada fecha de corte y significancia de los contrastes evaluados.....	72
Tabla 3.4 Valor nutricional de los diferentes tratamientos en las cuatro fechas de cortes y significancia de los contrastes evaluados.....	76
Tabla 4.1 Análisis de suelo (0-20) del sitio experimental al inicio del ensayo.....	92

Tabla 4.2 Composición química de los forrajes utilizados al momento de la confección de los microsilos.....	96
Tabla 4.3 Características de la pastura de agropiro en relación al estado fenológico.....	99
Tabla 4.4. Contenido de Proteína Bruta (PB), Lignina en Detergente Ácido (LDA) y Digestibilidad “ <i>in vitro</i> ” de la Materia Seca (DIVMS) para la pastura, heno o ensilado en diferente estados fonológicos.....	100
Tabla 4.5 Contenido de Materia Seca (MS), Fibra en Detergente Neutro (FDN) y Ácido (FDA) y Carbohidratos No Estructurales Solubles (CNES) para pastura de agropiro, heno o ensilado en diferentes estados fonológicos.....	102
Tabla 4.6 Contenido de pH y N-NH ₃ /NT de microsilos de agropiro puro en diferentes estados fenológicos.....	103
Tabla 4.7 Fibra Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA) y contenido de materia seca (MS) en microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.....	104
Tabla 4.8 Proteína bruta (PB), fibra en detergente neutro (FDN), Carbohidratos No Estructurales Solubles (CNES) y Digestibilidad “ <i>in vitro</i> ” de la materia seca (DIVMS) en microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.....	105
Tabla 4.9 Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃ /NT) y pH en diferentes microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.....	106
Tabla 4.10 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para la composición química de ensilajes de agropiro puro y con adición de trébol de olor y grano de avena durante la confección.....	107

Índice de figuras

Figura 2.1 Esquema del procedimiento a campo para la toma de muestra forrajera en cada bloque. AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro alargado con <i>Vicia villosa</i> ; AgrCon: Agropiro puro del tratamiento AgrVic.....	24
Figura 2.2 Esquema de la técnica de fraccionamiento físico granulométrico (Galantini, 2005). Materia Orgánica Particulada gruesa (MOPg) y fina (MOPf) y la asociada a la fracción mineral (MOM).....	25
Figura 2.3 Biomasa forrajera total y por especie en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo para cada fecha de corte. AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro + <i>V. villosa</i> (20 kg ha ⁻¹). Las líneas indican el desvío muestral de la biomasa total. ^{a,b} Letras para la misma fecha de corte indican diferencias ($P < 0,05$) entre tratamientos para biomasa total.....	29
Figura 2.4 Biplot de los cortes de forraje en primavera en ambos tratamientos, separados por línea punteada (punto vacío: AgrPur y punto lleno: AgrVic) y las variables (vectores) estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales para las localidades de Bahía Blanca (BB), Tornquist (T) y Cabildo (C) en 2013 y 2014. Los números al lado de cada punto representan el mes y año de corte.....	34
Figura 2.5 Biplot de los cortes de forraje en otoño (punto vacío: AgrPur y punto lleno: AgrVic) y las variables (vectores) estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales para las localidades de Bahía Blanca (BB), Cabildo (C) y Tornquist (T) en 2014 y 2015 (separadas por línea punteada).....	36
Figura 2.6 Contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg), fino (COPf), carbono orgánico asociado a la fracción mineral (COM) y carbono orgánico total (COT) de suelos (0-20) para el tratamiento agropiro puro (AgrPur) y la consociación con <i>V. villosa</i> (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo de todo el ensayo. Las líneas indican el desvío muestral.....	47
Figura 2.7 Contenido de nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf), nitrógeno (N) disponible y humedad de suelos (0-20) para el tratamiento agropiro puro (AgrPur) y la consociación con <i>V. villosa</i> (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo del ensayo. Las líneas indican el desvío muestral.....	50
Figura 2.8 Relación entre carbono orgánico particulado grueso y carbono orgánico total (COPg:COT), fino y COT (COPf:COT), carbono orgánico asociado a la fracción mineral y COT (COM:COT), COPg y nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (COPg:N-MOPg), COPf y nitrógeno de la materia orgánica particulada fina (COPf:N-MOPf) de suelos (0-20) para el tratamiento agropiro puro (AgrPur) y la consociación con <i>V. villosa</i> (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo del ensayo. Las líneas indican el desvío muestral.....	58
Figura 2.9 Relación entre el contenido de nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf) y el contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg) y fino (COPf) en muestras de suelo (0-20 cm) durante el período de ensayo (2013-2015) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo.....	61
Figura 3.1 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en el sitio de estudio.....	68

Figura 3.3 Efecto de la dosis de intersemebra agropiro:leguminosa (80:20; 70:30 y 60:40) sobre la biomasa de vicia (A) o trébol de olor blanco (B) para las diferentes fechas de corte. C1:23/5/2014; C2: 7/10/2014 y C3: 9/12/2014.....	73
Figura 3.4 Biomasa de <i>V. villosa</i> (A) o <i>M. albus</i> (B) en relación con la biomasa de agropiro para la fecha de corte 2(□) y 3 (Δ).....	74
Figura 3.5 Relación entre la proporción de leguminosa (intersemebras de agropiro con <i>M. albus</i> [◇AgrTre] o <i>V. villosa</i> [□AgrVic]) en la pastura y el porcentaje de proteína bruta (PB) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	78
Figura 3.6 Relación entre el nitrógeno exportado (kg ha ⁻¹) en ambos cortes primaverales y la concentración de PB del agropiro puro al otoño siguiente. Cada punto corresponde a una parcela. Fecha de corte C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	79
Figura 3.7 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con <i>V. villosa</i> o <i>M albus</i> ., y el porcentaje de Fibra en Detergente Neutro (FDN) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	80
Figura 3.8 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con <i>V. villosa</i> [□AgrVic] o <i>M albus</i> [◇AgrTre], y el porcentaje de Fibra en Detergente Ácido (FDA) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	81
Figura 3.9 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con <i>V. villosa</i> [□AgrVic] o <i>M albus</i> [◇AgrTre], y el porcentaje de Lignina (LDA) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	81
Figura 3.10 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con <i>V. villosa</i> o <i>M albus</i> , y la Digestibilidad “ <i>in vitro</i> ” de la Materia Seca (DIVMS) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.....	82
Figura 4.1 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en el sitio de estudio durante el año 2012 y principios de 2013 (Fuente: Bolsa de cereales y Productos Bahía Blanca).....	91
Figura 4.2 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en Napostá durante el año 2014 (Fuente: Lic. Carlos Zotelo. CERZOS-CONICET).....	95
Figura 4.3 Biplot de los ensilajes de agropiro, con la incorporación de grano de avena (encerrados en círculos) y dosis crecientes de trébol de olor en la confección (señalada con el triángulo). Los puntos representan cada microsilo, en vectores las variables de composición química estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales.....	107

Abreviaturas

ACP: Análisis de Componentes Principales

AgrCon: Agropiro puro en el tratamiento consociado (AgrVic)

AgrPur: Agropiro puro (tratamiento control)

AgrVic: Agropiro + *Vicia villosa* 20 kg ha⁻¹.

COM: Carbono orgánico asociada a la fracción mineral <53 µm (g kg⁻¹)

COP: Carbono orgánico particulado 53-2000 µm (g kg⁻¹)

COPf: Carbono orgánico particulado fino 53-105 µm (g kg⁻¹)

COPg: Carbono orgánico particulado grueso 105-2000 µm (g kg⁻¹)

COT: Carbono orgánico total (g kg⁻¹)

DIVMS: Digestibilidad "in vitro" de la MS (%)

FDA: contenido de Fibra en Detergente Ácido (%)

FDN: contenido de Fibra en Detergente Neutro (%)

LDA: contenido de Lignina (%)

PB: contenido de Proteína Bruta (%)

MOM: materia orgánica asociada a la fracción mineral <53 µm (g kg⁻¹)

MOP: Materia orgánica particulada

MOPf: Materia orgánica particulada fino 53-105 µm (g kg⁻¹)

MOPg: Materia orgánica particulada grueso 105-2000 µm (g kg⁻¹)

MS: Materia seca

N: Nitrógeno

Veg: Estado fenológico de agropiro correspondiente a vegetativo

Eem: Estado fenológico de agropiro correspondiente a espiga embuchada "booting"

Ant: Estado fenológico de agropiro correspondiente Antesis (anteras visibles)

GLE: Estado fenológico de agropiro correspondiente a grano lechoso

GPa: Estado fenológico de agropiro correspondiente a grano pastoso

CAPÍTULO I

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Las pasturas en los sistemas ganaderos

La pérdida de capacidad productiva de los suelos debida a los procesos de degradación está aumentando en severidad y extensión en muchas partes del mundo, con más de 20% de tierras agrícolas afectadas, 30% de bosques y 10% de los pastizales, lo que significa que un cuarto de la población mundial depende directamente de suelos degradados (FAO, 2008). Sarandón y Flores (2014) exponen algunos problemas centrales que sufre Argentina respecto a la degradación de los recursos. Por un lado, el 20% del territorio está afectado por erosión hídrica o eólica en grado severo. Por otro, existe una pérdida de nutrientes del suelo, consecuencia de un incremento permanente de extracción sin reposición, lo que determina un empobrecimiento de los suelos. Sumado a esto, la menor productividad debido a la pérdida de materia orgánica del suelo (MO). El Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, 2005) reconoce que "el gran desarrollo tecnológico de las últimas décadas ha estado centrado principalmente en tecnologías de insumos y capital intensivas, lo que desplazó al sector de pequeños productores", que representan en nuestro país cerca del 70% del total (Sarandón y Flores 2014).

Argentina tiene un bajo uso de nitrógeno (N) como fertilizante, aunque en los últimos años ha habido una gran adopción por esta herramienta y un creciente interés desde la investigación por evaluar su efecto y encontrar el mejor y más eficiente modo de aplicación. La aplicación de fertilizantes nitrogenado es una alternativa ampliamente aceptada, en general, para lograr aumentos de rendimiento en forrajes y cultivos de cosecha. Sin embargo, no resulta sostenible en el largo plazo.

Mientras que, en los últimos 50 años se duplicaron los rendimientos de los principales cultivos utilizados para la alimentación humana en el mundo, la cantidad de nitrógeno externo gastado (vía fertilización) incrementó siete veces, la cantidad de fósforo tres veces y el agua utilizada para el riego dos veces, durante el mismo período (Foley *et al.*, 2005). La producción de un kilogramo de nitrógeno contenido en un fertilizante, requiere la energía equivalente contenida en 1,4 a 1,8 litros de combustible diésel (Tittonel, 2013). Con el advenimiento del proceso Haber-Bosch (requiere 250 atmósferas y 450°C), la fijación industrial de nitrógeno se puso a la altura de la fijación biológica de nitrógeno en los últimos 100 años, permitiendo un aumento en la producción agrícola. Pero esto, tiene costos ambientales (Hansen, 2017).

El masivo consumo de insumos costosos y escasos tampoco ha logrado solucionar el problema del hambre de la población mundial: actualmente hay 1,2 billones de

personas desnutridas, con dietas que no cumplen el mínimo necesario de calorías (Sarandón y Flores, 2014). El camino actual de la producción de alimentos mundial no resulta sostenible en el tiempo desde el punto de vista ambiental y social. Por ello, se entiende necesaria la aplicación de técnicas que conduzcan a un desarrollo sostenible de la producción ganadera moderna. Con el fin de evitar externalidades indeseables, generando, en la medida de lo posible, un impacto ambiental favorable.

Un informe realizado por la FAO (McLeod, 2011) proyecta, para el año 2050 una demanda creciente de carne y leche del 73 y 58 %, respectivamente, respecto al año 2010. Con lo cual, existe un gran desafío en la producción ganadera actual, que no solo se preocupa por el suministro de cantidades suficientes de alimento, sino que se involucran aspectos de sustentabilidad económica y social de la producción animal. Para ello, los sistemas pastoriles presentan una serie de ventajas comparativas con las explotaciones intensivas, ya que poseen menores costos de producción (Ford y Musser, 1998), mejoras en la salud animal (Washburn *et al.*, 2002) y mejor percepción de calidad de vida para la familia en el campo (Jasckson-Smith *et al.*, 1996).

Los numerosos beneficios ambientales y económicos de los forrajes perennes son ampliamente conocidos, sin embargo, los forrajes anuales pueden complementar las pasturas perennes para mantener la productividad en el sistema (Jenkins y Berger, 2012), sobre todo en períodos de tiempo donde las pasturas perennes no producen forraje o tienen bajas tasas de crecimiento. Además, la inclusión de especies anuales, puede ayudar a complementar la oferta de nutrientes para la dieta. A pesar de ello, los cultivos anuales presentan una desventaja debida a las características fenológicas inherentes que poseen.

Un sistema ganadero basado exclusivamente en pasturas anuales, presenta una serie de inconvenientes. Por su corto ciclo de vida, el uso de especies anuales reduce la cubierta vegetal, exponiendo al suelo a la erosión del viento y agua. Un hábito de enraizamiento poco profundo en plantas anuales, aumenta la oportunidad de movimiento de agua y nutrientes por debajo de la zona radicular de la planta (Dunin y Passioura, 2006). La degradación de suelo, utilizando cultivos anuales es también atribuible a las prácticas comunes de labranza que se realizan (Gomiero *et al.*, 2011). En cambio, las pasturas perennes en regiones semiáridas pueden garantizar, una producción forrajera mínima y una superficie de suelo cubierta durante todo el año.

La inclusión de otra especie (no necesariamente perennes) en una cadena forrajera basado principalmente es especies perennes, puede brindar la posibilidad de mayor captura de recursos (agua, nutrientes, luz) en tiempo y espacio. Sobre todo, si las especies que componen la consociación son una combinación de gramínea y leguminosa, estas especies en conjunto realizan un mejor aporte de nutrientes en la dieta del animal, por complementariedad (Luscher *et al.*, 2014), en comparación a gramíneas solamente.

1.2 Consociación gramínea-leguminosa

Preocupaciones económicas y ecológicas, por la utilización de insumos industriales en ecosistemas, contribuye a un creciente interés por las leguminosas (Muir *et al.*, 2011). Se requiere la transformación del actual sistema de producción por sistemas más eficientes y sustentables (Griffon, 2006). La diversificación de los sistemas mediante el aumento del número de especies cultivadas, y la inclusión de mayor proporción de leguminosas es una respuesta global a los desafíos de la producción moderna (Malézieux *et al.*, 2009). Este es el caso de algunos sistemas agrícolas europeos que, en la década de 1950, obtenían el 50% del nitrógeno disponible directamente de la fijación biológica de nitrógeno por las leguminosas (Peoples *et al.*, 2009). El uso de leguminosas permite reducir parcial o totalmente el uso de fertilizantes nitrogenados (Fustec *et al.*, 2010), reducir las emisiones de dióxido de carbono (Nieder y Benbi 2008) y bajar la huella de carbono de los productos agropecuarios (Gan *et al.*, 2011). Todas consecuencias deseables en el marco de una producción ganadera moderna.

Beneficios adicionales de las denominadas "mezclas" o "consociaciones" de gramíneas-leguminosas, respecto al monocultivo de gramíneas están documentados. Estos incluyen, el mejor crecimiento de las leguminosas trepadoras debido a la arquitectura vegetal más diversa (Keating y Carberry, 1993), las transferencias del nitrógeno fijado biológicamente por las leguminosas (Brainard *et al.*, 2012) y la más lenta tasa de mineralización de nitrógeno después de la terminación del ciclo de leguminosa, lo que resulta en una mejor sincronización, entre la oferta de nitrógeno y las demandas del cultivo acompañante (Rosecrance *et al.*, 2000). Las consociaciones resultan más eficientes, que el cultivo de especies puras, en capturar mayores proporciones de recursos disponibles para el crecimiento de las plantas, en detrimento de las malezas (Malézieux *et al.*, 2009). De hecho, mezclas gramínea-leguminosas resisten mejor la invasión de malezas que los monocultivos (Brainard *et al.*, 2011; Sanderson, 2012). Además, se demostró que el uso de mezclas forrajeras complejas podría ser más rentable que el monocultivo de gramínea (Sanderson *et al.*, 2006; Deak *et al.*, 2010).

La inclusión de leguminosas, incrementa la diversidad de especies, ayudando a mantener la producción estable a lo largo del año (DeHaan *et al.*, 2010), porque los sistemas más diversos aprovechan mejor los recursos y tienen mayor producción que aquellos menos diversos (Héctor *et al.*, 1999). Mezclas complejas de especies forrajeras son una vía ecológica para incrementar la productividad de las pasturas (Minns *et al.*, 2001 y Sanderson *et al.*, 2004). Sanderson *et al.* (2005) trabajando con mezclas de pasturas de gramíneas y leguminosas encontró que, en años secos, las pasturas con 2 especies producen menos que las pasturas de 3, 6 o hasta 9 especies, y que en años con abundantes precipitaciones los rendimientos de forraje no cambian. Por lo tanto, resulta más importante aún, cuando los recursos son limitados (Bedoussac y Justes, 2010), como en las regiones semiáridas.

Se denomina complementariedad de nicho cuando varias especies utilizan los recursos de diferentes maneras, tanto en el espacio como en el tiempo, evitando así la competencia y explotando el medio ambiente más completamente que las comunidades que consisten en una o pocas especies (Hooper, 1998). La diversidad de plantas permite explotar capas del suelo a distintas profundidades y utilizar los recursos del suelo de manera más eficiente (Wilson, 1988). Este mecanismo de complementariedad resulta clave para el incremento de biomasa en mezclas forrajeras (Cardinale *et al.*, 2011).

Las leguminosas pueden ser complementarias a las especies no leguminosas, porque pueden utilizar nitrógeno de distinto origen y también pueden interactuar positivamente con otras especies aumentando el nitrógeno en el suelo (Spehn *et al.*, 2002). Esta complementariedad de las especies, también se aprovecha por la agricultura, ya que el uso de leguminosas como acompañantes de los cultivos, en muchos casos permite aumentos en los rendimientos a cosecha (Verret *et al.*, 2017). Una de las causas se debe a que las mezclas de especies forrajeras crean un ambiente altamente competitivo, que puede ser efectivo para disminuir la presencia de malezas (Sanderson *et al.*, 2013; Drenovsky y James, 2010). La baja diversidad, requiere que las funciones (debilitadas) sean suplidas mediante la utilización de insumos (Altieri y Nicholls, 1994; Swif *et al.*, 2004; Iermanó y Sarandón, 2009). Éste es el caso de la presencia de malezas, aprovechando recursos disponibles que las pasturas de baja diversidad no logran capturar. Sarandón y Flores (2014) citan otro ejemplo de una función debilitada en sistemas de baja diversidad. Cuando la utilización de fertilizantes, reemplazar el reciclado de nutrientes por medios biológicos. De hecho, la disponibilidad de nitrógeno, junto al estrés por agua son las dos mayores limitaciones de la producción (Sinclair y Rufty, 2012).

En los sistemas ganaderos regionales no resulta frecuente la fertilización de reposición, y menos en pasturas. Es preciso comprender que la fertilización no es la única vía de introducción de nitrógeno al sistema. Actualmente, interseembra de leguminosas en pastizales nativos y el establecimiento de mezclas gramíneas-leguminosas está siendo ampliamente adoptado para superar el déficit de nitrógeno en sistemas de pastoreo (Li *et al.*, 2015).

Investigaciones en diversos sitios revelan que la introducción de leguminosas en pasturas lleva a mayores acumulaciones de nitrógeno en el suelo y a un mayor nivel de productividad (Sleugh *et al.* 2000; Mortenson *et al.* 2004, 2005; Rao *et al.* 2007). Estos beneficios de las pasturas mixtas de gramínea-leguminosas depende de la especie de leguminosa (Spehn *et al.* 2002; Fornara y Tilman 2008), la biomasa para fijar suficiente cantidad de nitrógeno (Peoples *et al.*, 2012), la compensación con los efectos de facilitación y competencia que limitan los recursos entre las leguminosas y las otras plantas (Lithourgidis *et al.* 2006), la eficiencia con que el nitrógeno es transferido desde la leguminosa a la planta no leguminosa (PirhoferWalzl *et al.*, 2012), y la capacidad de generar consociaciones de gramíneas y leguminosas estables en el tiempo (Davies,

2001). Dependiendo de la densidad de plantas y el clima, leguminosas puede fijar entre 20 y 200 kg N ha⁻¹ (Ledgard, 2001). Para el norte de Estados Unidos se registraron rangos de fijación de 50 a 190 kg N ha⁻¹ (Teasdale *et al.*, 2004).

En los sistemas de bajas entradas de nitrógeno, es donde la incorporación de leguminosas tiene los mayores potenciales. La inclusión de leguminosas anuales sobre pasturas de gramíneas perennes puede realizarse mediante intersembra. La intersembra es la técnica que consiste en la siembra dentro de la cubierta de una vegetación ya establecida. Para realizarla, se pueden utilizar implementos específicos o adaptaciones de implementos de labranza con accesorios para la siembra (*e.g.* cinceles, arados rastra), a los que se les retira en forma intercalada dos o tres discos (Barioglio, 2006).

Bedoussac *et al.* (2015) explican tres tipos posibles de interacciones entre plantas: (i) competencia, que ocurre cuando una especie modifica el ambiente adversamente para otra especie, (*e.g.* sombreado, extracción de un recurso que se convierte en limitante), (ii) complementariedad, cuando las especies no compiten por los mismos recursos en el tiempo o espacio, o por una forma química de nutriente que permita un uso más eficiente de los recursos ambientales en comparación con cultivos únicos y (iii) facilitación, cuando la modificación del ambiente generada por una especie es beneficiosa para la otra, alelopatía y el efecto de barrera contra la propagación de enfermedades (Hauggaard-Nielsen y Jensen 2005) o como se menciona anteriormente, la competencia de las malezas (Sanderson *et al.*, 2012), o por ejemplo la mayor disponibilidad de fósforo en el suelo cuando se utilizan leguminosas (Hinsinger, 2001).

Las leguminosas no solo reducen o eliminan los requerimientos de nitrógeno a través de la fijación biológica, sino que también mejoran el valor nutritivo de los forrajes al aumentar la digestibilidad de la materia seca (Cui *et al.*, 2014). La búsqueda de genotipos adaptados de leguminosas, con tolerancia a la sequía debería ser una urgente prioridad de investigación (Boddy *et al.*, 2008) en la región semiárida.

1.2.1 Biomasa forrajera y valor nutricional

La consociación gramínea-leguminosa puede proporcionar una serie de beneficios, incluyendo la estabilidad de rendimiento y conducir a la mejora general del valor nutritivo del forraje (Sadeghpour *et al.*, 2013; Brooker *et al.*, 2015). Las mezclas de especies tienen la habilidad de producir más forraje que los componentes de la pastura de forma individual (Kirwan *et al.*, 2007; Connolly *et al.*, 2009; Nyfeler *et al.*, 2011; Sturludóttir *et al.*, 2013). Este efecto se llama complementariedad de nichos ("transgressive overyielding" en inglés) y tiende a observarse cuando las especies son de grupos funcionales diferentes (Nyfeler *et al.*, 2009; Sanderson, 2010; Finn *et al.*, 2013), gramíneas, leguminosas, arbustos, árboles. Consociaciones gramíneas-leguminosas son un ejemplo conocido de dicha complementariedad (Burdon, 1983).

Las consociaciones pueden producir incluso más biomasa que monocultivos fertilizados con nitrógeno (Sanderson *et al.*, 2013). Nyfeler *et al.* (2009) encontraron que mezclas conteniendo 40-60% de trébol y recibiendo 50 o 150 kg N ha⁻¹ como fertilizante, tuvieron los mismos rendimientos de biomasa que el monocultivo de la gramínea fertilizado con 450 kg N ha⁻¹.

En general, cuando aumenta la proporción de leguminosas en la pastura, aumentan los contenidos de proteína bruta (PB) y disminuyen la pared celular (Lithourgidis *et al.*, 2006, Baxter, 2017). Sturludóttir *et al.* (2013), observan como los incrementos de biomasa en mezclas gramíneas-leguminosas, respecto al monocultivo de gramínea, no fueron acompañados por disminuciones en la digestibilidad y contenidos de PB, como normalmente sucede con aumentos de biomasa. Esto permite una flexibilidad en cuanto al manejo de la defoliación, ya que las mezclas mantienen mejor el valor nutricional de la pastura en el tiempo, respecto a los monocultivos de gramínea (Luscher *et al.*, 2014).

De hecho, un estudio realizado por Adjesiwor *et al.* (2017) reportan que pasturas con 30% de leguminosas (alfalfa o *Lotus corniculatus*) acumularon más biomasa, tuvieron mejor valor nutricional y fueron económicamente favorables a sistema de monocultivo de alfalfa o cebadilla, incluso aquellos fertilizados con nitrógeno (56 y 112 kg N ha⁻¹).

El valor nutricional resultante de la mezcla, se relaciona con las características de las especies que la componen. Dal Pizzol *et al.* (2017) trabajando en mezclas de alfalfa con dos gramíneas, una templada (*Festuca arundinacea*) y otra tropical (*Axonopus catharinenses*), encuentran una complementación en términos de energía y proteína que conducen a asociaciones favorables sobre los parámetros ruminales cuando alfalfa se mezcla con la gramínea tropical, y no así con festuca. Principalmente por los mayores contenidos de FDN en la gramínea tropical (62%) cuando se la compara con festuca (46%). Por lo tanto, mayores serán los cambios en la mezcla resultante si las leguminosas que se incorporen al sistema tienen alto valor nutricional en relación a las gramíneas ya establecidas.

Las leguminosas dejan en el suelo una considerable cantidad de biomasa y nitrógeno luego de finalizado su ciclo de crecimiento, proporcionando una fertilidad química para los próximos cultivos (Huss-Danell *et al.*, 2007). El contenido de nitrógeno (proteína) se considera como el componente más importante de la calidad del forraje (Jahanzad *et al.*, 2013). En el caso de consociaciones, la gramínea acompañante podría verse beneficiada con esta mayor fertilidad. De hecho, Ashworth *et al.* (2015) reportan que la incorporación de una leguminosa, puede mejorar la calidad de la gramínea acompañante (analizando la gramínea pura), reduciendo el contenido de FDN y FDA e incrementando PB.

Respecto al impacto de las consociaciones sobre la productividad animal, Harris *et al.* (1998) demostraron que el consumo de forraje fue máximo en vacas lecheras cuando la proporción de leguminosa (trébol blanco) alcanzó el 60% en la mezcla. Por otro lado,

Ruiz *et al.* (1991) y Castillo *et al.* (1991) reportaron que la performance de animales no incrementó cuando las leguminosas exceden el 50% la composición de la pastura. Por lo tanto, podría haber un máximo en la respuesta animal cuando las pasturas se componen de 50 a 60% de leguminosas.

Estas diferencias en la productividad, puede deberse a diferencias en el consumo voluntarios. En leguminosas generalmente el consumo es mayor que en gramíneas porque las leguminosas tienen menores contenidos de pared celular, mayor proteína y más rápida tasa de pasaje en el rumen por reducción en el tamaño de partícula (Rook y Yarrow, 2002). Un estudio de meta-análisis de Johansen *et al.* (2017) dio como resultado que el consumo de forraje proveniente de leguminosa fue 1,3 kg MS día⁻¹ mayor, respecto al de gramíneas. De hecho, para la misma digestibilidad las leguminosas poseen un consumo 10-15% mayor que gramíneas, y esto sucede tanto para leguminosas ensiladas, henificadas o en fresco (INRA, 2007).

Uno de los problemas de trabajar con consociaciones de gramínea-leguminosas es que las mezclas a menudo no son sostenidas en el tiempo, y el componente de leguminosas disminuye a largo plazo (Warwick, 2011). Sin embargo, trabajar con leguminosas anuales intersembradas anualmente podría solucionar el inconveniente. Además, no se encontró ningún estudio para consociaciones de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) con *Vicia villosa* o trébol de olor blanco (*Melilotus albus*).

El estudio de la intersembrado de especies adaptadas a la zona pretende tener un punto de vista más completo sobre el sistema de pasturas, aumentando la diversidad respecto a los sistemas de pasturas monofíticas, obteniendo un elevado nivel productivo, pero compatible con la disminución de los costos y los impactos ambientales no deseados.

1.2.2 Fracciones de la materia orgánica del suelo

El suelo es el principal recurso para la producción agropecuaria. En su funcionamiento están involucradas un sinnúmero de propiedades físicas, químicas y bioquímicas. Debido a la imposibilidad de considerar todas estas funciones en su conjunto, para la evaluación de prácticas agronómicas es necesario la utilización de indicadores. Un buen indicador debe medir una o más funciones del suelo, ser lo suficientemente sensible para reflejar los cambios debido a la perturbación, facilitar la referencia de valores críticos o umbrales y ser fácilmente interpretables (Dalal, 1998).

En tal sentido la mayor parte de los estudios coinciden en que la materia orgánica, medida por cuantificación del carbono orgánico total (COT), es el principal indicador e indudablemente el que posee una influencia más significativa sobre la calidad del suelo y su productividad (Quiroga y Funaro, 2004). El contenido de COT se ve afectado por muchos factores, como las condiciones climáticas, el tipo de vegetación y los sistemas de cultivos (Chabbi *et al.*, 2009; Koegel-Knabner y Muller, 2009; Jagadamma y Lal, 2010).

La disminución en el contenido de materia orgánica impacta negativamente en la productividad forrajera, reduciendo la capacidad buffer del suelo, la capacidad de intercambio catiónico y la disponibilidad de nutrientes. Desde el punto de vista físico de suelo, el menor contenido de materia orgánica reduce la estructura, y con ella la infiltración. Además, hace más susceptible al suelo a la compactación, erosión y reduce la biodiversidad (Montanarella, 2007), también genera un impacto negativo sobre la emisión de gases de efecto invernadero (Lal, 2006), ya que libera carbono y nitrógeno al ambiente.

Debido a que los cambios en el contenido de COT son difíciles de detectar en el corto plazo, ya que se producen lentamente y son relativamente de pequeña magnitud, diferentes fracciones lábiles se han utilizado en su lugar como indicadoras sensibles de la calidad del suelo (Haynes, 2005). Dentro de las fracciones lábiles, las fracciones asociadas a las arenas muestran alteraciones en el corto plazo resultantes de los cambios de uso y manejo del suelo (Sá Pereira *et al.*, 2017; Vieira *et al.*, 2007). Dentro de las fracciones lábiles, las de mayor tamaño ($>105 \mu\text{m}$), asociado al material grueso [carbono orgánico particulado grueso (COPg)] son altamente degradables, mientras que las de menor tamaño ($53\text{-}105 \mu\text{m}$), asociado a las arenas muy finas [carbono orgánico particulado fino (COPf)] se caracterizan por presentar una degradación más lenta (Benbi *et al.*, 2012).

La materia orgánica asociada a la fracción gruesa (COPg y COPf) del suelo tiene un reciclado más rápido (Desjardins *et al.*, 2006). Por lo tanto, liberan nutrientes en el corto plazo. Mientras que las fracciones asociadas al material fino, arcilla y limo [carbono orgánico asociado a la fracción mineral (COM)] son las más estables y cambian poco en el tiempo. Son más resistente a la mineralización microbiana que las formas de carbono más lábiles (Ahrens *et al.*, 2015). Por ello, la cuantificación de aumentos en los contenidos del COM puede tomar décadas luego de cambios en los manejos del suelo (Hoyle *et al.*, 2011).

A nivel regional, los parámetros más sensibles para evidenciar cambios en la calidad del suelo en el corto plazo resultan ser, el contenido de Carbono Orgánico Particulado (COP) y la relación con el total (COP:COT) (Noellemeyer *et al.*, 2006; Galantini *et al.*, 2002, 2004; Amado *et al.*, 2006). Para la región pampeana, Duval (2015) describe al COPf, de labilidad intermedia, como otro buen indicador de las prácticas agronómicas a corto y mediano plazo.

Bajo rotaciones de pastura-cultivos de cosecha, el COT del suelo aumenta durante la fase pastura y disminuye durante los cultivos. Muchos estudios, demuestran estos cambios durante la fase pastura y el período de cultivo (Miglierina *et al.*, 2000; Díaz-Zorita *et al.*, 2002). Los cambios se explican por la mayor biomasa de raíces bajo secuencias de pasturas perennes (Clement y Williams, 1964; Arshad *et al.*, 2004; Hermle *et al.*, 2008). Mandolesi *et al.* (2002) estudiaron diferentes secuencias agrícolas durante 10 años y encontrando que la relación COP:COT fue el indicador más sensible para detectar los cambios ocurridos en el suelo. También un trabajo realizado por Galantini

et al. (2002) encontraron que la relación COP:COT fue un buen indicador. En una rotación de trigo-leguminosa la relación aumentó a valores de 0,21 durante la fase de leguminosa y disminuyó a 0,19 en secuencias de años con trigo.

Nutrientes como el nitrógeno, fósforo y azufre están unidos al carbono de la materia orgánica. Por lo tanto, el carbono orgánico del suelo no puede ser efectivamente secuestrado a menos que estén disponibles cantidades adecuadas de esos nutrientes (Kirkby *et al.*, 2011). Esto sugiere que el proceso de humificación está particularmente limitado por la disponibilidad de nitrógeno (Christopher y Lal, 2007). Debido a que la leguminosa captura nitrógeno del ambiente y el carbono en el suelo se almacena en formas orgánicas (Christopher y Lal, 2007), la inclusión de leguminosas en los sistemas puede llevar al secuestro y acumulación de carbono a lo largo del tiempo (Jasen *et al.*, 2011).

Entre todos los macronutrientes, el nitrógeno es el cuarto más abundante que se encuentra en el tejido vegetal y tiene el mayor impacto sobre la fertilidad del suelo y la subsiguiente productividad de los cultivos (Taiz y Zeiger, 2006). Ante situaciones de déficit de nitrógeno, una práctica habitual, es la aplicación vía fertilizante. La aplicación de fertilizantes nitrogenados, como la urea, tiene una eficiencia limitada, ya que existen pérdidas que no logran ser aprovechadas por los cultivos. Las tres principales vías de pérdida de nitrógeno son, lixiviación de nitratos, desnitrificación y volatilización (Stevenson *et al.*, 2010). Incluso bajo un manejo óptimo de cultivos, las plantas usualmente absorben menos del 60% del fertilizante aplicado y normalmente solo aprovechan el 40% o menos (Sinclair, 2006). La combinación de estrategias, como la diversificación de especies en la rotación y la utilización de fuentes orgánicas de nitrógeno, pueden mejorar la eficiencia de utilización del nutriente (Gardner y Drinkwater, 2009).

Ocurren grandes pérdidas de nitrógeno, cuando hay gran disponibilidad que no logra ser utilizada por las plantas ni los microorganismos del suelo. Producto de la descomposición de los residuos de leguminosas, la disponibilidad de nitrógeno resulta más gradual, respecto de aplicaciones de fertilizante sintético. Por ello, la inclusión de leguminosas en los sistemas, y la adquisición de nitrógeno a través del proceso de fijación biológica, puede conducir al aumento de fertilidad en el suelo (Jasen *et al.*, 2011).

De modo similar que aplicaciones de fertilizante nitrogenado, la fijación biológica puede causar problemas por exceso de nitrógeno. El concepto de sincronización fue primeramente propuesto por Campbell *et al.* (1995). Significa que el nitrógeno suministrado a partir de fertilizantes o producto de la mineralización de residuos (de leguminosas) tiene que coincidir con la demanda de la planta. Sin embargo, la falta de sincronización se detecta más frecuentemente con aplicación de fertilizantes nitrogenados que con el uso de leguminosas (Crews y Peoples, 2005).

Los beneficios de incorporar una leguminosa sobre la fertilidad del suelo, pueden no verse el primer año. Ya que se requiere el crecimiento del cultivo y la mineralización

de los residuos para favorecer la disponibilidad de nutrientes. De hecho, beneficios de la intersembra de leguminosas fueron observados durante un segundo año, sugiriendo un efecto benéfico acumulativo sobre el suelo cuando se incorpora la leguminosa (Ashworth *et al.*, 2015).

Canarini *et al.* (2017) encuentra que aumentos en la biomasa de leguminosas conducen a mayores contenidos de COM y de nitrógeno en la materia orgánica particulada (N-MOP). También experimentos previos han demostrado un gran incremento en COT con presencia de leguminosas, tanto en el largo (Fornara y Tilman, 2008) como en el corto plazo (De Deyn *et al.*, 2009), incluso cuando la abundancia de leguminosas fue baja (De Deyn *et al.*, 2011).

La formación de los nódulos y su actividad fijadora toma cierto tiempo (Voisin *et al.*, 2002), y las leguminosas en estados tempranos de desarrollo requieren el nitrógeno mineral del suelo y el contenido dentro de la semilla para lograr un adecuado crecimiento. En etapas tempranas de crecimiento es donde comienza una competencia entre las especies por el nitrógeno mineral (Bedoussac *et al.*, 2015). Esto conduce a una disminución rápida del nitrógeno en la capa de suelo, donde crece la raíz de la leguminosa y se produce la fijación del nitrógeno, lo que obliga a la leguminosa a recurrir principalmente a esta vía de absorción. La consecuencia resulta en una mayor participación de nitrógeno derivado del aire en la leguminosa consociada, en comparación con la leguminosa pura (Hauggaard-Nielsen *et al.*, 2009; Naudin *et al.*, 2010).

Por lo tanto, incorporar leguminosas a las pasturas de gramíneas perennes puede proveer una viable alternativa a la aplicación de nitrógeno inorgánico. La liberación de nutrientes por vías orgánicas resulta más gradual, disminuyendo las pérdidas que se ocasionan cuando su disponibilidad es alta.

1.2.3 Reservas forrajeras

La escasez de forraje, durante el invierno o verano puede comprometer la productividad animal en sistemas pastoriles. Por lo tanto, para el mantenimiento de los niveles de productividad animal, se crea una dependencia de los residuos de cosecha, henos y ensilajes (Ramos *et al.*, 2016). Tradicionalmente la henificación es el método más simple de conservación para gramíneas y leguminosas forrajeras. Para la henificación, el forraje se seca hasta que contenga un 15 a 18 % de humedad. El objetivo en la henificación es disminuir el contenido de humedad lo más rápido posible luego del corte, a fin de evitar las pérdidas por respiración durante el secado, porque la tasa de respiración disminuye a medida que disminuye el contenido de humedad (Meidner, 1967). Si las condiciones de almacenamiento son las adecuadas, el heno puede conservarse por un año o incluso más tiempo, con bajas pérdidas relativas y pocos cambios en la disponibilidad de nutrientes. El tiempo requerido para el secado del

forraje una vez cortado es de 2 a 7 días. El secado será más rápido si el forraje esta esparcido sobre la pastura y más lentamente si se deja en forma de hilera (Rotz, 1995).

Como el éxito del secado tiene gran dependencia de las condiciones climáticas, fundamentalmente las precipitaciones, se adoptó en los últimos años el sistema de ensilaje como alternativa de preservación de forraje, ya que resulta menos dependiente del clima. Tradicionalmente los cultivos que se ensilan son aquellos que posean alta producción forrajera, carbohidratos fácilmente fermentecibles y baja capacidad buffer. El ensilaje de maíz (*Zea mays* L.) de planta entera ha sido ampliamente utilizado en alimentación de rumiantes como la principal fuente para la elaboración de ensilajes (Hashemi *et al.*, 2013). Sin embargo, en las regiones semiáridas donde la implantación de este cultivo no es posible o se hace de forma limitada, surge la necesidad de especies alternativas que se adapten a estas condiciones (Jahanzad *et al.*, 2013).

Las leguminosas son una importante fuente de proteína en sistemas ganaderos de la región semiárida. Sin embargo, las leguminosas son difíciles de ensilar debido a la alta capacidad buffer y baja concentración de azúcares solubles, en comparación a las gramíneas (Buxton y O'Kiely, 2003). Por ello, la mezcla de gramíneas y leguminosas puede superar este inconveniente. La elección de la especie y combinación adecuada, es importante para maximizar la calidad del ensilaje (Lima *et al.*, 2011).

Las mezclas de gramínea y leguminosa templadas pueden ser útiles para obtener forraje adecuado para ensilaje. Tales mezclas pueden tener mejores características de fermentación que las leguminosas puras y tienen un valor nutricional mayor que los ensilajes compuestos únicamente por gramíneas (Mariotti *et al.*, 2011). Algunos trabajos establecen un máximo de 300 a 500 g de leguminosas kg^{-1} de materia fresca en ensilaje de maíz-soja, para asegurar una fermentación aceptable del ensilaje (Tobía *et al.*, 2007; Temur *et al.*, 2009). Mientras que para gramíneas y leguminosas tropicales, Ojeda (2000) sugiere combinaciones 700:300 g kg^{-1} materia fresca (gramínea:leguminosa).

La biomasa forrajera es afectada por la proporción gramínea:leguminosa en la pastura. Jahanzad *et al.* (2015) encontraron máximos rendimientos de biomasa forrajera con proporciones de mijo:soja de 60:40. Ensilajes con esta proporción fueron mejores en términos de mayor rendimiento, valor nutritivo y rentabilidad, que otras proporciones o que el monocultivo de mijo.

Respecto al impacto sobre la productividad animal, Bertilsson y Murphy (2003) reportaron un incremento sustancial en el consumo de forraje cuando se incorpora trébol rojo a un ensilaje de raigrás perenne (50:50). También se encontraron incrementos de peso en corderos alimentados con ensilajes conteniendo alfalfa, en relación a puros de gramíneas (Przemysław *et al.*, 2015).

La bioquímica del ensilaje es esencialmente un proceso simple, el cual, sin embargo, puede convertirse en un proceso complejo cuando las interacciones entre las enzimas vegetales y las actividades de numerosas especies de microorganismos se ven involucradas. El efecto deseable en un ensilaje es la conversión de azúcares simples, como la glucosa y fructosa en ácido láctico por las bacterias ácido lácticas durante una

fermentación anaeróbica. Cuando se produce suficiente ácido láctico, se suprime la actividad de todos los microorganismos, por lo tanto, el ensilaje puede almacenarse hasta su utilización en alimentación (Rooke y Hatfield, 2003). Para ello, se requiere un contenido de carbohidratos que garantice una adecuada fermentación.

Cada forraje tiene un estado fenológico óptimo para ser cortado para ensilaje. Conocer este momento resulta clave para obtener adecuadas reservas. En estadios más tempranos del óptimo, las plantas contienen más proteína, menos materia seca, mayor capacidad buffer, dando lugar a grandes pérdidas de materia seca en ensilajes (King *et al.*, 2012) y fermentaciones indeseables. En cambio, plantas en estadios de corte avanzados del momento óptimo, se caracterizan por su reducida capacidad buffer, menor concentración de carbohidratos fácilmente fermentables, mayores contenidos de materia seca, carbohidratos estructurales y lignina (Keady y O'Kiely, 1998). En este estado fenológico avanzado, se obtienen ensilajes de menor valor nutritivo, por el alto pH y la menor digestibilidad (Santos y Kung, 2016).

Debido a que el proceso de fermentación no es controlado de forma directa, la calidad del ensilaje puede ser muy variable y una vía para el control efectivo del proceso de fermentación es, con el uso de aditivos (Yitbarek y Tamir, 2014). La elaboración de ensilajes tiene la posibilidad (por su método de elaboración) de recibir diferentes tipos de aditivos y mezclas en el momento de la confección. Kung *et al.* (2003) clasificaron los aditivos de ensilajes en las siguientes cuatro categorías: Estimuladores de la fermentación, Inhibidores de la fermentación, Inhibidores del deterioro aeróbico y nutrientes y absorbentes. Sin embargo, se reconoce que muchos aditivos entran en múltiples categorías.

Los granos de cereales son considerados como nutrientes dentro de la clasificación. Blaser *et al.* (1977) sugiere que el consumo de energía limitada, puede afectar el desempeño de los rumiantes pastoreando cultivos invernales más que la proteína u otros nutrientes. Entonces, la adición de granos puede incrementar el valor nutricional del ensilaje. Aunque no realiza un aporte sustancial de carbohidratos no estructurales solubles (CNES) para las bacterias ácido lácticas (Macdonald y Wittenbury, 1973), los granos de cereales, puede mejorar la fermentación en escala de laboratorio (Sporndly, 1986; Zhang *et al.*, 2014), y también en condiciones de campo (Stewart, 1967).

Algunos trabajos consideran que es más eficiente mezclar los cereales con ensilajes, que suministrarlos como un suplemento por separado (Jones *et al.*, 1990), debido a una reducción en los efluentes cuando se trabaja con materiales de alto contenido de agua. La incorporación de granos contribuye como material absorbente cuando se realizan ensilajes de materiales que contienen altos valores de humedad (Jaurena y Pichard, 2001).

Sistemas ganaderos del norte de Europa, basados en pasturas, encuentran en los ensilajes el principal forraje disponible para los rumiantes en los meses invernales, porque resulta limitado el acceso a las pasturas por las condiciones climáticas

(Wilkinson, 2005). En nuestra región, el invierno también es el período del año con menor disponibilidad de forraje, debido a las bajas temperaturas. La carencia de un presupuesto forrajero anual, muchas veces repercute en los bajos índices de preñez de los sistemas regionales.

Resulta escasa la información que estudia el impacto de la incorporación de leguminosas y grano de cereales sobre ensilajes de pasturas perennes en Argentina, y se hallaron pocos estudios que evalúan las especies adaptadas a las condiciones semiáridas.

1.3 Agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*)

El agropiro alargado [*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barworth et Dewey; *Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv.] es la forrajera perenne templada más cultivada en el sudoeste bonaerense. Es una gramínea adaptada a las condiciones semiárida (Maddaloni y Ferrari, 2005). Originaria de la región Mediterránea occidental, la península balcánica y Asia Menor (Scheinost, 2008), que fue introducida en la Argentina a mediados del siglo XX y se ha naturalizado en diferentes ambientes de la provincia de Buenos Aires y de otras provincias argentinas (Covas, 1985; Mazzanti *et al.*, 1992). Actualmente existen 18 cultivares de agropiro alargado inscriptos en Argentina (INAES, 2017) de los cuales el último fue en 2016.

El vasto espectro de adaptación a distintos tipos de suelos y manejos estaría demostrando el enorme potencial de esta especie para incrementar y estabilizar la receptividad ganadera en los sistemas de la región (Ferrari y Maddaloni, 2006). Recientemente Porensky *et al.* (2014) mencionan al agropiro como buena alternativa de producción de biomasa en desiertos fríos y suelos áridos. Crece igualmente bien en suelos ácidos y alcalinos (Csete, 2011). Su ciclo de crecimiento es otoño-inverno-primaveral y es también reconocida por su adaptación a suelos inundables, y con moderados niveles de salinidad y sodicidad. Pudiendo tolerar hasta un 1% de sales solubles en el suelo (Asay *et al.*, 1996), existiendo variación genética respecto a la adaptación a la salinidad (Borrajo y Alonso, 2004). A pesar de tener una buena adaptación a situaciones de estrés, responde mejor en aquellos sitios que no tenga este tipo de problemas para la producción. Acuña *et al.* (2014) encontraron aumentos del 90 al 220% en la biomasa de agropiro cuando no crece con restricciones de salinidad ni sodicidad.

La producción de esta pastura es marcadamente estacional, con el 50 al 70% del total producido en primavera-verano (McCall y Smith, 1998). Gargano *et al.* (1988) encontraron producciones correspondientes al 76,4% de la biomasa anual, concentrada en el trimestre de primavera, coincidente con la aparición de los tallos reproductivos. Durante este período pierde rápidamente calidad, reduciendo el contenido de PB y aumentando la concentración de fibra en detergente neutro (FDN) (Mazzanti *et al.*, 1992).

En estado vegetativo presenta la mayor calidad, con un buen nivel de digestibilidad (60 -65%). Con el paso del tiempo y la madurez, la planta pierde calidad por aumento de fracciones fibrosas de su pared celular, disminuyendo su valor nutricional (Alonso *et al.*, 2000). Las pérdidas de valor nutricional se acentúan en el tiempo, con el pasaje al estado reproductivo (aparecen tallos y espigas, pobres en proteína y digestibilidad) y con la mortandad de hojas y macollos que sucede por sombreo y dominancia de los macollos en floración (Borrajo *et al.*, 2001). Por ello, si el manejo de la pastura se realiza adecuadamente, el agropiro puede producir forraje de alta calidad.

Un trabajo de Smith *et al.* (1994) muestra una producción forrajera mayor en agropiro, respecto de raigrás perenne (*Lolium perenne*) y festuca alta (*Festuca arundinacea*) cuando se establecen en condiciones no salinas. A su vez, el contenido de proteína fue mayor en agropiro que en la mayoría de los cortes de raigrás. Según Butler y Muir (2006), agropiro alargado produce similares contenidos de PB y rendimientos de biomasa que otras especies de pasturas perennes templadas.

Las bajas producciones de biomasa en los meses invernales significan una seria limitación para la implantación de mayores superficies con agropiro alargado (Gargano *et al.*, 1988a), pues en estos períodos se presentan los mayores déficits de oferta forrajera en los sistemas de producción regional. A pesar de ello, no resulta aconsejable dejar el forraje como diferido, ya que puede bajar mucho la calidad cuando se lo utiliza de esta manera. Los tallos reproductivos secos aportan muchos componentes lignocelulósicos al total de la materia seca. Diferido, el agropiro puede llegar a tener valores de FDN y FDA de 84% y 54%, respectivamente y contenidos de PB de 1,4%, impactando fuertemente sobre la digestibilidad, con valores de apenas 22% (Miccoli, *et al.*, 2010).

Las prácticas habituales de manejo de la frecuencia de defoliación de agropiro en la región semiárida bonaerense, implican dos cortes por año. Uno de mayor biomasa, en primavera, que además elimina los tallos reproductivos (fuertemente lignificados) y otro luego del rebrote otoñal. No se encontró un trabajo para la región semiárida que utilice un criterio más racional para el manejo de la frecuencia de defoliación, por ejemplo, teniendo en cuenta la vida media foliar de la especie.

Existen nuevos usos del agropiro a nivel mundial. Ha sido propuesto como un nuevo cultivo energético (Dickeduisberg *et al.*, 2017; Martyniak *et al.*, 2016), porque posee rendimiento de materia seca y metano por hectárea similar al maíz (Heinz, 2015). Actualmente, el maíz es el principal cultivo destinado a la fabricación de biocombustibles. La sustitución del maíz hasta cierto punto por agropiro, podría contribuir a la diversificación en la rotación de cultivos.

Otra de las noveles aplicaciones del agropiro, tienen relación con su poder de acumular selenio en la materia seca. La deficiencia de selenio en vacas, provoca retenciones placentarias, partos largos y dificultosos. Usualmente se requiere suplementar, sin embargo, agropiro creciendo con aguas ricas en selenio podría usarse

como suplemento orgánico de este mineral en áreas deficitarias (Cun *et al.*, 2015). Argentina cuenta con grandes áreas deficitarias de selenio (Cseh *et al.*, 2013).

La producción ganadera en la región semiárida utiliza las pasturas como principal fuente de alimento. Debido a que las especies de gramíneas adaptadas a estas zonas son escasas y en general, de bajo valor nutricional, se incluirán en el estudio dos especies de leguminosas. La adopción de leguminosas, tiene el potencial de aumentar la calidad de la alimentación animal y disponibilidad de nitrógeno edáfico (Muir *et al.*, 2011; Nichols *et al.*, 2007; Luscher *et al.*, 2014). Algunas de las leguminosas que potencialmente pueden utilizarse para realizar una interseembra son, *Vicia villosa*, denominada vulgarmente vicia y *Melilotus albus*, denominado trébol de olor blanco, ya que pueden crecer y adaptarse a condiciones similares de salinidad y déficit hídrico como agropiro.

1.4 Vicia (*Vicia villosa*)

El género *Vicia* L. pertenece a la tribu *Vicieae* de la familia Fabáceas (=Leguminosas). El género comprende especies herbáceas anuales y perennes distribuidas en las regiones templadas de Europa, Asia y América del Norte y del Sur (Maxted, 1995). Aproximadamente 40 especies son utilizadas económicamente (Harlan, 1956) como alimento, abono verde, forraje y cultivo de cobertura (Shiran *et al.*, 2014).

La vicia, *Vicia villosa* Roth., es una especie anual nativa de Europa y el oeste de Asia. Se trata de una planta trepadora, tiene las hojas provistas de un zarcillo terminal que le confieren esa característica (Parodi, 1959). Presenta la mejor tolerancia a frío dentro de las especies del género (Brainard *et al.*, 2012), posee además gran resistencia a la sequía y adaptación a un amplio rango de condiciones edáficas (Teasdale *et al.*, 2004; Maddaloni y Ferrari, 2005). Actualmente, existen dos cultivares de *Vicia villosa* inscriptos en Argentina (INAES, 2017), el último fue en 2016.

La vicia, se encuentra presente en todas las regiones templadas y tropicales del mundo. En la mayor parte de ellas se la utiliza como especie invierno-primaveral (Siddique *et al.*, 1999), aunque en regiones de climas fríos se puede sembrar en primavera, para utilizarla como cultivo estival (Nan *et al.*, 2006). La capacidad de fijación biológica de nitrógeno de vicia, así como su potencial natural de resiembra natural son características valiosas que pueden contribuir a la sustentabilidad de los agroecosistemas de regiones semiáridas (Renzi y Cantamutto, 2013). Esta especie posee capacidad potencial para naturalizarse, debido a la presencia de dormancia en las semillas (Snapp *et al.*, 2005, Renzi *et al.*, 2016).

Fraser *et al.* (2004) evaluando 11 especies de leguminosas en diferentes ambientes, encontraron una gran adaptación de vicia a un amplio rango de condiciones climáticas, siendo una de las especies que mostró mayor producción anual, con picos máximos de producción cercanos a los 6000 kg MS ha⁻¹. Además, fue la leguminosa que

tuvo el mayor rendimiento de proteína bruta, con valores entre 477 a 2178 kg PB ha⁻¹, dependiendo de las condiciones climáticas del ambiente.

Cultivos puros de vicia bajo riego, pueden rendir entre 1980 a 5580 kg MS ha⁻¹ dependiendo de la fecha de corte (Vanzolini, 2011), mientras que sin riego los rendimientos del cultivo puro rondan los 1400 kg MS ha⁻¹ (Lawson *et al.*, 2015). De todos modos, debido a su hábito de crecimiento trepador, es utilizada comúnmente en mezclas con gramíneas. Al tratarse de una leguminosa anual, la consociación habitual se realiza con verdeos de invierno. Lawson *et al.* (2015) encuentran mayores rendimientos de la pastura, cuando vicia se mezcla al menos con 25% de semillas de centeno a la siembra.

Estudios de Martin (1993) y Altinok *et al.* (1997) encontraron a vicia y alfalfa como las especies más promisorias de siete leguminosas estudiadas para ser intersembradas con cebada para ensilaje, ya que produjeron los mayores aumentos de biomasa. También se encontró que intersembras de vicia en una gramínea perenne como *Panicum virgatum* producen rendimientos similares de biomasa que monocultivos de *P. virgatum* fertilizados con 33 o 67 kg N ha⁻¹ (Ashworth *et al.*, 2015). Desde el punto de vista de impacto sobre la productividad animal, se encontró en vicia mayor contenido de componentes de pared celular (FDN y FDA) en relación con otras leguminosas (Fraser *et al.*, 2004). Sin embargo, en general, la concentración de FDN en leguminosas es menor que gramíneas.

Un problema habitual en la ganadería Argentina, es la hipomagnesemia. Valores en la relación potasio / (calcio + magnesio) por encima de 2,2 en pasturas, pueden causar problemas de hipomagnesemias en los animales que la consumen (Kvasnicka y Krysl, 2009). Celen *et al.* (2005) encontró valores de 0,45 para vicia pura. Por lo tanto, esta leguminosa podría contribuir a reducir problemas de hipomagnesemias reportados para la zona.

Problemas asociados a vicia sobre la productividad animal, se relacionan con la concentración de compuestos antinutricionales (Huang *et al.*, 2017). El más significativo para *V. villosa* es la canavanina, que se concentra mayormente en la semilla. Por lo tanto, el mayor riesgo de intoxicación animal resulta de la utilización de semillas para la alimentación. La canavanina, es un aminoácido con una estructura análoga a la arginina (Krasuska *et al.*, 2016) tiene una función protectora en la planta, ya que resulta tóxica para un amplio rango de enfermedades e insectos (Enneking *et al.*, 1993).

Es muy escasa la información sobre la toxicidad en rumiantes, la mayoría de ella es circunstancial, basada en enfermedades ocasionales sobre ganado consumiendo forraje conteniendo canavanina (Shone, 1961). Los problemas ocurren mayoritariamente en animales de más de 3 años. La enfermedad se caracteriza clínicamente por dermatitis, prurito, a menudo diarrea, debilitamiento y alta mortalidad (Panciera *et al.*, 1992). Pasturas de vicia resultan tóxicas para caballos (Anderson y Divers, 1983). En bovinos, en cambio, cuando ocurren casos, la mayor suceden de mitad de primavera en adelante, cuando vicia comienza a senescer y se acerca a la madurez

de sus semillas (Panicerca, 1978). Actualmente, se están logrando disminuir la concentración de estos compuestos tóxicos mediante mejoramiento genético de las plantas (Huang *et al.*, 2017). De todos modos, esto no impide que tanto los granos de vicia como el forraje, sean usados para la alimentación de rumiantes en el mediterráneo y el este europeo por miles de años (Enneking, 1994). Sobre todo, si se trata de mezclas de especies, donde la vicia no forma parte del total de la dieta de los animales.

