

# Uso de digeridos derivados de la producción de biogás como biofertilizante y enmienda del suelo

Documento Técnico

Este documento fue realizado en el marco de la Coordinación de Bioenergía de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca.

**Autores (INTA):**

Natalia Mórtola, Romina Romaniuk, Vanina Cosentino, Patricia Carfagno, Maximiliano Eiza, Edit Otero Estrada, Marcela Rörig, Analía Rodríguez, Lucrecia Brutti, Daiana Sainz, Francisco Becerra, Miriam Pattini, Marcos Roba, Jonatan Manosalva, M. Eugenia Beily, Patricia Bres, Nicolás Riera, Pedro Rizzo, Mariano Butti y Esteban Rubio.

**Edición y supervisión técnica (MAGyP):**

Agustina Branzini & Celina Escartín

# ÍNDICE

<b><u>AGRADECIMIENTOS</u></b> .....	<b>6</b>
<b><u>SIGLAS Y ACRÓNIMOS</u></b> .....	<b>7</b>
<b><u>RESUMEN EJECUTIVO</u></b> .....	<b>11</b>
<b><u>INTRODUCCIÓN</u></b> .....	<b>12</b>
<b><u>Ensayo a campo</u></b> .....	<b>14</b>
<u>Selección del sitio del ensayo</u> .....	14
<u>Instalación del ensayo</u> .....	16
<b><u>Capítulo 1. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del efluente y del digerido porcino</u></b>	
<b><u>1.1 Origen del digerido y efluente porcino</u></b> .....	<b>22</b>
<b><u>1.2 Determinaciones analíticas</u></b> .....	<b>24</b>
<b><u>1.3 Resultados y discusión</u></b> .....	<b>24</b>
<u>1.3.1 Características generales</u> .....	24
<u>1.3.2 Parámetros de estabilidad: contenido de MO y AGV</u> .....	26
<u>1.3.2.1 Composición de macronutrientes</u> .....	28
<u>1.3.2.2 Composición de micronutrientes</u> .....	30
<b><u>1.4 Consideraciones</u></b> .....	<b>31</b>
<b><u>Capítulo 2. Patógenos en el efluente y digerido porcino y su persistencia en el suelo</u></b>	
<b><u>2.1 ¿Cómo se trabajó?</u></b> .....	<b>33</b>
<b><u>2.2 Resultados de la evaluación</u></b> .....	<b>35</b>
<u>2.2.1 Microorganismos patógenos en el efluente porcino y en el digerido</u> .....	35
<u>2.2.2 Supervivencia de los microorganismos en el suelo</u> .....	38
<b><u>2.3 ¿Qué se demostró?</u></b> .....	<b>40</b>
<b><u>Capítulo 3. Indicadores químicos de calidad del suelo y rendimiento de la pastura</u></b>	
<b><u>3.1 Indicadores analizados</u></b> .....	<b>42</b>
<u>3.1.1 Indicadores químicos de calidad de suelo</u> .....	42
<u>3.1.2 Rendimiento de la pastura</u> .....	46
<b><u>3.2 RESULTADOS</u></b> .....	<b>47</b>
<u>3.2.1 Indicadores químicos de calidad de suelo</u> .....	47

<u>3.2.2 Rendimiento de la pastura</u> .....	54
<b><u>Capítulo 4. Indicadores bioquímicos de calidad del suelo</u></b>	
<b><u>4.1 ¿Cómo se trabajó?</u></b> .....	<b>60</b>
<u>4.1.1. Carbono orgánico total</u> .....	60
<u>4.1.2. Carbono orgánico particulado</u> .....	60
<u>4.1.3. Respiración basal o carbono potencialmente mineralizable</u> .....	61
<b><u>4.2 Comprobaciones</u></b> .....	<b>62</b>
<u>4.2.1 Carbono orgánico total</u> .....	62
<u>4.2.2 Carbono orgánico particulado</u> .....	63
<u>4.2.3. Respiración basal, C potencialmente mineralizable</u> .....	66
<b><u>Capítulo 5. Indicadores microbiológicos de calidad del suelo</u></b>	
<b><u>5.1 Recolección de muestras</u></b> .....	<b>70</b>
<b><u>5.2 Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo</u></b> .....	<b>71</b>
<u>5.2.1 Determinación de las actividades enzimáticas</u> .....	71
<u>5.2.1.1 Actividades enzimáticas fosfatasa ácida y <math>\beta</math>-glucosidasa</u> .....	71
<u>5.2.1.2 Actividad ureasa</u> .....	72
<u>5.2.1.3 Actividad microbiana</u> .....	73
<u>Diversidad funcional</u> .....	73
<u>5.1.2.4 Análisis estadístico</u> .....	74
<u>5.2.1 Actividades enzimáticas</u> .....	75
<u>5.2.2 Actividad microbiana</u> .....	78
<u>5.2.3 Diversidad funcional</u> .....	79
<b><u>Capítulo 6. Indicadores físicos de calidad del suelo</u></b>	
<b><u>6.1 Parámetros evaluados</u></b> .....	<b>89</b>
<u>6.1.1 Constantes hídricas (Richards, 1928)</u> .....	90
<u>6.1.1.1 Toma de muestras</u> .....	90
<u>6.1.1.2 Procedimiento</u> .....	90
<u>6.1.2 Densidad aparente</u> .....	92
<u>6.1.2.1 Penetrometría</u> .....	92
<u>6.1.2.2 Infiltración con anillo simple</u> .....	93
<u>6.1.3 Conductividad hidráulica saturada</u> .....	94
<u>6.1.4 Eficiencia de uso del agua</u> .....	95
<u>6.1.5 Análisis de los datos</u> .....	95
<b><u>6.2 Resultados</u></b> .....	<b>96</b>
<b><u>6.3 Consideraciones</u></b> .....	<b>109</b>

**Capítulo 7. Emisión de gases de efecto invernadero (N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>) desde el suelo**

<b><u>7.1 Análisis de la emisión de N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub></u></b> .....	<b>111</b>
<u>7.1.1 Cálculos de emisión</u> .....	113
<u>7.1.2 Determinaciones de suelo complementarias a la emisión de GEI</u> .....	113
<b><u>7.2 Resultados</u></b> .....	<b>114</b>
<b><u>7.3 Consideraciones</u></b> .....	<b>124</b>

**Capítulo 8. Valoración económica de la utilización agrícola del digerido porcino**

<b><u>8.1 Evaluación aproximada del valor de los fertilizantes de origen orgánico</u></b>	<b>127</b>
<b><u>8.2 Valoraciones económicas</u></b> .....	<b>129</b>
<u>8.2.1 Valoración económica de los productos orgánicos</u> .....	129
<u>8.2.2 Rendimiento económico de las aplicaciones</u> .....	133
<u>8.2.2.1 Infraestructura</u> .....	135
<b><u>8.3 Resultados de los costos y del rendimiento de la aplicación de EP y DEP</u></b>	<b>137</b>

**Capítulo 9. Fitotoxicidad y oportunidad de aplicación del digerido porcino**

<b><u>9.1 Estudio del efecto fitotóxico</u></b> .....	<b>141</b>
<u>9.1.1 Prueba del poder germinativo de las semillas</u> .....	142
<u>9.1.2 Bioensayo de germinación en laboratorio</u> .....	142
<u>9.1.2.1 Porcentaje de germinación relativo</u> .....	143
<u>9.1.2.2 Índice de crecimiento relativo de la radícula y del hipocótilo</u> .....	143
<u>9.1.2.3 Índice de germinación</u> .....	145
<u>9.1.2.4 Velocidad de germinación</u> .....	146
<u>9.1.2.5 Curva de dosis-respuesta</u> .....	146

**9.2 Bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo**

<u>9.2.1 Porcentaje de emergencia relativo</u> .....	149
<u>9.2.2 Velocidad de emergencia</u> .....	149
<u>9.2.3 Número de hojas verdaderas</u> .....	149
<u>9.2.4 Altura de la planta</u> .....	150
<u>9.2.5 Peso húmedo de la biomasa cosechada</u> .....	150
<u>9.2.6 Presencia de plagas, enfermedades y fisiopatías</u> .....	150
<u>9.2.7 Longitud parte aérea y longitud parte radical al momento de la cosecha</u> ..	151

**9.3 Resultados de la evaluación del poder germinativo**..... **151**

<u>9.3.1 Bioensayo de germinación en laboratorio</u> .....	152
<u>9.3.1.1 Porcentaje de germinación relativo</u> .....	152
<u>9.3.1.2 Longitud de radícula e hipocótilo</u> .....	153
<u>9.3.1.3 Índice de crecimiento relativo de la radícula y del hipocótilo</u> .....	153

<a href="#">9.3.1.4 Índice de germinación</a> .....	154
<a href="#">9.3.1.5 Velocidad de germinación</a> .....	155
<a href="#">9.3.1.6 Curva dosis-respuesta</a> .....	156
<b><a href="#">9.4 Resultados del bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo</a></b> .....	<b>157</b>
<a href="#">9.4.1 Número promedio de semillas emergidas por día</a> .....	157
<a href="#">9.4.2 Porcentaje de emergencia relativo</a> .....	158
<a href="#">9.4.3 Velocidad de emergencia</a> .....	158
<a href="#">9.4.4 Número de hojas verdaderas</a> .....	159
<a href="#">9.4.5 Altura de plantas</a> .....	159
<a href="#">9.4.6 Presencia de plagas, enfermedades y fisiopatías</a> .....	160
<a href="#">9.4.7 Peso húmedo de la biomasa a cosecha</a> .....	160
<a href="#">9.4.8 Longitud parte aérea a cosecha</a> .....	162
<b><a href="#">Conclusiones</a></b> .....	<b>165</b>
<b><a href="#">Bibliografía</a></b> .....	<b>169</b>

## AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo fue posible gracias a diversas colaboraciones, a las que los autores quieren dejar expresado su agradecimiento. En particular, a la Ing. Agr. MSc. Lidia B. Donato, quien colaboró incansablemente tanto en la parte técnica y la coordinación, como en la gestión administrativa para el desarrollo de este proyecto; al Lic. Miguel Almada y a la Dra. Agustina Branzini, por su acompañamiento y colaboración en temas administrativos de la Carta de Acuerdo.

## SIGLAS Y ACRÓNIMOS

ACP	análisis de componentes principales
AGV	ácidos grasos volátiles
ANOVA	análisis de la varianza
AWCD	desarrollo promedio de color del pozo (por su sigla en inglés <i>average well-color development</i> )
AWCD_AA	actividad funcional del grupo aminoácidos
AWCD_AC	actividad funcional del grupo ácidos carboxílicos
AWCD_AM	actividad funcional del grupo amias y amines
AWCD_cH	actividad funcional del grupo carbohidratos
AWCD_PO	actividad funcional del grupo de polímeros
BS	base seca
C/N	relación carbono nitrógeno
CC	capacidad de campo
CE	conductividad eléctrica
CI	cationes intercambiables
CIC	capacidad de intercambio catiónica
COT	carbono orgánico total
CP1	componente principal 1
CP2	componente principal 2
Dap	densidad aparente
DBCA	diseño de bloques completamente aleatorizados
DBCA	bloques completamente aleatorizados
DEP	digerido de efluente porcino
DQO	demanda química de oxígeno
EEA INTA AMBA	Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria del Área Metropolitana de Buenos Aires
EP	efluente porcino
EPSA	espacio poroso saturado con agua
EPT	elemento potencialmente tóxico
ET	evapotranspiración
EUA	eficiencia de uso de agua
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	diacetato de fluoresceína
FQ	físico-químico
H'	índice de diversidad de Shannon-Weaver
ICRh	índice de crecimiento relativo hipocótilo
ICRr	índice de crecimiento relativo radícula
ICS	índices de calidad de suelo
IG	índice de germinación
IMyZA	Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
INTI	Instituto Nacional de Tecnología Industrial
Ks	conductividad hidráulica saturada
LADf	lámina de agua disponible al final del período de cultivo
LADi	lámina de agua disponible al inicio del período de cultivo
LHC	largo promedio del hipocótilo de las semillas del control

LHT largo promedio del hipocótilo de las semillas con aplicación de la dosis del digerido (tratamiento)  
 LIA agar lisina hierro (por su sigla en inglés, *Lysine iron agar*)  
 LRC largo promedio de la radícula de las semillas del control  
 LRT largo promedio de la radícula de las semillas con aplicación de la dosis del digerido (tratamiento)  
 LSD diferencia mínima significativa (por su sigla en inglés, *least significant difference*).  
 MO materia orgánica  
 MS materia seca  
 NGI nematodos gastrointestinales  
 NMP número más probable  
 PER porcentaje de emergencia relativo  
 PGR porcentaje de germinación relativo  
 PMP punto de marchitez permanente  
 PNUMA Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente  
 PP precipitaciones  
 R riqueza  
 RAC reactor anaeróbico de contacto  
 RMP resistencia mecánica a la penetración  
 SGC número promedio de semillas germinadas en el control  
 SGT número promedio de semillas germinadas con aplicación de la concentración del digerido (tratamiento)  
 T muestra de suelo testigo  
 TSI, por su sigla en inglés (*Triple Sugar Iron*)  
 U actividad enzimática  
 UASB reactores de flujo ascendente

## Fórmulas y elementos químicos

$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$   
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
 B boro  
 $\text{BaCl}_2$  cloruro de bario  
 $\text{BaCO}_3$  carbonato de bario  
 C carbono  
 $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$  salicilato de sodio  
 Ca calcio  
 $\text{CaSO}_4$  sulfato de calcio  
 $\text{CH}_4$  metano  
 CIC capacidad de intercambio catiónica  
 Cl cloro  
 ClK cloruro de potasio  
 CO carbono orgánico  
 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  urea  
 Co cobalto  
 $\text{CO}_2$  dióxido de carbono  
 COP/COT relación carbono orgánico particulado carbono orgánico total

COP carbono orgánico particulado  
 DTPA Dietilentriaminopentaacético  
 $H_2SO_4$  ácido sulfúrico  
 $H_3BO_3$  ácido trioxobórico  
 HCl ácido clorhídrico  
 K potasio  
 $K_2CrO_4$  cromato de potasio  
 KCl cloruro de potasio  
 Mg magnesio  
 Mn manganeso  
 N org nitrógeno orgánico  
 N nitrógeno  
 $N_2O$  óxido nitroso  
 Na sodio  
 $Na_2CO_3$  carbonato de sodio  
 NaCl cloruro de sodio  
 NaOH hidróxido de sodio  
 $NH_3$  amoníaco  
 $NH_4^+$  amonio  
 $NH_4OAc$  acetato de amonio  
 Ni níquel  
 N- $NH_3$  nitrógeno amoniacal  
 N- $NH_4^+$  nitrógeno de amonio  
 N- $NO_3$  nitrógeno de nitrato  
 $NO_3$   
 $NO_3^-$  nitrato  
 NT nitrógeno total  
 P fósforo  
 Pb plomo  
 Pe fósforo extractable  
 pH reacción del suelo  
 PT fósforo total  
 S azufre  
 SFT Super fosfato triple  
 $SO_4^{2-}$  ion sulfato  
 T testigo  
 U ureasa  
 Zn zinc

## Unidades de medida

% porcentaje  
 °C grados Celsius  
 cm centímetro  
 $cmol^+ kg^{-1}$   
 $gDQO gMO^{-1}$

Kg ha<sup>-1</sup>

kg N ha<sup>-1</sup>

kgMS

kPa kilo pascal

L litro

m metro

m<sup>2</sup> metro cuadrado

mg kg<sup>-1</sup>

mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> miligramos de oxígeno

mS cm<sup>-1</sup> miliSiemens por centímetro

nm nanómetro

## RESUMEN EJECUTIVO

Este documento tiene el objetivo de evaluar la factibilidad de la aplicación de digeridos derivados de la producción de biogás como biofertilizantes para los cultivos y mejoradores de la calidad del suelo. Para esto, se trabaja para sistematizar la caracterización de los digeridos para su uso como enmienda para el suelo y como biofertilizante para los cultivos. Se estudia y determina el valor agronómico de los digeridos para su utilización en agricultura, evaluando sus efectos en el rendimiento y en la calidad del suelo, el agua y el aire. Además, se analiza el impacto de la aplicación de digeridos sobre el cambio climático. Se evalúa económicamente la aplicación de digeridos como alternativa al uso de fertilizantes inorgánicos, y se estudia la factibilidad técnica de la aplicación de digeridos como sustitutos de los fertilizantes inorgánicos.

## INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles (petróleo, carbón y gas natural) son la fuente de energía primaria más utilizada por las sociedades modernas. Sin embargo, ellos presentan dos limitaciones: el agotamiento de sus reservas a corto y mediano plazo, y la emisión a la atmósfera de gases de efecto invernadero (GEI), responsables del calentamiento global. Surgen, de esta manera, las energías alternativas, entre ellas, la energía nuclear, la hidroeléctrica y las energías renovables o verdes. Dentro del grupo de las energías renovables, se encuentran la energía de biomasa, entre otras. La biomasa se refiere al material biológico usado como fuente de energía, que corresponde a cultivos energéticos y residuos orgánicos. La energía química de la biomasa puede recuperarse al quemarla directamente o al transformarla en algún otro producto combustible, como, por ejemplo, gas. Uno de los procesos utilizados con este fin es la digestión anaeróbica de la biomasa.

Las producciones agropecuarias generan grandes cantidades de residuos orgánicos, los cuales constituyen una importante problemática desde el punto de vista ambiental. Sin embargo, los residuos orgánicos pueden ser utilizados como materia prima en el proceso de digestión anaeróbica para la obtención de biogás como fuente de energía renovable. Durante la producción de biogás se genera, además, un producto residual (digerido anaeróbico). El biogás puede ser utilizado dentro del mismo establecimiento agropecuario o puede ser inyectado a la red de distribución de gas local. Por su parte, el digerido puede ser aplicado al suelo como mejorador o como fertilizante orgánico para los cultivos. El digerido constituye una mezcla de materia orgánica parcialmente degradada, biomasa anaeróbica y materia inorgánica. Según Astals *et al.* (2012) y Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.* (2012), la aplicación al suelo del digerido es la mejor opción para su reciclado, ya que contiene considerables cantidades de nutrientes. Sumado a esto, Solís (1991) y Canessa *et al.* (1985) afirman que la aplicación de fertilizantes orgánicos tiene como resultado una acumulación de sustancias nutritivas en el suelo, lo cual mejora su estado físico-químico.

El correcto uso de los digeridos dependerá de sus propiedades químicas, su estabilidad y sus condiciones de higienización. Asimismo, es importante considerar las dosis que se aplicarán y el efecto acumulativo en el suelo por aplicación de dosis sucesivas.

En la actualidad, la aplicación al suelo de digeridos y efluentes pecuarios crudos es una práctica frecuente en el sector agropecuario. Sin embargo, no se conocen los efectos a largo plazo de aplicación de estos materiales y sus consecuencias en el ambiente. Si bien existen algunos estudios sobre el efecto de la aplicación de estos productos en el rendimiento de los cultivos, dichas investigaciones carecen de una perspectiva ambiental, donde se considere el impacto sobre el suelo, el agua y el aire.

El estudio de la aplicación de digeridos al suelo no solo es útil para evaluar su comportamiento como mejorador de la calidad del suelo y/o como alternativa de fertilización de los cultivos, sino también que es importante para evaluar su potencial efecto negativo de salinización, sodificación y contaminación del suelo, del agua y del aire.

El cambio en la calidad del suelo con la aplicación de digeridos puede ser evaluado a través del conocimiento de su estado químico, físico y biológico con el fin de determinar los efectos de dicha práctica, verificando que garanticen la sustentabilidad del recurso para generaciones presentes y futuras.

La evaluación de la emisión de GEI con la aplicación de digeridos es una parte importante en la estimación de la huella de carbono de dicha práctica. Cabe aclarar que las prácticas con un menor valor de huella de carbono tienen un menor impacto ambiental negativo. Esto brinda la oportunidad de posicionar mejor los productos obtenidos con la adopción de dichas prácticas, tanto en mercados nacionales como internacionales.

Las mediciones de la calidad del agua subsuperficial en suelos con incorporación de digeridos permiten conocer el potencial efecto de contaminación de las napas para evaluar posibles riesgos a la salud humana y animal.

En tanto, la evaluación de la fitotoxicidad de los digeridos permite la aplicación de dosis óptimas y la definición de los momentos más apropiados de aplicación con el fin de aumentar los rendimientos, disminuyendo el costo ambiental y el riesgo de pérdida de los cultivos.

En EE. UU. y varios países de Europa existe normativa vigente sobre valores límite y buenas prácticas de aplicación a suelos de digeridos anaeróbicos. Recientemente en Argentina, la Secretaría de Gobierno de Ambiente y Desarrollo Sustentable (Resolución 19/2019) publicó la Norma Técnica para la Aplicación Agrícola de Digerido Proveniente de Plantas de Digestión Anaeróbica, la cual establece los requerimientos y restricciones para su uso. Sin embargo, no se ha desarrollado aún un manual con recomendaciones locales

de buenas prácticas de manejo de estos materiales. Por esta razón, el presente estudio pretende contribuir con información con base científica para la elaboración de dicha herramienta fundamental para realizar un uso sustentable de los digeridos.

Para la realización de este estudio se pusieron en marcha un ensayo a campo y dos bioensayos de fitotoxicidad, uno en laboratorio y otro en invernáculo (que se presentan en el Capítulo 9).

A continuación, se describe el ensayo realizado a campo.

## Ensayo a campo

### Selección del sitio del ensayo

Se realizó el relevamiento de un lote dentro del predio de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria del Área Metropolitana de Buenos Aires (EEA INTA AMBA) ( $34^{\circ} 37' 21,13''\text{S}$  -  $58^{\circ} 40' 12,44''\text{O}$ ) con el objetivo de evaluar la homogeneidad del suelo para la instalación del ensayo a campo (Imagen 1).

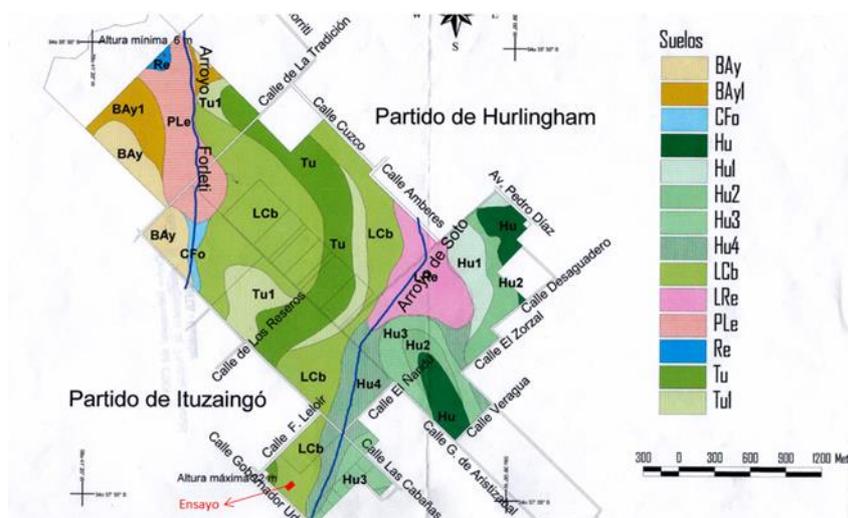
Imagen 1. Ensayo a campo en el predio de la EEA INTA AMBA



Según el relevamiento realizado, el lote se encuentra ubicado en la Unidad Cartográfica Las Cabañas (LCb) (Mapa 1), la cual constituye una asociación con los siguientes componentes:

- Serie Las Cabañas 60%
- Serie Los Reseros 30%
- Serie Tuyu 10%

Mapa 1. Mapa de suelos del CNIA con la ubicación del ensayo a campo en la EEA INTA AMBA



El sitio seleccionado para el ensayo se encuentra ubicado sobre la serie Las Cabañas, cuya clasificación taxonómica, según Soil Taxonomy, es:

- Orden: Molisoles
- Suborden: Udoles
- Gran Grupo: Argiudoles
- Subgrupo: típicos

En tanto, las características del suelo y del paisaje son:

- Tipo de relieve: normal
- Pendiente: clase 1 (0,5 - 1%) áreas muy suavemente a suavemente onduladas
- Escurrimiento: grado 3 (medio)
- Permeabilidad: grado 3 (moderadamente lenta)
- Drenaje: clase 4 (suelo bien drenado)
- Peligro de anegamiento: clase 5 (áreas sin ningún peligro)
- Inundación: clase 5 (áreas sin ningún peligro)
- Alcalinidad sódica: suelo sin alcalinidad sódica
- Salinidad: clase Sa0 (suelo no salino)

Erosión hídrica: grado 2 (muy leve peligro de erosión mantiforme)

Erosión eólica: grado 0 (sin erosión eólica)

La secuencia de horizontes es: AP (0-13 cm), A (13-30 cm), BA (30-40 cm), Bt1 (44-54 cm); Bt2 (54-90 cm), BC (90 cm a más).

Cuadro 1. Parámetros evaluados en muestra de suelo base

Parámetros	Unidad	Suelo base (0-20 cm)
CO	%	2,73
NT	%	0,28
pH agua	adimensional	6,6
CE	mS cm <sup>-1</sup>	0,29
Pe	mg kg <sup>-1</sup>	60,3
Ca	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	15,4
Mg	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	3,33
Na	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	0,20
K	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	1,78
CIC	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	30,1

Antes de la instalación del ensayo se realizó un muestreo compuesto de suelo de base (0-20 cm) para la evaluación de los siguientes parámetros: carbono orgánico (CO) (IRAM-SAGyP 29571 - 2), nitrógeno total (NT) (IRAM-SAGyP 29572 - 1), reacción del suelo (pH) (potenciométrico 1:2,5), conductividad eléctrica (CE) (IRAM-SAGyP 29579), fósforo extractable (Pe) (IRAM-SAGyP 29570 - 1), bases [calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K)] (Espectrometría AA/EA), capacidad de intercambio catiónica (CIC) (AcNH<sub>4</sub> 1N) (Cuadro 1).

## Instalación del ensayo

Se colocaron las estacas para la marcación del ensayo durante el mes de mayo de 2019 (Imagen 2).

Imagen 2. Marcación de ensayo con estaca



Los tratamientos fueron: testigo (T), efluente porcino (EP), digerido de efluente porcino (DEP) y fertilizante químico (urea) (FQ). Los mismos se aplicaron con un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, en parcelas de 4 m<sup>2</sup> (2 m x 2 m) (Gráfico 1) sobre una pastura consociada (festuca, alfalfa, trébol blanco y cebadilla) implantada en el año 2016 (Imagen 3):

Gráfico 1. Diseño del ensayo a campo



Imagen 3. Aplicación de los tratamientos



Para el cálculo de la dosis de aplicación de los residuos (EP y DEP) se utilizó la metodología por balance de nitrógeno (N). Para ello se usaron los contenidos de N de los materiales EP y DEP por aplicar (NT, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N orgánico) (Cuadro 2), los contenidos de N del suelo (N-NO<sub>3</sub> en 0-60 cm) (Cuadro 3) y el requerimiento de N en función del rendimiento objetivo de la pastura (120 kg N ha<sup>-1</sup>).

Cuadro 2. Contenido de nitrógeno total (NT), nitrógeno de amonio (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y nitrógeno orgánico (Norg) en el efluente porcino crudo (EP) y en el digerido de efluente porcino (DEP). Nota: MF: Materia fresca

Material	NT (% MF)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (% MF)	Norg (% MF)
Digerido efluente porcino	0,12	0,103	0,017
Efluente porcino	0,20	0,169	0,031

Cuadro 3. Contenido de nitrógeno de nitrato (N-NO<sub>3</sub>) del suelo

Capa del suelo (cm)	Contenido N-NO <sub>3</sub> (kg ha <sup>-1</sup> )
0-20	34,08
20-40	19,92
40-60	18,98

Para el cálculo de la cantidad de urea para aplicar en el tratamiento FQ, se utilizó el método del balance de N usando el contenido de N del fertilizante (46%), los contenidos de N del suelo (N-NO<sub>3</sub> en 0-60 cm) (Cuadro 3) y el requerimiento de N en función del rendimiento objetivo del cultivo (120 kg N ha<sup>-1</sup>). El tratamiento con fertilización química (FQ) correspondió a la aplicación al voleo de urea granulada.

Según estos cálculos, los volúmenes de EP y DEP y la cantidad de urea aplicados por m<sup>2</sup> fueron los que se indican en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Volumen de efluente porcino y digerido efluente porcino y cantidad de urea aplicados por m<sup>2</sup>

Material	Unidad	Volumen/ cantidad aplicada por m <sup>2</sup>
Digerido efluente porcino	litros	8,4
Efluente porcino	litros	5,1
Fertilizante químico	gramos	10,2

# Capítulo 1. Evaluación de las propiedades físicoquímicas del efluente y del digerido porcino

La actividad porcina mundial se ha incrementado en los últimos años. En el período 2007-2017, la producción mundial de carne porcina se creció un 17,42%; mientras que, en la Argentina, este incremento fue superior, un 60% para el mismo período (FAOSTAT, 2017; Ministerio de Agroindustria, 2016). Este aumento en la producción podría explicarse, en parte, por el incremento del consumo de carne y por el grado de intensificación implementado en los sistemas de producción (Basso y Herrero, 2013; Brunori, 2012). Estos sistemas requieren mayores cantidades de recursos para lograr altos rendimientos. Los avances en la cría de animales, las innovaciones mecánicas y el uso de alimentos y aditivos formulados mejoran la productividad en las operaciones concentradas de alimentación animal (Hribar, 2010). Los sistemas intensivos de producción porcina generan grandes volúmenes de efluentes, que son ricos en materia orgánica y nutrientes que se producen a partir de la limpieza de los galpones de engorde tipo *slats*. Estos galpones disponen en su interior de pisos enrejillados donde las deyecciones de los animales, el agua de lavado, los residuos de alimentos y el agua para bebida son depositados en una fosa que se encuentra debajo del suelo (Brunori *et al.*, 2012; Beily, 2015; Riera *et al.*, 2018). En la Argentina, la limpieza de la fosa, por lo general, se realiza con una frecuencia aproximada de tres meses, con extracciones parciales del EP.

Los efluentes provenientes de estiércoles suelen utilizarse como complemento al aporte de fuentes inorgánicas y como mejorador de las propiedades del suelo en agricultura extensiva y orgánica (Riera, 2019). Existen evidencias de que los EP, si no son tratados o manejados adecuadamente, pueden generar contaminación puntual de distintos componentes del ambiente: suelo, aire y cuerpos de agua (Cameron *et al.*, 1997; Hu *et al.*, 2017; Pain y Smith, 1994). La aplicación de materia orgánica biológicamente inestable en el suelo produce la competencia por oxígeno entre la biomasa microbiana y las raíces de las plantas.

Este hecho limita el consumo de oxígeno en las raíces (Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012).

La digestión anaeróbica es una alternativa viable de tratamiento, que permite estabilizar el efluente, reducir o eliminar la carga de patógenos y minimizar las emisiones de GEI, contribuyendo a la reducción del impacto ambiental que estos ocasionan cuando son aplicados al suelo (González-Arias *et al.*, 2019). La digestión anaeróbica es un proceso de transformación biológica en ausencia de oxígeno, llevado a cabo por diferentes grupos de microorganismos que degradan los compuestos orgánicos convirtiéndolos en un gas combustible, llamado *biogás* ( $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) y generando un material semilíquido llamado *digerido* (Tabatabaei y Ghanavati, 2018). El digerido es una mezcla de materia orgánica parcialmente degradada, biomasa microbiana y materia inorgánica, con un elevado contenido de agua (Bernal Calderón *et al.*, 2011). Generalmente, el producto digerido está estabilizado y puede ser valorizado agrónomicamente, utilizándose como fertilizante o como aditivo para suelos agrícolas. Con una tasa de aplicación adecuada, los nutrientes presentes en el digerido cubrirán la demanda para el crecimiento de las plantas. Los compuestos de carbono estables no degradados conducen a la formación de humus y de estructura en el suelo, incrementando así la fertilidad, funcionalidad, actividad microbiana, aireación y capacidad de almacenamiento de agua (Wilken *et al.*, 2018).

La tasa de aplicación dependerá de la composición del digerido y de los requisitos nutricionales de la planta. El uso inadecuado o aplicación de dosis excesivas puede significar un riesgo de contaminación, que incide negativamente en el suelo, el agua y las plantas (Bernal Calderón *et al.*, 2011; Tigini *et al.*, 2016).

Las características del digerido varían extensamente. La composición de nutrientes en el digerido depende del sustrato utilizado, como así también de las variables operativas y técnicas y de diseño de los reactores anaeróbicos. Si bien es posible determinar, bajo un análisis de datos, el contenido de los principales nutrientes, se recomienda determinar las características fisicoquímicas del digerido varias veces al año para garantizar su utilización como fertilizante, asegurando un balance entre el aporte de nutrientes por el digerido y lo que requiere el cultivo (Wilken *et al.*, 2018).

En la Argentina, el número de plantas de biogás creció en los últimos años, lo que condujo a la necesidad de conocer las potencialidades agronómicas del digerido. Asimismo, existen escasos antecedentes en nuestro país sobre la evaluación de la aplicación de digeridos en

suelo a escala campo. Por eso, la primera etapa de este trabajo fue conocer las características del digerido y del efluente porcino, determinando sus propiedades fisicoquímicas para evaluar sus potencialidades y limitaciones como uso agronómico.

## 1.1 Origen del digerido y efluente porcino

El EP fue obtenido de un establecimiento integrado por 180 madres, en confinamiento de ciclo completo. Los animales son alimentados con residuos agroindustriales y el agregado de núcleos vitamínicos, para evitar deficiencias nutricionales durante su cría y engorde. En los galpones del establecimiento, los animales se encuentran sobre pisos enrejillados (*slats*), debajo de los cuales se encuentran una fosa donde cae el purín (orina, estiércol, restos de alimento y agua de los bebederos). Las fosas contienen aproximadamente unos 10 cm de agua limpia al comienzo del ciclo, que se mezcla con el purín a medida que se va produciendo. Luego, por un sistema de pendiente, el efluente generado se conduce a una fosa general. Como sistema de tratamiento, este efluente es conducido a tres lagunas de estabilización ubicadas en serie. El EP utilizado para este ensayo fue recolectado de la fosa general (Imágenes 4 y 5).

Imagen 4. Piso enrejillado del sistema intensivo *slats* en el establecimiento



Imagen 5. Recolección del efluente porcino. a. Extracción del efluente por bombeo desde la fosa general. b. Tanque de 200 l con el efluente recolectado



El DEP fue obtenido a partir de un reactor anaeróbico alimentado en forma semicontinua (una vez al día) con EP, proveniente del mismo establecimiento antes mencionado. El reactor anaeróbico es de mezcla completa, con un volumen efectivo de 200 litros que trabajó en condiciones mesofílicas (35 °C). El reactor piloto pertenece al Laboratorio de Transformación de Residuos del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA-INTA) y está instalado en el predio del INTA-Castelar (Imagen 6). El DEP recolectado para este ensayo tuvo un tiempo de almacenamiento de seis meses y proviene de un régimen continuo de funcionamiento, donde se mantuvieron constantes las variables operativas y ambientales en el reactor.

Imagen 6. Reactor anaeróbico alimentado con efluente porcino (Laboratorio Transformación de Residuos-IMyZA-INTA Castelar)



## 1.2 Determinaciones analíticas

Se determinaron los parámetros: pH, CE, materia seca (MS), materia orgánica (MO), NT, nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) y demanda química de oxígeno (DQO) en las muestras EP y DEP, según métodos normalizados (APHA, AWWA y WPCF, 1992). El carbono orgánico total (COT) fue calculado mediante el contenido de materia orgánica y un factor de conversión (USDA y USCC, 2001). Los ácidos grasos volátiles (AGV) fueron determinados por titulación con una base, según método descrito por Dilallo y Albertson (1961). Además, se determinó el fósforo total (PT) y los elementos totales Ca, Na, K, Mg, manganeso (Mn), hierro (Fe), cobre (Cu) y zinc (Zn). Para la determinación de estas variables, se realizó previamente una digestión de las muestras, utilizando digester de microondas (CEM, Mars 5). El PT fue determinado por el método colorimétrico y los elementos totales por espectroscopía de absorción atómica, según métodos descritos en APHA, AWWA y WPCF (1992).

## 1.3 Resultados y discusión

### **1.3.1 Características generales**

En la Cuadro 5 se muestra las características físicoquímicas del EP y del DEP.

El valor de pH fue cercano al neutro para el EP, en concordancia con valores hallados por otros autores en efluentes porcinos en confinamiento (González Martineaux, 2005; Robert Pullés *et al.*, 2010). Comúnmente, el pH toma valores entre 6 y 8, tendiendo a la neutralidad cuanto más fresca son las excretas (Peralta Alba, 2005).