1.5 Trébol de olor blanco (*Melilotus Albus*)

Las especies del género *Melilotus* provienen de Eurasia, están estrechamente emparentado con el género *Medicago* e incluye aproximadamente 25 especies anuales y bianuales/perennes (Allen y Allen, 1981). Poseen tolerancia al frío, resistencia a la sequía y son valoradas como recurso forrajero por su rusticidad y calidad (Evans y Kearney, 2003; Nichols *et al.*, 2007; Stevenson, 1969). En países como Argentina, España, Canadá y Rusia, las especies de *Melilotus* spp. se cultivan en áreas salinas donde las leguminosas forrajeras tradicionales no pueden crecer (Maddaloni, 1986).

Melilotus albus (Medik.), denominada vulgarmente como trébol de olor blanco, es una especie alógama, autocompatible (Turkington *et al.*, 1978) que está naturalizada en Argentina (Zuloaga y Morrone, 1999). Dada su condición de leguminosa, tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con la bacteria *Sinorhizobium meliloti*. En la actualidad, existen dos cultivares de trébol de olor blanco inscriptos en Argentina, siendo el último en el año 2007 (INASE, 2017). En Estados Unidos y Canadá fue utilizada como especie forrajera y mejoradora de suelos, pero fue decayendo su uso a partir de la década de 1960, en concordancia con la aparición de los fertilizantes químicos y el uso de alfalfa (Smith y Gorz, 1965).

Existen experiencias previas de consociaciones de trébol de olor blanco con agropiro. Díaz y Lagomarsino (1969) hace muchos años ya citaron como forrajeras para suelos con altos contenidos de sales (CE 5,2 a 7,7 dS.m⁻¹, PSI 32 a 55 y pH 9,2 a 10) al agropiro y trébol de olor blanco. En pasturas de ambas especies, se obtuvieron rendimientos de 10,8 Tn MS ha⁻¹ (Evans y Kearney, 2003). Pasturas puras de trébol poseen buen potencial para la producción ganadera en áreas con problemas de salinidad, produciendo aumentos en la carga animal y ganancias de peso, en relación al agropiro puro (Thompson *et al.*, 2001). A pesar de encontrarse esos beneficios en el trébol de olor, es una especie que no se cultiva ampliamente en todo el mundo, por la posibilidad de convertirse en malezas de cultivos agrícolas y por los altos niveles de cumarina en su composición (Evans y Kearney, 2003).

La cumarina es un producto del metabolismo secundario, asociado a la producción de dicumarol, un anticoagulante, que puede causar una afección hemorrágica severa en casos extremos (Evans y Kearney, 2003; Nair *et al.*, 2006). Eliminar por completo el contenido de cumarina puede ser contraproducente, ya que es un compuesto secundario importante para la supervivencia de las plantas ante adversidades

ambientales o ataque de plagas y agentes patógenos (Wink, 1988). Existe variación en la concentración de cumarina en las plantas, e investigaciones preliminares sugieren que es posible realizar prácticas para limitar altas concentraciones (Nair *et al.*, 2006). En 1940 se identificó al dicumarol como agente causante de hemorragias en animales que consumían heno o ensilaje de trébol de olor mal conservado. Estudios realizados permitieron concluir que ninguna de las 60 cumarinas naturales o sintéticas que se encontraron en las plantas eran patógenas, sino lo era por la transformación a dicumarol que hacen ciertos hongos, como *Penicillium* sp., *Mucor* sp. y *Aspergillus* (López *et al.*, 2016). A partir del mejoramiento genético, es posible obtener variedades de trébol con bajo o nulos niveles de cumarina, como la variedad *Denta* de los Estados Unidos (Smith y Evers, 2005).

En Australia, para ambientes salinos se están realizando trabajos de evaluación forrajera de diferentes especies del género (Rogers *et al.*, 2008), reconociendo al trébol de olor como una de las especies más promisorias, en particular algunos materiales colectados en Argentina (Evans y Kearney 2003). Actualmente existen grupos de investigación que trabajan con trébol de olor blanco, como potencial productor de agentes anitmicrobiales y antioxidantes naturales, producto de sus metabolitos secundario (Stefanović *et al.*, 2015) y otras líneas de investigación, sobre cultivares de floración tardía para aumentar los rendimientos forrajeros (Zabala *et al.*, 2012).

1.5 HIPÓTESIS GENERAL

Mezclas forrajeras de agropiro-leguminosas adaptadas a la región semiárida, aumentaría la biomasa forrajera y valor nutricional, respecto al monocultivo de agropiro. Ampliando el período de aprovechamiento del forraje y posibilitando la elaboración de reservas forrajeras de mayor calidad. Además, la incorporación de una leguminosa podría generar cambios favorables sobre el contenido, calidad y distribución de las fracciones orgánicas del suelo, aumentando la disponibilidad de nutrientes en el corto plazo.

CAPÍTULO II

Intersiembrado de *Vicia villosa* sobre *Thinopyrum ponticum*: Productividad forrajera, valor nutricional y cambios en la composición química del suelo

2.1 INTRODUCCIÓN

Las leguminosas invernales poseen alto valor nutritivo y mejoran la productividad animal, aumentando la producción de leche, el crecimiento y las tasas de ganancias de peso (Stanley *et al.*, 2010). Cabanillas-Cruz (1999) y Lauriault *et al.* (2005) encontraron, para una región semiárida, aumentos en la carga animal y mayores períodos de aprovechamiento de agropiro (*Thinopyrum ponticum*) consociado con alfalfa en relación al monocultivo de agropiro.

Las leguminosas utilizan el nitrógeno inorgánico del suelo y el proceso de fijación biológica de nitrógeno de modo complementario (Bedoussac y Justes 2010; Naudin *et al.* 2010). Parte de las demandas se cubren de la solución del suelo y la otra parte proviene del proceso de fijación. Por lo tanto, el nitrógeno dejado a través de los residuos vegetales o de las deyecciones de los animales luego de ser pastoreadas, es una nueva fuente de entrada de nitrógeno orgánico al sistema.

En la región semiárida resulta escasa la adopción de leguminosas para alimentación animal. No se encuentran trabajos que relacionen variables de producción forrajera, valor nutricional y dinámica de la materia orgánica del suelo en su conjunto sobre pasturas compuesta por especies adaptadas a la región, como son agropiro alargado y vicia.

2.2 HIPÓTESIS

Intersiembras de vicia en otoño sobre una pastura pura de agropiro alargado previamente implantada genera:

Hipótesis 1: Aumentos en la producción forrajera total.

Hipótesis 2: Mejora el valor nutricional de la mezcla y el agropiro acompañante, principalmente aumentando el contenido de proteína.

Hipótesis 3: Aumentos en las fracciones lábiles de la materia orgánica del suelo, aumentando la disponibilidad de nutrientes en el corto plazo.

2.3 OBJETIVO

Evaluar el impacto de la intersiembra otoñal de vicia en una pastura pura de agropiro alargado en tres sitios representativos de la región semiárida bonaerense sobre la productividad forrajera total y por especie, junto al valor nutricional de la pastura.

Sobre los mismos sitios, evaluar la dinámica de las fracciones (físicas) de la materia orgánica del suelo a corto plazo. Construir índices, a partir de dichas fracciones, para evaluar su sensibilidad frente a los posibles cambios producidos por la intersiembra de leguminosa.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Caracterización del sitio experimental

Se llevaron a cabo tres experimentos, cada uno desde otoño de 2013 a 2015 en establecimientos diferentes, ubicados en tres sitios representativos del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo. En la Tabla 2.1, se observa las principales características de los sitios donde se realizó la experiencia.

Bahía Blanca: Se realizó en el campo experimental predio del Departamento de Agronomía - Universidad Nacional del Sur.

El clima es templado, las lluvias otorgan un carácter sub-húmedo o de transición. La temperatura media anual es de 15°C y estaciones térmicas bien diferenciadas, siendo la temperatura del mes más cálido enero con 23,2°C y la del mes más frío, julio con 7,5°C. El número medio de días con heladas es de 35 días, siendo junio, julio y agosto los meses con mayor frecuencia. El valor anual de precipitación media en Bahía Blanca es 584,6 mm. Siendo los meses de otoño y primavera los que concentran la mayor cantidad de precipitaciones (Criba, 2016).

Para el experimento, sobre un área de 100 m², se sembró agropiro alargado (Cv. Hulk, PG = 85% y P₁₀₀₀= 9 gr) en otoño de 2012. Durante la implantación hasta el inicio del ensayo se manejaron bajo corte para conformar pasturas densas y foliosas. El control de malezas de hoja ancha se realizó en primavera con 2,4-D ester (400 cc) y de forma manual para las gramíneas. Este sitio se alambró alrededor para evitar el ingreso de animales.

Tornquist: Se realizó en la Estancia "Cerro Napostá Grande" perteneciente a la Fundación Rodolfo Funke. El establecimiento integra la regional de AAPRSID Bahía Blanca.

El clima es húmedo-subhúmedo, mesotermal, con pequeño o nulo déficit de agua. La temperatura media y el promedio de precipitaciones es de 14,5°C y 896 mm, respectivamente. El período más lluvioso es durante primavera-verano. En invierno las heladas son frecuentes y ocasionalmente nieva.

Para el experimento se utilizó una pastura pura de agropiro alargado sembrada en otoño de 2011 a 21 cm entre hileras. En el establecimiento las pasturas sirven como forraje base para las vacas de cría de 420 kg de peso promedio. Se realizan dos pastoreos por año, otoño y primavera. En cada pastoreo, los animales permanecieron consumiendo la pastura aproximadamente durante un mes.

Cabildo: Se realizó en el campo de la Unidad demostrativa de la Agencia INTA Bahía Blanca denominado "El Trébol" propiedad de la familia Elizondo.

El clima se ubica dentro del grupo subhúmedo seco, con nulo o pequeño exceso de agua. La temperatura media anual es de 15,1°C. Los máximos valores se registran durante el mes de enero, siendo la temperatura media en este mes de 23,3°C. Las mínimas temperaturas se registran durante el mes de julio con una media de 7,3°C.

En el presente experimento, se utilizó una pastura de agropiro alargado, sembrada el día 4/2/2011. La pastura luego de la implantación entró en el circuito normal de utilización del establecimiento, realizando pastoreo rotativo con cambios semanales, generalmente con vacas de cría de 380-420 kg peso vivo. Se realizan dos pastoreos por año, durante otoño y primavera. En cada pastoreo los animales permanecieron consumiendo la pastura aproximadamente durante un mes. El control de malezas previo al ensayo consistió en aplicaciones de 2,4-D o Picloram en primavera para latifoliadas.

Tabla 2.1 Localización geográfica, condiciones climáticas, características edáficas (0-20 cm) y particularidades de los tres sitios experimentales.

	Localidad		
	Bahía Blanca	Tornquist	Cabildo
Latitud	38°41'28''S	38°10'16''S	38°31'35''S
Longitud	62° 14'69''O	62°00'56''O	61°55'19''O
Precipitaciones totales, mm			
03/2013 a 02/2014	628	770	702
03/2014 a 02/2015	1116	1204	942
Temperaturas medias, °C			
03/2013 a 02/2014	16,1	17,1	15,6
03/2014 a 02/2015	15,5	16,8	15,2
Profundidad, cm	>90	80	45
limo + arcilla, %	21,1	50,2	67,5
Materia Orgánica, %	1,89	2,86	2,45
Nitrógeno Total, %	0,10	0,13	0,13
pH	7,1	6,6	6,9
Conductividad Eléctrica, dS/m	1,36	0,19	0,26
Pe, ppm	11,1	4,0	5,5
N-NH ₄ , ppm	24,1	5,4	5,9
N-NO ₃ , ppm	11,2	4,2	3,6
Agropiro, macollos m ⁻²	712	553	381

2.4.2 Diseño experimental y tratamientos

En todas las localidades, se siguió un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones. Los tratamientos fueron dos, consistiendo en una pastura de agropiro alargado puro (**AgrPur**) y su intersembrado con vicia (**AgrVic**). El ensayo tuvo una duración de dos años, desde comienzo de la intersembrado en otoño de 2013 hasta otoño de 2015.

En Bahía Blanca, los tratamientos se ubicaron en parcelas, de 6,95 m² con 9 surcos separados a 0,2 m. Mientras que, en Tornquist y Cabildo, las parcelas fueron de 16 m² y se marcaron en el lote con estacas para su identificación. La unidad experimental fue la parcela.

Al comienzo del ensayo, previo a la intersembrado, se realizó un corte de limpieza en todos los sitios a 8 cm de altura. En la Tabla 2.2, se muestra la fecha de intersembrado

en cada año y localidad. La densidad de intersembrado de vicia fue la misma para todas las localidades, de 20 kg semilla ha⁻¹ (Poder germinativo de 97% y un P₁₀₀₀ de 9,07 g). Durante el período de ensayo no se realizó ningún control de malezas ni fertilización en las diferentes localidades.

El método de intersembrado varió en cada sitio. En Bahía Blanca se intersembró de manera manual en el entresurco a 3 cm de profundidad a 21 cm entre hileras, utilizando una azada. En Tornquist se intersembró en franjas de 800 m siguiendo las curvas a nivel que posee el lote. Se utilizó una sembradora de directa marca John Deere a 21 cm de distancia entre hileras. Mientras que, en Cabildo, se intersembró en franjas de 200 m. utilizando una sembradora convencional JUBER de surco profundo a 20 cm de distancia entre hileras. En este último caso, para que la sembradora trabaje correctamente, se esperó un contenido de humedad adecuado en el suelo para facilitar el trabajo de la herramienta. En Tornquist y Cabildo, sobre las franjas intersembradas, se dispusieron al azar las parcelas.

Tabla 2.2 Fechas de intersembrado de *V. villosa* para cada sitio y año.

Localidad	Año	
	2013	2014
Bahía Blanca	12/04	25/03
Tornquist	17/04	22/03
Cabildo	08/05	16/04

2.4.3 Muestreo de forraje y determinaciones químicas

Para el muestreo de forraje, los cortes, se realizaron a 8 cm de altura teniendo en cuenta el crecimiento del agropiro. La Tabla 2.3 muestra las fechas de corte en cada sitio. En Bahía Blanca se realizaron tres cortes anuales, mientras que en Tornquist y Cabildo fueron dos. Una vez obtenidas las muestras, la pastura fue consumida por los animales en Cabildo y Tornquist para uniformar la altura. Mientras, en Bahía Blanca se uniformó la altura con máquina cortadora de pasto.

Con el objetivo de disminuir la variabilidad existente en este tipo de pasturas, sobre cada parcela se tomó una muestra compuesta por dos submuestras de 0,2 m² cada una al azar, que luego se colocaron en la misma bolsa. Es decir, la muestra representa el crecimiento de 0,4 m². Los cortes de la pastura se realizaron con tijera.

La Figura 2.1 muestra el tipo de muestreo realizado sobre el forraje. El tipo de muestreo generó una muestra adicional denominado agropiro consociado (**AgrCon**). Esta consistió en un corte de agropiro puro en el tratamiento AgrVic, a fin de poder comparar la calidad del agropiro puro entre tratamientos.

Tabla 2.3 Fechas de corte (día/mes) de forraje en cada sitio experimental y año.

Localidad	2013		2014		
	primavera	otoño	primavera	otoño	otoño
Bahía Blanca	9/10	3/12	26/9	19/12	4/5
Tornquist	18/10	21/3	1/10		12/5
Cabildo	30/10	14/4	21/11		7/5

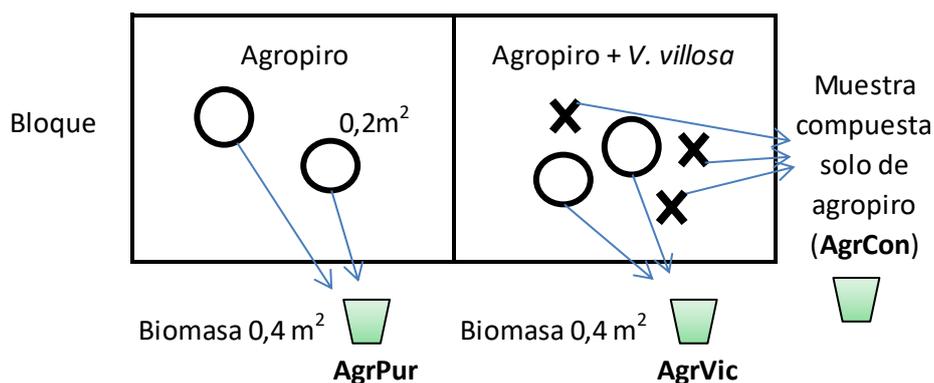


Figura 2.1 Esquema del procedimiento a campo para la toma de muestra forrajera en cada bloque. AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro alargado con *Vicia villosa*; AgrCon: Agropiro puro del tratamiento AgrVic.

Para el cálculo de biomasa en cada corte, las muestras recolectadas fueron separadas en laboratorio por especie y pesadas inmediatamente en fresco para luego secarse a 60°C en estufa de aire forzado hasta peso constante (AOAC, 2000) a fin de obtener el contenido de materia seca (MS). Como resulta de interés analizar el efecto de vicia sobre el agropiro, en el análisis de MS se comparó el agropiro puro solamente en el tratamiento AgrPur y AgrCon, descartando para el análisis el valor de MS de la mezcla (AgrVic). Para la determinación de la biomasa forrajera, en el caso de las consociaciones, se procedió a sumar la biomasa forrajera producida por agropiro y vicia.

Las determinaciones químicas realizadas en AgrPur, AgrCon y AgrVic, se realizaron sobre las muestras secas. Se procedió a la molienda del material mediante el uso de molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ. USA), a través de una malla de 1 mm. Sobre el material molido se determinó nitrógeno total usando el método de Kjeldahl (Bremner, 1996), y Proteína Bruta (PB) por multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6,25 (AOAC, 2000), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA) y Lignina (LDA) por el método de Van Soest (1991) y la Digestibilidad "in vitro" de la MS (DIVMS) por la técnica de Tilley y Terri (1963).

2.4.4 Muestreo de suelo y acondicionamiento de suelo

En cada sitio experimental, en el momento de la interseembra y cada uno de los cortes de forraje, se tomó una muestra compuesta sobre cada parcela a 0-20 cm de profundidad. Sobre el final del ensayo, con el objetivo de analizar más detalladamente, se muestreo los primeros 20 cm en 4 estratos de 5 cm de profundidad. Para obtener el resultado de los 0-20 cm en esta fecha se pondero según la proporción de cada estrato. De este modo, con el tipo de muestreo realizado se cubrió un período de dos años de ensayo en cada sitio.

Todas las muestras fueron refrigeradas hasta su llegada al laboratorio. Una vez allí, se realizó un análisis de humedad de suelo y contenido de nitrógeno inorgánico (NH_4 y NO_3). Posteriormente, el suelo se secó al aire, se homogeneizó y tamizó a través de una malla de 2 mm de diámetro, para luego someter las muestras a un fraccionamiento físico por tamaño de partícula, mediante tamizado en húmedo (Galantini, 2005).

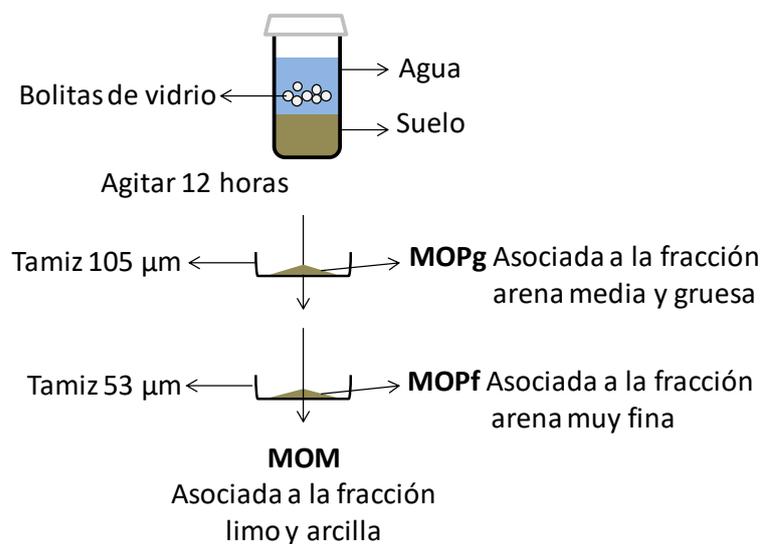


Figura 2.2 Esquema de la técnica de fraccionamiento físico granulométrico. Materia Orgánica Particulada gruesa (MOPg) y fina (MOPf) y la asociada a la fracción mineral (MOM).

Previa dispersión mecánica durante 12 horas con agua destilada y bolitas de vidrio para favorecer la desagregación, el suelo se pasó con agua por dos tamices de 105 y 53 µm de abertura de malla, hasta que el agua de lavado quedó limpia. Así, se obtuvieron dos fracciones con características diferentes. Por un lado, la fracción de materia orgánica particulada gruesa, de 105 a 2000 µm, asociada a la fracción arena media y gruesa ubicada en la parte superior de los tamices y por otro, la fracción de materia orgánica particulada fina, asociada con arenas muy finas. En ambas fracciones, se encuentra la materia orgánica menos transformada, joven o particulada. La fracción fina, de 0 a 53 µm, donde se encuentran la arcilla y el limo, correspondiente a la materia orgánica asociada a la fracción mineral se determinó por diferencia de peso (Figura 2.2). Las

primeras dos fracciones se secaron en estufa a 105°C durante 24 horas y se homogeneizaron con mortero para su posterior análisis. Los valores de materia orgánica determinados en cada fracción se corrigieron en base al contenido de la fracción correspondiente, expresando los valores en porcentaje de suelo entero.

2.4.5 Determinaciones analíticas de suelo

Sobre el suelo entero, sin fraccionar, se determinó Carbono Orgánico Total (COT), por combustión seca (1500°C) con analizador automático LECO. Sobre las fracciones fina y gruesa de la materia orgánica, se determinó el Carbono Orgánico joven o Particulado en la fracción gruesa (COPg) y fina (COPf). Por diferencia entre el COT y el COPg y COPf se calculó el contenido de Carbono Orgánico asociado a la fracción Mineral (COM). A su vez, sobre las fracciones también se determinó el Nitrógeno de la Materia Orgánica asociada a la fracción particulada gruesa y fina (N-MOPg y N-MOPf, respectivamente). Todos los valores fueron ponderados y expresados como porcentaje del suelo sin fraccionar. Con esa información, se calcularon los siguientes índices relacionando las fracciones orgánicas, COPg:COT, COPf:COT y COM:COT. Con esto se calculó la relación COPg:COPf:COM como porcentaje de cada fracción en el total de suelo (Galantini *et al.*, 2016) y la relación Carbono:Nitrógeno de las fracciones gruesas y finas (COPg:N-MOPg y COPf:N-MOPf). Además, se determinó el índice de estratificación (IE) del COT dividiendo el correspondiente contenido de 0-5/5-20 (Franzluebbers, 2002) y el índice de labilidad (COPg+f/COM) propuesto por Vieira *et al.* (2007).

2.4.6 Análisis estadístico

Cada localidad se analizó separadamente, debido a las diferentes fechas y métodos de interseembra aplicados en cada caso. Para el análisis estadístico de los datos se siguió un modelo en parcelas divididas en el tiempo mediante un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones.

Las variables de producción forrajera y muestras de suelo (0-20 cm) analizadas tuvieron una fuente de variación principal, debida a los tratamientos y una fuente de variación secundaria debida a la fecha de corte. En el caso de presentar interacción para cualquier variable, el análisis se realizó comparando los tratamientos en cada fecha de corte por separado.

En el caso de las muestras de suelo sobre el final del ensayo, obtenidas a diferentes profundidades, los datos fueron analizados por una fuente de variación principal, debida a los tratamientos y una fuente de variación secundaria debida a las profundidades (0-5; 5-10; 10-15 y 15-20 cm). En el caso de presentar interacción se realizó la comparación entre tratamientos, para cada profundidad por separado.

Para los datos de valor nutricional se decidió separar los cortes de acuerdo a la estación del año. Por un lado, se compararon los cortes en primavera y en otro análisis los de otoño (año 2013-2014 para los cortes primaverales y año 2014-2015 para los

cortes otoñales). Vale mencionar que para Bahía Blanca se realizaron dos cortes de forraje en primavera. Por lo tanto, se realizaron las comparaciones entre los cortes tempranos y tardíos en forma separada. Se analizó de esta manera, ya que parte de los objetivos del trabajo consiste en la comparación entre diferentes pasturas y no entre las fechas de corte.

Los tratamientos considerados en las determinaciones químicas del forraje fueron tres (AgrPur, AgrCon y AgrVic). Mientras para la biomasa forrajera total, por especie y las variables de suelo los tratamientos considerados fueron dos (AgrPur y AgrVic). El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + C_k + D_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la observación de un tratamiento ij en la k repetición, μ es la media general de todos los tratamientos, α_i , β_j , y γ_{ij} son efectos del tratamiento, de la fecha de corte e interacción de los factores, respectivamente y C_k , D_{ik} y ϵ_{ijk} son variables aleatorias para los bloques y los efectos no controlados en las parcelas y subparcelas, respectivamente. Para comparar las medias entre tratamientos se utilizó el test de Tukey ($p > 0,05$).

Por último, para poder estudiar el efecto de la interseembra para el conjunto de los tres experimentos, se decidió realizar un análisis de componentes principales (ACP). Dicho análisis se realizó para la primavera y el otoño por separado. En cada análisis se incluyó ambos años de estudios, donde los puntos representan el promedio de las tres repeticiones. Las variables seleccionadas en otoño fueron Biomasa Total, contenido de MS de agropiro, PB, DIVMS, FDN, FDA y LDA, mientras que para primavera se agregaron Biomasa agropiro puro y proporción de leguminosa (LEG). LEG representa la composición de la pastura, se calculó como: Biomasa de vicia/Biomasa Total*100. Para el análisis de todos los datos se utilizó el software Infostat (2008).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Resultados. Biomasa forrajera total y por especie

Mediante observación visual se constató que la densidad lograda de plantas de vicia durante la implantación fue adecuada en cada sitio. El análisis de varianza detectó efectos significativos de la interacción entre los factores *fechas de corte x tratamientos* en Bahía Blanca y Tornquist. Por lo tanto, se realizaron las comparaciones entre tratamientos para cada fecha de corte por separado. También se separó el análisis en Cabildo, teniendo en cuenta la variación en biomasa total entre estaciones y la presencia de leguminosas en la composición de la pastura en los cortes primaverales.

Los resultados muestran un aumento de la producción en los cortes primaverales para Bahía Blanca y Tornquist. Para Cabildo, se observó una tendencia no significativa ($P = 0,09$ y $0,06$ para 2013 y 2014, respectivamente). En otoño, la biomasa forrajera total no varió entre tratamientos en ninguna localidad (Figura 2.3).

En Bahía Blanca la biomasa total de AgrPur fue de 2401 y 3087 kg MS ha⁻¹ para el primer y segundo año, respectivamente, mientras que para AgrVic la biomasa total fue 4030 y 5307 kg MS ha⁻¹ durante el mismo período. La diferencia en el rendimiento se obtuvo en los cortes primaverales. En AgrVic el incremento de biomasa total fue 1,9 a 2,5 veces, respecto a AgrPur en el primer corte de primavera, para 2013 y 2014, respectivamente. Mientras que, en el segundo corte de primavera, sobre el mes de diciembre el incremento a favor de AgrVic fue de menor magnitud, siendo de 45 a 41%, para los mismos períodos.

En Tornquist, la producción de AgrPur fue de 671 y 1123 kg MS ha⁻¹ para el primer y segundo año, respectivamente, mientras que en AgrVic la producción fue de 2439 y 2818 kg MS ha⁻¹ durante el mismo período. En esta localidad también la diferencia en el rendimiento se obtuvo en los cortes primaverales. En AgrVic se registró un aumento de 3,6 y 5,4 veces respecto de AgrPur para 2013 y 2014, respectivamente.

En Cabildo la producción de AgrPur fue de 1175 y 1577 kg MS ha⁻¹ para el primer y segundo año, respectivamente, mientras que en AgrVic la producción fue de 1618 y 2361 kg MS ha⁻¹ durante el mismo período. En Cabildo no se obtuvo una diferencia en el rendimiento en primavera, aunque se encontró una tendencia a favor de AgrVic.

Analizando la biomasa forrajera de agropiro solamente, el análisis de varianza detectó efectos significativos de la interacción entre los factores *fechas de corte x tratamientos* en Bahía Blanca y Tornquist. Por lo tanto, se realizaron las comparaciones entre tratamientos para cada fecha de corte por separado. En todas las localidades, no se encontró una diferencia entre el rendimiento de gramínea entre tratamientos. Es decir, la producción de biomasa de agropiro, no varió en presencia de la leguminosa, para ninguna fecha de corte y localidad.

En Bahía Blanca, la biomasa de vicia fue de 1488 y 1553 kg MS ha⁻¹ para el primer y segundo año, respectivamente. Por otro lado, en Tornquist fue de 1771 y 1582, mientras que en Cabildo fue de 319 y 708 kg MS ha⁻¹ para el mismo período de tiempo.

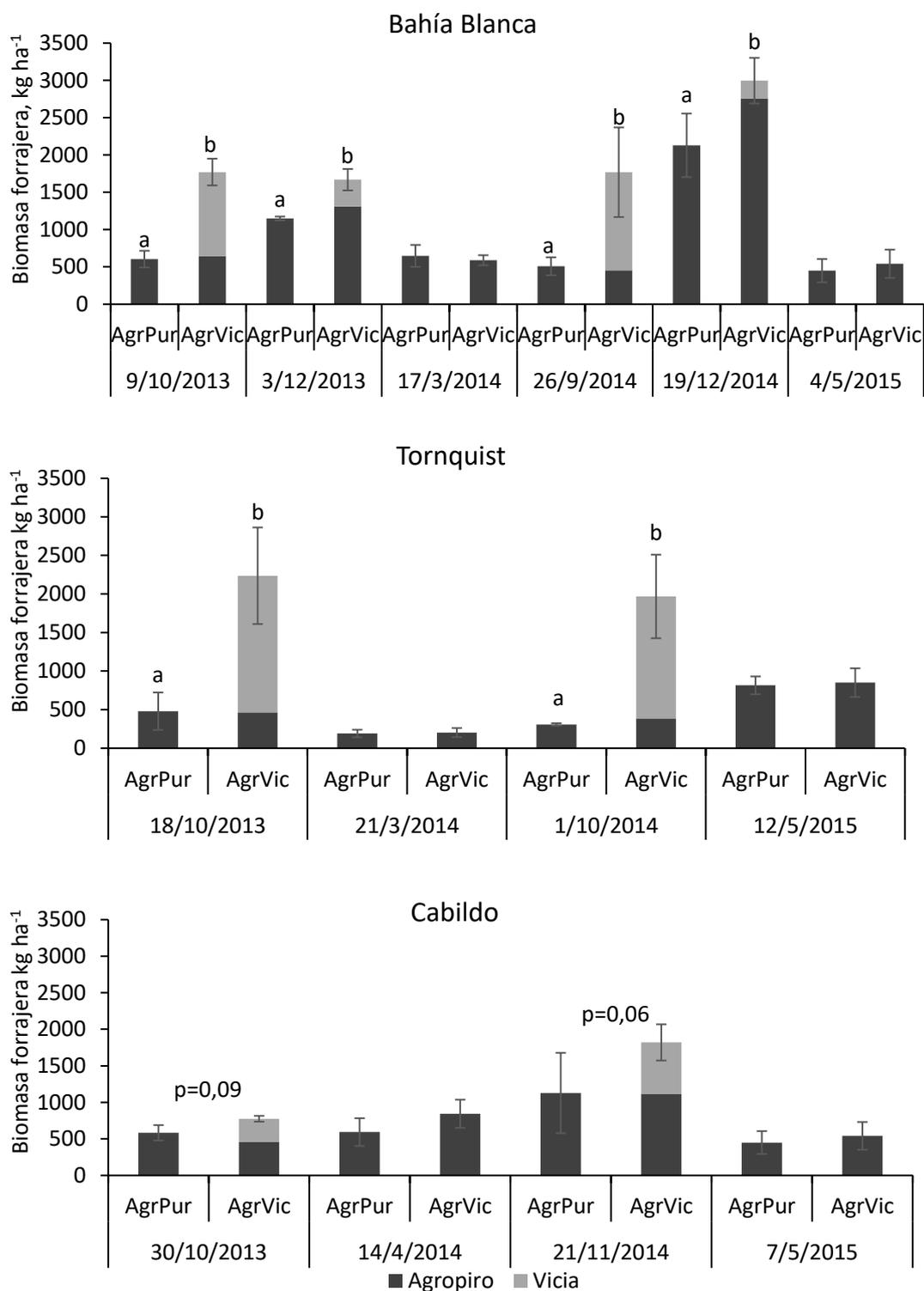


Figura 2.3 Biomasa forrajera total y por especie en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo para cada fecha de corte. AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro + *V. villosa* (20 kg ha⁻¹). Las líneas indican el desvío muestral de la biomasa total. ^{a,b} Letras para la misma fecha de corte indican diferencias ($P < 0,05$) entre tratamientos para biomasa total.

En todas las localidades la producción de agropiro se concentró en los cortes de primavera (Figura 2.3). Durante este período en Bahía Blanca se concentró el 75 y el 85 % de la biomasa total anual en el primer y segundo año respectivamente. Mientras que en Tornquist durante la primavera se concentró el 70 y 31% de la biomasa total anual para el primer y segundo año respectivamente. Por su parte, en Cabildo durante la primavera se concentró el 42 y 69% de la biomasa forrajera anual, para el mismo período de tiempo.

2.5.2 Resultados. Valor nutricional del forraje

En primavera no se observó interacción significativa *fechas x tratamientos* para ninguna variable, salvo FDN en la localidad de Tornquist. Por este motivo, se compararon los tratamientos mediante su valor promedio entre ambos años, salvo la interacción que se analizó separando por fechas. Los resultados de cada tratamiento para las variables estudiadas de valor nutricional en cortes de primavera se muestran en la Tabla 2.4

Los contenidos de PB, FDN y LDA fueron similares entre AgrPur y AgrCon. En cambio, en AgrVic se observó un aumento en PB y LDA, y una disminución en FDN. En todos los experimentos los valores mínimos de PB se encontraron en AgrPur, para todos los cortes. Respecto al monocultivo de agropiro, la intersemebra de vicia generó un aumento de PB para el primero (83%) y segundo corte (27%) en Bahía Blanca, Tornquist (123%) y Cabildo (75%). En el caso de Bahía Blanca, las diferencias en PB fueron de mayor magnitud en el corte de primavera temprana, pasando de 11,6 (AgrPur) a 21,3% (AgrVic) en comparación con el segundo corte (diciembre) que paso de 6,6 (AgrPur) a 8,4% (AgrVic). Adicionalmente, para el primer corte en la localidad de Bahía Blanca se observó un efecto de la leguminosa sobre la PB en AgrCon, con un contenido de PB 28% superior comparado con AgrPur (14,9 vs. 11,6% PB).

Para la fracción de FDN, la inclusión de vicia provocó una disminución en el contenido de FDN en todos los sitios. Esta disminución resultó un 18 y 13 % para el primer corte de Bahía Blanca y Cabildo, respectivamente. En el segundo corte de Bahía Blanca no se encontró una diferencia entre tratamientos. Mientras que, en Tornquist, analizando años separadamente (ya que hubo interacción) observamos una diferencia a favor de AgrVic respecto de AgrPur y AgrCon, sin diferenciarse estos últimos dos tratamientos entre ellos. El tratamiento AgrVic mostró un 32 y 27% menos FDN que el monocultivo de agropiro para el corte primaveral en 2013 (51,5 a 75,8%FDN) y 2014 (45,4 a 62,4% FDN), respectivamente.

Con el contenido de FDA sucede la misma tendencia que FDN. La inclusión de vicia generó una disminución en FDA del forraje. Solo en el primer corte de Bahía Blanca y Tornquist, la intersemebra de vicia generó una disminución de 8,5 y 24% de FDA, respectivamente sobre el monocultivo de agropiro. Mientas, para el segundo corte de Bahía Blanca y en Cabildo, no se encontraron diferencias.

Respecto a LDA, para el primer corte de Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, AgrPur y AgrCon se diferenciaron de AgrVic. Mientras que, en el segundo corte de Bahía Blanca, no se encontraron diferencias entre tratamientos. La inclusión de vicia generó un aumento en LDA de 128, 51 y 68% para Bahía Blanca (primer corte), Tornquist y Cabildo, respectivamente. El rango de valores de LDA fue de 2,1 a 4,8% en Bahía Blanca, de 3,3 a 5,0% en Tornquist y 2,8 a 4,7% en Cabildo, para AgrPur y AgrVic, respectivamente.

Para los valores de DIVMS los resultados muestran un efecto positivo debido a la inclusión de vicia en las localidades de Tornquist y Cabildo. Mientras que, en Bahía Blanca, ya sea para el primer o segundo corte, no se encontraron diferencias debido a la intersemebra con vicia. El aumento de DIVMS fue del 17%, tanto para Tornquist como Cabildo, siendo de 59,3 a 69,5% y de 51,2 a 60,4%, respectivamente. En cambio, en Bahía Blanca, no se obtuvo una diferencia entre el monocultivo de agropiro y la consociación. En este sitio la única diferencia se encontró en el primer corte primaveral entre AgrVic y AgrCon, siendo AgrVic, un 11% superior (66,1 a 59,5%).

Tabla 2.4 Contenido de Proteína Bruta (PB), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA), Digestibilidad "in vitro" de la materia seca (DIVMS) y contenido de materia seca de agropiro (MS), en primavera para Bahía Blanca (temprana y tardía), Tornquist y Cabildo. Valores promedio para 2013 y 2014.

Localidad	Tratamiento	PB, %	FDN, %	FDA, %	LDA, %	DIVMS, %	MS, %
Bahía Blanca							
1°corte	AgrPur	11,6 ^a	63,7 ^a	34,1 ^a	2,1 ^a	61,3 ^{ab}	--
	AgrCon	14,9 ^b	66,7 ^a	34,5 ^a	2,5 ^a	59,5 ^a	31,7 ^a
	AgrVic	21,3 ^c	51,6 ^b	31,2 ^b	4,8 ^b	66,1 ^b	24,4 ^b
	EEM	0,60	0,93	0,52	0,15	1,24	0,41
2°corte	AgrPur	6,6 ^a	72,3	40,2 ^{ab}	3,6	52,3	-
	AgrCon	7,1 ^a	73,8	41,3 ^b	4,4	49,2	32,4
	AgrVic	8,4 ^b	69,9	38,5 ^a	4,3	53,3	31,6
	EEM	0,22	0,90	0,47	0,40	2,18	0,72
Tornquist							
	AgrPur	9,5 ^a	69,1	37,9 ^a	3,3 ^a	59,3 ^a	-
	AgrCon	10,3 ^a	67,9	37,4 ^a	3,1 ^a	54,8 ^a	41,8 ^a
	AgrVic	21,2 ^b	48,5	28,9 ^b	5,0 ^b	69,5 ^b	27,0 ^b
	EEM	0,24	0,93	0,5	0,17	1,18	1,13
Cabildo							
	AgrPur	7,8 ^a	69,6 ^a	37,3	2,8 ^a	51,2 ^a	-
	AgrCon	8,4 ^a	69,6 ^a	38,4	2,8 ^a	53,4 ^{ab}	38,6
	AgrVic	13,7 ^b	60,3 ^b	35,2	4,7 ^b	60,4 ^b	34,5
	EEM	0,63	0,86	0,87	0,21	1,74	1,19

EEM: Error Estándar de la Media. ^{a,b,c} compara tratamientos para cada variable y localidad (p<0,05). Tratamientos: AgrPur: agropiro puro; AgrCon: Agropiro puro en tratamiento AgrVic; AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

El contenido de MS de agropiro resultó diferentes entre tratamientos para Bahía Blanca (primer corte) y Tornquist. En estos dos sitios, el agropiro en AgrVic tuvo un contenido de MS 23 y 35% menor en Bahía Blanca y Tornquist, respectivamente. En cambio, en el segundo corte de Bahía Blanca y en Cabildo, no se encontró una diferencia.

En otoño para las variables estudiadas de valor nutricional no se observó interacción significativa *fechas x tratamientos* para ninguna variable, salvo PB en Tornquist y FDA en Cabildo. Por este motivo, se comparan los tratamientos mediante su valor promedio entre ambos años y las interacciones se analizan separadamente. Los resultados de cada tratamiento en los diferentes experimentos se muestran en la Tabla 2.5.

En general, se encontraron pocas diferencias entre tratamientos para los cortes de otoño. Para ambos tratamientos (AgrPur y AgrVic) solo se analiza agropiro, ya que el ciclo de crecimiento de vicia finaliza en el verano. En esta época se evalúa el posible efecto residual dejado por las plantas de vicia.

Analizando el contenido de PB, en Bahía Blanca y Cabildo, no se encontraron diferencias entre tratamientos. El rango de valores de PB encontrado fue de 8,9 a 9,4 para Bahía Blanca y 6,9 a 7,3 para Cabildo en los tratamientos AgrPur y AgrVic, respectivamente. En cambio, para la localidad de Tornquist al encontrarse una interacción significativa, se decidió hacer el análisis por años separadamente. En ambos años el resultado fue un incremento de PB a favor de AgrVic, de 8,2 a 13,4% (2014) y 3,8 a 6,8% (2015). Proporcionalmente los incrementos fueron del 64 y 77% en 2014 y 2015, respectivamente. El menor contenido de PB en ambos tratamientos en 2015, se debió a la presencia de tallos reproductivos (secos) del crecimiento anterior.

Respecto al contenido de FDN, solo en la localidad de Tornquist se observó una disminución para AgrVic del 4,4%, pasando de 68,2 en AgrPur a 65,2%. Mientras que en Bahía Blanca (68,9% promedio) y Cabildo (70,3% en promedio) no se encontraron diferencias entre tratamientos. Para FDA, se observa interacción significativa para la localidad de Cabildo. Analizado separadamente por fechas de corte, se encuentra una diferencia a favor de AgrVic (42,4%) respecto de AgrPur (46,6%) en otoño de 2015. En cambio, para 2014, no se encontraron diferencias entre tratamientos (37% FDA en promedio) en dicha localidad. Por otro lado, no se encontraron diferencias en FDA entre tratamientos para Bahía Blanca (36,6% en promedio) y Tornquist (37,5% en promedio).

Para el contenido de LDA, no se observó un efecto entre los tratamientos en ninguna localidad. El rango de valores fue 3,4 a 3,3 para Bahía Blanca y de 3,5 a 3,9 para Tornquist en los tratamientos AgrPur y AgrVic, respectivamente. Mientras que Cabildo presentó el mismo valor de 3,6 %LDA en ambos tratamientos.

El valor de DIVMS fue diferente entre tratamientos solo en Cabildo. Los valores fueron 34,7 y 38,5% para AgrPur y AgrVic, respectivamente. Solo en Cabildo, la intersiembra de vicia el año anterior generó un aumento de la DIVMS del 11% al otoño siguiente. Mientras que, en Bahía Blanca y Tornquist, no se encontraron diferencias en DIVMS, siendo en promedio para cada localidad 45,6 y 45,5%, respectivamente.

Evaluando el contenido de MS de agropiro, no se detectó una diferencia entre tratamientos para ninguna localidad. El rango de valores fue 40,9 a 37,1 para Bahía Blanca, de 53,5 a 45,1 para Tornquist y de 46,1 a 43,1 para Cabildo en los tratamientos AgrPur y AgrVic, respectivamente.

Tabla 2.5 Contenido de Proteína Bruta (PB), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA), Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y contenido de materia seca de agropiro (MS), en otoño para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo. Valores promedio para 2014 y 2015

Localidad	Tratamiento	PB, %	FDN, %	FDA, %	LDA, %	DIVMS, %	MS, %
Bahía Blanca							
	AgrPur	8,9	68,2	36,4	3,4	46,0	40,9
	AgrVic	9,4	69,6	36,9	3,3	45,2	37,1
	EEM	0,4	0,6	0,8	0,1	1,4	0,9
Tornquist							
	AgrPur	6,0	68,2 ^a	38,5	3,5	43,4	53,5
	AgrVic	10,1	65,2 ^b	36,5	3,9	47,5	45,1
	EEM	0,4	0,4	0,7	0,1	3,5	1,9
Cabildo							
	AgrPur	6,9	71,5	42	3,6	34,7 ^a	46,1
	AgrVic	7,3	69,1	39,6	3,6	38,5 ^b	43,1
	EEM	0,2	0,6	0,3	0,1	0,3	1,2

EEM: Error Estándar de la Media. ^{a,b} compara tratamientos para cada variable y localidad (p<0,05). Tratamientos: AgrPur: agropiro puro; AgrCon: Agropiro puro en tratamiento AgrVic; AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

Para sintetizar los resultados y relacionar los efectos de los tratamientos en los diferentes sitios, se expone el resultado del análisis de componentes principales de las variables de valor nutricional y biomasa total, biomasa de agropiro y la proporción de leguminosa (LEG), como la (biomasa de vicia/biomasa total)*100 de los cortes en primavera (Tabla 2.6 y Figura 2.4) y el valor nutricional, biomasa total de los cortes en otoño (Tabla 2.7 y Figura 2.5).

La Tabla 2.6 muestra la correlación de cada variable y las dos primeras componentes junto con el porcentaje de reconstrucción de cada variable para los cortes de primavera. En este caso también se analizan las dos primeras componentes principales porque explican el 85% de la varianza. La CP1 explica el 58% de la varianza y tiene una correlación positiva fuerte con LEG, PB y DIVMS, mientras que se correlaciona negativamente con FDN, FDA, MS y Biomasa de agropiro. En cuanto a la CP2 que explica el 27% de la varianza, se asocia positivamente con Biomasa total, Biomasa de agropiro y LDA.

En la Figura 2.4 se observa el biplot de los cortes primaverales, para las tres localidades y los dos años como puntos (cada punto es el promedio de las 3 repeticiones) y las variables analizadas como vectores. Bahía Blanca tiene la particularidad de

presentar dos puntos en cada primavera, producto de la mayor frecuencia de defoliación en comparación con Tornquist y Cabildo.

Tabla 2.6 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para los cortes de primavera en Bahía Blanca, Cabildo y Tornquist.

Variable	CP1	CP2	% reconstrucción entre CP1 y CP2
Biomasa total	0,23	0,95***	0,95
Biomasa agropiro	-0,55*	0,79***	0,93
LEG	0,92***	0,28	0,92
MS	-0,76***	-0,31	0,67
PB	0,99***	-0,02	0,97
FDN	-0,96***	0,05	0,93
FDA	-0,85***	0,22	0,77
LDA	0,46	0,68**	0,68
DIVMS	0,78***	-0,43	0,80

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

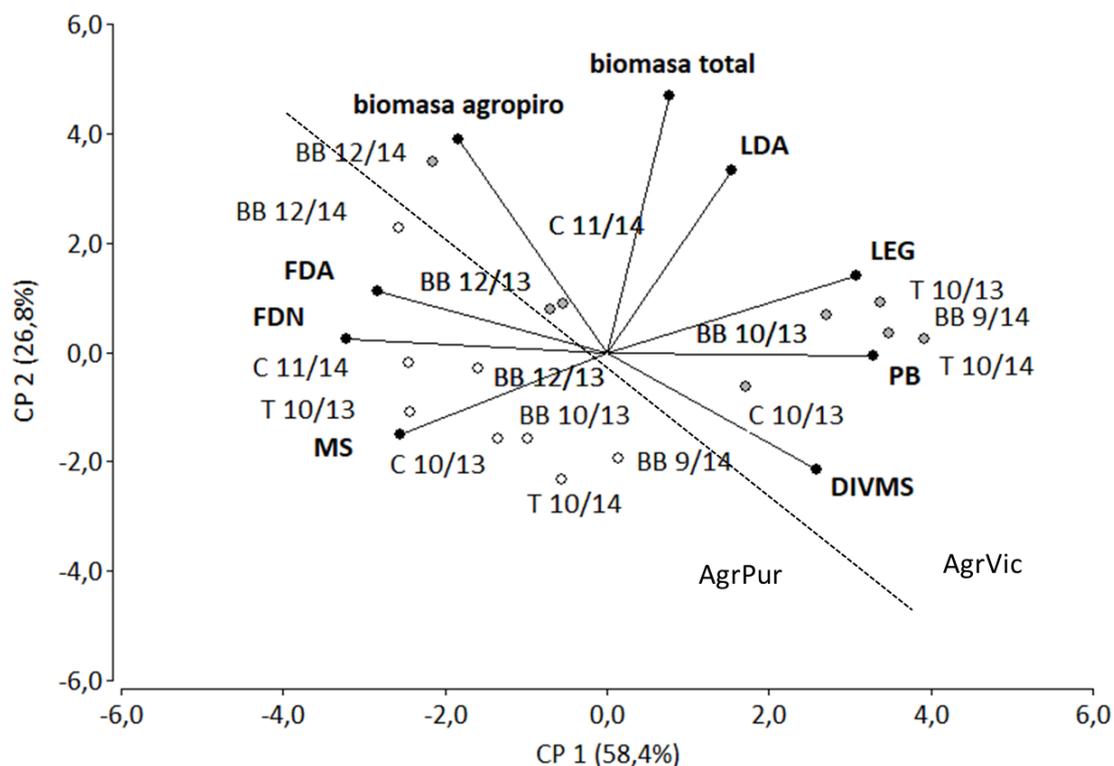


Figura 2.4 Biplot de los cortes de forraje en primavera en ambos tratamientos, separados por línea punteada (punto vacío: AgrPur y punto lleno: AgrVic) y las variables (vectores) estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales para las localidades de Bahía Blanca (BB), Tornquist (T) y Cabildo (C) en 2013 y 2014. Los números al lado de cada punto representan el mes y año de corte.

La Tabla 2.7 muestra la correlación de cada variable y las dos primeras componentes junto con el porcentaje de reconstrucción de cada variable para los cortes de otoño. En este caso, analizamos las dos primeras componentes principales porque explican el 86% de la varianza. La CP1 explica el 64% de la varianza, donde se encontró una correlación positiva fuerte con los componentes de la pared celular, FDN, FDA y LDA y algo menor con biomasa total, mientras que se correlaciona negativamente con DIVMS y PB. En cuanto a la CP2, aporta un 21% de la varianza, y se observa una asociación positiva con MS de agropiro.

Tabla 2.7 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para los cortes de otoño en Bahía Blanca, Cabildo y Tornquist.

	CP1	CP2	% reconstrucción entre CP1 y CP2
Biomasa total	0,62*	0,38	0,52
MS	0,30	0,58***	0,43
PB	-0,74**	-0,26	0,62
FDN	0,92***	-0,22	0,88
FDA	0,96***	-0,12	0,93
LDA	0,87***	-0,17	0,79
DIVMS	-0,96***	0,15	0,94

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

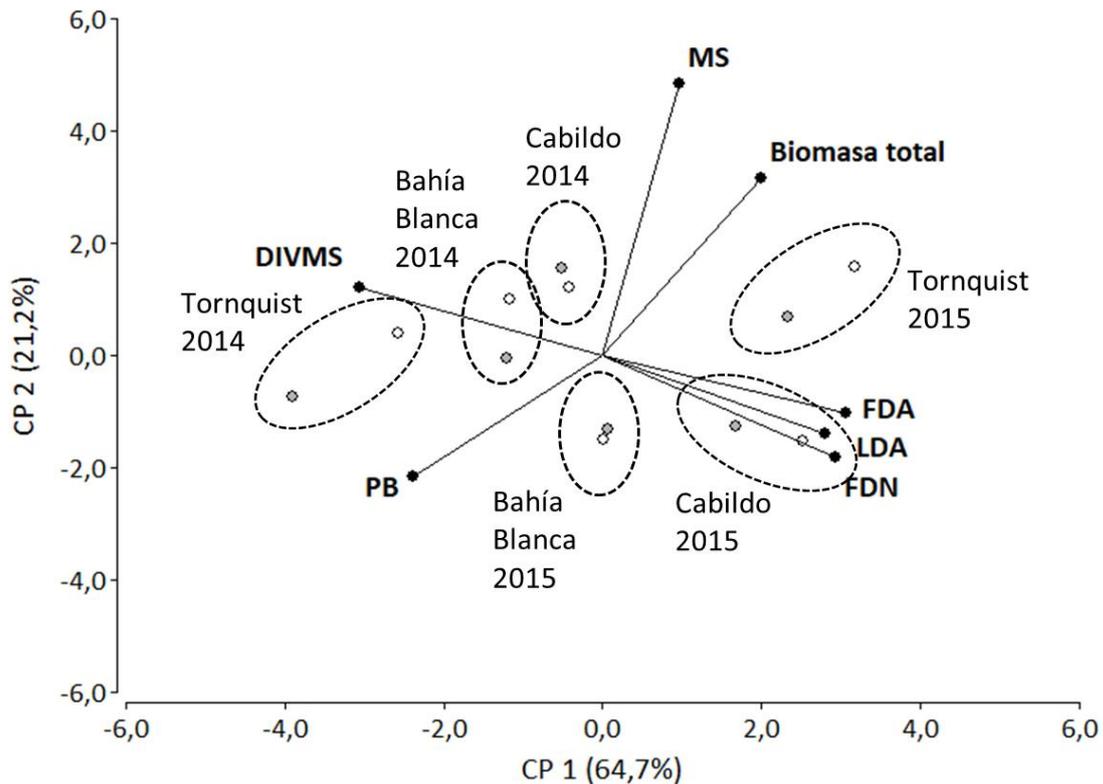


Figura 2.5 Biplot de los cortes de forraje en otoño (punto vacío: AgrPur y punto lleno: AgrVic) y las variables (vectores) estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales para las localidades de Bahía Blanca, Cabildo y Tornquist en 2014 y 2015 (separadas por línea punteada).

2.5.3 Discusión. Biomasa forrajera total y por especie

Durante el primer año de evaluaciones las precipitaciones registradas estuvieron cercanas a los promedios históricos regionales. Sin embargo, durante el segundo año de evaluación, en las tres localidades se registraron mayores rendimientos de forraje producto de las mayores precipitaciones. La biomasa de agropiro promedio anual en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo durante los dos ciclos fue de 2744, 897 y 1376 kg MS ha⁻¹, respectivamente. Estos valores resultaron por debajo de los 3806 kg MS ha⁻¹ obtenido por Gargano *et al.* (1988a) para un promedio de 4 años. Se observó, que la los cortes de primavera concentraron el 75 al 85% de la producción anual de agropiro, de igual modo que el mencionado trabajo.

La vicia mostró una baja tasa de crecimiento inicial durante los meses de otoño e invierno, para luego aumentar conforme avanza el estado fenológico, mostrando la máxima expresión sobre septiembre-octubre (Vanzolini, 2011). Durante los cortes de primavera la proporción de vicia en la consociación fue entre 39 a 80%. También la proporción varió con el estado fenológico. En Bahía Blanca, se obtuvieron las mayores diferencias entre tratamientos sobre Biomasa total al inicio de primavera (primer corte) que el corte posterior de diciembre (segundo corte). En el primer corte se encuentra la

mayor participación de vicia en la consociación (64 al 74%). Mientras que la proporción sobre diciembre estuvo entre 8 y 20%, donde se observan los menores incrementos de AgrVic, respecto de AgrPur en primavera. La menor proporción de vicia en diciembre, se debe al efecto del avance en el estadio fenológico de ambas.

El efecto en los cambios sobre la biomasa total producto de la intersiembra de vicia, resultó variable en cada experimento. En Cabildo la biomasa total promedio anual no cambió entre tratamientos (1376 y 1989 kg MS ha⁻¹ en AgrPur y AgrVic, respectivamente), mientras que en Tornquist la biomasa total anual aumentó 190% (897 y 2628 kg MS ha⁻¹ en AgrPur y AgrVic, respectivamente) y Bahía Blanca presentó una situación intermedia, donde AgrVic mostró un 70% más de biomasa total anual (2744 y 4668 kg MS ha⁻¹ en AgrPur y AgrVic, respectivamente). En un trabajo, realizado por Balbarrey (2007), la consociación con *V. villosa* generó aumentos sobre la biomasa total de 28 al 49%, respecto al monocultivo de avena e incrementos de 37% en comparación a monocultivos de centeno. Por otro lado, en un estudio reciente hecho por Freeman *et al.* (2016) se encontraron incrementos de 195% en intersiembras de *V. villosa* sobre *Cynodon dactylon*, durante la primavera. Aumentos de biomasa semejantes del 60 al 150% (durante el otoño e invierno) fueron encontrados cuando agropiro puros son fertilizados con 100 kg N ha⁻¹ (Alonso *et al.*, 2000). Altos rendimientos en pasturas consociadas han sido informados cuando la competencia entre las dos especies de la mezcla es menor que la existente dentro de la misma especie (Dhima *et al.*, 2007).

La biomasa de vicia promedio anual en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, fue de 1520, 1676 y 513 kg MS ha⁻¹, respectivamente. Trabajos a nivel regional sobre mezclas forrajeras de *V. villosa* con cereales de invierno, muestra rendimientos anuales para *V. villosa* de 1120 a 1200 kg MS ha⁻¹ cuando es cultivada junto con avena y 724 kg MS ha⁻¹ con centeno, en composiciones donde la *V. villosa* representó 15 al 45% de la biomasa total (Balbarrey, 2007). Por lo tanto, para Bahía Blanca y Tornquist teniendo en cuenta que no se realizó ninguna fertilización, resultan valores adecuados, mientras que en Cabildo la biomasa de vicia obtenida se considera baja.

Resultados bajos de biomasa de vicia en Cabildo podrían deberse, por un lado, al bajo contenido de fósforo en estos suelos (5,5 ppm) y por otro lado, la demora en la fecha de intersiembra. A nivel regional, Balbarrey (2007) y Menghini *et al.* (2015) encontraron demoras en el crecimiento inicial y menor producción de biomasa cuando se retrasa la fecha de siembra.

Respecto a la biomasa de agropiro, no se observa una disminución en la producción con la inclusión de vicia, independientemente de la composición de la pastura y la biomasa de vicia. Esta ausencia de efecto de vicia sobre la biomasa de agropiro, estaría indicando una ausencia de competencia interespecífica por los recursos disponibles. Por lo tanto, se entiende que la leguminosa acompañante, explora recursos que el agropiro no hace. Este efecto aditivo contrasta, con las consociaciones de agropiro y alfalfa estudiadas por Lauriault *et al.* (2005), donde muestran un menor rendimiento para la gramínea consociada, respecto al monocultivo para tres años

consecutivos. Según los autores, por efecto de competencia entre las especies. Por otro lado, Guldán *et al.* (2000) y Lauriault *et al.* (2003) reportaron, que la producción forrajera total de una consociación alfalfa con festuca también fue menor que el monocultivo de festuca.

Existen muchos mecanismos que regulan el consumo de rumiantes a pastoreo, entre ellos, la baja disponibilidad de las pasturas (Allison, 1985). Allden y Whittaker (1970) especulan que, a medida que disminuye la disponibilidad de forraje se llega a un punto, donde la tasa de ingestión se ve limitada, pero es compensada con un incremento en el tiempo de pastoreo. Si la disponibilidad continúa bajando, la compensación se hace progresivamente más incompleta, disminuyendo la ingesta total drásticamente (Allison, 1985). Por lo tanto, la consociación favorecería el consumo, por presentar mayor biomasa que el agropiro puro. La interseembra, mejoró la biomasa total en primavera para Bahía Blanca y Tornquist durante los dos años de estudio, mientras que en Cabildo durante el segundo. Debido a que en Cabildo la producción de vicia resultó muy baja.

2.5.4 Discusión. Valor nutricional del forraje

Para los cortes primaverales, el resultado del análisis de componentes principales muestra que, la presencia de vicia en el componente de la pastura influyó más sobre la biomasa producida y la composición química del forraje, que la localidad donde se realizó el ensayo. Independientemente del sitio en estudio, los cortes en primavera se agruparon por tratamiento y no por localidad o fecha de muestreo.

Sin embargo, para los cortes otoñales (ambos tratamientos compuestos de agropiro puro) sucede lo contrario, existe un mayor efecto de la localidad y fecha de corte, que del tratamiento. En otoño, se observa un agrupamiento de los cortes por localidad y fecha de muestreo y no por tratamientos. Se destacan los cortes de Cabildo y Tornquist para el año 2015 con altos contenidos de pared celular, producto de la biomasa remanente seca del año anterior, mientras en Bahía Blanca los valores son menores, producto de la remoción de las cañas por aumento de la frecuencia de cortes.

Durante los cortes primaverales se vieron la mayor cantidad de cambios en la composición química entre tratamientos, lógicamente debido a la presencia de la leguminosa en la composición de la pastura. En general, la interseembra de vicia en agropiro aumentó el contenido de PB, DIVMS y LDA, mientras que disminuyó los contenidos de FDN y FDA, tendencias similares a las obtenidas para consociaciones con otras especies gramínea y leguminosa (Anil *et al.*, 1998; Droushiotis, 1989; Balbarrey 2007; Bedoussac *et al.*, 2015; Ameri, y Jafari, 2016).

Otro efecto que se encontró sobre las consociaciones, fue la disminución del contenido de materia seca en agropiro creciendo en AgrVic. No se encontraron estudios que realicen la comparación del estado hídrico de las gramíneas creciendo en consociación de una leguminosa. Se sabe que la materia seca está estrechamente vinculada con el valor nutricional del forraje. De hecho, en un trabajo de revisión que

incluye un amplio espectro de forrajes, el contenido de materia seca resulta un buen indicador indirecto sobre algunos parámetros químicos del forraje. Se halló una relación positiva con el contenido de PB y negativa con FDN y DIVMS (Bumb *et al.*, 2016). Los resultados indican disminuciones en el contenido de materia seca cuando agropiro crece junto a vicia, es decir, con alta la proporción de leguminosa en la consociación. En Bahía Blanca (primer corte) y Tornquist durante primavera, donde se encontraron las diferencias, la proporción de vicia en la pastura estuvo por encima de 64%, mientras que, en el resto de los cortes, donde no se encontraron diferencias en el contenido de materia seca de agropiro, estuvo por debajo de 41%.

Con la información obtenida, no está del todo claro el motivo por el cual se haya encontrado mayor contenido de agua en las plantas de agropiro creciendo junto a vicia. Probablemente sea un conjunto de factores que en mayor o menor grado estén afectando el estado hídrico, aquí se mencionarán tres posibles factores. Por un lado, el agropiro (en AgrVic) podría estar absorbiendo más humedad del suelo. De hecho, fueron pocas las diferencias encontradas entre tratamientos para humedad de suelo, sin embargo, esas diferencias estuvieron siempre a favor de mayor contenido de humedad en AgrVic y generalmente en los meses de primavera. Por otro lado, la presencia de la leguminosa y el mayor contenido de humedad del suelo podría estar favoreciendo la actividad microbiana del suelo, por consiguiente, aumentando la disponibilidad de nutrientes (Lopez, 2017) en el corto plazo. Aumentos en la disponibilidad de nitrógeno pueden generar disminuciones en los contenidos de MS (Jahanzad, 2014). Por último, el efecto de sombreado y reparo del viento que hacen las plantas de vicia sobre las plantas de agropiro y el suelo, lo cual podría generar una menor evapotranspiración en la consociación.

El área de estudio, sudoeste de la provincia de Buenos Aires, se caracteriza por baja humedad relativa en el aire, con vientos secos predominantes del sector norte y noroeste y velocidades medias de 24 km h^{-1} (Capelli de Steffens *et al.*, 2006), con lo cual, la incidencia del viento puede resultar determinante para disminuir el contenido de agua del forraje. El hábito de crecimiento trepador de vicia podría estar protegiendo a las plantas de agropiro de la desecación.

El contenido de la pared celular del forraje, particularmente FDN, puede impactar negativamente sobre el consumo voluntario de materia seca y consecuentemente de energía (Arelovich *et al.*, 2008; Galyean y Hubbert, 2014). El rango de valores obtenidos en los diferentes experimentos para FDN en los cortes primaverales de AgrPur fue de 63,7 a 72,3% y para FDA de 34,1 a 40,2%. Estos valores se encuentran por debajo del 84% de FDN y 54% de FDA para agropiro diferido reportados por Miccoli (2014). Para cortes en otoño, Alonso *et al.* (2000) reportaron para seis materiales diferentes de agropiro valores entre 50 y 55% FDN. Durante los meses de otoño resulta esperable encontrar menores valores de FDN que primavera, debido al menor estado de desarrollo de la pastura.

Por otro lado, el tratamiento AgrVic durante la primavera presentó un rango de valores para FDN de 48,5 a 69,9% y para FDA de 28,9 a 38,5%. En el primer corte de Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, durante primavera donde se encontró un efecto de los tratamientos sobre la FDN, se registraron disminuciones entre 13 y 32% con la inclusión de vicia. Elgersmaa y Sjøegaard (2016) encuentra disminuciones entre 4 a 14% en FDN cuando raigrás perenne se intersembró con leguminosas. La magnitud del cambio dependió del tipo de especie de leguminosas utilizada. En un estudio de Ameri y Jafari (2016) encontraron que inclusiones de alfalfa (75%) en agropiro generan una disminución de FDA de 50,2 a 38,6% en primavera. Mientras que participaciones menores, del 25 al 50% de alfalfa en la consociación no resultaron en una disminución de la concentración de FDA.

La fertilización nitrogenada también genera una disminución proporcional de los componentes de la pared celular (Gastal y Saugier 1986). De hecho, la fertilización nitrogenada puede ser una estrategia válida para lograr menor FDN, además de aumentar la biomasa. Alonso *et al.* (2000), encontraron disminuciones del 5 al 13% en diferentes materiales de agropiro con 100 kg N ha⁻¹. Con la presencia de vicia, el impacto sobre la caída de FDN resultó mayor, aunque el hecho de obtener menor FDN con inclusión de vicia se trate principalmente, de un efecto de dilución.

Además, se observa un efecto del estado fenológico sobre dichos componentes de la pared celular en Bahía Blanca. El corte en avanzado estado fenológico y la baja participación de vicia en la consociación (8%) no condujeron a una reducción del componente fibroso en AgrVic. Por lo tanto, resulta destacado el rol del estado fenológico de ambas especies en la consociación para determinar los efectos sobre la composición química.

La variación en la respuesta productiva de rumiantes está más estrechamente relacionada con el consumo de forraje, que la digestibilidad de la dieta o la eficiencia de conversión energía digestible a energía metabolizable o neta (Mertens, 1994). Por lo tanto, las menores concentraciones de FDN encontradas para las consociaciones pueden tener un importante efecto positivo sobre la respuesta animal, estimulando el consumo voluntario. De hecho, Lauriault *et al.* (2005) hallaron en bovinos a pastoreo una duplicación en la producción de carne (kg ha⁻¹ año⁻¹) mediante la consociación alfalfa con agropiro, en contraste con el monocultivo de agropiro. Los autores atribuyen este incremento en la producción de carne a la interacción entre mayor producción forrajera, aumento en la capacidad de carga y mayor ganancia de peso individual.

La FDA representa una de las fracciones menos digestibles del forraje. En AgrPur, el contenido de FDA representó un 46, 45 y 46 % del total de la FDN en Bahía Blanca (primer corte), Tornquist y Cabildo, respectivamente. Es decir, en todos los experimentos las proporciones obtenidas de celulosa y lignina (o complementariamente hemicelulosa) fueron similares para AgrPur. Mientras que, la inclusión de vicia proporcionalmente aporta mayor contenido de hemicelulosa. Eso se puede observar porque disminuye la proporción de FDA respecto de FDN en AgrVic. Para la consociación,

en Bahía Blanca (primer corte), Tornquist y Cabildo la FDA representó un 39, 40 y 41% de FDN. Por lo tanto, la inclusión de vicia, aumenta la proporción de pared celular parcialmente digestible, al disminuir la proporción de FDA, hecho que también impactaría positivamente sobre el consumo.

En contraste, las leguminosas tienen un contenido de LDA mayor a las gramíneas. La lignina es un componente de la pared celular que los microorganismos del rumen no digieren o lo hacen en muy baja medida. Es un polímero formado por un complejo de polifenoles asociado con los carbohidratos de la pared celular, celulosa y hemicelulosa (Jung, 1989). Esta asociación genera una disminución de la degradación de la materia seca y FDN, por la dificultad que tienen los microorganismos en romper estos enlaces (Van Soest, 1994; Fukushima *et al.*, 2015).

La mayor diferencia encontrada sobre LDA en AgrVic, respecto de AgrPur fue en Bahía Blanca para la primera fecha de corte en primavera (incremento del 130% en AgrVic). No obstante, en Tornquist y Cabildo, también se mantuvieron las diferencias entre tratamientos, donde AgrVic mostró un incremento en LDA de 51 a 68%. Estos cambios en LDA se deben a la menor concentración de LDA en la pared celular de gramíneas en comparación con dicotiledóneas (Buchanan *et al.*, 2000). Aumentos en LDA con inclusión de leguminosas en gramíneas también fueron observados en otros estudios (Caballero *et al.*, 1996; Lithourgidis *et al.*, 2006). Mientras que al avanzar el estado fenológico esas diferencias disminuyen al punto que no hay un efecto sobre la LDA. Con el avance del estado fenológico, pareciera que las gramíneas sufren un mayor proceso de lignificación que las leguminosas.

Estos menores cambios en el tiempo que sufren las leguminosas, respecto a las gramíneas sobre la concentración de pared celular, fue reportado anteriormente por Jung y Allen (1995) y Bumb *et al.* (2016). Las leguminosas mantuvieron altos contenidos de LDA durante todo su desarrollo, mientras que en gramíneas resultó más esperable encontrar bajos contenidos de lignina en etapas tempranas de desarrollo y aumentos significativos a medida que las plantas maduran. Sobre todo, los aumentos están asociados a pasajes de etapas vegetativas a reproductivas, donde aumentan los tejidos de sostén en las plantas por generación de tallos reproductivos. Por este motivo, no se encontraron diferencias sobre la LDA entre los tratamientos sobre el segundo corte en Bahía Blanca.

El contenido de LDA afecta negativamente la DIVMS (Van Soest, 1994). A pesar de ello, las leguminosas pueden tener el doble de concentración de lignina, manteniendo el valor de digestibilidad (Van Soest, 1964). Sin embargo, AgrVic mostró un 17% más de DIVMS para Tornquist y Cabildo a pesar de tener mayor contenido de LDA que AgrPur. Por lo tanto, existen otros factores, como la disminución en FDA o el incremento de PB, que no solo compensan, sino que incrementan el valor de DIVMS, en AgrVic relación al monocultivo de agropiro.

La interseembra de vicia, mejora sustancialmente el valor nutricional de la pastura. Balbarrey (2010) encontró a nivel regional, valores de DIVMS en *Vicia* sp. pura entre 60

y 78% en estadios tardíos y tempranos de desarrollo, respectivamente. Además, no encontró un efecto sobre la DIVMS cuando la *Vicia sp.* fue consociada con avena. Posiblemente, debido a que la avena presentó similares valores de DIVMS de 66 a 86% que la *Vicia sp.* En cambio, en nuestro ensayo, hubo una mayor diferencia en los valores de DIVMS entre tratamientos. De hecho, el efecto de la leguminosa sobre la DIVMS, probablemente aumente a medida que aumenta la diferencia entre la calidad de las especies que componen la pastura. De hecho, Ameri y Jafari (2016) no encontraron incrementos en DIVMS en consociaciones de agropiro con alfalfa, ni para las especies analizadas separadamente.

Estos cambios encontrados en las fracciones de pared celular y contenido de PB, explican los cambios encontrados en DIVMS entre tratamientos. Es sabido, que las leguminosas son generalmente más susceptibles a la digestión, y las partículas tienen menor tiempo de retención ruminal en comparación con gramíneas (Waghorn *et al.*, 1989). Adicionalmente, podría esperarse una mayor tasa de consumo con leguminosas (Cabanillas-Cruz, 1999).

Los rangos de DIVMS en AgrPur del presente ensayo se asemejan al valor de 52,4% encontrado por Campora *et al.* (2011) y mayor que el 32% encontrado por Miccoli (2014) sobre agropiro diferido. Evaluando diferentes alternativas de utilización de agropiro mediante un tratamiento de amonificación húmeda, con aplicación de urea Miccoli (2014) encontró aumentos de 19% en la DIVMS. Por lo tanto, la mejora en DIVMS obtenida en nuestro estudio en ambos sitios resulta muy significativa. Sobre todo, teniendo en cuenta que surge a partir de una mejora sin intervención de agentes químicos tratantes.

En el presente ensayo, se observaron bajos valores de DIVMS en otoño en comparación con primavera. El rango de valores obtenidos resultó bajo en comparación al estudio realizado por Gargano *et al.* (1988b), que se situó 70,6%, por debajo del obtenido por Alonso *et al.* (2000) del 60% para los meses de otoño. Los bajos valores obtenidos durante esta época del año, en general se debieron a la mayor presencia de forraje seco. La inclusión de forraje seco en el corte podría estar indicando una baja frecuencia de defoliación de la pastura.

Uno de los factores limitantes sobre la calidad y la producción forrajera en sistemas pastoriles, es la disponibilidad de nitrógeno (LeBauer y Treseder 2008; Karki *et al.* 2009). El nitrógeno es un nutriente clave para el crecimiento de las plantas y como constituyente de las proteínas. A su vez, su contenido en la planta, expresado como PB, resulta un factor crítico para cubrir requerimientos nutricionales de animales a pastoreo.

Turner y Raleigh (1985) reportan que se requiere una concentración de PB de 7 a 8% en forrajes para mantener la preñez en vacas durante el invierno. Adicionalmente, también Van Soest (1994) determina que niveles de 7 a 8% PB son necesarios para mantener adecuadamente las funciones de los microorganismos del rumen. En los presentes experimentos, para AgrPur solo en Bahía Blanca y para Tornquist en

primavera se supera dicho nivel crítico. Mientras que en el resto de los cortes de AgrPur, el nivel de PB estuvo por debajo de los mínimos recomendados. Esto puede atribuirse, en parte a la presencia de material forrajero seco en algunos cortes. El agropiro es una especie forrajera que, defoliada inadecuadamente, no llega a cubrir los requerimientos nutricionales del rodeo de cría durante algunos momentos del año. De hecho, se ha reportado que esta especie no llega a cubrir los requerimientos durante el invierno si se deja diferir el rebrote de primavera (Jensen *et al.*, 2002).

En la región, Gargano *et al* (1988b) encontró diferentes valores de PB en cortes realizados durante septiembre (14,8%), diciembre (5,6%) y marzo (10,7%). Mientras que, Fernández Rosso *et al.*, (2010) determinaron valores similares a los obtenidos en el presente ensayo, los cuales fueron de 12,8 y 9,4 % PB en estados vegetativo y elongación de entre nudos, respectivamente.

Sin embargo, para AgrVic la situación resulta diferente. En todos los experimentos, los valores de PB en corte primaverales superaron dicho límite de 8% PB. Solo para el segundo corte en Bahía Blanca, donde el avanzado estado de madurez de las especies y la baja participación de vicia en la composición de la pastura, resultó en bajos valores de PB, aunque siempre por encima del 8%. Por otro lado, para los cortes otoñales, el contenido de PB en AgrVic supera a ese límite en Bahía Blanca y Tornquist, a pesar que no se haya encontrado diferencias entre tratamientos. En otros trabajos, Arelovich y Rodríguez Iglesias (1988) y Balbarrey (2009) encontraron mayores efectos en el nivel de PB del forraje más por la incorporación de leguminosa que el efecto por fertilización nitrogenada.

La mayor cantidad de PB en el forraje para AgrVic, no solo podría cubrir la deficiencia del agropiro, sino que podría incrementar la digestibilidad de la MS consumida por el ganado (Owens *et al.* 1991). Teniendo en cuenta el mayor contenido de PB en AgrVic, este forraje podría destinarse a animales de requerimientos más altos que vacas de cría. Las clásicas recomendaciones de los requerimientos proteicos para terminación de ganado de engorde están entre 12 y 14% PB (Galyean, 1996; Bailey y Duff, 2005). Este rango continúa siendo cubierto en AgrVic para los cortes de primavera.

De hecho, en el caso de Tornquist y el primer corte en Bahía Blanca, el valor del 21 % de PB podría resultar excesivamente alto. El exceso de NH_4^+ producido en el rumen, por un elevado consumo de PB, debe ser decodificado a nivel hepático generando un incremento en el gasto energético (McDonald *et al.*, 1995). Yan *et al.*, (2006), sugiere que reducir en estos casos el contenido de nitrógeno en la dieta resulta clave como estrategia de mitigación de las pérdidas de nitrógeno por orina y sus efectos de contaminación ambiental.

Por lo tanto, en estos casos se presenta un nuevo escenario a resolver, aunque excede los objetivos de la presente tesis, algunas alternativas de utilización se podrían orientar al ajuste de la dosis de intersiembra, suplementar con concentrados energéticos, pastoreo por horas o por franjas con otro forraje de menor contenido de PB o, por último, cosecha de forraje para la confección de reservas. Aunque, dietas

balanceadas en proteína y energía permiten la utilización eficiente de nutrientes para maximizar los potenciales de producción y reproducción (Krpalkova *et al.*, 2014), el nitrógeno es el nutriente que comúnmente limita la productividad de los agroecosistemas (Robertson y Vitousek, 2009). Por lo cual, restaría buscar la estrategia del mejor uso de un forraje con contenidos elevados de nitrógeno para evitar pérdidas y lograr resultados óptimos.

Analizando el contenido de PB en AgrCon, se encuentra un incremento absoluto de 3,3% en Bahía Blanca para el primer corte de primavera. Teniendo en cuenta que no se realizó una fertilización y que la producción de agropiro no cambia con la interseembra de vicia, la diferencia encontrada en PB a favor de AgrCon, respecto de AgrPur, se debe a la presencia de vicia. En principio, se podría estimar que parte del nitrógeno disponible en el suelo deriva de la descomposición de los residuos de la leguminosa, sin embargo, investigaciones sobre sistemas de cultivos consociados sugieren que las plantas pueden adquirir nitrógeno directamente del cultivo acompañante (Stern 1993; Johansen y Jensen 1996). A este proceso se lo denomina transferencia de nitrógeno.

Un estudio de Ashworth *et al.* (2015) también encontró para una de las tres localidades evaluadas incrementos de 7,9% en los contenidos de PB en *Panicum virgatum* cuando éste es intersembrado con vicia. El incremento de PB encontrado en el presente trabajo para AgrCon, supera incluso al encontrado en otros trabajos que utilizaron fertilizaciones de 23 y 90 kg N ha⁻¹ (Vasicek *et al.*, 2015; Gargano *et al.*, 1988b), aunque en estos trabajos la fertilización fue acompañada por aumentos de biomasa.

Hay muchas vías potenciales de transferencia de nitrógeno desde la leguminosa hasta la planta no-leguminosa vecina. Pero, la mayor parte del nitrógeno fijado por las leguminosas, susceptible de ser liberado en el suelo provendría de la mineralización de los nódulos y material vegetal después de un estrés (pastoreo, movimiento de suelo o sequía) o luego de la senescencia del órgano (Peoples *et al.*, 2015).

Crews *et al.* (2016) y Thilakarathna *et al.* (2016) publicaron en forma simultánea trabajos de revisión sobre la transferencia de nitrógeno de la leguminosa hasta la planta vecina, no leguminosa. Con gran similitud identifican las mismas vías de transferencias, aunque las clasifican diferente. En resumen, se identifican dos vías directas de transferencia de nitrógeno, por un lado, a través de micorrizas (hongos de suelo) entre leguminosas y no-leguminosas y por otro, los exudados de compuestos nitrogenados que realizan las raíces vivas de las leguminosas y el nitrógeno liberado producto de la descomposición de raíces y nódulos. Adicionalmente identifican una vía indirecta a través de la inmovilización que realizan los microorganismos del suelo del nitrógeno liberado por vía directa, quedando inmovilizado en la masa microbiana. Ayres *et al.* (2007) encontró que la transferencia directa desde las raíces de trébol blanco a las raíces de raigrás perenne incrementa cinco veces, seguidos de una defoliación, mientras que la masa microbiana en la rizosfera incrementa un 77%.

De hecho, esta transferencia de nitrógeno se estima que haya generado el efecto positivo encontrado en otoño, sobre el contenido de PB en Tornquist. En el corte otoñal

de Tornquist se registraron aumentos entre 64 y 77% de PB en AgrVic. Esto concuerda con lo reportado por Freeman *et al.* (2016) quienes hallaron aumentos de PB en *Cynodon dactylon* (L.), de 12 a 14,8% en corte de otoño, luego del crecimiento de la leguminosa. Dicho aumento atribuido al nitrógeno ingresado en el sistema vía fijación biológica. En nuestro caso, al no cambiar la biomasa de agropiro en otoño, el aumento de PB registrado, podría deberse en mayor medida a la disponibilidad de nitrógeno en el suelo. La concentración de nitrógeno inorgánico resultó sumamente variable, sin distinguir mayores diferencias consistentes entre tratamientos, a pesar de ello, se encontraron diferencias en las fracciones lábiles de la materia orgánica, que podrían explicar también las diferencias en PB durante el otoño y el incremento de PB en AgrCon.

2.5.5 Resultados. Contenidos de carbono y nitrógeno de las fracciones orgánicas y humedad de suelo

La Figura 2.6 muestra el análisis del carbono orgánico total (COT), particulado grueso y fino (COPg y COPf) y el asociado a la fracción mineral (COM) a lo largo del ensayo. Por otro lado, se presenta en la Tabla 2.8 el resultado sobre el muestreo final a diferentes profundidades. Se exponen los resultados de los tres experimentos (localidades), aunque no se realiza una comparación estadística entre ellos.

Para el contenido de COT, el rango de valores obtenidos, en los primeros 0-20 de suelo, a lo largo del ensayo fue de 10 a 12,2 para Bahía Blanca, 18,8 a 21,7 en Tornquist y 13,5 a 14,8 g kg⁻¹ en Cabildo. Solo se encontró una diferencia en COT para la fecha de 18/10/2013 en Tornquist, donde AgrVic presentó un contenido 15% mayor de COT, pasando de 18,8 a 21,7 g kg⁻¹. Para Bahía Blanca y Cabildo, no se encontraron diferencias en esta fracción de suelo.

Sobre el muestreo final del ensayo, para COT no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* en ningún sitio. Analizando las profundidades, se encontró un descenso del COT con la profundidad. En Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo se encontró que el contenido de COT presente en los 15-20 cm de profundidad fue la mitad, en relación al presente sobre la superficie de suelo (0-5).

Respecto al contenido de COM, el rango de valores obtenidos en 0-20 cm a lo largo del ensayo fue de 3,7 a 6,4 para Bahía Blanca, de 12,1 a 15,4 en Tornquist y 10,3 a 11,2 g kg⁻¹ en Cabildo. Por tratarse de la fracción menos lábil, solo se encontró una diferencia entre tratamientos para la fecha de 18/10/2013 en Tornquist, donde AgrVic presentó un contenido 14% mayor de COM, pasando de 13,5 a 15,4 g kg⁻¹.

Al finalizar el ensayo, en COM no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* en ningún sitio. Analizando las profundidades se encontró que la proporción del descenso con la profundidad resultó similar entre localidades. En Bahía Blanca se encontró que el COM presente en 15-20 cm fue un 52%, respecto del COM en superficie (0-5). A su vez en Tornquist y Cabildo, a los 15-20 cm se vieron proporciones

similares, del 56 y 64%, respectivamente, cuando se compara con los primeros 5 cm de suelo.

El rango de valores obtenidos para COPg en 0-20 cm a lo largo del ensayo fue de 2,9 a 4,6 para Bahía Blanca, de 1,3 a 1,9 en Tornquist y 0,7 a 1,4 g kg⁻¹ en Cabildo. La fracción COPg fue la que sufrió la mayor cantidad de diferencias entre tratamientos. En todos los experimentos, esas diferencias significaron aumentos en el tratamiento AgrVic, respecto al monocultivo de agropiro (AgrPur).

Para Bahía Blanca se encontró una diferencia en COPg en la fecha de 3/12/2013, con aumentos en AgrVic del 42%. Mientras que en Tornquist se encontró para las fechas 18/10/2013 y 21/3/2014 aumentos en AgrVic del 38 y 41%, respectivamente. A su vez, para la fecha siguiente se observó, aunque no significativamente ($p=0,08$) un mayor contenido de COPg en AgrVic (1,95 g kg⁻¹), respecto de AgrPur (1,40 g kg⁻¹). Por otro lado, en Cabildo el aumento encontrado en AgrVic para el 29/10/2013 y 7/5/2015 fue del 21 y 31%, respectivamente.

Al finalizar el ensayo no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad*, en Tornquist y Cabildo, mientras que hubo interacción en Bahía Blanca. Analizando las profundidades separadamente en Bahía Blanca, no se vieron diferencias entre tratamiento para ninguna profundidad. La interacción puede deberse al valor obtenido en la profundidad 0-5 (4,55 y 7,34 g kg⁻¹ para AgrPur y AgrVic, respectivamente) en comparación con los estratos más profundos, donde las medias resultaron similares.

Las diferencias de COPg entre profundidades resultaron similares entre localidades (0-5>5-10≈10-15≈15-20). El material más lábil (COPg) desciende rápidamente con la profundidad. En Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo solo queda un 35, 20 y 25% respectivamente, del COPg en la profundidad 15-20, respecto de la superficie (0-5).

El rango de valores obtenidos para COPf en 0-20 cm a lo largo del ensayo fue de 1,8 a 3,3 para Bahía Blanca, de 3,9 a 5,3 en Tornquist y 2,1 a 2,9 g kg⁻¹ en Cabildo. La fracción COPf mostró menos cantidad de diferencias entre tratamientos que la fracción gruesa. Aunque, la tendencia fue la misma, mayores contenidos en AgrVic. En Bahía Blanca se encontró una diferencia entre tratamientos para la última fecha de muestreo, con un aumento del 9% en COPf. Mientras, en Tornquist no se diferenciaron los tratamientos, salvo en la primera fecha, aunque esta diferencia no atribuible a la inclusión de vicia, por encontrarse ésta recientemente intersembrada. En Cabildo se observó una diferencia en las últimas dos fechas de corte, con aumentos a favor de AgrVic de 11 y 13% para 21/11/2014 y 7/5/2015, respectivamente.

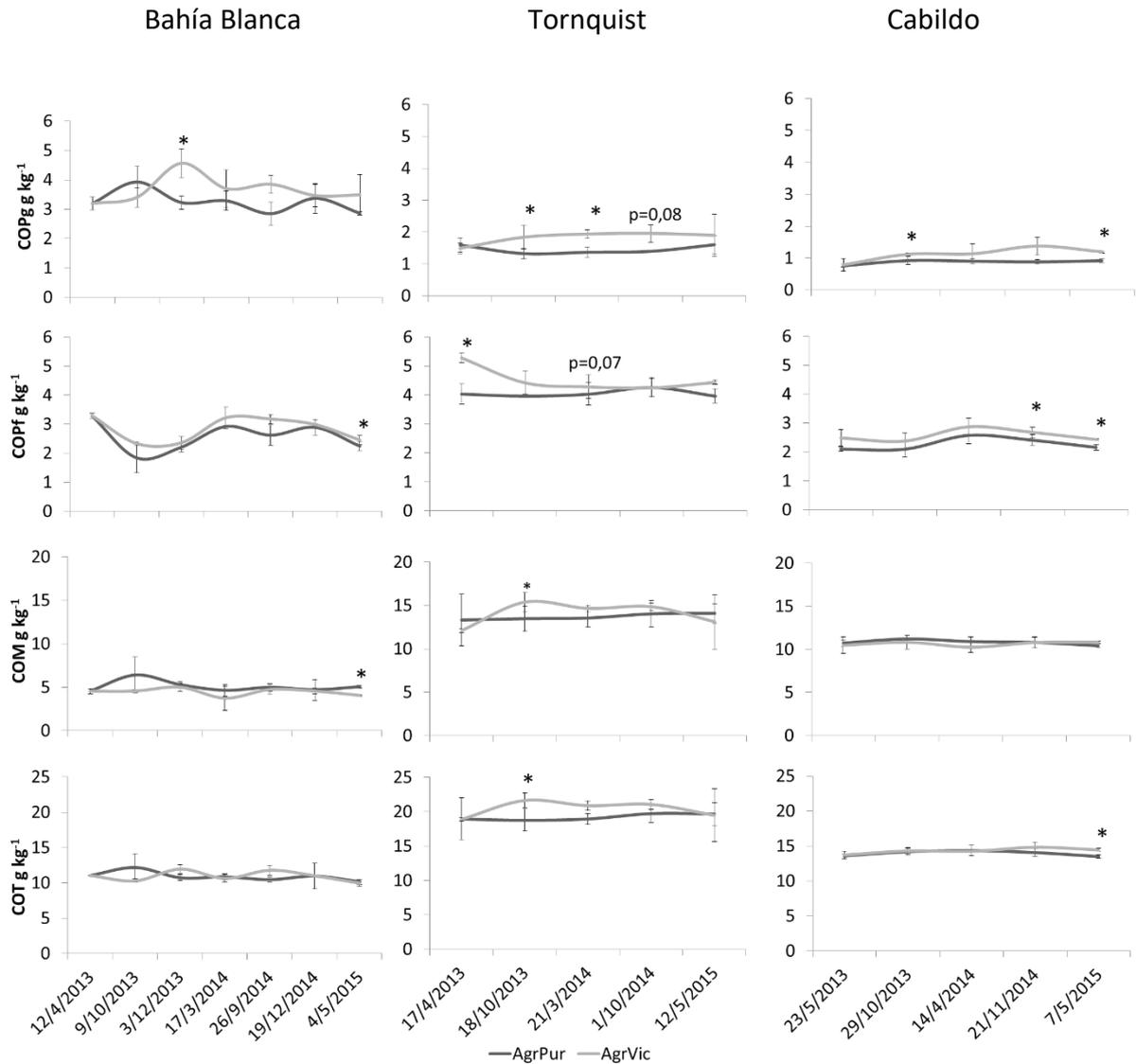


Figura 2.6 Contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg), fino (COPf), carbono orgánico asociado a la fracción mineral (COM) y carbono orgánico total (COT) de suelos (0-20) para el tratamiento agropuro puro (AgrPur) y la consociación con *V. villosa* (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo de todo el ensayo. Las líneas indican el desvío muestral. * diferencias entre tratamientos para la fecha ($p < 0,05$)

Sobre el muestreo final, en COPf no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* para ninguna localidad. Como se mencionó anteriormente, se observa la diferencia a favor de AgrVic en Bahía Blanca y Cabildo, analizando el promedio de las profundidades. Las diferencias entre profundidades resultaron similares para Bahía Blanca y Tornquist (0-5 \approx 5-10 > 10-15 \approx 15-20 cm). Mientras que para Cabildo el COPf no cambió con la profundidad (2,28 g kg⁻¹ en promedio).

Tabla 2.8 Contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg), fino (COPf), carbono orgánico asociado a la fracción mineral (COM) y carbono orgánico total (COT) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo.

Localidad		COPg	COPf	COM	COT
g kg ⁻¹					
Bahía Blanca					
Tratamiento	AgrPur	2,95	2,29 a	5,14 a	10,38
	AgrVic	3,75	2,50 b	4,20 b	10,44
Profundidad	0-5	5,95	3,04 a	6,25 a	15,24 a
	5-10	3,04	2,69 a	4,89 b	10,62 b
	10-15	2,32	1,94 b	4,25 bc	8,52 bc
	15-20	2,08	1,9 b	3,28 c	7,26 c
	Trat (T)	ns	**	*	ns
Prof (P)	**	**	**	**	
T x P	*	ns	ns	ns	
Tornquist					
Tratamiento	AgrPur	1,73	4,01	14,38	20,12
	AgrVic	2,07	4,49	13,4	19,96
Profundidad	0-5	4,22 a	4,86 a	17,93 a	27,01 a
	5-10	1,61 b	4,79 a	14,51 b	20,91 b
	10-15	0,94 b	3,97 b	12,94 b	17,85 b
	15-20	0,83 b	3,38 b	10,18 c	14,39 c
	Trat (T)	ns	ns	ns	ns
Prof (P)	**	**	**	**	
T x P	ns	ns	ns	ns	
Cabildo					
Tratamiento	AgrPur	0,98 a	2,14 a	10,55	13,67 a
	AgrVic	1,28 b	2,43 b	10,95	14,66 b
Profundidad	0-5	2,15 a	2,11	12,65 a	16,92 a
	5-10	1,00 b	2,11	11,78 a	14,88 b
	10-15	0,82 b	2,31	10,51 b	13,65 c
	15-20	0,54 b	2,61	8,07 c	11,23 d
	Trat (T)	*	*	ns	*
Prof (P)	**	ns	**	**	
T x P	ns	ns	ns	ns	

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. ^{a,b,c,d} compara tratamientos o profundidades para cada variable y localidad. Tratamientos: AgrPur: agropiro puro y AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

Por otro lado, la Figura 2.7 muestra el análisis de nitrógeno asociado a la materia orgánica gruesa y fina, nitrógeno inorgánico (NH₄ y NO₃) junto con la humedad del suelo en los primeros 20 cm de profundidad para cada fecha de muestreo y en cada experimento (localidad) por separado. En la Tabla 2.9 se observa el resultado obtenido en el último muestreo a diferentes profundidades. Como para el resto de las variables

de suelo, se exponen los resultados de las tres localidades, aunque no se realiza la comparación entre ellas.

El rango de valores obtenidos para N-MOPg en 0-20 cm a lo largo del ensayo fue de 0,17 a 0,30, de 0,06 a 0,10 y de 0,03 a 0,07 g kg⁻¹ para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Solo se observó un efecto del tratamiento en Bahía Blanca en la fecha de primavera tardía durante el primer año de evaluaciones (3/12/2013), donde AgrVic fue un 12% mayor que AgrPur (0,26 a 0,29 g kg⁻¹).

Al finalizar el ensayo, sobre el N-MOPg se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* para Bahía Blanca, mientras que Tornquist y Cabildo no presentaron interacciones. Analizando las profundidades separadamente en Bahía Blanca, no se vieron diferencias entre tratamiento para ninguna de ellas, salvo una leve tendencia ($p=0,07$) para la profundidad 0-5 cm, donde AgrPur y AgrVic presentaron valores de 0,25 y 0,46 g kg⁻¹, respectivamente. Por otro lado, en Tornquist y Cabildo no se encontraron diferencias entre tratamientos.

Las diferencias en N-MOPg entre profundidades fueron las mismas para todos los sitios (0-5>5-10≈10-15≈15-20 cm). Con la profundidad, desciende marcadamente la presencia de la materia orgánica más lábil del suelo. En Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo solo queda un 50, 16 y 17% respectivamente, del N-MOPg en la profundidad 15-20, respecto de la superficie (0-5).

Para N-MOPf, el rango de valores obtenidos en 0-20 cm de suelo a lo largo del ensayo fue de 0,16 a 0,24, de 0,22 a 0,48 y de 0,11 a 0,16 g kg⁻¹ para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Para esta variable se observó una única diferencia entre tratamientos en Cabildo para el 14/4/2014, allí se encontró un aumento del 13% en el N-MOPf en AgrVic (0,14 g kg⁻¹), respecto de AgrPur (0,12 g kg⁻¹).

Sobre el último muestreo, en N-MOPf no se encontró interacción *Tratamiento x Profundidad* en ninguna localidad. A su vez, en todos los experimentos no hubo diferencias entre profundidades para Bahía Blanca (promedio 0,17 g kg⁻¹) y Cabildo (promedio 0,12 g kg⁻¹), en cambio, solo en Tornquist, se encontró que a los 5-10 tuvo mayor contenido de N-MOPf que a 15-20 (0,27 y 0,19 g kg⁻¹, respectivamente) de profundidad.

En cuanto al contenido de nitrógeno inorgánico, se encontró un rango de valores muy variable durante todo el período, siendo de 8,9 a 89,4, de 5,3 a 56,0 y de 15,9 a 56,1 kg N ha⁻¹ para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Para Bahía Blanca se encontró solo una diferencia en la fecha de 19/12/2014, con aumentos en AgrVic (30,8 kg N ha⁻¹) del doble respecto de AgrPur (15,2 kg N ha⁻¹). Mientras que en Tornquist y Cabildo no se encontraron diferencias entre tratamientos. Vale aclarar que, en la primera fecha de muestreo en Cabildo, al inicio del ensayo se encontró una diferencia a favor de AgrVic. Sin embargo, no puede deberse al efecto de la leguminosa en sí, ya que se encontraba recientemente sembrada. El efecto de incremento en el nitrógeno inorgánico puede deberse al laboreo llevado a cabo (remoción con cincel) para lograr la intersembrado.

Sobre el contenido de humedad del suelo, se encontró un rango de valores a lo largo del ensayo de 3,6 a 17,0, de 11,1 a 22,5, de 11,0 a 27,0 % para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. En general, los contenidos de humedad fueron similares para ambos tratamientos, salvo cuatro diferencias que se encontraron, todas a favor de aumentos en los contenidos de humedad edáfica en AgrVic.

En Bahía Blanca para la fecha del 26/9/2014, el contenido de humedad en AgrVic fue 19% mayor que AgrPur. Mientras que en Tornquist se encontró para las fechas 1/10/2014 y 12/5/2015 aumentos en AgrVic del 32 y 4%, respectivamente. Por otro lado, en Cabildo la diferencia se encontró sobre el primer día de muestreo. Como en el caso del nitrógeno inorgánico, no puede deberse a la leguminosa, sino a la práctica de laboreo. En esa primera fecha de muestreo AgrVic presentó un 11% más humedad que AgrPur.

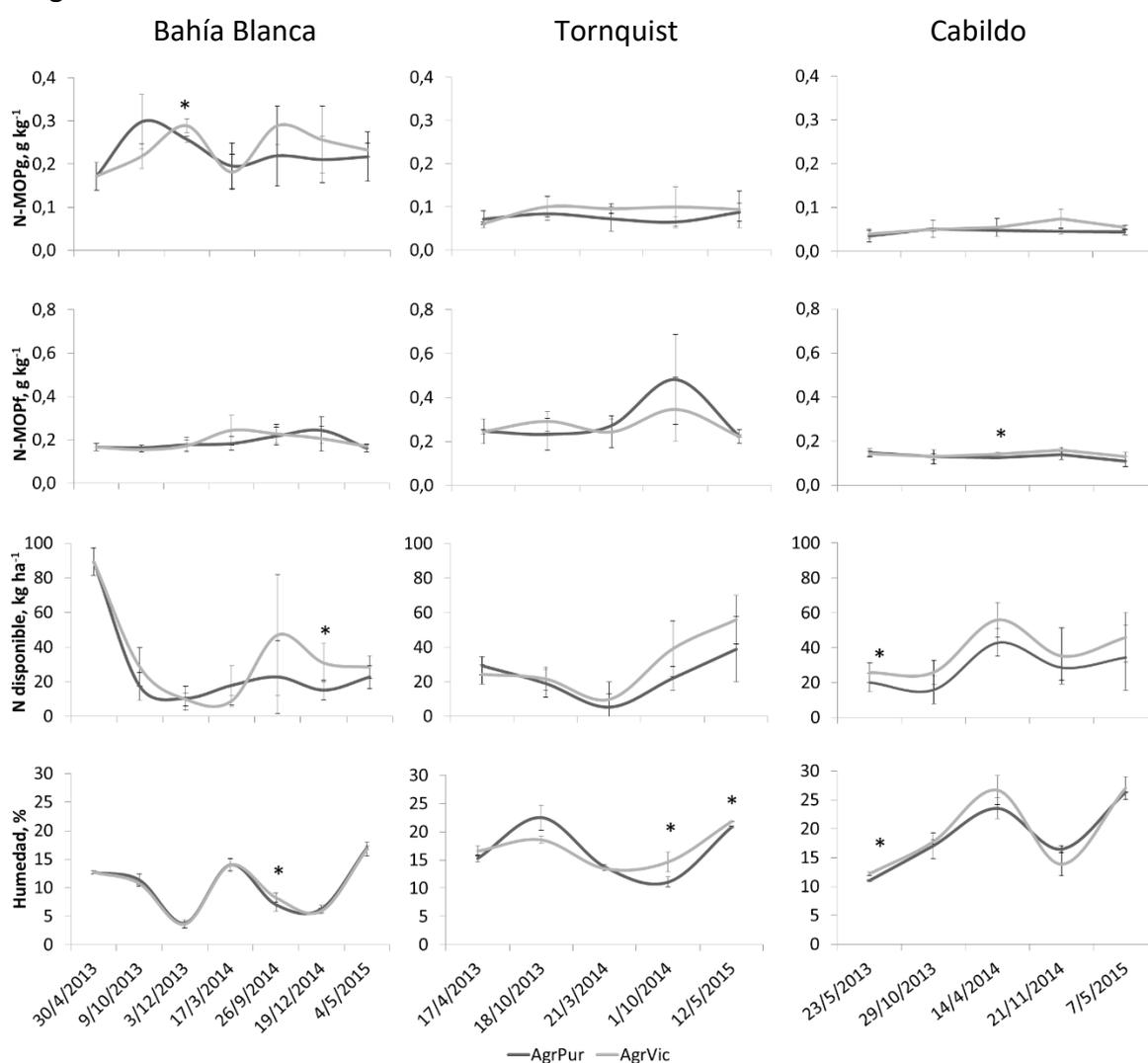


Figura 2.7 Contenido de nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf), nitrógeno (N) disponible y humedad de suelos (0-20) para el tratamiento agropiro puro (AgrPur) y la consociación con *V. villosa* (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo del ensayo. Las líneas indican el desvío muestral. * diferencias entre tratamientos para la fecha ($p < 0,05$)

Tabla 2.9 Contenido del nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo.

Localidad		N-MOPg	N-MOPf
g kg ⁻¹			
Bahía Blanca			
	AgrPur	0,22	0,16
	AgrVic	0,25	0,17
	0-5	0,36 a	0,19
	5-10	0,23 b	0,18
	10-15	0,17 b	0,14
	15-20	0,18 b	0,16
	Trat (T)	ns	ns
	Prof (P)	**	ns
	T x P	*	ns
Tornquist			
	AgrPur	0,10	0,23
	AgrVic	0,11	0,23
	0-5	0,25 a	0,26 ab
	5-10	0,08 b	0,27 a
	10-15	0,04 b	0,20 ab
	15-20	0,04 b	0,19 b
	Trat (T)	ns	ns
	Prof (P)	**	*
	T x P	ns	ns
Cabildo			
	AgrPur	0,05	0,11
	AgrVic	0,06	0,13
	0-5	0,12 a	0,13
	5-10	0,05 b	0,11
	10-15	0,02 b	0,11
	15-20	0,02 b	0,13
	Trat (T)	ns	ns
	Prof (P)	**	ns
	T x P	ns	ns

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. ^{a,b} compara tratamientos o profundidades para cada variable y localidad. Tratamientos: AgrPur: agropiro puro y AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

2.5.6 Discusión. Contenidos de carbono y nitrógeno de las fracciones orgánicas y humedad de suelo

Los valores de COT obtenido en cada localidad, estuvieron dentro de los rangos obtenidos por Rosell *et al* (1997) para la región semiárida argentina. Resulta esperable la poca variación encontrada en COT y COM, ya que se trata de la materia orgánica más

humificada y estable (Purakayastha *et al.*, 2008). Bajo el presente trabajo, ningún cambio sufrió el COT entre tratamientos. Mientras que un estudio de Galantini *et al.* (2002), luego de 12 años de rotación se encontraron diferencias en COT, en una rotación de tres años trébol rojo, luego de una secuencia de tres años con trigo. De aquí la importancia de evaluar las fracciones lábiles de la materia orgánica.

En el presente estudio, las fracciones que presentaron la mayor cantidad de diferencias entre tratamientos, fueron las de mayor labilidad. En AgrVic se encontraron mayores contenidos de COPg y COPf, respecto de AgrPur. Esas diferencias se evidenciaron en los tres experimentos, aunque solo en algunas fechas de corte. Los aumentos en COPg fueron de 41% en Bahía Blanca, del 38 al 42% en Tornquist, del 21 al 31% en Cabildo, mientras que en COPf solo sobre la última fecha se registraron aumentos del 9 a 13%, en Bahía Blanca y Cabildo, respectivamente. Los resultados indican que ambas fracciones de la materia orgánica, están positivamente influenciadas por la incorporación de la leguminosa, y que el COPg fue la que sufrió los cambios de mayor magnitud. Cambios en esta variable coincide con los encontrados por otros trabajos donde incluyen leguminosas en la rotación (Duval, 2015).

Un trabajo de Galantini *et al.*, 2002, encontraron aumentos de 47% en COP (>0,1 mm) luego de una pastura de tres años de trébol rojo, seguida de una secuencia de trigo. Por otro lado, comparando diferentes sistemas de rotaciones Minoldo (2010) encontró aumentos de 58% en COP (>0,1 mm) cuando incluye cinco años de pastura, en un esquema de rotación con monocultivo de trigo. A su vez, en este ensayo esas diferencias se trasladan también a cambios en COM y COT, con aumentos de 24 y 28%, respectivamente, ya que se trata de una rotación que tiene 27 años de duración. Por lo tanto, encontrar aumentos sobre COPg y COPf con inclusión de vicia, pareciera ser una promisoriosa respuesta positiva.

Resulta ampliamente estudiada, la pérdida de COP por las malas prácticas de uso agrícola de los suelos (Duval *et al.*, 2016; Toledo *et al.*, 2013). Entendiendo que la historia previa de uso en cada sitio fue la misma para ambos tratamientos, el aumento en el contenido de COP debido a la incorporación de leguminosa, indicando una tendencia hacia mayores calidades de suelo en estos sistemas (Duval *et al.*, 2016).

El contenido de humedad del suelo no varió significativamente entre tratamiento, salvo para algunas fechas, donde siempre AgrVic presentó mayor humedad que AgrPur. De hecho, las diferencias encontradas ocurren en primavera, coincidiendo con los máximos desarrollos de las plantas de vicia. Por otro lado, las precipitaciones estuvieron en el promedio y por encima del mismo, para el primer y segundo año de estudio, respectivamente.

Aunque no se evaluó, con esta información se estima que la evapotranspiración en AgrVic haya sido menor que en AgrPur. Las leguminosas tienen gran desarrollo de sistemas radicales y aéreos, con el cual pueden mantener el contenido de humedad del suelo por aumentos en el sombreado y retención de agua (Armstrong *et al.* 1999).

Respecto al estado nutricional del suelo, específicamente el nitrógeno inorgánico, resultó muy variable y solo en primavera tardía de Bahía Blanca se encuentra una diferencia a favor de AgrVic. En ese caso, pueden estar actuando mecanismos de transferencia de nitrógeno de la leguminosa a la gramínea. El día 19 de diciembre, en Bahía Blanca el agropiro se encontraba cerca de anthesis, y en este estado fenológico, el cultivo deja de acumular biomasa considerablemente, con lo cual reduce la absorción de nitrógeno del suelo (Lemaire, 2015). Esta podría ser la causa de la mayor acumulación de nitrógeno inorgánico registrado solo en Bahía Blanca. Un estudio en la región semiárida Argentina para un período 1991-1997 de Quiroga *et al.* (1999) encontraron aumentos en el nitrógeno inorgánico a razón de 24 kg N ha⁻¹ en promedio, cuando *Vicia sativa* se consocio con centeno, en comparación al monocultivo de centeno. En nuestro caso la acumulación de nitrógeno inorgánico estuvo en torno de 15,6 kg N ha⁻¹.

Un estudio realizado por Sá Pereira *et al.* (2017) encontraron una rápida descomposición de los residuos de vicia en el suelo en relación a otras forrajeras. Material vegetal residual de avena, vicia y trébol fue 73, 59 y 78% luego de 21 días de exposición en el suelo, y disminuyó luego de 100 días (48, 39 y 61% de la biomasa inicial, respectivamente). Otro trabajo de Acosta (2009) también reporta una rápida descomposición de vicia en suelo, donde el 50% de los residuos de avena y vicia desaparecieron a los 164 y 49 días, respectivamente. Los residuos de vicia liberan más del 32% del nitrógeno acumulado en ellos, durante los primeros 30 días de descomposición en el suelo, causando un aumento de disponibilidad que puede variar desde 35 a 130 kg N ha⁻¹ (Sá Pereira *et al.* 2014).

A pesar que el COP incrementa con la fertilización, Geisseler *et al.* (2016), encontró que la fertilización nitrogenada puede tener efecto contrario sobre la biomasa microbiana en diferentes sistemas. La biomasa microbiana del suelo, bajo esquemas de fertilizaciones repetidas puede incrementar 13,6% en cultivos anuales, mientras que disminuye 12% sobre pasturas perennes, generando un impacto sobre el ciclado de nutrientes. Por lo cual, incrementar nitrógeno en el sistema vía residuos de leguminosa pareciera impactar más favorablemente en el ambiente.

La acumulación de nutrientes en la solución del suelo tiene un efecto negativo adicional, debido al mayor riesgo de contaminación ambiental producto de la percolación de nitratos (Juergens-Gschwind, 1989), volatilización de amoníaco y emisiones de óxidos de nitrógeno (Peoples *et al.*, 1995). Sin embargo, un trabajo de revisión de Crews y Peoples (2004), comparan la obtención de nitrógeno en el sistema vía fertilización o fijación biológica por leguminosas. Llegando a la conclusión que la obtención vía leguminosas es potencialmente más sustentable que de fuentes industriales.

Es sabido que, con inclusión de nitrógeno, vía fertilizante, los contenidos de COP aumentan (Minoldo, 2010; Purakayastha *et al.*, 2008, Eiza *et al.*, 2005, Galantini *et al.*, 2002). La leguminosa también incorpora nitrógeno al sistema, aunque a través de la vía de la fijación biológica. Con lo cual sistemas con leguminosas podrían acumular carbono

en suelo, dejando paralelamente mayor cantidad de residuos susceptibles a ser degradados y posibilitando un mayor reciclaje de nutrientes. Permitiendo que cultivos posteriores, o en este caso, el agropiro acompañante obtenga el beneficio de mayor nivel de fertilidad química. Este complejo ciclo del nitrógeno posiblemente explique el aumento de PB encontrado sobre el forraje en otoño.

Elgersma y Hassink (1997) determinan el nitrógeno derivado de la leguminosa (N_2 aparentemente fijado) como la diferencia entre el rendimiento de nitrógeno (kg N ha^{-1}) de la consociación (AgrVic) menos el rendimiento de nitrógeno del monocultivo (AgrPur). Aunque de este modo se sobreestima la fijación, ya que parte del nitrógeno que contiene la leguminosa proviene, de la solución del suelo. Según un estudio realizado por Brainard *et al.* (2012) la *V. villosa* tienen en promedio un %Ndfa (porcentaje de N derivado de la atmósfera) de 71%. Utilizando la información aportada por Elgersma y Hassink, (1997) y el 71% Ndfa encontramos que la vicia en nuestros experimentos habría fijado, un promedio anual para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo de 30, 29 y 28 $\text{kg N cada } 1000 \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$ (parte aérea), respectivamente. Los valores de fijación biológica de nitrógeno en vicia resultan valores muy similares entre experimentos, y se relacionan con lo reportado por Crews *et al.* (2016) que mencionan una fijación para muchas leguminosas forrajeras y de cosecha con valores entre 15 a 25 $\text{kg N cada } 1000 \text{ kg}^{-1} \text{ MS}$. Teniendo en cuenta además que las leguminosas cuando crecen en consociación con plantas no fijadoras, cuyas raíces son más competitivas por el nitrógeno del suelo, provoca una mayor eficiencia de la fijación (Dear *et al.*, 1999).

En cuanto al contenido de N-MOP (gruesa y fina), solo se encontraron dos diferencias a favor de AgrVic, para la localidad de Cabildo y Bahía Blanca. Es decir, se encontró un enriquecimiento (de alrededor 12%) de nitrógeno en la materia orgánica en algunas fechas de corte con inclusión de vicia. De acuerdo con Griffin *et al.* (2008) resulta esperable la relación con la disponibilidad de nitrógeno, porque el N-MOP representa a la fracción de nitrógeno fácilmente mineralizable. De hecho, Martínez y Galantini (2017) reportan una alta correlación ($R^2=0,87$) entre el nitrógeno potencialmente mineralizable y el N-MOP. Por lo tanto, resultaría esperable encontrar mayores disponibilidades de nitrógeno en la solución del suelo con inclusión de vicia. En general, el efecto de los diferentes tratamientos antrópico resulta más evidente sobre el carbono de la MOP que sobre su nitrógeno, por diferentes motivos. Si bien la cantidad de carbono y nitrógeno de la materia orgánica se encuentra estrechamente relacionada, sus cinéticas son diferentes. El carbono parece ser más dinámico que el nitrógeno (Galantini y Suñer, 2008).

El incremento en nitrógeno, elemento generalmente limitante, puede estimular la descomposición de los materiales orgánicos lábiles. Sin embargo, aquí no se evidencia una diferencia de la magnitud del carbono. Tampoco cambió la relación C:N en la MOP gruesa y fina. Por lo tanto, se estima que la velocidad de descomposición de los residuos no varió sustancialmente durante el corto período evaluado (Elgersma y Hassink, 1997).

El aumento en la biomasa total en AgrVic, está asociada al aumento de aportes que recibe el suelo, como residuos, con efecto positivo sobre la materia orgánica. Sin embargo, mayor cantidad de nutrientes sin ser utilizados por el cultivo, pueden quedar disponibles y estimular la actividad microbiana y el consumo de sustratos orgánicos, con un efecto negativo sobre la misma materia orgánica (Galantini y Suñer, 2008). Una mayor cantidad de nitrógeno en el suelo favorece el crecimiento de la comunidad microbiana, lo cual incrementa a su vez la pérdida de carbono como CO₂ en el proceso de respiración de los microorganismos (Colozzi-Filho *et al.*, 2001, Minoldo, 2010), motivo por el cual gran parte de estos residuos no son finalmente incorporada a la materia orgánica estable del suelo.