Cuadro 5. Parámetros físicoquímicos en EP y en DEP (promedio  $\pm$  desvío estándar)

PARAMETROS	UNIDAD	EP	DEP
pH	upH	7,30 $\pm$ 0,00	8,37 $\pm$ 0,06
CE	mS cm <sup>-1</sup>	15,76 $\pm$ 0,08	13,05 $\pm$ 0,07
MS	%	0,71 $\pm$ 0,01	0,80 $\pm$ 0,08
MO	%bs	51,10 $\pm$ 0,67	40,57 $\pm$ 1,24
MO	g L <sup>-1</sup>	3,62 $\pm$ 11	3,26 $\pm$ 0,41
COT	g L <sup>-1</sup>	2,01 $\pm$ 0,06	1,81 $\pm$ 0,23
C/N		1,00 $\pm$ 0,06	1,52 $\pm$ 0,05
DQO	mg L <sup>-1</sup>	9040 $\pm$ 618	4841 $\pm$ 324
AGV	mg L <sup>-1</sup>	8443 $\pm$ 117	451 $\pm$ 31
AGV	gDQO gMO <sup>-1</sup>	2,50 $\pm$ 0,10	0,15 $\pm$ 0,02
NT	g L <sup>-1</sup>	2,01 $\pm$ 0,16	1,18 $\pm$ 0,01
N-NH <sub>3</sub>	g L <sup>-1</sup>	1,69 $\pm$ 0,07	1,03 $\pm$ 0,12
PT	mg L <sup>-1</sup>	99,66 $\pm$ 4,48	345,76 $\pm$ 8,28
Ca	mg L <sup>-1</sup>	154,13 $\pm$ 25,29	78,3 $\pm$ 21,02
Mg	mg L <sup>-1</sup>	47,63 $\pm$ 8,96	48,79 $\pm$ 14,65
K	mg L <sup>-1</sup>	421 $\pm$ 8	1530 $\pm$ 7
Na	mg L <sup>-1</sup>	905 $\pm$ 40	919 $\pm$ 75
Mn	mg L <sup>-1</sup>	0,79 $\pm$ 0,05	1,45 $\pm$ 0,05
Fe	mg L <sup>-1</sup>	8,16 $\pm$ 0,73	32,22 $\pm$ 0,98
Cu	mg L <sup>-1</sup>	0,99 $\pm$ 0,27	8,12 $\pm$ 0,21
Zn	mg L <sup>-1</sup>	3,17 $\pm$ 0,22	7,6 $\pm$ 0,23

En el DEP, el pH fue alcalino, acorde con valores de pH hallados en digeridos provenientes de estiércoles (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012). El valor del pH es dependiente de la resistencia que presentan los sistemas buffer (HCO<sub>3</sub>/CO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), así como el contenido de AGV en un proceso anaeróbico. Cuando el contenido de estos ácidos disminuye, producto de la formación de CH<sub>4</sub>, se observa un incremento del pH como consecuencia de la acción de los sistemas amortiguadores, y debido a la formación del carbonato de amonio [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>] (Cendales Ladino, 2011). Además, las concentraciones de los cationes básicos como Ca y K, y los iones multivalentes Fe y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pueden conducir al incremento de pH en digeridos (Möller y Müller, 2012).

La CE fue elevada en el EP, en concordancia con los valores encontrados por Martínez-Suller *et al.* (2008) y Moral *et al.* (2005), quienes encontraron valores de CE superiores a los 14 mS cm<sup>-1</sup> al estudiar efluentes porcinos en producciones en confinamiento. Este valor

elevado podría estar asociado a la dieta del animal, rica en sales y proteínas. Las dietas para cerdos, por lo general, se complementan con sales, como el Cu, Zn, Na y K, en cantidades que a veces exceden los requisitos fisiológicos de los animales (Jondreville *et al.*, 2003). Con respecto al DEP, la CE presentó un valor menor que en el EP, pero de todos modos era elevado. El producto digerido proveniente de un proceso anaeróbico presenta comúnmente CE elevadas, debido, principalmente, a que durante el proceso degradativo se incrementan los carbonatos, bicarbonatos y nitrógeno amoniacal (Beily *et al.*, 2010; Bres *et al.*, 2010; Jun *et al.*, 2009). Bernal Calderón *et al.* (2011) han demostrado un alto grado de asociación entre la CE, el NT, el N-NH<sub>3</sub>, el K, el Zn y Cl, permitiendo estimar, mediante la determinación de la CE y una ecuación lineal, la concentración de estas variables de una forma sencilla y rápida. Por otro lado, debe considerarse tomar especiales cuidados cuando los materiales por aplicar contienen elevadas CE. La aplicación de dosis continuas o excesivas de efluentes o digeridos con CE elevada (asociada a altas concentraciones de Cl y Na), podría incidir negativamente sobre el desarrollo de los cultivos y conducir a la salinidad del suelo (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Bernal Calderón *et al.*, 2011; Sadak *et al.*, 2015).

### 1.3.2 Parámetros de estabilidad: contenido de MO y AGV

Con respecto al contenido de MO, pudo observarse valores altos de DQO en el EP, y superiores al encontrado en el DEP. La concentración de DQO en efluentes porcinos puede variar extensamente dependiendo de los diversos factores asociados al manejo del efluente y al sistema productivo de cada establecimiento (Moral *et al.*, 2005; Moral *et al.*, 2008). Por otro lado, muestreos anteriores de este efluente mostraron un valor promedio de 20600 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, con valores mínimos de 8875 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y valores máximos de 31250 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (n= 20). La concentración más baja de DQO con respecto a los muestreos anteriores podría estar relacionada a que la recolección del efluente para este ensayo fue realizada en el período de higienización de los galpones, que aporta agua de lavado al efluente de la fosa general. El agua de limpieza en los galpones puede ser uno de los factores que más afecta a la concentración de la materia orgánica en efluentes almacenados (Yagüe *et al.*, 2012). El aporte de materia orgánica al suelo por la aplicación del EP es relativamente bajo, si se lo compara con otros estiércoles. Acorde a lo reportado por Fanguero *et al.* (2012) y Hernández *et al.* (2007), la aplicación de efluente porcino al suelo no contribuye

significativamente a la materia orgánica del suelo, pero en un corto plazo podría inducir la reactivación de su actividad microbiana.

Con respecto a la DQO en el digerido, el aporte de materia orgánica es menor que el EP. Generalmente, el digerido presenta valores menores de MO con respecto al residuo original (materia prima o sustrato para la digestión anaeróbica). Algunos autores han referenciado reducciones de la MO entre un 40-70% luego de un proceso anaeróbico (Bernasconi Torres, 2019, Sadak *et al.*, 2015; Tabatabaei y Ghanavati, 2018). Por otro lado, el digerido debe contener un mínimo de MO para que pueda ser utilizado como fertilizante. Un reporte de la Comisión Europea establece un valor mínimo del 15% de MO en base seca para que el digerido pueda ser aplicado al suelo (Saveyn y Eder, 2014). En este caso, el valor de MO en el digerido fue superior al 15%, con un valor del 40%, favoreciéndose su utilización como uso agronómico.

La concentración de ácidos orgánicos volátiles en los efluentes o digeridos es una variable importante para controlar antes de la aplicación, ya que altos valores pueden tener un efecto negativo en el suelo. La concentración de AGV en el EP fue elevada. En general, los efluentes con alto contenido en lípidos presentan alto contenido de ácidos grasos (Chen *et al.*, 2014). La policondensación, la conexión a los coloides inorgánicos y orgánicos y la transformación de estos ácidos pueden tener un efecto sobre las propiedades químicas del suelo, que conducen al decrecimiento del pH (Makádi *et al.*, 2012).

La concentración de AGV en DEP fue baja. Se reporta que el digerido debe contener un valor menor a 1500 mg L<sup>-1</sup> para asegurar condiciones de estabilidad y evitar efectos negativos en el suelo. Un digerido aplicado con baja estabilidad puede producir una rápida activación de la actividad microbiana, presentando elevadas tasas de respiración (producción de CO<sub>2</sub>) que pueden conducir a condiciones de hipoxia/anoxia a nivel radicular y producción de sustancia fitotóxicas (Bernal Calderón *et al.*, 2011). La regulación de la aplicación de digeridos como biofertilizante en Reino Unido (BSI, 2010) establece como parámetro de estabilidad un valor de AGV de 0,43 gDQO gMO<sup>-1</sup>. Considerando esta referencia, el valor de AGV obtenido en el DEP mostró condiciones de estabilidad y apto para ser aplicado como uso agrícola.

### 1.3.2.1 Composición de macronutrientes

El nitrógeno es uno de los nutrientes más importantes para las plantas y el factor limitante de crecimiento para los cultivos agrícolas. La concentración de NT y N-NH<sub>3</sub> fue elevada en EP. Comúnmente, los estiércoles de animales monogástricos presentan concentraciones elevadas de compuestos nitrogenados, debido a que el aparato digestivo solo es capaz de utilizar un 33% para formar tejido (carne) por cada gramo de proteína consumida por el animal. El resto es eliminado mediante las excretas, donde las formas químicas solubles de los macronutrientes (N, P, K) provenientes de la hidrólisis de las proteínas conducen a elevadas cargas en las deyecciones líquidas (Brunori *et al.*, 2012).

Pudo observarse, además, que el 85% del NT se encuentra en forma N-NH<sub>3</sub> en el EP, en concordancia con lo reportado por otros autores (Martínez-Suller *et al.*, 2008; Moral *et al.*, 2005; Yagüe *et al.*, 2012). El N excretado en forma ureica (orina) se degrada rápidamente dentro de la fosa a N-NH<sub>3</sub>, incrementándose su contenido con el tiempo de almacenamiento del efluente (Beily, 2015; Ferrer *et al.*, 1983; Sánchez y González, 2005). Si bien el efluente porcino se valoriza agrónomicamente debido a la alta proporción de N-NH<sub>3</sub> con respecto al NT, debe considerarse que este compuesto puede perderse fácilmente por volatilización (Moral *et al.*, 2005).

Con respecto a la concentración de los compuestos nitrogenados en el DEP, se observaron concentraciones altas de NT y N-NH<sub>3</sub>, mostrando, además, que el 83% del NT está en su forma amoniacal. Generalmente, el N-NH<sub>3</sub> es elevado en digeridos provenientes de estiércoles ricos en proteínas, debido a que este compuesto se forma en el proceso degradativo anaeróbico y su concentración será dependiente del pH y la temperatura del medio. La volatilización del N-NH<sub>3</sub> se ve favorecida a temperaturas altas y pH superiores a 7,5, característica de la mayoría de los digeridos (Chevallier Boutel y Toribio, 2006; Yenigün y Demirel, 2013). Por lo antedicho, la manera de aplicación de efluentes y digeridos es una variable importante para considerar. La opción más segura y de reducción de pérdidas por evaporación es la técnica por inyección. Se estima que entre un 20-35% del N-NH<sub>3</sub> puede ser emitido a la atmósfera cuando un biofertilizante líquido se aplica sobre la superficie del suelo (Nyord *et al.*, 2008).

En cuanto al P en efluentes porcinos, se reporta un amplio rango de valores que van desde 0,06 a 4,58 g L<sup>-1</sup> (Antezana *et al.*, 2016), encontrándose el valor obtenido en EP dentro de ese rango. La administración de P en la alimentación animal es una práctica común e

impacta directamente, elevando la concentración de este elemento en el estiércol (Wang *et al.*, 2011). El efluente caracterizado proviene de una granja en donde los animales son alimentados a base de residuos agroindustriales, según propios datos del productor, y con una menor proporción de cereales, lo que podría explicar la menor concentración de P halladas en este estudio. Por otro lado, la concentración de P está relacionada con el contenido de sólidos (Moral *et al.*, 2005; Yagüe *et al.*, 2012). La concentración baja de sólidos en EP podría explicar la baja concentración de PT.

El K en el EP fue bajo, comparado a lo reportado por otros autores (Beily, 2015; Riera, 2019; Sánchez y González, 2005; Yagüe *et al.*, 2012). La concentración de este macronutriente puede variar extensamente, dependiendo de la dieta del animal, el cual se adiciona para mejorar la tasa de crecimiento y evitar posibles síntomas debido al déficit de este mineral. Del contenido total consumido en la ración, se estima que un 59% es excretado (Hatfield y Stewart, 1998). A diferencia de otros elementos, el K se encuentra principalmente en la fase líquida del efluente, debido a su alta solubilidad (Riera *et al.*, 2018; Sánchez y González, 2005). La concentración baja de K, en este caso, podría deberse a que es un efluente con alto contenido de agua.

En el DEP la concentración de PT fue alta. Habitualmente los digeridos, provenientes de estiércoles, contienen cantidades apreciables de P, contribuyendo a una fuente importante de nutrientes para la producción agrícola (Möller y Müller, 2012). Por otro lado, el contenido del K en el DEP también es importante. Generalmente la relación entre el PT y el K en digeridos es de 1:3 (Makádi *et al.*, 2012). En este caso, esta relación fue aproximadamente de 1:4, levemente superior al valor de referencia. Las concentraciones altas de K y PT en digerido favorecen su aplicación como biofertilizante, aportando estos nutrientes que generalmente se encuentran en déficit en suelos. Sin embargo, deberían evitarse dosis excesivas de aplicación, ya que podrían causar contaminación en cuerpos de agua superficiales y subterráneas (Bernal Calderón *et al.*, 2011; Makádi *et al.*, 2012; Nkoa, 2014). Los criterios de calidad de las normativas sobre la aplicación de estos materiales no establecen valores límites de los macronutrientes, pero sí deben ser declarados. Además, la utilización de los digeridos debe estar acompañada con un plan de manejo de nutrientes, teniendo en cuenta los requerimientos del cultivo (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Nkoa, 2014).

Con respecto al Ca y Mg en EP, se encontraron concentraciones por debajo de los valores promedios reportados por otros autores (Antezana *et al.*, 2016; Moral *et al.*, 2008, Sánchez y González, 2005). Al igual que el P y otras variables, como la DQO y contenido de sólidos, la concentración de estos macronutrientes podría ser más baja debido al efecto de dilución del efluente.

El Ca y el Mg en el DEP se encontraron por debajo a los valores reportados por Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.* (2012). Ellos reportaron un rango de concentración de 218-1993 mg L<sup>-1</sup> para el Ca y de 67-721 mg L<sup>-1</sup> para el Mg, observando un amplio rango de valores en la composición de estos nutrientes en digeridos provenientes de efluentes porcinos y vacunos. Por otro lado, el Ca y el Mg tienden a acumularse dentro de un reactor anaeróbico. Marcató *et al.* (2008) encontraron incrementos significativos de estos elementos comparando la entrada con la salida (digerido) de un proceso anaeróbico, asociando esto a un efecto de acumulación.

### 1.3.2.2 Composición de micronutrientes

Las plantas, animales y humanos requieren elementos trazas como Fe, Cu, Zn, Na y Mn, ya que intervienen en varias reacciones enzimáticas. Los contenidos de micronutrientes en las excretas derivan principalmente de la ración consumida por los animales. El Cu y Zn son elementos que se agregan como complejos vitamínicos para estimular el crecimiento y también para prevenir enfermedades (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012). Los contenidos de Cu y Zn consumidos con la ración son, en su mayor parte, excretados, produciendo un estiércol con altas concentraciones de estos elementos (Hatfield *et al.*, 1990). El Na es adicionado en la dieta para evitar deficiencias nutricionales, más del 65% del cual es excretado por el animal (Hatfield *et al.*, 1990). Los valores de sales hallados en este trabajo se encuentran en concordancia con los descritos en otras investigaciones referidas a efluentes porcinos (Sánchez y González 2005; Scottford *et al.*, 1998).

En el DEP, se registraron concentraciones altas de Mn, Fe, Cu y Zn. Generalmente, los digeridos pueden presentar concentraciones más elevadas que el material original, ya que en el proceso anaeróbico se concentran las sales, como analizaron Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.* (2012). Estos autores evaluaron el potencial uso como fertilizante de 12 digeridos de origen porcino y bovino. Ellos encontraron una variada

composición de micronutrientes, alcanzando un rango de concentración de 22-224 mg L<sup>-1</sup> para el Fe, de 2,9-31 mg L<sup>-1</sup> para el Mn, de 34,7-140,2 mg L<sup>-1</sup> para el Zn y de 4-15,1 mg L<sup>-1</sup> para el Cu. Si bien el DEP presentó una variada composición de micronutrientes, como las halladas por estos autores, las concentraciones de estos fueron diferentes a las reportadas. La concentración de los micronutrientes en el digerido puede variar extensamente, ya que en el proceso anaeróbico intervienen diversos factores, como el pH, potencial rédox, reacciones de precipitación, complejación y adsorción (Möller y Müller, 2012).

## 1.4 Consideraciones

El análisis sobre las características generales, contenido de materia orgánica y la composición de los macro y micronutrientes en el EP y DEP permitió identificar cuáles son las potencialidades y limitaciones asociadas a la aplicación de estos materiales en el suelo. Vale destacar que el EP el DEP son muestras complejas y heterogéneas, cuya composición y características dependen de diversos factores. En el caso del EP, la variabilidad se encuentra asociada al ciclo productivo animal y a particularidades del establecimiento, tales como alimentación, frecuencia y tipo de limpieza de las instalaciones, implementación de sistemas de tratamiento de efluentes, entre otros. Por otro lado, las características de los digeridos pueden variar dependiendo de los materiales que les dieron origen (residuos y cosustratos), de las condiciones ambientales del proceso anaeróbico (pH, potencial rédox, concentración de compuestos nitrogenados, de AGV, etc.) y al tipo y escala de tecnología implementada durante el proceso de estabilización. La variabilidad, la heterogeneidad y la complejidad de estos materiales conllevan a la necesidad de implementar un sistema de monitoreo y generar criterios de fertilización antes de su aplicación al suelo, teniendo en cuenta las características del ambiente, a fin de minimizar los posibles riesgos ambientales y asegurar su correcto uso agronómico.

## Capítulo 2. Patógenos en el efluente y digerido porcino y su persistencia en el suelo

Con el incremento de la población humana, la ganadería ha tendido a la mayor intensificación en los sistemas. Esto se ha asociado con el aumento en la densidad de animales en espacios reducidos, que llevó a un aumento en la generación y acumulación de efluentes/residuos y, consecuentemente, al incremento del riesgo de transmisión de enfermedades (Venglovsky *et al.*, 2009). Tales cambios han generado preocupación sobre una mayor supervivencia de los agentes zoonóticos en los residuos animales y su posible transmisión al ambiente a través de la contaminación, del agua, del suelo y de la cadena alimentaria (Venglovsky *et al.*, 2009). El número y el tipo de microorganismos patógenos presentes en los estiércoles varía según el tipo de animal, su ubicación geográfica, el tipo de establecimiento ganadero y la composición físico-química del estiércol (Bicudo y Goyal, 2003). En los estiércoles es posible encontrar, en grandes cantidades, una amplia variedad de virus, bacterias, parásitos patógenos y no patógenos. Muchos brotes infecciosos por enfermedades transmitidas a través del agua y de los alimentos han sido vinculados directamente con la contaminación por estiércoles (Davies *et al.*, 1997). Brotes de enfermedades relacionadas a la presencia de *Salmonella* spp. En huevos, carne y leche; *E. coli* O157:H7 en carne molida, *Listeria* spp. En leche y quesos blandos han llevado a los países europeos y de EE. UU., a la discusión sobre la necesidad de reducir los patógenos transmitidos por los alimentos en sistemas de producción animal para garantizar la seguridad alimentaria (Davies *et al.*, 1997).

Específicamente en los efluentes porcinos, se pueden mencionar como microorganismos patógenos y zoonóticos a: *Bacillus anthracis*, *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Chlamydia* spp., *Escherichia coli*, *Leptospira* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium* spp., *Salmonella* spp., y *Yersinia* spp. Estos patógenos pueden transmitirse tanto a través del contacto directo con el estiércol o indirectamente, a través del ambiente (Ziemer *et al.*, 2010).

Cuando los efluentes/residuos son esparcidos en el suelo, los microorganismos son expuestos a condiciones ambientales, y, de esta manera, su supervivencia depende del

tipo de estiércol (sólidos o líquido), de su manejo y tratamiento, de la estación del año, de la presencia o ausencia de vegetación, la radiación solar, la actividad microbiana del suelo y otras variables del suelo (Gerba *et al.*, 1975). Igualmente, su potencial para transmitir enfermedades a animales y humanos dependerá de diversos factores como: la mínima dosis infecciosa, la concentración y la especie de patógeno, la frecuencia y estacionalidad de la aparición del patógeno en el estiércol, el efecto de los posibles tratamientos, la supervivencia del patógenos en el ambiente y la susceptibilidad del huésped, entre otras (Bicudo y Goyal, 2003).

Por otro lado, a nivel mundial, existen antecedentes que demuestran la eficiencia de la digestión anaeróbica de efluentes pecuarios, como sistema de estabilización y reducción de organismos patógenos (Olsen y Larsen, 1987; Kearney *et al.*, 1993; Beily *et al.*, 2019). Los objetivos del presente estudio fueron: 1. Evaluar la presencia de los microorganismos coliformes fecales, *Escherichia.coli*, *Salmonella* spp. Y nematodos gastrointestinales (NGI) en el efluente y el digerido porcino; 2. Evaluar la persistencia de los microorganismos coliformes fecales, *E. coli*, *Salmonella* spp. Y nematodos gastrointestinales (NGI) en el suelo, luego de 28 días de la aplicación de efluente y el digerido porcino.

## 2.1 ¿Cómo se trabajó?

Se cuantificaron coliformes fecales, *E. coli*, *Salmonella* spp y huevos NGI en el EP, el DEP y en las muestras de suelo (suelo con y sin aplicación de EP y DEP) tomadas en el ensayo a campo descrito anteriormente en la sección “Ensayo a campo”.

Para la determinación de coliformes fecales se utilizó la metodología de fermentación en tubo múltiple (NMP), según [APHA](#), [AWWA](#) y [WPCF](#) (1992). Esta determinación cuenta de dos fases: *la presuntiva* y *la fase confirmativa*, donde en cada parte de la prueba se requiere de la utilización de distintos medios de cultivo. En la fase presuntiva se utilizó el medio de cultivo caldo lauril sulfato de sodio, el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de C. Las muestras cultivadas son incubadas a  $37 \pm 1$  °C (Imagen 7 a). Durante la fase confirmativa, para la determinación de coliformes fecales, se empleó el medio de cultivo EC y las muestras fueron cultivadas a  $42 \pm 1$  °C (Imagen 7 b).

La cuantificación de *E. coli* se realizó a partir de los tubos positivos del medio EC, los cuales se sembraron por agotamiento en medio selectivo y diferencial (agar eosina azul de metileno), incubados a  $37 \pm 1$  °C (Imagen 8).

Para la detección de *Salmonella* spp., se utilizó la metodología descrita por [APHA](#), [AWWA](#) y [WPCF](#) (1992). El método consiste en la toma de una suspensión de la muestra en un medio selectivo de enriquecimiento (caldo selenito cistina) y su posterior incubación a  $35 \pm 2$  °C por 18 horas. Luego, se siembra cada uno de los tubos del medio de enriquecimiento en placas de Petri con un medio sólido selectivo (*Salmonella Shigella* Agar). Las placas sembradas son incubadas a 37 °C durante 24 horas (Imagen 9).

Imagen 7. Determinación de coliformes fecales. A. Incubación de muestras en la fase presuntiva; b. Comparación de resultado negativo (izquierda) y positivo (derecha) de la fase confirmatoria, donde se ve la producción de gas

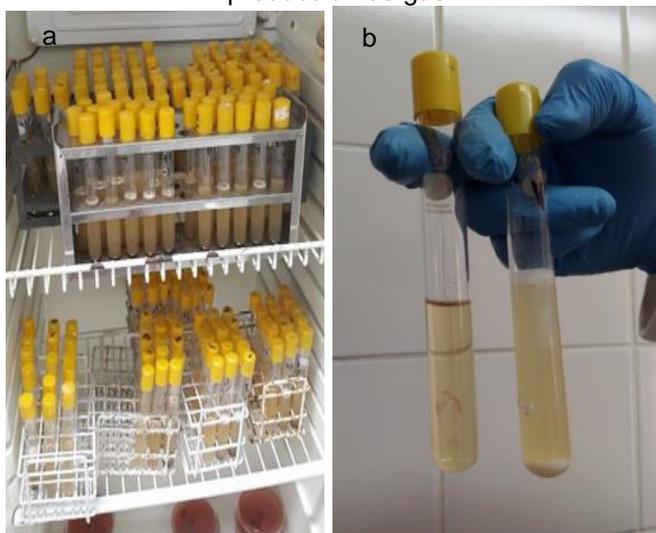


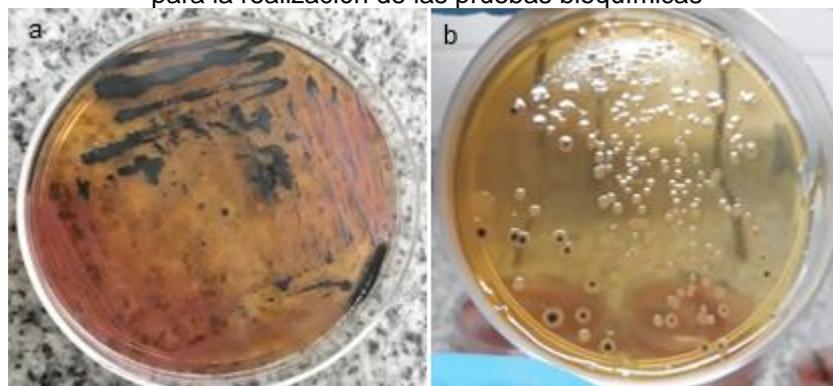
Imagen 8. A. Crecimiento de colonias de *E. coli* en placa agar eosina azul de metileno. B. Crecimiento de colonia de *E. coli* con brillo verde metálico y halo negro



En aquellas placas donde se registró crecimiento de colonias presuntamente positivas, se procedió a la realización de pruebas bioquímicas de agar hierro tres azúcares (TSI, por su sigla en inglés (*Triple Sugar Iron Agar*) y agar lisina hierro (LIA, por su sigla en inglés, *Lysine iron agar*) y medio SIM, con el fin de validar su presencia. El resultado final fue registrado como presencia o ausencia de *Salmonella* spp.

La determinación de huevos de NGI fue realizada en el laboratorio de parasitología del Instituto de Patobiología del INTA Castelar. Se utilizó la técnica descrita por Robert y O'Sullivan (1950). Esta metodología consta de la recuperación de huevos basada en el uso de tamices, con un posterior lavado con solución hipertónica de cloruro de sodio y lectura en microscopio, mediante una cámara de recuento de McMaster. Los resultados se expresaron como número de huevos L<sup>-1</sup>.

Imagen 9. Detección de *Salmonella* spp. En placas de Petri. A) Estriado sobre medio de cultivo de *Salmonella Shigella*; b) Aislación de colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro, para la realización de las pruebas bioquímicas



## 2.2 Resultados de la evaluación

### 2.2.1 Microorganismos patógenos en el efluente porcino y en el digerido

En la Cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de la cuantificación y presencia de organismos patógenos tanto en el EP como en DEP. Se registró la presencia de organismos patógenos tales como coliformes fecales y *E. coli*, pero ausencia de

*Salmonella* spp. en el EP. El número hallado de estos patógenos se encontró por debajo de lo expuesto en la bibliografía para este mismo tipo de efluentes (Beily, 2015; Bernasconi Torres, 2019). Esto podría deberse a que, en el momento del muestreo, el establecimiento se encontraba en período de higienización, por lo cual el efecto de dilución podría haber afectado la concentración de coliformes fecales y *E. coli*. La presencia de estos microorganismos demuestra la necesidad de estabilizar este tipo de efluentes previo a su descarga en el ambiente, debido a que podrían generarse focos de infección. No solo es problemática la dispersión infecciosa de los microorganismos patógenos, sino que, en general, presentan elevada supervivencia en el suelo, siendo incluso algunos de ellos zoonóticos.

Cuadro 6. Organismos patógenos hallados en EP y en DEP

Parámetro	Unidad	EP	DEP
Coliformes fecales	NMP 100 ml <sup>-1</sup>	793,3	< 1,8
<i>E. coli</i>	NMP 100 ml <sup>-1</sup>	793,3	< 1,8
<i>Salmonella</i> spp.	Presencia	Negativo	Negativo
NGI *	h L <sup>-1</sup>	Negativo	Negativo

**Referencias.** NMP: número más probable; NGI: nematodos gastrointestinales; h L<sup>-1</sup>: huevo litro<sup>-1</sup>.

En cuanto al DEP, los organismos patógenos coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella* spp fueron negativos. Esto está en concordancia con lo expuesto en la bibliografía, donde se demuestra la eficiencia del proceso anaeróbico para remover patógenos (Olsen y Larsen, 1987; Kearney *et al.*, 1993; Beily *et al.*, 2019). La eficiencia en la eliminación de patógenos en digestores anaeróbicos se encuentra principalmente asociada a cuatro factores: el tiempo de residencia, la temperatura y las altas concentraciones de N-NH<sub>3</sub> y AGV dentro del reactor (Ottoson *et al.*, 2008). Jenkins *et al.* (1998, 1999) demostraron que la alta concentración de amonio (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) es directamente proporcional a la inactivación de *Cryptosporidium oocyst*, atribuyéndole a este compuesto el efecto de biocida (Jenkins *et al.*, 1998). Además, encontraron que el quiste de *Cryptosporidium parvums* se inactiva entre un 65,5% y 83,7% con una concentración de 0,06 M de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y un tiempo de exposición de 24 horas, donde realizando una proyección cinética, evidenciaron la reducción del 99,99% de este parásito en un tiempo de exposición de 8,2 días. El mecanismo de

inactivación de los patógenos por el  $\text{N-NH}_4^+$  podría deberse a la alteración del potencial de la membrana, aumentando el pH del citoplasma y/o por pérdidas de los iones de K. Asimismo, las concentraciones de AGV también pueden tener efecto de inactivación de estos patógenos. Kunte *et al.* (2000 y 2004) mostraron la inactivación de *Vibrio cholerae* y *Salmonella typhi* durante el proceso anaeróbico en efluentes, atribuyéndoles este fenómeno al pH y las altas concentración de AGV. Dichos autores reportaron que la eliminación total de la *S. typhi* requirió de cinco a diez días, en condiciones anaeróbicas, con concentraciones de AGV de 19000 y 15000  $\text{mg L}^{-1}$ . Por otro lado, cuando las concentraciones de AGV estuvieron entre 800 y 500  $\text{mg L}^{-1}$ , no pudo constatar el 100% de eliminación, sin embargo, se detectó una reducción de 4 log (Kunte *et al.*, 2004). En otro trabajo, Kunte *et al.* (2000) encontraron la eliminación total de *V. cholerae* en un período de 20 días con una concentración de 8000  $\text{mg L}^{-1}$  de AGV. Otro estudio, llevado a cabo por Olsen y Larsen (1987), demostró la interacción de la temperatura con los tiempos de eliminación bacteriana en reactores anaeróbicos de efluentes animales. Los autores reportaron que en condiciones termofílicas y mesofílicas, la inactivación de las bacterias patógenas resultó ser más rápida que los tiempos que se describen para procedimientos de almacenamiento convencionales de efluentes animales. Además, ellos encontraron que la temperatura termofílica durante la digestión anaeróbica resultó en una reducción considerablemente más rápida de las bacterias patógenas que el rango mesofílico, confiriéndole a la temperatura un factor decisivo para la supervivencia de los patógenos durante la digestión anaeróbica.

En cuanto a la presencia de los parásitos nemátodos gastrointestinales, los resultados fueron negativos tanto para EP como para DEP. La detección de estos organismos en los materiales por aplicar es una variable importante para monitorear, ya que son organismos zoonóticos y pueden sobrevivir por largos períodos de tiempo en el suelo y en el ambiente. Cuando los estiércoles o abonos se aplican al suelo, se puede dar lugar a movimientos de los patógenos y parásitos través de la matriz del suelo, tanto vertical como horizontalmente. El grado de movilidad afectará la probabilidad de que los microorganismos alcancen los acuíferos o aguas superficiales (Strauch, 1991). Por otro lado, varios trabajos han demostrado la eficiencia de remoción de los parásitos con la digestión anaeróbica, asociado este efecto a los diferentes factores ambientales que influyen en el proceso degradativo. Olsen y Larsen (1987) estudiaron la interacción de la temperatura con los tiempos de

reducción del nematodo gastrointestinal (*Cooperia oncophora*) en un proceso anaeróbico. Ellos encontraron que los huevos perdían viabilidad rápidamente a 35 °C y que luego del segundo día de digestión no podían desarrollarse. Asimismo, a 20 °C no conseguían desarrollarse, pero después del día 22 dentro del reactor y a 4 °C se registraron huevos viables a lo largo de todo el período que duró el ensayo. Sin embargo, a 53 °C, los huevos de *C. oncophora* presentaron una forma atípica ligeramente amorfa, después de 1 hora de exposición, y luego de 24 horas, no se consiguieron recuperar huevos.

Como puede observarse en la Cuadro 7, tanto las muestras de suelo con aplicación de DEP, como las muestra del tratamiento testigo, no evidenciaron presencia de microorganismos patógenos. Esto se encuentra en concordancia con la calidad del digerido aplicado al suelo, el cual no tenía presencia de patógenos.

## 2.2.2 Supervivencia de los microorganismos en el suelo

En la Cuadro 7, se muestran los resultados hallados para las muestras de suelo con aplicación de EP, DEP y el testigo (T), analizadas luego de 28 días.

Cuadro 7. Organismos patógenos determinados en muestras de suelo con aplicación de EP, DEP y suelo testigo (T)

Parámetro	Unidad	EP	DEP	T
Coliformes fecales	NMP 10 g <sub>bh</sub> <sup>-1</sup>	8,6	< 1,8	< 1,8
<i>E. coli</i>	NMP 10 g <sub>bh</sub> <sup>-1</sup>	8,6	< 1,8	< 1,8
<i>Salmonella</i> spp.	Presencia	Negativo	Negativo	Negativo
NGI	h L <sup>-1</sup>	Negativo	Negativo	Negativo

**Referencias.** NMP: número más probable; NGI: nematodos gastrointestinales; h L<sup>-1</sup>: huevo litro<sup>-1</sup>; bh: base húmeda; T: suelo testigo.

Por otro lado, al observar el promedio de las muestras de suelo con aplicación de EP, pudo observarse que si bien hubo presencia de coliformes fecales y *E. Coli.*, su concentración fue baja. Esto podría deberse principalmente a dos factores: la baja concentración de organismos patógenos que poseía el efluente y a un fenómeno de lavado por efecto de las

precipitaciones durante los días del ensayo. Según el registro de precipitaciones del INTA<sup>1</sup>, desde el momento de la aplicación del efluente hasta la toma de muestra (28 días) se registró una precipitación total de 139,6 mm. A pesar de que las concentraciones fueron bajas, aun hubo presencia de estos microorganismos patógenos en el suelo, lo que demuestra la importancia de monitorear este parámetro cuando se aplican al ambiente efluentes con carga de patógenos. La supervivencia de los microorganismos en el suelo está afectada por diversos factores. Cuando las temperaturas son bajas, la humedad es óptima y no hay aireación, la supervivencia de estos microorganismos puede prolongarse. Venglovsky *et al.* (2009) observaron que la *Salmonella* y *E. coli* O157: H7 sobrevivieron entre cuatro y seis meses en estiércoles y lodos mantenidos a una temperatura de entre 1 °C y 9 °C, lo cual es un tiempo de supervivencia 49 veces mayor que el observado para una temperatura de conservación de entre 40 °C y 60 °C. La eliminación de los patógenos se acelera cuando la temperatura aumenta. Venglovsky *et al.* (2009) evidenciaron que, en la fracción sólida de efluentes porcinos, la supervivencia de la *S. typhimurium* durante el verano alcanzó un período de 26 días, mientras que en invierno logró superar los 85 días y los coliformes se redujeron en un 90% en 35 días y 233 días durante el verano y el invierno, respectivamente. Por otro lado, Unc y Goss (2004) también reportaron supervivencia de microorganismos por períodos prolongados de hasta 70 días, luego de la aplicación del efluente de cerdo en el suelo.

En cuanto a la detección de parásitos, como era de esperarse, no se evidenció la presencia de NGI en las muestras de suelo con aplicación de EP y DEP, ya que en los materiales por aplicar EP y DEP no fueron detectados (Cuadro 6). Sin embargo, es importante monitorear estos microorganismos ya que pueden persistir por largos períodos en el ambiente. Strauch (1991), estudió la persistencia de algunos parásitos en el ambiente, evidenciando que los huevos de *Ascaris* y ciertas etapas larvianas de los *tricostrongílicos* (parásitos de EP) tienen un tiempo de supervivencia largo y pueden dar lugar a nuevas infestaciones de animales después de que el estiércol haya sido aplicado en la tierra, en cultivos o pastizales.

---

<sup>1</sup> Para más información, visitar: <http://siga2.inta.gov.ar/#/data>

## 2.3 Consideraciones

La presencia de microorganismos patógenos en el EP demuestra la necesidad de sanitización de los efluentes previo a su descarga al ambiente.

El DEP presentó óptimas condiciones de higienización para su aplicación como uso agrícola. El proceso anaeróbico fue capaz de remover la carga patogénica presente en los EP, lo que generó ventajas respecto al grado de higienización del residuo/efluente por tratar; y minimiza los riesgos en su manipulación.

Se demostró la supervivencia en el suelo de microorganismos patógenos en el EP luego de 28 días. Podrían realizarse futuros estudios para profundizar sobre la persistencia en diferentes estaciones del año y su movimiento en el perfil del suelo.

Por otro lado, se sugiere incorporar buenas prácticas de gestión y manejo de los efluentes, tales como: frecuencia de limpieza, período de almacenamiento, mejoras en las instalaciones, tecnologías de tratamiento, entre otras. Finalmente, se concluye que, si bien el DEP presentó mejores condiciones de higienización que el EP, se resalta la necesidad de conocer los parámetros de higienización de los materiales antes de su aplicación para minimizar los potenciales riesgos sanitarios.