Los efectos positivos se observan cuando se combina con otras buenas prácticas agronómicas (Migliarina *et al.*, 2000). En el presente estudio, el agropiro, permanece implantado, por lo tanto, consumiendo agua y nutrientes (nitrógeno) de forma continua, en comparación a los estudios sobre rotaciones agrícolas con períodos de barbecho prologados. En sistemas de interseembra de vicia sobre agropiro, existiría una sincronización más gradual y continua entre los aportes de residuos realizado, tanto por las plantas, como los animales (mediante las heces), la mineralización de los mismos y la inmovilización del nitrógeno por los microorganismos, en comparación a los sistemas de rotación con pasturas y cultivos de cosecha.

Los residuos vegetales superficiales y subsuperficiales son esenciales para aumentar los contenidos de materia orgánica. Naturalmente, existe una estratificación de las diferentes fracciones de la materia orgánica, producto de la deposición a través del tiempo de los materiales vegetales.

En 0-5 cm se encontraron los mayores cambios respecto al resto de las profundidades, denotando una gran estratificación de las variables estudiadas bajo estas pasturas. Sin embargo, se encontró que no todas las fracciones estudiadas lo hicieron de igual magnitud.

La fracción COPg fue la que rápidamente desapareció con la profundidad, en relación a las fracciones menos lábiles (disminución de un 65 a 80% a los 15-20 cm). Mientras que a los 15-20 cm se encuentra la mitad del COM y COT presente en superficie (0-5). En contraste con el COPf que no se modificó, en Cabildo, o solo disminuyó un 30-37% a los 15-20 cm para Bahía Blanca y Tornquist. Similares descensos entre el 72 y 86% los 15-20 cm de profundidad encontró Kiessling (2012), para el contenido de COP en suelos cercanos a Bahía Blanca.

A su vez, se observó una mayor estratificación del N-MOPg en los suelos de textura más fina (Cabildo y Tornquist). Fraiser *et al* (2015) observó que la distribución de las raíces en *V. sativa* se hace más homogéneamente en profundidad, cuando el suelo tiene una textura más gruesa. Sin embargo, el mismo trabajo destaca la mayor presencia de biomasa de raíces en el estrato 0-6 cm de profundidad.

Ozpinar & Baytekin (2006) observaron valores de biomasa de raíces en *V. sativa* en los primeros 20 cm del perfil de 40% del total de residuos aportados. Mientras que,

en la región semiárida Argentina, para *V. sativa* se encontraron valores entre 15 y 17% de la biomasa total producida, para los primeros 12 cm de suelo (Frasier *et al.*, 2015).

Si consideramos la misma relación para vicia, se podría estimar un aporte de biomasa de raíces entre 310, 343 y 105 kg MS ha⁻¹ para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Además, las raíces contribuyen más al aumento de la materia orgánica estable del suelo que el material vegetal proveniente de la parte aérea (Katterer *et al.* 2011). En contraposición, el N-MOPf se mantienen más uniformemente distribuido en las diferentes profundidades (dentro de 0-20 cm) en todas las localidades.

Esta mayor variación en N-MOPg con la profundidad, en comparación con N-MOPf, está relacionada al contenido de carbono de la fracción. Como se mencionó anteriormente la variación en la fracción COPg fue mayor que la de labilidad intermedia.

2.5.7 Resultados. Índices edáficos basados en el contenido de carbono y nitrógeno de las diferentes fracciones

La Figura 2.8 muestra las relaciones entre las diferentes fracciones del carbono orgánico, con el contenido total de carbono del suelo, junto con la relación entre el carbono y nitrógeno de las dos fracciones más gruesas, en los primeros 20 cm de profundidad a lo largo del ensayo. Mientras que la Tabla 2.10, muestra el resultado sobre la última fecha de muestreo, realizado a diferentes profundidades. Allí se exponen los resultados de los tres experimentos, aunque no se realiza una comparación estadística entre ellos.

El rango de valores obtenidos para la relación COPg:COT en 0-20 cm a lo largo del ensayo fue de 0,27 a 0,38, de 0,07 a 0,09 y de 0,06 a 0,09 para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. De todas las relaciones estudiadas, ésta fue la que mostró la mayor cantidad de diferencias entre tratamientos. Además, las diferencias encontradas en cada experimento muestran siempre mayores relaciones en COPg:COT para AgrVic, respecto de AgrPur.

En Bahía Blanca se encontró una sola diferencia, en la fecha 3/12/2013 donde AgrVic presentó una relación COPg:COT 27% mayor que AgrPur. Por otro lado, en Tornquist se encontró para las fechas 18/10/2013 y 21/03/2014 aumentos en AgrVic de 18 y 29%, respectivamente. Para el caso de Cabildo, el aumento encontrado en AgrVic fue para la fecha 29/10/2013 y 7/5/2015 con 20 y 23% de aumento, respectivamente.

Al finalizar el ensayo no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad*, en Tornquist y Cabildo, mientras que hubo interacción en Bahía Blanca. Analizando en Bahía Blanca las profundidades por separado encontramos una diferencia en 0-5 cm, donde AgrVic (0,45) presentó un 45% de aumento en la relación COPg:COT que AgrPur (0,31). Además, en la mayor profundidad (15-20) se encontró una tendencia ($p=0,06$) a favor de mayores relaciones en AgrVic (0,26 a 0,32).

Por su parte, en Cabildo, como se mencionó anteriormente para la última fecha de muestreo se encontró una relación mayor en AgrVic (0,08), respecto de AgrPur (0,07).

Sobre el final del ensayo, las diferencias en COPg:COT entre profundidades resultaron similares entre localidades (0-5>5-10≈10-15≈15-20). La relación desciende rápidamente con la profundidad de 0,38 a 0,27, de 0,15 a 0,06 y de 0,13 a 0,06, para los 0-5 cm y el promedio 5-20 cm en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente.

Para la relación COPf:COT el rango de valores obtenidos en los experimentos fue de 0,15 a 0,30, de 0,20 a 0,28 y de 0,15 a 0,20 para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. En general, esta relación se mantuvo relativamente con pocos cambios entre tratamientos. En Bahía Blanca se encontró la única diferencia entre tratamientos para esta variable. Sobre la última fecha de muestreo, se encontró un aumento en la relación en AgrVic del 17% respecto de AgrPur. Mientras que en Cabildo y Tornquist no se detectaron diferencias para ninguna fecha.

Analizando la última fecha de muestreo, para COPf:COT no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad*, en Tornquist y Cabildo, mientras que hubo interacción en Bahía Blanca. Realizando el análisis para cada profundidad en Bahía Blanca se encuentra que, la relación COPf:COT tiene una tendencia a aumentar en los 10-15 ($p=0,07$) pasando de 0,21 (AgrPur) a 0,25 (AgrVic) y en 15-20 cm ($p=0,055$) pasando en este caso de 0,22 (AgrPur) a 0,31 (AgrVic).

En cuanto a la relación COM:COT, se encontró a lo largo de los ensayos un rango de valores que fue de 0,35 a 0,52, de 0,64 a 0,72 y de 0,72 a 0,79 para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Las diferencias encontradas en los experimentos, indican en todos los casos mayores relaciones COM:COT en AgrPur, respecto de AgrVic. Para Bahía Blanca se encontraron dos diferencias entre tratamientos, para la fecha 3/12/2013 y 4/5/2015, con aumento en AgrPur de 17 y 22%, respectivamente. Mientras que en Cabildo el aumento encontrado en AgrPur fue para las últimas dos fechas de muestreo. Para el 21/11/2014 el aumento fue de 6% y para el 7/5/2015 del 3%.

Al finalizar el ensayo, en COM:COT no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* en ninguno de los experimentos. Por un lado, en Bahía Blanca y Cabildo se encontraron efectos del tratamiento y la profundidad, mientras que en Tornquist no se encontró ningún efecto de ambos factores. En Bahía Blanca la única diferencia encontrada fue un aumento del 22% en 10-15, respecto de 0-5. Mientras, en Cabildo la profundidad 5-10 presentó una relación COM:COT 10% mayor que 15-20.

Por último, los rangos obtenidos para el muestreo 0-20 cm para COPg:N-MOPg a lo largo del ensayo fue de 12,5 a 20,6, de 16,0 a 24,4 y de 18,8 a 29,9 para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo, respectivamente. Mientras que, los rangos obtenidos para la relación COPf:N-MOPf fueron de 11,1 a 19,9, de 10,2 a 21,6 y de 14,2 a 21,0, para los mismos sitios.

En general, los valores obtenidos en ambas variables a lo largo del ensayo fueron similares entre tratamientos, salvo para una diferencia en Bahía Blanca en la fecha 9/10/2013 en COPf:N-MOPf. En este muestreo se encontró un aumento del 35% en la relación para AgrVic (15,1) en comparación con AgrPur (11,2).

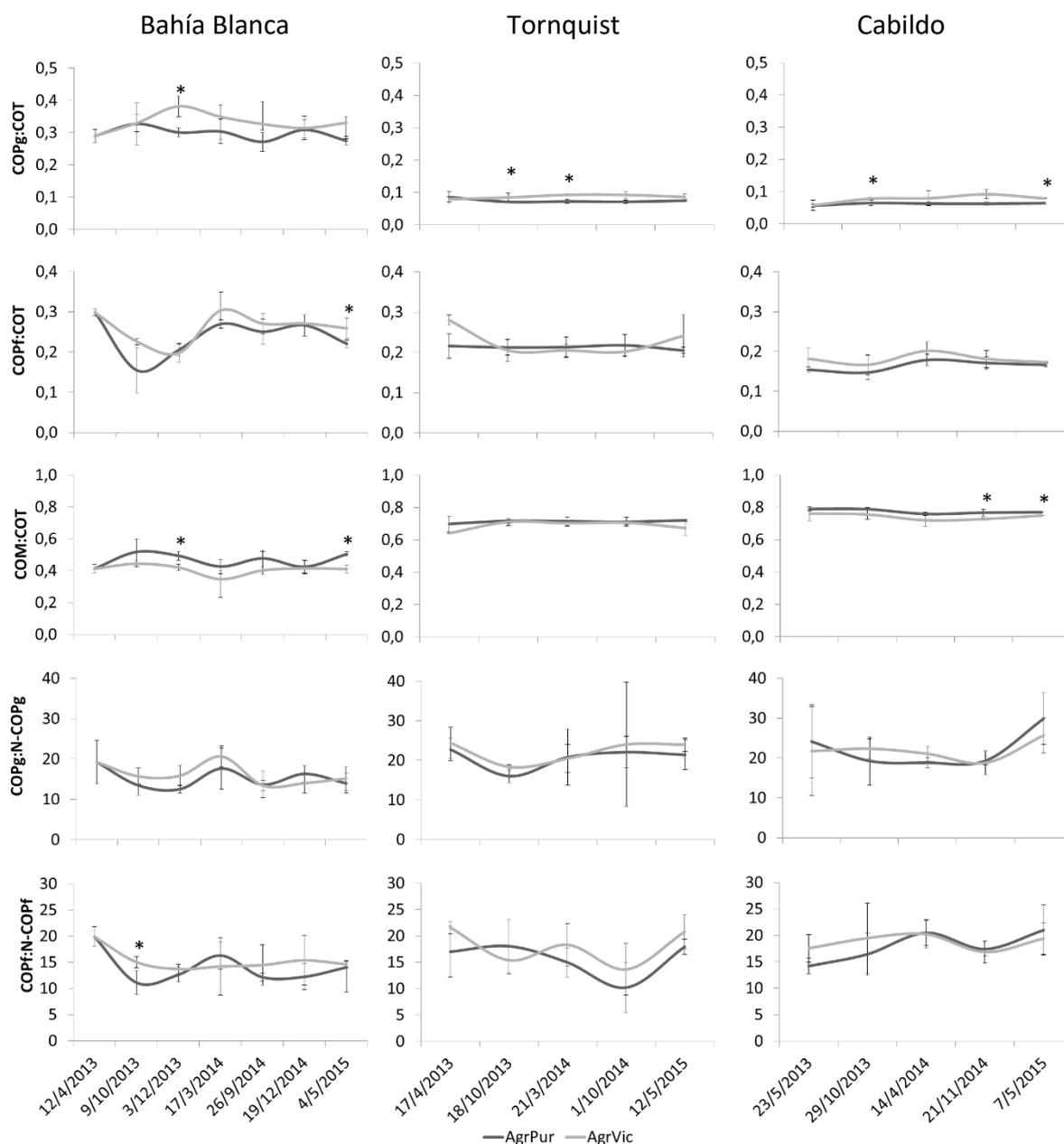


Figura 2.8 Relación entre carbono orgánico particulado grueso y carbono orgánico total (COPg:COT), fino y COT (COPf:COT), carbono orgánico asociado a la fracción mineral y COT (COM:COT), COPg y nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (COPg:N-MOPg), COPf y nitrógeno de la materia orgánica particulada fina (COPf:N-MOPf) de suelos (0-20) para el tratamiento agropuro puro (AgrPur) y la consociación con *V. villosa* (AgrVic) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo a lo largo del ensayo. Las líneas indican el desvío muestral. * diferencias entre tratamientos para la fecha ($p < 0,05$)

Para la última fecha de muestreo, no se observó una interacción *Tratamiento x Profundidad* en ninguno de los experimentos. Analizando los factores en conjunto, no se encontraron diferencias entre tratamientos y profundidades para las relaciones (COPg:N-MOPg y COPf:N-MOPf). En promedio, la relación COPg:N-MOPg en el último muestreo fue de 14,6, 22,4 y 27,5 para Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo,

respectivamente y para la relación COPf:N-MOPf los valores promedio fueron de 14,5, 19,3 y 20,0 para los mismos experimentos, respectivamente.

Tabla 2.10 Relación entre carbono orgánico particulado grueso y carbono orgánico total (COPg:COT), fino y COT (COPf:COT), carbono orgánico asociado a la fracción mineral y COT (COM:COT), COPg y nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (COPg:N-MOPg), COPf y nitrógeno de la materia orgánica particulada fina (COPf:N-MOPf) a diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-15 y 15-20 cm) en cada experimento sobre el final del ensayo.

Localidad		COPg:COT	COPf:COT	COM:COT	COPg:N-MOPg	COPf:N-MOPf
Bahía Blanca						
Trat.	AgrPur	0,28	0,22	0,50 a	14,2	14,2
	AgrVic	0,34	0,25	0,41 b	15,2	14,8
Prof.	0-5	0,38 a	0,20 a	0,41 a	17,0	16,4
	5-10	0,29 b	0,25 b	0,46 ab	14,1	15,6
	10-15	0,27 b	0,23 ab	0,50 b	16,1	13,9
	15-20	0,29 b	0,27 b	0,45 ab	11,5	12,0
Trat (T)		ns	ns	*	ns	ns
Prof (P)		**	**	*	ns	ns
T x P		**	*	ns	ns	ns
Tornquist						
Trat.	AgrPur	0,08	0,2	0,72	21,2	17,9
	AgrVic	0,09	0,24	0,67	23,6	20,7
Prof.	0-5	0,15 a	0,18 a	0,67	18,4	18,9
	5-10	0,08 b	0,23 ab	0,69	20,3	18,4
	10-15	0,05 b	0,23 ab	0,72	26,8	21,5
	15-20	0,06 b	0,24 b	0,7	24,0	18,5
Trat (T)		ns	ns	ns	ns	ns
Prof (P)		**	*	ns	ns	ns
T x P		ns	ns	ns	ns	ns
Cabildo						
Trat.	AgrPur	0,07 a	0,16	0,77 a	29,4	20,9
	AgrVic	0,08 b	0,17	0,75 b	25,6	19,2
Prof.	0-5	0,13 a	0,12 a	0,75 ab	17,8	16,9
	5-10	0,07 b	0,14 ab	0,79 a	20,4	19,1
	10-15	0,06 b	0,17 b	0,77 ab	34,7	22,3
	15-20	0,05 b	0,23 c	0,72 b	37,0	21,9
Trat (T)		*	ns	*	ns	ns
Prof (P)		**	**	**	ns	ns
T x P		ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. ^{a,b,c} compara tratamientos o profundidades para cada variable y localidad. Tratamientos: AgrPur: agropiro puro y AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

Respecto a la relación COPg:COPf:COM, índice de labilidad de carbono (COPg+f/COM) y estratificación (0-5/5-20) la Tabla 2.11 muestra los resultados en el fin del ensayo. En Bahía Blanca y Tornquist fracciones del carbono orgánico muestran variación entre tratamientos. Se observa una mayor participación porcentual de las fracciones más lábiles sobre el total del carbono, mientras que, en Cabildo, las relaciones fueron prácticamente las mismas entre tratamientos. Respecto a la profundidad, se encuentra la más alta proporción de COPg en la capa superficial, conforme aumenta la profundidad el COPg disminuye en proporción, siendo compensado por aumentos de COPf y COM.

En Bahía Blanca se observa el mayor efecto de la leguminosa sobre la labilidad del carbono. Tanto para la capa superficial, como subsuperficial se registra un aumento a favor de AgrVic (de 1,1 a 1,8 en 0-5 y 0,9 a 1,7 en 15-20). Mientras que en Tornquist y Cabildo no se encuentra diferencias entre tratamientos. Por último, el índice de estratificación no presentó diferencia entre tratamientos para ningún sitio.

Tabla 2.11 Índices edáficos basados en la relación entre las fracciones orgánicas, labilidad del carbono (COPg+f/COM) a diferentes profundidades e índice de estratificación del carbono orgánico total al finalizar el ensayo.

Prof. (cm)	Bahía Blanca		Tornquist		Cabildo	
	AgrPur	AgrVic	AgrPur	AgrVic	AgrPur	AgrVic
	COPg:COPf:COM					
0-5	31:21:47	45:19:36	13:17:69	17:19:64	11:12:77	14:13:73
5-10	28:24:47	29:26:45	7:22:71	8:24:68	6:14:80	7:14:79
10-15	25:21:54	29:25:46	5:21:74	6:24:70	5:16:78	7:18:76
15-20	26:22:53	32:31:37	6:21:73	6:27:67	4:23:73	5:23:71
	COPg+f/COM					
0-5	1,12 a	1,81 b	0,44	0,56	0,30	0,37
5-10	1,12	1,24	0,41	0,48	0,25	0,27
10-15	0,87	1,24	0,35	0,44	0,27	0,32
15-20	0,9 a	1,74 b	0,37	0,53	0,38	0,40
	índice de estratificación					
0-5:5-20	1,61	1,90	1,50	1,54	1,28	1,27

^{a,b} compara tratamientos para cada profundidad y localidad. Tratamientos: AgrPur: agropiro puro y AgrVic: Agropiro con vicia (20 kg ha⁻¹).

La Figura 2.9 muestra la relación encontrada entre el COPg y COPf con el N-MOPg y N-MOPf para los tres experimentos (Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo) en cada muestreo (0-20 cm) a lo largo del período de estudio. Se observa que cada unidad de nitrógeno capturado se asocia con 12,5 unidades de carbono orgánico particulado (peso/peso).

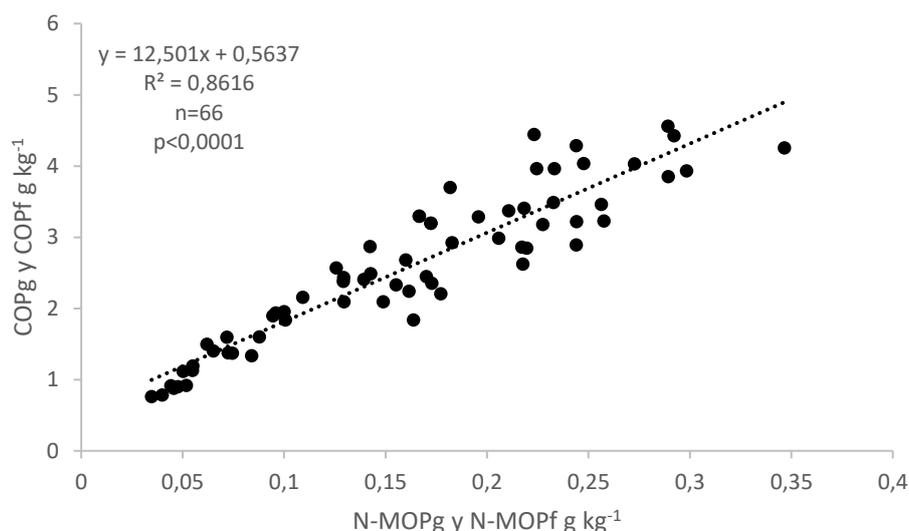


Figura 2.9 Relación entre el contenido de nitrógeno de la materia orgánica particulada gruesa (N-MOPg) y fina (N-MOPf) y el contenido de carbono orgánico particulado grueso (COPg) y fino (COPf) en muestras de suelo (0-20 cm) durante el período de ensayo (2013-2015) en Bahía Blanca, Tornquist y Cabildo.

2.5.8 Discusión. Índices edáficos basados en el contenido de carbono y nitrógeno de las diferentes fracciones

Teniendo en cuenta que los materiales orgánicos en el suelo se transforman siguiendo la dirección COPg-COPf-COM (Benbi *et al.*, 2015), el estudio de dichas relaciones puede usarse como indicador de la dinámica de la materia orgánica (Galantini *et al.*, 2016). En Tornquist y Cabildo se observa una gran proporción de carbono asociado a la fracción menos lábil, mientras que en Bahía Blanca sucede lo contrario, la mayor proporción del carbono se encuentra en las fracciones más lábiles. Por lo tanto, los contenidos de carbono en cada una de las fracciones dependen fuertemente de la textura del suelo. Existe una relación positiva entre el material fino del suelo (limo+arcilla) y el contenido de COT, COP y COM (Galantini *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2017). Hay un efecto creciente de protección a la degradación del material orgánico a medida que aumenta la fracción fina. Suelos ricos en fracciones finas, el tamaño de poro se reduce y dificulta que las bacterias accedan al sustrato orgánico (Van Veen y Kuikman, 1990).

Sin embargo, se puede observar que la inclusión de vicia aumenta la proporción de COPg, sobre todo en la capa 0-5 cm de profundidad. En suelos con ausencia de labranzas, los contenidos de COP en la capa superficial reflejan las contribuciones de carbono al suelo a partir de residuos vegetales, mientras que acumulaciones más profundas reflejan las contribuciones por parte de las raíces de las plantas (Franzluebbbers y Stuedemann, 2002). Más allá de los 5 cm no se observa dicha acumulación en el COP. Se puede observar que a medida que aumenta la profundidad

de análisis la proporción de COPg se desplaza a COPf. En profundidad se podrían estar presentando condiciones más adecuadas para la humificación en relación a los 5 cm superficiales. La exposición de los residuos vegetales a la desecación por efecto del viento y temperatura podría ser uno de los motivos por los cuales se acumula COPg en la superficie.

El COP ha sido reportado como un indicador sensible del efecto de las prácticas de manejo sobre el COT (Eiza *et al.*, 2005). La acumulación de COP fue marcada en Bahía Blanca. Al tener poco COT en comparación con Tornquist, un mismo aporte de residuos (ya que las leguminosas tuvieron similar biomasa en ambo sitios), en Bahía Blanca tiene un mayor efecto sobre la proporción del COT.

Todas las diferencias encontradas en COPg entre tratamientos se trasladaron a diferencias para la relación COPg:COT (relaciones entre 18 y 29% mayor en AgrVic). Por otro lado, la menor cantidad de diferencias en COPf, se trasladadas a la relación COPf:COT. Solo en Bahía Blanca hacia el final del ensayo AgrVic incrementó 17% la relación respecto de AgrPur. Mostrando de este modo, la mayor estabilidad de esta fracción (Benbi *et al.*, 2012).

Aumentos en esta relación también fueron reportados en inclusiones de leguminosas en rotaciones con trigo (Galantini *et al.*, 2002), destacando este trabajo la utilidad de esta variable como indicador temprano del efecto sobre el suelo. Minoldo (2010) registra aumentos de 25% en la relación COP:COT, cuando incluye cinco años de pasturas con leguminosas en rotación. Dicho trabajo también menciona que la fertilización nitrogenada realizó un aporte adicional de residuos, con el consecuente aumento de COP. Huang *et al.* (2017) también reportan una asociación positiva entre el nitrógeno disponible y el carbono orgánico del suelo ($R^2= 0,83$).

La estratificación del muestreo de suelo y la elaboración de índices edáficos sobre la fecha final, permitió encontrar diferencias adicionales entre tratamientos, que el estudio de la fracción de 0-20 cm. El índice de labilidad del carbono, presento diferencias entre tratamientos para Bahía Blanca, indicando mayores valores para AgrVic. Un estudio de Duval *et al.* (2016) para suelos de textura más fina indica valores de 0,5 en situaciones de "buenas prácticas" agrícolas, mientras que los valores de labilidad se reducen a 0,33 cuando se realizan "malas prácticas". Según estos autores la disminución de las fracciones lábiles (COPg+f) estuvo relacionada significativamente con el tiempo en el cual el suelo se encontraba con vegetación (natural o cultivada), por lo tanto, aumentaron las entradas de materiales orgánicos al suelo (residuos de cosecha, residuos de raíces y biomasa microbiana, etc.), considerados la principal fuente de COP. También en el trabajo encuentran mayores índices en suelos arenosos que en suelos de textura fina. Relaciones bajas en Cabildo, estarían asociadas al bajo aporte de residuos de vicia.

El mismo trabajo de Duval *et al.* (2016) reporta que la frecuencia soja afectó negativamente al COPg+f, en sistemas de rotación agrícola porque el aporte de residuos de leguminosas favorece la descomposición. En nuestro caso, al tratarse de una consociación con agropiro, la inclusión de leguminosa no trajo aparejado una

disminución en el contenido de COP para ninguno de los sitios. Sin embargo, cambia la dinámica de la materia orgánica, aumentando la proporción de las fracciones lábiles. El aumento de este tipo de fracciones lábiles indica mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo para los cultivos acompañantes.

El índice de estratificación presentó baja sensibilidad entre tratamientos, en general las diferencias más marcadas se encontraron entre sitios. El aumento del COT en la capa superficial del suelo ha sido informado como crítico para su calidad, en especial por el aumento de la capacidad de intercambio catiónico (Franzluebbers, 2002), considerando que la materia orgánica en superficie es esencial para el control de la erosión, favorece la infiltración y la conservación de nutrientes (Nieto *et al.*, 2012). Duval *et al.* (2016) reportan valores de 2,0 (ambiente natural) hasta 1,5 (malas prácticas agrícola), sugiriendo que mayores valores indican prácticas que promueven aumentos en la calidad de suelo y valores cercanos a 1,5 prevalecen condiciones de degradación (Franzluebbers, 2002). A pesar de no haber encontrado diferencias, las tendencias resultan favorables para AgrVic, sobre todo en Bahía Blanca (1,9 vs. 1,6). Toledo *et al.* (2013) para oxisoles encuentran sensibilidad al índice de estratificación (0-10/10-20 cm) para distinguir suelos bajo sistemas naturales o cultivados. Valores menores a 1,5 indicarían pérdidas de calidad debido al uso agrícola, siendo menor la estratificación del carbono en suelos, mientras que valores >1,5 se acercaron a la situación prístina.

La duración de la rotación resulta un factor importante para la evaluación de parámetros químicos en el suelo, a fin de obtener un correcto diagnóstico del efecto de las prácticas que se deseen evaluar. Durante los dos años de evaluaciones se pudieron distinguir algunas diferencias entre tratamientos, sin embargo, resultaría importante realizar el estudio por más tiempo o con mayor número de réplicas a fin de validar las tendencias encontradas.

2.5.9 Impacto ambiental de la interseembra con leguminosas

Para que el sistema tenga un balance positivo de nitrógeno, es necesario que las entradas al sistema (producto de fertilización o fijación biológica) excedan al nitrógeno exportado por los cultivos y las pérdidas por lixiviación o de forma gaseosa (Boddy, *et al.*, 2008). El estudio del secuestro del carbono y nitrógeno, y su impacto sobre los gases de efecto invernadero ha sido mayormente analizado en sistemas agrícolas (Jasen *et al.*, 2011; Bedoussac *et al.*, 2015). En estos últimos años, una serie de estudios pone en evidencia el impacto sobre los gases de efecto invernadero de los sistemas ganaderos actuales, los trabajos en ciencia animal han generado un vuelco, donde el objetivo central gira en torno a la mitigación de gases de efecto invernadero y prácticas sustentables, no solo desde el punto de vista ambiental, sino también social y económico.

Riggs y Hobbie (2016) encontraron que la adición de nitrógeno inorgánico reduce la tasa de descomposición de la materia orgánica de ciclado lento y la liberación de CO₂

del suelo producto de una disminución en la biomasa de microorganismos, debido principalmente a la modificación sobre el pH del suelo y su efecto negativo sobre la fisiología de los microorganismos (Treseder, 2008).

En nuestro caso, se encontró una asociación positiva entre el nitrógeno y carbono sobre las muestras de suelo. Cada tonelada de COP contiene 83 kg N, resultando similar a los 80 kg de N reportado por Jasen *et al.* (2011) para el carbono orgánico total de suelo.

La relación C:N de los residuos que se incorporan al suelo es un indicador de su calidad y un factor importante para la regulación de la disponibilidad de nitrógeno (Studdert *et al.*, 2000), dada su intervención en el ciclo entre la inmovilización y la mineralización netas (Sá Pereyra *et al.*, 2017). La demora en la descomposición de los residuos es el tiempo que demandan los microorganismos del suelo en liberar el carbono contenido (en forma de CO₂ principalmente) para mantener la relación de la materia orgánica. El rastrojo de leguminosas, por lo general presenta una relación C:N de entre 20 y 30 (Andrade *et al.*, 1996), lo que provoca una rápida descomposición del residuo y liberación de nutrientes del suelo (Sánchez *et al.*, 1998). Por otro lado, residuos de gramíneas poseen una relación C:N mucho mayor, Andrade *et al.* (1996) reporta valores de entre 60 y 80 para maíz, por ejemplo, lo que genera una fuerte inmovilización del nitrógeno disponible por un mayor período de tiempo (Sánchez *et al.*, 1998). Por ello, este tipo de residuos requieren períodos de tiempo más largo para liberar los nutrientes contenidos en ellos.

De este modo, la incorporación de nitrógeno resultaría necesaria para incrementar el almacenamiento de carbono en el suelo. La presencia de vicia genera un aumento en el COP, y un aumento de carbono está asociado con un aumento en el N-MOP, podemos interpretar que la vicia acumula nitrógeno (inputs) en el sistema. Como lo describe Diekow *et al.* (2005) y Khan *et al.* (2007) donde explican el rol clave que cumplen las leguminosas, incrementando las entradas de nitrógeno al sistema permiten una acumulación de materia orgánica en el suelo.

Assad *et al.* (2013) y Boddy *et al.* (2004) coinciden que las pérdidas de carbono en el suelo se relacionan positivamente con las pérdidas de nitrógeno. De hecho, más del 70% de la varianza debida a la pérdida de nitrógeno del suelo se debe a la pérdida de carbono, bajo sistemas mixtos (agrícolas-ganaderos). Según Boddey *et al.* (2004), ni el retorno de nitrógeno a través de la orina y el estiércol es suficiente para compensar otras pérdidas de nitrógeno. Como consecuencia, el uso continuo de pastizales no fertilizados conduce a un empobrecimiento general del nitrógeno en el sistema, lo que conduce a menores reservas de nitrógeno en el suelo.

Con pastoreo animal, encontrar aumentos en fracciones lábiles de carbono, resulta promisorio para favorecen la acumulación en el largo plazo. Pero el carbono se acumula en el suelo indefectiblemente asociado a la materia orgánica, y por lo tanto al nitrógeno. Es por ello, las leguminosas a través del proceso de fijación biológica podrían realizar parte del aporte necesario al sistema para cumplir con ese objetivo.

2.6 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la interseembra de vicia sobre pasturas de agropiro genera un aporte adicional de forraje hasta 5,4 veces superior al monocultivo de agropiro. De este modo se acepta la hipótesis 1. Además, la inclusión de vicia en la pastura no afectó la producción forrajera del agropiro acompañante, tanto en primavera como al otoño siguiente. Por consiguiente, se observa que la vicia encuentra nichos de recursos (agua, nutrientes, luz) que agropiro deja disponible.

Respecto al valor nutricional, la inclusión de vicia en la composición de la pastura generó un aumento de hasta el 1,2 veces la concentración de PB y una disminución de FDN de hasta el 32%, aceptando de este modo la hipótesis 2. Adicionalmente, por efectos de transferencia de nitrógeno de vicia hacia agropiro, se encontró que puede haber aumentos hasta 28% en la concentración de PB en agropiro creciendo junto con vicia, respecto al monocultivo. Esta mejora en el valor nutricional podría tener un impacto favorable sobre la productividad animal, mejorando el consumo de la pastura y aumentando la disponibilidad de nutrientes.

En cada sitio evaluado, la magnitud de los cambios generados por la interseembra de vicia sobre las variables de forraje y suelo estudiadas se relacionó con el potencial de producción del lugar. Observándose los mayores efectos de la interseembra, en aquellos sitios donde, se logró una temprana implantación de vicia, la disponibilidad de nutrientes al inicio fue alta y donde se realizó una mayor frecuencia de defoliación.

Por otro lado, el contenido de COPg, la relación COPg:COT y la labilidad del carbono fueron indicadores sensibles del efecto que realiza la vicia sobre el suelo. La incorporación de vicia, tiende al aumento de N-MOPg, generando en el corto plazo una mayor disponibilidad de nutrientes (aceptación de hipótesis 3). De este modo se reemplaza, al menos parcialmente la fertilización nitrogenada.

CAPÍTULO III

Efectos de las densidades de *Vicia villosa* o *Melilotus albus* intersembradas con *Thinopyrum ponticum* sobre productividad forrajera y valor nutricional

3.1 INTRODUCCIÓN

Altos rendimientos forrajeros se reportan cuando la competencia entre dos especies en la mezcla es menor que la competencia entre la misma especie (Vandermeer, 1990). Para el caso de vicia (*Vicia villosa* Roth), en otros trabajos se reporta que deprime el rendimiento, al menos de algunos cereales de invierno como trigo, triticale (Dhima *et al.* 2007) y avena (Renzi, 2009). Por otro lado, la mezcla de alfalfa no deprimió el rendimiento de *Agropyron desertorum* y *A. elongatum* en un estudio de (Ameri y Jafari 2016). Por lo tanto, no todas las especies compiten de igual manera en las mezclas forrajeras.

La cantidad de nitrógeno acumulado en la pastura y la producción de biomasa, difiere con la especie de leguminosas utilizada en la mezcla. Las especies más estudiadas, del género *Trifolium* parecen tener efectos fuertes sobre la acumulación de nitrógeno y forraje pudiendo clasificarse como especies clave en los sistemas de pasturas. Los efectos de las leguminosas persisten incluso si la proporción de leguminosas de la biomasa total es pequeña (Nyfeler *et al.*, 2011; Spehn *et al.*, 2002).

Respecto a la captura de nitrógeno, las mezclas gramínea-leguminosa tienen el potencial de fijar más nitrógeno de la atmósfera en comparación con monocultivos de leguminosa (Luscher *et al.*, 2014). Nyfeler *et al.* (2011) indica que las proporciones de 40-60% de tréboles (Trébol blanco y trébol rojo) en mezcla con gramíneas eran suficientes para alcanzar la misma cantidad de nitrógeno fijado, que en los tréboles puros. Por encima de 60% de trébol en la consociación, la fijación biológica disminuye. Esto sucede porque el trébol tiene un acceso adecuado a fuentes de nitrógeno minerales debido a la baja abundancia de gramíneas, y por lo tanto baja demanda de nitrógeno.

Son pocos los trabajos en la región semiárida comparando el efecto de la especie de leguminosa y la densidad de siembra sobre la biomasa forrajera y el valor nutricional del forraje. Por lo tanto, resulta clave evaluar la proporción correcta de plantas de vicia o trébol, sobre pasturas de agropiro, para determinar el potencial de utilización de cada una de estas especies.

3.2 HIPÓTESIS

Hipótesis 1: El efecto sobre la producción forrajera total de intersembras de vicia y trébol de olor blanco sobre pasturas puras de agropiro dependerá de la dosis de intersembrada utilizada. Conforme aumenta la densidad de intersembrada, la producción forrajera incrementa hasta encontrar efectos de compensación de crecimiento.

Hipótesis 2: El aumento de la participación de leguminosas dentro de la composición de la pastura genera mejoras en el valor nutricional del forraje.

3.3 OBJETIVOS

Evaluar el efecto de la densidad de intersembrada de vicia o trébol de olor blanco en agropiro, sobre la biomasa total y por especie. Estudiar el efecto de la composición botánica sobre el valor nutricional de la pastura.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Caracterización del sitio experimental

El estudio se llevó a cabo sobre parcelas en el campo de la Universidad Nacional del Sur ubicado en el km. 35 de la Ruta Nacional N°33 (38°25'48''S y 62°16'56''O), entre los meses de marzo de 2014 a marzo de 2015. El clima es templado, con un promedio anual de la temperatura del aire de 15 °C. La temperatura media del mes más frío (julio) es de 8 °C y la del mes más cálido (enero) es de 23 °C. Las lluvias otorgan un carácter sub-húmedo o de transición. El promedio anual de precipitaciones es de aproximadamente 600 mm y los mayores déficits hídricos ocurren en el verano. El suelo se clasifica como un haplustol típico, franco grueso (Soil Taxonomy, 1999), clasificado según su capacidad de uso en IVe (Queipo y Schaab, 2011). En la Tabla 3.1 se observa el análisis de los primeros 20 cm de suelo.

En cuanto al período de estudio, se puede observar una escasa precipitación en el mes de enero del año 2014, la cual se ve compensada por las precipitaciones posteriores de los meses de febrero y marzo. Para el período comprendido entre marzo de 2014 y marzo de 2015, los milímetros precipitados fueron 994, un 66,4% más comparados con los 600 mm. anuales promedios para el sitio. Mientras que las temperaturas medias fueron las normales para la zona (Figura 3.1).

Tabla 3.1 Análisis de suelo (0-20) del sitio experimental al inicio del ensayo.

MO, %	Nt, %	pH	Pe, ppm	CE, dS/m
3,04	0,161	7,2	9,6	0,94

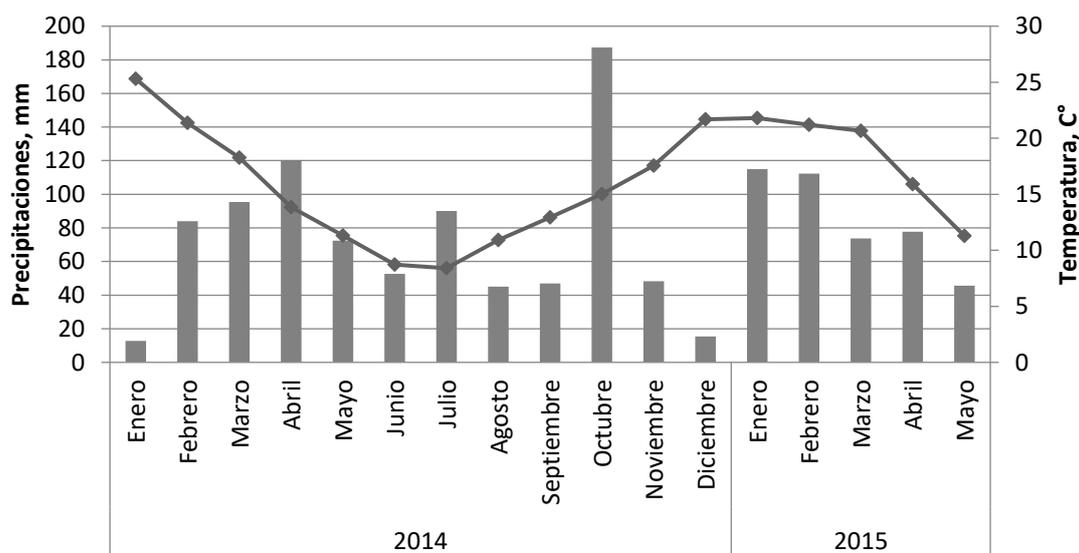


Figura 3.1 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en el sitio de estudio.

Se utilizó una pastura pura de agropiro alargado (Cv. Barpiro) sembrada en otoño de 2013 con una densidad de 20 kg de semilla ha⁻¹. Al inicio del ensayo, momento de la intersembra con leguminosas, el agropiro ya se encontraba con un año desde la siembra.

3.4.2 Diseño experimental y Tratamientos

Se siguió un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones. Los tratamientos fueron siete. Agropiro alargado puro (**AgrPur**) que se encontraba con una densidad de 73 plantas m⁻² (1100 macollos m⁻²) y dos leguminosas de invierno (vicia y trébol de olor blanco) intersembradas el día 15 de marzo de 2014 en tres relaciones diferentes basado en la densidad de plantas agropiro:leguminosa, 80:20, 70:30 y 60:40. Por lo tanto, la densidad de intersembra para la relación 80:20 fue 10 y 0,7 kg ha⁻¹ de vicia (**AgrVic1**) y trébol (**AgrTre1**), respectivamente, para la relación de plantas 70:30 fue 30 y 2,1 kg ha⁻¹ de vicia (**AgrVic2**) y trébol (**AgrTre2**), respectivamente y para la relación 60:40 fue 60 y 4,2 kg ha⁻¹ de vicia (**AgrVic3**) y trébol (**AgrTre3**), respectivamente. Las semillas no fueron inoculadas antes de la siembra porque naturalmente ocurre una buena nodulación en el sitio experimental.

Los tratamientos se ubicaron en parcelas, como unidades experimentales (UE) de 1,75 x 2,5 m. La intersembra se realizó en forma manual utilizando una azada sobre el entresurco del agropiro a 17,5 cm de distancia entre hileras. El área donde se ubicaron las parcelas experimentales se cerró con alambre eléctrico para evitar la entrada de animales. El ensayo tuvo una duración de un año y no se realizó ningún control de malezas ni fertilización durante el mismo.

3.4.3 Muestreo de forraje y determinaciones analíticas

El criterio para llevar a cabo las defoliaciones se basó en la vida media foliar del agropiro. Para ello se decidió el corte en el momento que las hojas más viejas iniciaban la senescencia. En total se realizaron 4 cortes de las pasturas: el día 25/05/2014, correspondiente al corte 1 (C1); 07/10/2014 al corte 2 (C2); 09/12/2014 al corte 3 (C3) y 17/03/2015 al corte 4 (C4). El corte se realizó con tijera a 8 cm de altura. La muestra estuvo compuesta por dos submuestras de 0,2 m² cada una, tomadas al azar dentro de cada UE, con el objetivo de disminuir la variabilidad. Se tuvo la precaución de dejar 30 cm como borde de la parcela, sin incluir en el muestreo. La muestra, colocada en bolsas debidamente rotuladas se remitió al laboratorio. Luego de cada toma de muestra, se realizó un corte con cortadora de pasto para uniformar la altura en la totalidad del ensayo.

En laboratorio se procedió a separar a mano el forraje por especie, para la determinación del porcentaje de vicia o trébol en la mezcla. Posteriormente, las muestras fueron secadas en estufa a 60°C hasta peso constante para determinar el

contenido relativo de agua (AOAC, 2000). De este modo, se calcularon las biomásas (kg MS ha^{-1}) de agropiro, vicia y trébol por separado. Por sumatoria entre las especies que componen las pasturas consociadas, se determinó la biomasa total de cada parcela.

Las determinaciones químicas se realizaron sobre la biomasa total de la parcela. Para ello, se procedió a la molienda del material mediante el uso de molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ. USA) utilizando una malla de 1 mm. Sobre el material molido se determinó nitrógeno total usando el método de Kjeldahl (Bremner, 1996), y Proteína Bruta (PB) por multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6,25 (AOAC, 2000), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA) y Lignina (LDA) por el método de Van Soest, 1991 y la Digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS) por la técnica de Tilley y Terri, 1963.

3.4.4 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se siguió un modelo en parcelas divididas en el tiempo mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Las variables de biomasa de vicia, trébol y total, y la composición química del forraje tuvieron una fuente de variación principal, debida a los tratamientos y una fuente de variación secundaria debida a la fecha de corte. En el caso de presentar interacción para cualquier variable, se realizó el análisis comparando los tratamientos en cada fecha de corte por separado. El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + D_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la observación de un tratamiento ij en la k repetición, μ es la media general de todos los tratamientos, α_i , β_j , y γ_{ij} son efectos del tratamiento, de la fecha de corte e interacción de los factores, respectivamente y D_{ik} y ε_{ijk} son variables aleatorias para los efectos no controlados en las parcelas y subparcelas, respectivamente.

Para comparar los grupos de tratamientos, por un lado, el efecto de la intersiembra, las especies y dosis se realizaron contrastes. Estos se plantearon "a priori" de acuerdo con las hipótesis a poner a prueba. La Tabla 3.2 presenta los contrastes efectuados y los coeficientes empleados. Para evaluar la biomasa forrajera de las leguminosas solamente, se plantearon los contrastes 2, 3, 4 y 5. Para el resto de las variables se utilizaron todos los contrastes.

Utilizando planillas de cálculo desarrolladas por el Departamento de Matemática de la Universidad Nacional del Sur, se implementaron estudios de análisis de covarianza (comparación de rectas) entre la concentración de vicia y trébol en la pastura y el valor nutricional de la misma.

Tabla 3.2 Contrastes efectuados y coeficientes utilizados en las comparaciones.

Efecto	Contraste	AgrPur	AgrVic1	AgrVic2	AgrVic3	AgrTre1	AgrTre2	AgrTre3
AgrPur vs. consociación	1	6	-1	-1	-1	-1	-1	-1
AgrVic vs. AgrTre (todas dosis)	2	0	1	1	1	-1	-1	-1
AgrVic vs AgrTre (80:20)	3	0	1	0	0	-1	0	0
AgrVic vs AgrTre (70:30)	4	0	0	1	0	0	-1	0
AgrVic vs AgrTre (60:40)	5	0	0	0	1	0	0	-1

AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro con *V. villosa*; AgrTre: Agropiro con *M. albus*; 1, 2 y 3: Intersiembras con 20, 30 y 40 plantas de leguminosa m⁻².

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Producción de biomasa forrajera

El análisis de varianza no detectó efectos significativos de la interacción entre los factores *fechas de corte x tratamientos* para ninguna de las variables de biomasa. Sin embargo, se decidió analizar los tratamientos para cada fecha de corte por separado, teniendo en cuenta la gran variación en biomasa total entre estaciones y la presencia de leguminosas en la composición de la pastura en los cortes primaverales.

En la Tabla 3.3 se puede observar los valores promedios de biomasa forrajera total y por especie en cada uno de los tratamientos y cortes junto con el nivel de significación de los contrastes planteados. Analizando la biomasa total en las cuatro fechas de corte, encontramos que AgrPur produjo 4198 kg MS ha⁻¹ a lo largo del año, el 54% en el corte de diciembre y el 17, 15 y 14% en C4, C3 y C1, respectivamente. Para el caso de las consociaciones, el rango de biomasa producida estuvo entre 4756 kg MS ha⁻¹ en AgrTre1 a 6067 kg MS ha⁻¹ en AgrVic3, un 13 y 44% superior que AgrPur, respectivamente.

Tabla 3.3 Biomasa de agropiro, leguminosa y total para los diferentes tratamientos en cada fecha de corte y significancia de los contrastes evaluados.

Fecha de corte	Tratamientos ^a							Contrastes ^b				
	AgrPur	AgrVic1	AgrVic2	AgrVic3	AgrTre1	AgrTre2	AgrTre3	1	2	3	4	5
23/5/2014 (C1)	kg MS ha ⁻¹											
Agropiro	586	532	502	561	474	440	357	0,20	0,10	0,59	0,57	0,08
7/10/2014 (C2)												
Agropiro	605	599	405	517	577	620	802	0,87	0,07	0,88	0,15	0,06
Leguminosa	-	316	595	771	173	126	227	-	>0,01	0,20	>0,01	>0,01
Total	605	915	1000	1287	751	746	1029	0,01	0,02	0,29	0,11	0,11
9/12/2014 (C3)												
Agropiro	2282	2377	1441	2312	2303	1881	2457	0,74	0,62	0,90	0,47	0,81
Leguminosa	-	805	1732	1184	765	1235	1363	-	0,62	0,92	0,25	0,67
Total	2282	3182	3173	3497	3068	3116	3821	0,02	0,86	0,82	0,91	0,53
17/3/2015 (C4)												
Agropiro	726	586	858	722	463	707	603	0,58	0,18	0,46	0,36	0,47
Acumulado												
Agropiro	4199	4094	3206	4112	3817	3648	4219	0,59	0,44	0,90	0,38	0,56
Leguminosa	-	1121	2327	1955	938	1361	1590	-	0,06	0,68	0,04	0,41
Total	4199	5215	5533	6067	4756	5009	5810	0,10	0,43	0,61	0,56	0,78

^aTratamientos: AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro con *V. villosa*; AgrTre: Agropiro con *M. albus*; 1, 2 y 3: Relación agropiro:leguminosa 80:20, 70:30 y 60:40, respectivamente.

^bniveles de significancia para los contrastes: 1= AgrPur vs. Todas las consociaciones, 2= todos los AgrVic vs todos AgrTre, 3= AgrVic 1 vs AgrTre1, 4= AgrVic2 vs AgrTre2, 5= AgrVic3 vs AgrTre3.

El primer corte de forraje (C1) se hizo 68 días después de la interseembra. Las leguminosas estaban en proceso de implantación, con un escaso desarrollo por ello escaparon al corte realizado y no se cuantificó la presencia de las mismas. Por lo tanto, en C1, la totalidad de la biomasa corresponde a agropiro. Para esta fecha, no se encontraron diferencias entre tratamientos, siendo la biomasa promedio 493 kg ha⁻¹. Para el último corte (C4), coincidiendo con el mes de marzo, donde también se encontró el agropiro puro, producto de finalización de ciclos de crecimiento de ambas leguminosas, tampoco se observó un efecto del tratamiento. En promedio, el rendimiento para esta fecha fue de 667 kg ha⁻¹.

La biomasa total de leguminosas no fue afectada por la dosis de interseembra en ningún corte (Figura 3.3). En las diferentes consociaciones la biomasa de vicia fue de 316 a 770 y 805 a 1732 kg MS ha⁻¹ para C2 y C3, respectivamente. Para trébol, la biomasa fue 126 a 227 y 765 a 1363 para C2 y C3, respectivamente.

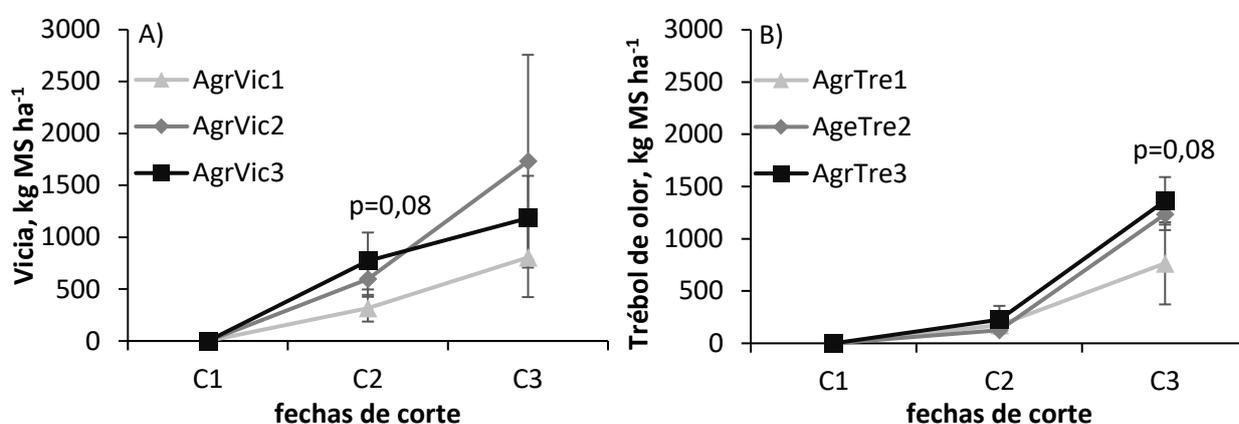


Figura 3.3 Efecto de la dosis de interseembra agropiro:leguminosa (80:20; 70:30 y 60:40) sobre la biomasa de vicia (A) o trébol de olor blanco (B) para las diferentes fechas de corte.

C1:23/5/2014; C2: 7/10/2014 y C3: 9/12/2014.

Por otro lado, los cortes de primavera, C2 y C3 mostraron diferencias entre tratamientos sobre la biomasa total. La comparación de grupos de medias a través de los contrastes, reveló en ambas fechas un efecto a favor de las mayores producciones de biomasa total en las consociación, independientemente de la especie y densidad. El aumento sobre la biomasa total en las mezclas forrajeras, respecto de AgrPur fue de 57 y 45 % para C2 y C3, respectivamente.

En C2, se encontraron la mayor cantidad de contrastes significativos. Se observó una fuerte diferencia entre la biomasa total cuando se comparan los tratamientos de ambas leguminosas (AgrVic vs AgrTre). En promedio, la consociación con vicia aumenta la producción de la pastura un 27% respecto a la interseembra con trébol para esta fecha. Dicha diferencia sobre biomasa total, guarda relación con la diferencia encontrada entre la producción entre ambas leguminosas, ya que la biomasa de agropiro no se afectó. Comparando la biomasa de leguminosas encontramos que vicia produce 2,2 veces más que trébol (560 vs 175 kg MS ha⁻¹). Dicha diferencia se mantiene con las mayores dosis,

siendo 3,7 y 2,4 veces mayor para vicia en la dosis 2 y 3, respectivamente. La vicia acumuló mayor cantidad de materia seca hasta ese momento, aumentando significativamente la producción total de la pastura.

Por otro lado, en C3 se cosecho la mayor producción de biomasa, porque incluye los estadios fenológicos de comienzos de floración en las tres especies ensayadas, momento en el cual las tasas de crecimiento se maximizan. En esta fecha de corte, las diferencias entre los contrastes tienden a desaparecer. Solo el contraste 1 (AgrPur vs todas las consociaciones) resultó significativo, mostrando un aumento sobre la biomasa total para las consociaciones del 45%, respecto de AgrPur. El avance en la estación de crecimiento diluyó las diferencias entre la biomasa acumulada de leguminosas. Debe destacarse que la biomasa de agropiro fue la misma en los contrastes evaluados para todos los cortes.

Con respecto al estado fenológico de las leguminosas, se encontró que el trébol tuvo una curva de crecimiento levemente desplazada hacia el verano en comparación con vicia. En C2 ambas leguminosas se encontraba en estado vegetativo, sin embargo, en C3 la vicia se encontraba en estado de vainas llenas, mientras que el trébol estaba en inicio de floración.

Por otro lado, se realizó un análisis de regresión (Figura 3.4) que muestra la relación entre la biomasa de vicia o trébol sobre la biomasa de agropiro para cada una de las parcelas en los cortes C2 y C3. Sobre dicho análisis se encontró que la regresión resultó significativa para C3 en la consociación de agropiro con trébol. En los tratamientos de agropiro intersembrado con trébol, existe una relación lineal, negativa ($p < 0,05$), indicando una competencia entre las especies. A medida que aumenta la biomasa de trébol en la parcela, disminuye linealmente la biomasa de agropiro. Por lo tanto, en primavera tardía (noviembre / diciembre) el trébol generaría una competencia con agropiro. En cambio, en vicia no se observa una regresión significativa ($p = 0,85$), indicando, que la biomasa de vicia no afecta el rendimiento de agropiro, por lo tanto, no genera competencia.

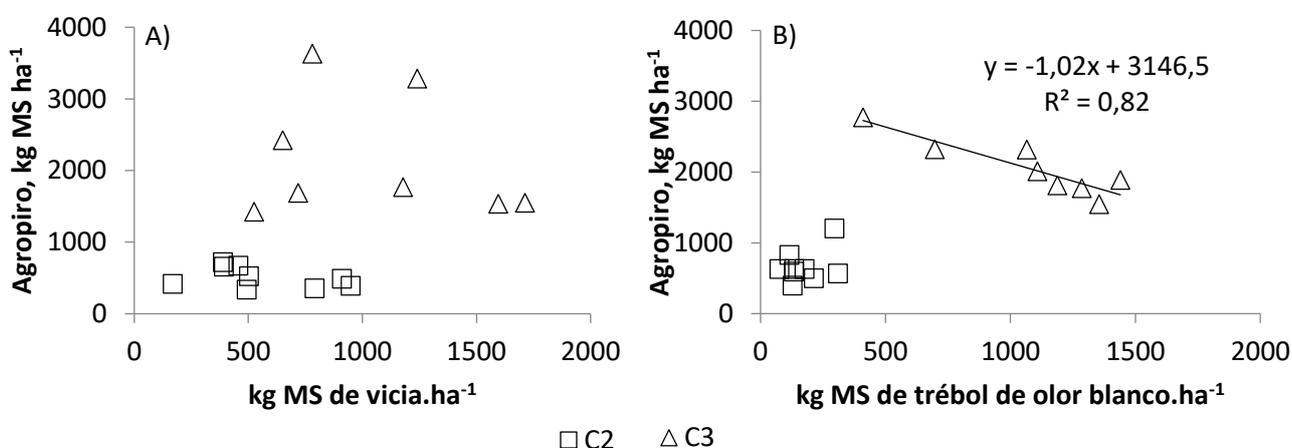


Figura 3.4 Biomasa de *V. villosa* (A) o *M. albus* (B) en relación con la biomasa de agropiro para la fecha de corte 2(□) y 3 (Δ).

3.5.2 Valor nutricional de la pastura

El análisis de varianza detectó efectos significativos de la interacción entre *fechas de corte x tratamientos* para todas las variables estudiadas, salvo FDA, LDA y DIVMS. Por ello, y por tratarse de fechas de corte que incluye al agropiro puro o consociado, dependiendo de la estación de crecimiento, se decidió analizar los tratamientos para cada fecha de corte por separado.

En la Tabla 3.4 se puede observar los valores promedios del valor nutricional del agropiro puro y sus consociaciones con vicia y trébol en cada corte, junto al nivel de significación de los contrastes planteados. Las mayores diferencias entre tratamientos estuvieron dadas por la presencia de la leguminosa en los cortes primaverales. Por lo tanto, los cortes C2 y C3 son los cortes que presentaron la mayor cantidad de diferencias entre tratamientos.

El contenido de PB en AgrPur fue de 6,7 a 14,3% a lo largo de todo el ensayo. En los cortes primaverales se encontró un aumento de PB cuando se incorpora una leguminosa, ya sea vicia o trébol. Observando el contraste AgrPur vs consociaciones, los aumentos registrados fueron del 28 y 55%, para C2 y C3, respectivamente.

Por otro lado, analizando el contraste de AgrVic vs AgrTre en ambos cortes primaverales se encontró una diferencia a favor de mayores contenidos de PB en las consociaciones con vicia. El incremento en PB para AgrVic sobre AgrTre fue de 37 y 16% para C2 y C3, respectivamente, tomando el promedio de todas las dosis de intersiembra. Esta diferencia, a favor de vicia puede deberse a una mayor concentración de PB en comparación con plantas de trébol y a una mayor participación en la composición botánica de la pastura.

Respecto a las comparaciones entre las leguminosas, en cada dosis (contrastos 3, 4 y 5) se encontró para C2 un aumento en PB para AgrVic respecto de AgrTre. Los aumentos de PB fueron de 25, 56 y 33% a favor de vicia en 80:20, 70:30 y 60:40, respectivamente. Mientras que para C3 solo en 70:30, AgrVic presentó mayor contenido de PB que AgrTre (12,8 vs 9,9%).

La concentración de FDN para AgrPur fue de 66,4 a 72,2% a lo largo del ensayo. Para los cortes primaverales se encontró una disminución en la FDN cuando se incorpora una leguminosa, ya sea vicia o trébol. Observando el contraste AgrPur vs consociaciones se encuentra que, la incorporación en una leguminosa generó disminuciones en FDN, respecto de AgrPur del 11 y 8%, para C2 y C3, respectivamente. Mientras que, para el resto de los contrastes en las fechas de corte primaveral, FDN no presentó una diferencia entre tratamientos.

Para la última fecha de corte, al año de realizada la intersiembra, a pesar de la pastura estar compuesta únicamente por agropiro en todos los tratamientos, se encontró un efecto sobre la FDN cuando se comparan las especies de leguminosas. El incremento fue de 3,5% en AgrTre, respecto de AgrVic.

Por su parte, la FDA mostró una concentración en AgrPur de 33,3 a 38,6%. La incorporación de leguminosa, explicada por el contraste AgrPur vs consociaciones, mostró una concentración de FDA 8,7% menor para las consociaciones. Por otro lado, analizando el contraste entre especies de leguminosas (AgrVic vs AgrTre) en ambos cortes primaverales, se encontró que AgrTre tuvo un 7 y 5% menos FDA que AgrVic para C2 y C3, respectivamente. También se encontraron diferencias en relaciones específicas, para 80:20 AgrTre tuvo 12% menos FDA que AgrVic en C2, mientras que en C3 para la relación 70:30 la disminución de AgrTre fue de 8%, respecto de AgrVic.

Tabla 3.4 Valor nutricional de los diferentes tratamientos en las cuatro fechas de cortes y significancia de los contrastes evaluados.

Fecha de corte	Tratamientos*							Contraste**					
	AgrPur	AgrVic1	AgrVic2	AgrVic3	AgrTre1	AgrTre2	AgrTre3	1	2	3	4	5	
23/5/2014	%												
MS	33,3	33,2	35,0	31,1	32,0	34,1	30,6	0,78	0,65	0,71	0,78	0,89	
PB	12,7	12,7	12,3	13,2	13,5	12,0	12,7	0,92	0,97	0,40	0,74	0,56	
FDN	68,2	65,3	68,7	66,4	68,3	67,0	66,0	0,29	0,71	0,06	0,27	0,81	
FDA	37,4	35,7	38,0	35,7	36,8	36,2	33,8	0,34	0,43	0,57	0,35	0,33	
LDA	3,1	2,6	3,1	3,0	3,3	3,0	2,7	0,68	0,75	0,21	0,86	0,57	
DIVMS	51,5	52,5	50,6	49,5	55,5	54,7	57,1	0,54	0,04	0,43	0,30	0,06	
7/10/2014													
MS	28,6	21,5	17,5	16,8	24,9	24,8	23,3	>0,01	>0,01	0,03	>0,01	>0,01	
PB	14,3	19,1	23,3	21,3	15,3	14,9	16,0	>0,01	>0,01	0,02	>0,01	>0,01	
FDN	66,4	60,6	56,0	57,8	58,0	61,2	59,3	>0,01	0,37	0,34	0,07	0,56	
FDA	33,3	31,7	30,7	32,1	27,8	30,7	29,5	0,02	0,01	0,01	0,95	0,08	
LDA	2,1	3,1	3,9	3,8	2,1	2,2	2,6	>0,01	>0,01	0,01	>0,01	>0,01	
DIVMS	56,8	58,1	62,3	62,2	59,7	59,5	54,8	0,47	0,32	0,73	0,56	0,14	
9/12/2014													
MS	36,2	39,1	36,2	34,0	28,9	28,4	28,9	0,01	>0,01	>0,01	>0,01	0,01	
PB	6,7	9,5	12,8	11,4	8,3	9,9	10,8	>0,01	0,04	0,33	0,03	0,64	
FDN	72,2	67,1	66,0	67,1	69,5	64,2	66,4	0,02	0,98	0,38	0,49	0,81	
FDA	38,2	37,9	38,0	37,9	37,3	35,0	36,3	0,08	>0,01	0,38	>0,01	0,05	
LDA	2,8	5,4	5,8	5,3	6,3	3,3	5,1	0,08	0,54	0,61	0,16	0,90	
DIVMS	49,6	51,3	51,8	56,6	52,6	48,6	47,5	0,67	0,27	0,82	0,57	0,12	
17/3/2015													
MS	40,5	39,0	36,0	37,4	38,3	38,3	36,2	0,10	0,95	0,73	0,32	0,57	
PB	10,4	11,3	12,7	12,4	11,2	10,9	11,9	0,10	0,17	0,90	0,09	0,61	
FDN	71,8	71,4	69,6	70,4	74,0	72,4	72,6	0,91	>0,01	0,05	0,04	0,09	
FDA	38,6	38,1	37,1	37,8	38,3	38,4	36,6	0,23	0,79	0,79	0,18	0,24	
LDA	3,7	3,4	3,6	3,6	3,6	3,8	3,6	0,49	0,56	0,53	0,67	0,98	
DIVMS	52,3	47,1	51,8	48,8	38,8	42,9	39,7	0,01	>0,01	0,02	0,01	0,01	

*Tratamientos: AgrPur: Agropiro puro; AgrVic: Agropiro con *V. villosa*; AgrTre: Agropiro con *M. albus*; 1, 2 y 3: Relación agropiro:leguminosa 80:20, 70:30 y 60:40, respectivamente.

**niveles de significancia para los contrastes: 1= AgrPur vs. Todas las consociaciones, 2= todos los AgrVic vs todos AgrTre, 3= AgrVic 1 vs AgrTre1, 4= AgrVic2 vs AgrTre2, 5= AgrVic3 vs AgrTre3.

Para LDA, el rango de valores encontrado para AgrPur estuvo entre 2,1 a 3,7%. Las diferencias encontradas estuvieron solo en C2 para todos los contrastes evaluados. Mientras que para el resto de los cortes no se encontraron diferencias entre tratamientos en dicha variable. Para el promedio de las consociaciones, el contenido de LDA en C2 fue un 43% mayor al monocultivo de agropiro. Por otro lado, también se encontraron diferencias entre las especies de leguminosas, se encontró un 57% más LDA en AgrVic, respecto de AgrTre para el promedio de las tres relaciones. Observando el contraste de cada relación por separado, AgrVic tuvo un 49, 75 y 44% mayor contenido de LDA, respecto de AgrTre para 80:20, 70:30 y 60:40, respectivamente.

El contenido de MS en AgrPur fue de 28,6 a 40,5%. En los cortes primaverales, se encontró una disminución en el contenido de MS cuando se incorpora una leguminosa, ya sea vicia o trébol. Observando el contraste AgrPur vs consociaciones, las disminuciones registradas fueron del 25 y 10%, para C2 y C3, respectivamente.

Por otro lado, analizando el contenido de MS para el contraste de AgrVic vs AgrTre en C2 se encontró que las consociaciones con vicia tuvieron 23% menos MS que las consociaciones de trébol. Sin embargo, en C3 el efecto fue inverso, AgrVic tuvo un 27% más MS que AgrTre. Cuando se realiza la comparación para cada una de las relaciones planteadas encontramos, que en C2 AgrVic tuvo un contenido 13, 29 y 28% menos MS que AgrTre para 80:20, 70:30 y 60:40, respectivamente. Mientras que en C3 AgrVic tuvo un contenido 35, 27 y 18% mayor de MS que AgrTre para las mismas relaciones.

En C1 y C4 no se encontraron diferencias significativas en el valor nutricional en los diferentes tratamientos, ya que en este momento el forraje estaba compuesto únicamente por agropiro. Sin embargo, se encontró en C4 un efecto sobre la DIVMS, donde todos los contrastes evaluados resultaron significativos.

3.5.3 Composición química en función de la participación proporcional de leguminosas

En este análisis se deja de lado la diferenciación de los tratamientos en cuanto a la densidad de intersiembra, y se centra el análisis sobre el efecto de la proporción de vicia o trébol en la pastura sobre la composición química del forraje en C2 y C3. Los valores obtenidos de PB mediante una regresión lineal, muestran que aumentos en la participación de leguminosa en la pastura, genera aumentos de PB ($p < 0,05$), independientemente de la especie y fecha de corte (Figura 3.5). En C2, se diferencian dos rectas, una para cada especie (AgrVic y AgrTre). Ambas tienen igual pendiente ($p = 0,37$), por lo tanto, el efecto sobre el incremento en PB es igual entre especies a medida que aumenta la proporción de leguminosa. En promedio, para ambas especies el incremento ronda 1,25 puntos porcentuales cada 10% de incremento de leguminosas en la composición botánica de la pastura. Por otro lado, se diferencian ($p < 0,05$) las rectas

por su ordenada al origen, siendo mayor para AgrVic. Este resultado indica que, a igual composición de la pastura, AgrVic registra mayores valores de PB que AgrTre.

Analizando el corte de primavera tardío (C3, ambas también tienen igual pendiente ($p=0,92$) se observa que el efecto sobre el incremento en PB a medida que aumenta la proporción de leguminosa tiene la misma pendiente que en C2. En promedio, para ambas especies el incremento ronda un punto porcentual cada 10% de incremento de leguminosas en la composición botánica de la pastura. A su vez, se encontró un efecto a favor de vicia, ya que existen diferencias entre las especies en sus ordenadas al origen ($p<0,05$), indicando que, para una misma proporción de leguminosa, AgrVic realiza un mayor aporte de PB que AgrTre, independientemente de la dosis comparada. Sin embargo, dicho efecto disminuye con el avance del estado fenológico. Por último, analizando la diferencia entre fechas de corte podemos estimar una disminución del 50% en el contenido de PB entre ambos cortes, para las dos consociaciones por igual.

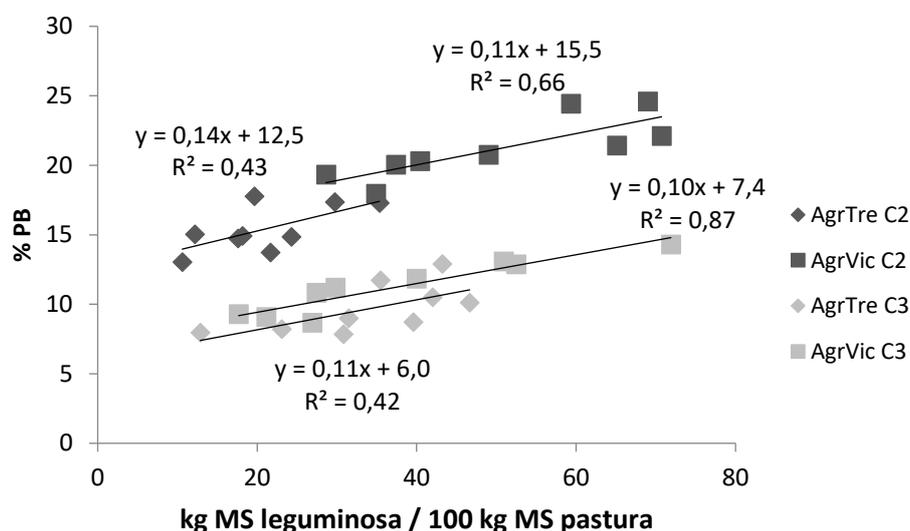


Figura 3.5 Relación entre la proporción de leguminosa (intersiembras de agropiro con *M. albus* [\blacklozenge AgrTre] o *V. villosa* [\blacksquare AgrVic]) en la pastura y el porcentaje de proteína bruta (PB) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.

Por otro lado, el presente trabajo nos permite analizar el efecto dejado por la leguminosa en el otoño siguiente. Comparando la sumatoria del nitrógeno exportado en el forraje en C2 y C3 en cada parcela, respecto al contenido de PB del forraje al otoño siguiente (Figura 3.6), encontramos una significancia en la regresión ($p>0,01$).

El nitrógeno exportado en el forraje para C2 y C3 se calculó como la biomasa forrajera total x concentración de PB / 100. Aquellas pasturas más productivas y que tuvieron las mayores producciones de vicia o trébol, fueron las que más nitrógeno exportaron.

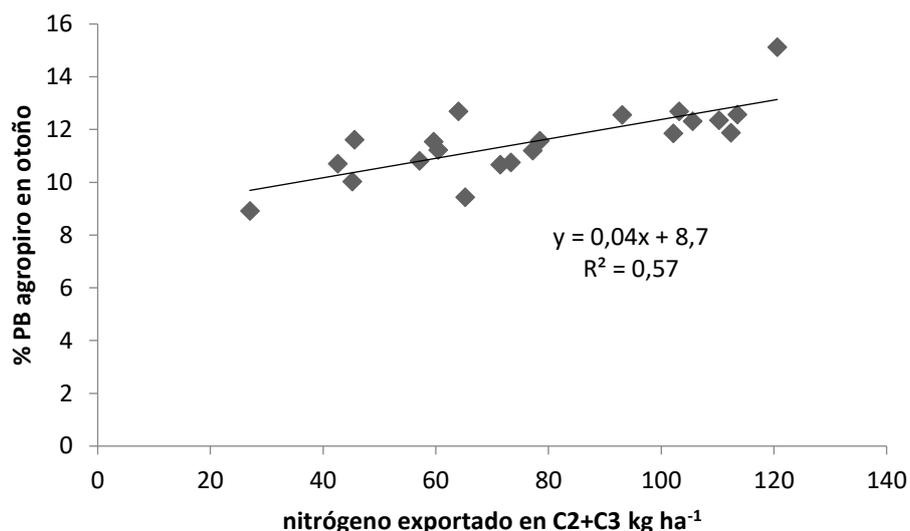


Figura 3.6 Relación entre el nitrógeno exportado (kg ha^{-1}) en ambos cortes primaverales y la concentración de PB del agropiro puro al otoño siguiente. Cada punto corresponde a una parcela. Fecha de corte C2: 7/10 y C3: 9/12/2014.

La mayor concentración de PB en agropiro al otoño siguiente indica una mejor nutrición nitrogenada de la pastura, teniendo en cuenta que la biomasa forrajera otoñal no presentó diferencias entre tratamientos ($p=0,3$). El aumento en PB, se debe posiblemente, a una mayor concentración de nitrógeno disponible en el suelo o una mayor tasa de descomposición de la materia orgánica. Parte de este nitrógeno posiblemente proviene de la fijación biológica, producto del proceso de transferencia de nitrógeno. Este resultado indicaría que la inclusión de una leguminosa, deja en el sistema parte del nitrógeno capturado.

Analizando el contenido de FDN se puede observar (Figura 3.7) que a medida que aumenta la participación de leguminosa, ya sea vicia o trébol, la proporción de FDN en la mezcla forrajera disminuye ($p>0,05$ en C2 y $p>0,01$ en C3). En este caso no se diferencia el efecto de las especies, ya que ambas tienen igual pendiente ($p=0,89$ en C2 y $p=0,17$ en C3) e igual ordenada al origen ($p=0,12$ en C2 y $p=0,63$ en C3), es decir son la misma recta para cada fecha de corte. Esto explica que ambas especies generan una similar disminución en el contenido de pared celular a medida que aumenta su participación en la consociación. En promedio por cada 10% de aumento de leguminosa en la composición de la pastura, la FDN disminuye 1,2%. Las diferentes rectas observadas en la Figura 3.7 ponen de manifiesto el aumento registrado en FDN entre ambos cortes primaverales. Se registró un aumento de 10 puntos porcentuales en C3, respecto de C2, debido al avance del estado fenológico de la pastura.

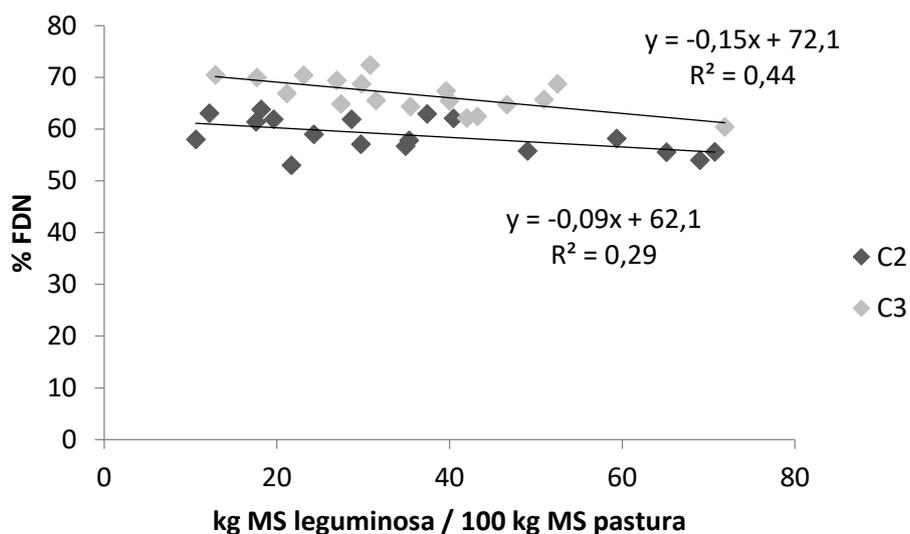


Figura 3.7 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con *V. villosa* o *M albus.*, y el porcentaje de Fibra en Detergente Neutro (FDN) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.

Examinando el comportamiento de las rectas para FDA (Figura 3.8), encontramos que no existe una relación significativa en AgrVic ($p=0,72$ y $p=0,24$ para C2 y C3, respectivamente) cuando se relaciona el contenido de FDA con la composición botánica de la pastura para ninguna fecha de corte. Mientras que la inclusión de trébol, genera una disminución en los valores de FDA, cercanos 1,3% por cada 10% de aumento en la composición. El contenido de FDA en vicia resulta similar al de agropiro, mientras que en trébol es menor, generando una dilución de los componentes menos digestibles del forraje a medida que aumenta su participación. Las diferentes rectas observadas en AgrTre muestran un aumento aproximado del 6%, producto del corte en un estado fenológico más avanzado.

Para lignina se observa (Figura 3.9) una falta de relación con la composición de la pastura en AgrTre para los cortes evaluados ($p=0,25$ y $p=0,43$ para C2 y C3, respectivamente). Mientras que la inclusión de vicia, genera un aumento en los valores de lignina, cercanos a 0,4% por cada 10% de aumento de vicia en la composición de la pastura. El contenido de lignina en trébol resulta similar al agropiro puro, mientras que el contenido de lignina en vicia es mayor.

Mientras para DIVMS se analiza para todas las consociaciones juntas, ya que no se diferencian los valores obtenidos por fecha de corte ni leguminosa (Figura 3.10). Sin embargo, se encontró una relación positiva entre la proporción de leguminosas y la DIVMS ($p=0,03$). Por cada 10% de incremento de leguminosas, la DIVMS de la pastura aumenta 1,5%.

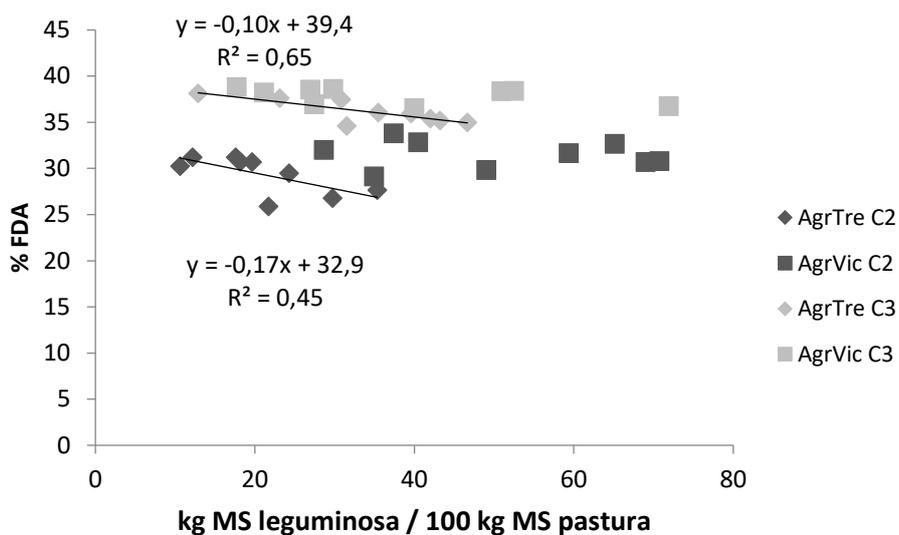


Figura 3.8 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersemebradas con *V. villosa* [□AgrVic] o *M albus* [◇AgrTre], y el porcentaje de Fibra en Detergente Ácido (FDA) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.

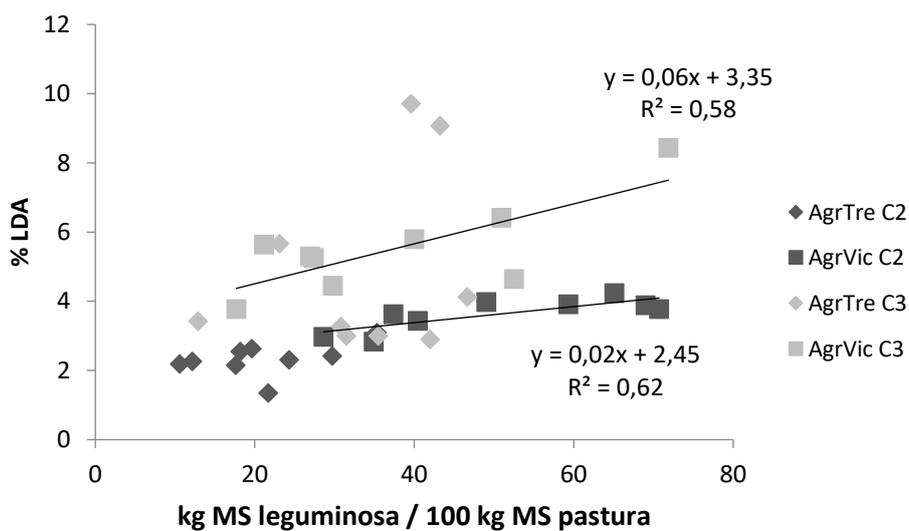


Figura 3.9 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersemebradas con *V. villosa* [□AgrVic] o *M albus* [◇AgrTre], y el porcentaje de Lignina (LDA) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.

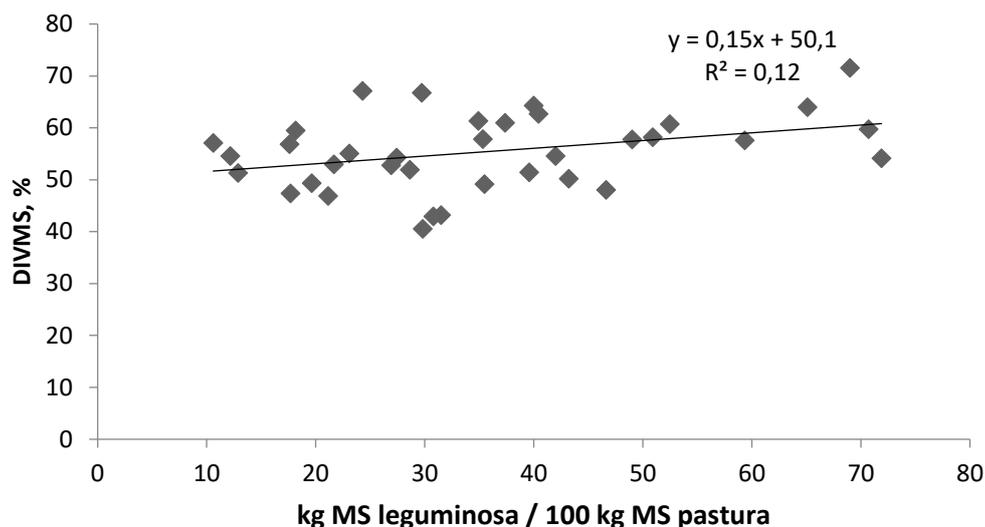


Figura 3.10 Relación entre la proporción de leguminosa, de pasturas de agropiro intersembradas con *V. villosa* o *M albus*, y la Digestibilidad "in vitro" de la Materia Seca (DIVMS) en dos cortes de primavera. C2:7/10 y C3: 9/12/2014.

3.6. DISCUSIÓN

3.6.1 Producción de biomasa

Las precipitaciones acumuladas durante el año es estudio permitieron que las pasturas no sufran de manera significativa, un déficit hídrico durante el período de evaluación. Es sabido que, a partir del primer año de implantación, la biomasa de agropiro con el tiempo baja (Martyniak *et al.*, 2017). Aunque la causa de la disminución es incierta, puede deberse a un gran uso del nitrógeno en el primer año y un posterior agotamiento de las reservas en el suelo. Por tratarse del segundo año de implantación y a pesar de la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo, los 4199 kg MS ha⁻¹ de biomasa acumulada en AgrPur estuvo dentro de valores productivos para la especie a nivel regional (Sevilla y Spada, 2014). La producción de forraje observada, está de acuerdo con el comportamiento general de las especies en la zona (Maddaloni y Ferrari, 2005).

Los resultados obtenidos para vicia y trébol confirman, el potencial productivo de las especies en condiciones semiáridas (Celen *et al.* 2005; Nan *et al.* 2006; Le Houearou, 2001). A pesar de ser una especie bianual, el trébol de olor no continuó su producción luego de un año de implantación. De igual modo, Evans y Kearney (2003) encuentran fallas en la persistencia de trébol luego del primer año. A pesar que Evans *et al.*, (2005) recomiendan que en trébol los últimos cortes deben realizarse en diciembre para garantizar la resiembra, encontramos que el momento del corte no es el único factor que garantiza la persistencia en la pastura. En vicia, tampoco se observó una resiembra natural que garantice una adecuada persistencia de la especie en la pastura.

Durante los meses más fríos, las tasas de crecimiento resultaron bajas en comparación con primavera y verano. Esto sugiere que las bajas temperaturas son un factor limitante en el crecimiento de agropiro, vicia y trébol. De acuerdo con Lemaire y

Agnusdei (2000), hay una relación positiva entre la acumulación de biomasa y de temperatura. Realizando una comparación visual de la evolución del estado fenológico en las leguminosas, se observó una más rápida madurez en vicia, respecto de trébol. En C2, vicia tuvo mayor biomasa que trébol. Esta mayor tasa de crecimiento inicial en vicia podría significar una diferencia de la temperatura base de crecimiento entre las leguminosas. Hace varios años Zachariassen y Power (1991) reportaron más rápido crecimiento de vicia a menores temperaturas de suelo, respecto de trébol. Con temperaturas de 10°C, vicia duplica la biomasa a los 84 días desde la siembra. El adelantamiento de vicia podría significar un aprovechamiento temprano de las pasturas. Con lo cual, se amplía el período de aprovechamiento, generándose una cadena de pastoreo donde los animales podrían comenzar en pasturas de agropiro-vicia para luego continuar por agropiro-trébol.

Comparando las dosis utilizadas, vicia y trébol presentaron igual biomasa para cada una de ellas. Ambas leguminosas demuestran su capacidad de compensación en el crecimiento, a las dosis evaluadas. Renzi (2009) también encuentra efectos compensatorios en monocultivos de *V. villosa*, donde la biomasa acumulada resulta similar luego de 160 días de implantación para densidades de 50 a 200 plantas m⁻². Según este autor, las ramificaciones de las plantas de vicia sería el principal mecanismo de compensación del rendimiento ante variaciones de la densidad de siembra.

La interseembra de leguminosas incrementó la producción de la pastura entre 57 a 45%, en relación al monocultivo de agropiro, sin afectar la producción de agropiro. Sanderson et al. (2013) también encuentra aumentos en la biomasa a medida que aumenta la proporción de leguminosas en la pastura. En general, los trabajos sobre consociaciones de gramíneas y leguminosas se realizan cambiando la proporción de las especies en el momento de la siembra. Son pocos los trabajos donde una de las especies se mantiene con una densidad estable, como sucede en este caso para agropiro. En estudio de Evans y Kearney (2003), con mezclas de agropiro y trébol, encontraron producciones entre 1 a 19 % mayores en consociaciones respecto al monocultivos de trébol. Contradictoriamente, Yisehak (2008) encuentra máximas producciones de biomasa, de 10 Tn MS ha⁻¹, en pasturas puras de una gramínea perennes (*Chloris gayana*) o a lo sumo en mezclas de 25% con trébol. Con mayores proporciones de trébol, los rendimientos bajaron.

Los investigadores que utilizan vicia en las consociaciones elijen implantarla junto a cereales de invierno. Como no se encontraron trabajos que incluyera consociaciones con agropiro, la discusión se realiza analizando el efecto que tiene esta leguminosa en mezclas con cereales de invierno. Saia *et al.*, (2016) reportan aumentos de 22% sobre la biomasa total cuando raigrás es consociado con vicia. Sin embargo, la biomasa de raigrás disminuye de 6506 a 3264 kg MS ha⁻¹, para el cultivo puro y la consociación (50:50), respectivamente. Renzi (2009) encontró una relación negativa entre las producciones de avena y vicia. Por cada 10% de incremento de la proporción de avena en la mezcla, vicia reduce 500 kg MS ha⁻¹ su biomasa. Avena, es uno de los cultivos acompañantes

más depresores sobre el rendimiento forrajero de la *Vicia* sp. (Talgre et al. 2005, Lithourgidis et al. 2006 y 2007, Dhima et al. 2007). Por encima del 20% en la mezcla se produce interferencia (Qamar *et al.* 1999 y Albayrak *et al.* 2004). A pesar de la alta proporción de vicia (50 y 37% para C2 y C3, respectivamente), en el presente estudio, no se encontró competencia con agropiro. Según Maddaloni y Bertin, (1990) el agropiro en la región subhúmeda y semiárida, produce en la misma época del año que los cereales de invierno. Sin embargo, en este trabajo la falta de competencia posiblemente se deba, a la maduración tardía que tiene agropiro (USDA, 2005), respecto a los cereales de invierno.

Así como estudios de consociaciones de vicia con cereales de invierno, reportan competencia entre las especies por los recursos. En nuestro caso, solo se observa un efecto de competencia de agropiro con trébol, para C3. El trébol, como se menciona anteriormente, tuvo una madurez tardía, respecto a la vicia. El retraso en el crecimiento del trébol, generó una mayor superposición del estado fenológico con agropiro. Posiblemente, ésta sea la causa de la competencia encontrada C3. Para este momento tanto agropiro como trébol se encontraban cercanas a la apertura de las flores. En cambio, vicia se encontraba en un estado fenológico más avanzado, finalizando la floración. El trébol participo en 21 y 37% respecto a la biomasa total para C2 y C3, respectivamente. Estas proporciones de leguminosa en la pastura resultan menores a las registradas en vicia. Sin embargo, resultan suficientes para competir con agropiro. Por lo tanto, el mayor factor que indica competencia, no es la proporción de las diferentes especies en la pastura, sino las especies que la componen. Con el objetivo de aprovechar los recursos disponibles, Sanderson et al. (2012) también encuentra más importante la presencia de especies en la consociación más que la proporción de cada una de ellas. Aunque en mezclas forrajeras, el agropiro se comporta como especie dominante (Maddaloni y Ferrari, 2005), solo afecta la producción de trébol, no así de vicia.

La competencia agua, luz y los nutrientes necesarios será variable cuando las plantas vecinas inmediatas sean genéticamente diferentes, especialmente en condiciones de estrés, donde la competencia por los recursos y la influencia sobre la productividad es mayor (Rebetzke et al., 2014). A mayores tasas de crecimiento, aumentas sus demandas de nutrientes (Gastal, 2015) y agua. Luego con la senescencia, la demanda declina.

A pesar de haber encontrado competencia entre agropiro-trébol, estos resultados son consistentes con varios trabajos que, encuentran mayores eficiencias de utilización de los recursos en consociaciones gramínea-leguminosa, en comparación a las pasturas puras (Sengul 2003; Saia *et al.*, 2016). La falta de competencia entre vicia y agropiro, podría indicar también, la posibilidad de realizar un aumento en la dosis de intersiembra.

Respecto a la distribución de la producción a lo largo del año, C3 concentra el 54% de la biomasa total en AgrPur. Sin embargo, con leguminosas también incrementó la estacionalidad de la producción. En C3 se concentró, para el promedio de las

consociaciones de vicia y trébol, el 58 y 64% de biomasa total anual, respectivamente. Concentraciones en la producción forrajera primaveral utilizando vicia con avena también encontró Balbarrey (2007) y Renzi (2009). Por lo tanto, se debería trabajar sobre la utilización de la gran masa forrajera en esta época del año.

3.6.2 Valor nutricional de la pastura

En este estudio, se consideran los atributos tradicionales que dan valor nutricional de los forrajes (concentración de PB y las fracciones de la pared celular y digestibilidad). El valor nutricional de las pasturas estuvo influenciado, por el grado de madurez, de manera comparable al estudio de Biermacher et al., (2012), aunque principalmente por las especies que componen la pastura y la proporción de cada una de ella. Estudios previos han reportado la influencia que tiene la proporción de leguminosas sobre el valor nutricional del forraje (Brink et al., 2015; Sturludóttir, 2013; Zemenchik et al., 2002). En general, la proporción de vicia o trébol fueron positivamente relacionados con el contenido de PB y digestibilidad, mientras se relacionó negativamente con FDN. Estas relaciones entre la proporción de leguminosas y valor nutricional, resultaron consistentes con las encontradas por otros autores que trabajan es mezclas gramíneas-leguminosas (Sanderson et al., 2010 y 2016; Deak et al., 2007). Sanderson et al. (2010) explica que las diferencias en el valor nutricional se deben a diferencias en los grupos funcionales (gramíneas, leguminosas, etc.), y no al número de especies que componen la pastura.

Uno de los factores limitantes sobre la calidad y la producción forrajera en sistemas pastoriles, es la disponibilidad de nitrógeno (LeBauer y Treseder 2008; Karki et al. 2009). Aumentos en PB con inclusión de leguminosas también fueron obtenidas por Sadeghpour et al., (2014) y Javanmard et al., (2009). Utilizando *V. villosa* Balbarrey (2010) y Lithourgidis et al., (2006) también obtienen aumentos de PB en mezclas forrajeras. Mayores contenidos de PB en las consociaciones se explican porque las leguminosas usualmente, tienen mayores contenidos de PB que las gramíneas (Sturludóttir, 2013).

Respecto al posible impacto sobre la productividad animal y tomando como ejemplo, los requerimientos de 12% de PB en dieta de novillos (NRC, 2016), en AgrPur, solo en C1 y C2 se cumple con dicho requerimiento. Fernández Rosso et al., (2010) determinó valores de PB en agropiro puro similares a los del presente ensayo entre 12,8 y 9,4 % PB para estados vegetativo y elongación de entre nudos, respectivamente. Por eso, se observa que la consociaciones de vicia y trébol puede extender el período de pastoreo al cubrir el requerimiento de un novillo hasta C3, siempre y cuando la proporción de leguminosas ronde el 50%. Biermacher et al., (2012) no encuentra diferencias en la performance de novillos consumiendo pasturas puras de *Cynodon dactylon* o consociaciones con *V. villosa*. Ya que, los contenidos de PB en ambas pasturas rondaron el 12%. Sin embargo, agropiro, vicia y trébol, en este caso, tiene contenidos

de PB marcadamente diferentes. Por lo tanto, se esperaría una mejora en la productividad animal en las pasturas intersembradas, donde AgrPur no llega al 12% de PB. De acuerdo con Ayed et al. (2001), la PB en el forraje de vicia es altamente degradable en rumen, como en la mayoría de las leguminosas. En un futuro, se requerirán estudios adicionales sobre las características de degradación ruminal de la PB, para ajustar su utilización como suplementación estratégica de proteína.

Las leguminosas disminuyeron el contenido de FDN. Sin embargo, algunos trabajos encuentran que el contenido de FDN no baja con aumento en la participación de leguminosa. Existen gramíneas, como pasto ovillo que tienen alto valor nutricional, sobre todo en etapas tempranas de desarrollo, por lo tanto, pueden contener similar FDN que leguminosas (Zemenchik et al., 2002). No es el caso del agropiro, que como se sabe, en etapas reproductivas posee alto contenido de fibra (Smith, 1996) y las leguminosas pueden ayudar en su disminución. El contenido de FDN tiene un gran impacto sobre el consumo de materia seca (Arelovich *et al.*, 2008). Por lo tanto, la inclusión de leguminosas tendría una mejora adicional sobre este aspecto de la productividad animal. Molle et al. (2008) encuentra correlaciones positivas entre la proporción de leguminosas y el consumo de materia seca y PB en novillos y ovejas.

La inclusión de trébol baja el contenido de FDA, mientras que vicia tuvo similar contenido de FDA que agropiro. La intersembrado de vicia al menos a la dosis evaluada no contribuyó a disminuir el contenido de FDA. Pasturas de agropiro consociadas con alfalfa tampoco disminuyeron los contenidos de FDA hasta que la proporción de leguminosa no llegó al 75% de la consociación. Participaciones del 25 al 50% de alfalfa en la consociación no resultaron en una disminución de la concentración de FDA (Ameri y Jafari, 2016). En un trabajo de Zemenchik et al., (2002) consociaciones de pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) con trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus*) también mantiene el contenido de FDA, respecto al monocultivo de pasto ovillo. Mientras que la FDN baja un 11% con la incorporación de trébol. Analizando el descenso de FDN y FDA un estudio de Sadeghpour et al., (2014) muestra que la incorporación de una leguminosa en cebada puede generar también una disminución del 34 y 22% para FDN y FDA, respectivamente, respecto al monocultivo de cebada.

Aumentos en LDA con inclusión de leguminosas también fueron observados en otros estudios (Caballero *et al.*, 1996; Lithourgidis *et al.*, 2006). Aunque no se encontró ningún estudio sobre las leguminosas de este trabajo. Se observa un contenido mayor de LDA en plantas de vicia, respecto al trébol. Ya que solo se encontró una relación positiva entre LDA y la proporción de vicia en la composición de la pastura, no así con la proporción de trébol. La pared celular de las gramíneas, poseen menos lignina que la pared celular en dicotiledóneas (Buchanan et al., 2000), por eso se pueden observar cambios en los contenidos de LDA. El contenido de LDA afecta negativamente la DIVMS. A pesar de ello, las leguminosas pueden tener el doble de concentración de lignina, manteniendo el valor de digestibilidad (Van Soest, 1964). Al igual que Sturludóttir (2013), se observó que el incremento en biomasa en consociaciones de agropiro con

vicia o trébol, comparado al monocultivo de agropiro, no fue acompañado por una reducción en la DIVMS y la concentración de PB, como usualmente se observa cuando incrementa la biomasa forrajera.

Analizando los contrastes, no se detecta diferencia para DIVMS entre tratamientos. Tampoco Ameri y Jafari (2016) detectan diferencias para consociaciones de agropiro con alfalfa. Sin embargo, mediante regresión se determinó para el promedio de ambos cortes primaverales una relación positiva sobre la DIVMS con el aumento en la proporción de leguminosa.

En mezclas forrajeras se obtienen mejores eficiencias en la fijación biológica de nitrógeno que en monocultivos de leguminosas (Brainard et al., 2012). Con bajo nitrógeno disponible en el suelo, las leguminosas dominan y el nitrógeno deriva principalmente de la fijación biológica (Ledgard, 2001). Altos niveles de nitratos en el suelo, retrasan la formación de nódulos y, por lo tanto, la fijación biológica de nitrógeno se reduce (Peoples et al., 2001). La inhibición de nódulos puede ser completa a partir de los 150 kg de N ha⁻¹ (Jensen et al., 2010). La mayor parte del nitrógeno fijado por las leguminosas, susceptible de ser liberado en el suelo provendría de la mineralización de los nódulos y material vegetal después de un estrés (pastoreo, movimiento de suelo o sequía) o luego de la senescencia del órgano (Peoples et al., 2015).

No se encontró información sobre fijación biológica de nitrógeno en trébol de olor blanco. En vicia, un estudio de Moodie et al., (2016) reporta 69% de nitrógeno derivado de la fijación biológica en monocultivos, mientras que Brainard et al. (2012) reporta 74% (proporción de nitrógeno derivado de fijación biológica) cuando se encuentra en mezclas con gramíneas. Utilizando el factor obtenido por Brainard et al. (2012) en mezclas, descontando el nitrógeno proveniente de AgrPur, se obtienen fijaciones biológicas de nitrógeno en vicia de 29, 48 y 50 kg N ha⁻¹ para AgrVic1, AgrVic2 y AgrVic3, respectivamente. Esto hace que la cantidad de nitrógeno fijado en la pastura, esté en proporción con la biomasa producida. Por ello, los mayores aumentos de PB en otoño se lograron en aquellas parcelas que tuvieron los mayores rendimientos de PB ha⁻¹. El aumento de PB en el rebrote otoñal, concuerda con lo reportado por Freeman et al. (2016) quienes hallaron aumentos de PB en *Cynodon dactylon*, de 12 a 14,1% en corte de otoño, luego del crecimiento de vicia el año anterior.

3.7 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la intersembra otoñal de vicia o trébol de olor blanco en pasturas puras de agropiro, aumenta la productividad forrajera total de la pastura. Ambas leguminosas tienen buena capacidad de compensar el crecimiento antes variaciones en la dosis de siembra, ya que los rendimientos fueron estables para las tres relaciones agropiro:leguminosa. Por lo tanto, se acepta parcialmente la hipótesis 1, ya que se registró un aumento de producción en las consociaciones, sin embargo, la biomasa de leguminosa no aumentó significativamente con las dosis evaluadas. Por ello, para adelantar el aprovechamiento de la pastura resulta más efectiva la elección de la leguminosa a intersembrar y no la dosis de intersembra aplicada.

Sobre el mes de diciembre, el trébol genera competencia con agropiro, mientras que vicia no. Posiblemente, por superposición de los momentos con mayores demandas de recursos, cuando las especies tienen las mayores tasas de crecimiento. Sin embargo, la competencia momentánea ejercida por el trébol de olor no afectaría el posterior crecimiento del agropiro.

Ambas leguminosas, realizan fijación biológica de nitrógeno, cuyos beneficios pueden ser aprovechados en los rebrotes posteriores, con aumento en los contenidos de PB.

La magnitud de los efectos sobre el valor nutricional del forraje está relacionada con la proporción de leguminosa en la pastura. Se acepta la hipótesis 2, ya que a medida que la proporción de leguminosa aumenta, disminuye el contenido de FDN, FDA y aumenta el contenido de PB y el valor de DIVMS.

CAPÍTULO IV

Efecto del tipo de reserva en *Thinopyrum ponticum* y la incorporación de *Melilotus albus* y grano de cereal sobre la fermentación y composición química del ensilaje

4.1 INTRODUCCIÓN

Agropiro produce buena calidad de heno y puede ser cosechado para ensilaje. Sin embargo, la aplicación de una u otra técnica de conservación muchas veces está supeditada a diversos factores operativos (*e.g.* disponibilidad de maquinaria, el costo de la confección) sin tomar verdadera dimensión de las ventajas productivas o nutricionales que de ellos se aprovecha.

En estadios tempranos el agropiro alargado posee alto contenido de proteína y total de nutrientes digestibles en comparación otras especies de agopiros (Jensen *et al.*, 2006). Sin embargo, la composición química y la digestibilidad está fuertemente afectada por el estado de madurez de la planta (Bumb *et al.*, 2016). Tanto la composición química como la digestibilidad al momento de corte se transferirán a los forrajes preservados. Según McEniry *et al.* (2013) los dos factores que mayormente afectan la calidad de la reserva son, la especie y el estado de madurez al momento del corte.

El contenido de proteína en agropiro en avanzado estado de desarrollo, puede limitar la producción ganadera. Se requiere un mínimo aproximado de 7% en el forraje para no influenciar negativamente sobre el consumo voluntario (Cochran, 1995). Ensilajes de agropiro puro, puede rondar ese límite (Viviani Rossi, *et al.*, 1998), pudiendo afectar negativamente el nivel productivo. Una de las alternativas para la utilización de forrajes de baja calidad a sido la suplementación nitrogenada. Los forrajes con bajo contenido de proteína no pueden sostener las condiciones ruminales óptimas para la actividad microbiana por su deficiencia en nitrógeno total (Ndlovu y Buchanan-Smith, 1985). Por lo tanto, la incorporación de suplementos proteicos o granos de cereales resultarían necesarios para mejorar su valor nutricional. Como la utilización de concentrados proteicos puede ser costosa, surge la necesidad de buscar fuentes proteicas alternativas, como las leguminosas (Jahanzad *et al.*, 2015).

4.2 HIPÓTESIS

Hipótesis 1: El estado fenológico óptimo para la elaboración de reserva de agropiro coincidiría con el estado fenológico más temprano donde ocurre la máxima acumulación de biomasa. Debido que a partir de ese momento el valor nutricional disminuye fuertemente por avance de la madurez.

Hipótesis 2: La incorporación de trébol de olor blanco y la adición de grano de avena mejoraría el valor nutricional y los parámetros fermentativos del ensilaje de agropiro.

4.3 OBJETIVOS

Se condujeron dos experimentos con el fin de cumplimentar dos objetivos diferentes. El experimento I tuvo como objetivo determinar el momento de corte óptimo para la confección de henos y ensilajes de agropiro, evaluando la biomasa y valor nutricional de las reservas en comparación con el forraje en pie.

El objetivo del experimento II fue estudiar el efecto sobre el valor nutricional y los procesos fermentativos de ensilajes de agropiro con la inclusión de trébol de olor blanco y grano de avena, haciendo énfasis en su potencial efecto sobre la productividad animal.

4.4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1 EXPERIMENTO I

4.4.1.1 Características del sitio experimental

Se llevó a cabo durante un año sobre una pastura pura de agropiro alargado en instalaciones del Departamento de Agronomía en la Universidad Nacional del Sur, partido de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires ($38^{\circ}41'28''S$, $62^{\circ}14'69''O$). La pastura se encontraba clausurada al pastoreo animal y con una densidad de 463 macollos m^{-2} . Para el ensayo no se realizó ningún control de malezas (prácticamente ausentes) ni se utilizó fertilizante. El suelo del sitio experimental se clasifica como un Ustifluent ácuico de textura franco limoso (Soil Taxonomy, 1999). En la Tabla 4.1 se observa el análisis de los primeros 20 cm de suelo.

El clima en Bahía Blanca se describe en el Capítulo II. Datos meteorológicos del período del ensayo se muestran en la Figura 4.1. Durante el año 2012 se registraron precipitaciones 17% encima de los promedios históricos, con un total de 680 mm, estando concentradas en agosto, noviembre y diciembre. Pevio al mes de agosto el cultivo estaba sufriendo de estrés hídrico por falta de humedad en el suelo, sin embargo, el agropiro no fue afectado por los bajos requerimientos que tienen en esta época del año, sumado a la baja evapotranspiración en los meses invernales. En cuanto a la temperatura, en 2012 se registró un promedio anual de $15,7^{\circ}C$, cercano a los promedios históricos.

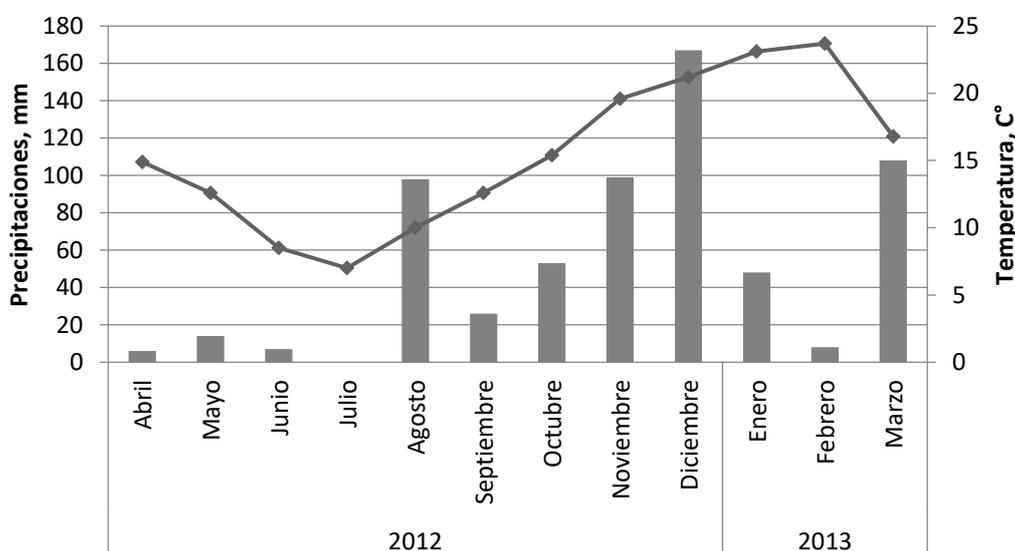


Figura 4.1 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en el sitio de estudio durante el año 2012 y principios de 2013 (Fuente: Bolsa de cereales y Productos Bahía Blanca).

Tabla 4.1 Análisis de suelo (0-20) del sitio experimental al inicio del ensayo.

MO, %	Nt, %	pH	Pe, ppm	CE, dS/m
2,27	0,132	7,8	12,6	1,33

4.4.1.2 Diseño experimental y Tratamientos

Los tratamientos fueron 15 surgidos a través de la combinación de dos factores, cinco *estados fenológicos* x tres *tipos de reserva*. El *estado fenológico* en agropiro se correspondieron con: corte el día 7/11/2012 en estado vegetativo (**Veg**), llamado de esa manera por no presentar espigas visibles, aunque se encontraba es estado cercano a doble arruga, corte el 6/12/2012 con espiga embuchada (**Eem**) sobre los macollos principales, corte el 27/12/2012 en antesis (**Ant**), aparición de anteras y liberación de polen, corte el 23/01/2013 en grano lechoso (**Gle**) y grano pastoso (**Gpa**) el 14/02/2013. Mientras que los *tipos de reserva* se correspondieron con, **Heno**, **Ensilaje** y **Pastura** en pie (antes de la confección de la reserva).

Los tratamientos fueron dispuestos en parcelas (unidades experimentales) de 5 m² cada una, en un diseño al azar con tres repeticiones. El ensayo comenzó 18/7/2012 cuando la pastura se cortó a 8 cm de altura. El área donde se ubicaron las parcelas experimentales se cerró con alambre eléctrico para evitar la entrada de animales.

4.4.1.3 Obtención de las muestras y determinaciones analíticas

Previo al corte, se tomaron tres plantas al azar sobre cada parcela para determinar, número de macollos totales por planta (Mac. totales), número de macollos en estado reproductivo por planta (Mac. reproductivos), considerando reproductivo cuando se encontraba la espiga visible. Con estas dos variables se calculó la proporción de macollos reproductivos, como: Mac. reproductivos/Mac. totales *100.

Para la determinación de la biomasa total, en cada parcela se tomó una muestra compuesta por dos submuestras de 0,2 m² cada una al azar, que luego se colocaron en una bolsa, cerrada y rotulada. Es decir, la muestra representa el crecimiento de 0,4 m². Los cortes de la pastura se realizaron con tijera a 8 cm de altura y el material se remitió al laboratorio.

El agropiro restante en la parcela se cortó a 8 cm de altura, respetando un borde de 40 cm alrededor de la parcela que no se incluyó. Del material cosechado se extrajo una submuestra de un kilogramo aproximadamente que se almacenó en una bolsa de red de polietileno y conservó al aire libre, bajo techo a temperatura ambiente por 72 hs que constituyó el tratamiento heno.

Con el agropiro restante, se procedió a realizar la confección de los tratamientos ensilajes en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional del Sur. Para ello el forraje se picó a 5±3 cm y compactó mediante pisón, dentro de tubos de PVC herméticamente sellados. Los microsilos, con capacidad de 2 kg de forraje fresco se

abrieron luego de 60 días. Al momento de la apertura de los microsilos, se registraron subjetivamente ciertas variables organolépticas como olor, color y presencia de moho. Posteriormente, se tomó una submuestra para la determinación de pH con pH-metro (Altronix TP1A) midiendo el fluido obtenido luego de 30 minutos de exponer el material ensilado con agua destilada (1:4). Una segunda submuestra se usó para determinar nitrógeno amoniacal como proporción de nitrógeno total ($N-NH_3/NT$). Para la determinación de $N-NH_3$ se pesó 25 g de ensilaje fresco y se agregó 200 ml de agua destilada. Se colocó en frascos cerrados herméticamente y se dejó reposar en heladera durante 24 hs. Al retirarlos de la heladera, se apisonó durante 2 min para luego filtrar el contenido de cada frasco. Del filtrado se extrajo una alícuota de 25 ml, la cual fue destilada con MgO y $CaCl_2$ según AOAC (2000). El porcentaje de materia seca (MS) se determinó mediante secado de una submuestra del heno y ensilaje en estufa a $60^\circ C$ hasta peso constante (AOAC, 2000).

Con la muestra proveniente de la pastura, inmediatamente después del corte, en laboratorio se procedió a separar la fracción lámina y tallo (considerando "tallo" a la sumatoria de vaina y espiga). Luego, el material se secó en estufa, de la manera descrita anteriormente. De este modo, se obtuvieron las biomásas ($kg\ ha^{-1}$) y contenidos de MS (%) de lámina, tallo y total (lámina + tallo). El contenido de MS total se obtuvo como: $\text{Peso seco láminas + tallo} / (\text{Peso fresco de láminas + tallo}) * 100$. Además, se midió la concentración de tallo (%), como la biomasa de tallo/biomasa total*100. Posteriormente al secado, se mezcló el material correspondiente a biomasa de lámina y tallo para la obtención de la muestra correspondiente al tratamiento pastura.

Para las determinaciones químicas se procedió a la molienda del material mediante el uso de molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ. USA) utilizando una malla de 1 mm. Sobre el material molido se determinó nitrógeno total usando el método de Kjeldahl (Bremner, 1996), y Proteína Bruta (PB) por multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6,25 (AOAC, 2000), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA) y Lignina (LDA) por el método de Van Soest, 1991 y la Digestibilidad "in vitro" de la MS (DIVMS) por la técnica de Tilley y Terri, 1963. Además se calculó la materia seca digestible como: $\text{Biomasa total} * \text{DIVMS}/100$.

4.4.1.4 Análisis estadístico

Las variables de la pastura previo al corte, número de macollos totales y reproductivos, proporción de macollos reproductivos, biomasa y contenido de MS de lámina, tallo y total, junto con la concentración de tallo y las variables pH y N-amoniacal de los ensilajes se evaluaron mediante un análisis de varianza con un factor fijo (*estado fenológico*). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ij} = \mu + E_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ij} es la observación de i -ésimo estado fenológico en la j -ésima repetición, μ = media general, E_i es el efecto de i -ésimo estado fenológico, ε_{ij} es el error experimental

Luego, del corte, se incorporó un factor más en el análisis de la varianza, factor fijo *tipo de reserva*, ya que se compara la pastura, el heno y ensilaje. De este modo se constituyó un ANOVA doble (*fecha de corte x tipo de reserva*) para los tratamientos que surgen de la combinación de factores. Las variables que se incluyen son de valor nutricional (MS, PB, FDN, FDA, LDA, DIVMS y CNES). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + R_j + (ER)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde, Y_{ijk} es la observación de i -ésimo estado fenológico en la j -ésima tipo de reserva en la k -ésima repetición, μ es la media general, E_i es el efecto de i -ésimo estado fenológico, R_j es el efecto de i -ésimo tipo de reserva, $(ER)_{ij}$ es la interacción entre estado fenológico y tipo de reserva y ε_{ijk} es el error experimental.