## Capítulo 3. Indicadores químicos de calidad del suelo y rendimiento de la pastura

La gestión adecuada de los digeridos anaeróbicos debe abordarse de inmediato para evitar la limitación en el desarrollo de sistemas de digestión anaeróbica. El uso de estos productos con fines agronómicos parece ser una estrategia conveniente para su reciclado (Arthurson, 2009). Los digeridos anaeróbicos han sido reconocidos como potenciales biofertilizantes y su utilización aumenta en paralelo con la intensificación de la producción de biogás (Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Nkoa, 2014; Coelho *et al.*, 2018). Varias publicaciones reportaron que los digeridos afectan de manera positiva los rendimientos de los cultivos, logrando mayores crecimientos de las plantas que alcanzan y exceden aquellos obtenidos con fertilizantes químicos inorgánicos y/o estiércoles crudos (Gunnarsson *et al.*, 2010; Bougnom *et al.*, 2012; Walsh *et al.*, 2012 y 2018; Andruschkewitsch *et al.*, 2013). Según Riva *et al.* (2016); Tambone y Adani, (2017) y Nicoletto *et al.* (2017), los digeridos pueden ofrecer ventajas cuando son usados como sustitutos de los fertilizantes minerales debido a sus propiedades fertilizantes.

El efecto positivo de los digeridos sobre el rendimiento del cultivo es atribuido a su contenido de macronutrientes, especialmente de NT y su forma como  $\text{NH}_4^+$  disponible para las plantas, así como también a la concentración de otros macronutrientes primarios tales como K y P (Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Möller and Müller, 2012; Johansen *et al.*, 2013). Además de estos macronutrientes primarios (N, P y K) para las plantas, los digeridos pueden contener cantidades variables de macronutrientes secundarios —Ca, Mg y azufre (S)— y micronutrientes —Fe, Mn, boro (B), Cu, Zn, cloro (Cl), níquel (Ni), cobalto (Co) y Na— (Tambone *et al.*, 2010; Möller and Müller, 2012; Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Nkoa, 2014; Coelho *et al.*, 2018). Estos nutrientes secundarios y micronutrientes pueden también intervenir en el incremento del efecto fertilizante o afectar el crecimiento de las plantas de manera negativa por fitotoxicidad (Nkoa, 2014; Di Maria *et al.*, 2014).

Según Sainz Rozas *et al.* (2013), en la Argentina el aumento en la producción trajo aparejado un incremento en la extracción de nutrientes que no ha sido compensada por la

adición de estos, siendo el índice de reposición promedio para dicho período del 53%; 27%; 1,5% y 0,21% para P, Ca, K y Mg, respectivamente, y escaso a nulo para los micronutrientes. Por tal motivo, la aplicación de digeridos, por su composición en macro y micronutrientes, podría constituir una alternativa promisoriosa para la recuperación y/o mejoramiento de la fertilidad química de los suelos. Sin embargo, es importante mencionar que el uso inadecuado o aplicación a dosis excesivas de digeridos puede ser un riesgo de contaminación del ecosistema, e incidir de manera negativa en el suelo, el agua y los seres vivos.

El objetivo de este capítulo fue estudiar el efecto de la aplicación de distintas fuentes de nutrientes (digerido, efluente porcino crudo y fertilizante químico inorgánico) sobre la calidad química del suelo y en el rendimiento de una pastura polifítica.

## 3.1 Indicadores analizados

### 3.1.1 Indicadores químicos de calidad de suelo

Para evaluar el efecto de la aplicación del digerido sobre la calidad química del suelo se realizaron dos muestreos compuestos de suelos (0-10 cm) a los 15 días (11/6/19) y a los dos meses (29/7/19) de la aplicación de los tratamientos testigo (T), FQ, EP y DEP (Imagen 10) en el ensayo a campo descrito anteriormente en la sección “Ensayo a campo”.

Imagen 10. Muestreo de suelos



Los parámetros químicos evaluados en dichas muestras fueron:

*Nitrógeno total:* el N es uno de los nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas. Este elemento forma parte de estructuras orgánicas tales como: a) ácidos nucleicos, los cuales son importantes en la transferencia hereditaria de las características de las plantas, b) aminoácidos y proteínas que componen gran parte del protoplasma o la porción viviente de células individuales, c) molécula de clorofila, que constituye el punto focal en el proceso de fotosíntesis, y d) enzimas y vitaminas, que son importantes en las reacciones metabólicas dentro de la planta.

La mayor parte del N en el suelo se encuentra en combinaciones orgánicas (85%-95%) como constituyente de la materia orgánica edáfica. Solo una pequeña fracción se encuentra en combinaciones inorgánicas fundamentalmente como  $\text{NH}_4^+$  en su forma catiónica y  $\text{NO}_3^-$  en su forma aniónica.

La determinación del NT se realiza por el método de Kjeldahl (IRAM-SAGyP 29572), incluye las formas orgánicas y amónicas.

Consta de tres partes:

1. Digestión: a 1 g de suelo se lo digiere con mezcla catalítica, con lo que se convierte todo el N en  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .
2. Destilación: el  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  reacciona con una solución concentrada de NaOH y libera  $\text{NH}_3$  que se destila por arrastre de vapor, recogiéndolo en  $\text{H}_3\text{BO}_3$  al 2%.
3. Titulación: se determina la cantidad de  $\text{NH}_3$  formado y recogido en el  $\text{H}_3\text{BO}_3$  al 2% durante la destilación, titulándolo con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,05 N.

*Nitratos:* para la evaluación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), a través del tiempo se tomaron muestras de suelo compuestas (0-10 cm) en los días 1, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 después de la aplicación de los tratamientos testigo (T), FQ, EP y DEP. La determinación de  $\text{NO}_3^-$  se realiza por nitración de ácido salicílico (Cataldo *et al.*, 1975).

*Fósforo extractable:* el P es otro de los nutrientes esenciales muy importante para las plantas. Está presente en todas las células, con tendencia a concentrarse en las semillas y zonas de crecimiento. El fósforo extractable (Pe) corresponde a la fracción de P del suelo más disponible para las plantas. La metodología para su determinación es el método Bray

Kurtz I modificado (IRAM-SAGyP 29570 - 1), el cual simula la acción de la planta al absorber P. Este consta de dos partes:

1. Extracción: se realiza con una solución diluida de fluoruro de amonio y ácido clorhídrico (HCl), con relación 1:7 suelo:extractante. Se remueve del suelo las formas de P fácilmente solubles, principalmente fosfatos de calcio y algunos de Fe y aluminio (Al). El HCl disuelve los fosfatos cálcicos. El  $\text{NH}_4\text{F}$  disuelve el P ligado al Fe y Al, por formación de complejos con estos iones metálicos en una solución ácida.
2. Determinación espectrofotométrica: los iones fosfato presentes en el extracto de suelo que se obtuvo en el paso anterior, al reaccionar con una solución ácida que contiene iones molibdato y antimonio, forman un complejo ácido de fosfato-molibdato-antimonio. En presencia de ácido ascórbico dicha molécula se reduce y desarrolla un color azul de intensidad proporcional a la concentración de iones fosfato y adecuado para las mediciones espectrofotométricas cuantitativas.

*Cationes intercambiables:* calcio, magnesio, sodio y potasio: las especies catiónicas canjeables o intercambiables de interés más frecuente en suelos son los iones  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  y son todos extraídos con facilidad con una solución de acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ) 1N a pH 7 y determinados en el extracto obtenido.

*Procedimiento (Espectrometría AA/EA)*

1. Reemplazar todos los cationes intercambiables (CI) de los sitios de intercambio de los coloides, por un catión saturante (solución A) del que se obtiene el extracto con CI.
2. Lavar el suelo, saturado con  $\text{NH}_4^+$  en el paso anterior con un solvente no polar (solución B), hasta ausencia del  $\text{NH}_4^+$  en la solución intermicelar.
3. Desplazar al catión saturante adsorbido ( $\text{NH}_4^+$ ) con una solución salina (solución C), del que se obtiene el extracto con la capacidad de intercambio catiónica (CIC).
4. Los CI se determinan del extracto obtenido en el 1.<sup>er</sup> paso.
5. Cuantificar el  $\text{NH}_4^+$  obtenido en el 3.<sup>er</sup> paso, lo que corresponde a la CIC del suelo.

*Soluciones*

- A. Solución del catión saturante: acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ) 1,0 N (pH 7)
- B. Solvente no polar: etanol
- C. Solución salina: cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) 10 % acidulado con HCl

### *Cuantificación de los CI*

- Determinación de Ca y Mg: se realiza en el extracto del 1.º paso, por titulaciones complexométricas.
- Determinación de Na y K: se realiza en el extracto del 1.º paso y se determinan sus concentraciones por espectrofotometría de llama.
- Cuantificación de la CIC: Se realiza en el extracto del 3er paso, por medio del método Kjeldahl.

Micronutrientes hierro, manganeso, zinc y cobre: el principal rol de los micronutrientes es participar como factores o cofactores en los procesos enzimáticos. Por otro lado, la acumulación de algunos de estos elementos por encima de ciertos niveles en el suelo puede resultar en un riesgo ambiental.

La extracción de Fe, Mn, Zn y Cu disponible se realizó con el ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) (Lindsay y Norwell, 1978) con cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica.

*Reacción del suelo:* el pH del suelo es una medida que refleja, en forma aproximada, la actividad de los iones hidrógeno ( $H^+$ ) de la solución del suelo, los que tienen un efecto marcado sobre su fertilidad (disponibilidad de nutrientes vegetales).

La medición consiste en suspender una cantidad de suelo en agua destilada y después de un cierto tiempo, medir el pH con el potenciómetro (método potenciométrico 1:2,5).

Se añaden a una muestra de 12 g de suelo contenida en un vaso, 30 ml de agua destilada. Se agita la suspensión obtenida durante 1 minuto. Se deja en reposo 1 hora. Se calibra el pH-metro y se mide a continuación el pH habiendo agitado enérgicamente la suspensión durante 1 minuto inmediatamente antes de sumergir el electrodo y leer el pH.

*Conductividad eléctrica:* la salinidad de un suelo se refiere a la cantidad de sales presentes en solución, y puede ser estimada indirectamente mediante la medición de la CE. El valor de CE es influenciado por la concentración y composición de las sales disueltas.

El análisis de la CE en los suelos trata de establecer si existen en ellos cantidades suficientes de sales para producir interferencias en la germinación normal de las semillas, en el crecimiento de las plantas o en la absorción de agua por parte de ellas.

Para su determinación se prepara una pasta saturada de suelo agregando agua destilada a una muestra y agitando con una espátula (IRAM-SAGyP 29579). De vez en cuando, la muestra debe consolidarse golpeando con cuidado el recipiente sobre la mesa de trabajo. La pasta de suelo saturada brilla por la reflexión de la luz, fluye ligeramente si se inclina el recipiente y se desliza fácilmente de la espátula, excepto en suelos con alto contenido de arcilla. Después del mezclado se debe dejar reposar la muestra durante una hora y comprobar si se mantiene saturada. En ese momento la pasta no debe acumular agua en la superficie, perder su brillo o endurecerse. Si ha perdido brillo o se ha endurecido, es necesario agregar agua destilada y mezclar nuevamente. Si la pasta posee demasiada agua, se agrega suelo seco en la cantidad mínima necesaria.

Medición en el conductímetro: se lava con agua la celda para la determinación de la conductividad. Se introduce la pasta saturada de suelo por ensayar. Se lee la conductividad, especificándose las unidades.

### 3.1.2 Rendimiento de la pastura

A los tres meses y medio y a los cinco meses después de la aplicación de los tratamientos, se realizaron el 1.<sup>er</sup> y 2.<sup>do</sup> corte de la pastura en cada una de las parcelas. Para calcular el peso acumulado se sumaron los pesos del 1.<sup>er</sup> y del 2.<sup>do</sup> corte. La superficie cortada en cada una de las parcelas fue de 0,50 m x 0,50 m (Imagen 11). Las muestras se pesaron para obtener el peso húmedo de la biomasa aérea. Posteriormente se secaron en estufa a 40 °C y fueron pesadas nuevamente para obtener el peso seco. Para calcular los pesos húmedo y seco acumulados, se sumaron los pesos húmedos y secos del 1.<sup>er</sup> y 2.<sup>do</sup> corte, respectivamente.

Imagen 11. Corte de la pastura



Nota: los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA, y las medias comparadas, mediante el test de Tukey a un nivel de significancia del 0,05.

Para evaluar la relación entre las propiedades químicas y el rendimiento de la pastura, se realizaron correlaciones de Pearson ( $P < 0,05$ ;  $n = 12$ ) entre estas propiedades evaluadas a los 15 días y a los dos meses de la aplicación de los tratamientos (T, FQ, EP y DEP) y los pesos húmedo y seco acumulados.

La información fue procesada utilizando la versión libre del programa InfoStat (InfoStat/L 2016) (Di Rienzo *et al.*, 2016).

## 3.2 RESULTADOS

### 3.2.1 Indicadores químicos de calidad de suelo

En el Cuadro 8 se presentan las variables químicas edáficas (0-10 cm) evaluadas a los 15 días de la aplicación de los tratamientos.

Cuadro 8. Valores medios y error estándar de las variables químicas edáficas (0-10 cm)

Variables Químicas	Unidades	Tratamientos			
		T	FQ	EP	DEP
NT	%	0,28 ( $\pm 0,01$ ) b	0,31 ( $\pm 0,01$ ) a	0,30 ( $\pm 0,01$ ) ab	0,30 ( $\pm 0,01$ ) ab
Pe	ppm	57,4 ( $\pm 8,72$ ) b	63,6 ( $\pm 10,02$ ) b	57,3 ( $\pm 1,22$ ) b	81,8 ( $\pm 9,37$ ) a
Ca	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	15,58 ( $\pm 0,53$ ) a	16,11 ( $\pm 0,58$ ) a	17,16 ( $\pm 0,13$ ) a	17,16 ( $\pm 0,47$ ) a
Mg	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	3,30 ( $\pm 0,53$ ) a	2,64 ( $\pm 0,47$ ) a	3,04 ( $\pm 0,70$ ) a	3,30 ( $\pm 1,08$ ) a
Na	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	0,13 ( $\pm 0,03$ ) a	0,13 ( $\pm 0,03$ ) a	0,20 ( $\pm 0,06$ ) a	0,20 ( $\pm 0,00$ ) a
K	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	1,77 ( $\pm 0,53$ ) b	1,87 ( $\pm 0,47$ ) ab	1,97 ( $\pm 0,70$ ) ab	2,10 ( $\pm 1,08$ ) a

Nota: nitrógeno total (NT) (%), fósforo extractable (Pe) (ppm), calcio (Ca) (cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>), magnesio (Mg) (cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>), sodio (Na) (cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>) y potasio (K) (cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>) evaluadas a los 15 días de la aplicación de los tratamientos testigo (T), fertilización química (FQ), efluente porcino (EP) y digerido de efluente porcino (DEP).

El mayor valor de NT en suelos a los 15 días de la aplicación correspondió al FQ, debido posiblemente a la rápida disponibilidad del fertilizante químico inorgánico una vez incorporado al suelo (Cuadro 8). Los tratamientos EP y DEP presentaron valores de NT similares, ya que la cantidad de NT aplicada fue la misma y los tipos de N (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y Norg) aplicados fueron también similares en ambos tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Tipos de nitrógeno y cantidad aplicados con cada material

Material	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (kg ha <sup>-1</sup> )	N org (kg ha <sup>-1</sup> )
DEP	40,50	6,52
EP	39,70	7,50

La cantidad de PT aplicada con los residuos correspondió a 5 kg ha<sup>-1</sup> para EP y 29 kg ha<sup>-1</sup> para DEP. La mayor concentración de Pe encontrada en el suelo en DEP se asocia a la

mayor cantidad de P aplicada con este material (Cuadro 8). En un estudio realizado con aplicación de estiércol porcino crudo y digerido, Loria y Sawyer (2005) observaron aumento del Pe del suelo con ambos materiales.

En el estudio de los cationes, el K fue el que presentó diferencias estadísticamente importantes, observándose un valor significativamente mayor al testigo para el tratamiento DEP (Cuadro 8). Al igual que sucedió para el P, esto podría relacionarse a la mayor cantidad de K agregada con el digerido (Cuadro 10), la cual correspondió a 6 veces a la aplicada con el efluente porcino crudo (EP).

Cuadro 10. Cantidad de potasio aplicada con cada material

Material	K (kg ha <sup>-1</sup> )
DEP	128,5
EP	21,5

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para las variables Ca, Mg y Na.

En el Cuadro 11 se presentan las variables químicas edáficas (0-10 cm) evaluadas a los dos meses de la aplicación de los tratamientos. Se observa que a los dos meses de la aplicación, el tratamiento DEP presentó el mayor valor de CE con diferencias significativas respecto del testigo y de FQ. En tanto, el EP presentó una tendencia a mayor valor de CE respecto del testigo y de FQ, pero sin diferenciarse estadísticamente del resto de los tratamientos. Estos mayores valores de CE en DEP y EP se asocian al alto contenido de sales presentes en ambos residuos (CE DEP: 13,05 mS cm<sup>-1</sup>; CE EP: 15,76 mS cm<sup>-1</sup>). Al igual a lo observado en este estudio, García-Sánchez *et al.* (2015) encontraron un aumento de la CE en suelos Chernozem a los 30 y 60 días después de la aplicación de digerido asociado a la alta CE del material aplicado.

Cuadro 11. Valores medios y error estándar de las variables químicas edáficas (0-10 cm)

Variables químicas	Unidades	Tratamientos			
		T	FQ	EP	DEP
NT	%	0,25 ( $\pm 0,01$ ) a	0,23 ( $\pm 0,01$ ) a	0,23 ( $\pm 0,01$ ) a	0,24 ( $\pm 0,01$ ) a
Pe	ppm	66,9 ( $\pm 8,56$ ) a	68,9 ( $\pm 4,30$ ) a	56,7 ( $\pm 4,03$ ) a	68,1 ( $\pm 7,28$ ) a
Ca	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	18,4 ( $\pm 0,77$ ) a	20,0 ( $\pm 1,60$ ) a	21,1 ( $\pm 0,67$ ) a	21,1 ( $\pm 0,67$ ) a
Mg	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	3,37 ( $\pm 0,03$ ) a	3,43 ( $\pm 0,03$ ) a	3,37 ( $\pm 0,15$ ) a	3,47 ( $\pm 0,08$ ) a
Na	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	0,30 ( $\pm 0,04$ ) a	0,23 ( $\pm 0,05$ ) a	0,27 ( $\pm 0,13$ ) a	0,23 ( $\pm 0,02$ ) a
K	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>	1,90 ( $\pm 0,12$ ) a	2,17 ( $\pm 0,07$ ) a	2,03 ( $\pm 0,13$ ) a	2,13 ( $\pm 0,09$ ) a
pH agua	adimensional	6,49 ( $\pm 0,13$ ) a	6,49 ( $\pm 0,08$ ) a	6,50 ( $\pm 0,02$ ) a	6,54 ( $\pm 0,02$ ) a
CE	mS cm <sup>-1</sup>	0,30 ( $\pm 0,02$ ) b	0,30 ( $\pm 0,01$ ) b	0,34 ( $\pm 0,02$ ) ab	0,37 ( $\pm 0,01$ ) a
Zn	mg kg <sup>-1</sup>	2,45 ( $\pm 0,12$ ) b	2,24 ( $\pm 0,06$ ) b	2,06 ( $\pm 0,04$ ) b	2,97 ( $\pm 0,15$ ) a
Mn	mg kg <sup>-1</sup>	17,3 ( $\pm 2,23$ ) a	17,3 ( $\pm 0,79$ ) a	21,3 ( $\pm 1,81$ ) a	16,1 ( $\pm 0,08$ ) a
Cu	mg kg <sup>-1</sup>	1,52 ( $\pm 0,11$ ) b	1,31 ( $\pm 0,06$ ) b	1,38 ( $\pm 0,02$ ) b	2,48 ( $\pm 0,15$ ) a
Fe	mg kg <sup>-1</sup>	51,1 ( $\pm 2,59$ ) a	50,6 ( $\pm 3,69$ ) a	48,9 ( $\pm 2,61$ ) a	56,2 ( $\pm 4,66$ ) a

Nota: Evaluadas a los dos meses de la aplicación de los T, la FQ, el EP y el DEP. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

A pesar del aumento observado, los valores de CE del suelo en todos los tratamientos se encontraron dentro del rango óptimo para el crecimiento de los cultivos ( $CE < 0,4$  mS cm<sup>-1</sup>). No obstante, ante aplicaciones sucesivas de estos materiales y con el objetivo de evitar un

efecto negativo en el suelo, resulta muy importante el seguimiento de esta variable a través del tiempo.

Las concentraciones en suelo de Zn y Cu fueron significativamente superiores con la aplicación del DEP respecto al resto de los tratamientos. No hubo diferencias entre los tratamientos en las concentraciones del resto de los micronutrientes. Los valores de Zn y Cu encontrados podrían asociarse con la alta concentración de estos elementos en el DEP (Cuadro 1, Capítulo 1). Sin embargo, las concentraciones encontradas en el suelo con el tratamiento DEP estuvieron muy por debajo de los límites establecidos en la Norma Técnica para la Aplicación Agrícola de Digerido Proveniente de Plantas de Digestión Anaeróbica publicada por la Secretaría de Gobierno de Ambiente y Desarrollo Sustentable (Resolución 19/2019) —actual Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable— (valores límite en suelos: Zn: 150 mg Kg<sup>-1</sup>, Cu: 50 mg Kg<sup>-1</sup>). Varios autores han reportado la acumulación de Zn y Cu con la aplicación de efluentes líquidos porcino al suelo (Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Legros *et al.*, 2013). Por ejemplo, Zhang *et al.* (2016) encontraron un aumento del 34% en la concentración de Zn en el suelo luego del primer año de la aplicación del DEP en una rotación de cultivos hortícolas respecto al suelo con FQ. Es conveniente realizar ensayos de larga duración para poder evaluar el comportamiento del Cu, Zn y otros metales pesados en el suelo como consecuencia de la aplicación de DEP.

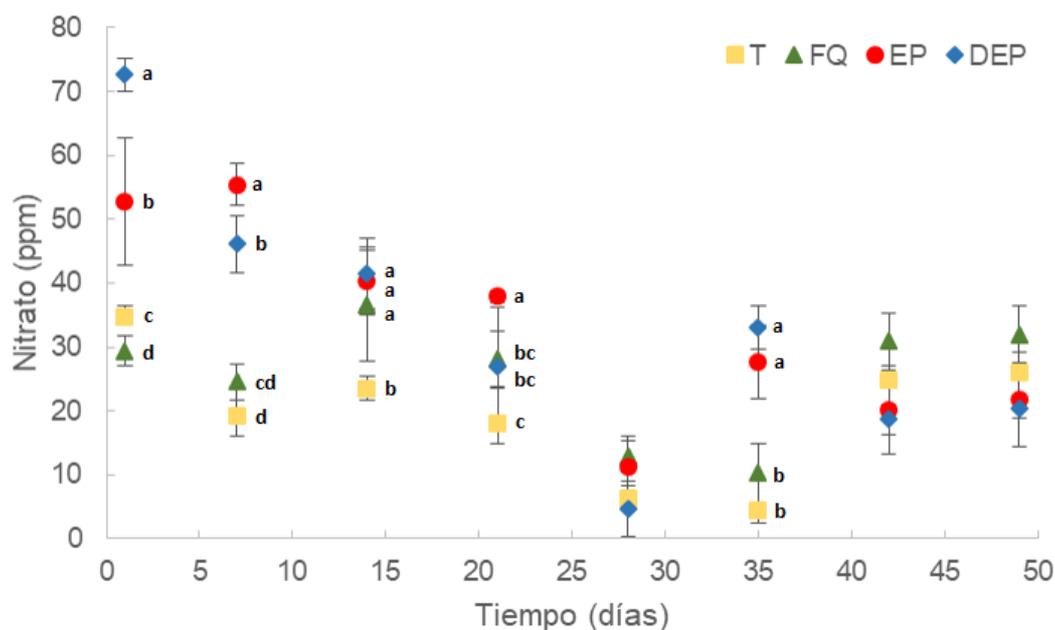
No se observaron diferencias significativas para las variables NT, Pe, Ca, Mg, Na, K y pH agua después de dos meses de la aplicación, indicando una estabilización de las variables asociada a la absorción de nutrientes por parte del cultivo en crecimiento (Cuadro 11).

En el Gráfico 2 se muestran los contenidos de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (ppm) en suelo (0-10 cm) en los días 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 y 49 después de la aplicación de los tratamientos T), FQ, EP y DEP. Los mayores contenidos de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> se observaron en los tratamientos DEP y EP, con diferencias respecto de los demás tratamientos en los días 1, 7 y 35.

En los primeros 7 días después de la aplicación, los mayores valores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en DEP y EP se relacionan con las formas de N presentes en estos materiales, donde la mayor parte se encuentra como NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Asimismo, el estado líquido de ambos residuos permite una mayor incorporación al suelo que el fertilizante químico sólido. Una vez aplicados al suelo, los microorganismos transforman rápidamente el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a través del proceso de nitrificación. En un trabajo de incubación con aplicación de estiércol porcino crudo y

digerido, Loria y Sawyer (2005) reportaron que ambos materiales produjeron tasas similares de conversión de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$ .

Gráfico 2. Valores medios y error estándar del contenido de nitrato (ppm) en suelo (0-10 cm) después de la aplicación de los tratamientos T, FQ, EP y DEP



Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

La marcada disminución de  $\text{NO}_3^-$  y la ausencia de diferencias entre tratamientos el día 28 podría relacionarse principalmente con la lixiviación en profundidad de esta forma de N debido al período de abundantes precipitaciones ocurridas días antes (Gráfico 3) y a la transformación a óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y su posterior emisión y pérdida hacia la atmosfera observada en DEP y EP (Gráfico 32, Capítulo 7). Sumado a esto, el mecanismo de inmovilización de N ejercido por los microorganismos, debido a la ocurrencia de precipitaciones (Gráfico 3) y a un aumento de temperatura del suelo en esos días (Gráfico 4) que estimularon su actividad y crecimiento, podría haber exacerbado esta disminución de los contenidos de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo.

Una vez transcurrido dicho proceso, el día 35 vuelve a observarse la misma tendencia que al inicio del ensayo con mayores concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en DEP y EP.

Más allá de las diferencias observadas en determinados momentos, a través del tiempo se ve una tendencia general a la disminución en los contenidos de  $\text{NO}_3^-$ , que se puede

relacionar principalmente con la absorción por parte del cultivo y con las precipitaciones y el lavado a profundidad en el suelo de esta forma de N. Al final de las evaluaciones, los días 42 y 49, no se observaron diferencias entre tratamientos.

Gráfico 3. Precipitaciones (mm) en el tiempo durante los primeros 50 después de la aplicación

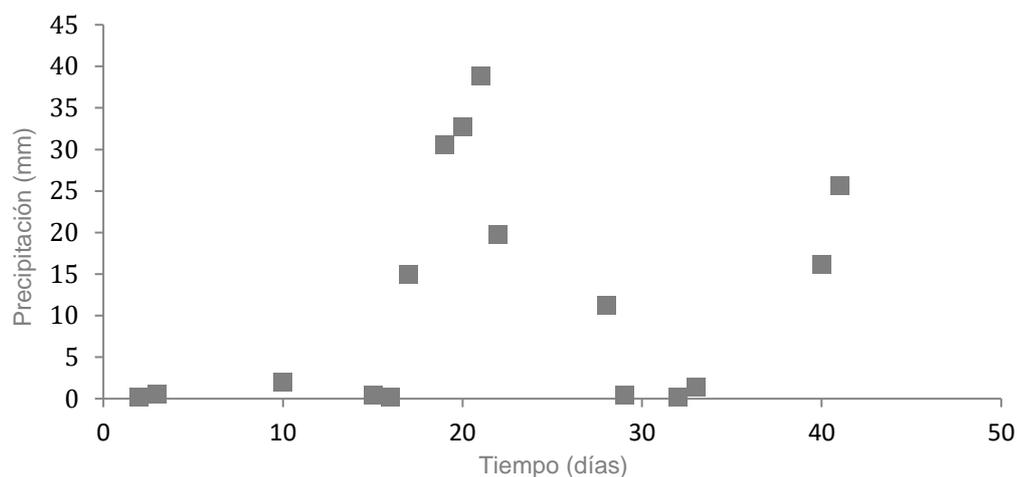
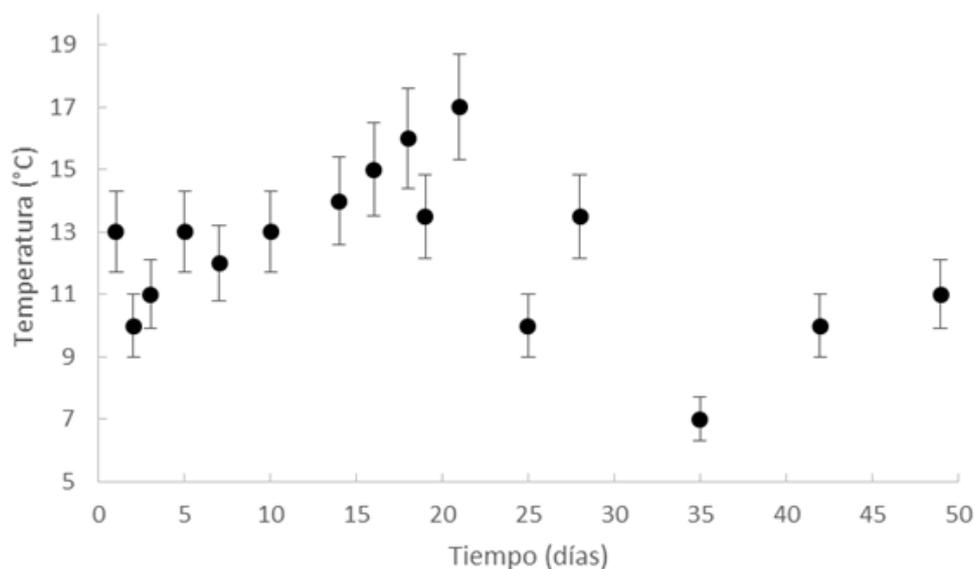


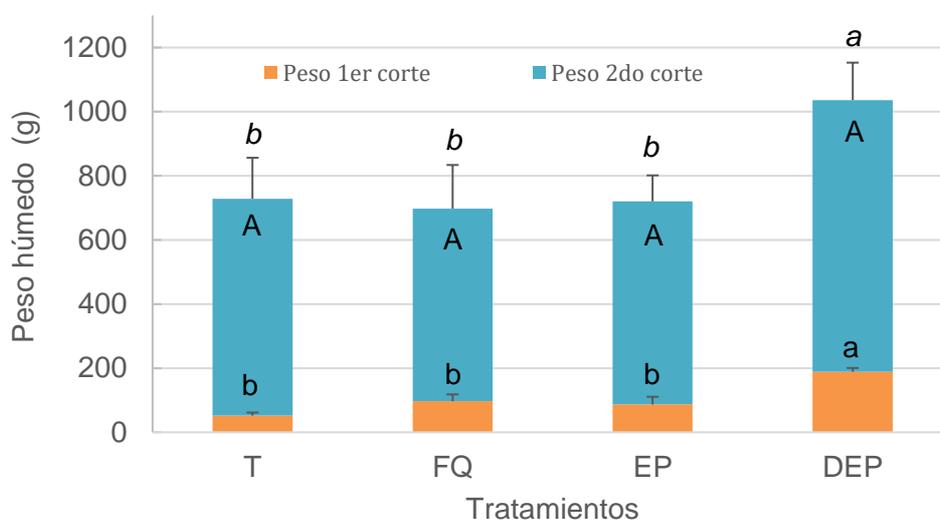
Gráfico 4. Valores medios y error estándar de la temperatura del suelo (C) en el tiempo durante los primeros 50 días después de la aplicación.



### 3.2.2 Rendimiento de la pastura

En los Gráficos 5 y 6 se presentan el peso húmedo y seco, respectivamente, de la biomasa aérea de la pastura en el 1.<sup>er</sup> y 2.<sup>do</sup> corte y el peso acumulado (1.<sup>er</sup> corte + 2.<sup>do</sup> corte) en los distintos tratamientos evaluados T, FQ, EP y DEP. Según se observa en el Gráfico 5, el tratamiento DEP presentó diferencias significativas en el peso húmedo en el 1.<sup>er</sup> corte y una tendencia a mayor valor en el peso húmedo acumulado respecto de los demás tratamientos.

Gráfico 5. Valores medios y error estándar del peso húmedo de la biomasa aérea de la pastura para el 1.<sup>er</sup> y 2.<sup>do</sup> corte y del peso acumulado en los distintos tratamientos T, FQ, EP y DEP



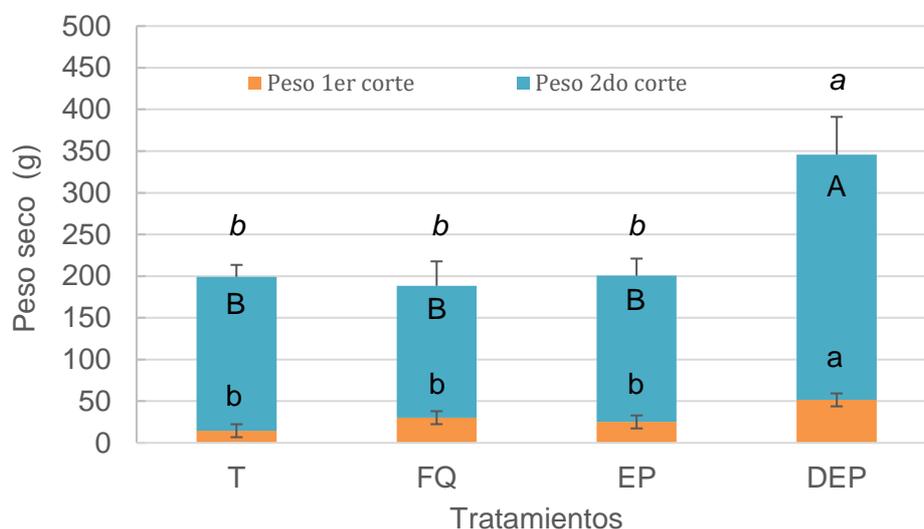
Nota: Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos en el 1.<sup>er</sup> corte, diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos en el 2.<sup>do</sup> corte, diferentes letras minúsculas cursivas indican diferencias significativas ( $P < 0,10$ ) entre tratamientos en el peso acumulado.

Para el peso seco (Gráfico 6), el tratamiento con aplicación de DEP presentó los mayores valores en el 1.<sup>er</sup> y 2.<sup>do</sup> corte y en el peso acumulado con diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) respecto del resto de los tratamientos.

Coelho *et al.* (2019) también observaron mayor rendimiento forrajero con la aplicación de digeridos que con fertilizante químico nitrogenado. Por su parte, Walsh *et al.* (2018), en un ensayo comparativo de 3 años de duración con aplicaciones sucesivas de digeridos anaeróbicos, estiércol crudo y fertilizantes nitrogenados a una pastura mixta de *ryegrass* y trébol, observaron que los digeridos y el estiércol presentaron rendimientos similares al

fertilizante con N, P y K y mayores que el tratamiento con aplicación de fertilizante con solo N.

Gráfico 6. Peso seco de la biomasa aérea de la pastura para el 1.º y el 2.º corte y peso acumulado en los distintos tratamientos



Nota: Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos en el 1.º corte, diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos en el 2.º corte, diferentes letras minúsculas cursivas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos en el peso acumulado.

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson ( $p < 0,05$ ;  $n = 12$ ) entre las propiedades químicas del muestro a los 15 días y los pesos húmedo y seco acumulados de la pastura

Variables químicas	Coeficientes de correlación	
	Peso húmedo acumulado	Peso seco acumulado
NT	-0,02	-0,05
Pe	0,85*	0,75*
Ca	0,04	0,23
Mg	0,08	0,09
K	0,55	0,57
Na	0,18	0,33
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,13	0,23

Nota\*: significativo a un nivel de confianza del 0,05.

Aunque EP y DEP presentaron mayores concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en los primeros días respecto de T y FQ, solo en el caso de DEP, que presentó más P para ese mismo período, es donde se vieron las diferencias en rendimiento.

Para evaluar el efecto de las variables químicas sobre el rendimiento de la pastura se realizaron las correlaciones entre estas variables a los 15 días y a los dos meses, y los pesos húmedo y seco acumulados.

En la Cuadro 12 se observa que los pesos húmedo y seco acumulados presentaron una correlación alta y significativa con el Pe del suelo (0,85 y 0,75 respectivamente), indicando el efecto de este nutriente en el rendimiento de la pastura.

Cuadro 13. Coeficientes de correlación de Pearson ( $p < 0,05$ ;  $n = 12$ ) entre las propiedades químicas del muestro a los dos meses y los pesos húmedo y seco acumulados de la pastura

Variables químicas	Coeficientes de correlación	
	Peso húmedo acumulado	Peso seco acumulado
pH agua	0,29	0,15
CE	0,33	0,61
NT	0,24	0,25
Pe	-0,21	-0,12
Ca	0,04	0,24
Mg	0,24	0,27
Na	-0,32	-0,22
K	-0,09	0,11
Zn	0,51	0,58
Mn	-0,13	-0,4
Cu	0,59*	0,74*
Fe	0,6	0,53

Nota\*: significativo a un nivel de confianza del 0,05.

Los pesos húmedo y seco acumulados de la pastura presentaron coeficientes de correlación positivos y significativos con el Cu (Cuadro 13). Esta relación indica que a mayores contenidos de Cu en el suelo, mayores son los rendimientos de la pastura.

Según Gunnarsson *et al.* (2010), Andruschkewitsch *et al.* (2013) y Walsh *et al.* (2018), la respuesta del rendimiento de *ryegrass* a las aplicaciones de digeridos anaeróbicos han sido mayormente asociada a las cantidades de N aplicadas, especialmente en relación con la disponibilidad de N y de  $\text{NH}_4^+$ . Sin embargo, en este estudio y de acuerdo a las evaluaciones realizadas, el P parece ser el nutriente que generó las diferencias en el rendimiento de la pastura, sumado al mayor aporte de K, Cu y Zn en el tratamiento con digerido.