En el caso de presentar interacción entre factores, se decidió analizar cada *estado fenológico* y *tipo de reserva* por separado (indicando las diferencias con letras mayúsculas y minúsculas respectivamente). La comparación de medias se realizó con el test de Tukey ($p < 0,05$).

4.4.2 EXPERIMENTO II

4.4.2.1 Caracterización del sitio experimental y las pasturas.

El ensayo se realizó en instalaciones del campo "Napostá" perteneciente al Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, ubicado en el km. 35 de la Ruta Nacional N°33 (38°25'48''S y 62°16'56''O) en el año 2014. Para la obtención de material correspondiente al agropiro alargado (Cv. Barpiro) se utilizó un sector contiguo de la pastura descrita en el CAP III. Se realizó un corte de limpieza del agropiro el día 7 de octubre de 2014 con máquina cortadora de pasto a 8 cm para uniformar la altura y permitir el crecimiento posterior de la pastura. Mientras que se sembró contiguamente una pastura de trébol de olor blanco (*Melilotus albus*) a una densidad de 10 kg ha⁻¹ el día 1 de abril de 2014. Ambas pasturas se clausuraron al pastoreo animal mediante alambrado eléctrico. No se realizó control de malezas, ya que no estaban presentes en abundancia ni tampoco se realizó una fertilización.

Las características climáticas del sitio experimental se mencionan en el CAP III. Durante el presente ensayo las precipitaciones registradas desde el corte de limpieza hasta el corte de confección de microsilos fueron 472 mm (Figura 4.2). Las precipitaciones estuvieron levemente por encima de los promedios históricos para la zona, por lo tanto, las pasturas se desarrollaron con normalidad sin registrar severos

déficits hídricos. Las características del suelo son las mismas que las descritas en el sitio del CAP III.

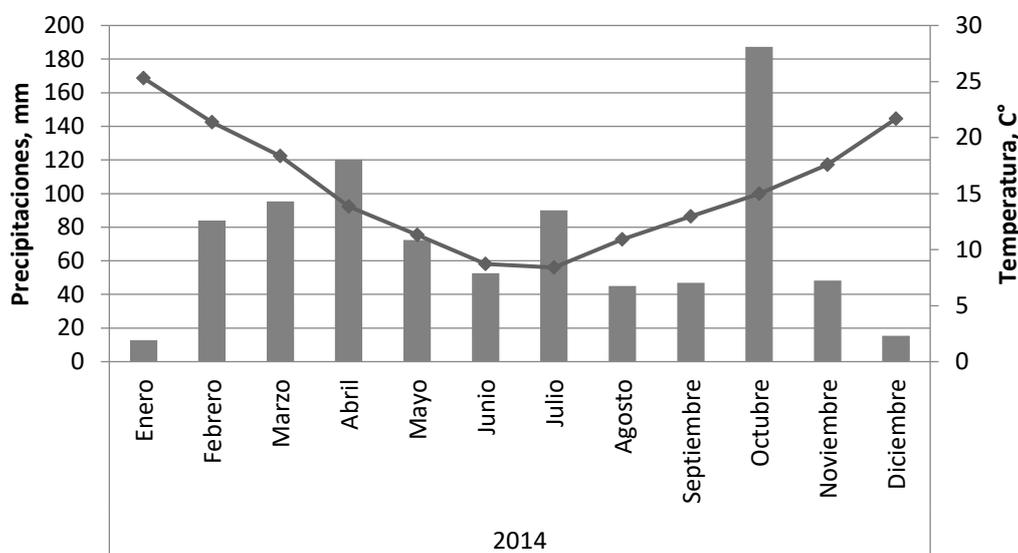


Figura 4.2 Distribución mensual de las precipitaciones (barras) y temperaturas (líneas) en Napostá durante el año 2014 (Fuente: Lic. Carlos Zotelo. CERZOS-CONICET).

4.4.2.2 Diseño experimental y Tratamientos

Los tratamientos fueron seis surgidos de la combinación de dos factores, dosis crecientes de *Trébol* de olor blanco (como componente de la mezcla forrajera con agropiro), **T0**: control, agropiro puro, **T20**: relación 20:80 trébol:agropiro y **T40**: relación 40:60 trébol:agropiro y dos niveles de *Grano* de avena (Cv. Maná INTA), **G0**: control, sin grano y **G1**: Relación 30:70 grano de avena:ensilaje. La mezcla forrajera se simuló en el laboratorio mezclado diferentes proporciones de agropiro, trébol y grano en base a la MS.

Se utilizó inoculante para todos los tratamientos, con el fin de estimular la fermentación, a una dosis de $0,002 \text{ g.kg}^{-1}$ de forraje verde. Este se aplicó con una dilución de 0,1% (m/v) en agua destilada. El inoculante comercial, marca Feedtech Silage F20®, contiene una mezcla de bacterias lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*), y celulasas a una concentración no menor a $1,6 \times 10^{10} \text{ UFC g}^{-1}$ y 5160 CU g^{-1} respectivamente. En la Tabla 4.2 se observa el valor nutricional de los forrajes utilizados en los ensilajes al momento de la confección.

Tabla 4.2 Composición química de los forrajes utilizados al momento de la confección de los microsilos.

Variable	Agropiro alargado	Trébol de olor blanco	Grano de Avena
MS, %	46,2	35,4	90,1
PB, %	6,1	16,8	15,7
FDN, %	63,8	45,6	35,2
FDA, %	23,5	28,5	12,2
LDA, %	4,9	6,8	1,5
CNES, %	3,7	8,3	8,2
DIVMS, %	57,4	69,2	79,5

4.4.2.3 Confección de microsilos

Con el agropiro en estado de antesis, se realizó el corte (18/12/2014) para la confección de microsilos. El corte de la pastura, picado de material y confección de microsilos, se realizaron de igual modo que lo descrito para el Experimento I.

El grano de avena se incorporó molido, utilizando molino Wiley con un tamaño de poro del tamiz de 2 mm. Los ingredientes de cada tratamiento se mezclaron homogéneamente sobre bandejas de plástico junto con el inoculante que se diluyó en agua destilada y asperjó sobre el forraje. Adicionalmente, se corrigió el contenido de MS de cada tratamiento mediante el agregado de agua, para alcanzar el 35% MS (contenido de MS del agropiro al momento de ensilar). Una vez confeccionados, se dejaron almacenados durante 60 días hasta su apertura.

4.4.2.4 Determinaciones en material forrajero

Al momento de la apertura de los microsilos, se registraron subjetivamente ciertas variables organolépticas como olor, color y presencia de moho. Posteriormente, se tomó una submuestra para la determinación de pH y una segunda submuestra se usó para determinar nitrógeno amoniacal como proporción de nitrógeno total ($N-NH_3/NT$). Cada una de estas variables se analizó según lo descrito en el experimento I.

Posteriormente, se determinó el porcentaje de materia seca (MS) mediante secado en estufa a 60°C hasta peso constante. Con todas las muestras secas en estufa, se procedió a la molienda del material mediante el uso de molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ. USA) con malla de 1 mm. Sobre el material molido se determinó nitrógeno total usando el método de Kjeldahl (Bremner, 1996), y Proteína Bruta (PB) por multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6,25 (AOAC, 2000), Fibra en Detergente Neutro (FDN), Fibra en Detergente Ácido (FDA) y Lignina (LDA) por el método de Van Soest, 1991 y la Digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS) por la técnica de Tilley y Terri, 1963 y por último Carbohidratos no estructurales solubles (CNES) según la técnica descrita por Silva y Queiroz (2002).

4.4.2.5 Análisis estadístico

Se siguió un diseño completamente aleatorizado, con seis tratamientos, correspondiente a tres niveles crecientes de *Trébol* de olor en los ensilajes (T0, T20 y T40) y dos niveles de *Grano* (G0 y G1) y cuatro repeticiones. Las variables de composición química de ensilajes, se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + G_j + (TG)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la observación de i-ésimo contenido de trébol en la j-ésimo contenido de grano en la k-ésima repetición, μ es la media general, T_i es el efecto de i-ésimo dosis de trébol de olor, G_j es el efecto de j-ésimo contenido de grano, $(TG)_{ij}$ es el parámetro que representa el efecto de la combinación de los niveles i-trébol y j-grano y ε_{ijk} es el error experimental.

En el caso de presentar interacción entre factores, se decidió analizar cada factor, *Trébol* y *Grano* por separado (indicando las diferencias con letras mayúsculas y minúsculas respectivamente). El análisis estadístico de los datos se realizó con software Infostat (2008). La comparación de medias se realizó con el test de Tukey ($p < 0,05$).

A su vez, como en el Experimento I, para estudiar el impacto de los tratamientos en el conjunto de las variables evaluadas se decidió realizar un análisis de componentes principales (ACP). En el gráfico, el punto representa la unidad experimental. Las variables de valor nutricional y de fermentación de ensilajes seleccionadas fueron: PB, FDN, FDA, LDA, DIVMS, CNES, N-NH₃/NT y pH.

4.5 RESULTADOS

4.5.1 EXPERIMENTO I

4.5.1.1 Características de la pastura de agropiro al momento de corte

En la Tabla 4.3 se muestran las características de la pastura de agropiro en cada uno de los estadios fenológicos evaluados. En términos generales, con el avance del período de madurez y elongación de entrenudos se registran aumentos de biomasa forrajera y concentraciones de vaina y tallos, acompañadas por aumentos en los contenidos de materia seca de las diferentes fracciones.

Analizando específicamente cada variable, encontramos que las plantas que componen la pastura de agropiro no aumentaron el número de macollos totales a medida que avanza el período de madurez. Sin embargo, a medida que avanza el estado fenológico de la pastura, nuevas espigas van emergiendo de cada macollo (ya diferenciado), aumentando de manera significativa la aparición de macollos con espiga visible, desde la total ausencia en Veg y sin diferencias con Eem (1,9 Mac. reproductivos), seguido por Ant (5,7 Mac. reproductivos) hasta un máximo en Gle (12 Mac. reproductivos) que representa un aumento cercano al doble, respecto de Ant.

A medida que avanza el período de crecimiento, mayor es la acumulación de biomasa total. Sin embargo, dicha acumulación resulta máxima a partir de Ant (3215 kg MS ha⁻¹), sin diferenciarse de los estadios de corte más avanzados. El incremento observado en la biomasa total está compuesto principalmente por el aumento en de biomasa de tallos, desde Veg (148 kg MS ha⁻¹), siguiendo por Ant (658 kg MS ha⁻¹), hasta un valor máximo para los últimos tres cortes, Ant, Gle y Gpa (promedio de 1749 kg MS ha⁻¹) que no se diferencia entre sí. Mientras que la biomasa de lámina fue apenas afectada por el tratamiento. En Veg se observó el menor valor, diferenciándose solo de Ant, que fue un 41% mayor.

La concentración de tallos está lógicamente asociado a los cambios de biomasa tallo y lámina explicados anteriormente. Se registró un aumento en la concentración de tallo con el avance del período de madurez, desde Veg (10,7%), siguiendo por Eem (32,4%) hasta el promedio de los últimos tres cortes, que no se diferenciaron entre ellos (50%).

Respecto a los contenidos de MS total, se observa un aumento progresivo con el avance del estado fenológico. Los valores más bajos fueron para los tres primeros cortes (promedio 38,3%), sin diferenciarse entre ellos, seguidos de Gle (51,3%) que resultó con valores intermedios y se registraron los máximos contenidos en Gpa (60,4%).

Descomponiendo el contenido de MS total, encontramos que los contenidos de MS de lámina y tallos aumentan progresivamente con el avance del período de madurez. Para MS de lámina los menores valores se encontraron en Veg y Eem (39,3% en promedio), siguiendo con Ant, Gle y Gpa (46, 55 y 65 %, respectivamente) diferenciándose estos últimos tres entre ellos. Para MS de tallo, el valor en Ant no se diferenció de Veg (36 y 33 %, respectivamente). Mientras que en Gle y Gpa se registró

un gran aumento en los contenidos de MS de tallo (48 y 57%, respectivamente), diferenciándose entre ellos y respecto de Ant.

Aunque no se realizó la comparación estadística, se encuentra que los contenidos de MS de tallo están siempre 6 a 10 % debajo de la MS de lámina para el mismo estado fenológico. Las vainas y tallos tienen mayores contenidos de humedad.

Tabla 4.3 Características de la pastura de agropiro en relación al estado fenológico.

Variable	Tratamiento					valor-p	EEM
	Veg	Eem	Ant	Gle	Gpa		
Número de macollos							
totales	22,1	27	19,9	23,8	21,1	ns	3,0
reproductivos	0,0 a	1,9 ab	5,7 b	12,7 c	6,7 b	**	1,2
Mac. reproductivos ¹ , %	0,0 a	7,0 a	29,9 b	52 c	29,4 b	**	4,2
Biomasa, kg MS ha ⁻¹							
total	1393,3 a	2046,7 ab	3215 bc	3338,3 c	3811,7 c	**	269,7
lámina	1245,2 a	1388,3 ab	1751,7 b	1656,7 ab	1707,5 ab	*	108,0
tallo	148,2 a	658,3 ab	1463,3 bc	1681,7 c	2104,2 c	**	199,1
Concentración de tallo, %	10,7 a	32,4 b	45,1 c	50,4 c	54,5 c	**	2,41
Contenido de MS, %							
total	38 a	36,1 a	40,8 a	51,3 b	60,4 c	**	1,2
lámina	38,7 a	39,9 ab	45,6 b	54,6 c	64,9 d	**	1,4
tallo	33,2 ab	30,2 a	36,1 b	48,4 c	57,1 d	**	1,1

^{a,b,c,d} Medias con distinta letra en la fila son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EEM: Error Estándar de la Media. ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Estado fenológico, Veg: Vegetativo; Eem: Espiga embuchada; Ant: Antesis; Gle: Grano Lechoso; Gpa: Grano Pastoso.

¹ Proporción de macollos en estado reproductivo respecto del total.

4.5.1.2 Valor nutricional de reservas forrajeras

El contenido de PB, LDA y la DIVMS no mostraron interacción *tipo de reserva x estado fenológico*, por lo tanto, en la Tabla 4.4 se muestran los resultados de cada factor para el conjunto de los datos. Para PB el heno o el ensilaje de agropiro, no genera una modificación en el contenido original de PB de manera significativa (promedio 8,2%), a pesar de observar una leve tendencia a la disminución en ensilajes. En cambio, el estado fenológico de la pastura resultó el factor que modificó mayormente el contenido de PB. En estadios tempranos de desarrollo se observan los mayores contenidos y a medida que la planta madura, los valores van disminuyendo progresivamente. Los rangos de PB fueron de 11,7 a 5,5 % para Veg y Gpa, respectivamente. En relación al estado Veg, los contenidos de PB fueron 18, 36, 41 y 53 % menor en Eem, Ant, Gle y Gpa, respectivamente. Todos los estados fenológicos difirieron entre sí, salvo Ant y Gle que presentaron valores similares.

Para LDA se observa una diferencia significativa tanto por el tipo de reserva como para el estado fenológico. El ensilaje mostró los valores más altos de LDA respecto al heno y pastura, con aumentos promedio de 15%. Respecto al estado fenológico, los menores valores se observaron en Veg (3,1%) respecto del resto. El mayor aumento en LDA se produce cuando la pastura comienza con la elongación de los entrenudos, coincidente con Eem. Luego, los contenidos se mantienen relativamente estables en las últimas cuatro fechas de corte (5,75% en promedio).

En cuanto a la DIVMS se observan las mismas diferencias que las encontradas para LDA. En este caso, el ensilaje mostró los menores valores (43,7%) de DIVMS, con disminuciones del 11% para el promedio de pastura y heno (49,2%). Estos últimos tratamientos sin diferenciarse entre ellos. Respecto al estado fenológico, los mayores valores se observaron en Veg (55,2%) respecto del resto de los cortes. La mayor disminución de DIVMS se produce cuando la pastura comienza con la elongación de los entrenudos, a partir de Eem. Luego los contenidos se mantienen relativamente estables en las últimas cuatro fechas de corte (45,4% en promedio).

Tabla 4.4. Contenido de Proteína Bruta (PB), Lignina en Detergente Ácido (LDA) y Digestibilidad "in vitro" de la Materia Seca (DIVMS) para la pastura, heno o ensilado en diferentes estados fonológicos.

Factor	PB, %	LDA, %	DIVMS, %
<i>Tipo de Reserva</i>			
Pastura	8,31	4,9 a	50,3 a
Heno	8,43	5,0 a	48,2 a
Ensilaje	7,98	5,8 b	43,7 b
p-valor	ns	**	**
EEM	0,19	0,18	1,12
<i>Estado fenológico</i>			
Vegetativo	11,7 a	3,1 a	55,2 a
Espiga embuchada	9,6 b	5,4 b	49,2 b
Antesis	7,5 c	5,6 b	45,4 b
Grano lechoso	6,9 c	6,0 b	43,7 b
Grano pastoso	5,5 d	6,0 b	43,5 b
p-valor	**	**	**
EEM	0,24	0,23	1,44

^{a,b,c,d} Medias con distinta letra para una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EEM: Error Estándar de la Media. ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Estado fenológico: Veg: Vegetativo; Eem: Espiga embuchada; Ant: Antesis; Gle: Grano Lechoso; Gpa: Grano Pastoso.

En la Tabla 4.5 se muestran las variables de composición química que mostraron interacción significativa entre *tipo de reserva* x *estado fenológico*. Por ello, se decidió realizar el análisis para cada estado fenológico y tipo de reserva por separado.

En general el contenido de MS, acompañó el crecimiento de la pastura, siendo bajo el valor en estadios tempranos de corte (38% en Veg) y mayor sobre el final del ensayo (60,4% en Gpa). Los contenidos de MS de la pastura y ensilaje fueron los mismos para cada estado fenológico, salvo en Gpa que se observó un pequeño aumento para ensilaje. Este similar contenido de MS entre la pastura y ensilado resulta esperable, ya que no se realizó un período de secado (marchitado) previo a la confección de la reserva. En los tres primeros cortes se observaron los menores contenidos de MS (39% promedio para Veg, Eem y Ant), sin diferenciarse entre ellos, seguido de Gle (51%) y por último Gpa (62%) que resultó el más elevado. Mientras que, el heno, mostró los mayores contenidos de MS (92% en promedio) comparando entre tipos de reserva, lógicamente por el tipo de conservación del forraje en seco que la técnica requiere.

El contenido de FDN es el componente mayoritario de agropiro en los estadios fenológicos evaluados. En promedio, resultó aproximadamente 70 % para todos los cortes y tipos de reserva sin grandes variaciones. Con excepción del primer corte (Veg), en el cual se observaron los menores valores (68% en promedio). Solo en Eem y Gle se encontraron diferencias en el tipo de reserva para FDN. En ambos estados fenológicos el heno incrementa la FDN un 4%. Mientras que para Gle el ensilaje incrementa un 5% el contenido de FDN, respecto de la pastura.

El contenido de FDA, tuvo un rango de valores de 36,5 a 44,5% incrementándose desde Veg a Gpa. Respecto al tipo reserva, el ensilaje generó un aumento de FDA en relación a la pastura del 10 y 27% para Eem y Gle, respectivamente. En ambos estados fenológicos, el heno presentó valores intermedios.

Comparando los estadios fenológicos se encontraron mayor número de diferencias entre tratamientos para FDA que para FDN. En la pastura las diferencias en el contenido de FDA comienzan a partir de Ant (39%), respecto a los cortes previos (36% promedio de Veg y Eem). Mientras que en ensilajes las diferencias comienzan a partir de Gle (47%) respecto a los cortes previos (40% promedio para Veg, Eem y Ant). Para el heno, recién con en Gpa se diferenció el contenido de FDA (44%), respecto a los cortes más tempranos (38,6%, promedio de los cuatro primeros estados fenológicos).

Comparando los contenidos de FDN y FDA de los diferentes estadios fenológicos, encontramos que en Veg, la FDA representa el 54% del total de la pared celular de agropiro, mientras que en Gpa, la FDA representa 62%.

En cuanto al contenido de CNES se encuentran comportamientos muy diferentes respecto al tipo de reserva y estados fenológicos. La pastura mostró siempre los mayores valores en comparación con los forrajes conservados, siendo máximas estas diferencias cuando se compara con ensilajes. El proceso de ensilaje, genera una disminución en la concentración de CNES del 86, 85 y 95% para Veg, Eem y Ant, respectivamente. Mientras que las máximas diferencias de la pastura con el heno se encontraron en Eem y Ant, con disminución del 48% de CNES, para ambos cortes.

A lo largo del desarrollo del cultivo, se observa un aumento progresivo en CNES a partir de Veg (7,6%) hasta un máximo en Eem y Ant (11,9 y 12,1%, respectivamente) que

luego tiende a disminuir (no significativamente) hasta valores de 8,9% en Gpa. El ensilaje muestra los menores valores de CNES (1,1% promedio para todos los estados fenológicos), diferenciándose de la pastura y heno en todos los estados fenológicos. Mientras que el heno tiene valores intermedios y solo se diferencia de la pastura en Eem y Ant, con 48% menos CNES para ambos estados fenológicos.

Tabla 4.5 Contenido de Materia Seca (MS), Fibra en Detergente Neutro (FDN) y Ácido (FDA) y Carbohidratos No Estructurales Solubles (CNES) para pastura de agropiro, heno o ensilado en diferentes estados fenológicos.

Estado fenológico	Reserva	MS, %	FDN, %	FDA, %	CNES, %
Vegetativo	Pastura	38 A a	70,2 AB -	35,7 A -	7,6 A a
	Heno	91,9 - b	67,5 A -	35,8 A -	6,6 ABC a
	Ensilaje	41,7 A a	66,8 A -	37,9 A -	1 AB b
Espiga embuchada	Pastura	36,1 A a	70,3 AB a	36,3 A a	11,9 B a
	Heno	91,6 - b	72,8 B b	38,5 A b	6,2 A b
	Ensilaje	37,5 A a	70,9 B ab	40,1 A c	1,8 AB c
Antesis	Pastura	40,8 A a	72,1 B -	38,7 B -	12,1 B a
	Heno	92,4 - b	73,2 B -	39,7 AB -	6,3 AB b
	Ensilaje	43,4 A a	71,6 B -	41,2 AB -	0,6 A c
Grano lechoso	Pastura	51,3 B a	68,9 A a	37,1 A a	10,4 AB a
	Heno	92,1 - b	71,8 B b	40,4 AB ab	8,2 BC a
	Ensilaje	50,6 B a	72,5 B b	47 C b	2,5 B b
Grano pastoso	Pastura	60,4 C a	72,1 B -	43,7 C -	8,9 AB a
	Heno	92,9 - c	71,2 AB -	44,4 B -	8,6 C a
	Ensilaje	63,9 C b	71,4 B -	45,3 BC -	5,9 C b

^{a,b,c} Medias con distinta letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Mayúscula compara estado fenológico para cada tipo de reserva y minúscula compara reserva para cada estado fenológico.

Estado fenológico: Veg: Vegetativo; Eem: Espiga embuchada; Ant: Antesis; Gle: Grano Lechoso; Gpa: Grano Pastoso.

4.5.1.3 Parámetros de fermentación en ensilajes

En la Tabla 4.6 se muestran las variables estudiadas inmediatamente luego de la apertura de los ensilajes. El rango de valores de pH estuvo entre 5 y 6,3, para Veg y Eem, respectivamente. Entre ambos estados fenológicos se encontró la única diferencia en pH, ya que los últimos tres cortes mostraron valores intermedios (5,6 en promedio para Ant, Gle y Gpa) y no se diferenciaron de Veg ni Eem. En líneas generales, a medida que avanza el estadio fenológico se observa una rápida caída de pH, con un valor mínimo en Eem que luego aumenta levemente para mantenerse relativamente estable a partir de Ant hasta Gpa.

Por otro lado, N-NH₃/NT se mantiene constante durante los tres primeros estadios fenológicos evaluados, con valores de 10,9% en promedio (Veg, Eem y Ant) para luego disminuir rápidamente a 6,3% en Gle. A partir de Gle, a medida que avanza el desarrollo continúa disminuyendo hasta valores de 2,5 % en Gpa.

Tabla 4.6 Contenido de pH y N-NH₃/NT de microsilos de agropiro puro en diferentes estados fenológicos.

Estado fenológico	pH	N-NH ₃ /NT, %
Vegetativo	6,3 a	11,1 ab
Espiga embuchada	5,0 b	10,0 ab
Antesis	5,3 ab	11,7 a
Grano lechoso	5,7 ab	6,3 bc
Grano pastoso	5,8 ab	2,5 c
p-valor	*	**
EEM	0,23	1,05

^{a,b,c} Medias con distinta letra para una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EEM: Error Estándar de la Media.

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Estado fenológico: Veg: Vegetativo; Eem: Espiga embuchada; Ant: Antesis; Gle: Grano Lechoso; Gpa: Grano Pastoso.

4.5.2 EXPERIMENTO II

4.5.2.1 Valor nutricional de ensilajes

Las variables MS, FDA, LDA, no mostraron interacción *Trébol x Grano*, por lo cual se analizaron para cada factor en el conjunto de datos (Tabla 4.7). Para los contenidos de FDA y LDA se encontraron similitudes entre los tratamientos. Una mayor participación de trébol en los ensilajes, redujo el contenido de FDA de 39,1 a 37,3%, para T0 y T40 respectivamente, pero aumentó el contenido de LDA de 4,1 a 5,1, para T0 y T40, respectivamente. Los tratamientos, T0 y T20 no mostraron diferencias entre sí para ambas variables. Sin embargo, para T40 se encontró una disminución de 4% en la FDA y un aumento de 23% de LDA, respecto al promedio de T0 y T20. Por otro lado, la adición de grano de avena (G1) generó una disminución en FDA del 15% junto con una disminución de LDA del 18%, respecto de G0.

El contenido de MS de los microsilos se mantuvo constante en relación a la adición de grano, por lo tanto, la corrección realizada con agua para mantener el nivel de MS resultó adecuada. Sin embargo, realizando la comparación de acuerdo a la inclusión de trébol, se encontró un aumento del 5% en MS para T40, respecto a T0.

Tabla 4.7 Fibra Detergente Ácido (FDA), Lignina en Detergente Ácido (LDA) y contenido de materia seca (MS) en microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.

Factor	FDA, %	LDA, %	MS, %
<i>Trébol</i>			
T0	39,1 a	4,1 a	37,2 a
T20	38,6 a	4,2 a	37,9 ab
T40	37,3 b	5,1 b	39,2 b
valor p	**	**	*
EEM	0,31	0,11	0,55
<i>Grano</i>			
G0	41,4 a	4,9 a	37,6
G1	35,3 b	4,0 b	38,6
p-valor	**	**	ns
EEM	0,25	0,09	0,45

^{a,b,c} Medias con distinta letra para una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EEM: Error Estándar de la Media.

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

T0: control, agropiro puro, T20: relación 20:80 trébol:agropiro y T40: relación 40:60 trébol:agropiro. G0: sin grano de avena; G1: relación 30:70 grano de avena:ensilaje.

Las variables que mostraron interacción *Trébol x Grano* se muestran en la Tabla 4.8. Por lo tanto, el análisis se hace para cada factor por separado. El rango de valores para PB fue 6,3 a 10,9%. En general, a medida que aumentó la participación de trébol y grano de avena, el contenido de PB fue mayor. En T40 con grano se encontró el mayor valor (10,9 %) y en T0 sin grano el valor resultó mínimo (6,3%). Se diferenciaron las tres relaciones trébol:agropiro entre sí, para ambas dosis de grano (G0 y G1). La interacción surge por el hecho que el aumento en PB generado por la adición de grano va disminuyendo a medida que aumenta la participación de trébol en la mezcla. En T0, la adición de grano aumenta un 44% el contenido de PB, mientras que en T20 y T40 el aumento es de 23 y 10%, respectivamente.

El rango de valores de FDN osciló entre 60,3 y 72,5 %. El contenido de FDN resultó ser menor, a medida que aumenta la dosis de trébol y grano. En T0 sin grano se encontró la mayor concentración de FDN (72,5%), mientras que T40 con grano se registró el valor mínimo entre todos los tratamientos (60,3%). Sin la adición de grano se diferenciaron todas las dosis de trébol, mientras, con grano solo se diferenció T0 de T40, siendo el nivel intermedio (T20) similar a los anteriores. Tal como sucedió con PB, a medida que aumenta la participación de trébol las diferencias en FDN entre dosis de grano disminuyen. En T0 la incorporación de grano disminuye un 13% el contenido de FDN, mientras que en T20 y T40 la disminución es de 11 y 7%, respectivamente.

Para CNES el rango de valores obtenidos fue de 2,5 a 15,3%. Sin grano, a medida que aumentó la participación de trébol, aumentó el contenido de CNES, desde 2,5 a 4,3%, es decir un 72% de incremento. Por el contrario, ensilajes con grano, la concentración de CNES baja a medida que aumenta la participación de trébol, desde 15,3 a 8,7%, es decir una disminución del 43%.

En cuanto a DIVMS, la incorporación de grano enmascaró el efecto positivo de la aplicación de trébol. Aquellos ensilajes con grano de avena, no se diferenciaron en DIVMS para ninguna dosis de trébol (promedio 56,6% DIVMS para todos los tratamientos con grano de avena). Mientras que en los ensilajes sin grano (G0), T40 presentó mayor DIVMS que T20 (57,9 a 49,3%) y T0 resultó con un valor intermedio (53,4%) sin diferenciarse de los otros dos.

Comparando el agregado de trébol, se observó que la incorporación de grano de avena mejora la DIVMS en los tratamientos con menor cantidad de trébol. Se registra un aumento de 6 y 18% para T0 y T20, respectivamente. Mientras que en T40 no se encuentra un efecto sobre la DIVMS con la incorporación de grano.

Tabla 4.8 Proteína bruta (PB), fibra en detergente neutro (FDN), Carbohidratos No Estructurales Solubles (CNES) y Digestibilidad "in vitro" de la materia seca (DIVMS) en microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.

Factor		PB, %		FDN, %		CNES, %		DIVMS, %	
Trébol	Grano								
T0	G0	6,29	A a	72,45	A a	2,46	A a	53,4	AB a
	G1	9,08	A b	62,97	A b	15,32	A b	56,7	- b
T20	G0	8,25	B a	68,46	B a	3,99	AB a	49,3	B a
	G1	10,16	B b	60,92	AB b	11,94	B b	58,2	- b
T40	G0	9,89	C a	65,27	C a	4,31	B a	57,9	A -
	G1	10,94	C b	60,27	B b	8,71	C b	54,9	- -

^{a,b,c} Medias con distinta letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$); - ($p > 0,05$); Mayúscula compara *Trébol* para cada dosis *Grano* y minúscula compara *Grano* para cada dosis de *Trébol*. T0: control, agropiro puro, T20: relación 20:80 trébol:agropiro y T40: relación 40:60 trébol:agropiro. G0: sin grano de avena; G1: relación 30:70 grano de avena:ensilaje.

4.5.2.2 Parámetros de fermentación en ensilajes

Para las variables N-NH₃/NT y pH no se encontraron interacciones *Trébol* x *Grano* (Tabla 4.9). El pH estuvo afectado tanto por el factor trébol, como grano. A medida que aumentó la participación de trébol en los ensilajes, los valores de pH se incrementaron progresivamente de 3,78 (T0) a 4 (T40). Por su parte la adición de grano generó una disminución en el valor de pH, pasando de 3,92 a 3,87 para G0 y G1, respectivamente.

Por su parte el valor de N-NH₃/NT no presentó diferencia respecto a la participación de la leguminosa en los ensilajes. El rango de valores fue muy estrecho para todos los tratamientos, de 5,1 a 5,2 %. Sin embargo, la adición de grano de avena

(G1) generó un aumento del 22%, respecto al ensilaje sin grano (G0) de 4,6 a 5,6 %, respectivamente.

Tabla 4.9 Nitrógeno amoniacal (N-NH₃/NT) y pH en diferentes microsilos de agropiro alargado con trébol de olor y grano de avena.

Factor	pH	N-NH ₃ /NT%
<i>Trébol</i>		
T0	3,78 a	5,2
T20	3,90 b	5,1
T40	4,00 c	5,1
valor p	**	ns
EEM	0,01	0,1
<i>Grano</i>		
G0	3,92 a	4,6 a
G1	3,87 b	5,6 b
p-valor	**	**
EEM	0,01	0,08

^{a,b,c} Medias con distinta letra para una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EEM: Error Estándar de la Media.

ns: no significativo $p > 0,05$; ** $p < 0,01$

T0: control, agropiro puro, T20: relación 20:80 trébol:agropiro y

T40: relación 40:60 trébol:agropiro. G0: sin grano de avena; G1: relación 30:70 grano de avena:ensilaje.

4.5.2.3 Análisis de Componentes principales microsilos de agropiro con la inclusión de trébol de olor y grano de avena

La Tabla 4.10 muestra, para los microsilos de agropiro con diferentes proporciones de trébol y grano, la correlación entre las variables seleccionadas y las dos primeras componentes, en conjunto con los porcentajes de reconstrucción de cada variable. Se observa que las variables con fuerte asociación positiva a la CP1 son FDN y FDA, mientras que CNES, N-NH₃/NT y PB se asocian negativamente con la CP1. Por su parte, la CP2 se asocia positivamente con pH, LDA y MS, aunque algo más débil para las últimas dos.

En la Figura 4.3 se observa el biplot de los microsilos en estudio, se observó un agrupamiento según tratamientos. Los puntos representan ensilajes de agropiro alargado con diferentes dosis de trébol de olor y grano de avena (presencia de grano señalada en círculos y dosis de trébol señalada con triángulo) y las variables de composición química analizadas como vectores. El porcentaje de reconstrucción de las dos primeras componentes es de 78,1%.

Tabla 4.10 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para la composición química de ensilajes de agropiro puro y con adición de trébol de olor y grano de avena durante la confección.

Variables	CP 1	CP 2	% reconstrucción entre CP1 y CP2
MS, %	-0,4	0,57	0,4849
FDN, %	0,93	-0,29	0,949
FDA, %	0,96	-0,01	0,9217
LDA, %	0,55	0,73	0,8354
DIVMS, %	-0,53	0,18	0,3133
PB, %	-0,77	0,53	0,8738
CNES, %	-0,89	-0,38	0,9365
N-NH ₃ /NT	-0,84	-0,27	0,7785
pH	0,04	0,97	0,9425

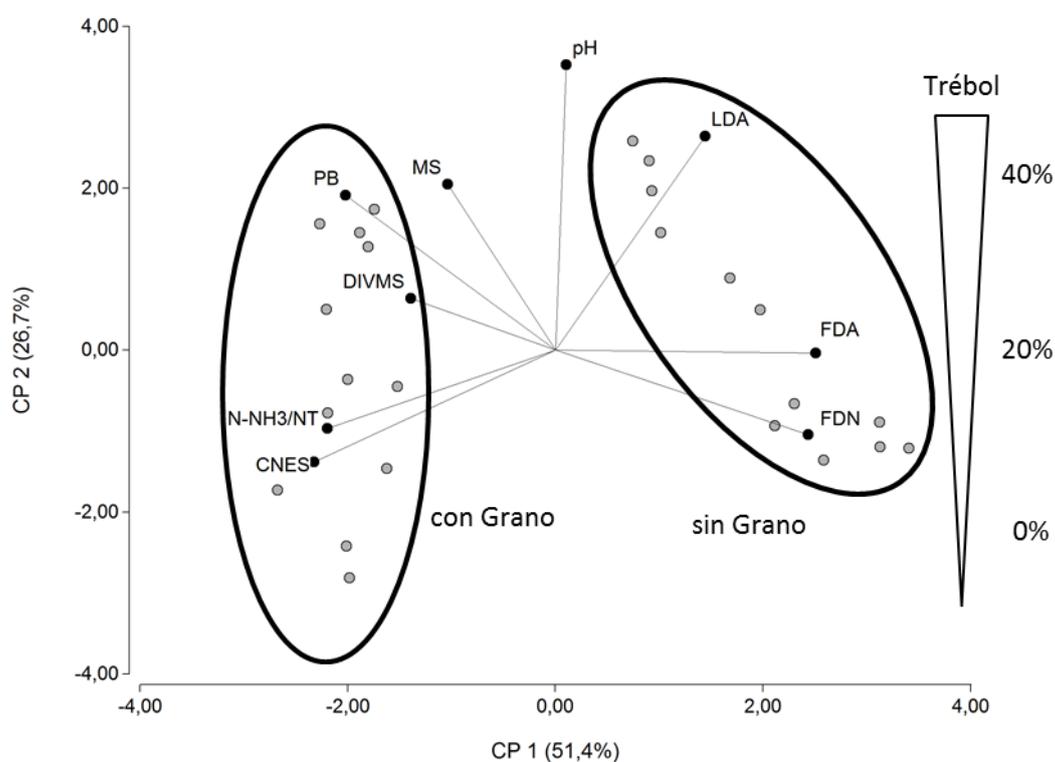


Figura 4.3 Biplot de los ensilajes de agropiro, con la incorporación de grano de avena (encerrados en círculos) y dosis crecientes de trébol de olor en la confección (señalada con el triángulo). Los puntos representan cada microsilo, en vectores las variables de composición química estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales.

4.6 DISCUSIÓN

4.6.1 EXPERIMENTO I

4.6.1.1 Características de la pastura

Se puede considerar que la disponibilidad hídrica no fue limitante para el crecimiento de la pastura, al menos durante el período más crítico. Es decir, durante el cuatrimestre de agosto-noviembre se registraron 276 mm de precipitación. Estos valores estuvieron levemente por encima del promedio histórico para la región.

De esta manera, se registraron valores máximos de producción forrajera de 3455 kg MS h⁻¹ en promedio para los tres últimos cortes. Desde el inicio del ensayo hasta alcanzar el estado fenológico de antesis, se obtuvo la máxima tasa de crecimiento de la pastura (19,7 kg MS ha⁻¹ día⁻¹). En los meses de primavera se concentra la producción forrajera de agropiro. Gargano et al. (1988a) obtuvieron durante dos ciclos de crecimiento de agropiro un rendimiento de biomasa total en primavera de 3300 kg MS ha⁻¹. De modo que podrían establecerse como valor mínimo de producción aproximadamente 3,3 a 3,4 Ton MS ha⁻¹.

A lo largo de los diferentes estados fenológicos la biomasa forrajera va en aumento, mientras que el valor de DIVMS disminuye. El valor de DIVMS tiene un fuerte efecto sobre la capacidad de consumo de ese recurso (Huhtanen, 2007). La materia seca digestible, que refleja la disponibilidad de nutrientes potencialmente utilizables por el animal por unidad de superficie, notamos que la misma aumenta progresivamente desde Veg hasta Ant (inclusive). Luego se mantiene relativamente constante hasta el fin de la madurez.

Por otro lado, evaluando el contenido de CNES en las plantas de agropiro, mediante una regresión que combina la concentración de tallo y el contenido de CNES, se encuentra una máxima concentración de CNES entre 30 y 40% de tallos. Estas proporciones se registraron en Ant. Jafari et al., (2010) sobre un promedio de 22 materiales de agropiro, también encontraron las máximas concentraciones de CNES (14%) en antesis. Dado que la concentración de tallo es de fácil y rápida determinación a campo, su utilización durante el crecimiento de la pastura, podría resultar de utilidad como indicador de calidad de ensilaje. Los CNES son importantes en la realización de reservas forrajeras, sobre todo cuando se trata de ensilajes, dado que el proceso fermentativo demanda sustratos disponibles para las bacterias lácticas. El contenido máximo de CNES del agropiro resultó aproximadamente 12% en Ant.

Durante el período de crecimiento evaluado, no se registró una variación en el número de macollos totales. La densidad de macollos con la que se trabajó (≈ 430 macollos m⁻²) fue mucho menor que los obtenidos por Agnusdei *et al.* (2006) para la localidad de Balcarce (3408 macollos m⁻²), aunque fueron similares a las obtenidas por Salguez y Lutz (2008a) para Bahía Blanca, donde encontraron densidades de 887 y 109 macollos m⁻² para primavera y verano, respectivamente. Claramente esta diferencia puede atribuirse al contraste medioambiental debido a la marginalidad de Bahía Blanca

con respecto a Balcarce. El reducido número de macollos en Bahía Blanca puede deberse a la baja disponibilidad de nutrientes minerales (Agnusdei *et al.*, 2006), pero también a la baja capacidad de retención de humedad del suelo y limitaciones hídricas propias de la región.

Durante el fin del ensayo en Gpa, se registró una caída en número de macollos reproductivos y la proporción de macollos reproductivos. La mayor ocurrencia de muerte de macollos se produce en la fase de emergencia de espigas y maduración de los frutos, donde se encontró que el 53% de los macollos mueren (Salguez y Lutz, 2008a). La proporción de macollos reproductivos fue del 29% en Ant, resultando similar a lo hallado por Salguez y Lutz (2008b), con 30% de espigas emergidas.

La biomasa de lámina registró una producción relativamente constante en comparación con biomasa tallo que incrementó significativamente a medida que la planta avanzó hacia madurez. Considerando la vida media foliar de agropiro alargado en un rango de 450-500 grados día (Harkes, 2011; Borrajo y Alonso, 2015), encontramos que fueron cumplidos prácticamente desde el primer corte en Veg. Por eso, a partir de Veg, la tasa de aparición y senescencia de láminas se tendieron a igualar. El proceso de aparición y crecimiento de nuevas hojas se da en forma simultánea con la desaparición y muerte de láminas producto de la senescencia, una vez cumplida la vida media foliar. Este proceso de aparición y senescencia fue estudiado en varias especies de gramíneas forrajeras (Donaghy *et al.*, 2008; Lattanzi *et al.*, 2007; Callow *et al.*, 2003). Una vez cumplida la vida media foliar, el macollo llega a un número máximo de hojas vivas. Transcurrido este período de tiempo, comienza una caída marcada en la calidad nutritiva (Fulkerson y Donaghy, 2001) por acumulación de biomasa y aumento de longitud entre hojas sucesivas (Di Marco y Agnusdei, 2010). Por lo tanto, no resultaría conveniente atrasar la defoliación más allá de Ant, ya que se llega al máximo de biomasa. Obtener una máxima biomasa en la pastura permite diluir los costos de confección de la reserva.

4.6.1.2 Valor nutricional en heno y ensilaje

Una de las principales premisas de la conservación de forrajes es, mantener de la mejor manera posible la composición química del material que le dio origen. En el presente estudio, el heno tuvo menos diferencias de valor nutricional con la pastura que le dio origen, que el ensilaje. La mayor fuente de variación estuvo dada por el estado fenológico de la pastura al momento del corte y en menor medida por el tipo de reserva elaborada. En concordancia con trabajos previos (Dawson *et al.*, 2000; Keady *et al.*, 2000), a medida que avanzó el período de crecimiento aumentaron los contenidos de MS, FDN, FDA, mientras que disminuyó la DIVMS y la PB.

El ensilaje en Gpa no resultó en un buen proceso de fermentación ya que presentó condiciones propicias para invasión por hongos. El desarrollo fúngico puede atribuirse al elevado contenido de materia seca (60%), que no generó una actividad fermentativa

suficiente para bajar el pH lo suficiente para la conservación del forraje. De acuerdo con Knotek (1997), es necesario que el material a ensilar contenga de 32 a 38% de MS para asegurar una buena calidad del producto final. En el presente estudio solo Veg y Eem estuvieron dentro del rango considerado adecuado por Knotek (1997), aunque el corte en Ant con un valor de 40,8 % MS, tampoco mostró evidencia de deterioro. En Gle y Gpa los valores de MS estuvieron muy por encima del rango sugerido. Valores altos de MS resultan ensilajes difíciles de compactar para eliminar el oxígeno, por lo tanto, los procesos aeróbicos continúan por más tiempo, resultando en pérdidas oxidativas de compuestos solubles y desarrollo de hongos (Bijelić *et al.*, 2015).

El contenido de MS estuvo fuertemente influenciado por el estado fenológico. La humedad del forraje es uno de los principales factores que afecta la calidad del heno y del ensilaje. La actividad de las bacterias ácido lácticas, responsable de la bajada de pH, disminuye con el incremento en el contenido de MS (Pitt *et al.*, 1985). La fermentación ácido láctica puede inhibir el desarrollo de microorganismos indeseables como *Enterobacterias* y *Clostridium spp.* Estas bacterias indeseables producen ácido butírico y aceleran la proteólisis disminuyendo la palatabilidad y el valor nutricional de los ensilajes (Wang *et al.*, 2017). Además, el contenido de humedad afecta el pH crítico para evitar el desarrollo de estos microorganismos indeseables. Según Weissbach y Honig (1996) para estabilizar el ensilaje de 35 y 45% MS el pH requerido es 4,6 y 4,85, respectivamente. La mayor parte de los *Clostridium* no proliferan a pH menores de 5, aunque hay algunas especies que pueden crecer a bajos pH, pero rara vez por debajo de 4,5 (Drouin y Lafreniere, 2012). En el presente estudio, en Eem y Ant se encontraron los menores valores de pH, cercanos a dicho límite de 5.

En un ensayo de Viviani Rossi *et al.*, (1998) se observaron valores de 40% MS y pH de 5,47 para ensilajes de agropiro alargado puro cortados el día 30/12 (100% espigazón, equivalente con Ant del presente ensayo). Dichos autores sugieren además que ensilajes en estado vegetativo verán afectado su utilización debido a un elevado pH y alto N amoniacal, este último como consecuencia de la degradación de compuestos nitrogenados.

El aumento de N-NH₃/NT expresa la degradación de proteínas por actividad proteolítica, decarboxilación y desaminación de aminoácidos durante el proceso de fermentación del forraje (Scherer *et al.*, 2015). Según la AFRC (1987) por debajo de 10% (N-NH₃/NT) el ensilaje es considerado como "muy bueno", mientras que por encima de 10% hasta 15% se considera "bueno". Por lo tanto, los ensilajes que presentaron mayor disminución de pH, producto de la actividad fermentativa, no generaron valores elevados de N-NH₃/NT. En el presente ensayo el valor de N-NH₃/NT fue disminuyendo a medida que avanzó el período de madurez. Tendencias similares encontraron Bijelić *et al.* (2015), Kuoppala *et al.* (2008) y King *et al.* (2012) que establecieron que el contenido de N-NH₃/NT fue significativamente mayor en ensilajes en etapas tempranas de desarrollo.

Por otro lado, se encontró una correlación fuertemente negativa del $N-NH_3/NT$ con el contenido de CNES y MS del forraje. Indicando un proceso de fermentación deficiente en ensilajes con alto contenido de MS y bajo CNES (Gle y Gpa). Como el $N-NH_3/NT$ está también relacionado con la cantidad inicial de proteína, no resultaría deseable un bajo valor de N amoniacal, producto de un bajo contenido de PB en el ensilaje. Baja PB en el ensilaje resulta en menor disponibilidad de nutrientes para la producción ganadera. Por lo tanto, es deseable maximizar la PB del ensilaje sin que esto repercuta en un aumento considerable del $N-NH_3/NT$.

El contenido de PB mínimo que garantice el crecimiento y mantenimiento de los microorganismos de rumen y no limite el consumo voluntario es 6-8% (Cochran, 1995). Hasta el estado de Ant el agropiro supera y cumple el mínimo valor de PB citado anteriormente. Luego, en Gle y Gpa los niveles caen por debajo del mínimo recomendado, no llegando a cubrir los mínimos requerimientos de una vaca de cría. Similares contenidos de PB fueron reportados por Perrone *et al.* (2013) trabajando con heno de agropiro, donde observaron contenidos de 6,2% PB y 75% FDN. En dicho trabajo, las vacas que consumieron exclusivamente rollo de agropiro, durante el último tercio de gestación, perdieron peso a razón de 280 g día⁻¹. Similares contenidos de PB encontraron Fernández Rosso *et al.*, (2010) en la localidad de Balcarce con valores de 7% de PB para estado de semillazón.

El contenido de PB es uno de los criterios más importantes para evaluar la calidad de los forrajes (Caballero *et al.*, 1995; Assefa y Ledin, 2001). Considerando el tipo de reserva en estudio, encontramos que el mismo no afectó la concentración de PB original. Dado que en los ensilajes la degradación de la proteína fue baja, como se menciona anteriormente (medido por la baja relación $N-NH_3/NT$), puede establecerse que ambos tipos de reserva sostuvieron el contenido de PB original.

Como se discutió previamente, el avance del estado fenológico generó un aumento en la biomasa acumulada. La acumulación de biomasa es uno de los factores principales que determinan el valor nutritivo de la pastura, porque aumenta los componentes estructurales de la planta, que garantizan el sostén y permiten la actividad fotosintética en la cubierta vegetal. Estos tejidos de sostén se caracterizan por tener bajo contenido celular y paredes gruesas lignificadas (Wilson, 1997). En general, la concentración total de la pared celular del forraje aumenta a medida que la proporción de hoja a tallo se desplaza hacia una mayor proporción de tallo (Jung y Deetz, 1993). Sin embargo, no se encontraron grandes cambios entre los estados fenológicos sobre el contenido de FDN (de 68,2 a 71,5 % para el promedio de reservas en Veg y Gpa, respectivamente). Aunque no se evaluó en este estudio, posiblemente el efecto del avance en madurez sea más notable en la disminución de la digestibilidad de FDN, ya que se incrementó de manera significativa el contenido de LDA (3,1 a 6,0 % para Veg y Gpa, respectivamente). Agnusdei *et al.* (2009) y Avila *et al.* (2010) observaron una disminución de la digestibilidad de FDN en hojas de gramíneas C4 con la edad, aun, sin haberse diferenciado en los contenidos de FDN.

Los valores constantes de FDN durante toda la vida foliar concuerdan con lo observado por Harkes (2011) con agropiro alargado. La deposición de materia seca y de fibra solo tiene lugar en la zona de crecimiento, o sea mientras la lámina está creciendo dentro del tubo de vainas (Mac Adam; Nelson, 1987; Schnyder *et al.*, 1987; Maurice, *et al.*, 1997). Como la vida media foliar ya se cumplió desde el primer corte en Veg, y se igualan las tasas de aparición y senescencia foliar, no se obtienen diferencias en FDN a partir de Ant.

Existe un proceso asociado a los ensilajes, que es la desaparición de los compuestos solubles (azúcares principalmente), debido a los requerimientos que tienen las bacterias ácido lácticas para producir la fermentación y disminución de pH (McDonald *et al.*, 1991). Ante la desaparición de los compuestos solubles, aumenta relativamente la participación de los insolubles como LDA (*i.e.* 5 a 5,8% para el promedio en heno y ensilaje, respectivamente) y FDA (*i.e.* 38,5 a 40,1 % en Eem para heno y ensilaje, respectivamente).

Los mayores contenidos de CNES en ensilajes en los últimos cortes podrían deberse a la baja actividad de las bacterias ácido lácticas (Brunette *et al.*, 2016) que no encuentran sustrato disponible para la fermentación. Se encontraron menos diferencias en CNES para el heno que para el ensilaje, cuando se lo compara con la pastura. En heno se encontró una merma en CNES solo en Eem y Ant, mientras que, para los ensilajes en todos los estados fenológicos evaluados, los CNES fueron menores que el material original. Siendo además estas diferencias de mayor magnitud. El contenido de CNES en ensilajes fueron similares a los reportados previamente por Viviani Rossi *et al.* (1998) en estudios previos para agropiro alargado puro (1,1%) en similares fechas de corte.

En general, esos compuestos solubles tienen alta digestibilidad, por ello los ensilajes presentan menor valor de DIVMS, respecto a la pastura y heno. La DIVMS en ensilajes fue 9% menor respecto al heno, para todos los estados fenológicos. A su vez, los CNES en ensilajes se correlacionaron negativamente con la DIVMS, PB, N-NH₃/NT y MS.

El valor de DIVMS encontrado para la pastura de agropiro bajo (50,3%) en comparación con 60,6% encontrado por Gargano *et al.* (1988b) para agropiro con similar frecuencia de corte, aunque con aplicación de fertilizante nitrogenado (60 kg ha⁻¹). Sin embargo, resultó superior al rango de 40,7 a 35,9% encontrado por Jafari *et al.*, (2010) para el promedio de 22 poblaciones de agropiro en estado vegetativo y grano maduro, respectivamente.

Como la calidad, desde el punto de vista nutricional para las gramíneas en general, y para el agropiro, en el presente estudio, declina a medida que avanza el período de madurez, no habría justificación alguna para realizar el corte de forraje en estadios posteriores a la máxima producción de forraje. Estableciéndose así un límite máximo de corte en Ant. Si bien se podrían confeccionar reservas anticipadamente a fin de aumentar la calidad, no resultaría recomendable realizar un ensilaje de agropiro en estado vegetativo debido a las dificultades para generar una fermentación adecuada por

los mayores contenidos relativos de PB y bajas concentraciones de CNES. Por lo tanto, desde el punto de vista nutricional y parámetros de fermentación queda una ventana de corte más amplia para henificación desde estado vegetativo hasta antesis, mientras que para ensilaje el período óptimo va desde espiga embuchada a antesis.

Teniendo en cuenta que una de los modos más eficientes de aprovechamiento del agropiro alargado es mediante pastoreo rotativo, el conocimiento de los diferentes factores que influyen en la realización de una reserva adecuada, ya sea heno o ensilaje, resulta importante para el aprovechamiento de los excedentes forrajeros.

4.6.2 EXPERIMENTO II

4.6.2.1 Valor nutricional de ensilajes

El agregado de grano de avena generó cambios de mayor magnitud que la incorporación de trébol de olor sobre el valor nutricional y los parámetros fermentativos de los ensilajes. En general, tanto el agregado de grano como de trébol disminuyeron los contenidos de pared celular (FDN, FDA) y aumentaron los niveles de PB y CNES.

La incorporación de grano de avena en el momento de la confección del ensilaje resultó efectiva para disminuir los contenidos de FDN, FDA y LDA. Dicha disminución sería producto de un efecto de dilución de la fracción fibrosa por incorporación de un componente de menor contenido de fibra, dado que la concentración de FDN fue 35,0 y 63,8% para el grano y agropiro al momento de corte, respectivamente.

El contenido de FDN de agropiro en el presente ensayo fue un 11,5% menor, que el 72,1% correspondiente a la pastura (antesis) del EXP I. La diferencia puede deberse a la mayor densidad de macollos en agropiro del presente ensayo, que tuvo una mayor frecuencia de defoliación previa al experimento en comparación al agropiro del EXP I. El aumento en la intensidad de defoliación afecta el número y peso de los macollos de las gramíneas (Yu, *et al.*, 2008; Matthew *et al.*, 1995) pudiendo impactar en el contenido de pared celular.

Por otro lado, la participación de trébol también contribuyó a diluir la fracción fibrosa del ensilaje, ya que el trébol tuvo 45,6% de FDN. En leguminosas, la determinación de la FDN puede subestimar el verdadero contenido de pared celular, ya que las pectinas que componen del 11 al 22% de la pared celular de tallos, son solubilizadas (Wilson, 1990). De todas maneras, los contenidos de FDN son generalmente más bajos en las leguminosas que gramíneas (Elgersma y Sørensen, 2016).

En cuanto a la DIVMS, no se observó un cambio significativo debido a la participación de trébol en el ensilaje. Los cambios que ocurren en la digestibilidad están influenciados por las especies que componen la mezcla (Sørensen y Weisbjerg, 2007). Se sabe que la lignina se localiza de manera diferente en la pared celular de leguminosas y gramíneas, y las leguminosas pueden tener un contenido de LDA mayor que las gramíneas con igual digestibilidad (Elgersma y Sørensen, 2017). De hecho, la

digestibilidad de las leguminosas es menor ya que la fibra se halla más lignificada (Buxton y Redfearn, 1997). Este mayor contenido de lignina de las leguminosas se observó en el aumento de LDA con altas dosis de trébol en la mezcla. En este caso el trébol tuvo 6,7 y el agropiro 4,8% de LDA, antes de ensilar.

La adición de grano, aumento la DIVMS, en T0 y T20. Dicho aumento puede deberse a la mayor DIVMS que poseen los granos de cereales respecto al forraje (NRC, 2001). Ceconi (2010) y Manyawu *et al.*, (2003) también encontraron aumentos de DIVMS cuando se incorporan granos de cereales de ensilajes de pasturas. Sin embargo, resulta importante destacar que no hubo efecto, sobre la DIVMS en T40 debida a la presencia de grano. Posiblemente el efecto positivo del grano observado para T0 y T20, se vea contrarrestado por la mayor presencia de LDA por alta proporción de trébol en la mezcla. La lignificación es generalmente considerada como el factor dominante que limita el grado de degradación de los polisacáridos de la pared celular (Satter *et al.*, 1999). Numerosos estudios *in vitro* han mostrado que los monómeros fenólicos son tóxicos para las bacterias del rumen (Akin, 1982).

La incorporación de trébol aumenta el contenido de PB del ensilaje, como lo reportado por diversos autores que trabajan con ensilaje de leguminosas (Bijelić *et al.*, 2015; Halmemies *et al.*, 2014; Huhtanen *et al.*, 2007). Como las leguminosas tienen relativamente baja concentración de CNES y alta capacidad buffer, el proceso de fermentación es más complicado comparado a las gramíneas (McDonald *et al.*, 1991; Bureenok *et al.*, 2016). Por esta razón se encontró que el pH aumentó progresivamente con la dosis de trébol. Sin embargo, con la mayor dosis de trébol, el pH continúa siendo bajo (alrededor de 4). Vale recordar que en el presente ensayo se utilizó un inoculante (Feedtech™ F20), del tipo homofermentativo. Los valores de pH se encuentran dentro del rango considerado "muy bueno" por Pavia (1976) para todos los ensilajes.

La aplicación de trébol no afectó la relación N-NH₃/NT, es decir la proteólisis no aumentó con la incorporación de la leguminosa. Bijelić *et al.* (2015) tampoco encontraron diferencias cuando incorporaron alfalfa a ensilajes de pasturas de gramíneas. Por otro lado, la incorporación de grano de avena también aumento el contenido de PB, aunque en este caso acompañado por un aumento de N-NH₃/NT. Este efecto posiblemente de deba a que la incorporación de grano, indefectiblemente reduce la proporción de agropiro al ensilaje. Teniendo en cuenta que el agropiro tuvo menor PB (6,1%) que el grano de avena (15,7%), el ensilaje que incluye grano incorporó mayor cantidad de PB, y con ella aumentó la capacidad buffer, dificultando la caída de pH. Manyawu *et al.* (2003), no encontró un efecto sobre el N-NH₃/NT, cuando aplico harina de maíz en (baja proporción 15%) sobre ensilaje de una gramínea tropical con similar contenido de PB que el grano.

En un estudio de Córdoba (2016), la incorporación de nitrógeno no proteico (UREA) en dosis de 1,23% MS en el momento de la confección de ensilajes de agropiro, provocó un aumento en N-NH₃/NT y pH final de ensilajes de agropiro. Sin embargo, esas pérdidas fueron disminuidas cuando se incorporó una fuente de carbohidratos a partir

de grano de avena en el momento de la confección. De todos modos, los valores de $N-NH_3/NT$ estuvieron dentro del rango mínimo encontrado por Yan and Agnew (2008) para ensilajes de pasturas.

En cuanto al contenido de CNES, los microsilos sin grano aumentaron la concentración de CNES con la dosis de trébol (de 2,5 a 4,3% para T0 y T40, respectivamente), ya que el trébol aporta más CNES que el agropiro en el momento de la confección. De todos modos, el nivel de CNES se ubicó en niveles debajo de los microsilos con aplicación de grano (15,3 a 8,7% para T0 y T40, respectivamente). Con aplicación de grano de avena, la concentración de CNES en los microsilos fue disminuyendo a medida que aumentó la participación de trébol en la mezcla. Observando T0 con grano, vemos que la concentración de CNES final en el ensilaje es 15,3%. Este contenido resulta mayor a 3,7 y 8,2% CNES de agropiro y grano de avena al momento de ensilar.

Contenidos de CNES del 10 al 15% en la dieta de los animales pueden disminuir la digestión de la fibra a nivel ruminal, sin embargo, los mayores efectos se observan a partir de contenidos de CNES por encima del 30% de la materia seca consumida (Hoover, 1986). Por lo tanto, no se esperaría un efecto negativo sobre la digestión de la fibra en los ensilajes obtenidos. Por el contrario, los carbohidratos solubles pueden mejorar el equilibrio y la sincronía del carbono y el nitrógeno en el rumen (Miller *et al.*, 2001), aumentando la producción de proteínas microbianas y la productividad animal (Parsons *Et al.*, 2011)

El proceso de ensilaje consume azúcares solubles para la fermentación bacteriana. A pesar de ello, la mayor concentración final de CNES en T0 con grano podría deberse a que polisacáridos no estructurales (carbohidratos de reserva) y estructurales, provenientes principalmente del grano, pueden potencialmente ser usados para proveer monosacáridos como sustrato para la fermentación bacteriana. El desafío consiste en convertir estos polisacáridos, al menos parcialmente, en sustratos fermentables para producir características deseables (Rooke y Hatfield, 2003). Hay cuatro clases generales de enzimas en ensilajes, endo-, exo-, glicosidasas e hidrolasas desramificantes. Todas ellas involucradas en la degradación de carbohidratos complejos (Matheson y McCleary, 1985). No se midió la actividad de dichas enzimas, pero se estima que esta hidrólisis de polisacáridos complejos es la responsable de los altos niveles de CNES encontrados luego de la apertura de los microsilos con grano.

Estudios relacionados indican que durante el proceso de ensilaje la concentración de almidón baja (Melvin, 1965; Muck, 1990; Bai *et al.*, 2011) debido a la hidrólisis enzimática y los azúcares liberados son utilizados por los microorganismos para continuar bajando el pH hasta un valor estable. Como las leguminosas tiene mayor capacidad buffer que las gramíneas requieren de mayor cantidad de CNES para estabilizar el pH. Debido a ello observamos una disminución de los CNES a medida que aumenta la participación de trébol de olor en ensilaje que contienen grano de avena. Jones (1988) encontró menor recuperación de almidón proveniente de grano de avena

(93,5%) en comparación a grano de cebada (100%) cuando estos granos fueron introducidos a ensilajes.

Actualmente existe un gran desarrollo tecnológico basando en enzimas capaces de degradar polisacáridos complejos, principalmente impulsados por la industria de los biocombustibles. Los monosacáridos fácilmente fermentecibles son el sustrato ideal para la fabricación de bioetanol.

La utilización de granos de cereales en los ensilajes tiene un uso potencial con el objetivo de mitigación de gases de efecto invernadero. Pueden disminuir las emisiones de CH₄. En un estudio de Gastelen *et al.* (2015) encontraron menores producciones de CH₄ cuando ensilajes de pasturas fueron reemplazados por ensilajes de maíz, mientras que Hatew *et al.* (2016) encontró menor emisiones de CH₄ con el aumento en la participación de grano, por aumento de madurez en ensilaje de maíz. Esta menor producción de CH₄ puede ser explicada parcialmente por la mayor tasa de pasaje gastrointestinal. Mayores consumos de MS, disminuye el tiempo de permanencia del forraje en el rumen, de este modo reduce el grado de fermentación ruminal, desplazando la digestión hacia el intestino delgado (Aluwong *et al.*, 2011).

En general, disminuciones de CH₄ están asociadas a disminuciones en la proporción de acetato y aumentos de propionato (Johnson y Johnson, 1995). Incrementos en la proporción de propionato son esperables con el aporte de grano de avena en ensilajes porque el consumo de almidón aumenta la proporción de propionato en rumen (Ellis *et al.*, 2008).

Por lo expuesto se encuentra que las mejoras producto de la incorporación de grano y trébol, encontradas en los componentes de la materia seca están asociadas a mejoras en la DIVMS. Resultó significativo el efecto sobre la DIVMS para FDN, FDA, PB y CNES, aunque con coeficientes de correlación bajos ($R^2 = -0,53, -0,41, 0,43$ y $0,44$ para FDN, FDA, PB y CNES, respectivamente). Efectos similares fueron obtenidos por Yan y Agnew, (2008) para ensilajes de pasturas en Irlanda. De lo expuesto, resulta importante destacar las prácticas agronómicas que conduzcan a disminuir los contenidos de FDN y FDA y aumentar los contenidos de PB y CNES en la realización de ensilajes, como objetivos para la mejora del valor nutricional.

4.7 CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos se acepta la hipótesis 1, indicando que el momento de corte óptimo para la confección de ensilaje puro de agropiro se encuentra alrededor de antesis (anteras visibles), donde se maximiza el rendimiento, y se obtienen las mejores características fermentativas. En este estado se cubre los requerimientos nutricionales de animales de requerimientos medios. Sin embargo, se podría realizar un corte más temprano, en espiga embuchada, si se desea mejorar el valor nutricional, aunque se obtendrá menor biomasa. En estado de Grano pastoso se obtiene un ensilaje de agropiro con desarrollo de hongos, mostrando deterioro durante su conservación.

Para la realización de un heno, la ventana de corte se puede ampliar desde estados más tempranos de desarrollo (vegetativo), dependiendo de la categoría a la que se destinará el forraje.

La consociación de trébol de olor blanco y el agregado de grano de avena a ensilajes de agropiro mejoran el valor nutricional del forraje, disminuyendo con la fracción fibrosa y aumentando el contenido de PB y la digestibilidad, permitiendo utilizar el alimento para animales de altos requerimientos. De este modo también se acepta la hipótesis dos.

El ensilaje con trébol de olor blanco hasta el 40% de la MS total, no presentó un problema para la realización de un adecuado ensilaje. De todos modos, el agregado de grano de avena a este ensilaje fue la mejor alternativa, al favorecer características fermentativas.

5. CONCLUSIONES GENERALES

Resulta factible la interseembra de vicia (*Vicia villosa*) o trébol de olor blanco (*Melilotus albus*) sobre pasturas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) en la región semiárida. Se pueden obtener mejoras en el valor nutricional de la pastura, con aumentos de biomasa, con lo cual se obtiene un doble beneficio. Está mejora podría impactar positivamente sobre tasas de consumo voluntario.

Las mejoras del valor nutricional se encuentran principalmente en primavera, donde las leguminosas estudiadas tienen altas tasas de crecimiento. Se encuentran mayores contenidos de PB y LDA y menores valores de FDN y FDA. En general, aunque menos consistente es el efecto sobre la DIVMS. A medida que aumenta la participación de las leguminosas la DIVMS tiende al aumento. Sin embargo, el estado fenológico, de las especies influye mucho sobre el valor resultante.

Se identifica un efecto sobre la fertilidad química dejada en el suelo, principalmente por el aumento en las fracciones particuladas gruesas de la materia orgánica, luego de la inclusión de leguminosas en el sistema. La interseembra de leguminosas resulta una adecuada herramienta de fertilización nitrogenada indirecta sobre pasturas de gramíneas para la región.

El aumento de biomasa en primavera, genera una mayor concentración de la producción forrajera en esta época del año, con lo cual la realización de reservas, heno o ensilaje brindan la posibilidad de aprovechamiento y diferimiento de los excedentes forrajeros. Los verdes de invierno, para nuestra región se cortan alrededor de octubre y noviembre, mientras que los verdes de verano (maíz y sorgo principalmente) se cortan en febrero y marzo. Quedando un período libre de tiempo coincidente con el momento óptimo de corte para agropiro alargado, donde el parque de maquinarias está mayoritariamente ocioso. Por otro lado, la realización de reservas forrajeras, elimina los tallos reproductivos (duros) que tiene el agropiro en esta época del año, facilitando el rebrote posterior de la pastura.

La técnica de ensilaje permite incorporar diferentes aditivos durante la confección. El grano de avena, adicionado al 30% de la MS del ensilaje, mostró ser una alternativa mejoradora de los parámetros fermentativos y nutricionales del ensilaje de agropiro. Resulta factible la realización de ensilaje de la consociación agropiro:trébol de olor blanco (60:40) para aumentar el material a ensilar y el valor nutricional en relación a la gramínea pura.

6. IMPLICANCIAS GENERADAS A PARTIR DEL PRESENTE TRABAJO

Desde el punto de vista ambiental, resultaría interesante una reconversión de los sistemas agropecuarios hacia modelos que aumenten el secuestro de carbono y nitrógeno, utilizando tecnologías de bajo impacto ambiental. Con este marco se proponen una serie de implicancias generadas a partir del presente trabajo:

1. El efecto de complementariedad de nichos encontrado utilizando agropiro con vicia o trébol de olor podría verse incrementado utilizando ambas leguminosas juntas o más de dos especies en la composición de la pastura. Por lo tanto, sería factible maximizar la eficiencia de utilización de los escasos recursos ambientales disponibles, utilizando especies que posean tasa de crecimiento máximas en diferentes momentos del año. También evaluando la presencia de malezas en relación a la eficiencia de captación de esos recursos (agua, luz, nutrientes).

Estudiar los efectos asociativos de las diferentes pasturas consociadas podría abrir la posibilidad de incluir especies de diferentes grupos funcionales (gramíneas y leguminosas, anuales y perennes), permitiendo elaborar novedosas cadenas de pastoreo utilizando especies adaptadas a los sistemas ganaderos de regiones semiáridas.

2. El incremento de producción y valor nutricional del forraje producido a través de las consociaciones de gramíneas y leguminosas en los meses de primavera verano, coinciden con los momentos de mayores demandas de nutrientes (parición-lactancia) en sistemas de cría. Por lo tanto, se podría estudiar el efecto sobre la vaca y el ternero utilizando pasturas de vicia o trébol de olor intersebrados con agropiro vs. monocultivos de agropiro. A su vez, podría también evaluarse la utilización de consociaciones en sistemas ganaderos de engorde, con animales de mayores requerimientos (con o sin suplementación energética). La suplementación energética tiene como fin aprovechar el excedente de PB que se obtiene en consociaciones de vicia o trébol de olor en primavera.

3. Cuantificar la fijación biológica de nitrógeno a través de diferentes técnicas, como la abundancia natural de nitrógeno, o el balance de nitrógeno total (en ensayos de larga duración) para comparar con sistemas basados en fertilizaciones inorgánicas. Incluyendo las externalidades deseables e indeseables que implica cada uno de los sistemas.

4. Actualmente existe un gran avance tecnológico sobre procesos involucrados en la transformación de los hidratos de carbono complejo en moléculas simples de azúcar (por fabricación de bioetanol). El avance tecnológico apunta a estudiar enzimas producidas por microorganismos, en algunos casos mejorados por ingeniería genética, que transforman la celulosa en azúcares más simples. Esta información podría servir de base para la investigación y desarrollo de aditivos específicos sobre ensilajes de materiales forrajeros con alto contenido de hidratos de carbono complejos, como agropiro.

BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C., 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. (17th edition).
- Acosta, J.A. 2009. Dinâmica do nitrogênio sob sistema plantio direto e parâmetros para o manejo da adubação nitrogenada no milho. Doctoral dissertation. Santa Maria, RS. Brasil: Universidade Federal de Santa Maria.
- Adjesiwor, A.T., Islam, M.A., Zheljzkov, V.D., Ritten J.P. y Garcia y Garcia A. 2017. Grass-Legume Seed Mass Ratios and Nitrogen Rates Affect Forage Accumulation, Nutritive Value, and Profitability. *Crop Sci.* 57:2852-2864.
- AFRC. 1987. Technical committee on responses to nutrients report number 2, characterisation of feedstuffs: nitrogen. *Nutrition Abstracts and Reviews (series B)*, v.57, n.12, p.713-736.
- Agnusdei, M.G, Nanning, F.R., Di Marco, O.N. y Aello, M.S. 2009. Variaciones de calidad nutritiva durante el crecimiento vegetativo de gramíneas megatérmicas de diferente porte y longitud foliar (*Chloris gayana* y *Digitaria decumbens*). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 29: 13-25.
- Agnusdei, M.G., Assuero S.G., Fernández Grecco R.C., Cordero J.J. y Burghi V.H. 2007. Influence of sward condition on leaf tissue turnover in tall fescue and tall wheatgrass swards under continuous grazing. *Grass and Forage Sci.* 62:55-65.
- Ahrens, B., Braakhekke, M.C., Guggenberger, G., Schrumpf, M., Reichstein, M. 2015. Contribution of sorption, DOC transport and microbial interactions to the ¹⁴C age of a soil organic carbon profile: insights from a calibrated process model. *Soil Biol Biochem* 88:390-402.
- Akin, D.E. 1982. Forage cell wall degradation and p-coumaric, ferulic, and sinapic acids. *Agron. J.* 74:424-428.
- Albayrak, S., Guler, M. y Tongel, M.O. 2004. Effects of seed rates on forage production and hay quality of vetch-triticale mixtures. *Asian Journal of Plant Sciences* 3:752-756.
- Allden, W.G. y McDWhittaker, I.A. 1970. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Australian journal of agricultural research*, 21(5), 755-766.
- Allen, O.N. y Allen, E.K. 1981. The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press, Wisconsin.
- Allison, C.D. 1985. Factors Affecting Forage Intake by Range Ruminants: A Review. *Journal of Range Management*, Vol. 38(4):305-311.
- Altieri, M. y Nicholls C.I. 1994. Biodiversity and pest management in agroecosystems. Haworth Press, New York. 185 pp.
- Altinok, S., Sampson, H., Martin, R.C. y Papadopoulos, Y.A. 1997. The morphology and yield of barley (*Hordeum vulgare* L.) and forage legumes in intercrops. *Tr. J. Agric. For.* 21: 605-613.

- Aluwong, T., Wuyep, P. y Allam, L. 2011. Livestock-environment interactions: Methane emissions from ruminants. *Afr. J. Biotechnol.* 10:1265-1269.
- Alvarez, C.R., Alvarez, R., Grigera, S., y Lavado, R.S. 1998. Associations between organic matter fractions and the active soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 30:767-773.
- Anderson, C.A. y Divers, T.J. 1983. Systemic granulomatous inflammation in a horse grazing hairy vetch. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 183(5), 569.
- Andrade, F.H., Echeverría, H.E., González, N.S., Uhart S. y Darwich N. 1996. Requerimientos de nitrógeno y fósforo de los cultivos de maíz, girasol y soja. Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce. *Boletín técnico* N° 134. 17 pp.
- Arelovich, H.M., Abney, C.S., Vizcarra, J.A. y Galyean, M.L. 2008. Effects of dietary neutral detergent fiber on intakes of dry matter and net energy by dairy and beef cattle: Analysis of published data. *The Professional Animal Scientist* 24, 375-383.
- Armstrong, R.D., Kuskopf, B.J., Millar, G., Whitbread, A.M. y Standley, J. 1999. Changes in soil chemical and physical properties following legumes and opportunity cropping on a cracking clay soil. *Anim Prod Sci* 39(4):445-456.
- Arshad, M.A., Franzluebbers, A.J. y Azooz, R.H. 2004. Surface soil structural properties under grass and cereal production on a Mollic Cyroboralf in Canada. *Soil Till. Res.* 77, 15-23.
- Asay, K.H. y Jensen K.B. 1996. Wheatgrasses, En: L.E. Moser, D.R. Buxton, M.D. Casler (Eds.), *Cool-season Forage Grasses*, Agronomy Monograph no. 34. pp. 691-724.
- Ashworth, A.J., Allen, F.L., Keyser, P.D., Tyler, D.D., Saxton, A.M., y Taylor, A.M. 2015. Switchgrass yield and stand dynamics from legume intercropping based on seeding rate and harvest management. *Journal of Soil and Water Conservation*, 70(6):374-384.
- Avila, R.E.; Di Marco, O.N.; Agnusdei, M.G.; Mayoral, C. 2010. Digestibilidad de la fibra y materia seca de dos gramíneas megatermicas (*Chloris gayana* y *Cenchrus ciliaris*) de diferente porte. Relación con la edad y largo foliar. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 30:1-13.
- Ayed, H.M., Gonzalez, J., Caballero, R. y Alvir, M.R. 2001. Effects of maturity on nutritive value of field-cured hays from common vetch and hairy vetch. *Anim. Res.* 50, 31-42.
- Ayres, E., Dromph, K.M., Cook, R., Ostle, N. y Bardgett, R.D. 2007. The influence of below-ground herbivory and defoliation of a legume on nitrogen transfer to neighbouring plants. *Functional Ecology*, 21(2), 256-263.
- Bai, C., Zhang, R., Jiang, C., Yan, R., Han, J., Zhu, Y. y Zhang, Y. 2011. Characterization of carbohydrate fractions and fermentation quality in ensiled alfalfa treated with different additives. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(48) 9958-9968.
- Bailey, C.R. y Duff, G.C., 2005. Protein requirements of finishing beef cattle. In: *Proc. Southwest Nutrition Conference*, Tucson, Arizona, pp. 78-85.

- Baxter, L.L., West, C.P., Brown, C.P. y Green, P.E. 2017. Stocker Beef Production on Low-Water-Input Systems in Response to Legume Inclusion: I. Forage and Animal Responses. *Crop Science* 57:2294-2302.
- Bedoussac, L., Justes, E. 2010. The efficiency of a durum wheat-winter pea intercrop to improve yield and wheat grain protein concentration depends on N availability during early growth. *Plant Soil* 330:19-35.
- Bedoussac, L., Journet, E. P., Hauggaard-Nielsen, H., Naudin, C., Corre-Hellou, G. y Jensen, E. S. 2015. Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agronomy for sustainable development*, 35(3), 911-935.
- Benbi, D.K., Brar, K., Toor, A.S., Singh, P. 2015. Total and labile pools of soil organic carbon in cultivated and undisturbed soils in northern India. *Geoderma*: 237-238,149-158.
- Bendi, D.K., Toor, A.S. y Kumar, S. 2012. Management of organic amendments in rice-wheat cropping system determines the pool where carbón is sequestered. *Plant Soil*. 360(1-2):154-162.
- Bertilsson, J. y Murphy, M. 2003. Effects of feeding clover silages on feed intake, milk production and digestion in dairy cows. *Grass and Forage Science* 58, 309-322.
- Blaser, R.E., Stringer, W.C., Rayburn, E.B., Fontenot, J.P., Hammes, Jr. R.C. y Bryant. H.T. 1977. Forage-Fed Beef, Production and Marketing Alternatives in the South. *Southern Cooperative Series, Bull.* 220.
- Boddey, R.M., Jantalia, C.P., Zotarelli, L., Aimée, O., Alves, B.J.R., Urquiaga, S., Amado, T.J.C., 2008. Nutrient mining or carbon sequestration? BFN inputs can make the difference. In: Dakora, F., Chimphango, S.B.M., Valentine, A.J., Elmerich, C., Newton, W.E. (Eds.), *Biological Nitrogen Fixation: Towards Poverty Alleviation Through Sustainable Agriculture*. Springer, Dordrecht, pp. 11-14.
- Borrajo, C.I. 1998. Generación y expansión de los órganos foliares de agropiro alargado en función del material genético y disponibilidad de nitrógeno. Tesis Magister Scientiae, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.
- Borrajo, C.I. y Alonso, S.I. 2004. Germinación, emergencia e implantación de variedades experimentales de agropiro alargado. *Rev. arg. prod. anim*, 24(1-2), 29-40.
- Brainard, D.C., Bellinder, R.R. y Kumar, V. 2011. Grass-legume mixtures and soil fertility affect cover crop performance and weed seed production. *Weed Technol.* 25:473-479.
- Brainard, D.C., Henshaw, B. y Snapp, S. 2012. Hairy Vetch Varieties and Bi-Cultures Influence Cover Crop Services in Strip-Tilled Sweet Corn. *Agron. J.* 104 (3):629-638.
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. p. 1149-1178. En: C.A. Black et al. (ed.) *Methods of soil analysis. Part 2. Agron. Monogr.* 9. ASA, Madison.
- Brink, G.E., Sanderson, M.A. y Casler, M.D. 2015. Grass and Legume Effects on Nutritive Value of Complex Forage Mixtures. *Crop Sci.* 55:1329-1337.

- Brooker, R.W., Bennett, A.E., Cong, W.F., Daniell, T.J., George, T.S., Hallett, P.D., Hawes, C., Pietro, P.M., Iannetta, P.P.M., Hamlyn, G., Jones, H.G., Karley, A.J., Li, L., McKenzie B.M., Pakeman, R.J., Paterson E., Schöb, C., Shen, J., Squire, G., Watson, C.A., Zhang, C., Zhang, F., Zhang, J. y White, P.J. 2015. Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytologist*, 206, 107-117.
- Brunette, T., Baurhoo B. y Mustafa A.F. 2016. Effects of replacing grass silage with forage pearl millet silage on milk yield, nutrient digestion, and ruminal fermentation of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:1-11.
- Buanafina, M.M., Langdon, T., Hauck, B., Dalton, S. y Morris, P. 2008. Expression of a fungal ferulic acid esterase increases cell wall digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant Biotechnol. J.* 6:264-280.
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L., 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Biologists, Maryland, USA, pp. 52-108.
- Bumb, I., Garnier E., Bastianelli, D., Richarte, J., Bonnal, L. y Kazakou E. 2016. Influence of management regime and harvest date on the forage quality of rangelands plants: the importance of dry matter content. *AoB PLANTS* 8, plw045.
- Burdon, J.J. 1983. *Trifolium repens* L. *J. Ecol.* 71, 307-330.
- Bureenok, S., Sisaath, K., Yuangklang, C., Vasupen, K., & Schonewille, J. T. 2016. Ensiling characteristics of silages of Stylo legume (*Stylosanthes guianensis*), Guinea grass (*Panicum maximum*) and their mixture, treated with fermented juice of lactic bacteria, and feed intake and digestibility in goats of rations based on these silages. *Small Ruminant Research*, 134, 84-89.
- Butler, T.J. y Muir J.P. 2006. Dairy Manure Compost Improves Soil and Increases Tall Wheatgrass Yield. *Agron. J.* 98:1090-1096.
- Buxton D.R. and O' Kiely, P. 2003. Preharvest plant factors affecting ensiling. En: Buxton D.R., Muck R.E. y Harrison J.H. (eds) *Silage science and technology*, pp. 199-250. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy.
- Buxton, D.R. y Redfearn, D.D. 1997. Plant limitations to fiber digestion and utilization. *J. Nutr.* 127: 814S-818S.
- Caballero, R., Redole, A., Barro, C., Alzueta, C., Trevino, J., Garcia, C., 1996. Farming practices and chemical bases for proposed quality standard of vetch-cereal hays. *Field Crops Res.* 47, 181-189.
- Cabanillas-Cruz, R. 1999. Forage availability and nutritive value, and dietary composition, intake, ruminal fermentation, and site and extent of digestion by steers grazing alfalfa and/or Jose tall wheatgrass. Ph.D. Diss. New Mexico State Univ., Las Cruces.
- Callow, M.N., Lowe, K.F., Bowdler, T.M., Lowe, S.A. y Gobius, N.R. 2003. Dry matter yield, forage quality and persistence of tall fescue (*Festuca arundinacea*) cultivars compared with perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in a subtropical environment. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 43(9):1093-1099.

- Campbell C.A., Myers R.J.K. y Curtin D. 1995. Managing nitrogen for sustainable crop production. *Fert. Res.* 42:277-296.
- Canarini, A., Mariotte, P., Ingram, L., Merchant, A. y Dijkstra, F.A. 2017. Mineral-Associated Soil Carbon is Resistant to Drought but Sensitive to Legumes and Microbial Biomass in an Australian Grassland. *Ecosystems*, 1-11.
- Capelli de Steffens, A.M., Piccolo, M.C. y Campo de Ferreras, A. M. 2006. Clima urbano de Bahía Lanca. *Revista Universitaria de Geografía*, 15(1), 183-186.
- Cardinale, B.J., Matulich, K.L., Hooper, D.U., Byrnes, J.E., Duffy, J.E., Gamfeldt L. 2011. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* 98(3):572-592.
- Carrillo, J. 2003. Manejo de Pasturas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Balcarce. 457 pág.
- Castillo, E., Ruiz, T.E., Febles, G., Puentes, R., Díaz, L.E. y Bernal G. 1991. Utilization of creeping legumes for the pre-fattening stage of bovines with free access to protein banks. *Animal performance. Cuban J. Agric. Sci.* 25:261-265.
- Celen, E.A., Cimrin, M.K. y Sahar, K. 2005. The herbage yield and nutrient contents of some vetch (*Vicia* spp.) species. *Journal of Agronomy* 4:10-13.
- CEPAL. 1999. Tendencias actuales de la gestión del agua en América Latina y el Caribe. Documento LC/L.1180. República Dominicana. 98 pp.
- Christopher, S.F., Lal, R. 2007. Nitrogen management affects carbón sequestration in North American cropland soils. *Crit. Rev. Plant Sci.* 26:45-64.
- Claughton, W.P. y Claughton, H.P. 1955. Vetch seed poisoning. *Auburn Vet.* 10:125-126.
- Clement, C.R. y Williams, T.E. 1964. Leys and soil organic matter. I. The accumulation of organic carbon in soil under different leys. *J. Agric. Sci.* 63:377-401.
- Cochran, R.C. 1995. Developing optimal supplementation programs for range livestock. Fifty years of Range Research Revisited. *KSU Range Field Day.* Oct, 27, 58-71.
- Colabelli, M., Agnusdei, M., Mazzanti, A. y Labreuveux, M. 1988. El proceso de crecimiento y desarrollo de GRAMÍNEAS forrajeras como base para el manejo de la defoliación. *Boletín técnico N° 148.* Balcarce: EEA Balcarce.
- Colozzi-Filho A., Andrade, D.S., Balota, E.L. 2001. Atividade microbiana em solos cultivados em sistema plantio direto. *Informe Agropecuario* 22: 84-91.
- Connolly, J., Finn, J.A., Black, A.D., Kirwan, L., Brophy, C., Lüscher, A., 2009. Effects of multi-species swards on biomass production and weed invasion at three Irish sites. *Ir. J. Agric. Food Res.* 48, 243-260.
- Cordoba, A. 2016. Efecto de la incorporación de NNP y carbohidratos rápidamente fermentables sobre el proceso de ensilado de agropiro (*Thinopyrum ponticum*) y su valor nutritivo. Trabajo de intensificación. Dto. Agronomía. Universidad Nacional del Sur. 47 pág.
- Corre-Hellou, G., Fustec, J., Crozat, Y. 2006. Interspecific competition for soil N and its interaction with N₂ fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant Soil* 282:195-208.

- Crews, T.E. y Peoples M.B. 2005. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems?: A review. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 72:101-120.
- Crews, T.E., Blesh, J., Culman, S.W., Hayes, R.C., Jensen, E.S., Mack, M.C., Peoples, M.B. y Schipanski, M.E. 2016. Going where no grains have gone before: From early to mid-succession. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 223:223-238.
- Crews T.E. y Peoples M.B. 2004. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. *Agriculture, Ecosystems & Environment.* 102(3):279-297.
- Criba, 2016. Cátedra de Agrometeorología. Departamento de Agronomía. Universidad Nacional del Sur. Visita web día 8/8/2016 <http://agrometeorologia.criba.edu.ar/Downloads/Climatic.pdf>
- Cseh, S, Drake, M. y Brambilla, E. 2013. Deficiencia de selenio en bovinos según época del año y región en Argentina. *Rev. Arg. de Prod. Anim.* 33(1):21.
- Csete, S., Stranczinger S. , Szalontai B. , Farkas A. , Pal R.W. , Salamon-Albert E., Kocsis M., Tovari P., Vojtela T., Dezsö J., Walcz I., Janowsky Z. , Janowsky J., Borhidi A. 2011. Tall wheatgrass cultivar szarvasi-1 (*Elymus elongates* subsp. *ponticus* cv. Szarvasi-1) as a potential energy crop for semi-arid lands of Eastern Europe M. Nayreripour, M. Kheshti (Eds.), *Sustainable Growth and Application in Renewable Energy Source*, InTech, Rijeka, Croatia, pp. 269-294.
- Cui, S., Zilverberg, C.J., Allen, V.G., Brown, C.P., Moore-Kucera, J., Wester, D.B., Mirik, M., Chaudhuri, S. y Phillips, N. 2014. Carbon and nitrogen responses of three Old World bluestems to nitrogen fertilization or inclusion of a legume. *Field Crop Res.* 164:45-53.
- Cun G.S., Robinson, P.H. y Benes, S.E. 2015. Bioavailability of selenium in 'Jose' tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum* var 'Jose') hay as a substitute for sodium selenite in the diets of dairy cattle. *Science of the Total Environment* 518-519:159-167.
- Dal Pizzol, J.G., Ribeiro-Filho, H.M.N., Quereuil, A., Le Morvan, A. y Niderkorn, V. 2017. Complementarities between grasses and forage legumes from temperate and subtropical areas on in vitro rumen fermentation characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 228, 178-185.
- Dalal, R.C. 1998. Soil microbial biomass-what do the numbers really mean? *Aust. E. J. Exp. Agric* 38, 649-665.
- Davies, A. 2001. Competition between grasses and legumes in established pastures. En P.G. Tow and A. Lazenby (eds) *Competition and Succession in Pastures*. CABI Publishing, New York, USA. p. 63-84
- Dawson, L.E.R., Kirkland, R.M., Ferris, C.P., Steen, R.W.J., Kilpatrick, D.J. y Gordon, F.J. 2002. The effect of stage of perennial ryegrass maturity at harvesting, fermentation characteristics and concentrate supplementation, on the quality and intake of grass silage by beef cattle. *Grass and Forage Science*, 57(3), 255-267.

- De Deyn, G.B., Quirk, H., Yi, Z., Oakley, S., Ostle, N.J., Bardgett, R.D. 2009. Vegetation composition promotes carbon and nitrogen storage in model grassland communities of contrasting soil fertility. *J. Ecol.* 97:864-75.
- De Deyn, G.B., Shiel, R.S., Ostle, N.J., McNamara, N.P., Oakley, S., Young, I., Freeman, C., Fenner, N., Quirk, H., Bardgett, R.D. 2011. Additional carbon sequestration benefits of grassland diversity restoration. *J. Appl. Ecol.* 48:600-8.
- Deak, A., Hall M.H. y Sanderson M.A. 2007. Production and nutritive value of grazed simple and complex forage mixtures. *Agron. J.* 99:814-821.
- Deak, A., Hall, M.H., Sanderson, M.A., Rotz A. y Corson M. 2010. Wholefarm evaluation of Forage mixtures and grazing strategies. *Agron. J.* 102:1201-1209.
- Dehaan, L.R., Wiesberg S., Tilman D. y Fornara D. 2010. Agricultural and biofuel implications of a species diversity experiment with native perennial grassland plants. *Agriculture, Ecosystem & Environment* 137:33-38.
- Demirel, M., Celik, S., Temur, C. y Guney, M. 2009. Determination of fermentation properties and digestibility characteristics of combination of corn-soybean and corn silages. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(4), 711-714.
- Desjardins, T., Folgarait, P.J., Pando-Bahuon, A., Girardin, C. y Lavelle, P. 2006. Soil organic matter dynamics along a rice chronosequence in north-eastern Argentina: Evidence from natural ^{13}C abundance and particle size fractionation. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2753-2761.
- Dewhurst, R.J., Fisher, W.J., Tweed, J.K.S. y Wilkins, R.J. 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. 1. Production responses with different levels of concentrate. *Journal of Dairy Science* 86:2598-2611.
- Dhima, K.V., Lithourgidis, A.S., Vasilakoglou, I.B. y Dordas, C.A. 2007. Competition indices of common vetch and cereal intercrops in two seeding ratio. *Field Crop. Res.* 100:249-256.
- Di Marco, O.N. y Agnusdei, M.G. 2010. Plant morphogenetical plasticity in response to sward height can modify fibre digestibility in C_3 (*Thinopyrum ponticum*) and C_4 grass species (*Chloris gayana*). En: Machado, C.F. (Eds.) An overview of research on pastoral-based systems in the southern part of south America. Tandil. Editorial Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. pp 18-27.
- Díaz, H.B. y Lagomarsino E.D. 1969. Suelos salino-sódicos y sódicos: Su utilización con especies forrajeras. *R.A.N.A.* Vol. 6 (3-4):221-231.
- Díaz-Zorita, M., Duarte, G.A. y Grove, J.H., 2002. A review of no-till systems and soil management for sustainable crop production in the subhumid and semiarid Pampas of Argentina. *Soil Till. Res.* 65, 1-18.
- Dickeduisberg, M., Laser, H. y Tonn, B. 2017. Tall wheatgrass (*Agropyron elongatum*) for biogas production: Crop management more important for biomass and methane yield than grass provenance. *Industrial Crops and Products.* 97:653-663.

- Donaghy, D.J., Turner, L.R. y Adamczewski, K.A. 2008. Effect of defoliation management on water-soluble carbohydrate energy reserves, dry matter yields, and herbage quality of tall fescue. *Agronomy journal*, 100(1), 122-127.
- Drenovsky, R.E. y James, J.J. 2010. Designing invasion-resistant plant communities. The role of plant functional traits. *Rangelands* 32:32–37.
- Drouin, P. y Lafrenière, C. 2012. Clostridial spores in animal feeds and milk. En: *Milk Production-An up-to-date overview of animal nutrition, management and health*. InTech.
- Droushiotis, D.N. 1989. Mixtures of annual legumes and small-grained cereals for forage production under low rainfall. *J. Agric. Sci.* 113:249-253.
- Dunin, F. y Passioura, J. 2006. Prologue: Amending agricultural water use to maintain production while affording environmental protection through control of outflow. *Australian Journal of Agricultural Research* 57(3):251–255.
- Duval, 2015. Contenido, calidad y dinámica de las fracciones orgánicas como indicadores de calidad de suelo bajo diferentes manejos en siembra directa. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional del Sur. 165 pág.
- Duval, M.E., Galantini, J.A., Martínez, J. y Iglesias, J.O. 2016. Comparación de índices de calidad de suelos agrícolas y naturales basados en el carbono orgánico. *Ciencia del suelo*, 34(2):197-209.
- Elgersma A y Sjøgaard K. 2017. Changes in nutritive value and herbage yield during extended growth intervals in grass-legume mixtures-effects of species, maturity at harvest, and relationships between productivity and components of feed quality. *Grass Forage Sci.*00:1-16.
- Elgersma, A. y Sjøgaard, K. 2016. Effects of species diversity on seasonal variation in herbage yield and nutritive value of seven binary grass-legume mixtures and pure grass under cutting. *European Journal of Agronomy*, 78, 73-83.
- Elgersma, A. y Hassink, J. 1997. Effects of white clover (*Trifolium repens* L.) on plant and soil nitrogen and soil organic matter in mixtures with perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plant and Soil*. 197(2)177-186.
- Ellis, J. L., Dijkstra J., Kebreab E., Bannink A., Odongo N. E., McBride B. W. y J. France. 2008. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *J. Agric. Sci.* 146:213-233.
- Enneking, D. 1994. The toxicity of *Vicia* species and their utilisation as grain legumes (Doctoral dissertation). University of Adelaide. Australia 161 pág.
- Evans P. M., G. A. Kearney. 2003. *Melilotus albus* (Medik.) is productive and regenerates well on saline soils of neutral to alkaline reaction in the high rainfall zone of southwestern Victoria. *Aust. J. Exp. Agric.* 43:379-355.
- Evans, P.M., Trigg, P.J., Kearney, G.A. y Byron, A.H. 2005. Effect of cutting regime on the agronomic performance of two contrasting lines of *Melilotus albus*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44(12):1177-1183.

- FAO. 2008. FAO sala de prensa: Aumenta la degradación del suelo. Un cuarto de la población mundial está afectada, según un nuevo estudio. <http://www.fao.org/newsroom/news/2008/1000874>. Último acceso: enero 2017.
- Fernández Rosso, C., Auil M., Aello, M.S. y Ricci, P. 2010. Degradabilidad ruminal de henos y henolajes de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) en diferentes estados fenológicos. *Rev. Arg. de Prod. Anim.* 30(1):455.
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R. y Helkowski, J.H. 2005. Global consequences of land use. *Science*, 309(5734), 570-574.
- Ford, S.A. y Musser W.N. 1998. Evaluating profitability of pasture systems. p. 126-143. En: *Grazing in the Northeast, assessing current technologies, research directions, and education needs*. Publ. 113. Resour. and Agric. Eng. Serv., Ithaca, NY.
- Fornara, D.A. y Tilman, D. 2008. Plant functional composition influences rates of soil carbon and nitrogen accumulation. *J. Ecol.* 96:314-22.
- Franzluebbers, A.J. 2002. Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. *Soil Till. Res.* 66: 95-106.
- Fraser, J., McCartney, D., Najda, H. y Mir, Z. 2004. Yield potential and forage quality of annual forage legumes in southern Alberta and northeast Saskatchewan. *Can. J. Plant Sci.* 84: 143-155.
- Frasier, I., Riestra, D., Noellemeyer, E. y Quiroga, A. 2015. Aportes de C y N de raíces de cultivos de cobertura. En: Sá Pereira, E. Minoldo, G y Galantini, J.A. 2015. *El Impacto de los Sistemas actuales de cultivo sobre las Propiedades Químicas del Suelo y sus efectos sobre los Balances de Carbono*. Ediciones INTA. 167 pág.
- Freeman, S.R., Poore, M.H., Glennon, H.M. y Shaeffer, A.D. 2016. Winter Annual Legumes Seeded into Bermudagrass: Production, Nutritive Value, and Animal Preference. *Crop, Forage & Turfgrass Management*, 2(1).
- Fukushima, R.S., Kerley, M.S., Ramos, M.H., Porter, J.H. y Kallenbach, R.L. 2015. Comparison of acetyl bromide lignin with acid detergent lignin and Klason lignin and correlation with in vitro forage degradability. *Animal Feed Science and Technology*. 201:25-37.
- Fulkerson, W.J. y Donaghy, D.J. 2001. Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence-key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(2), 261-275.
- Fustec, J., Jamont, M., Joly, F.X., Piva, G., Cannavacciuolo, M., Cassagne, N. 2014. Measuring nitrogen transfer in annual intercrops. *Proceedings of the European Society for Agronomy Congress*.
- Galantini, J.A. y Suñer, L. 2008. Las fracciones orgánicas del suelo. *Análisis en los suelos de la Argentina*. *Agriscientia XXV*: 41-55.
- Galantini, J.A. 2005. Separación y análisis de las fracciones orgánicas. En L. Marban y S. Ratto (Eds.): *Manual "Tecnología en Análisis de Suelos: Alcances a laboratorios agropecuarios"* de la AACCS. Capítulo IV parte 2, 103-114.

- Galantini, J.A., Senesi, N., Brunetti, G. y Rosell, R. 2004. Influence of texture on the nitrogen and sulphur status and organic matter quality and distribution in semiarid Pampean grassland soils. *Geoderma* 123: 143-152.
- Galantini, J.A., Rosell, R.A., Brunetti, G. y Senesi, N. 2002. Dinámica y calidad de las fracciones orgánicas de un Haplustol durante la rotación trigo-leguminosas. *Ciencia del Suelo*, 20(1):17-26.
- Galyean, M.L., 1996. Protein levels in beef cattle finishing diets: industry application, university research and systems results. *J. Anim. Sci.* 74:2860-2870.
- Galyean, M.L., y Hubbert, M.E. 2014. Review: Traditional and alternative sources of fiber-Roughage values, effectiveness, and levels in starting and finishing diets. *The Professional Animal Scientist*, 30:571-584.
- Gan, Y.T., Liang, C., Hamel, C., Cutforth, H., Wang, H. 2011. Strategies for reducing the carbon footprint of field crops for semiarid áreas-a review. *Agron. Sustain. Dev.* 31:643-656.
- Gándara, F.R. y Gómez, P.O. 1987. El agropiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. V. Valor alimenticio invernal de dos pasturas de agropiro diferidas de otoño. *Rev. Arg. Prod. Animal* 7: 147-161.
- Gardner J.B. y Drinkwater L.E. 2009. The fate of nitrogen in grain cropping systems: a meta-analysis of 15N field experiments. *Ecological Applications*, 19:2167-2184.
- Gargano, A.O., Aduriz, M.A., Laborde, H.E. 1988a. Evaluación de cuatro gramíneas templadas perennes. 1. Rendimientos de materia seca. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 8 (5):376-384.
- Gargano, A.O., Aduriz, M.A., Laborde, H.E. 1988b. Evaluación de cuatro gramíneas templadas perennes. 2. Digestibilidad *in vitro* y proteína bruta. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 8 (5):385- 395.
- Gastal, F. y Saugier, B. 1986. Alimentation azotée et croissance de la fétuque élevée. I. Assimilation du carbone et repartition entre organes. *Agronomie* 6:157-166.
- Gastal, F. y Saugier, B. 1989. Relationships between nitrogen uptake and carbon assimilation in whole plants of tall fescue. *Plant Cell Environ.* 12:407-418.
- Gastal, F., Lemaire, G., Durand, J.L., Louarn, G. 2015. Quantifying crop responses to nitrogen and avenues to improve nitrogen-use efficiency. En: 'Crop physiology: applications for genetic improvement and agronomy'. pp. 161–206.
- Gastelen van, S., Antunes-Fernandes, E. C., Hettinga, K. A., Klop G., Alferink, S. J. J., Hendriks, W. H. y Dijkstra, J. 2015. Enteric methane production, rumen volatile fatty acid concentrations, and milk fatty acid composition in lactating Holstein-Friesian cows fed grass silage or corn silage based diets. *J. Dairy Sci.* 98:1-13.
- Geisseler, D., Lazicki, P.A. y Scow, K.M. 2016. Mineral nitrogen input decreases microbial biomass in soils under grasslands but not annual crops. *Appl. Soil Ecol.* 106, 1-10.
- Griffin, T.S. 2008. Nitrogen availability. En: Nitrogen in agricultural soils, eds. J.S. Schepers et al., 616-646. Madison, Wisconsin: SSSA.

- Guldan, S.J., Lauriault, L.M. y Martin C.A. 2000. Evaluation of irrigated tall fescue-legume communities in the steppe of the Southern Rocky Mountains. *Agron. J.* 92:1189-1195.
- Jung H.G. y Deetz D.A. 1993. Cell wall lignification and degradability, En: H.G. Jung, D.R. Buxton, R.D. Hatfield, et al. (Eds.), *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*, ASA-CSSA-SSSA, Madison, pp. 315-346.
- Hansen, A.P. 2017. Legume-Rhizobium Symbioses: Significance for Sustainable Plant Production. In *Modern Tools and Techniques to Understand Microbes* pp.159-182.
- Harkes, H. 2011. Calidad nutritiva de agropiro alagado (*T. ponticum*). Su relación con la altura de la pastura, la edad y morfogénesis foliar. Tesis Ms Sc. UNMdP. FCA Balcarce. 74 p.
- Harlan, J.R. 1956. *Theory and dynamics of grassland agriculture*. Van Nostrand D Co. Inc., Princeton.
- Harris, S.L., Auldis, M.J., Clark, D.A. y Jansen, E.B. 1998. Effects of white clover content in the diet on herbage intake, milk production and milk composition of New Zealand dairy cows housed indoors. *Journal of dairy research*, 65(3), 389-400.
- Harrison, J.H., Blauwiekel, R., Stokes, M.R. 1994. Fermentation and utilization of grass silage. *J. Dairy Sci.* 77:3209-3235.
- Hashemi, M., Farsad, A., Sadeghpour, A., Weis, S.A. y Herbert, S.J. 2013. Cover-crop seeding-date influence on fall nitrogen recovery. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 176(1), 69-75.
- Hassink, J., 1995. Prediction of the non-fertilizer N supply of mineral grassland soils. *Plant Soil* 176:71-79.
- Hatew, B., Bannink A., Van Laar H., De Jonge L. H. y Dijkstra J. 2016. Increasing harvest maturity of whole-plant corn silage reduces methane emission of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:1-15.
- Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., Jensen, E.S. 2003. The comparison of nitrogen use and leaching in sole cropped versus intercropped pea and barley. *Nutr Cycl Agroecosyst* 65:289-300.
- Hauggaard-Nielsen, H., Gooding, M., Ambus, P., Corre-Hellou, G., Crozat, Y., Dahlmann, C., Dibet, A., von Fragstein, P., Pristeri, A., Monti, M., Jensen, E.S. 2009b. Pea-barley intercropping for efficient symbiotic N₂ fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems. *Field Crops Res* 113:64-71.
- Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S. 2005. Facilitative root interactions in intercrops. *Plant Soil* 274:237-250.
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Körner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J.,

- Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.D., Siamantziouras, A.S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S. y Lawton, J.H. 1999. Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science* (286):1123-1127.
- Heinz, M., 2015. Tall wheatgrass: a potential energy crop. *Biogas J.* 2:48-50.
- Hermle, S., Anken, T., Leifeld, J., Weiskopf, P. 2008. The effect of the tillage system on soil organic carbon content under moist, cold-temperate conditions. *Soil Till. Res.* 98, 94-105.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237:173-195.
- Hooper, D.U. 1998. The role of complementarity and competition in ecosystem responses to variation in plant diversity. *Ecology*, 79(2):704-719.
- Hoover, W.H. 1986. Chemical Factors Involved in Ruminant Fiber Digestion. *Journal of Dairy Science* 69 (10):2755-2766.
- Hoyle, F.C., Murphy, D.V. y Baldock, J.A. 2011. Soil organic carbon: role in Australian farming systems. En 'Rainfed farming systems'. (Eds P Tow, I Cooper, I Partridge, C Birch) (Springer Science: London)
- Huang, Y.F., Gao, X.L., Nan, Z.B. y Zhang, Z.X. 2017. Potential value of the common vetch (*Vicia sativa* L.) as an animal feedstuff: a review. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 110(5):807-823.
- Huang, Z., Chen, J., Ai, X., Li, R., Ai, Y., y Li, W. 2017. The texture, structure and nutrient availability of artificial soil on cut slopes restored with OSSS-Influence of restoration time. *Journal of Environmental Management*, 200, 502-510.
- Huss-Danell, K., Chaia, E., Carlsson, G. 2007. N₂ fixation and nitrogen allocation to above and below ground plant parts in red clover-grasslands. *Plant Soil* 299 (1-2), 215-226.
- Iermanó, M.J. y Sarandón, S.J. 2009. Aplicación del enfoque de la agroecología en el análisis de los agrocombustibles: el caso del biodiesel en argentina. *Revista Brasileira de Agroecologia* 4 (1):4-17.
- INASE. 2017. Catálogo Nacional de Cultivares. (acceso 11/07/17). En: <http://www.inase.gov.ar/consultaGestion/gestiones>
- Infostat. Versión 2008. Manual del Usuario. Grupo Infostat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. 1a ed. Edit. Brujas. Argentina. 2008.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux. Valeur des aliments. [Feeding of cattle, sheep and goats. Animal needs. Feed value]. Tables INRA 2007 Paris, France: Editions Quae.
- INTA. 2005. Programa Nacional de Investigación y Desarrollo tecnológico para la pequeña agricultura familiar. Documento Base.
- Jackson-Smith, D., Barham B., Nevius M. y Klemme R. 1996. The use and performance of management intensive rotational grazing among Wisconsin dairy farms. Tech. Rep. 5. Univ. of Wisconsin Coop. Ext., Madison.

- Jafari, A.A., Anvari, H., Nakhjavan, S. y Rahmani, E. 2010. Effects of Phenological Stages on Yield and Quality Traits in 22 Populations of Tall Wheatgrass *Agropyron elongatum* Grown in Lorestan, Iran, *Jour. Rangeland Sci.*, 2 (4): 9-16.
- Jahanzad, E., Jorat, M., Moghadam, H., Sadeghpour, A., Chaichi, M.R. y Dashtaki, M. 2013. Response of a new and a commonly grown forage sorghum cultivar to limited irrigation and planting density. *Agricultural water management*, 117, 62-69.
- Jahanzad, E., Sadeghpour, A., Hosseini, M.B., Barker, A.V., Hashemi, M. y Zandvakili, O. R. 2014. Silage yield and nutritive value of millet-soybean intercrops as influenced by nitrogen application. *Agronomy Journal*, 106(6):1993-2000.
- Jaurena, G. y Pichard, G. 2001. Contribution of storage and structural polysaccharides to the fermentation process and nutritive value of lucerne ensiled alone or mixed with cereal grains, *Animal Feed Science and Technology*, 92,159-173.
- Jenkins, K.H. y Berger A.L. 2012. Summer annual forages for beef cattle in Western Nebraska. University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources. Lincoln, NB.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B. y Hauggaard-Nielsen, H. 2010. Faba bean in cropping systems. *Field crops research*, 115(3), 203-216.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B.J. y Morrison, M.J. 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 329-364.
- Jensen, K.B., Johnson, D. A., Asay, K. H. and Olson, K. C. 2002. Seasonal-accumulated growth and forage quality of range grasses for fall and winter grazing. *Can. J. Plant Sci.* 82: 329–336.
- Jensen, K.B., Waldron, B.L. y Robins, J.G. 2006. Cool season perennial grasses for hay. Research Geneticists, USDA-ARS Forage and Range Research Lab, Logan, UT, 84322-6300.
- Johansen, A., Jensen, E.S. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Soil Biol. Biochem.* 28:73–81.
- Johansen, M., Lund, P. y Weisbjerg, M.R. 2017. Feed intake and milk production in dairy cows fed different grass and legume species: a meta-analysis. *animal*, 1-10.
- Johnson, K. A. y Johnson, D. E. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483-2492.
- Johnson, L., Harrison J.H., Hunt, C., Shinnors, K., Doggett C.G. y Sapienza, D. 1999. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: A contemporary review. *J. Dairy Sci.* 82:2813-2825.
- Jones, D.I.H. 1988. The effect of cereal incorporation on the fermentation of spring and autumn cut silage in laboratory silos. *Grass Forage Sci.* 43, 167-172.

- Jones, D.I.H., Jones, R. y Moseley, G. 1990. Effect of incorporating rolled barley in autumn cut ryegrass silage on effluent production, silage fermentation and cattle performance. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 115, 399-408.
- Juergens-Gschwind, S. 1989. Groundwater nitrates in other developed countries (Europe)-relationships to land use patterns. En: Follet, R.F. (Ed.), *Nitrogen Management and Groundwater Protection*. Elsevier, Amsterdam, pp. 75-138.
- Jung, H.G. 1989. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.* 81:33-38.
- Jung, H.J.G. y Allen, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. of Anim. Sci.* 73:2774-2790.
- Karki, U., Goodman, M.S., Sladden, S.E. 2009. Nitrogen source influences on forage and soil in young southern-pine silvopasture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 131(1):70-76.
- Kätterer, T., Bolinder, M.A., Andrén, O., Korchmann, H. y Menichetti, L. 2011. Roots contribute more to refractory soil organic matter than above-ground crop residues, as revealed by a long-term field experiment. *Agr. Ecosyst. Environ.* 141: 184-192.
- Keady T.W.J. y O'kiely P. 1998. An evaluation of potassium and nitrogen fertilization of grassland and date of harvest on fermentation, effluent production, dry matter recovery and predicted feeding value of silage. *Grass and Forage Science*, 53, 326-337.
- Keady T.W.J., Mayne C.S. y Fitzpatrick D.A. 2000. Prediction of silage feeding value from the analysis of the herbage at ensiling and effect of nitrogen fertilizer, date of harvest and additive treatment on grass silage composition. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 134,353-368.
- Keating, B.A. y Carberry P.S. 1993. Resource capture and use in intercropping: Solar radiation. *Field Crops Res.* 34: 273-301.
- King C., Mc Eniry J., Richardson M. y O'kiely P. 2012. Ensilage characteristics of perennial ryegrass grown under two nitrogen fertiliser inputs and red clover, each harvested at five dates in the primary growth. *Proceedings of the XVI International Silage Conference Hämeenlinna, Finland, 2-4 July 2012*, 194-195.
- Kirkby, C.A., Kirkegaard, J.A., Richardson, A.E., Wade, L.J., Blanchard, C., Batten, G. 2011. Stable soil organic matter: a comparison of CNPS ratios in Australian and international soils. *Geoderma* 163:197-208.
- Kirwan, L., Luscher A., Sebastia M.T., Finn J.A., Collins R.P. y Porqueddu C. 2007. Evenness drives consistent diversity effects in intensive grassland systems across 28 European sites. *J. Ecol.* 95(3):530-539.
- Knotek S. 1997. Qualitative criteria of preserved forage and their effects on animal nutrition. *Proceeding of the 8th International scientific symposium. Forage Conservation*:37-49.
- Krasuska, U., Andrzejczak, O., Staszek, P., Borucki, W., & Gniazdowska, A. 2016. Toxicity of canavanine in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) roots is due to alterations in RNS, ROS and auxin levels. *Plant Physiology and Biochemistry*, 103:84-95.

- Kung, J.L., Stokes, M.R. y Lin, C.J. 2003. "Silage Additives" en Buxton, D.R., Muck, R.E. y Harrison J.H. (ed), *Silage Science and Technology*. Agron. Monogr. 42: 305-360. Madison, Wisconsin, USA: ASA, CSSA, and SSSA.
- Kuoppala, K., Ahvenjarvi, S., Rinne, M. y Vanhatalo, A. 2005. NDF digestion in dairy cows fed grass or red clover silages cut at two stages of growth. En: *Silage production and utilization* (ed. RS Park and MD Stronge), p.164. Proceedings of the XIVth international silage conference, July 2005, Belfast, Northern Ireland.
- Kvasnicka, B. y Krysl, L.J. 2009. *Grass Tetany in Beef Cattle*. Iowa Beef Center, Iowa State University Press, Ames, IA, USA.
- Lattanzi, F.A. y Wade, M.H. 2007. Seasonal animal production of temperate and Mediterranean tall fescue cultivars under continuous variable stocking with close control of sward state. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(3):203-213.
- Lauriault, L. M., Kirksey, R.E. y VanLeeuwen, D.M. 2005. Performance of Perennial Cool-Season Forage Grasses in Diverse Soil Moisture Environments, Southern High Plains, USA A contribution of the New Mexico Agric. Exp. Stn., New Mexico State Univ., Las Cruces. *Crop Sci.* 45:909-915.
- Lauriault, L.M., Guldan, S.J. y Martin, C.A.. 2003. Evaluation of irrigated binary tall fescue-legume communities in the steppe of the southern Rocky Mountains: Years five to eight. *Agron. J.* 95:1497-1503.
- Lawson, A., Cogger, C., Bary, A. y Fortuna, A.M. 2015. Influence of seeding ratio, planting date, and termination date on rye-hairy vetch cover crop mixture performance under organic management. *PLoS one*, 10(6), e0129597.
- Le Houérou, H.N. 2001. Unconventional Forage Legumes for Rehabilitation of Arid and Semiarid Lands in World Isoclimatic Mediterranean Zones, *Arid Land Research and Management*, 15:(3)185-202.
- LeBauer, D.S., Treseder, K.K. 2008. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology* 89(2):371-379.
- Ledgard, S.F. 2001. Nitrogen cycling in low input legume-based agriculture, with emphasis on legume/grass pastures. *Plant Soil* 228: 43-59.
- Lemaire, G. 2015. Crop Responses to Nitrogen. *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. pp 1-25.
- Lemaire, G. y Agnusdei, M. 2000. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilization. In: G. Lemaire et al. (eds.). *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. CABI, Oxon. pp. 265-287.
- Lemaire, G. y Chapman, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. En: Hodgson J. and Illius A.W. (eds) *The ecology and management of grazing systems*, pp. 3-37. Wallingford, UK: CAB International.
- Lima, R., Díaz, R.F., Castro, A., Hoedtke, S. y Fievez, V. 2011. Multifactorial models to assess responses to sorghum proportion, molasses and bacterial inoculant on in vitro quality of sorghum-soybean silages. *Animal feed science and technology*, 164(3), 161-173.