El DEP generó un mayor rendimiento acumulado de la pastura y mostró un significativo valor como fertilizante, que aumentó las concentraciones de Pe, K y nitrato en el suelo a los 15 días e incrementó los contenidos de los micronutrientes Cu y Zn dos meses después de su aplicación. Sin embargo, el aumento sostenido de estos micronutrientes por aplicaciones sucesivas del digerido puede constituir un riesgo si se alcanzan niveles consideramos contaminantes para el ambiente.

### 3.3 Consideraciones

Según este estudio, debido al incremento en la CE en el tratamiento con digerido, aunque los valores observados se mantuvieron dentro del rango óptimo para el crecimiento de los cultivos, ante sucesivas aplicaciones resultaría importante el seguimiento de esta variable a través del tiempo para evitar un efecto negativo de salinización del suelo.

## Capítulo 4. Indicadores bioquímicos de calidad del suelo

El suelo es uno de los recursos naturales más valiosos de la tierra y mantener su salud es una responsabilidad de la humanidad. Sin embargo, la urgencia para producir más comida y combustibles le está causando un daño irreparable. El uso de tecnologías de producción inapropiadas ha resultado en un deterioro de la calidad de los suelos relacionado con pérdidas de MO y degradación estructural, que afecta los flujos de agua, aire y nutrientes y, en consecuencia, el crecimiento de las plantas (Golchin *et al.*, 1995). Este problema podría ser enmendado mediante el uso apropiado de muchos tipos de residuos orgánicos generados a partir de la actividad agropecuaria. Si presentan la calidad adecuada, los residuos orgánicos actuarían no solo como una fuente de nutrientes y MO, sino que también podrían incrementar el tamaño, la biodiversidad y la actividad de la población microbiana del suelo (Albiach *et al.*, 2000).

La aplicación al suelo de residuos orgánicos representa una estrategia de manejo que puede contrarrestar la pérdida de MO (Gaind y Nain, 2007). La MO es un atributo clave en la calidad del suelo (Doran y Parkin, 1994). Es la fuente primaria de nutrientes para las plantas y es sumamente importante en la estabilidad estructural de los suelos, lo que, a su vez, está estrechamente relacionado con la infiltración, retención de agua, aireación y reducción de la erosión (Gregorich *et al.*, 1994). La MO está compuesta por fracciones de diferente labilidad. Las más lábiles son más sensibles a los cambios producidos por las prácticas de manejo de suelo y de cultivo. Para determinar el C lábil puede utilizarse la metodología propuesta por Cambardella y Elliot (1992), que se basa en una separación física de la MO utilizando un tamiz con una abertura de 53  $\mu\text{m}$ . La fracción orgánica de mayor tamaño es la que queda retenida en el tamiz, y está constituida, principalmente, por restos orgánicos que aún no han sido totalmente procesados por los microorganismos. Esta es la fracción que se denomina carbono orgánico particulado (COP), y es la que se ve más afectada ante cambios en el manejo de los suelos (Ciarlo *et al.*, 2004; Eiza *et al.*, 2005; Romaniuk y Guifré, 2008). El COP es la fracción más activa de la MO (Duval *et al.*, 2014) y consiste en la biomasa microbiana y la MO parcialmente humificada con una tasa de retorno

de 1 a 20 años (Galantini y Suñer, 2008). Numerosos investigadores han propuesto al COP como un indicador del estado o calidad del suelo y de su capacidad para proveer nutrientes (Murage *et al.*, 2007).

La oxidación de compuestos orgánicos a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por parte de los organismos heterotróficos es un proceso clave en el ciclo del C de todos los ecosistemas terrestres (Alef, 1995). Anderson y Domsh (1990) sostienen que la respiración basal de un suelo refleja toda la actividad o gasto de energía realizado por la comunidad microbiana y, por ello, puede ser usada como un índice para determinar la “actividad microbiológica” en relación con los cambios en el clima, las propiedades físicas y las químicas del suelo y también a las prácticas agrícolas (Nannipieri *et al.*, 1990). Representa la suma de todas las funciones metabólicas en las que se produce CO<sub>2</sub>. Incluye, principalmente, tres procesos biológicos: respiración microbiana, respiración de raíces y respiración de la fauna edáfica. Es un indicador sensible de descomposición de residuos, reciclado de carbono orgánico del suelo y disturbios en el ecosistema (Paul *et al.*, 1999). Las mediciones de respiración del suelo han sido incluidas en la mayoría de los programas de monitoreo de suelos y han mostrado su sensibilidad para discriminar entre diferentes prácticas de manejo (Winding *et al.*, 2005; Romaniuk *et al.*, 2006).

Durante el proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás, los nutrientes presentes en el material original son mayormente conservados, lo que permite su posterior aplicación a suelos como fertilizante (Möller, 2009). Sin embargo, el contenido de CO disminuye significativamente durante el proceso de digestión anaerobia (Möller *et al.*, 2008). Esto último causa gran preocupación entre los agricultores, suponiendo que hay menos CO disponible para el crecimiento y la actividad de la comunidad microbiana del suelo y que esto podría provocar una disminución gradual de los valores de MO con el tiempo (Arthurson, 2009). Por estos motivos es de suma importancia evaluar el efecto de la aplicación de digeridos sobre la microbiota y la fertilidad del suelo (Johansen *et al.*, 2013) y los contenidos de carbono edáfico en sus diferentes formas.

El objetivo del presente capítulo fue evaluar el efecto de aplicación de EP y DEP sobre diferentes variables bioquímicas asociadas a las formas de C en el suelo, específicamente el COT, el carbono lábil y el carbono potencialmente mineralizarle o respiración del suelo.

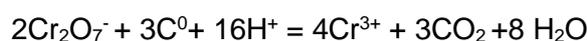
## 4.1 ¿Cómo se trabajó?

Se realizó un muestreo compuestos de suelos (0-10 cm) en el ensayo a campo descrito anteriormente en la sección “Ensayo a campo”, a los dos meses (29/7/19) de la aplicación de los T, FQ, EP y DEP.

Una parte de las muestras se secó en estufa y fue tamizada por malla de 2 mm para la determinación de COT y COP. Otra parte de las muestras fue conservada a 4 °C hasta la determinación de la respiración de suelo. A continuación, se detallan las determinaciones realizadas:

### 4.1.1. Carbono orgánico total

Este método se basa en la oxidación de la MO usando el calor de dilución del ácido sulfúrico (Walkley y Black, 1934). La reacción consiste en la utilización de cromato de potasio  $K_2CrO_4$  y  $H_2SO_4$  como medio fuertemente oxidante, capaz de transformar el C de la MO en  $CO_2$  según la siguiente reacción:



Este método no oxida completamente a la MO. Se ha determinado para los suelos de la región pampeana una oxidación promedio del 82%, por tanto, el factor de corrección es de 1,3.

### 4.1.2. Carbono orgánico particulado

Se realizó un fraccionamiento físico de las muestras de suelo (Cambardella y Elliott, 1992). Para ello se pesaron 10 g de suelo en recipientes de plástico de 100 ml. Se agregaron 30 ml de hexametáfosfato de sodio como dispersante y las muestras fueron colocadas en agitador durante 15 horas a 40 rpm. Concluido el agitado, se procedió a tamizar el contenido de los frascos con tamiz de 53  $\mu m$  de abertura de malla. Se adicionó agua destilada al material retenido en el tamiz, hasta que esta fuera clara a simple vista. El material que pasó por el tamiz fue recepcionado en bandejas de aluminio y posteriormente secado a 50 °C en estufa hasta conseguir la evaporación del agua, de manera de obtener la fracción sólida compuesta por la fracción limo arcilla + MO menor a 53  $\mu m$ . La fracción menor a 53  $\mu m$  (carbono orgánico asociado) es considerada como el carbono orgánico ocluido y suele

asociarse a la fracción más estable de la MO asociada a las arcillas. El contenido de C en esta fracción se determinó según la metodología propuesta por Walkley y Black (1934) y el valor se corrigió descontado el peso de arena correspondiente retenida en el tamiz. Luego, para determinar el COP, se calculó la diferencia entre el COT y el carbono orgánico asociado.

### 4.1.3. Respiración basal o carbono potencialmente mineralizable

La respiración microbiana, medida como producción de CO<sub>2</sub>, es un indicador directo de la actividad microbiana, e indirectamente refleja la cantidad de C potencialmente mineralizable (Jenkinson y Powlson, 1976), ya que mediante un proceso de incubación de las muestras de suelo se generan las condiciones óptimas para potenciar la actividad de los microorganismos del suelo (Gómez *et al.*, 2001). Para su determinación se incubaron 20 g de suelo fresco por triplicado en condiciones óptimas de temperatura (25 °C) y humedad (80%) durante 7 días en presencia de álcali (NaOH 1 N) (Imagen 12).

Imagen 12. Ensayo de respiración microbiana. Suelo húmedo en presencia de NaOH.



El CO<sub>2</sub> reacciona con el NaOH según la siguiente reacción:



Luego se agregó cloruro de bario (BaCl<sub>2</sub>) para precipitar el carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) como carbonato de bario (BaCO<sub>3</sub>). Finalmente, el exceso de hidróxido de sodio (NaOH) se tituló con HCl 0,5 N utilizando fenolftaleína como indicador.

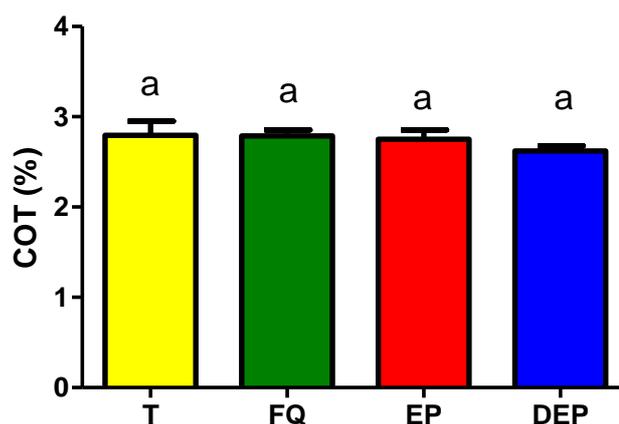
Los datos obtenidos fueron procesados utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2016). Se realizó análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias utilizando el test de LSD Fischer con un nivel de significancia del 0,05.

## 4.2 Comprobaciones

### 4.2.1 Carbono orgánico total (COT)

Como puede observarse en el Gráfico 7, no hay diferencias entre tratamientos en los valores de COT hacia el final del ensayo. Debe considerarse que los contenidos de COT del EP y del DEP fueron 28,4% y 22,5%, respectivamente. Sin embargo, debido a que se aplicó al suelo mayor cantidad de material digerido que sin digerir (8,4 vs. 5,1 L m<sup>-2</sup>), la cantidad de C aportada con el DEP fue 48% mayor que la aplicada con el EP. A pesar de esta diferencia en el aporte de C, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Según Möller (2015), el aporte de C que se realiza mediante la aplicación del digerido es pequeña en relación con la cantidad de C almacenada en el suelo, y, por lo tanto, difícil de cuantificar en un período corto de tiempo.

Gráfico 7. Valores medios y error estándar del carbono orgánico total al final del ensayo para los diferentes tratamientos



Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

Möller (2009) no encontró diferencia en el contenido total de N y C en suelos después de 4 años de aplicación consecutivas de material digerido y sin digerir. Resultados similares con

respecto al COT fueron registrado por Bachmann *et al.* (2014) después de 3 años de cultivo de maíz y por Erhart *et al.* (2014) sobre el balance de COT bajo diferentes opciones de manejo con abonos verdes aplicados con y sin digestión anaeróbica. La mayor parte del CO presente en los suelos está en formas recalcitrantes o humificadas. De esta manera, el COT presente en la materia orgánica es menos susceptible a los efectos de las prácticas agronómicas a corto plazo, donde toma mayor importancia la razón de descomposición (Ginebra Aguilar *et al.*, 2015).

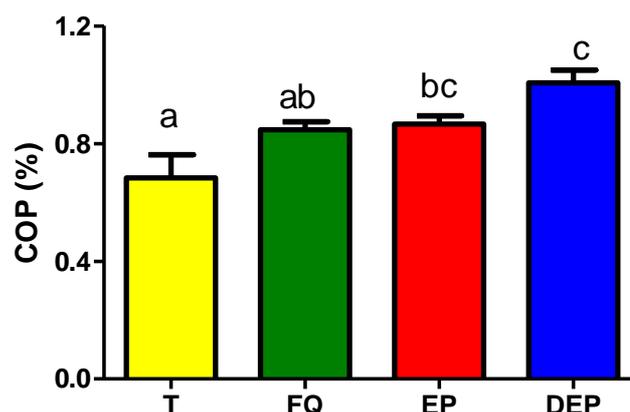
Como es sabido, durante el proceso de digestión anaeróbica se produce una pérdida en los contenidos de C del material. Sin embargo, el C remanente presente en el digerido suele ser más estable que el contenido en el material sin digerir. Esto compensaría el menor aporte de C que se realiza al aplicar el digerido, debido al menor grado de descomposición que sufre de este tipo de fuente carbonada, atenuando cualquier posible efecto negativo de la aplicación de material digerido en el contenido de MO del suelo, en comparación a la aplicación del material sin digerir (Möller, 2015). En el presente trabajo, la cantidad de C aportada con el digerido fue mayor que la aportada con el efluente, ya que se aplicó mayor cantidad de digerido en función de los cálculos para aporte de N. Sin embargo, y como ocurre en muchos estudios, si se aplicasen cantidades similares de ambos productos a lo largo de un período prolongado, debería prestarse especial atención a las variaciones en la calidad y cantidad de la MO presente en el suelo.

#### 4.2.2 Carbono orgánico particulado (COP)

En el Gráfico 8 se observa un incremento en los valores de COP ante el agregado del EP y del DEP en referencia al testigo ( $p < 0,05$ ). Los incrementos relativos en referencia al testigo fueron del 25% para FQ, 27% para EP y 47 % para DEP. Si bien la aplicación de residuos orgánicos puede incrementar la cantidad de C en el suelo, no es esperable encontrar diferencias en el corto plazo (Möller, 2015). Como puede verse, la aplicación del FQ incrementó los valores de COP de manera muy similar al tratamiento de aplicación de EP, siendo que el FQ no aporta ninguna fuente carbonada. Debido a ello, estas diferencias podrían atribuirse a un efecto indirecto de la aplicación de fertilizante sobre la mayor producción de biomasa. Como ya se mencionó anteriormente, el carbono particulado está

constituido principalmente por restos orgánicos que aún no han sido totalmente procesados por los microorganismos.

Gráfico 8. Valores medios y error estándar del carbono orgánico particulado medido al final del ensayo para los diferentes tratamientos



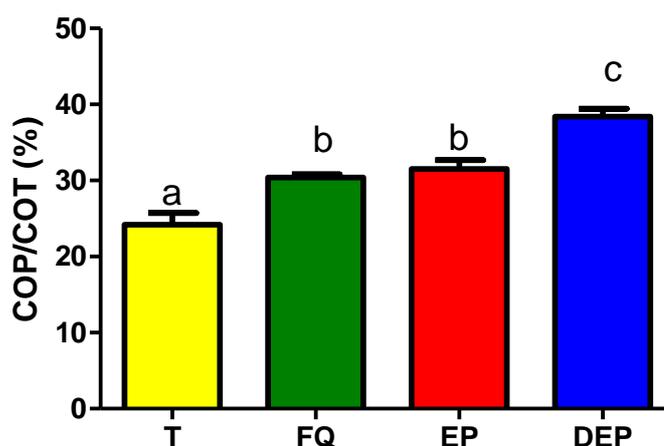
Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, la aplicación de DEP produjo incrementos importantes en los valores de COP, con diferencias significativas en relación con T y FQ. Según el trabajo de revisión prestado por Möller (2015) el contenido total de C de los digeridos varía entre 28% y 47%, estando principalmente compuesto por carbono recalcitrante. Esto se debe a que durante la digestión anaeróbica, la lignina no se degrada, mientras que los AGV (> 90%), la celulosa (> 50%), la hemicelulosa (> 80%), y las proteínas crudas son parcialmente degradadas (Molinuevo-Salces *et al.*, 2013). Marcato *et al.*, (2009) informaron que el grado de oxidación del C fue menor en el EP que en el DEP. El motivo del mayor grado de oxidación del material digerido es que el C más reducido se convierte en biogás, lo que lleva a un aumento relativo en el nivel de oxidación del CO restante. Considerando este factor, el notable incremento en la fracción lábil de C para el tratamiento con aplicación del digerido podría estar principalmente relacionado a los mayores rendimientos obtenidos en este tratamiento, y no solo al mayor aporte de C realizado con el DEP. La mayor producción de biomasa de la pastura incrementó los aportes de MO a través de mayor biomasa radicular y secreción de sustancias carbonadas, como también los aportes por caída y deposición del material aéreo

en el suelo (Studdert y Echeverría, 2000). Tisdall y Oades (1982) señalaron que los incrementos en la cantidad de COP pueden interpretarse como un indicador temprano del aumento en el C orgánico del suelo.

En relación con el COT, el COP fue un indicador más sensible a la incorporación de material orgánico (EP y DEP). Estos resultados coinciden con los reportados por Eiza *et al.* (2005) y Beltran *et al.* (2016), quienes concluyeron que el COP demostró ser un indicador más sensible que el COT, para manifestar diferencias por efecto del manejo. Según Romaniuk *et al.* (2018), la cuantificación de fracciones más sensibles de CO en el suelo podría ser de mayor utilidad para evidenciar las consecuencias de diferentes prácticas de manejo, ya que estas fracciones son usadas por los microorganismos del suelo para su actividad metabólica y la transformación a compuestos más complejos, siendo, por tanto, las primeras que se ven afectadas ante cambios en el manejo (Weil *et al.*, 2003).

Gráfico 9. Valores medios y error estándar para la relación del COP/COT medido al final del ensayo para los diferentes tratamientos



Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ).

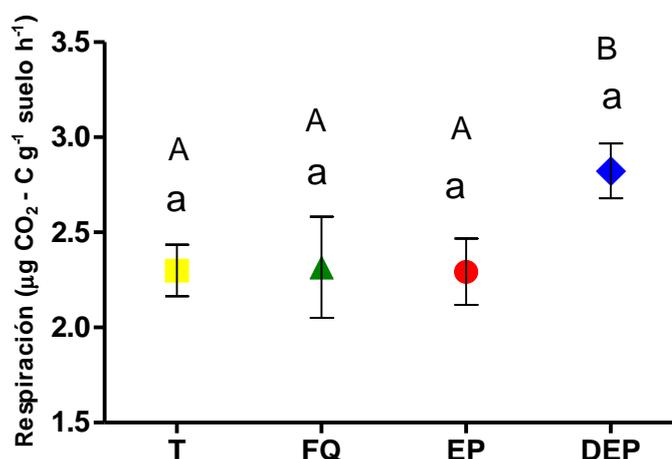
En el Gráfico 9 se presentan los valores medios de la relación COP/COT, la que indica qué porcentaje del CT se encuentra como carbono lábil. Es así que el T presenta un valor promedio del 24%, mientras que los valores para FQ, EP y DEP fueron de 30%, 30,5% y 38%, respectivamente. Es decir que hubo un incremento de la fracción lábil de C ante el agregado de FQ, EP y DEP. En términos prácticos, esto puede traducirse en MO más fácilmente mineralizable, con la consecuente liberación de nutrientes disponibles para el aprovechamiento por parte de la pastura.

El tratamiento con aplicación de DEP presentó los mayores valores en la relación COP/COT ( $p < 0.05$ ). Los tratamientos FQ y EP presentaron, a su vez, valores significativamente mayores que T. Los incrementos relativos en referencia al T fueron del 26% para FQ, 30% para EP y 58% para DEP. Estas diferencias estarían dadas, principalmente, por los incrementos en el COP (Gráfico 8), ya que el COT no mostró variaciones ante el agregado de FQ, ni tampoco con las enmiendas orgánicas.

### 4.2.3. Respiración basal, C potencialmente mineralizable

No se observaron diferencias significativas en los valores de respiración de suelo entre tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Gráfico 10). Sin embargo, se puede observar una tendencia hacia mayores valores de Respiración en el tratamiento con aplicación de digerido (DEP) ( $p < 0.1$ ). El incremento relativo en los valores de respiración para este tratamiento respecto al testigo fue de 23%. Este aumento en la actividad biológica es posiblemente consecuencia del aumento en los valores de carbono lábil (Gráfico 8), el cual es utilizado por los microorganismos como fuente de energía para su crecimiento.

Gráfico 10. Valores medios y error estándar de la respiración basal expresados en  $\mu\text{g}$  de C de  $\text{CO}_2$  por gramo de suelo y por hora medido al final del ensayo para los diferentes tratamientos



Nota: Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,05$ ). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0,1$ ).

Muchos autores han informado que la fertilización orgánica provoca un aumento en la actividad biológica de los suelos (Kirckner *et al.*, 1993). Sin embargo, Johansen *et al.* (2013) concluyeron que la aplicación de los digeridos de la producción de biogás indujo solo

cambios pequeños y transitorios en la biomasa microbiana total, actividad y estructura de la comunidad durante los primeros días después de la aplicación. Estas diferencias en los estudios de aplicación de enmiendas orgánicas pueden atribuirse a las diferencias en la composición de la enmienda, la dosis de aplicación y el tipo de suelo (Albiach *et al.*, 2001; Tejada y González, 2003).

Las aplicaciones de enmiendas orgánicas estimulan, en general, la respiración microbiana del suelo, probablemente debido a la estimulación del crecimiento microbiano por la adición de sustratos orgánicos (Marinari *et al.*, 2000). La mayor parte del C aportado por enmiendas orgánicas comprende material parcialmente descompuesto, usado como fuente de energía y nutrientes por los microorganismos del suelo, resultando en un aumento de la respiración microbiana edáfica (Stevenson, 1986). En el presente trabajo la adición de las enmiendas orgánicas (EP y DEP) probablemente incrementó al comienzo del ensayo el aporte de C, repercutiendo en el crecimiento de la población microbiana, con el consecuente incremento en la mineralización y liberación de nutrientes que estimularon el crecimiento de la pastura. Möller (2015) ha reportado que la aplicación de digeridos a campo genera cambios de corto plazo en la actividad y composición de la comunidad microbiana del suelo. Sin embargo, hacia el final de ensayo, las diferencias en respiración posiblemente estén más asociadas al incremento en el carbono lábil como consecuencia del mayor aporte de residuos aéreos y, principalmente, subterráneos (raíces y exudados radiculares), y no con el C aportado desde los residuos. El uso de enmiendas orgánicas ha sido reconocido como una forma efectiva de mejorar la fertilidad del suelo, incrementar las poblaciones microbianas, su actividad y diversidad (Barakan *et al.*, 1995) y la actividad biológica (Zink y Allen, 1998), aumentando los rendimientos de los cultivos (Mórtola *et al.*, 2019).

### 4.3 Consideraciones

El contenido de COT del suelo no se vio afectado por la aplicación de FQ, EP o DEP. Sin embargo, el COP se incrementó ante el agregado del EP y especialmente de DEP en relación con el T. Esto sugiere un incremento de la fracción lábil de C probablemente

relacionado al mayor aporte de material vegetal, raíces y exudados dado por el aumento en el rendimiento en el tratamiento con aplicación de DEP. La relación COP/COT aumentó significativamente para los tratamientos de FQ, EP y DEP respecto a T, presentado el tratamiento de DEP los mayores valores. La respiración de suelo no presentó diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, se observó una tendencia a mayores valores de respiración del suelo en DEP respecto a T, que podría estar asociado al incremento del carbono lábil.

## Capítulo 5. Indicadores microbiológicos de calidad del suelo

Un desafío importante para la agricultura moderna es lograr una alta productividad manteniendo la salud del suelo y la biodiversidad. El uso intensivo de fertilizantes sintéticos para lograr un alto rendimiento, a menudo, conduce a la degradación del suelo, pérdida de diversidad genética de cultivos, reducción de la diversidad microbiana, contaminación del agua y de la atmósfera (Kaur *et al.*, 2008; Chaudhry *et al.*, 2009; Lezcano *et al.*, 2013). Por lo tanto, la agricultura que se basa en el aporte de materiales orgánicos es una alternativa prometedora ya que no solo minimiza el uso de fertilizantes sintéticos, sino que también mejora la productividad de los cultivos y asegura la sostenibilidad y salud del suelo (Tilman *et al.*, 2002; Mäder *et al.*, 2002; Kravchenko *et al.*, 2017; Schloter *et al.*, 2018). Sin embargo, las enmiendas orgánicas también suelen contener sustancias potencialmente tóxicas, como metales pesados, antibióticos y contaminantes orgánicos los cuales están sujetos en el suelo a varios procesos químicos, físicos y biológicos. Estos procesos actúan interconectados y generan modificaciones en los compuestos aportados a nivel molecular pudiendo inducir, por ejemplo, variaciones en los ciclos biogeoquímicos, en la reserva de C, la estructura, la abundancia, la actividad microbiana y el desarrollo vegetal (Schwarzenbach *et al.*, 2003). La fertilidad y la calidad del suelo se basan en una intensa actividad microbiana que incluyen la actividad enzimática y la diversidad metabólica de los microorganismos. La acción de las enzimas en el suelo ocurre, principalmente, debido a reacciones de hidrólisis que pueden mineralizar compuestos orgánicos, dejándolos disponibles para las plantas y microorganismos. Por ejemplo, las enzimas relacionadas con el ciclo del C como la  $\beta$ -glucosidasa degradan el CO al realizar la hidrólisis de la celobiosa, mientras que las lipasas, esterasas y proteasas están relacionadas con la descomposición de la MO en el suelo, y su actividad puede evaluarse mediante la determinación de la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA). Las enzimas fosfatasas catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico, permitiendo la mineralización del P y la actividad ureasa cataliza la hidrólisis de urea a CO<sub>2</sub> y NH<sub>3</sub> (De Araújo y Monteiro, 2007; Navroski *et al.*, 2019). La actividad microbiana del suelo constituye una medida de importancia

ecológica, ya que representa el nivel de la actividad biológica del componente lábil de la MO del suelo e integra los factores del medio ambiente y su influencia sobre los ciclos biogeoquímicos (Zagal *et al.*, 2002). La diversidad funcional microbiana del suelo está relacionada con la estabilidad de las comunidades microbianas y los niveles de biodiversidad. La diversidad de las comunidades microbianas del suelo puede caracterizarse por el patrón de utilización de sustratos de C individuales generados a partir de las placas ECOPLATE (BIOLOG) disponibles comercialmente (Garland y Mills, 1991; Sharma *et al.*, 2010). La actividad microbiana metabólica determinada por el consumo global de sustratos (AWCD) y los índices de diversidad funcional, como los índices de Shannon ( $H'$ ), y Riqueza (R) son indicadores diagnósticos importantes de la calidad del suelo (Garland, 1996).

Los parámetros microbiológicos mencionados anteriormente, como las actividades enzimáticas y los índices de diversidad funcional, son indicadores sensibles de la calidad y salud del suelo, por lo tanto, se presentan como una herramienta de monitoreo para evaluar de forma temprana y eficaz los cambios producidos por las prácticas de manejo (Bending *et al.*, 2002; Brandan *et al.*, 2011). Por lo expuesto, el objetivo planteado es estudiar el efecto de la aplicación de distintas fuentes de nutrientes (FQ inorgánico, EP y DEP) sobre la calidad biológica del suelo.

## 5.1 Recolección de muestras

Las muestras de suelo fueron tomadas con barreno a una profundidad de 10 cm de acuerdo a la secuencia de tratamientos: T, FQ, DEP y EP (Imagen 13). Se tomaron 25 submuestras al azar para formar muestras compuestas homogeneizadas por tratamiento las cuales fueron conservadas a 4 °C hasta el momento de su análisis. Las muestras de suelos se tomaron del ensayo realizado a campo descrito anteriormente en la sección “Ensayo a campo”, a los 15 días de haberse aplicado los tratamientos.

Imagen 13. Recolección de muestras de suelo



## 5.2 Indicadores microbiológicos de la calidad del suelo

### 5.2.1 Determinación de las actividades enzimáticas

#### 5.2.1.1 Actividades enzimáticas fosfatasa ácida y $\beta$ -glucosidasa

La determinación de la actividad fosfatasa ácida y  $\beta$ -glucosidasa se realiza de acuerdo al protocolo propuesto por Guenet *et al.* (2012). En cada celda, se coloca 50  $\mu$ l de una solución de agua destilada y suelo en una relación 1:10, 25  $\mu$ l de buffer y 50  $\mu$ l del sustrato (71,9 mmol L<sup>-1</sup>). Para fosfatasa se utiliza como sustrato p-nitrofenilfosfato y para  $\beta$ -glucosidasa se utiliza p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido. Las mediciones se realizan a pH 5 (buffer citrato) para fosfatasa ácida y pH 6 (buffer MUB, Modified Universal Buffer) para  $\beta$ -glucosidasa. Se utilizan como controles las celdas con suelo y buffer, pero sin sustrato. Las microplacas se incuban durante 1 hora a 37 °C. Al finalizar la incubación, las microplacas se centrifugan (durante 5 min) y se transfieren 50  $\mu$ l del sobrenadante a una microplaca que contiene 250  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2% para detener la reacción enzimática (Imagen 14). La absorbancia (410 nm) se mide con un lector de placas BioTek (BioTek Instruments, Winooski, VT) (Imagen 14). La actividad enzimática (U) se expresa como la cantidad de p-nitrofenol ( $\mu$ g) liberada por h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> equivalente en suelo seco.

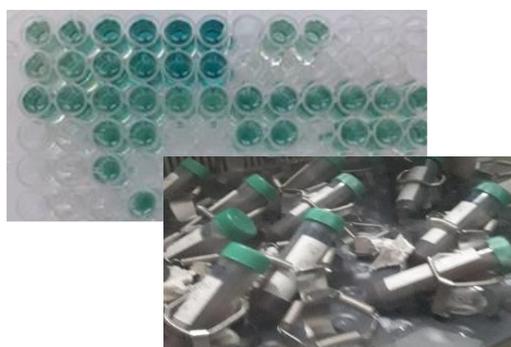
Imagen 14. Microplacas para la determinación enzimática de fosfatasa ácida y  $\beta$ -glucosidasa(izquierda) y lector de placas (derecha)



### 5.2.1.2 Actividad ureasa

La capacidad ureasica del suelo se determina a través de la cuantificación del  $\text{NH}_4^+$  producido posincubación de las muestras con una solución de urea como sustrato (Tabatabai, 1994). Se coloca 1 g de suelo en un tubo con 2 ml de buffer fosfato (pH 7,1) y 1 ml de solución de urea 3%, luego se incuba durante 30 minutos a 37 °C con agitación (180 rpm). En paralelo, se preparan controles agregando 1 ml de agua destilada al suelo. Se realizan controles con suelo agregando 1 ml de agua destilada en lugar de urea. Luego de la incubación, se agrega a los tubos 10 ml de KCl (2 M) y se los coloca en hielo para interrumpir la actividad enzimática. Se centrifuga y se determina por colorimetría en el sobrenadante la cantidad de  $\text{NH}_4^+$  producido por la hidrólisis de urea (Imagen 15). El color se desarrolla por la reacción entre el  $\text{NH}_4^+$  y una mezcla alcalina de salicilato de sodio ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ ) e hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ). La absorbancia se mide a 630 nm (Baethgen y Alley, 1989). La actividad se expresa como  $\mu\text{g}$  de  $\text{N-NH}_4^+$   $\text{h}^{-1}$   $\text{g}^{-1}$  de suelo.

Imagen 15. Determinación de la actividad ureásica

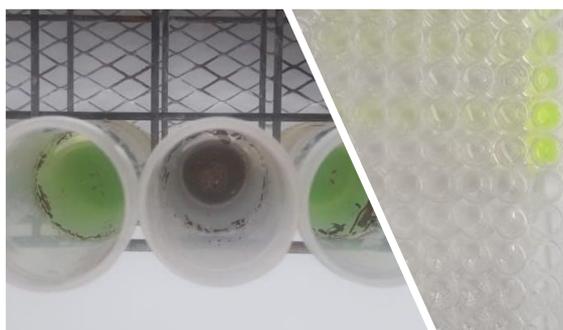


### 5.2.1.3 Actividad microbiana

#### Hidrólisis de FDA

Se determina mediante la estimación colorimétrica de la fluoresceína liberada cuando se incuban muestras de suelo con FDA. Se mezcla 1 g de suelo con 7,5 ml de buffer fosfato pH 7,6 (60 mM) y 0,1 ml de FDA ( $1000 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). En paralelo, se preparan blancos sin FDA. Se incuban con agitación a 30 °C durante 20 min. Se añaden 7,5 ml de acetona inmediatamente para detener la reacción. Se centrifuga a 2000 rpm durante 3 minutos y se filtra. Se realizan las lecturas a 490 nm en espectrofotómetro de microplacas usando un volumen de 0,2 ml (Imagen 16). Se cuantifica mediante una curva patrón de fluoresceína (Adam y Duncan, 2001).

Imagen 16. Determinación de la hidrólisis del FDA

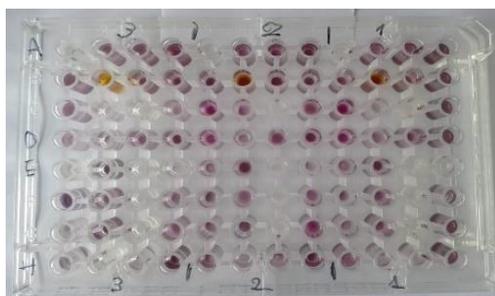


#### Diversidad funcional

Se empleó el sistema de Ecoplate de 96 celdas (Biolog, Inc. Hayward, CA, USA) que contiene 31 fuentes de C diferentes para estudiar los cambios en las comunidades a raíz de las modificaciones en los perfiles metabólicos. Se prepararon diluciones seriales a partir de una suspensión de suelo que contenía 5 g de suelo húmedo en 45 ml solución fisiológica. Luego se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{l}$  de la dilución 1:1000 para inocular cada celda. Las placas se incubaron a 28 °C durante 72 horas (Imagen 17). Se realizaron 3 repeticiones por muestra analizada. Las lecturas de absorbancia ( $\lambda$  590 nm) se registran cada 24 horas en lector de microplacas (BioTeck Instruments, Vermont, USA). Se consideraron positivas las celdas con una absorbancia de 0,2 o mayor. La actividad microbiana en cada microplaca se calculó con las lecturas obtenidas a las 72 horas y se expresa como *average well-color*

*development* (AWCD) de acuerdo a:  $AWCD = \sum \lambda_{590 \text{ nm } i/31}$ . Donde  $\lambda_{590 \text{ nm}}$  es la lectura en cada pocillo corregida por la lectura del control. La actividad microbiana en función del grupo de fuente carbonada utilizada se expresa como: AWCD\_AA: aminoácidos, AWCD\_CH: carbohidratos, AWCD\_AC: ácidos carboxílicos, AWCD\_PO: polímeros y AWCD\_AM: aminas y amidas. La riqueza (R) es determinada por el número de fuentes de C metabolizadas y el índice de diversidad de Shannon (H') es determinado usando la siguiente fórmula:  $\sum p_i (\ln p_i)$ . Donde  $p_i$  es la absorbancia relativa de cada fuente de carbono (Ratcliff *et al.*, 2006).

Imagen 17. Placa ECOPLATE



Nota: Los pocillos color púrpura son el resultado de la utilización de la fuente de C presente.

#### 5.1.2.4 Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un análisis de 2 vías de la varianza (ANOVA) y la comparación de medias entre tratamientos fue realizada con el test LSD estableciendo la significancia entre medias en  $p < 0,05$ . Se realizó el análisis de componentes principales (ACP) (Hair *et al.*, 1995) usando datos normalizados de AWCD para cada grupo de sustrato. También se realizó un análisis multivariado integrado para determinar un nuevo conjunto de correlaciones entre tratamientos y todas las variables (parámetros químicos del suelo, actividades enzimáticas, índices de diversidad fisiológica y actividad metabólica). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el *software* Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2009) y PAST (Hammer *et al.*, 2001). Los índices de biodiversidad se obtuvieron con el programa PAST y se expresaron como índice de Shannon-Wiener (H) y riqueza (R).

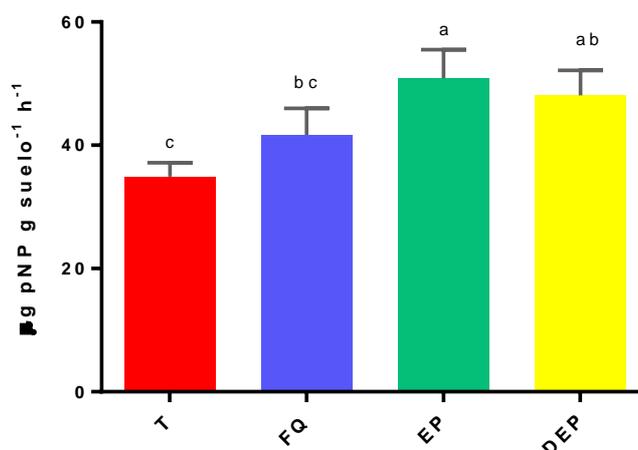
## 5.3 Qué se comprobó

La aplicación de fertilizantes orgánicos digeridos o puros en general tiene efectos beneficiosos sobre las propiedades químicas del suelo ya que estos aumentan el contenido de N, P y de MO (Navroski *et al.*, 2019; Risberg *et al.*, 2017; [Arthurson, 2009](#); Doran, 2002), y, como consecuencia, se puede mejorar o mantener la calidad del suelo (Nkoa, 2014). Sin embargo, estos efluentes también suelen contener metales pesados (Kupper *et al.*, 2014; Govasmark *et al.*, 2011), diferentes contaminantes orgánicos (Limam *et al.*, 2013; Govasmark *et al.*, 2011) y residuos de antibióticos (Spielmeyer *et al.*, 2014; Martínez-Carballo *et al.*, 2007). Es por ello que la aplicación de diferentes residuos orgánicos pueden inducir tanto efectos beneficiosos como perjudiciales en la comunidad microbiana del suelo (Sänger *et al.*, 2014; Abubaker *et al.*, 2013; Odlare *et al.*, 2011).

### 5.3.1 Actividades enzimáticas

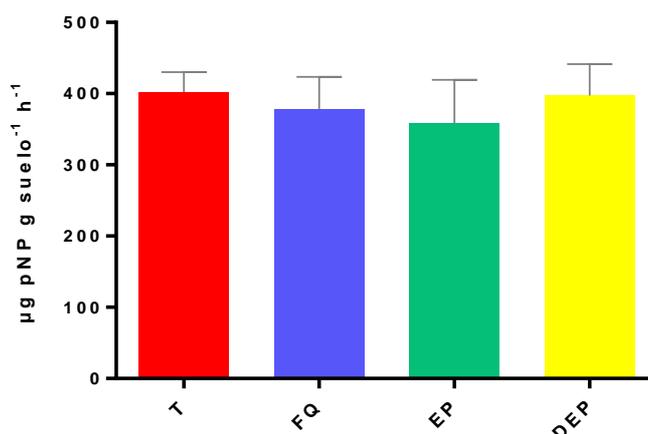
Las enzimas microbianas del suelo son impulsadas principalmente por procesos metabólicos que reflejan, en gran medida, el nivel de actividad microbiana del suelo y la intensidad de las reacciones bioquímicas (Mandal *et al.*, 2007). Ha sido reportado que la aplicación de enmiendas orgánicas tiene un impacto beneficioso en la actividad microbiana del suelo y estimula la actividad de algunas enzimas, como  $\beta$ -glucosidasa fosfatasa y ureasa (Arthurson *et al.*, 2009).

Los resultados de este trabajo demostraron que la aplicación de los materiales orgánicos estudiados afectó significativamente la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa (Gráfico 11). Es posible que un incremento en la actividad de esta enzima sea consecuencia de la calidad de sustrato provisto por estos materiales orgánicos que proporciona una rica fuente de C y nutrientes para los microorganismos. Aunque no se detectaron diferencias entre los tratamientos en cuanto al contenido de CO en el suelo (Capítulo 4 Indicadores bioquímicos de calidad del suelo), se ha sugerido que la actividad de esta enzima puede proporcionar una rápida evidencia de los cambios en el CO mucho antes de que pueda ser determinado por métodos analíticos de rutina (Makoi y Ndakidemi, 2008).

Gráfico 11. Actividad  $\beta$ -glucosidasa expresada en  $\mu\text{g pNPg}^{-1} \text{h}^{-1}$  para los tratamientos

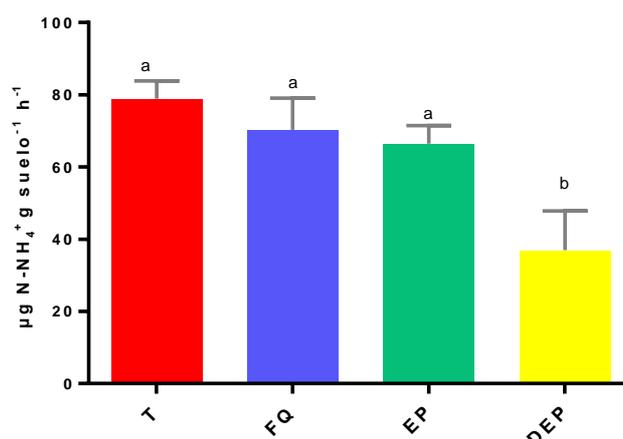
Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

La actividad de la enzima fosfatasa ácida es un índice potencial de mineralización de P orgánico (Eivazi y Tabatabai, 1977). Los resultados obtenidos en este trabajo indican que esta variable no mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los valores de actividad fosfatasa registrados fueron en promedio de  $389,9 \mu\text{g pNPg suelo}^{-1}\text{h}^{-1}$  (Gráfico 12). Es posible que los altos contenidos de P disponible en todos los tratamientos inhiban la actividad enzimática. Navroski *et al.* (2019) y Pegoraro *et al.* (2014) reportaron resultados similares. De acuerdo a la literatura consultada, este mecanismo de realimentación podría ser el primer camino en que los microorganismos regulan la mineralización en respuesta al suministro de nutrientes. Es decir, que las enzimas fosfatasas se sintetizan solo cuando el P disponible es deficiente (Nannipieri *et al.*, 1979).

Gráfico 12. Actividad fosfatasa ácida expresada en  $\mu\text{g pNP g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  para los tratamientos

Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

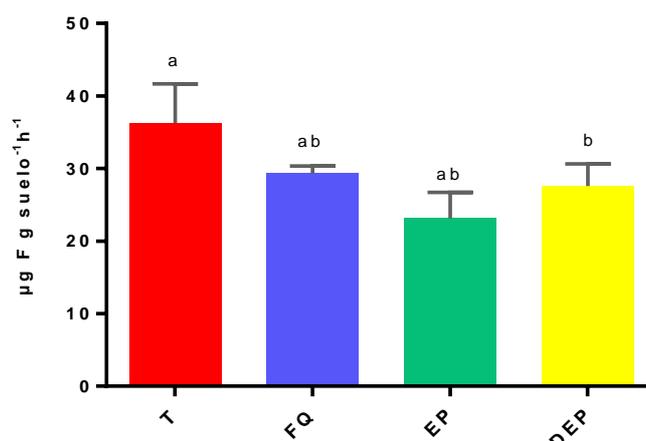
La actividad ureásica es un indicador sensible para la evaluación de la calidad del suelo y contaminación por metales pesados (Leirós *et al.*, 1999; Hinojosa *et al.*, 2004). Los valores de dicha actividad en los tratamientos con FQ, EP y T fueron similares y sin diferencias significativas entre sí, mientras que la aplicación de DEP mostró una merma significativa en la capacidad ureásica del suelo con respecto a los demás tratamientos (Gráfico 13). Como se menciona en el Capítulo 3 “Indicadores químicos de calidad de suelo y rendimiento de la pastura”, el tratamiento con DEP presentó en suelo un incremento en sus niveles de Cu y Zn y si se considera que la correlación entre el contenido de Cu y actividad ureasa es significativamente negativa ( $-0,77$ ,  $p < 0,003$ ) se podría inferir que la inhibición de la actividad ureasa en el tratamiento DEP se produjo por un incremento en el contenido de Cu. Ha sido reportado previamente (Kunito *et al.*, 2001 y Efron *et al.*, 2004) que la actividad ureasa es fuertemente afectada por la presencia de estos elementos en el suelo.

Gráfico 13. Actividad ureasa expresada como  $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$  para los tratamientos

Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

### 5.3.2 Actividad microbiana

La actividad microbiana determinada a partir de la hidrólisis del FDA es sensiblemente afectada en el tratamiento con EP (Gráfico 14), registrándose una disminución del 40% en la actividad enzimática respecto al T. Sin embargo, Da Silva *et al.* (2015) encontraron que aplicaciones sucesivas de EP incrementaban la actividad enzimática de la hidrólisis del FDA. La correlación entre la actividad FDA y el contenido de AGV presentes en el residuo fue significativamente negativa (-0,63;  $P < 0,03$ ), sugiriendo que un alto contenido de AGV en el EP podría ser la causa de la inhibición de la actividad FDA. Ha sido documentado que los AGV pueden inhibir la capacidad potencial para oxidar  $\text{N-NH}_4^+$  (Risberg *et al.*, 2017) y la nitrificación (Delgado *et al.*, 2004), sin embargo, el efecto de los AGV sobre la actividad FDA no está reportado. Asimismo, es necesario considerar que los resultados obtenidos a través de la medición de la hidrólisis de FDA deben ser interpretados cautelosamente, debido a que las actividades enzimáticas dependen de la contribución de enzimas intracelulares y extracelulares. Como la actividad de enzimas extracelulares asociadas a los coloides persiste en el suelo, podría limitar la actividad microbiológica intracelular. Por lo tanto, no siempre se obtendrán resultados que relacionen la actividad metabólica proveniente solo de la microflora edáfica (Quiroz Espinosa, 2007).

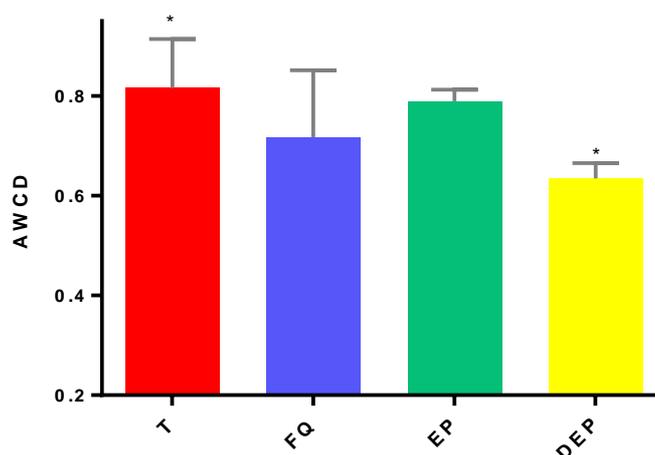
Gráfico 14. Actividad FDA expresada como  $\mu\text{g fluoresceína g}^{-1} \text{h}^{-1}$  para los tratamientos

Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

### 5.3.3 Diversidad funcional

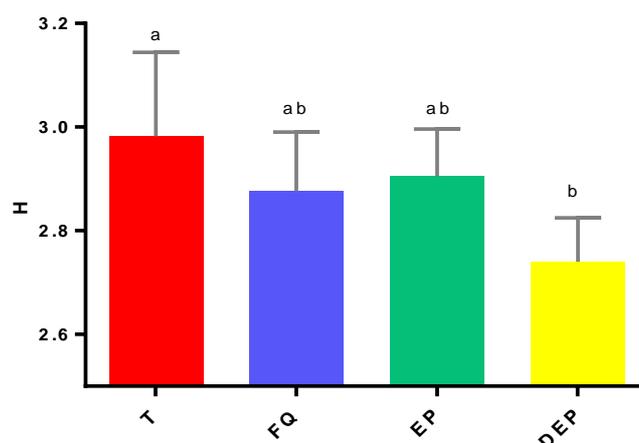
La actividad microbiana metabólica (AWCD) y los índices de diversidad funcional se utilizaron para investigar la estructura y el potencial funcional de las comunidades microbianas del suelo (Gráficos 15, 16 y 17).

Gráfico 15. Actividad microbiana metabólica (AWCD) para los tratamientos para los tratamientos



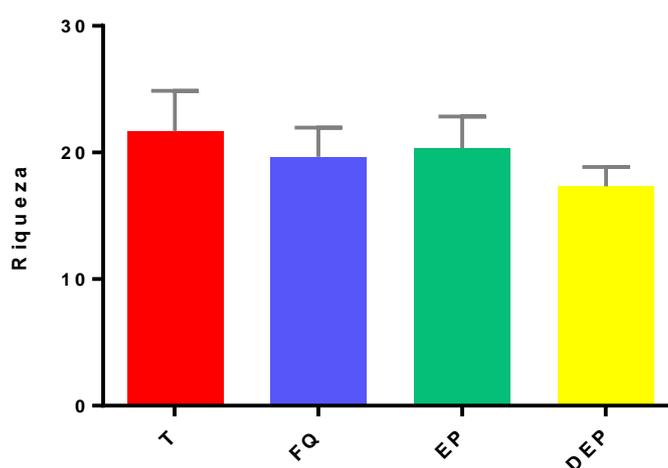
Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. \* Indica diferencias significativas con un  $p$ -valor  $< 0.0314$ .

Gráfico 16. Índice de Diversidad de Shannon-Weaver (H) para los tratamientos



Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

Gráfico 17. Riqueza funcional de los tratamientos

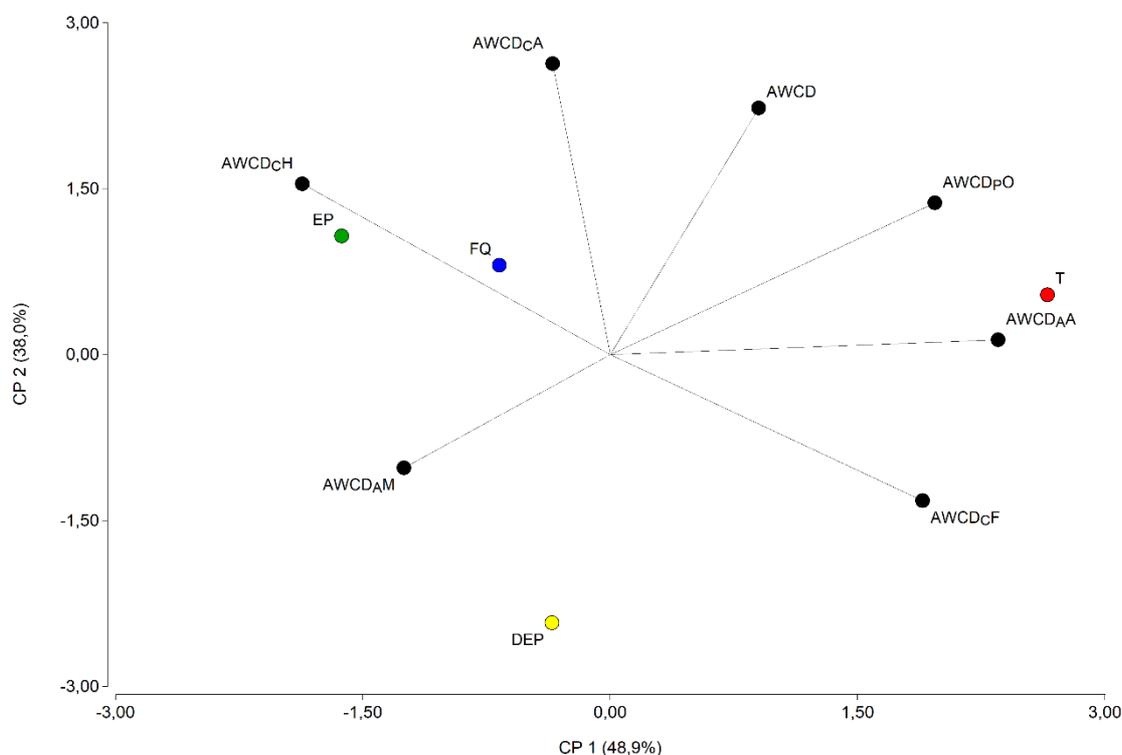


Nota: Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar.

Los tratamientos con aplicación de EP y el suelo sin tratar (T) presentaron índices de diversidad funcional (H) y actividad metabólica significativamente más elevados respecto al tratamiento con aplicación del DEP (Gráficos 15 y 16). El aumento en la diversidad funcional en el suelo con EP podría ser explicado tanto por el incremento en la cantidad de C lábil como por la incorporación de colonias microbianas activas. Fisk *et al.* (2003) encontraron que la aplicación de sustrato de C fresco tiene más influencia sobre la comunidad microbiana que sobre los niveles de MO. Varios autores informaron que la aplicación de

enmiendas orgánicas al suelo estimula las poblaciones microbianas e incrementa la actividad y diversidad funcional de estas comunidades (García-Sánchez *et al.*, 2015; Gómez *et al.*, 2006). Ha sido reportado que los suelos sin perturbar presentan una comunidad microbiana con un alto potencial funcional para utilizar fuentes de C (Gómez *et al.*, 2004). Las diferencias en la utilización de sustratos carbonados en los diferentes tratamientos muestran las diversas capacidades metabólicas de las comunidades microbianas del suelo estableciendo las preferencias que las poblaciones microbianas muestran por los diferentes sustratos carbonados en función del tratamiento que haya recibido el suelo. Según se observa en el Gráfico 18, en el ACP de los grupos de fuentes carbonadas para los tratamientos T, FQ, EP y DEP, la CP1 y la CP2 explican respectivamente el 48,9% y el 38,0% de la variabilidad total. Los grupos de sustratos que fueron más intensivamente metabolizados y explican la dirección positiva de la CP1 fueron los grupos de aminoácidos (0,96), compuestos fenólicos (0,88) y polímeros (0,70). El grupo de carbohidratos explica la dirección negativa de la CP1 (-0,90). La dirección positiva de la CP2 fue atribuida al metabolismo del grupo de ácidos carboxílicos (0,92) y en la dirección negativa fue atribuida al metabolismo del grupo de aminas (-0,68).

Gráfico 18. Análisis de componentes principales de los grupos de fuentes carbonadas para los tratamientos



Se puede observar que los tratamientos FQ y DEP no se caracterizan por metabolizar ningún sustrato en particular. Sin embargo, el tratamiento con EP se caracteriza por metabolizar los sustratos del grupo de los carbohidratos y difiere al tratamiento control (T) que se caracterizó por metabolizar los sustratos del grupo de los aminoácidos.

Cuando se analizan los grupos de fuentes carbonadas, se pueden establecer diferencias significativas en la utilización de sustratos carbonados entre los tratamientos con aplicación de enmiendas orgánicas (EP y DEP) y el testigo (T) (Cuadro 14).

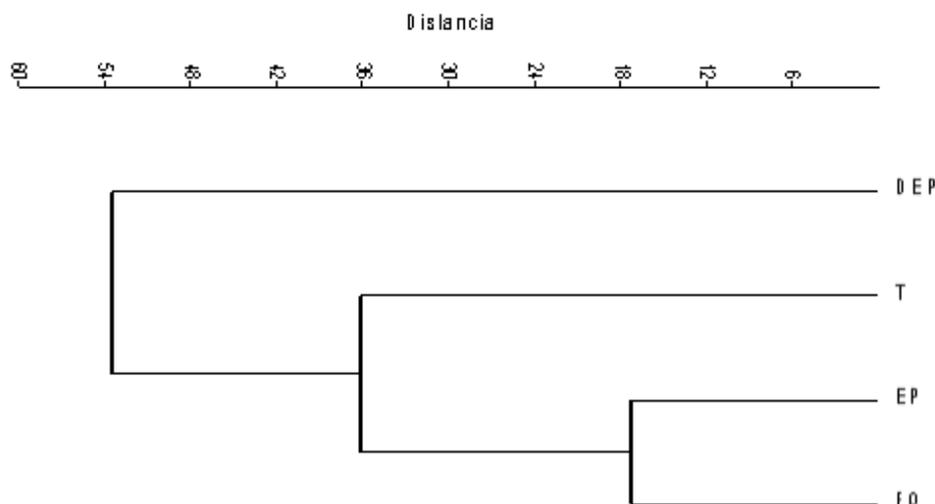
Esta diferencia se refleja en una mayor utilización de carbohidratos en el suelo tratado con EP, mientras que disminuye significativamente la utilización de aminoácidos y compuestos poliméricos. En el suelo testigo (T), una menor afinidad de los microorganismos a los carbohidratos podría sugerir que la comunidad presente tenga un metabolismo afín a moléculas más complejas. Posiblemente con la aplicación de EP se produce un aumento en la microbiota zimógena (estratega r) por la incorporación de C fácilmente degradable, en contraste con la microbiota autóctona (estratega k) del suelo control, que se caracteriza por un metabolismo más lento que es capaz de obtener energía de una materia orgánica más estable (Dilly y Munch, 1998). Es decir que el consumo de cada fuente de C difiere según el tratamiento estudiado indicando que la calidad de la enmienda genera diferencias funcionales entre los microorganismos.

Cuadro 14. Análisis de varianza para los grupos de fuentes carbonadas AWCD\_AA, AWCD\_CH y AWCD\_PO para los tratamientos Nota: Letras distintas indican diferencias significativas  $P < 0,05$ .

TRATAMIENTOS	AWCD_AA	AWCD_CH	AWCD_PO
T	1,039 a	0,640 b	1,478 a
FQ	0,539 ab	0,866 ab	0,934 b
EP	0,367 b	1,047 a	0,969 b
DEP	0,545 ab	0,677 b	0,746 b

Por último, se realizó un nuevo conjunto de correlaciones para evaluar la distribución de tratamientos de acuerdo a todos los parámetros evaluados (químicos y microbiológicos). El análisis de conglomerados (Gráfico 19) refleja que los tratamientos EP y FQ tienen un comportamiento similar, mientras que el T y el DEP se distancian del resto de los tratamientos.

Gráfico 19. Análisis de cluster (método de Ward) para los tratamientos estudiados de acuerdo a su índice de similitud



El ACP de las variables microbiológicas y químicas del suelo para los tratamientos T, FQ, EP y DEP reveló que aproximadamente un 89% de la variabilidad de los datos se explicó por las primeras dos componentes principales (52,5% y 36,5% respectivamente) (Gráfico 20). Las variables que explican la dirección positiva de la CP1 fueron el índice de diversidad (0,99), riqueza funcional (0,98), compuestos fenólicos (0,93) y la actividad de la enzima ureasa (0,96). La dirección negativa de la CP1 fue explicada por la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa (-0,72), la disponibilidad de C (-0,71), P (-0,89) y la presencia de Cu (-0,76). La dirección positiva de la CP2 fue atribuida al metabolismo del grupo de carbohidratos (0,98), ácidos carboxílicos (0,71), y la dirección negativa fue atribuida a la actividad microbiana determinada por la hidrólisis de la FDA (-0,75), la actividad fosfatasa (-0,98), al metabolismo del grupo de aminoácidos (-0,76), compuestos fenólicos (-0,93) y a la presencia del Zn (-0,80).



estuvieron menos asociadas al tipo de manejo que las variables microbiológicas, lo cual demuestra una mayor sensibilidad de estas últimas ante una alteración del sistema edáfico. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la aplicación de DEP bajo las condiciones de estudio conduce a una disminución de la actividad y diversidad funcional microbiana y de la actividad ureásica medidos a los 15 días después de la aplicación.

Los parámetros microbiológicos evaluados en este ensayo ponen de manifiesto una mayor estimulación de la comunidad microbiana relacionada con la utilización de carbohidratos en el suelo tratado con EP, posiblemente debido al aporte de MO poco estabilizada, rica en sustratos carbonados y nutrientes.

La aplicación de los materiales orgánicos estudiados (EP y DEP) estimula la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa.

Los resultados de este estudio indican que la actividad  $\beta$ -glucosidasa, ureasa y la hidrólisis de la FDA fueron indicadores sensibles de las diferentes prácticas de manejo.

### 4.3 Consideraciones

Los efectos causados por la aplicación de los materiales orgánicos evaluados en las variables microbiológicas fueron evidentes luego de un corto período de tiempo (15 días). La calidad de estos materiales orgánicos incorporados es determinante de la actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas. Son necesarios estudios a largo plazo a fin de evaluar los cambios en las propiedades microbiológicas del suelo producidos por aplicaciones sucesivas de estos materiales orgánicos.

## Capítulo 6. Indicadores físicos de calidad del suelo

La calidad del suelo representa no solo las propiedades y procesos, sino también su habilidad para funcionar efectivamente como un componente de un ecosistema saludable (Schoenholtz *et al.*, 2000). En esta definición la combinación de las propiedades físicas, químicas y bioquímicas establece la capacidad del suelo para producir cultivos y alimentos seguros y nutritivos de manera sostenida durante largos períodos, mejorando la salud humana y animal, sin dañar la base de los recursos naturales y sin afectar de manera adversa el ambiente (Doran y Parkin, 1994; Doran *et al.*, 1996; Halvorson *et al.*, 1997). Por otra parte, la salud del suelo es la capacidad de un tipo específico de suelo para sostener la productividad biológica, regular el flujo de agua, almacenar y ciclar nutrientes, y filtrar, regular y transformar materiales orgánicos e inorgánicos (Liebig, 2001; Gil-Sotres *et al.*, 2005).

Debido a la naturaleza compleja del suelo y al gran número de propiedades que pueden ser determinadas, es importante ser capaces de seleccionar aquellas que se adapten a los objetivos planteados (Nortcliff, 2002). De acuerdo con la naturaleza de la función considerada, es posible agrupar los atributos del suelo en cinco grandes grupos: físicos, químicos, biológicos, visibles, y MO del suelo como indicador clave (Nortcliff, 2002). En términos generales los índices de calidad de suelo por utilizar deben tener sensibilidad para detectar cambios, capacidad de integrar objetivos, facilidad de medir e interpretar y ser accesibles a muchos usuarios. FAO y PNUMA definen la degradación del suelo como “un proceso que rebaja la capacidad actual y potencial del suelo para producir, cuantitativa y/o cualitativamente, bienes o servicios”, y es “resultado de diversos factores, tales como variaciones climáticas y actividades humanas” (FAO, 1976).

La pérdida de calidad del suelo, ya sea la pérdida de su fertilidad, la disminución de la resistencia a la degradación, etc., puede ser frenada a través de la intervención antrópica, mediante el uso de buenas prácticas agrícolas, aplicación de enmiendas orgánicas, etc. Las enmiendas orgánicas consisten en productos aportados al suelo, con la finalidad de mejorar sus propiedades o corregir algún déficit en sus parámetros, debido al poder

fertilizante que poseen, ya que contienen un alto grado de MO y nutrientes en su composición. En este sentido, la aplicación de enmiendas orgánicas sobre los suelos degradados puede ser uno de los caminos para seguir, para favorecer la regeneración y mantenimiento de estos suelos, debido a las mejoras que se registran (Gracia Fernández, 2012).

Numerosos trabajos de investigación reportan mejoras producidas en las propiedades edáficas tras la aplicación de enmiendas orgánicas, como pueden ser: incremento de la infiltración, mejora de la estructura del suelo y la formación de agregados, incremento en los nutrientes y MO, entre muchas otras (Shiralipour *et al.*, 1992; Stocking y Albadalejo, 1994; Moldes *et al.*, 2007).

Sin embargo, a pesar de que hay muchas ventajas con el uso de productos orgánicos, hay riesgos potenciales relacionados con su aplicación al suelo. Algunos de los problemas que se mencionan están relacionados con fitotoxicidad, lixiviado de nitrógeno, contaminación física o química y dispersión de patógenos entre otros (DEC, 2006).

Entre los beneficios que se enumeran como posibles al aplicar compuestos orgánicos se cuentan reducción en el uso de agua, mejora en las propiedades del suelo y de crecimiento de las plantas, secuestro de C, reducción del impacto ambiental debido a menor erosión, encharcamiento, pérdida de nutrientes, encostramiento superficial, etc. (Shiralipour, *et al.* 1992; Hicklenton, *et al.* 2001; DEC, 2006).

La mejora en la eficiencia del uso del agua por las aplicaciones orgánicas varía dependiendo del tipo de suelo, de las condiciones climáticas, del tipo de producto, de la dosis aplicada y los parámetros de los cultivos. Además, este tipo de aplicaciones al suelo mejora la capacidad de almacenamiento de agua y, consecuentemente, reduce la lixiviación y los requerimientos de agua para riego. Esto último también colabora con un menor estrés hídrico de los cultivos (DEC, 2006).

El espacio poroso es la fracción de volumen de suelo ocupada por el aire y el agua que, en términos generales, representa la mitad del volumen total del suelo, aunque varía con el tipo e historia de su manejo. Sin embargo, el volumen total de espacio poroso es menos importante que la proporción de espacio poroso capilar y no capilar (Kramer, 1983). El espacio poroso no capilar se refiere a la fracción en la que el agua se mueve por gravedad (macro- y mesoporos), proveyendo el espacio aéreo, primordial para la respiración de las raíces. El espacio poroso capilar se refiere a la fracción de poros de 30 a 60 micrones de

diámetro, que retiene el agua contra la fuerza de gravedad (microporos). Sin embargo, tanto los mesoporos como los microporos son los principales responsables de retener el agua en el suelo. En un suelo bien estructurado para el crecimiento de las raíces y la retención de agua, el espacio poroso se distribuye en partes iguales entre los poros capilares y no capilares.

Por otro lado, la capacidad de campo (CC), también conocida como límite máximo, es el contenido de agua presente en un suelo luego de drenar libremente durante 1 a 3 días posteriores a una lluvia o riego intenso. Se estima que corresponde al agua retenida a un potencial mátrico que puede variar entre 0,1 bar para suelos arenosos hasta 0,5 bares para suelos arcillosos. Se puede tomar como valor medio 0,3 bar.

En tanto, el punto de marchitez permanente (PMP), también es conocido como límite mínimo, es el contenido de agua de un suelo que está retenido tan firmemente que las plantas no pueden extraer el agua, lo que les causa una marchitez irreversible. En este estado se admite, en general, que el agua está retenida con potenciales matriciales mayores a 15 bares (1500 kPa). El valor exacto varía con el tipo de planta y con las condiciones bajo las cuales se desarrolló el secado.

La densidad aparente (Dap) de un horizonte o capa de suelo es la relación que existe entre la masa de suelo seco a 105 °C y el volumen que ocupa. Para su evaluación se debe tomar una muestra de suelo que mantenga su ordenamiento natural, ya que esta considera el volumen ocupado por la parte sólida del suelo y también el espacio poroso, expresando los resultados en Ton m<sup>-3</sup>. La Dap del suelo varía, entre otros factores, con la textura, la estructura, el contenido de MO y las labranzas.

La aplicación continua de fuertes presiones (por paso de maquinaria agrícola, pisoteo de animales, etc.) provocan la degradación de la estructura del suelo y, por consiguiente, su compactación con consecuencias negativas en la producción. Por ello, entre los estudios realizados para evaluar la estructura del suelo se incluye la resistencia mecánica a la penetración (RMP) como un indicador que permite caracterizar los efectos físicos adversos que presenta el suelo al crecimiento de las raíces. Este estudio se realiza directamente en el campo. La RMP está definida como la fuerza necesaria aplicada por unidad de superficie para introducir una punta cónica hasta una cierta profundidad del suelo. Esta depende de la textura, la densidad, la MO y el contenido hídrico del suelo y puede ser evaluada a través

de penetrometría, para lo cual pueden utilizarse diferentes tipos de penetrómetros o penetrógrafos.

Otro de los aspectos que se contemplan en la evaluación de la calidad física del suelo es la entrada de agua en la matriz del suelo a través de la interfase suelo-atmósfera a la superficie, que se denomina *infiltración* (Lal y Shukla, 2004). La infiltración del agua en la zona vadosa o no saturada del suelo es una propiedad física muy importante para muchas disciplinas de la ciencia del suelo, tales como las agronómicas, de ingeniería civil y ciencias ambientales (Verbist *et al.*, 2010). Interviene en la mayoría de los modelos de transporte de agua-solutos y de crecimiento de cultivos, por eso es importante en la evaluación del suelo. El método para medir infiltración por anillo simple probablemente es el más versátil de todos los disponibles (Johnson, 1963). Estos equipos son de construcción sencilla y se componen de dos partes: anillo infiltrómetro (cilindro metálico de 21 cm de diámetro y 12 cm de alto y 4,1 mm de espesor), y botella o Mariotte graduada en mm de lámina de agua (Eiza y Carfagno 2018).

La conductividad hidráulica saturada ( $K_s$ ) es una propiedad clave en la descripción de los procesos de infiltración y redistribución de agua en el suelo. Esta puede ser determinada en el laboratorio y en el campo. En el laboratorio la determinación de la conductividad hidráulica se realiza en muestras cilíndricas no disturbadas, mediante el uso de un permeámetro de carga constante o con un permeámetro de carga variable.

Los objetivos de este estudio fueron estudiar en el corto plazo el impacto de la aplicación de un EP y DEP sobre:

- La porosidad del suelo.
- La  $K_s$  del suelo.
- La infiltración del suelo.
- La resistencia mecánica a la penetración.
- La eficiencia del uso del agua.

## 6.1 Parámetros evaluados

Los parámetros físicos que se describen a continuación se evaluaron en el ensayo descrito en la sección “Ensayo a campo”, dentro del predio de la Estación Experimental Agropecuaria Área Metropolitana de Buenos Aires (EEA AMBA INTA) y las determinaciones

de laboratorio se realizaron en los laboratorios de degradación física de suelos del Instituto de Suelos de INTA Castelar.

Para evaluar los parámetros físicos que se describen a continuación se tomaron muestras de suelo o se realizaron ensayos físicos tres meses después de la aplicación de los tratamientos.

## 6.1.1 Constantes hídricas

### 6.1.1.1 Toma de muestras

Las muestras de suelo se extrajeron en cilindros manteniendo inalterada su estructura y su porosidad (Imagen 18). Las constantes hídricas se determinaron en un equipo de ollas a presión instalado en el laboratorio de Degradación de Suelos (Imagen 19). Para las determinaciones de CC se utilizaron platos o placas de cerámica porosa de 0,5 bar y un compresor de 20 bares en extractor u olla de bajas presiones. Los cilindros de 4,7 cm x 3,0 cm se enrasaron, quitando el material sobrante del borde inferior, obteniendo una superficie de apoyo homogénea con el plato poroso.

Imagen 18. Secuencia de toma de muestras de para el estudio de la porosidad



### 6.1.1.2 Procedimiento

Se saturó la placa de cerámica durante 24 horas en un recipiente con agua destilada para lograr que todo el espacio poroso estuviera lleno de agua. Luego, sobre la base de cada muestra, se colocó un papel de filtro y se dejó saturar las muestras durante otras 24 horas hasta observar que en la parte superior hubiera una lámina de agua. A continuación, se colocó en el interior de la olla la placa porosa saturada, y sobre ella, las muestras, asegurando que estuvieran en contacto directo.

A fin de conocer la distribución de tamaños de poros, se cerró la olla y se le aplicó presiones correspondientes a 0,01; 0,03; 0,07; 0,1 y 0,33 bares. Una vez aplicada esta presión, se observó que por la salida conectada al plato comenzó a drenar el excedente de agua.

Ya finalizada la salida de agua, se retiraron las muestras y se procedió a su pesaje. Tras haber sido pesadas, las muestras fueron colocadas nuevamente en la olla y sometidas a la presión correspondiente al siguiente punto, así hasta llegar a 0,33 o capacidad de campo. Luego de este punto, las muestras fueron sometidas a un proceso de secado en estufa (105 °C) hasta alcanzar un peso constante. Por último, fueron nuevamente pesadas.

$$\% \text{ humedad gravimétrica} = \frac{(\text{peso húmedo} - \text{tara}) - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \quad [1]$$

Para conocer el diámetro de poros equivalente para cada presión (KPa) a la que es sometida la muestra, se utilizó la ecuación en la que el diámetro de los poros (D) se relaciona de forma inversa con la presión que se ejerce para extraer el agua contenida en ellos (KPa).

$$D (\mu\text{m}) = \frac{300}{\text{KPa}} \quad [2]$$

Para la determinación del PMP, las muestras correspondientes a cada cilindro se secaron y tamizaron por tamiz de 2 mm de apertura. Luego se colocó el material en anillos ubicados sobre platos porosos de 15 bares y se saturaron por 24 horas. Se introdujeron en la olla de presión (Imagen 18) y se aplicó una presión de 15 bares hasta que se detuvo el drenaje del extractor (aproximadamente 48 horas). Las muestras de los aros se colocaron en un recipiente y se pesaron con balanza de precisión. Las muestras luego se secaron en estufa (105 °C) hasta alcanzar un peso constante y luego de pesadas, se realizaron los cálculos correspondientes aplicando la ecuación 1.

Imagen 19. Equipo extractor de presión u olla de presión de Richards



## 6.1.2 Densidad aparente

El suelo debe tener una cierta humedad que permita extraer la muestra sin que se fracture (i.e. capacidad de campo). Si el suelo no tiene la humedad deseada, se debe humedecer el sector donde se va a tomar la muestra (Blake & Hartge, 1986).

Para tomar la muestra, se clavaron los cilindros a la profundidad deseada sin generar compactación en la muestra. Para esto se golpeó en forma homogénea (vertical) sobre una madera dura de mayor diámetro que el cilindro. Luego se enrasaron las muestras en ambos extremos, es importante que el volumen del cilindro esté completamente lleno de suelo, sin tener grietas o faltante de material. Se extrajo todo el material en una bolsa y se rotuló. Para detectar cambios superficiales, las muestras fueron tomadas a 0-10 cm.

### 6.1.2.1 Penetrometría

Para obtener los datos de penetrometría se utilizó un penetrómetro de golpes (Imagen 20). Se ubicó el penetrómetro en forma vertical en un sitio representativo de la situación por evaluar. Luego, se levantó la pesa móvil con delicadeza hasta el tope superior, dejándola caer sin imprimirle aceleración. La operación se repitió hasta alcanzar la profundidad de 5 cm contabilizando la cantidad de golpes necesarios para alcanzar cada profundidad. Se registró la cantidad de golpes cada 5 cm de profundidad y se transformó esta cantidad de golpes en energía.