- Lithourgidis, A.S., Vasilakoglou, I.B., Dhima, K.V., Dordas, C.A. y Yiakoulaki, M.D. 2006. Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. *Field Crop Res.* 99(2):106-113.
- López, C., Odorizzi A., Basigalup D., Arolfo V. y Martínez M.J. 2016. El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Ediciones INTA. 35 pág.
- Maddaloni, J. y Ferrari, L. 2005. Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina. INTA y Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. 2ª edición. p. 165-182.
- Maddaloni, J. y Bertin, O.D. 1990. Las gramíneas forrajeras utilizadas en las pasturas perennes del norte de la provincial de Buenos Aires. *Bol. De Divulgación Técnica* N°82. EEA Pergamino INTA.
- Maddaloni, J. 1986. Forage production on saline and alkaline soils in the humid region of Argentina. *Reclam. Reveg. Res.* 5:11-16
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., Tourdonnet, S., Valantin-Morison, M., 2009. Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 43-62.
- Manyawu, G.J., Sibanda S., Mutisi C., Chakoma I. C. y Ndiweni P.N.B. 2003. The Effect of Pre-wilting and Incorporation of Maize Meal on the Fermentation of Bana Grass Silage. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16 (6):843-851.
- Mariotti, M., Masoni, A., Ercoli, L. y Arduini, I. 2012. Optimizing forage yield of durum wheat/field bean intercropping through N fertilization and row ratio. *Grass and Forage Science*, 67(2), 243-254.
- Marshall, S.A., Campbell, C.P. y Buchanan-Smith, J.G. 1998. Seasonal changes in quality and botanical composition of a rotationally grazed grass-legume pasture in southern Ontario. *Can. J. Anim. Sci.* 78: 205-210.
- Martínez, J.M. y Galantini, J.A. 2017. A rapid chemical method for estimating potentially mineralizable and particulate organic nitrogen in Mollisols. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 48(1):113-123
- Martyniak D., Żurek, G. y Prokopiuk, K. 2017. Biomass yield and quality of wild populations of tall wheatgrass [*Elymus elongatus* (Host.) Runemark]. *Biomass and Bioenergy*, Volume 101: 21-29
- Matheson, N.K. y McCleary, B.V. 1985. Enzymes metabolizing polysaccharides and their application to the analysis of structure and function of glycans. *The polysaccharides*, 3:1-105.
- Matthew, C., Lemaire, G., Sackville Hamilton, N.R. y Hernandez Garay, A. 1995. A modified self-thinning equation to describe size/density relationships for defoliated swards. *Ann. Bot.* 76, 579-587.
- Maxted, N. 1995. An ecogeographical study of *Vicia* subgenus *vicia*. *Systematic and ecogeographic studies on crop gene pools* 8. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Mazzanti, A., Castaño, J., Sevilla, G.H., Orbea, J.R. 1992. Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la provincia de Buenos Aires. Manual de descripción. INTA, CERBAS. pp.32-33.
- McEniry, J., King, C., O'Kiely, P. 2013. Silage fermentation characteristics of three common grassland species in response to advancing stage of maturity and additive application. *Grass and Forage Science*, 69, 393-404.
- McCall, D.G. y Smith J.F. 1998. Seasonal factors influencing reproductive management. In: Fielden E.D. and Smith J.F. (eds) *Reproductive Management of Grazing Ruminants in New Zealand*. Occasional Publication No. 12, pp. 65-76. Hamilton, New Zealand: New Zealand Society of Animal Production.
- McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E., 1991. *The Biochemistry of Silage*, second ed. Chalcombe Publications, Marlow, Buckinghamshire, UK, pp. 109
- McLeod, A. 2011. *World livestock 2011-livestock in food security*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Roma
- Melvin, J.F. 1965. Variations in the carbohydrate content of lucerne and the effect on ensilage. *Australian J. Agric. Res.* 16:951-959.
- Menghini, M., Arelovich, M.H., Bravo, R.D., Martínez, M.F. y Chamadoira, M.D. 2015. Efecto de la fecha de interseembra de *Vicia villosa* a dos densidades sobre una pastura de *Thinopyrum ponticum*. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 35(1):180.
- Miccoli, F., Arelovich, H.M., Bravo, R.D., Martínez, M.F. y Dumrauf, P. 2010. Contraste nutricional entre forrajeras de alto contenido lignocelulósico sujetas a tratamientos alcalinos por aplicación de urea. *Rev. Arg. de Prod. Anim.* 30(1):448.
- Miccoli, F.E. 2014. Influencia de agentes modificadores de la pared celular sobre el valor nutritivo de diversas especies forrajeras. Tesis (magíster) - Universidad Nacional del Sur. Departamento de Agronomía 134 pág.
- Miglierina, A.M., Iglesias, J.O., Landricini, M.R., Galantini, J.A. y Rosell, R.A. 2000. The effects of crop rotation and fertilization on wheat productivity in the Pampean semiarid region of Argentina. 1. Soil physical and chemical properties. *Soil Till. Res.* 53, 129-135.
- Miller, D.A. 1984. *Forage crops*. Mc Graw-Hill Book Company, USA. 530 pág.
- Miller, L.A., Moorby, J.M., Davies, D.R., Humphreys, M.O., Scollan, N.D., MacRae, J.C., Theodorou, M.K., 2001. Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late-lactation dairy cows. *Grass Forage Sci.* 56, 383-394.
- Minns, A., Finn, J., Hector, A., Caldeira, M., Joshi, J., Palmberg, C., Schmid, B., Scherer-Lorenzen M., Spehn E. y Troubis A. 2001. The functioning of European grassland ecosystems: Potential benefits of biodiversity to agriculture. *Outlook Agric.* 30:179-185.
- Molle, G., Decandia, M., Sölter, U., Greef, J.M., Rochon, J.J., Sitzia, M., y Rook, A.J. (2008). The effect of different legume-based swards on intake and performance of grazing

- ruminants under Mediterranean and cool temperate conditions. *Grass and forage science*, 63(4), 513-530.
- Mortenson, M.C., Schuman, G.E., Ingram, L.J. 2004. Carbon sequestration in rangelands interseeded with yellow-flowering alfalfa (*Medicago sativa* ssp. *falcata*). *Environ Manag* 33(1):475-481
- Mortenson, M.C., Schuman, G.E., Ingram, L.J., Nayigihugu, V., Hess, B.W. 2005. Forage production and quality of a mixed-grass rangeland interseeded with *Medicago sativa* ssp. *falcata*. *Rangel Ecol Manag* 58(5):505–513.
- Moser L.E. Post-Harvest Physiological Changes in Forage Plants. En: Moore, K. J., and M. A. Peterson. 1995. *Post-Harvest Physiology and Preservation of Forages*. CSSA Spec. Publ. 22. CSSA and ASA, Madison, WI. 115 pp.
- Muck, R.E. 1990. Dry matter level effects on alfalfa silage quality. Fermentation products and starch hydrolysis. *Transactions Am. Soc. Agric. Eng.*, 33:1005-1009.
- Muir, J.P. Pitman, W.D. Y Foster, J.L. 2011. Sustainable, low-input, warm-season, grass–legume grassland mixtures: mission (nearly) impossible? *Grass and Forage Science* 66: 301-315.
- Nair R.M., Whittal, A., Revell, D.K., Dowling, K., Hughes, S., Craig, A.D. y Auricht, G.C. 2006. Effect of defoliation stress on 2-hydroxy cinnamic acid content at different growth stages in *Melilotus albus*. *Aust. J. Exp. Agric.* 46:1601-1603.
- Nan, Z.B., Abd El Moneim, A.M., Larbi, A. y Nie, B. 2006. Productivity of vetches (*Vicia* spp.) under alpine grassland conditions in China. *Tropical Grasslands* 40:177-182.
- Naudin, C., Corre-Hellou, G., Pineau, S., Crozat, Y., Jeuffroy, M.H. 2010. The effect of various dynamics of N availability on winter pea-wheat intercrops: crop growth, N partitioning and symbiotic N₂ fixation. *Field Crops Res* 119:2-11.
- Ndlovu, L.R. y Buchanan-Smith J.G. 1985. Utilization of poor quality roughages by sheep: Effects of alfalfa supplementation on ruminal parameters, fiber digestion and rate of passage from the rumen. *Can. J. Anim. Sci.* 65: 693-703.
- Ni, K., Wang, F., Zhu, B., Yang, J., Zhou, G., Pan, Y., Tao, Y. y Zhong, J. 2017. Effects of lactic acid bacteria and molasses additives on the microbial community and fermentation quality of soybean silage. *Bioresource Technology*, 238, 706-715.
- Nichols, P.G.H., Loi, A., Nutt, B.J., Evans, P.M., Craig, A.D., Pengelly, B.C., Dear, B.S., Lloyd, D.L., Revell, C.K., Nair, R.M., Ewing, M.A., Howieson, J.G., Auricht, G.A., Howie, J.H., Sandral, G.A., Carr, S.J., de Koning, C.T., Hackney, B.F., Crocker, G.J., Snowball, R., Hughes, S.J., Hall, E.J., Foster, K.J., Skinner, P.W., Barbetti, M.J., You, M.P. 2007. New annual and short-lived perennial pasture legumes for Australian agriculture-15 years of revolution. *Field Crop Res* 104:10-23.
- Nieder, R., Benbi, D.K. 2008. *Carbon and nitrogen in the terrestrial environment*. Springer, Heidelberg
- Nieto, O.M., Castro, J. y Fernández Ondoño, E. 2012. Sustainable agricultural practices for Mediterranean olive groves. The effect of soil management on soil properties. *Spanish Journal of Soil Science* 2: 70-77.

- Noellemeyer, E., Quiroga, A.R. y Estelrich, D. 2006. Soil quality in three range soils of the semi-arid Pampa of Argentina. *Journal of Arid Environments* 65: 142-155.
- NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nyfeler, D., Huguenin Elie, O., Suter, M., Frossard, E., Connolly, J. y Lüscher, A. 2009. Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding. *Journal of Applied Ecology*, 46(3), 683-691.
- Nyfeler, D., Huguenin-Elie, O., Matthias, S., Frossard, E. y Lüscher, A. 2011. Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 140(1-2):155-163.
- Ojeda, F. 2000. Harvesting and ensiling techniques. In: Mannetje L. (ed.). *Proceedings of the Silage Making in the Tropics with Particular Emphasis on Smallholders*. Rome, Italy, p. Paper 8.0.
- Orio, A.G.A., Brücher, E., y Ducasse, D.A. 2016. Switching between monocot and dicot crops in rotation schemes of Argentinean productive fields results in an increment of arbuscular mycorrhizal fungi diversity. *Applied Soil Ecology*, 98, 121-131.
- Owens, F.N., Garza, J. y Dubeski, P. 1991. Advances in amino acid and N nutrition in grazing ruminants. Pages 109-137 En: F. T. McCollum, ed. *Proc. 2nd grazing livestock nutrition conference*. Oklahoma Agric. Exp. Sta. Publ. MP-133.
- Owens, V.N., Albrecht, K.A., Muck, R.E. y Duke, S.H., 1999. Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates. *Crop Sci.* 39,1873-1880.
- Ozpinar, S. y Baytekin, H. 2006. Effects of tillage on biomass, roots, N-accumulation of vetch (*Vicia sativa* L.) on a clay loam soil in semi-arid conditions. *Field Crops Res.* 96: 235-242.
- Paiva, J.A.J. 1976. Qualidade de silagem da região metalúrgica de Minas Gerais. 1976, 43f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Escola de Veterinária, UFMG. Belo Horizonte.
- Panicera, R.J., 1978. Hairy vetch poisoning (*Vicia villosa* Roth) poisoning in cattle. En: *Effects of poisonous plants on livestock*. (Keeler, R. F., Van Kampen, K. R. y James, L. F.) Eds Academic Press, N.Y. 555-563.
- Parsons, A.J., Edwards, G.R., Newton, P.C.D., Chapman, D.F., Caradus, J.R., Rasmussen, S. y Rowarth, J.S., 2011. Past lessons and future prospects: plant breeding for yield and persistence in cool-temperate pastures. *Grass Forage Sci.* 66, 153-172.
- Peoples, M.B., Bowman, A.M., Gault, R.R., Herridge, D.F., McCallum, M.H., McCormick, K.M., Norton, R.M., Rochester, I.J., Scammell, G.J. y Schwenke, G.D. 2001. Factors regulating the contributions of fixed nitrogen by pasture and crop legumes to different farming systems of eastern Australia. *Plant Soil* 228, 29-41.

- Peoples, M.B., Brockwell, J., Hunt, J.R., Swan, A.D., Watson, L., Hayes, R.C., Li, G.D., Hackney, B., Nuttall, J. G., Davies, S.L. y Fillery, I.R.P. 2012. Factors affecting the potential contributions of N₂ fixation by legumes in Australian pasture systems. *Crop and Pasture Science* 63(9):759-786.
- Peoples, M.B., Chalk, P.M., Unkovich, M.J. y Boddey, R.M. 2015. Can differences in ¹⁵N natural abundance be used to quantify the transfer of nitrogen from legumes to neighbouring non-legume plant species? *Soil Biol. Biochem.* 87, 97-109.
- Peoples, M.B., Freney, J.R., Mosier, A.R., 1995. Minimizing gaseous losses of nitrogen. En: Bacon, P.E. (Ed.), *Nitrogen Fertilization in the Environment*. Marcel Dekker, New York, pp. 565-602.
- Perone, C.R., Santini, F.J., Aello, M.S. y Sciotti A.E. 2013. Efecto de la suplementación con harina de girasol sobre el peso del ternero al nacer en vacas de cría que consumen heno de agropiro alargado. *Rev. Arg. de Prod. Anim.* 33(1):165.
- Pirhofer-Walzl, K., Rasmussen, J., Hogh-Jensen, H., Eriksen, J., Soegaard, K. y Rasmussen, J. 2012. Nitrogen transfer from forage legumes to nine neighbouring plants in a multi-species grassland. *Plant and Soil* 350:71-84.
- Porensky L.M., Davidson, J., Leger, E.A., Miller, W.M, Georgen, E.M., Espeland, E.K. y Carroll-Moore E.M. 2014. Grasses for biofuels: a low water-use alternative for cold desert agriculture? *Biomass Bioener.* 66:133-142
- Przemyslaw, S., Cezary, P., Stanislaw, M., Krzysztof, L., Barbara, P., Zofia, A., Maja, F., Katarzyna, Z. y Zabek, K. 2015. The effect of nutritional and fermentational characteristics of grass and legume silages on feed intake, growth performance and blood indices of lambs. *Small Ruminant Research*, 123:1-7.
- Purakayastha, T.J., Rudrappa, L., Singh, D., Swarup, A. y Bhadraray, S. 2008. Long-term impact of fertilizer on soil organic carbon pool and sequestration rates in maize-wheat-cowpea cropping system. *Geoderma* 144:370-378.
- Qamar, I.A., Keatinge, J.D.H., Mohammad, N., Alí, A. y Khan, M.A. 1999. Introduction and management of vetch/barley forage mixtures in the rainfed areas of Pakistan. 1. Forage yield. *Australian Journal of Agricultural Research* 50:1-9.
- Quiroga, A.; Ormeño, O.; Fernandez, D.; Otamendi, H. y Vallejo, A. 1999. Verdeos de Invierno: Necesidad de reconocer y manejar limitantes de su productividad en suelos de la región semiárida pampeana. *Boletín de Divulgación Técnica* N° 61. EEA INTA Anguil. 37 pp.
- Ramos, J.P.F., Santos, E.M., Santos, A.P.M., de Souza, W.H. y Oliveira, J.S. 2016. Ensiling of Forage Crops in Semiarid Regions, *Advances in Silage Production and Utilization*, Dr. Thiago Da Silva (Ed.), InTech.
- Rao, S.C., Northup, B.K., Phillips, W.A. y Mayeux, H.S. 2007. Interseeding novel cool-season annual legumes to improve bermudagrass paddocks. *Crop Sci* 47(1):168-17.
- Rebetzke, G.J., Fischer, R.T.A., Van Herwaarden, A.F., Bonnett, D.G., Chenu, K., Rattey, A.R. y Fettell, N.A. 2014. Plot size matters: interference from intergenotypic

- competition in plant phenotyping studies. *Functional Plant Biology*, 41(2),107-118.
- Renzi, J.P., Chantre, G.R. y Cantamutto, M.A. 2016. Effect of water availability and seed source on physical dormancy break of *Vicia villosa* ssp. *villosa*. *Seed Science Research*, 26(3), 254-263.
- Roberts, C.A., Moore, J.K. y Johnson, K.D. 1989. Forage quality and yield of wheat-vetch at different stage of maturity and vetch seeding rates. *Agronomy Journal* 81:57-60.
- Roberts, C.R. 1995. Microbiology of Stored Forages. En: Moore, K.J. y M. A. Peterson. *Post-Harvest Physiology and Preservation of Forages*. CSSA Spec. Publ. 22. CSSA and ASA, Madison, WI. 115 pp.
- Robertson, G.P. y Vitousek, P.M. 2009. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34, 97-125.
- Rogers, M.E., Colmer, T.D., Frost, K., Henry, D., Cornwall, D., Hulm, E., Deretic, J., Hughes, S.R. y Craig, A.D. 2008. Diversity in the genus *Melilotus* for tolerance to salinity and waterlogging. *Plant and Soil*, 304:89-101.
- Rook, A.J. y Yarrow, N.H. 2002. Incorporating grazing behaviour measurements in models to predict herbage intake by grazing dairy cows. *Grass Forage Sci.* 57, 19-24.
- Rooke, J.A. y Hatfield, R.D. 2003. Biochemistry of ensiling. En: Buxton D.R., Muck R.E. and Harrison J.H. (eds) *Silage science and technology*, pp. 95-140. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy.
- Rosecrance, R.C., McCarty G.W., Shelton D.R. y Teasdale, J.R. 2000. Denitrification and N mineralization from hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) and rye (*Secale cereal* L.) cover crop monocultures and bicultures. *Plant Soil* 227: 283-290.
- Rosell, R.A. y Galantini, J.A. 1998. Soil organic carbon dynamics in native and cultivated ecosystems of South America En: *Management of Carbon Sequestration in Soil*. edited by Rattan Lal. Capítulo 2. Pág 1-32.
- Rotz, A.C. 1992. Field Curing of Forages En: *Post-harvest Physiology and Preservation of Forages*, Edition: Special publication 22. Crop Science Society of America, Editors: Moore, K.J y M.A. Peterson, pp.39-66.
- Ruiz, T.E., Febles G., Castillo E., Díaz L.E., Bernal G. y Puentes R. 1991. Creeping legumes for pre-fattening bovine cattle with free access to protein balance. 1. Grassland performance. *Cuban J. Agric. Sci.* 25:93-99.
- Sá Pereira E., Duval M.E. y Galantini J.A. 2017. Decomposition from legume and non-legume crop residues: Effects on soil organic carbon fractions under controlled conditions. *Spanish Journal of Soil Science* 7(2):86-96.
- Sá Pereira, E, Galantini, J.A. y Duval M. 2017. Use of a three-compartment model to evaluate the dynamics of cover crop residues. *Archives of Agronomy and Soil Science* 1-7.

- Sá Pereira, E., Galantini, J.A., Quiroga, A.R. y Landriscini, M.R. 2014. Efecto de los cultivos de cobertura otoño invernales, sobre el rendimiento y acumulación de N en maíz en el sudoeste bonaerense. *Ciencia del Suelo*. 32:219-231.
- Sadeghpour, A., Jahanzad, E., Hashemi, M., Esmaeili, A. y Herbert, S.J. 2013. Intercropping annual medic with barley may improve total forage and crude protein yield in semi-arid condition. *Australian Journal of Crop Science*, 7, 1822-1828.
- Sadeghpour, A., Jahanzad, E., Lithourgidis, A.S., Hashemi, M., Esmaeili, A. y Hosseini, M. B. 2014. Forage yield and quality of barley-annual medic intercrops in semi-arid environments. *Int. J. Plant Prod*, 8, 77-89.
- Saia, S., Urso, V., Amato, G., Frenda, A.S., Giambalvo, D., Ruisi, P. y Di Miceli, G. 2016. Mediterranean forage legumes grown alone or in mixture with annual ryegrass: biomass production, N₂ fixation, and indices of intercrop efficiency. *Plant and soil*, 402(1-2), 395-407.
- Salguez, M.L. y Lutz, E.E. 2008a. Densidad de macollas en agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* podp.) tercer ciclo. 1. Patrón estacional. *Rev. Arg. de Prod. Animal*. 28(1)404-406.
- Salguez, M.L. y Lutz, E.E. 2008b. Densidad de macollas en agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* (podp.) tercer ciclo. 2. Edad de las macollas, capacidad reproductiva y sobrevivencia. *Rev. Arg. de Prod. Animal*. 28(1)406-407.
- Sanchez, C. 2009. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol. Adv.* 27:185-194.
- Sánchez, S.R, Studdert, G.A. y Echeverría, H.E. 1998. Dinámica de la mineralización del nitrógeno de residuos de cosecha en descomposición en un Argiudol Típico. *Ciencia del Suelo* 16:1-6.
- Sanderson, M.A. 1993. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. *J. of Anim. Sci.* 71(2):505-514.
- Sanderson, M.A. 2010. Nutritive value and herbage accumulation rates of pastures sown to grass, legume, and chicory mixtures. *Agronomy Journal*, 102(2), 728-733.
- Sanderson, M.A. 2010. Stability of production and plant species diversity in managed grasslands: a retrospective study. *Basic Appl. Ecol.* 11, 216-224.
- Sanderson, M.A., Corson, M.S., Alan Rotz, C. y Soder, K. J. 2006. Economic analysis of forage mixture productivity in pastures grazed by dairy cattle. *Forage and grazinglands*, 4(1), 00-00.
- Sanderson, M.A., G. Brink, Stout, R. y Ruth, L. 2013. Grass-Legume Proportions in Forage Seed Mixtures and Effects on Herbage Yield and Weed Abundance *Agron. J.* 105:1289-1297.
- Sanderson, M.A., Skinner, R.H., Barker, D.J., Edwards, G.R., Tracy, B.F. y Wedin, D.A. 2004. Plant species diversity and management of temperate forage and grazing land ecosystems. *Crop Sci* 44:1132-1144.

- Santos, M.C. y Kung Jr L. 2016. Short communication: The effects of dry matter and length of storage on the composition and nutritive value of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 99:1-4.
- Sarandón, S.J. y Flores, C.C. 2014. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. La Plata. 466 pág.
- Satter, L. D., Jung, H. G., Van Vuuren, A. M., & Engels, F. M. 1999. Challenges in the nutrition of high-producing ruminants. En: Proceedings of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores. American Society of Animal Science. Illinois, USA, pág. 609-646.
- Scheinost P., Tilley D., Ogle D., Stannard M. 2008. En: Z.-W. Liu, R.-C. Wang (Eds.), Plant Fact Sheet for Tall Wheatgrass, *Thinopyrum Ponticum* (Podp.), USDANRS, Plant Materials Centre, Corvallis, OR, USA. http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_thpo7.pdf.
- Scherer, R., Gerlach K. Y Sudekun, K. H. 2015. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silage: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and ruminant production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 210:1-16.
- Sengul, S. 2003. Performance of some forage grasses or legumes and their mixtures under dry land conditions. *Eur. J. Agron.* 19: 401-409.
- Sevilla, G.H. y Spada, M.C. 2014. Avances en agropiro alargado: red de ensayos comparativos de producción de materia seca bajo corte de cultivares de agropiro alargado. Visto 3/12/2016. <http://inta.gob.ar/documentos/avances-en-agropiro-alargado-red-de-ensayos-comparativos-de-produccion-de-materia-seca-bajo-corte-de-cultivares-de-agropiro-alargado>.
- Shiran, B., Kiani, S., Sehgal, D., Hafizi, A., Chaudhary, M. y Raina, S. N. 2014. Internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA resolving complex taxonomic history in the genus *Vicia* L. *Genetic resources and crop evolution*, 61(5), 909-925.
- Siddique, K., Loss, S.P., Regan, K.L. y Jettner, R.L. 1999. Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. *Australian Journal Agriculture Research* 50:375-387.
- Silva D.J. y Queiroz A.C., 2002. Determinação dos carboidratos Solúveis. En UFV (Ed.). *Análise de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos*. Viçosa Brasil PP 143-147.
- Sinclair, T.R. 2006. A reminder of the limitations in using Beer's Law to estimate daily radiation intercepting by vegetation. *Crop Science Journal* 46:2343-2347.
- Sinclair, T.R. y Rufty T.W. 2012. Nitrogen and water resources commonly limit crop yield increases, not necessarily plant genetics. *Global Food Secur.* 1:94-98.
- Singh, R.J., Chung, G.H. y Nelson, R.L. 2007. Landmark research in legumes. *Genome* 50 (6), 525-537.

- Sleugh, B., Moore, K.J., George, J.R. y Brummer, E.C. 2000. Binary legume-grass mixtures improve forage yield, nutritive value, and seasonal distribution. *Agron. J.* 92:24-29.
- Smith, G. y Evers, G. 2005. Concurrent selection for low coumarin and multi-stemmed crowns in annual sweetclover. En: O'Mara et al. (ed.) 20th Int. Grassland Congress/ Offered Papers, Wageningen Academic Publishers, Países Bajos, p. 83.
- Smith, K. F., Lee, C. K., Borg, P.T. y Flinn, P.C. 1994: Yield, nutritive value, and phenotypic variability of tall wheatgrass grown in a non-saline environment. *Australian journal of experimental agriculture* 34: 609-614.
- Smith, K.F. 1996. Tall wheatgrass (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Z.W. Liu + R.R.C. Wang): A neglected resource in Australian pasture, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 39:4, 623-627.
- Smith, W.K. Y Gorz, H.L. 1965. Sweetclover improvement. *Advances in Agronomy* 17: 163-231.
- Soil Survey Manual-USDA. 1999. Soil Taxonomy: A basic system of classification for making and interpreting soil survey. *Agric. Handbook* 436. US Government. Washington D.C. 863 pág.
- Spehn, E.M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G. 2002. The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos*, 98(2):205-218.
- Stefanović O.D., Tesić, D.J. y Comić, L.R. 2015. *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. *J. of food and drug analysis* 23:417-424.
- Stern, W.R. 1993. Nitrogen fixation and transfer in intercrop systems. *Field Crop Res.* 34:335-356.
- Stevenson G. 1969. An agronomic and taxonomic review of the genus *Melilotus* Mill. *Can. J. Plant Sci.* 49:1-20.
- Stevenson, B.A., Parfitt, R.L., Schipper, L.A., Baisden, W.T. y Mudge, P. 2010. Relationship between soil $\delta^{15}\text{N}$, C/N and N losses across land uses in New Zealand. *Agriculture, ecosystems & environment*, 139(4), 736-741.
- Studdert, G.A. y Echeverría, H.E. 2000. Crop rotations and nitrogen fertilization to manage soil organic carbon dynamics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:1496-1503.
- Sturludóttir, E., Brophy, C., Bélanger, G., Gustavsson, A.M., Jørgensen, M., Lunnan, T. y Helgadóttir, A. 2014. Benefits of mixing grasses and legumes for herbage yield and nutritive value in Northern Europe and Canada. *Grass Forage Sci.*, 69: 229-240.
- Swift, M.J., Izac M.N. y Van Noordwijk, M. 2004. Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes-are we asking the right questions? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 113-134.
- Taiz, L. y Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*, fourth edition. Sinauer Associates, Inc. Mineral Nutrition 4:73-95.

- Teasdale, J.R., Devine T.E., Mosjidis J.A., Bellinder R.R. y Beste C.E. 2004. Growth and development of hairy vetch cultivars in the northeastern United States as influenced by planting and harvesting date. *Agron. J.* 96: 1266-1271.
- Thompson, A.N., Evans, P.M., Gordon, D.J. y Byron, A.H. 2001. A case study for a highly productive salt tolerant forage legume. 2. Sheep production from *Melilotus alba*. Proceedings of the 7th National PURSL Conference. Launceston, Tasmania, March 20-23, 2001. Pp. 172-173.
- Tilly, J.M.A. y Terry, R.A. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104-111.
- Tittonell, P.A. 2013. Inaugural lecture upon taking up the position of Chair in Farming Systems Ecology at Wageningen University. 44 pág.
- Toledo, D.M., Galantini, J.A., Ferreccio, E., Arzuaga, S., Gimenez, L. y Vázquez, S. 2013. Indicadores e índices de calidad en suelos rojos bajo sistemas naturales y cultivados. *Ciencia del suelo*, 31(2):201-212.
- Treseder, K.K. 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: a meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology letters*, 11(10), 1111-1120.
- Turkington, R.A., Cavers, P.B. y Rempel, E. 1978. THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS.: 29. *Melilotus alba* Desr. and *M. officinalis* (L.) Lam. *Canadian Journal of Plant Science*, 58(2):523-537.
- Turner, H.A. y Raleigh, R.J. 1985. Winter nutrition of fallcalving cows and calves. *Oregon Agric. Exp. Sta. Bull.* 665. 24 p.
- USDA ARS. 2005. Intermountain Planting Guide. Publication no. AG 510. Forage and Range Research Lab, Logan, Utah, and Utah State University Extension. 107 pp.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci* 74, 3583-3597.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest, P.J., 1994. Lignin. In: Van Soest, P.J. (Ed.), *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed., Cornell University Press, Ithaca, NY, USA, pp. 177-195.
- Van Veen, J.A., Kuikman, P.J., 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. *Biogeochemistry* 11, 213-233.
- Vanzolini, J.I. 2011. La *Vicia villosa* como cultivo de cobertura: Efectos de corto plazo sobre el suelo y la productividad del maíz bajo riego en el Valle Bonaerense del Río Colorado. Tesis de Magíster. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. 134 pág.
- Verret, V., Gardarin, A., Pelzer, E., Médiène, S., Makowski, D. y Valantin-Morison, M. 2017. Can legume companion plants control weeds without decreasing crop yield? A meta-analysis. *Field Crops Research*, 204, 158-168.
- Vieira, F.C.B., Bayer, C., Zanatta, J.A., Diekow, J., Mielniczuk J. y He, Z.L. 2007. Carbon management index based on physical fractionation of soil organic matter in an Acrisol under long-term no-till cropping systems. *Soil Till. Res.* 96(1):195-204.

- Vilela, H.H., Rezende, A.V., Vieira, P.F., Andrade, G.A., Evangelista, A.R. y Almeida, G.B.S. 2008. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. *Rev. Bras. Zootecn.* 37:1192-1199.
- Viviani Rossi, V. 1998. Momentos de corte y fertilización con nitrógeno y parámetros cualitativos en silajes de agropiro alargado. FCA, UNMdP/INTA EEA, Balcarce. Trabajo financiado por la UNMdP y el INTA. *Rev Prod Anim.* Vol 18 SUP 1.
- Vogel, K.P., Pedersen, J.F., Masterson, S. D. y Toy, J.J., 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.* Vol. 39: 276-279.
- Voisin, A.S., Salon, C., Munier-Jolain, N.G. y Ney, B. 2002. Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Soil* 243:31-42.
- Volker, R. y Frohner, E. 1950. *Lehrbuch der Toxikologie fur Tierarzte*, 6th ed., pp. 272-273. Ferdinand Enke, Stuttgart, Germany.
- Waghorn, G.C., Shelton, I.D. y Thomas, V.J. 1989. Particle breakdown and rumen digestion of fresh ryegrass (*Lolium perenne* L.) and lucerne (*Medicago sativa* L.) fed to cows during a restricted feeding period. *Br. J. Nutr* 61:409-423.
- Washburn, S.P., White, S.L., Green, Jr. J.T. y Benson, G.A. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85:105-111.
- Weissbach, F. y Honig, H. 1996. Uber die Vorhersage und Steuerung des Garungsverlaufs bei der Silierung von Grunfutter aus extensivem Anbau. *Landbauforschung Volkenrode*, 1, 10-17.
- Whittenbury R. 1968. Microbiology of grass silage. *Process Biochemistry*, 3, 27-31.
- Wilkinson, J.M. 1981. Losses in the conservation and utilization of graa and forage crops. *Ann. Appl. Biol.* 98:365-375.
- Wilkinson, J.M. 2005. *Silage*. Lincoln, UK: Chalcombe Publications.
- Wilson, J.R. 1997. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. Simposio internacional sobre produçã animal em pastejo. Viçosa, MG. *Anais Viçosa, MG: UFV.* pp.173-208.
- Wink, M. 1988. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics* 75: 225-233.
- Wolton, K.M. y Brockman, J.S. 1970. The effect of fertilizer nitrogen and white clover on herbage production. *J. Br. Grassl. Soc.* 25, 7-19.
- Yan, T. y Agnew, R.E. 2004. Concentrations using nutrient compositions and fermentation characteristics Prediction of nutritive values in grass silages: I. Nutrient digestibility and energy. *J. Anim. Sci.*, 82: 1367-1379.
- Yisehak, K. 2008. Effect of seed proportions of Rhodes grass (*Chloris gayana*) and white sweet clover (*Melilotus alba*) at sowing on agronomic characteristics and nutritional quality. *Livestock Research for Rural Development*, 20(28), 15.

- Yitbarek, M.B. y Tamir, B. 2014. Silage Additives: Review. *Open Journal of Applied Sciences*, 4, 258-274.
- Yu, Y., Nan, Z.B. y Matthew, C. 2008. Population relationships of perennial ryegrass and white clover mixtures under differing grazing intensities. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 124:40-50.
- Zabala, J.M., Schrauf, G., Baudracco, J., Giavedoni, J., Quaino, O. y Rush, P. 2012. Selection for late flowering and greater number of basal branches increases the leaf dry matter yield in *Melilotus albus* Desr. *Crop and Pasture Science*, 63(4), 370-376.
- Zemenchik, R.A., Albrecht K.A y Shaver R.D. 2002. Improved nutritive value of kura clover and birdsfoot trefoil-grass mixtures compared with grass monocultures. *Agron. J.* 94:1131-1138.
- Zhang, X.Q, Jin Y.M., Zhang Y.J., Yu Z. y Yan W.H. 2014. Silage quality and preservation of *Urtica cannabina* ensiled alone and with additive treatment. *Grass and Forage Science*. 69(3)405-414.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. 1999. Catálogo de las plantas vasculares de la república Argentina. II. Dicotyledoneae. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, 74: 1-269.

ANEXO
Capítulo II



Figura 1. Condición de la pastura en otoño de 2013. Izquierda: durante la implantación de *V. villosa* bajo siembra directa en Tornquist. Derecha: Después de la interseembra de *V. villosa* mediante labranza vertical en Cabildo.

Tabla 1. Significancia de las fuentes de variación para las variables de composición química de forraje en primavera para agropiro puro y consociado con vicia villosa.

		Tratamiento (T)	Fecha (F)	T x F	Media general	CV, %
	g.l.	2	1	2	--	--
Bahía Blanca						
	PB	**	ns	ns	15,9	31,5
	FDN	**	**	ns	60,7	14,3
primavera temprana	FDA	*	**	ns	33,3	12,4
	LDA	**	ns	ns	3,2	44,4
	DIVMS	*	*	ns	62,3	7,9
	MSA	** (gl.1)	*	ns (gl.1)	28,0	15,9
primavera tardía						
	PB	*	**	ns	7,4	17,2
	FDN	ns	**	ns	72,0	3,4
	FDA	*	**	ns	40,0	4,8
	LDA	ns	ns	ns	4,1	20,5
	DIVMS	ns	*	ns	51,6	13
	MSA	ns (gl. 1)	ns	ns (gl. 1)	32,0	4,4
Tornquist						
	PB	**	*	ns	13,7	42,7
	FDN	**	**	*	61,8	18,4
	FDA	**	**	ns	34,7	20,7
	LDA	**	**	ns	3,8	38,1
	DIVMS	**	ns	ns	61,2	12,6
	MSA	* (gl. 1)	*	ns (gl. 1)	34,4	26,7
Cabildo						
	PB	**	**	ns	10,0	40,3
	FDN	**	**	ns	66,5	9,2
	FDA	ns	*	ns	37,0	7,2
	LDA	**	ns	ns	3,4	31,2
	DIVMS	*	**	ns	55,0	17,8
	MSA	ns (gl. 1)	**	ns (gl. 1)	36,5	11,9

g.l.: Grados de libertad. C.V.: coeficiente de variación. ns: no significativo $p>0,05$; * $p<0,05$; ** $p<0,01$.

Tabla 2. Significancia de las fuentes de variación para las variables de composición química en otoño sobre forraje de agropiro puro con diferentes antecesores.

	g.l.	Tratamiento			Media general	CV, %
		(T)	Fecha (F)	T x F		
Bahía Blanca		1	1	1	--	--
	PB	ns	**	ns	9,1	22,2
	FDN	ns	**	ns	68,9	5,9
	FDA	ns	*	ns	36,6	7,6
	LDA	ns	**	ns	3,4	21,2
	DIVMS	ns	*	ns	45,6	16,2
	MSA	ns	ns	ns	39	10,3
Tornquist						
	PB	*	**	*	8,1	46,2
	FDN	*	**	ns	66,7	10,6
	FDA	ns	**	ns	37,5	15,5
	LDA	ns	**	ns	3,7	33,2
	DIVMS	ns	**	ns	45,4	33,7
	MSA	ns	**	ns	49,3	17,7
Cabildo						
	PB	ns	**	ns	7,1	19,9
	FDN	ns	**	ns	70,3	7,3
	FDA	*	**	*	40,8	10,6
	LDA	ns	**	ns	3,6	22,2
	DIVMS	*	**	ns	36,6	28,5
	MSA	ns	**	ns	44,6	18,9

g.l.: Grados de libertad. C.V.: coeficiente de variación. ns: no significativo $p>0,05$; * $p<0,05$; ** $p<0,01$.

Tabla 3. Composición botánica del tratamiento AV en los diferentes cortes primaverales para tres localidades. A: agropiro; V: *V.villosa*. Valor promedio de tres repeticiones.

		A	V
		%	
Bahía Blanca			
	09/10/2013	36	64
	03/12/2013	78	22
	26/09/2014	26	74
	19/12/2014	92	8
Cabildo			
	30/10/2013	59	41
	21/11/2014	61	39
Tornquist			
	18/10/2013	21	79
	01/10/2014	20	80

Capítulo III

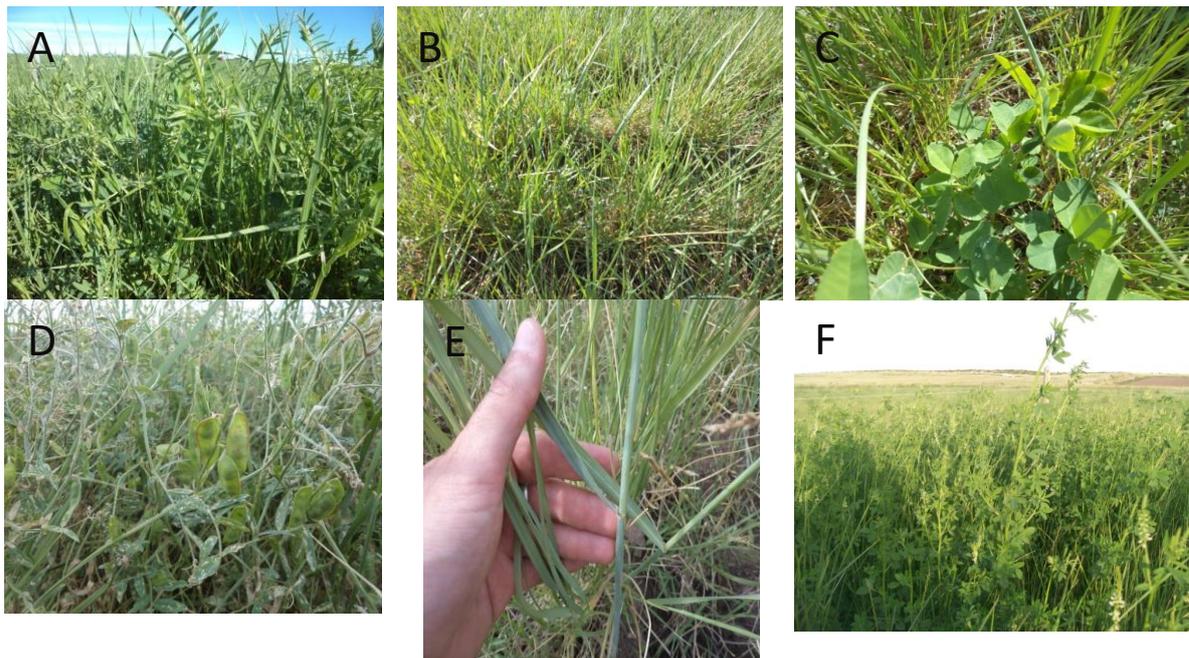


Figura 4. Estado fenológico en C2 para los tratamientos AgrVic (A), AgrPur (B) y AgeTre (C). *V. villosa* y *M. albus* se encuentran en estado vegetativo y en C3 para los tratamientos AgrVic (D), AgrPur (E) y AgrTre (F). La *V. villosa* se encuentra con las vainas llenas, mientras que *M. albus* está en inicio de floración.

Tabla 4. Coeficiente de variación de la biomasa de agropiro, leguminosa y total, por corte y acumulada para cada tratamiento.

Fecha de corte	Tratamientos						
	AgrPur	AgrVic1	AgrVic2	AgrVic3	AgrTre1	AgrTre2	AgrTre3
23/5/2014	CV,%						
Agropiro	35,9	13,8	33,5	20,7	11,9	29,0	17,2
7/10/2014							
Agropiro	29,6	26,8	25,2	27,3	11,6	34,9	43,9
Leguminosa	-	40,7	28,4	35,6	23,1	8,0	58,0
Total	29,6	31,4	15,9	11,2	6,6	28,3	40,7
9/12/2014							
Agropiro	32,6	39,1	22,1	49,7	20,9	21,0	35,6
Leguminosa	-	47,4	59,2	34,4	51,4	12,3	16,7
Total	32,6	40,5	22,9	22,8	3,3	7,8	27,0
17/3/2015							
Agropiro	23,7	22,7	2,8	42,4	37,0	27,7	39,0
Acumulado							
Agropiro	27,9	30,8	16,9	35,2	6,0	15,7	28,3
Leguminosa		42,1	44,3	11,9	40,7	11,9	22,4
Total	27,9	33,0	10,1	20,3	3,5	8,2	23,7

Tabla 5. Coeficiente de variación de las variables de valor nutricional para cada tratamiento

Fecha de corte	Tratamientos						
	AgrPur	AgrVic1	AgrVic2	AgrVic3	AgrTre1	AgrTre2	AgrTre3
23/5/2014	CV, %						
MS	2,0	4,1	16,0	10,9	14,8	11,8	17,2
PB	4,0	5,4	15,0	13,5	9,0	10,6	5,4
FDN	2,2	2,1	3,2	0,5	4,6	1,6	1,9
FDA	4,9	1,2	7,8	0,7	11,5	2,1	7,0
LDA	14,0	7,3	16,1	38,7	24,1	4,7	35,0
DIVMS	1,3	4,3	11,9	2,7	10,2	6,3	3,8
7/10/2014							
MS	3,4	10,7	4,0	15,7	9,5	1,2	6,7
PB	9,8	5,6	9,3	4,3	12,0	1,0	16,3
FDN	1,1	5,5	3,8	6,5	9,4	3,4	3,9
FDA	1,6	7,5	3,0	3,5	9,3	3,2	5,5
LDA	14,6	13,4	1,2	10,5	31,5	3,7	17,1
DIVMS	4,5	7,6	8,8	3,9	11,5	11,2	8,5
9/12/2014							
MS	0,3	8,1	0,2	10,3	2,6	1,3	5,3
PB	8,7	12,0	12,2	16,9	4,7	8,0	24,5
FDN	1,0	3,4	7,3	3,8	2,6	2,8	7,9
FDA	0,5	2,2	2,7	3,1	3,1	1,2	3,2
LDA	7,1	3,9	38,5	25,9	50,7	20,4	67,1
DIVMS	3,4	9,2	6,6	6,4	4,7	2,8	2,7
17/3/2015							
MS	12,6	7,0	9,9	8,8	2,6	8,4	4,4
PB	13,2	10,5	16,5	3,7	3,3	15,0	8,2
FDN	3,2	2,0	1,7	2,1	2,4	2,2	1,6
FDA	3,0	1,4	3,9	1,6	1,6	4,1	5,0
LDA	21,3	15,3	8,4	12,9	5,7	10,8	5,8
DIVMS	3,4	6,0	6,0	7,0	9,0	8,0	5,8

Capítulo IV

Análisis de componentes principales sobre parámetros de la pastura y microsilos de agropiro

Tabla 4.7 Correlación entre las variables y componentes. Porcentaje de reconstrucción de cada variable en el plano de las dos primeras componentes principales para las variables de ensilajes y estado de la pastura al momento de la confección.

Variables	CP 1	CP 2	% reconstrucción entre CP1 y CP2
Número de macollos totales	0,07	-0,10	0,01
Número de macollos reproductivos	-0,80***	-0,30	0,73
Macollos reproductivos	-0,80***	-0,35	0,76
Biomasa total	-0,90***	-0,17	0,84
Biomasa de lámina	-0,73**	-0,33	0,64
Biomasa de tallo	-0,94***	-0,12	0,89
Concentración de tallo	-0,90***	-0,27	0,89
MS total	-0,90***	0,43	1,00
MS de lámina	-0,94***	0,35	1,00
MS de tallo	-0,90***	0,42	0,99
MS	-0,83***	0,52*	0,96
FDN	-0,73**	-0,62*	0,91
FDA	-0,90***	-0,10	0,83
LDA	-0,66**	-0,45	0,64
CNES	-0,73**	0,53*	0,82
DIVMS	0,87***	0,03	0,75
PB	0,94***	0,10	0,89
pH	0,07	0,72**	0,52
N-NH ₃ /NT	0,76***	-0,43	0,77

* p<0,05; **p<0,01;***p<0,001

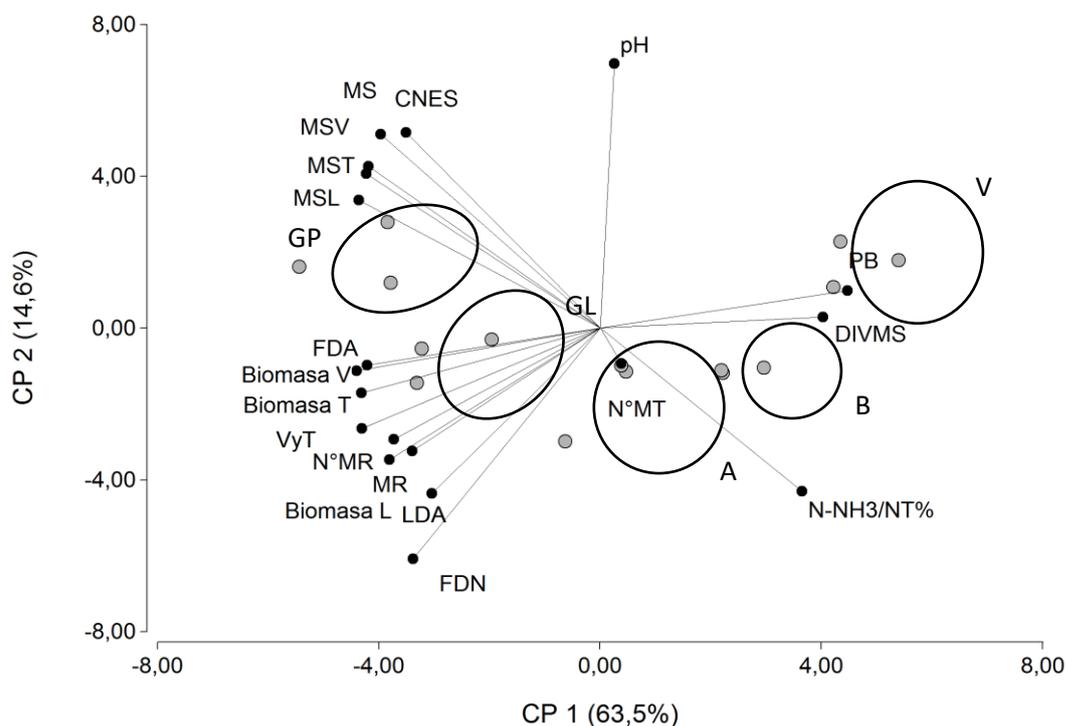


Figura 20. Biplot de los ensilajes de agropyro puro. Los puntos representan cada microsilo, (agrupados en círculos según estados fenológicos; V: Vegetativo; B: Espiga embuchada; A: Antesis; GL: Grano Lechoso; GP: Grano Pastoso) y las variables de la pastura y composición química de ensilajes (vectores) estudiadas en el plano de las dos primeras componentes principales.

Tabla 20. Significancia de las fuentes de variación para las variables de valor nutricional de agropyro en pie, henificado y ensilado en diferentes estados fenológicos.

	reserva (R)	estado fenológico (E)	R x E	Media general	C.V., %
g.l.	2	4	8	--	--
MS, %	**	**	**	61,6	37,6
PB, %	ns	**	ns	8,2	28,1
FDN, %	ns	**	**	70,9	3,1
FDA, %	**	**	**	40,1	9,4
LDA, %	**	**	ns	5,3	26,0
CNES, %	**	**	**	6,6	56,7
DIVMS, %	**	**	ns	47,4	14,0
pH	--	*	--	5,7	10,1
N-NH ₃ /NT, %	--	**	--	8,3	47,0

g.l.: Grados de libertad. C.V.: coeficiente de variación.

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Tabla 4.7 Significancia de las fuentes de variación para las variables de composición química de ensilajes de agropiro con diferentes incorporaciones de trébol de olor y grano en la confección.

Variable	Trébol (T)	Grano (G)	T x G	Media general	C.V., %
g.l.	3	1	3	--	--
MS	ns	ns	ns	38,1	4,5
PB	**	**	**	9,1	17,6
FDN	**	**	**	65,1	6,9
FDA	**	**	ns	38,3	8,6
LDA	**	**	ns	4,5	16,2
CNES	**	**	**	7,8	11,3
DIVMS	ns	**	**	55,1	6,8
N-NH ₃ /NT	ns	**	ns	5,1	10,9
pH	**	**	ns	3,9	2,5

g.l.: Grados de libertad. C.V.: coeficiente de variación.

ns: no significativo $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$



Figura 5. Corte con aro de 0,2 m² sobre agropiro en la fecha 7/11/2012 correspondiente al estado vegetativo (VE).



Figura 6. Corte con maquina cortadora de pasto para realizar el heno (H) y ensilaje (S) en la fecha 7/11/2012 correspondiente al estado vegetativo (VE).



Figura 7. Maquina picadora utilizada para confección de ensilajes.



Figura 8. Microsilos con capacidad de dos kg de forraje fresco. Se almacenaron por 60 días.

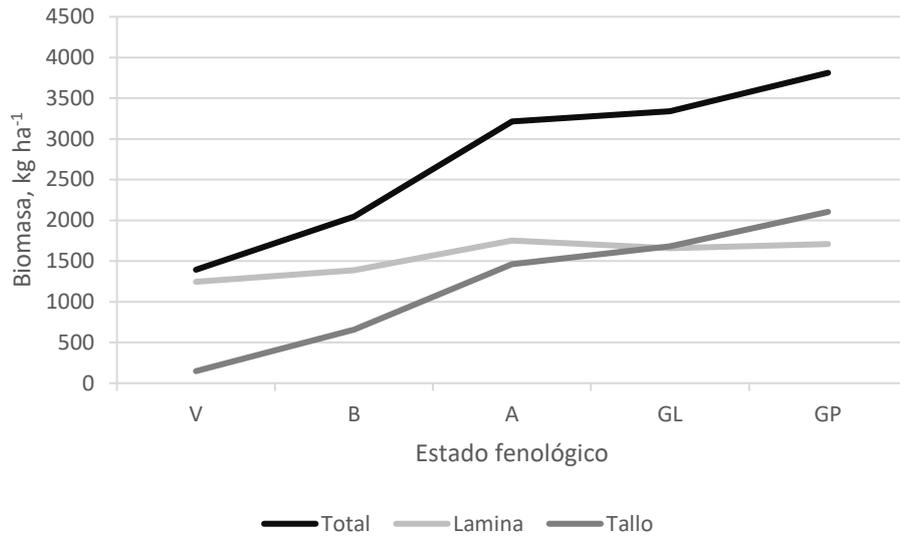


Figura 9. Biomasa total de agropiro, de láminas y tallos (sumatoria de vainas y tallos) en diferentes estados fenológicos de la pastura.

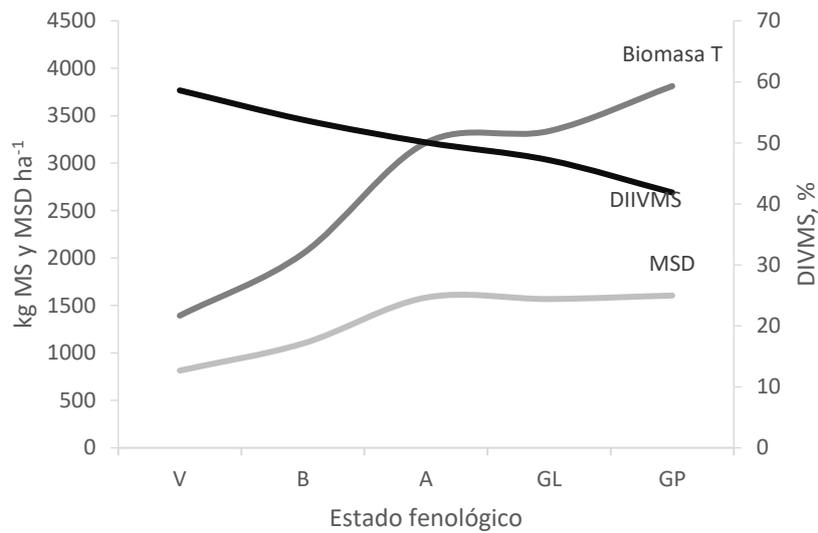


Figura 10. Biomasa total de agropiro (Biomasa T), Digestibilidad "in vitro" de la materia seca (DIVMS) y Materia Seca Digestibles (MSD) (Biomasa T* DIVMS/100) en diferentes estados fenológicos de agropiro alargado para el año 2012 en Bahía Blanca.

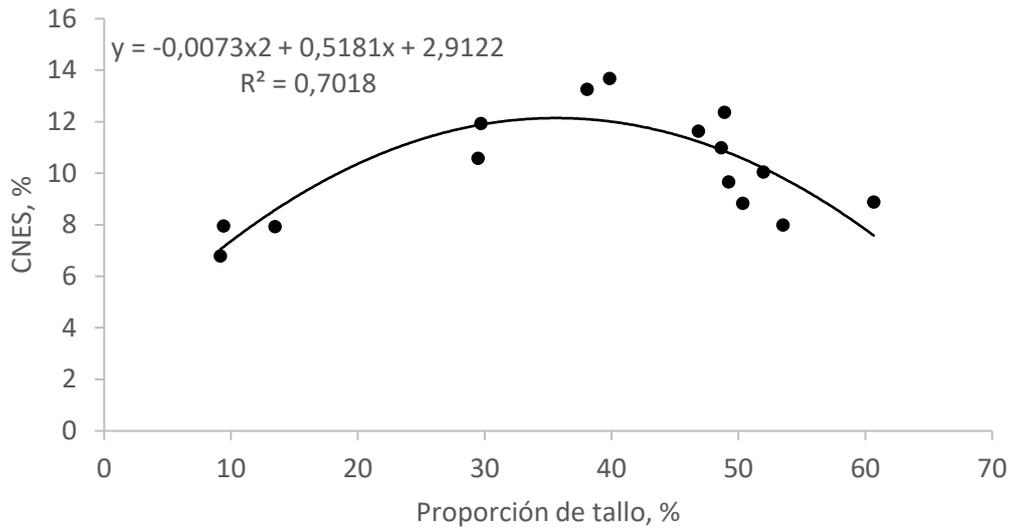


Figura 11. Relación entre la proporción de tallos y el contenido de Carbohidratos no Estructurales Solubles (CNES) de agropiro alargado para el año 2012 en Bahía Blanca.



Figura 12. Pastura de agropiro alargado (izquierda) y trébol de olor blanco (derecha) al momento del corte el día 18/12/2014.