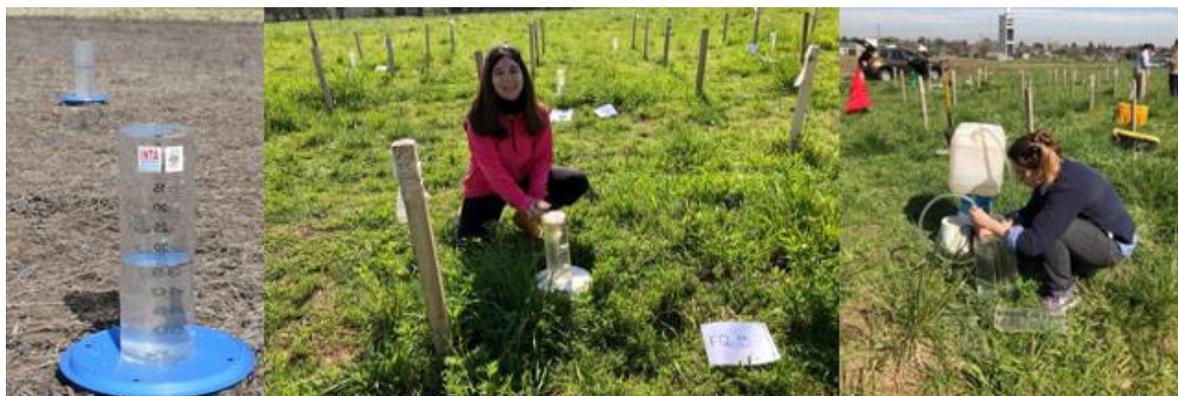
Imagen 20. Penetrómetro de golpes en las parcelas del ensayo



### 6.1.2.2 Infiltración con anillo simple

Se clavaron en el suelo cada uno de los anillos infiltrómetros. Utilizando la placa de acero, se apoyó sobre el anillo y se golpeó con un martillo hasta la marca indicada en el cilindro, que quedó enterrado 5 cm. Esa marca es una línea ancha y se debe clavar hasta su parte inferior, permitiendo que dentro del infiltrómetro se genere una carga de agua homogénea. Una vez clavados todos los infiltrómetros, se dispusieron las botellas graduadas junto a cada uno de ellos, se colocaron los discos de soporte plásticos y, con la asistencia de un cronómetro y en un orden que se respetó durante todo el ensayo, se invirtieron sobre cada soporte las botellas (Imagen 21). Transcurridos 5 minutos, se realizó la primera lectura, registrando toda la información en planilla. Las lecturas se repitieron cada 5 minutos. Para dar por finalizado un ensayo de infiltración es de vital importancia alcanzar la infiltración básica, final o estabilizada, registrando 3 mediciones consecutivas similares (i.e. la tasa de entrada de agua en el suelo fue constante). Como norma general, este tiempo se fijó en 1 hora. El valor de infiltración final o básica se obtuvo ajustando los datos al modelo de Horton (1939).

Imagen 21. Ensayo de infiltración en las parcelas del ensayo



### 6.1.3 Conductividad hidráulica saturada

Se llevó a cabo el método de carga variable debido a que, de acuerdo a Klute y Dirksen (1986), el método de carga constante es más exacto en el rango de conductividad hidráulica entre  $10^{-3}$  a  $10^{-7}$   $\text{cm s}^{-1}$ , mientras que el permeámetro de carga constante es mejor para suelos con conductividad hidráulica en el rango desde mayor de  $1 \text{ cm s}^{-1}$  a  $10^{-5}$   $\text{cm s}^{-1}$ . En este sentido, los suelos estudiados corresponden al segundo grupo de conductividad, lo que motivó a utilizar esta metodología.

Se usaron los cilindros de suelo tomados en campo, a los cuales previamente en el laboratorio se les colocó en el extremo inferior una cubierta de tela atada con una banda de goma y en el extremo superior una extensión de metal, fijándola herméticamente con un trozo de goma. Los cilindros de suelo previamente preparados se humedecen desde la parte inferior hasta alcanzar la saturación. Los cilindros así preparados se saturaron por capilaridad en una bandeja y posteriormente se colocaron en el permeámetro sobre los que se mantuvo una carga de agua variable de un metro de altura. Al cambiar el nivel de la carga de agua, se observó cómo percoló el agua a través de la muestra. Se tomaron dos lecturas sucesivas en un mismo descenso del nivel del agua en la bureta para iguales intervalos de tiempo. Cada pequeño descenso en la altura de la columna de agua por unidad de tiempo representó un flujo de la misma cantidad de agua por unidad de área por unidad de tiempo a través de la columna.

### 6.1.4 Eficiencia de uso del agua

Las eficiencias de uso del agua (EUA) se obtuvieron aplicando la ecuación [3] (Soriano, 1983). La MS se determinó realizando cortes del material vegetal de 0,25 m<sup>2</sup> en cada unidad experimental. Dichos cortes se secaron en estufa a 60 °C, hasta peso constante, hallando los kg ha<sup>-1</sup> de MS del CC producidos. Cabe aclarar que al inicio del experimento todas las parcelas se homogeneizaron mediante corte de la pastura a similar altura.

$$EUA = MS / ET \quad [3]$$

Donde: EUA: eficiencia en el uso del agua (kg ha<sup>-1</sup>mm<sup>-1</sup>); MS: materia seca (kg ha<sup>-1</sup>); ET: evapotranspiración (mm).

El agua consumida por evapotranspiración (ET) se calculó a partir de la diferencia en el almacenaje de agua (LADi-LADf): en el perfil de suelo y de las precipitaciones (PP), siguiendo la ecuación [4]. Este método asume escurrimiento cero, como así también ausencia de percolación profunda (López y Arrúe, 1997).

$$ET = (LADi - LADf) + PP \quad [4]$$

Donde: LADi, LADf: lámina de agua disponible al inicio y al final del período, respectivamente; PP: precipitaciones.

Las PP y las temperaturas medias del aire se obtuvieron de la estación meteorológica automática del CNIA INTA Castelar.

### 6.1.5 Análisis de los datos

Los resultados de las variables fueron analizados a través de análisis de varianza (ANOVA) de una vía mediante la herramienta *online* VassarStats: Website for Statistical Computation. Cuando el resultado fue significativo, las medias se compararon mediante Prueba HSD Tukey. En ambos casos el nivel de significancia fue de  $\alpha = 0,05$ .

## 6.2 Resultados

El análisis estadístico de las variables evaluadas en los diferentes tratamientos aplicados no arrojó diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ) (Cuadro 15).

La naturaleza de las propiedades físicas requiere más tiempo para evidenciar cambios significativos a diferencia de otras propiedades como la química o la biológica. Sin embargo, se observaron en todos los tratamientos, tendencias de mejora a favor de las enmiendas orgánicas.

Cuadro 15. Valores F y p de los análisis de varianza (ANOVA) para cada variable evaluada Nota:  $p > 0,05$ : no significativo.

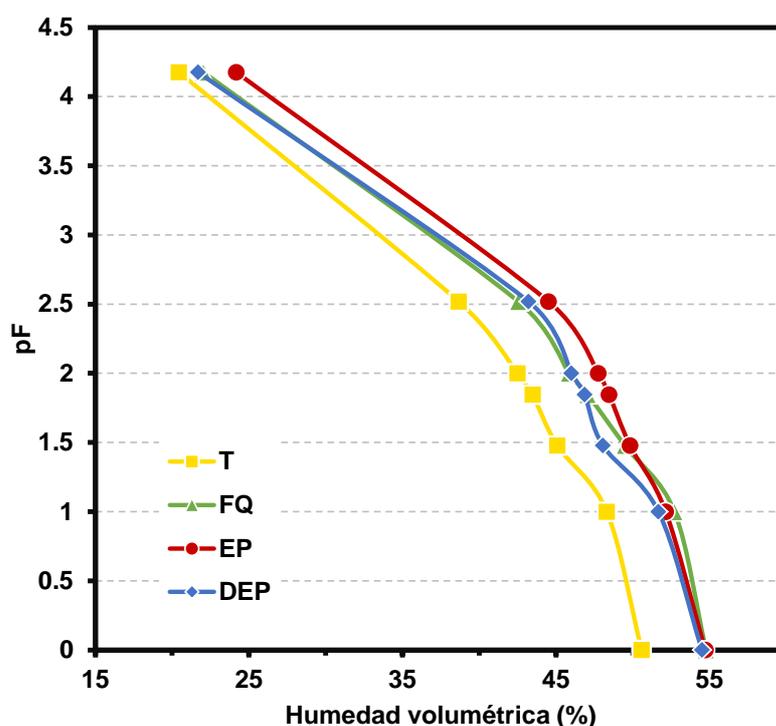
<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<i>Curva de retención (presión)</i>		
0	0,373	0,7744
0,01	0,414	0,7474
0,03	0,915	0,4756
0,07	1,085	0,409
0,1	1,272	0,3476
0,33	2,030	0,1878
15	1,939	0,2019
<i>Penetrometría (cm de prof.)</i>		
0-5	0,249	0,8599
5-10	1,486	0,2902
10-15	2,056	0,1842
15-20	0,955	0,4591
20-25	0,400	0,7569
25-30	0,293	0,8872
30-35	0,432	0,7359
35-40	0,533	0,6721
40-45	0,545	0,6648
45-50	0,750	0,5523
<i>Porosidad</i>		
Macroporos	0,210	0,8861
Mesoporos	0,681	0,588
Microporos	2,033	0,1878
<i>Densidad aparente</i>	1,327	0,3317
<i>Conductividad hidráulica</i>	1,109	0,3904
<i>Humedad gravimétrica</i>		
0-5	1,233	0,3595
5-10	1,030	0,4276
10-20	0,056	0,9657
20-30	2,187	0,1674
30-50	0,907	0,4793
<i>Infiltración básica</i>	0,740	0,557

En tanto que en el Gráfico 21, se presentan las curvas de retención de humedad en función de las presiones evaluadas expresadas como  $pF$  para cada tratamiento.

Los tratamientos EP, DEP y FQ tendieron a tener mayor retención a todas las presiones ensayadas en la curva, siendo, por ejemplo, los valores de  $pF$  para CC y PMP de 2,52 y

4,18, respectivamente. Por lo expuesto, los resultados obtenidos dan indicios de que en apenas tres meses luego de aplicados los tratamientos se generaron cambios en la capacidad de almacenaje de agua útil del suelo. Este aspecto es importante porque si bien el suelo por sus características texturales posee una adecuada capacidad de almacenaje de agua, esta se ve incrementada con la aplicación de EP, DEP y FQ, lo cual para los momentos con menores precipitaciones le permite al cultivo tener agua durante más tiempo. Entre los principales efectos favorables de las aplicaciones orgánicas al suelo que se analizaron, se encuentran la mejora de la estructura del suelo a través del incremento en la estabilidad de sus agregados, de la porosidad, la capacidad de almacenamiento de agua y la conductividad hidráulica (Stratton *et al.*, 1995).

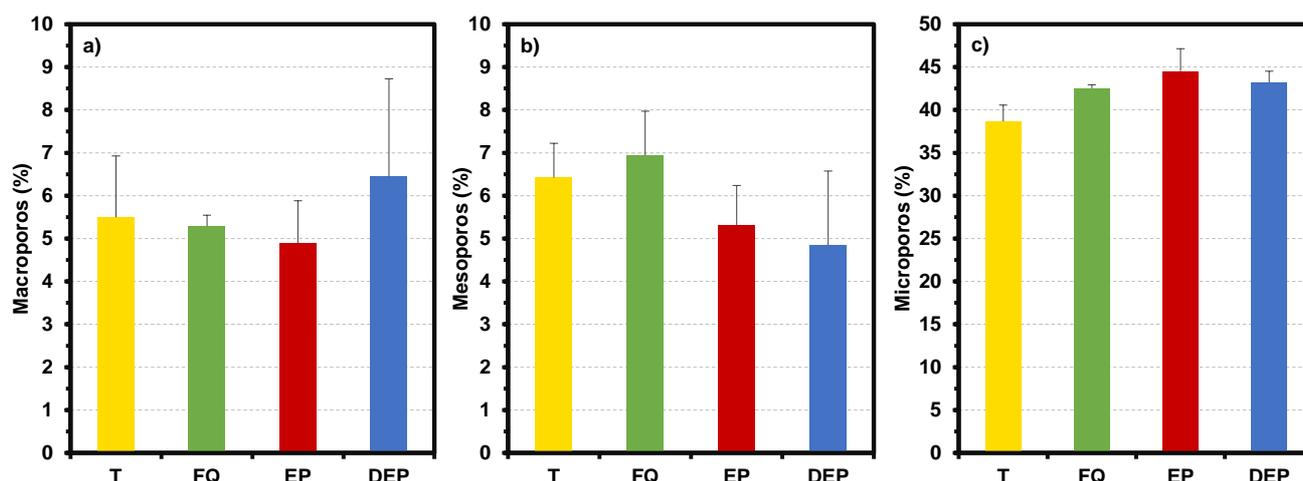
Gráfico 21. Curvas de retención de humedad en función de las presiones evaluadas expresadas como pF (log presión en KPa), para cada tratamiento



La porosidad es una propiedad del suelo que tiene acción directa sobre el movimiento del agua, interviniendo en su infiltración, almacenaje, drenaje y escurrimiento. Las distintas categorías de tamaños de poros influyen de manera diferente en estos procesos físico-hídricos (Castiglioni *et al.*, 2010).

Los valores medios de porosidad (%), determinados con olla de presión de Richards para cada tratamiento en los rangos de macroporos (i.e.  $>100 \mu\text{m}$ ), mesoporos (i.e.  $9,1-100 \mu\text{m}$ ) y microporos (i.e.  $<9,1 \mu\text{m}$ ), se muestra en el Gráfico 22. El análisis por rango de tamaños de poros permite interpretar las diferencias generadas por cada tratamiento y su efecto sobre la funcionalidad de cada tipo de poro. Debido a la naturaleza de cambio en esta variable, se observó una mayor variabilidad en macro y mesoporos. La menor variabilidad correspondió a los microporos. En el rango de los macroporos esta variabilidad se atribuiría a los ciclos de formación y de degradación de la materia orgánica, especialmente en poros mayores a 1 mm de diámetro y al humedecimiento y secado en poros de 0,33-0,5 mm (Jiang *et al.*, 2018).

Gráfico 22. Porosidad para cada tratamiento en cada rango de tamaño de poros Nota: Las líneas verticales muestran el error estándar de la media.



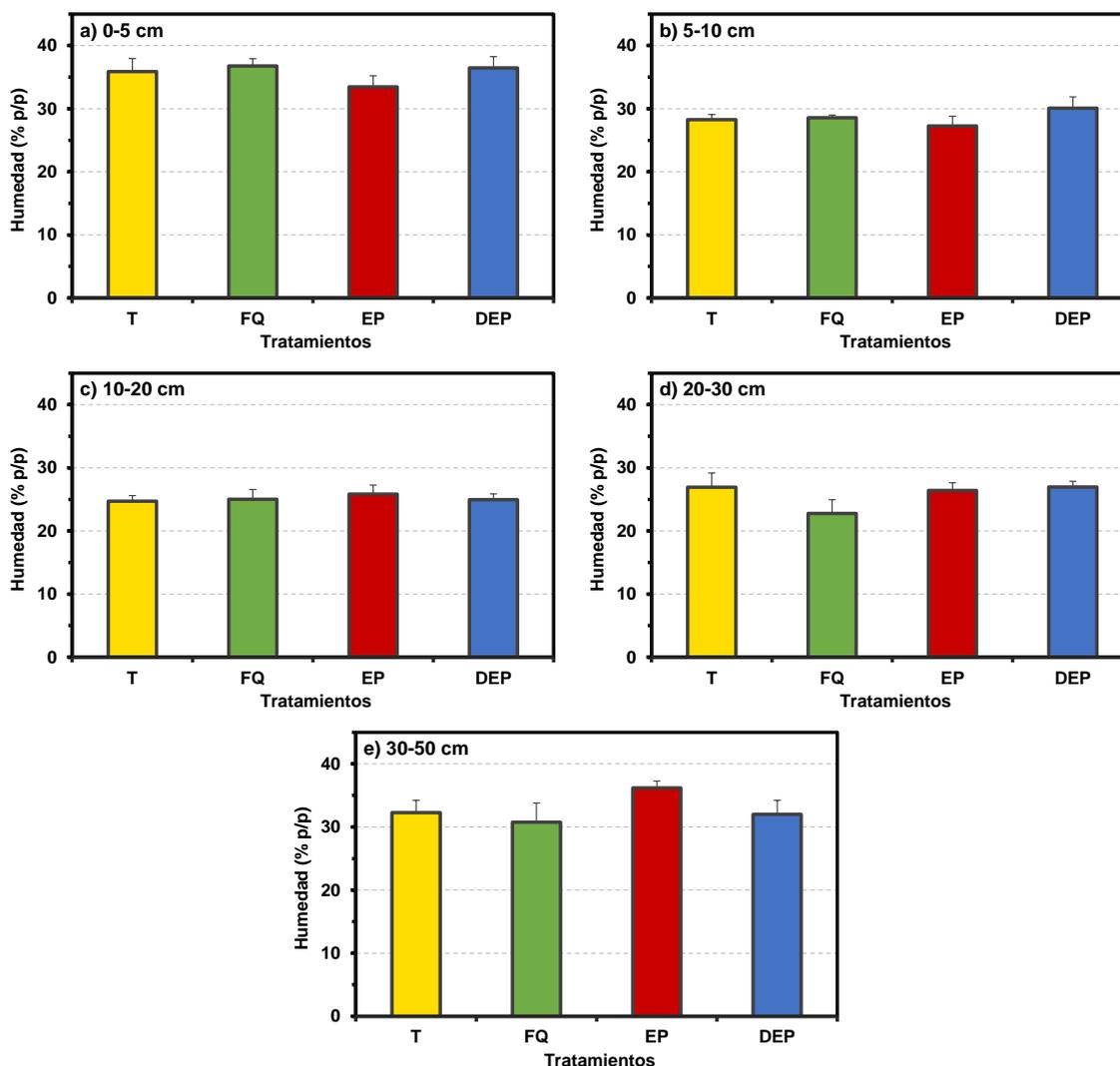
Tal como se explicó anteriormente, si bien no se detectaron diferencias significativas, a continuación, se describen las tendencias más importantes observadas. El suelo que recibió el tratamiento DEP presentó el mayor porcentaje de macroporos, mientras que el resto de los tratamientos tuvieron una macroporosidad similar. En el caso de los mesoporos, el suelo que recibió FQ presentó los mayores porcentajes seguido por el T. Luego con los menores porcentajes estuvieron los tratamientos de EP y DEP. En cuanto al porcentaje de los microporos, se observaron diferencias entre tratamientos, aunque no lo suficiente para resultar significativas ( $p>0,05$ ). En referencia a valores promedio absolutos, el EP fue el

tratamiento que provocó mayor porcentaje de microporos, mientras que el T presentó los valores más bajos.

Estos resultados coinciden con un estudio que analiza antecedentes acerca de los efectos de aplicación de lodos orgánicos urbanos, provenientes de aguas servidas, con un alto contenido orgánico, realizado por Cuevas *et al.* (2006) en Chile. En dicho trabajo, los autores expresan que la aplicación de lodos orgánicos genera, en el corto plazo, un aumento de la macroporosidad. Tanto la capacidad de retención de agua como la infiltración dependen de la porosidad del suelo, al ser los microporos los que determinan la retención y los macroporos la infiltración. La mejora de la capacidad de retención de agua estaría determinada por la mejora de la estructura del suelo como consecuencia de la adición de MO, ya que interviene de forma directa sobre la fracción arcillo-húmica del suelo (Mylavarapu y Zinati, 2009). Asimismo, los cambios en la porosidad se asocian al tratamiento con mayor producción de materia seca (DEP), coincidiendo por lo expresado por Carfagno *et al.* (2014).

Los contenidos de humedad para las profundidades estudiadas y para cada tratamiento tendieron a ser similares luego de tres meses de aplicados los tratamientos (Gráfico 23).

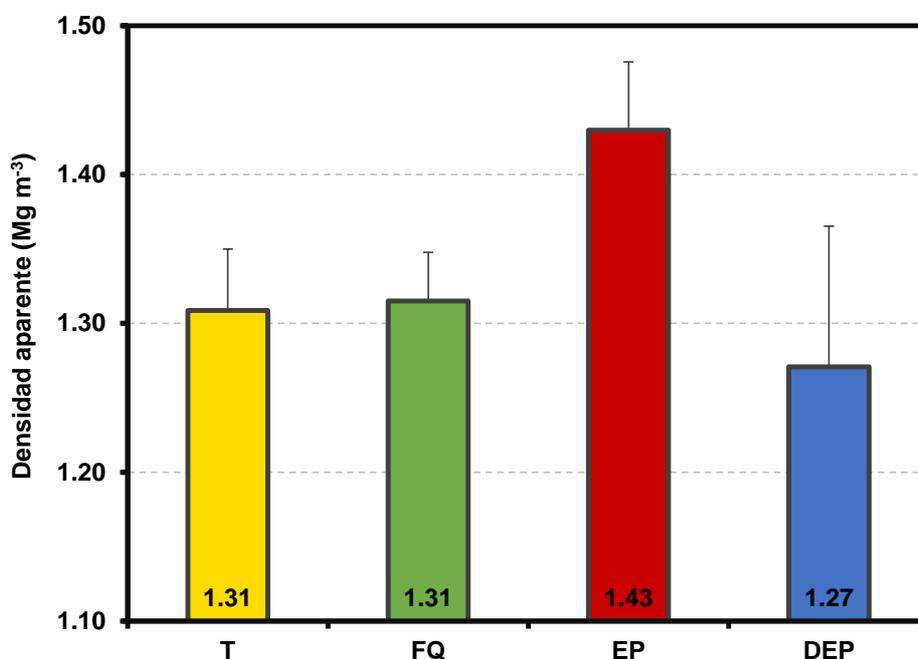
Gráfico 23. Humedad para cada tratamiento y profundidad de suelo. Nota: Las líneas verticales muestran el error estándar de la media.



En relación con la variable Dap, si bien no se registraron diferencias significativas entre tratamientos, el que se hizo con aplicación de DEP presentó un comportamiento levemente menor (Gráfico 24). En este sentido, algunos autores como Trelo-Ges y Chuasavathi (2002) informaron que la Dap sufre disminuciones significativas con dosis mayores a los 30 Tn ha<sup>-1</sup>. Con lo cual, se podría atribuir haber encontrado disminución en la Dap del DEP a la dosis aplicada en este estudio (mayor a las 30 Tn ha<sup>-1</sup>). Asimismo, estudios de Cuevas *et al.* (2006) mencionan que menores valores de Dap se asocian a mayores valores de macroposidad ya que generan espacios dentro de la matriz del suelo por efecto del material orgánico adicionado. Estos resultados coinciden con los encontrados en este trabajo donde

el tratamiento con aplicación de DEP mostró menores valores de Dap y mayor porcentaje de macroporos.

Gráfico 24. Dap a 10 cm de profundidad para cada tratamiento

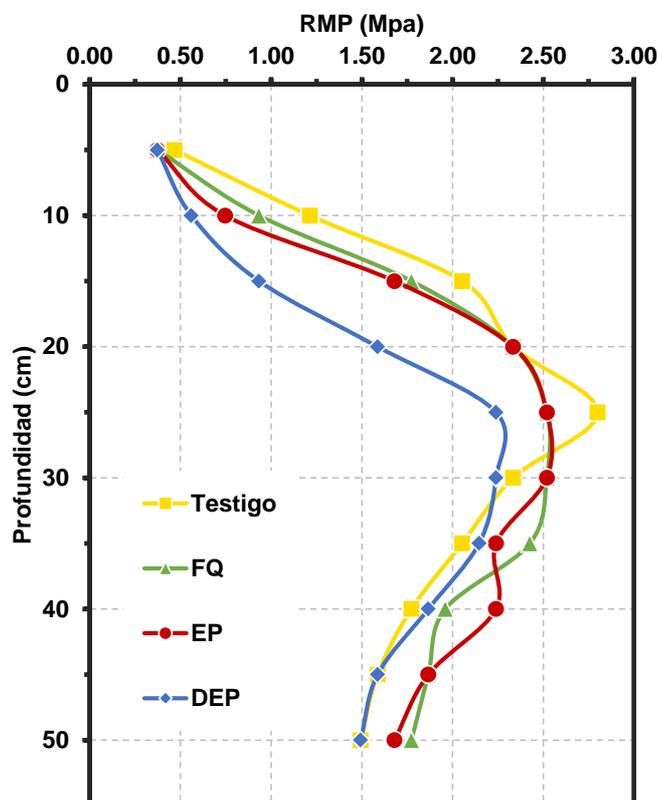


Nota: Los números en cada una de las barras indican los valores medios de Dap. Las líneas verticales muestran el error estándar de la media.

En los Gráficos 25 y 26 se muestran los perfiles de RMP. En el primero se observan las curvas de manera comparativa y en el segundo, los errores estándares de la media para cada profundidad mediante líneas horizontales. Para ninguna de las profundidades se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). T presentó un máximo a los 25 cm, mientras que en el resto de los tratamientos se observó una tendencia a reducir la RMP hasta esta profundidad. Por debajo de 30 cm de profundidad, los tratamientos de aplicación tendieron a superar al promedio de T. Esta respuesta se debe a que “la resistencia mecánica natural del suelo está dada por la aparición de puntos de contacto entre las partículas, la presencia de materia orgánica recubriendo a las partículas de suelo, formando films alrededor de estos, aumenta estos puntos de contacto y a través de uniones órgano minerales permite la estabilización de estas partículas en agregados de suelo. Además, la presencia de sistemas radicales extendidos forma canastillos alrededor de

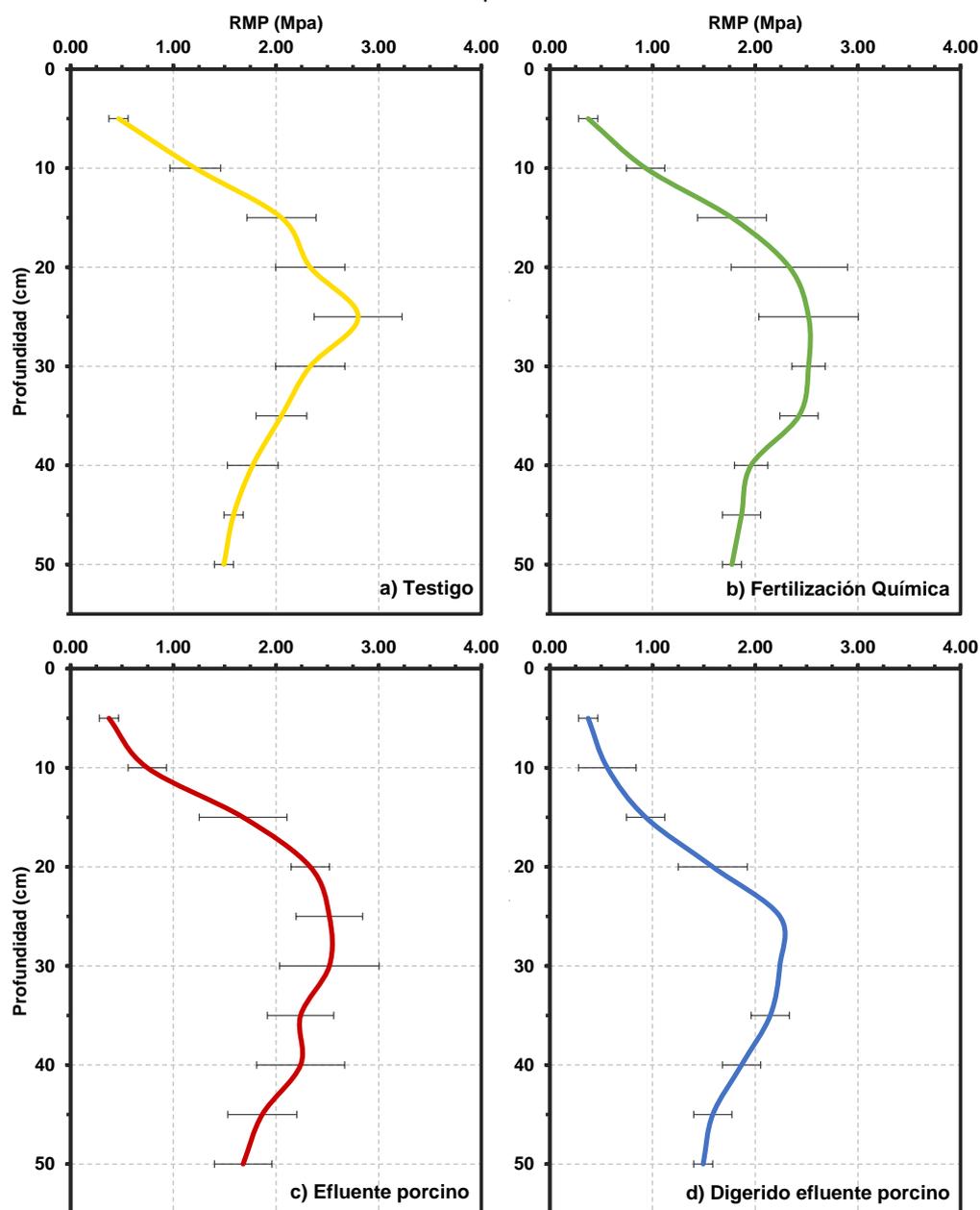
agrupaciones de partículas y a través de la exudación de compuestos orgánicos promueve también la agregación” (Cuevas *et al.*, 2006, p. 8).

Gráfico 25. Resistencia mecánica a la penetración para cada tratamiento y profundidad de suelo



El perfil de humedad descrito en el Gráfico 23 es homogéneo, sin registrarse diferencias estadísticas significativas, ni comportamientos que muestren tendencias. Esto es importante para la interpretación de las curvas de resistencia a la penetración que se muestran en el Gráfico 25 ya que la dureza del suelo es afectada por el contenido de humedad, con lo cual suelos con menores contenidos de humedad e igual textura presentan diferencias en la resistencia a la penetración. Entonces, en el perfil descrito, la diferencia entre las curvas de resistencia (Gráfico 25) no tiene relación con la humedad, ya que se realizaron todo el mismo día que se hizo el muestreo de humedad y fue homogénea para todos los tratamientos (Gráfico 23).

Gráfico 26. Resistencia mecánica a la penetración discriminada para cada tratamiento y profundidad de suelo. Nota: Las barras horizontales representan el error estándar de la media.



Asimismo, estos suelos son de textura franco-limosa, típicos de la Pampa ondulada argentina (Varela *et al.*, 2011). Presentan elevada susceptibilidad a la degradación física, ya que su textura limosa les confiere escasa porosidad después de sufrir densificación o compactación causada por el tránsito pesado en los sistemas bajo siembra directa (Spoor, 2006). Esta pérdida de porosidad conduce a dos consecuencias claves: la disminución de la capacidad de almacenamiento hídrico y el incremento de las tasas de escurrimiento (Cosentino y Pecorari, 2002; Taboada *et al.*, 2008). La compactación del suelo altera su

estructura, aumenta su Dap y disminuye su porosidad. Además de los cambios ya mencionados, esta alteración reduce la permeabilidad del agua y la difusión del aire, lo que modifica el desarrollo normal de las raíces.

Inicialmente, la infiltración depende de la succión, que, a su vez, es función del contenido de humedad del suelo, mientras que el potencial de humedece es llamado *infiltración básica*. Las tasas de infiltración básica para tratamiento se muestran en el Gráfico 27. Al igual que para el resto de las variables analizadas, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, los valores medios de EP y DEP tendieron a ser mayores que los correspondientes a T y FQ (Gráfico 27). Asimismo, en el Gráfico 28 se muestran las curvas de infiltración estimadas para cada tratamiento, el análisis de estas se llevó a cabo aplicando la metodología descrita en Eiza *et al.* (2014). En dicho gráfico se observa la elevada variabilidad a través de las observaciones individuales en cada tratamiento, comportamiento que resulta propio para esta variable (Eiza y Carfagno, 2018). Si bien el tiempo de duración de cada ensayo fue de una hora, según lo recomendado para suelos de textura fina en Eiza y Carfagno (2018), el momento en el que se alcanzó la infiltración básica ocurrió antes en EP y DEP.

Gráfico 27. Infiltración básica promedio para cada tratamiento. Nota: Las líneas verticales muestran el error estándar de la media.

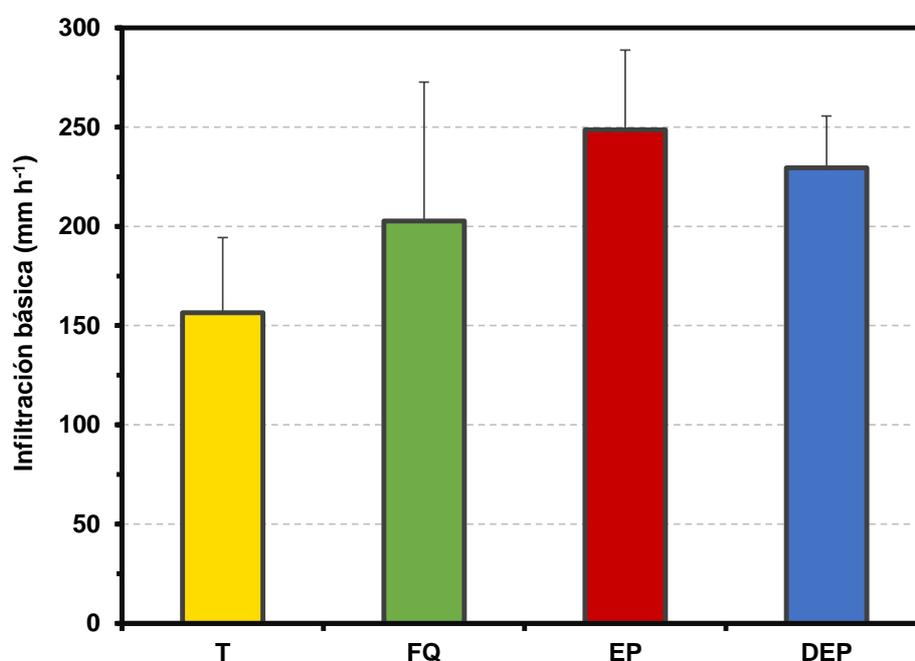
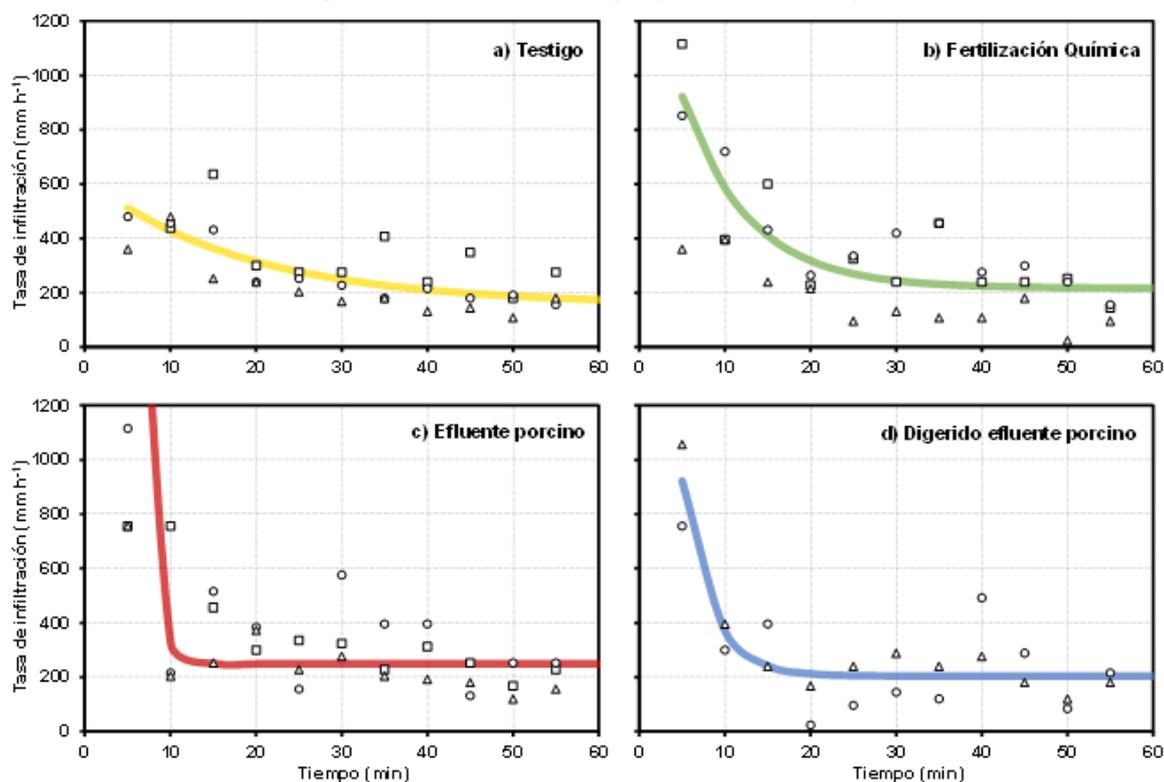
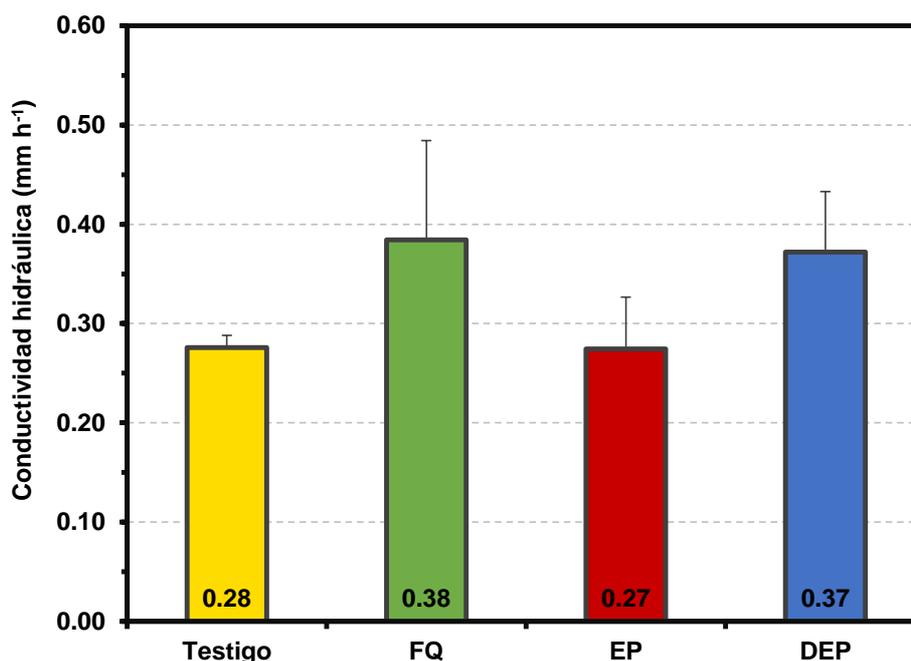


Gráfico 28. Curvas de infiltración ajustada a través del modelo Horton (línea continua) para cada tratamiento y observaciones de campo (símbolos vacíos)



En el Gráfico 29 se presenta la  $K_s$  para cada tratamiento. Aunque no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), el tratamiento DEP junto al FQ presentaron numéricamente mayor  $K_s$  que T y EP. En cuanto a esta variable, generalmente aumenta con mayores dosis de aplicación (Trelo-Ges y Chuasavathy, 2002). De tal modo que aplicaciones en cantidades excesivas, que superen las  $80 \text{ Tn ha}^{-1}$  de materiales orgánicos, o aplicaciones en suelos con un alto contenido de MO, pueden provocar hidrofobia y aparición de sellado superficial y flujos preferenciales, junto a una menor tasa de infiltración y una mayor escorrentía superficial. En el estudio realizado los valores numéricos de  $K_s$  están dentro del rango de valores para este tipo de suelos. El rango se asocia a suelos con conductividad hidráulica moderadamente baja y los valores de  $K_s$  se asocian a la textura del tipo de suelo del ensayo, franco arcilloso. Estos resultados coinciden además con la descripción de la carta de suelos perteneciente al ensayo, Serie Las Cabañas.

Gráfico 29. Conductividad hidráulica saturada para cada tratamiento. Los valores dentro de las barras corresponden a los valores medios. Nota: Las líneas verticales muestran el error estándar de la media.



En el Gráfico 30 se muestran las precipitaciones y la temperatura media durante el desarrollo del experimento. En el período de 117 días se registraron 272 mm. El consumo de agua por la pastura fue similar entre tratamientos, siendo en promedio de 289 mm, mientras que las producciones de MS para los tratamientos T, FQ, EP y DEP fueron de 584, 1208, 1004 y 2064 kg ha<sup>-1</sup>. La eficiencia EUA define la productividad de los cultivos, y es especialmente útil en condiciones de oferta hídrica limitante (Cayci *et al.*, 2009) pero también en ambientes húmedos al evitar encharcamientos y excesos hídricos. En este sentido, la pastura bajo la aplicación DEP mostró mayor eficiencia en EUA, produciendo 6,9 kgMS por mm de lluvia (Gráfico 31). Un segundo grupo lo formaron los tratamientos FQ y EP (3.9 kgMS mm<sup>-1</sup>) y con el menor valor T (2 kgMS mm<sup>-1</sup>) (Gráfico 31).

La EUA varía entre especies dependiendo de la profundidad efectiva de raíces, las condiciones físicas del suelo, el nivel de cobertura y las condiciones climáticas (Quiroga *et al.*, 2010). En este sentido, diferentes estudios comprobaron que la misma especie en condiciones climáticas contrastantes presentó diferente EUA (Baigorria y Cazorla 2010; Carfagno *et al.*, 2013). Por lo cual, estos resultados deberían ser constatados en futuros estudios a largo plazo con años diferentes regímenes de precipitaciones.

Gráfico 30. Precipitaciones y temperatura media en el sitio del ensayo durante el período de aplicación de tratamiento – corte de biomasa

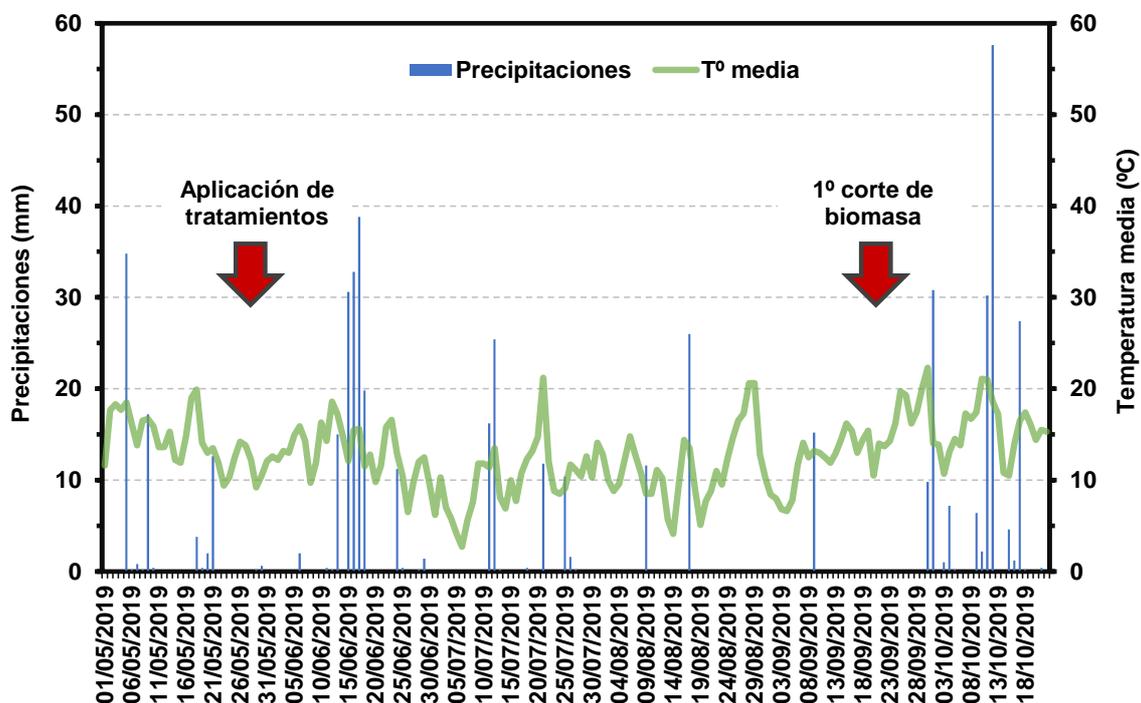
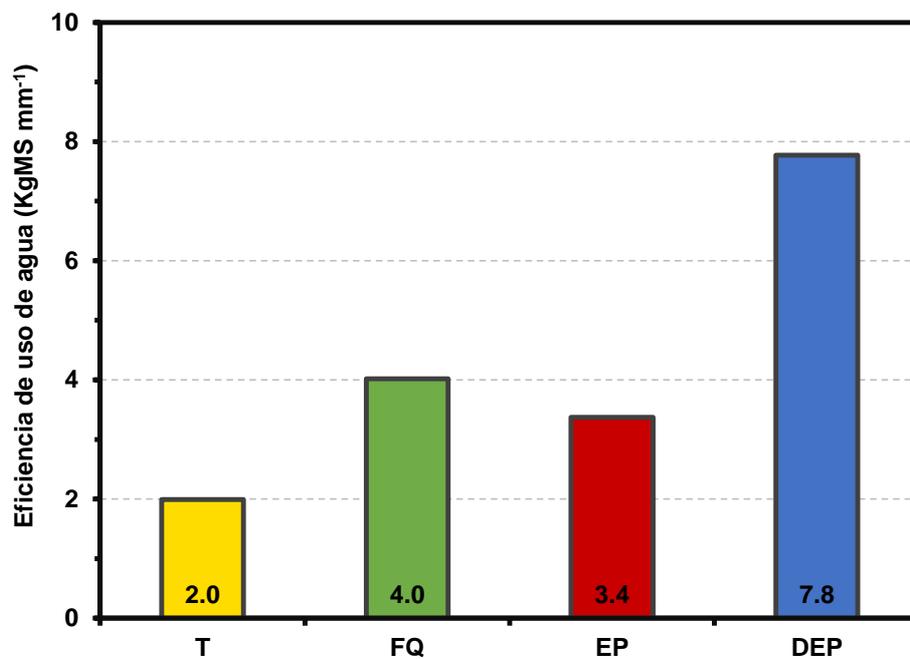


Gráfico 31. Eficiencias de uso de agua de la pastura para producir materia seca, correspondiente a cada tratamiento. Nota: Los valores dentro de las barras corresponden a los valores medios



## 6.3 Consideraciones

Para las circunstancias planteadas en este estudio, bajo las condiciones climáticas imperantes en el período, en un suelo argiudol del noreste de la provincia de Buenos Aires, la aplicación de materiales orgánicos mostró una respuesta mejoradora de las variables físicas en comparación a las observadas en el suelo que se mantuvo como referencia sin aplicaciones de tratamientos. En este sentido, el período de ensayo resultó muy corto para la detección de diferencias significativas desde un punto de vista estadístico. De todas maneras, los cambios inducidos por los tratamientos con aplicaciones de EP y DEP tendieron a favorecer a las principales características hídricas del suelo, aumentando la retención de agua útil y el movimiento de agua en el perfil, aspectos claves como variables determinantes de la producción agropecuaria. Se sugiere continuar investigando el efecto de las aplicaciones en ensayos de mediano-largo plazo e incorporar en la investigación a otros suelos de áreas con menor temperatura, en los que los procesos resultan más lentos. En este sentido, en ensayos a largo plazo sería necesario incluir el estudio de las estructuras y de la hidrofobicidad. Por otro lado, al llevar a cabo este estudio se hizo notable la escasez de trabajos sistemáticos sobre los efectos de la aplicación del digerido al suelo en las propiedades físicas, especialmente en países en desarrollo donde, además, la producción de estos efluentes es cada vez mayor.

## Capítulo 7. Emisión de gases de efecto invernadero ( $N_2O$ , $CO_2$ y $CH_4$ ) desde el suelo

La población mundial se ha más que duplicado desde 1960, lo que fue acompañado de una mayor demanda de alimentos y utilización de recursos naturales. Para proveer de alimento a este crecimiento demográfico, y ante la limitante de terrenos disponibles para cultivar, se ha recurrido a la aplicación de fertilizante nitrogenado, que ha aumentado casi nueve veces (FAOSTAT, 2017).

Ciertas producciones pecuarias intensivas generan grandes cantidades de residuos orgánicos, que pueden constituir un importante problema ambiental, sobre todo si estos residuos no tienen un destino o tratamiento adecuados. Esto genera, entre otras cosas, pérdidas de compuestos por volatilización y lixiviación con posibilidad de contaminación de napas con  $NO_3^-$ , emisión de  $N_2O$ , sumado a la incorporación de microorganismos como *Salmonella spp.* (Ogunwande *et al.*, 2008). Su aplicación al suelo luego de un tratamiento de estabilización y en dosis adecuadas sería una alternativa para su disposición final, pudiendo constituir un fertilizante orgánico para los cultivos.

Las agendas políticas de los países y las iniciativas globales proclaman la neutralidad (huella de carbono cero) de los GEI para el año 2050. El  $N_2O$  es el principal GEI emitido desde el suelo por el sector agropecuario (IPCC, 2014) como producto derivado principalmente de los procesos bioquímicos de nitrificación y desnitrificación. El  $N_2O$  posee un tiempo de vida media en la atmósfera de 114 años (Bracmort, 2010) participa en la degradación de la capa de ozono estratosférico responsable de filtrar los rayos solares ultravioletas cuando es oxidado fotolíticamente a óxido nítrico y contribuye en alrededor del 6% al efecto de calentamiento global (Del Grosso *et al.*, 2008). En este contexto es fundamental evaluar adecuadamente si los suelos actúan como fuente o como sumidero de este gas y la magnitud de su flujo en distintos manejos y ambientes. Las emisiones antropogénicas de GEI aumentan sostenidamente desde la era preindustrial, derivadas del crecimiento demográfico y se encuentran actualmente en su nivel más alto en los últimos 800 mil años (Paustian *et al.*, 2004; IPCC, 2014) y con ella, la necesidad de dimensionar cuáles son las fuentes de emisión de mayor relevancia.

A nivel mundial, el 60% de las emisiones de  $N_2O$  provienen del sector agropecuario y a nivel nacional este número asciende al 94%, este sector es el principal responsable de la emisión de  $N_2O$  (IPCC, 2014; MAyDS, 2017). Los principales procesos productores de  $N_2O$  en suelos agrícolas son la nitrificación aeróbica y desnitrificación anaeróbica incompleta, y producen entre el 65% y el 70% del  $N_2O$  total del planeta (Syakila y Kroeze, 2011). Las principales variables que afectan la producción de  $N_2O$  desde el suelo son la humedad, la temperatura y el contenido de  $NO_3^-$ . Las condiciones ambientales y climáticas que afectan la temperatura y las lluvias modifican la humedad del suelo y el contenido de  $O_2$  (Broucek, 2017).

Existen escasos estudios realizados en el país sobre los efectos de la emisión de GEI por la aplicación al suelo de residuos pecuarios (Gregoruttia y Caviglia, 2017; Cosentino *et al.*, 2017). Sumado a ello, existe la necesidad de disminuir las emisiones provenientes de la producción pecuaria. Por otra parte, la aplicación de enmiendas orgánicas es clave para el diseño de sistemas agropecuarios sustentables, con menor pérdida de N y mayor eficiencia en su uso por los cultivos. De esta manera, surge la necesidad de obtener valores de emisión de  $N_2O$  desde el sector. Por este motivo, es relevante estudiar los efectos de la aplicación de residuos porcinos crudos y digeridos sobre la emisión de  $N_2O$  desde el suelo y evaluar si es posible implementar este pretratamiento como una alternativa de manejo más amigable con el ambiente.

El objetivo del trabajo que se presenta en este capítulo fue evaluar el impacto sobre la emisión de GEI — $N_2O$ ,  $CO_2$  y metano ( $CH_4$ )— por la aplicación al suelo de dos enmiendas orgánicas (efluente porcino crudo y digerido) y un fertilizante químico de uso frecuente en el sector agropecuario.

## 7.1 Análisis de la emisión de $N_2O$ , $CO_2$ y $CH_4$

Se realizó el seguimiento de la emisión de  $N_2O$ ,  $CO_2$  y  $CH_4$  durante 50 días después de la aplicación (DDA) de los tratamientos en el ensayo a campo descrito en la sección “Ensayo a campo”. Para obtener las muestras de los gases se utilizaron cámaras cerradas no ventiladas de 0,13 m<sup>2</sup> de área y 0,13 m de altura siguiendo los criterios de Rochette y Eriksen-Hamel (2008). Estas cámaras están compuestas por una base de hierro, la cual es

clavada en el suelo con una inserción de más de 5 centímetros de profundidad al menos 24 horas antes del inicio del muestreo, y una parte plástica que se adhiere a la base al momento de realizar las mediciones (Imagen 21). Las cámaras fueron dispuestas de manera aleatoria dentro de los tratamientos. Las muestras del gas se extrajeron del interior de las cámaras con jeringas de 60 ml y el contenido de las jeringas se traspasó inmediatamente a viales (frascos sellados) de 10 ml por medio de una bomba de vacío manual (Imagen 23). En simultáneo con la toma de las muestras de los gases, se midió la temperatura del suelo y del aire. Las muestras de gases se extrajeron a los 0, 15 y 30 minutos posteriores a la colocación de la cámara plástica sobre su base. Las muestras de gases se tomaron durante la mañana, entre las 9 a. m. y las 12 a. m., horario que mejor representa la emisión media diaria (Cosentino *et al.*, 2012). Las muestras se analizaron por cromatografía gaseosa, para ello se utilizó un cromatógrafo gaseoso Agilent 6890 del Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (LabFAUBA). Con la bomba de vacío manual se realizó el traspaso de aire de la jeringa hacia el vial, el procedimiento se repitió tres veces para asegurar el traspaso de la totalidad del aire.

Imagen 22. Cámara de acumulación de gases



Nota: La fijación de la cámara a su base se realiza con soga elástica.

Imagen 23. Bomba de vacío manual



### 7.1.1 Cálculos de emisión

La tasa de emisión de cada uno de los gases ( $f$ ) se calcula a partir de la siguiente formula:

$$f = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{m}{V_m}$$

donde  $\Delta C$  es el cambio en la concentración del gas dentro de la cámara durante el tiempo de incubación medido en minutos ( $\Delta t$ ),  $V$  es el volumen de la cámara ( $16,7 \text{ dm}^3$ ),  $A$  es el área de suelo cubierta por la cámara ( $0,13 \text{ m}^2$ ),  $m$  es el peso molecular del gas ( $\mu\text{g mol}^{-1}$ ) y  $V_m$  es el volumen molar del gas ( $\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ).

### 7.1.2 Determinaciones de suelo complementarias a la emisión de GEI

Luego del muestreo de los gases, se extrajeron muestras de suelo de los primeros 10 cm del perfil cercano a las cámaras y se las llevó al laboratorio para la determinación del contenido de  $\text{NO}_3^-$ , de la Dap y se calculó el espacio poroso saturado con agua (EPSA). La determinación de  $\text{NO}_3^-$  se realiza por nitración de ácido salicílico (Cataldo *et al.*, 1975). La Dap se calcula por el método del cilindro con  $100 \text{ cm}^3$  y  $0,05 \text{ m}$  de diámetro (Blake y Hartge, 1986). El EPSA es la relación entre el contenido hídrico volumétrico ( $\text{CH}_v$ ) y la porosidad total (PT). La porosidad total expresada en porcentaje (%) se calcula como:

$$PT = 1 - \frac{D_{ap}}{D_r} \times 100$$

donde PT es porosidad total (%),  $D_{ap}$  es densidad aparente ( $\text{Mg m}^{-3}$ ), y  $D_r$  es densidad real ( $\text{Mg m}^{-3}$ ). Se asumirá una  $D_r=2,65 \text{ Mg m}^{-3}$ .

El contenido hídrico volumétrico es el contenido de agua del suelo expresado como el volumen de agua por unidad de volumen de la masa de suelo expresado en porcentaje (% v/v) se calcula como:

$$CH_v = CH_g \times D_{ap} \times 100$$

donde  $CH_v$  es el contenido hídrico volumétrico (% v/v),  $CH_g$  es la relación entre la masa de agua en un suelo y la masa de ese suelo (% p/p) y  $D_{ap}$  es densidad aparente ( $\text{Mg m}^{-3}$ ).

El EPSA expresado en porcentaje (%) finalmente se calcula como:

$$EPSA = \frac{CH_v}{PT} \times 100$$

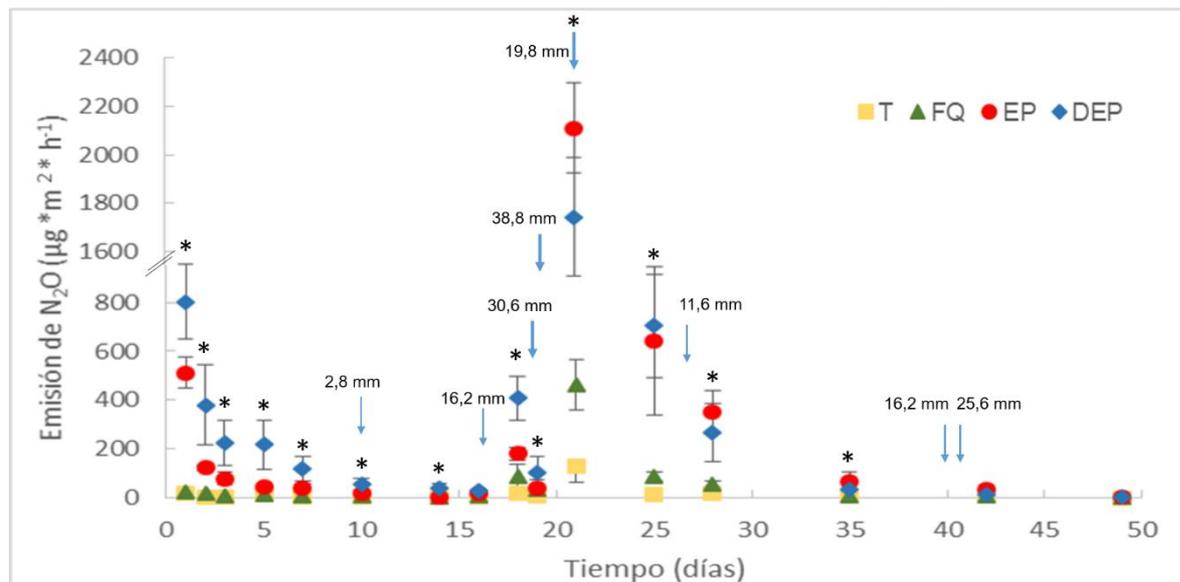
donde EPSA es el espacio poroso saturado de agua (%),  $CH_v$  es el contenido hídrico volumétrico (% v/v) y PT es la porosidad total (%) (Soil Science of America, 2018).

## 7.2 Resultados

El flujo de  $\text{N}_2\text{O}$  osciló entre 0,43 y 2106,3  $\mu\text{gN-N}_2\text{O m}^2 \text{h}^{-1}$ . La emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  a lo largo del ensayo mostró un patrón similar para todos los tratamientos. En general, se observó en todos los tratamientos un pico de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  del día 1 DDA, el cual fue disminuyendo durante los días siguientes (días 2, 3, 5, 7, 10, 14 y 16 DDA; Gráfico 32). Este pico y su posterior disminución posiblemente se relacionaron con el alto contenido de N aplicado principalmente con los residuos (EP y DEP) el cual fue acompañado por condiciones de humedad y temperatura del suelo no limitante del proceso de producción de  $\text{N}_2\text{O}$ . Esta relación positiva entre la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  y la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo también fue

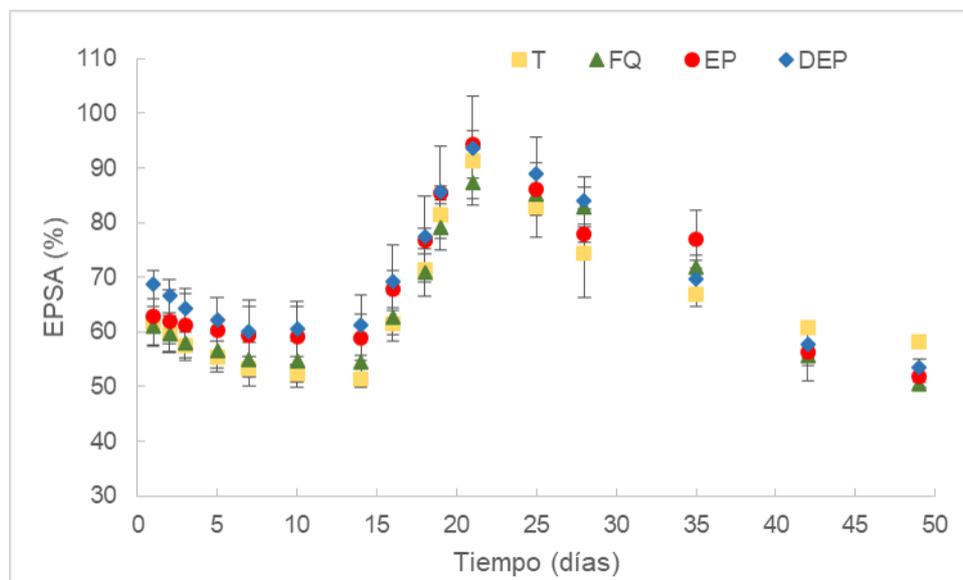
descrita por McSwiney y Robertson (2005). Estos autores observaron una relación positiva entre la emisión de  $N_2O$  y la concentración de  $N-NO_3^-$  en un ensayo a campo fertilizado.

Gráfico 32. Evolución de la emisión de  $N_2O$  en función del tiempo ( $\mu g$  de  $N-N_2O m^2 h^{-1}$ )



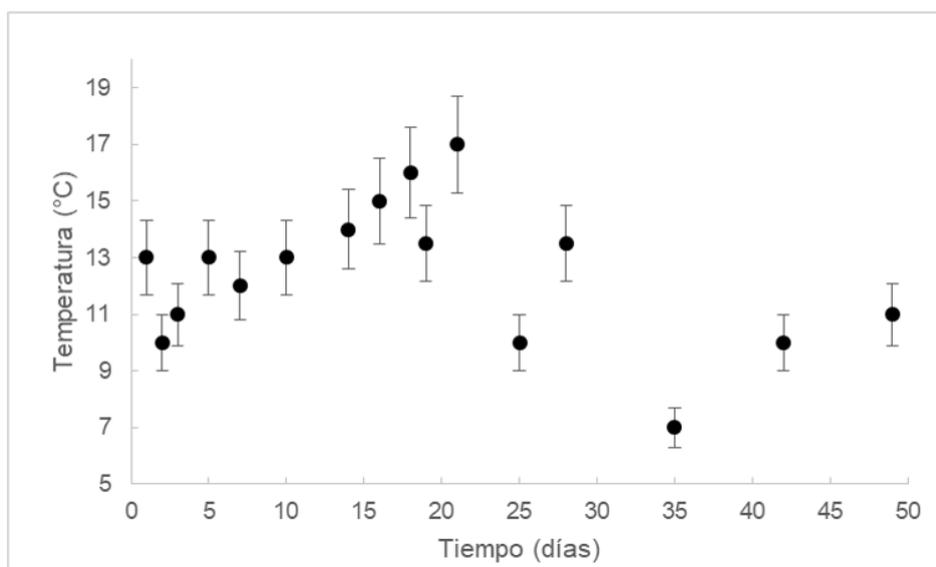
Nota: Las barras representan el error estándar; las flechas representan la lluvia caída y los \* indican diferencias significativas entre tratamientos para cada día de medición.

Gráfico 33. Evolución del EPSA en función de los distintos tratamientos



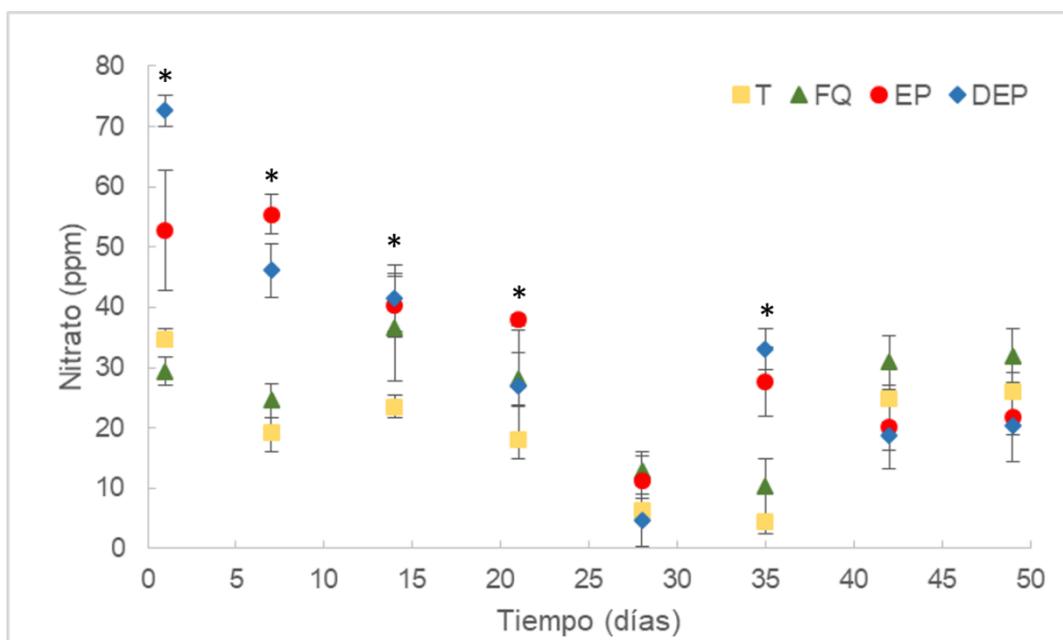
Nota: Las barras representan el error estándar.

Gráfico 34. Evolución de la temperatura del suelo en función del tiempo



Nota: Las barras representan el error estándar.

Gráfico 35. Evolución del contenido de nitratos en función del tiempo y de los distintos tratamientos



Nota: Las barras representan el error estándar de la media y los \* indican diferencias significativas entre tratamientos para cada día de medición.

A partir del día 18 DDA, la emisión de  $N_2O$  aumentó nuevamente hasta alcanzar un pico máximo el día 21 DDA, luego la emisión de  $N_2O$  comenzó nuevamente a disminuir (Gráfico 32). Como se indicó, el día 21 DDA de los tratamientos se observaron los valores de emisión de  $N_2O$  máximos, los cuales estuvieron asociados al máximo contenido de humedad (91,7% de EPSA) y la máxima temperatura del suelo, 17 °C (Gráficos 32, 33 y 34). El pico posiblemente se debió al elevado porcentaje del EPSA; cuando el EPSA es superior al 60-70%, la emisión de  $N_2O$  se produce, principalmente, por el proceso de desnitrificación el cual produce mayor cantidad de  $N_2O$  que el proceso de nitrificación. La emisión de  $N_2O$  desde el suelo es afectada por la concentración de  $O_2$ . A medida que aumenta el porcentaje de EPSA, el contenido de  $O_2$  del suelo disminuye y el proceso de desnitrificación comienza a aumentar su importancia relativa sobre el de nitrificación. La tasa de desnitrificación alcanza su pico máximo cuando el EPSA supera el 70%, situación en que el total de las emisiones de  $N_2O$  son producidas por dicho proceso (Bateman y Baggs, 2005). Sumado a la mayor actividad microbiana asociada, a su vez, a la mayor temperatura del suelo (Trumbore *et al.*, 1996). Un comportamiento similar, pero menos marcado, se observó para los días 18, 25 y 28 DDA de los tratamientos.

El patrón mostrado por la emisión de  $N_2O$  a lo largo del tiempo fue similar al observado para el EPSA (Gráfico 33) y a la temperatura del suelo (Gráfico 34). La estrecha asociación observada entre la emisión de  $N_2O$  y las variables medidas puede explicarse porque la tasa de producción de  $N_2O$  depende de los procesos de nitrificación y de desnitrificación. Esta tasa varía en función del contenido hídrico, la disponibilidad de  $NO_3^-$  y la temperatura del suelo entre otros factores, siendo su participación en el proceso distinta según diferentes autores (Dobbie y Smith, 2001; Schindlbacher *et al.*, 2004; Jantalia *et al.*, 2008). Numerosos autores consideran que la interacción entre estas tres variables (EPSA, temperatura del suelo y contenido de nitrato) explica hasta del 95% de la variabilidad temporal presente en las tasas de emisión de  $N_2O$  (Butterbach-Bahl *et al.* 2016).

Sumado a esto, el pico de emisión de  $N_2O$  observado el día 21 DDA coincidiendo con los momentos de máxima humedad (medido como EPSA) y temperatura del suelo (Gráficos 32, 33 y 34). Los valores de EPSA y de temperatura del suelo presentaron, a su vez, un patrón similar, motivo por el cual no fue posible diferenciar el efecto de cada una de estas variables sobre la emisión puntual. En relación con la humedad de suelo, Shelton *et al.* (2000) encontraron una relación lineal entre la emisión de  $N_2O$  y el contenido de agua,

cuando este último se encontró entre 60% del EPSA y saturación (100% EPSA). Mientras que Schindlbacher *et al.* (2004) observaron la emisión de N<sub>2</sub>O máxima en el rango de 80-95% del EPSA, con la disminución de la tasa por encima del 95% del EPSA. Asimismo, con respecto a cómo la temperatura afecta la emisión de N<sub>2</sub>O, Dobbie y Smith (2001) observaron una relación positiva entre la emisión de N<sub>2</sub>O y la temperatura del suelo, cuando el porcentaje de EPSA se mantuvo elevado. Otros autores también obtuvieron una asociación positiva entre la emisión de N<sub>2</sub>O y el EPSA (Alvarez *et al.*, 2012; Baral *et al.*, 2016; Metay *et al.*, 2007; Saggar *et al.*, 2004).

En el presente estudio, la adición de residuos como enmiendas orgánicas no provocó cambios significativos en el EPSA ni en la temperatura del suelo, pero sí lo hizo en el contenido de nitratos (Gráficos 33, 34 y 35). Si bien los valores de nitratos en el suelo fueron altos, incluso en el suelo T, se observó un aumento en el contenido de nitratos en el suelo con aplicación ambas de enmiendas (DP y DEP) y en menor medida del FQ. Estos resultados coinciden con los observado en otros estudios, los cuales reportaron aumentos en el contenido de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de suelos luego de la adición de las enmiendas orgánicas (Masaka *et al.*, 2016; Pino *et al.*, 2008; Roig *et al.*, 2012). La diferencia observada en el contenido de nitratos del suelo podría explicar la diferencia en los valores de emisión de N<sub>2</sub>O. Los cuales fueron en promedio mayores desde el suelo con aplicación de DEP, seguido por el tratamiento con aplicación de EP, luego por el suelo con aplicación de FQ y, finalmente, por el suelo T (Gráfico 32).

Los valores de emisión de N<sub>2</sub>O observados los días 1, 2, 3, 5, 7 y 10 DDA se diferencian significativamente ( $P < 0,05$ ) tres grupos de emisión de N<sub>2</sub>O, siendo mayor la emisión desde el suelo con aplicación de DEP, seguida por el suelo con aplicación de EP y, finalmente, por el suelo con aplicación de FQ y T (sin diferencias significativas entre ambas). El día 14 DDA se observó mayor emisión de N<sub>2</sub>O desde el suelo con aplicación de DEP, mientras que el resto de los tratamientos no presentó DS entre ellos. El día 18 DDA se observaron DS ( $P < 0,05$ ) entre todos los tratamientos con los mayores valores de emisión desde el suelo con aplicación de DEP, seguido por el suelo con aplicación de EP, el suelo con FQ y, finalmente, el suelo T. El día 19 DDA los mayores valores de emisión de N<sub>2</sub>O se observaron en el suelo con aplicación de DEP, seguidos por el suelo con aplicación de EP y FQ (sin DS entre ambos) y, finalmente, por el suelo T. Los días 21, 25, 28 y 31 DDA los mayores valores de emisión de N<sub>2</sub>O se observaron en el suelo con aplicación de DEP y EP (sin DS

entre ambos), seguido del suelo con aplicación de FQ y finalmente desde el suelo T (Gráfico 32).

Sumado a esto, la incorporación de C fácilmente disponible en el suelo puede influir en las emisiones de  $N_2O$  de dos maneras, como fuente de energía para los desnitrificadores y al aumentar la demanda biológica de O y creando zonas anaeróbicas en el suelo (“puntos calientes”). De hecho, las adiciones de CO degradable pueden conducir al agotamiento localizado de O en micrositios y a una mayor producción de  $N_2O$  (Helgason *et al.*, 2005).

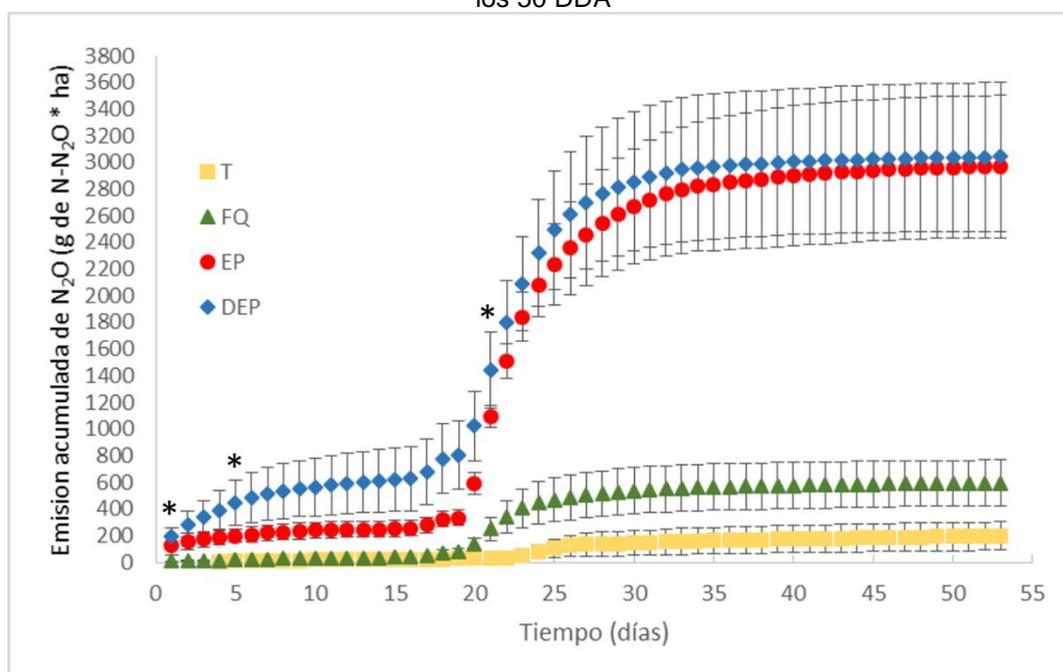
El contenido de  $N-NO_3^-$  en el suelo de estudio fue elevado y no limitante a lo largo de todo el ensayo y presentó diferencias significativas entre los tratamientos en 5 de las 8 fechas de muestreo, siendo, en promedio, mayor en el tratamiento con aplicación de DEP y EP, seguido por el de FQ y, finalmente, el del suelo T (Figura 35). De acuerdo con Dalal *et al.* (2003), la tasa de desnitrificación aumenta con el incremento en el contenido de  $N-NO_3^-$ , siempre y cuando el suelo presente una situación favorable de humedad, temperatura y disponibilidad de C. Esto se produce debido a que la presencia de  $NO_3^-$  inhibe la reducción de  $N_2O$  a  $N_2$ , lo que resulta en una alta proporción relativa  $N_2O/N_2$  a similares condiciones de humedad y contenido de  $O_2$ . Es posible que la diferencia en el contenido de nitratos del suelo explique la diferencia en la tasa de emisión de  $N_2O$  entre tratamientos en aquellas fechas de muestreo donde ni la temperatura del suelo ni el EPSA limitaron el proceso microbiano de desnitrificación. Dalal *et al.* (2010) encontraron una correlación positiva entre la emisión de  $N_2O$  y el contenido de  $NO_3^-$  del suelo, cuando la temperatura del suelo varió entre los 10 °C y los 30 °C, y el EPSA fue de entre 30% y 80%.

El día 1 DDA, todos los tratamientos presentaron DS ( $p < 0,05$ ) en el contenido de  $N-NO_3^-$  del suelo, el mayor contenido se encontró en el suelo con aplicación de DEP, luego en el suelo con aplicación de EP, luego por el suelo con aplicación de FQ y, finalmente, el suelo T. El día 7 DDA el tratamiento con aplicación de EP presentó los valores más altos en el contenido de  $N-NO_3^-$ , seguido del tratamiento con aplicación de DEP y, finalmente, con los tratamientos FQ y T (sin DS entre ambos). El día 14 DDA, los menores valores de nitratos se encontraron en el suelo T. El resto de los tratamientos presentaron valores mayores sin DS entre ellos. El día 21 DDA, los mayores valores fueron los observados en el suelo con aplicación de EP, mientras que el resto de los tratamientos mostraron valores menores sin DS entre ellos. Finalmente, el día 35 DDA presentó los mayores valores en el suelo con los tratamientos EP y DEP (sin DS entre ambos) y los menores en el suelo con aplicación de

FQ y T (sin DS entre ambos); el resto de los días no se observaron DS entre los tratamientos (Figura 35).

El flujo acumulado de  $N_2O$  mostró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los tratamientos a partir del día 1 DDA, con tres grupos de emisión de  $N_2O$ , siendo mayor la emisión desde el suelo con aplicación de DEP, seguida desde el suelo con aplicación de EP y, finalmente, desde el suelo con aplicación de FQ y T (sin DS entre ambas). A partir del día 5 DDA, se diferenciaron significativamente los cuatro tratamientos, siendo mayor la emisión desde el suelo con aplicación de DEP, seguido del suelo con aplicación de EP, luego el suelo con aplicación de FQ y, finalmente, el suelo T. A partir del día 21 DDA, los valores de emisión acumulados para los tratamientos de DEP y EP dejan de diferir significativamente entre ambos y los valores de emisión se dividen en tres grupos con los máximos para los suelos con aplicación de DEP y EP (sin DS entre ambos), seguidos por el suelo con aplicación de FQ y, por último, el suelo T. Estas diferencias se mantuvieron hasta el final del ensayo, sin observarse diferencias en la emisión de  $N_2O$  acumulada entre los tratamientos DEP y EP (Gráfico 36).

Gráfico 36. Emisiones acumuladas de  $N_2O$  en suelo testigo y luego de la aplicación de los tratamientos para los 50 DDA

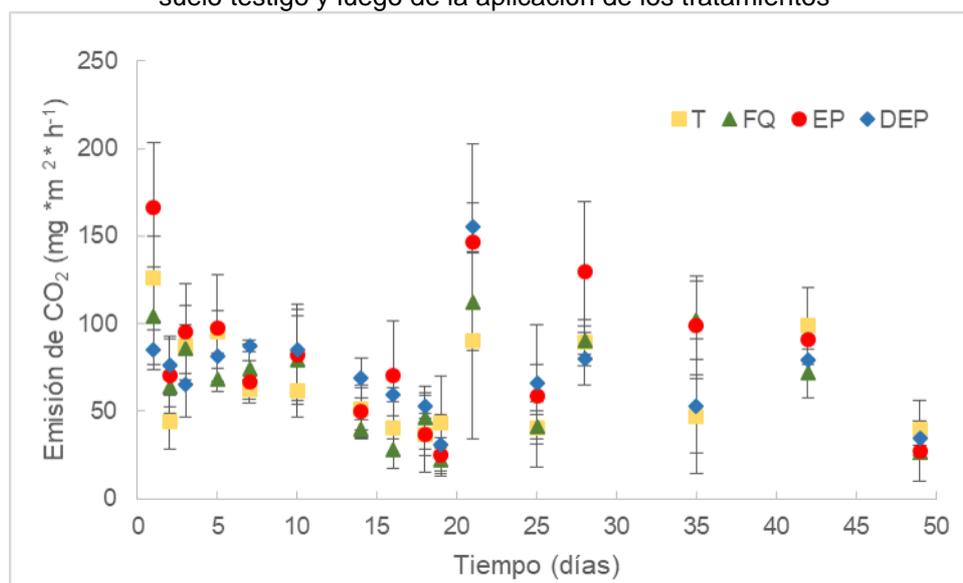


Nota: Las barras de error indican estándar error de la media y los \* indican diferencias significativas entre tratamientos para cada día de medición.

En promedio, la emisión de N<sub>2</sub>O acumulada fue mayor en el suelo con aplicación de DEP y EP, seguida del suelo con aplicación de FQ y, finalmente, del suelo T. Siendo los valores acumulados durante los 49 días, en promedio, 3036,5 g N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo con aplicación de DEP, 2960,5 g N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo con aplicación de EP, 591 g N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo con aplicación de FQ, y 190,5 g N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo T. Es decir que la emisión de N<sub>2</sub>O desde los suelos con aplicación de FQ fue tres veces mayor que la emisión desde el suelo T, mientras que las emisiones desde el suelo con aplicación de DEP y EP fueron similares (sin DS) y 15,8 veces mayor que las observadas en el suelo T (Gráfico 36). La elevada diferencia en la emisión de N<sub>2</sub>O desde los suelos con aplicación de residuos posiblemente se relacionó al alto contenido de N y C, fácilmente disponibles para los microorganismos del suelo. Estos resultados superan los observados por Baruah y Baruah (2015), quienes aplicaron 90 kg de N ha<sup>-1</sup> de guano crudo de ave a un cultivo de arroz con temperaturas de 20 °C a 35 °C y EPSA de 30% al 80% y obtuvieron emisiones acumuladas de 20 g de N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> en 112 días. También se ubican por encima de lo analizado por Hayakawa *et al.* (2009), quienes aplicaron 120 kg de N ha<sup>-1</sup> de guano a un cultivo de espinaca, con temperaturas entre 15 °C a 30 °C y EPSA entre 40% y 70%, y obtuvieron valores de emisión de N<sub>2</sub>O acumulados de 330 g de N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> durante 47 días.

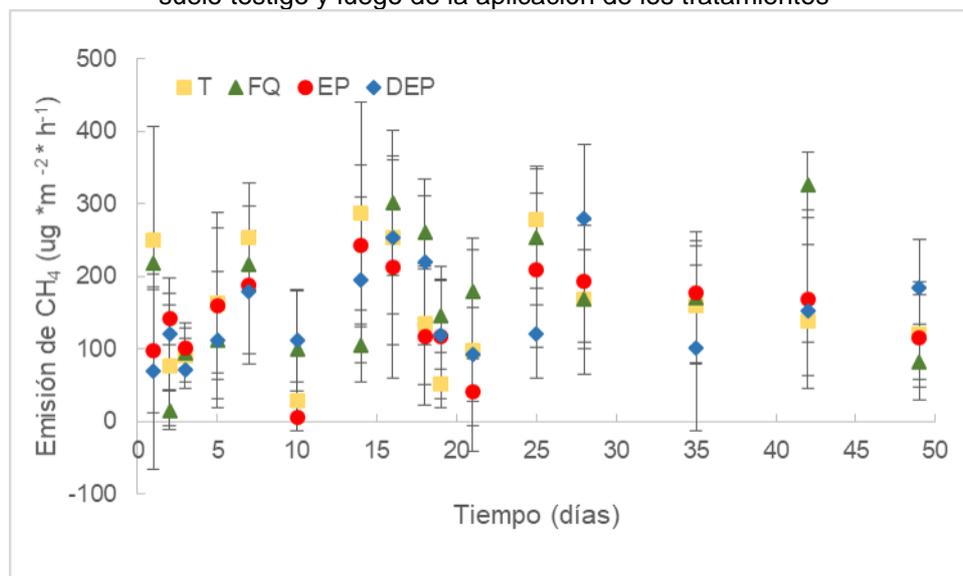
Finalmente, se observó que los tratamientos con aplicación de DEP y EP no mostraron diferencias significativas entre ambos. De estos resultados se concluye que el pretratamiento de digestión del EP no redujo las emisiones de N<sub>2</sub>O desde el suelo. Sin embargo, ambos efluentes mostraron emisiones de N<sub>2</sub>O altamente superiores ( $P < 0,001$ ) a las observadas en el suelo con aplicación de FQ, lo que indica que el contenido de otros nutrientes, como, por ejemplo, carbono lábil, posiblemente afectó la producción de N<sub>2</sub>O desde los microorganismos del suelo.

Gráfico 37. Evolución de la emisión de CO<sub>2</sub> en función del tiempo (mg \*m<sup>-2</sup>\*h<sup>-1</sup>) en función del tiempo en el suelo testigo y luego de la aplicación de los tratamientos



Las barras representan el error estándar de la media.

Gráfico 38. Evolución de la emisión de CH<sub>4</sub> en función del tiempo (ug\*m<sup>-2</sup>\*h<sup>-1</sup>) en función del tiempo en el suelo testigo y luego de la aplicación de los tratamientos



Las barras representan el error estándar de la media y los \* indican diferencias significativas entre tratamientos para cada día de medición.

La emisión de CO<sub>2</sub> desde el suelo no presentó una tendencia ni entre tratamientos ni a lo largo del ensayo (Gráfico 37). Este GEI no es considerado desde los sistemas agrícolas ya que su producción (respiración) se compensa con su absorción (fotosíntesis). En las

condiciones de estudio, la medición de este gas podría utilizarse como estimador de la respiración dando idea de la actividad de los microorganismos del suelo. En el presente ensayo no se observaron diferencias entre los tratamientos. De manera similar, la emisión de  $\text{CH}_4$  desde el suelo no mostró relación con ninguna de las variables medidas, tampoco presentó cambios en el tiempo (Gráfico 38). Esto posiblemente está relacionado con que el  $\text{CH}_4$  es un gas cuya producción por los microorganismos del suelo es estrictamente anaeróbica (Madigan *et al.*, 2009), por lo cual cobra relevancia en sistemas inundados, como por ejemplo, la producción de arroz.

En general, el patrón mostrado por la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  a lo largo del tiempo fue similar al observado en las variables edáficas EPSA y temperatura, con un valor máximo asociado al máximo valor del EPSA (cercano al 80%). El pico posiblemente se debió a condiciones de temperatura y contenido de nitratos no limitantes, sumados al elevado porcentaje del EPSA. Cuando el EPSA es superior al 60%-70% la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$ , se produce, principalmente, por el proceso de desnitrificación el cual produce mayor cantidad de  $\text{N}_2\text{O}$  que el proceso de nitrificación. La emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  desde el suelo es afectada por la concentración de  $\text{O}_2$ . A medida que aumenta el porcentaje de EPSA, el contenido de  $\text{O}_2$  del suelo disminuye y el proceso de desnitrificación comienza a aumentar su importancia relativa sobre el de nitrificación.

Por otra parte, la diferencia observada en el contenido de nitratos del suelo podría explicar la diferencia en los valores de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  puntual. Esto se produce debido a que la presencia de  $\text{NO}_3^-$  inhibe la reducción de  $\text{N}_2\text{O}$  a  $\text{N}_2$ , lo que resulta en una alta proporción relativa  $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$  a similares condiciones de temperatura y EPSA. Asimismo, es posible que la diferencia en el contenido de nitratos del suelo explique la diferencia en la tasa de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  entre tratamientos en aquellas fechas de muestreo donde ni la temperatura del suelo ni el EPSA limitaron el proceso microbiano de desnitrificación.

Finalmente, la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  acumulada fue mayor en el suelo con aplicación de los residuos DEP y EP (sin DS entre ambos), seguida por el suelo con aplicación de FQ y, por último, el suelo T. La elevada diferencia en la emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  desde los suelos con aplicación de residuos posiblemente se relacionó al alto contenido de N y C fácilmente disponibles para los microorganismos del suelo.

## 7.3 Consideraciones

Los resultados de este capítulo demostraron que el pretratamiento de digestión del efluente porcino no modificó la emisión de  $N_2O$  desde el suelo. Sin embargo, ambos efluentes mostraron emisiones de  $N_2O$  altamente superiores ( $P < 0,001$ ) a las observadas en el suelo con aplicación de FQ, indicando que el contenido de otros nutrientes, como por ejemplo,  $NO_3^-$  y carbono lábil posiblemente afectaron la producción de  $N_2O$  desde los microorganismos del suelo.

## Capítulo 8. Valoración económica de la utilización agrícola del digerido porcino

El beneficio de la utilización de los materiales resultantes de la producción de biogás (digestato), así como también el ahorro en la disposición de los efluentes sin procesar de la producción porcina estabulada, es un dato conocido en los países con reglamentaciones apropiadas (ISAT, 2002). Según FAO (2019b), la generación de energía proveniente del biogás enfrenta desafíos importantes (técnicos, económicos, financieros, legales, socioculturales, entre otros), que demandan una estrategia integral y sinérgica para resolver estas barreras y transformar las debilidades del sector en fortalezas que consoliden la tecnología y permitan generar las condiciones necesarias para incrementar la participación de la biomasa dentro de la matriz energética. Los problemas ambientales asociados con la generación de energía por digestión anaeróbica (generalmente referido a la mala disposición final de los desechos) pueden ser minimizados con un manejo adecuado y ciclado de sus productos y desechos (Yasar *et al.*, 2017). Además del impacto económico, el desempeño medioambiental global de la producción de biogás depende, en gran medida, de los impactos ambientales de la provisión de sustrato, del rendimiento de biogás, del aporte de energía, de la fuente, de las emisiones directas del proceso y del uso de los digestatos (Börjesson y Berglund, 2005).

Algunos autores mencionan la fertilización de síntesis química como poco viable económica y ambientalmente, por lo que se buscan alternativas para su manejo (Leguizamón y Verdelli, 2011; Prager Mósquera *et al.*, 2012; Sanclemente, 2013). Dentro de este marco algunos autores afirman que los productos orgánicos no solo pueden utilizarse como fuente de nutrientes, sino que contribuyen a mantener e incluso mejorar las condiciones de fertilidad del suelo (Iocoli y Gómez, 2015; Román *et al.*, 2013; Sasal *et al.*, 2000). El uso agronómico de excretas animales en general, y de EP en particular, devuelve a los suelos agrícolas una significativa cantidad de macronutrientes vegetales que los animales de granja reciben en la ración, pero que absorben en porcentajes realmente bajos (Maisonnave, 2012). Los abonos de origen orgánico resurgen como alternativa tecnológica para disminuir el costo por consumo de fertilizantes químicos comerciales, permitir el reciclaje de desechos

orgánicos que tradicionalmente han sido fuente de contaminación y, además, su aplicación contribuye al mejoramiento de las propiedades físicas y químicas del suelo, aumentando su fertilidad natural (Gómez, 2015). La utilización de los efluentes y digestatos siempre debe realizarse siguiendo estrictas normas de bioseguridad, estos deben estar tratados adecuadamente y su utilización no debe ocasionar un problema a largo plazo, ya sea por cambios en el pH, salinización, MO no estabilizada, elementos potencialmente tóxicos (metales pesados) o contaminación biológica, tanto en suelo como en los recursos hídricos. Por otro lado, el efluente digerido de naturaleza líquida tiene mayor valor agronómico que el residuo sin digerir, por su mayor proporción de N y de MO (Sørensen y Møller, 2009). Además de tener N, P y K, tiene todos los nutrientes que están presentes en la MO y, en algunos casos, puede ser considerado una enmienda (Gómez, 2015). Varios autores han señalado la importancia de la utilización de los digeridos como reemplazo de los fertilizantes de síntesis química para uso agrícola (Koszel y Lorencowicz, 2015; Eickenscheidt *et al.*, 2014; Kowalczyk-Juško *et al.*, 2015; Vázquez-Rowe *et al.*, 2015). Por eso, para varios autores, es importante su caracterización, estabilización y control de los materiales de alimentación del digestor (Koszel y Lorencowicz, 2015; Iocoli y Gómez, 2015).

Una aproximación al valor económico del digestato como producto surge de la metodología propuesta en el *Biogas Digest Volumen III* (ISAT, 2002). En este manual los investigadores proponen su valoración a partir del contenido de los principales macronutrientes (N, P, K) con el precio de la obtención de estas mismas cantidades de nutrientes en FQ que estén normalmente disponibles en el mercado. La valoración económica de los efluentes es compleja ya que su composición no puede ser considerada constante (Migone y Hilbert, 2014), según Hilbert (2003) y Lobato Fuertes (2012), esta varía con la materia prima utilizada y el tratamiento previo, durante y después de la digestión. Además, es distinta la influencia sobre el terreno y la respuesta del cultivo a cantidades equivalentes de nutrientes aplicados a través de un FQ u orgánico (Valenzuela y Gallardo, 2002), debido a que este último tiene una marcada influencia sobre otros factores del suelo (Sasal *et al.*, 2000; Valenzuela y Gallardo, 2002), como la estructura, la capacidad de retención de agua y de intercambio del suelo, además de aportar otros nutrientes, modificar el pH o la CE.

Una medida real estaría dada por el efecto final de la aplicación del efluente sobre los cultivos comparándola con la utilización del estiércol en su forma natural o con algún tipo de tratamiento (Hilbert, 2003). Si bien sería la forma más correcta, al mismo tiempo, es la

más difícil de evaluar debido a la multiplicidad de factores intervinientes en el rendimiento de un cultivo, la falta de información confiable y la relatividad de los precios involucrados. En la Argentina, las principales herramientas de información para el cálculo de las actividades agrícolas no cuentan con los datos necesarios para calcular los costos de la producción de biogás a partir de residuos pecuarios, ni el aprovechamiento como enmienda de sus efluentes digeridos. Se pueden realizar estimaciones en función de resultados obtenidos en digestores experimentales. Por otra parte, la ingeniería y construcción de los sistemas puede estimarse a través de las consultas a los proveedores de maquinaria y servicios especializados. Siempre teniendo en cuenta que existe una gran variabilidad según el nivel productivo y la tecnología utilizada (FAO, 2019b).

El pastoreo es una actividad de extracción muy inferior a la de la agricultura (Pordomingo, 1998) y, por otra parte, a través de las deyecciones de los animales retornan nutrientes en distintas proporciones por vía urinaria y fecal, aunque este proceso no es eficiente ni uniforme (Baethgen, 1996; Díaz-Zorita, 1998; Maisonnave y Fabrizio de Iorio, 2001). Por lo que es necesario fertilizar las pasturas, incorporando los nutrientes necesarios, de manera uniforme.

En el trabajo que se analiza en este capítulo se registró el efecto de un EP sin tratar y el mismo efluente digerido anaeróticamente sobre el rendimiento de una pastura polifítica y se valorizó el aporte de nutrientes. Por otra parte, se estimó el valor de la inversión en infraestructura para obtener tanto el EP como el DEP.

## 8.1 Evaluación aproximada del valor de los fertilizantes de origen orgánico

Siguiendo la metodología propuesta en el *Biogas Digest Volumen III* (ISAT, 2002), para hacer una evaluación aproximada del valor monetario de los fertilizantes de origen orgánico, en primera instancia se analizaron las concentraciones de macronutrientes (N, P, K y Ca) por kg de materia seca de los productos orgánicos (efluente crudo y efluente digerido) poco antes de que se apliquen en el campo. Luego, para valorizar las fuentes orgánicas de

nutrientes, se seleccionó la forma comercial comúnmente utilizada para satisfacer esas necesidades nutricionales (Bonten *et al.*, 2014).

Para valorizar económicamente los productos (efluente y digestato) se monetizaron cada uno de los nutrientes de interés aportados. Para ello se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Valor nutriente}_{\text{efluente}} \left( \frac{\text{USD}}{\text{ha}} \right) = \text{Nutriente}_{\text{efluente}} \left( \frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) * \text{valor nutriente}_{\text{comercial}} \left( \frac{\text{USD}}{\text{kg}} \right)$$

Donde valor nutriente<sub>efluente</sub> es el precio en dólares por hectárea del nutriente por evaluar; Nutriente<sub>efluente</sub> es la concentración en kilogramos por hectárea aplicada de ese nutriente, y valor nutriente<sub>comercial</sub> es el precio en dólares por kilogramo de ese mismo elemento en su fórmula comercial.

Para el análisis comparativo se definió el rendimiento económico tanto de la aplicación de los fertilizantes sintéticos comerciales como de los compuestos orgánicos en el cultivo (Kucher, 2016). Para la obtención de los valores de respuesta del cultivo se procedió a realizar un ensayo a campo. Los tratamientos, FQ, EP, DEP y T se aplicaron en parcelas de 4 m<sup>2</sup> demarcadas en una pastura polifítica compuesta por festuca, alfalfa, trébol blanco y cebadilla, implantada en el año 2016 en un campo experimental de INTA (Estación Experimental Agropecuaria AMBA). Las diferencias en el rendimiento de la pastura se valorizaron en función del peso de la biomasa aérea seca producida por cada tratamiento y se calculó su eficiencia.

Para ello, se realizaron dos cortes de la pastura en cada una de las parcelas, uno a tres meses y medio de la aplicación de los tratamientos (13/09/19) y el segundo a los cinco meses (23/10/19). La superficie cortada en cada una de ellas fue de 0,25 m<sup>2</sup>. Las muestras se pesaron para obtener el peso húmedo de la biomasa aérea y luego se secaron en estufa a 40 °C. Al cabo de 48 horas, fueron pesadas nuevamente para obtener el peso seco (MS). Luego, se calculó el rendimiento por hectárea para cada uno de los tratamientos.

Además, se consideró el aporte de MO, para lo cual se comparó el contenido de C del EP y DEP con un compost comercial. Para hacer los cálculos se consideró una relación C:N de 15:1 y un contenido de N total de 15 g·kg MS (Román *et al.*, 2013), por consiguiente, un contenido de COT del compost de 22,5% en base seca. El precio promedio del compost, 56,5 USD/m<sup>3</sup>, se obtuvo a partir de consulta directa con proveedores del cinturón hortícola del Gran Buenos Aires.

Finalmente, para poder comparar el resultado económico de las diferencias en el rendimiento generadas en la pastura por la aplicación de los tratamientos, se convirtió el peso de la MS de cada uno de ellos en litros de leche, utilizando la siguiente fórmula (adaptada de Holmes *et al.*, 2002):

$$\text{Leche}(L) = \text{rendimiento} * \text{eficiencia de cosecha} * \text{eficiencia de conversión}$$

Dónde rendimiento son los kilogramos de MS obtenidos por hectárea, eficiencia de cosecha es la diferencia entre el material disponible en pie y el material remanente después del pastoreo, y eficiencia de conversión son los kilogramos de MS necesarios para obtener un litro de leche.

El valor de eficiencia de cosecha utilizado fue de 0,7, considerando el valor máximo alcanzable para productores tamberos presentado por Schneider *et al.* (2001).

La eficiencia de conversión se obtuvo calculando el valor promedio de eficiencia para pasturas polifíticas de distintos autores (Kolver y Muller, 1998; Kolver *et al.*, 2002; O'Neill *et al.*, 2011), 1 litro de leche por cada 1,37 kg de MS. El valor del litro de leche utilizado para los cálculos fue de 0,257 USD (Márgenes Agropecuarios, 2019).

A modo de resumen, se calculó el *beneficio económico total*, como la suma en USD·ha<sup>-1</sup> del aporte de los nutrientes, el aporte de MO y el rendimiento de la pastura en leche. Los valores en cada categoría son el producto de la diferencia entre el T y el EP y DEP.

## 8.2 Valoraciones económicas

### 8.2.1 Valoración económica de los productos orgánicos

El costo de los fertilizantes más vendidos por nutriente (septiembre del año 2019) se indica en la Cuadro 16. El costo de los fertilizantes es una de las causas de que la reposición de los nutrientes básicos en la región Pampeana, haya sido inexistente o muy reducida (SAGPyA, 2005). Su precio está ligado al valor del dólar, políticas nacionales de incentivos e impositivas para el campo (Andrade *et al.*, 2017). En consultas telefónicas directamente a representantes de las principales empresas de venta de fertilizantes de la zona

pampeana, nos fue imposible conseguir datos particulares. Podemos suponer que este comportamiento se debe principalmente a la volatilidad del valor del dólar, aunque también pueden existir otros motivos comerciales.

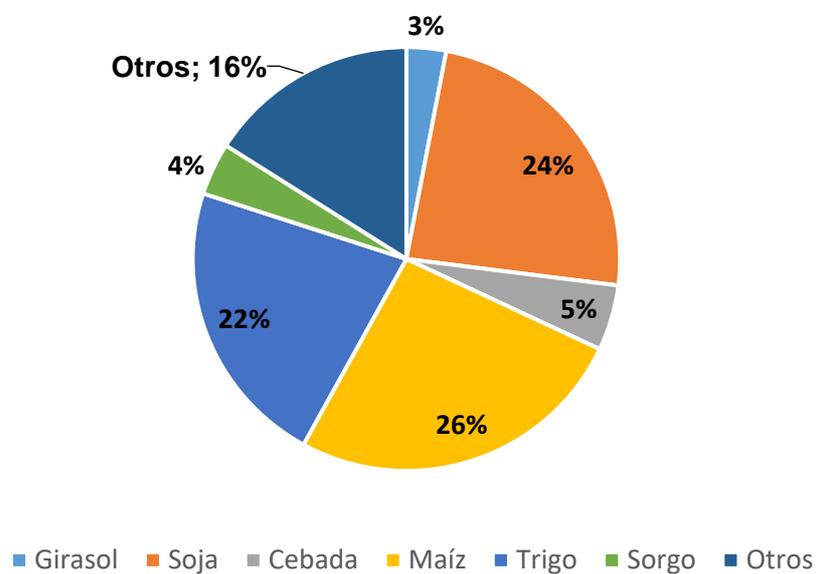
Cuadro 16. Costos de fertilizantes comerciales

Fertilizante	Costo (USD/t)
UREA	400
SFT	450
CIK	430
CaSO <sub>4</sub>	290

Fuente: Márgenes Agropecuarios, septiembre 2019.

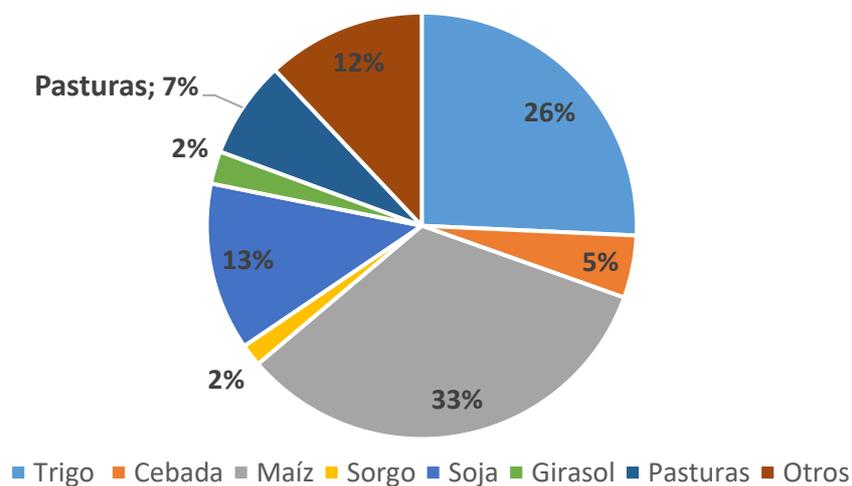
Aunque es ampliamente conocido que la fertilización de pasturas aumenta su rendimiento, su fertilización no es una práctica generalizada. La demanda de fertilizantes se concentra en los cultivos de cereales y oleaginosas (Gráfico 39), con una distribución que muestra que un 70% se distribuye entre los tres con mayor superficie sembrada: soja, maíz y trigo. Las pasturas comparten la categoría *otros* junto a los cultivos industriales, hortícolas, cultivos frutales, forestales y ornamentales, alcanzando un 16%. En una encuesta del sector lechero (Gastaldi *et al.*, 2018) se encontró que el 44% de los tambos implantó praderas de base alfalfa y solo el 47% de estas fueron fertilizadas. En el mismo informe se señala que se observó una baja de la práctica de fertilización respecto del ejercicio 2014-2015. Según Gelati y Vázquez (2008), en general los productores prefieren asignar dinero a actividades con retorno económico inmediato, en lugar de otras destinadas a mantener la productividad o las características de fertilidad del suelo, especialmente cuando todavía pudiera no haber respuesta económica al agregado de estos nutrientes. Por otro lado, en la campaña 2017/2018 el consumo de fertilizantes para pasturas aumentó considerablemente (Gráfico 40), alcanzando el 7% del consumo nacional de fertilizantes.

Gráfico 39. Distribución de consumo de fertilizantes por cultivo en la Argentina



Fuente: Fertilizar (2019).

Gráfico 40. Distribución de consumo de fertilizantes por cultivo en la Argentina



Fuente: Fertilizar (2019).

Al valorar económicamente los productos utilizados en el presente ensayo, encontramos que el digerido alcanzó un valor de 170,93 USD·ha<sup>-1</sup> muy por encima del costo del FQ nitrogenado y del valor alcanzado por el efluente crudo (Cuadro 17), eso es debido a su elevada concentración de K, que es un nutriente costoso y que se encuentra en altas concentraciones en el DEP utilizado en este ensayo.

Si consideramos que los efluentes orgánicos insumen similares costos de aplicación que los fertilizantes químicos, los primeros permiten ahorrar los 40,8 USD/ha de la urea. Al considerar la aplicación de los otros macronutrientes, además del ahorro, se podría decir que se está invirtiendo 31,8 y 130 USD·ha<sup>-1</sup>.

Cuadro 17. Valorización económica de los productos en USD ha<sup>-1</sup>

Fertilizante	FQ	EP USD ha <sup>-1</sup>	DEP
<b>N</b>	40,8	40,87	40,87
<b>P</b>	*	4,97	28,41
<b>K</b>	*	15,38	92,09
<b>Ca</b>	*	11,41	9,56
<b>Total</b>	40,8	72,63	170,93

La cantidad de nutrientes contenidos en el EP y en el DEP puede ser un insumo barato para la fertilización y reposición de nutrientes no convencionales. Gelati y Vázquez (2008) calcularon la extracción en la región pampeana de K, Ca y Mg para el período 1970-2003. Esta fue estimada en 682 692; 88 443 y 155 479, respectivamente. Según los autores, reponer ese nivel de bases representa (en 2013) 414 000 000 USD; 127 300 000 USD; 86 200 000 USD y 16 000 000 USD para los suelos cultivados con soja, maíz, trigo y girasol, respectivamente. Sainz Rozas *et al.* (2011) confirman que la extracción en la región pampeana sigue en aumento, presentando déficits cada vez más importantes en P, K, S, Ca y Mg. Además, la actividad agrícola redujo la disponibilidad de algunos micronutrientes significativamente respecto de sus niveles prístinos (Sainz Rozas *et al.*, 2013).

Cuadro 18. Contenido de COT de los productos orgánicos

	EP	DEP	Compost
COT (% base seca)	28,39	22,54	22,5

Sin embargo, es importante recordar que esta reposición de nutrientes minerales no compensa la pérdida de MO y estructura (Zanotti y Buschiazzi, 1997). Sainz Rozas *et al.* (2011) señalan que los suelos de la región pampeana argentina han perdido entre el 30% y 50% del contenido inicial de MO. Los contenidos de MO en el EP y DEP (Cuadro 18), si bien no es un insumo que se suele utilizar en cultivos extensivos, deben ser considerados en los cálculos económicos. Utilizando un valor medio del m<sup>3</sup> de compost a granel de 56,5 USD como valor de referencia (tres proveedores de la zona hortícola del Gran Buenos Aires, septiembre 2019), se calculó que el EP aporta 71,3 USD y el DEP 56,6 USD extras al cálculo de rendimiento económico.

## 8.2.2 Rendimiento económico de las aplicaciones

La fertilización nitrogenada mediante la incorporación de urea no generó cambios en el rendimiento de MS en la pastura del ensayo y tampoco se diferenció de la aplicación del EP (Cuadros 19 y 20). Como se señaló en el Capítulo 3 “Indicadores químicos de calidad del suelo y rendimiento de la pastura”, el DEP obtuvo estadísticamente los mejores rendimientos, un 70% más que los tratamientos FQ, EP y T, que no se diferenciaron estadísticamente entre sí.

Cuadro 19. Rendimiento (peso húmedo) de las pasturas según tratamiento

Tratamiento	Promedio (g)	EE	Promedio (t·ha <sup>-1</sup> )
T	676,5	127,79	27,1
FQ	601,1	135,96	24,0
EP	633,7	80,94	25,3
DEP	847,6	116,67	33,9

Cuadro 20. Rendimiento (peso seco) de las pasturas según tratamiento

Tratamiento	Promedio (g)	EE	Promedio (t·ha <sup>-1</sup> )
T	184,5	14,45	7,4
FQ	158,2	29,33	6,3
EP	175,4	20,56	7,0
DEP	294,2	45,27	11,8

Si bien el costo por tonelada de MS de las pasturas es bajo, 8,5 USD a 12 USD según Mattera *et al.* (2019), requiere una elevada inversión al momento de la implantación, entre 212 USD y 287 USD (Márgenes Agropecuarios, 2019). Resulta evidente que si la fertilización permite aumentar la productividad de las pasturas, el rendimiento económico será mayor.

Debido al desplazamiento de la ganadería por la agricultura en la región, la reducción de la superficie destinada a la ganadería determinó una alta concentración de animales, que implicó que para mantener la producción fue necesario aumentar la oferta forrajera en cantidad y calidad (Tosi, 2018). García *et al.* (2002) concluyen que la fertilización de cultivos forrajeros permite aumentar la producción por unidad de superficie aumentando la carga animal por hectárea.

Cuadro 21. Valorización de producto en USD ha<sup>-1</sup> por cada tratamiento

Tratamiento	Rinde MS (t ha <sup>-1</sup> )	Leche (l ha <sup>-1</sup> )	Leche (USD ha <sup>-1</sup> )
T	7,38	3854,88	990,70
FQ	6,33	3305,25	849,45
EP	7,02	3664,73	941,83
DEP	11,77	6147,88	1580,00

Al analizar los aportes de DEP al suelo, Salomon *et al.* (2011) encontraron que cuando los efluentes son utilizados una sola vez en el ciclo pueden reemplazar totalmente la aplicación de K y P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> requeridos en un cultivo de caña de azúcar, pero es necesaria una complementación con N. Si bien el comportamiento de la caña de azúcar es distinto al de las pasturas, es destacable e interesante la posibilidad de aumentar el rendimiento con el agregado secuencial de nutrientes.

Cuadro 22. Beneficio económico total de los productos en USD·ha<sup>-1</sup>

	EP	DEP
Nutrientes	31,83	130,13
MO	71,3	56,6
Leche	0	589,3
Total	103,13	776,03

El rendimiento económico de la pastura, expresado en litros de leche, muestra que la aplicación de DEP permitiría obtener 1 580 USD/h, frente a un promedio de 927 USD de los otros tratamientos, incluido el T. Hay que señalar que se evaluó un solo corte, por las características del informe no pudo verse el efecto de los tratamientos sobre el rebrote de noviembre/diciembre. Por su parte, Walsh *et al.* (2012) realizaron un experimento similar al presente estudio. Encontraron que aplicar digeridos al suelo supera o iguala los rendimientos obtenidos con FQ. Pero aún más interesante, es que concluyen que la aplicación de digeridos aumenta la productividad con menor impacto ambiental que los fertilizantes de síntesis química, dado que los digeridos tienen menor potencial de pérdida por lixiviado.

El beneficio económico total muestra que el aporte de una dosis de DEP de 8,4 l·ha<sup>-1</sup> sobre la pastura permitió obtener un beneficio de 776,03 USD/ha, superando ampliamente a los cálculos realizados para FQ y EP. En el caso de EP, su aporte no generó cambios en el rendimiento de la pastura, por eso el valor de obtenido en la conversión a leche es 0.

### 8.2.2.1 Infraestructura

Las excretas líquidas contenidas en un tanque o recipiente hermético se descomponen biológicamente produciendo CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y vapor de agua como subproductos en estado gaseoso. La diferencia principal entre un sistema de digestión abierto y otro cerrado es la eficiencia en la captura de los subproductos, lo que en general debe estar en relación con el objetivo del sistema de tratamiento (Cuadro 23).

Cuadro 23. Tipos y características de sistemas para el manejo de efluentes porcinos

	Tipo	Objetivos principales	Detalle de fase gaseosa
Digestor Anaeróbico	Laguna abierta	Reducción de carga orgánica y olores, intercambio de agua	Venteo de gases a la atmósfera
	Laguna cubierta sin captura de gases	Reducción de carga orgánica y olores	Venteo de gases filtrados previamente (azufre)
	Laguna cubierta con captura de gases	Maximiza captura de gases	Captura de biogás, conversión energética (gas o electricidad). Requiere filtrado de gases (azufre)
	Tanque biodigestor	Reducción carga orgánica y olores. Maximiza captura de gases con calentamiento adicional	Captura de biogás, conversión energética (gas o electricidad). Requiere filtrado de gases (azufre)

Fuente: Maisonnave (2012).

Según un informe del INTI (Instituto Nacional de Tecnología Industrial) sobre 62 plantas relevadas, solo el 6% del total de las plantas de biodigestión han sido instaladas con fines energéticos (FAO, 2019b). Según ese informe, los sustratos más utilizados son los desechos industriales, en un 37,5%; los desechos orgánicos urbanos, en un 28,1%; y la biomasa virgen, que solamente se la utiliza en un 1,6%. La utilización de los subproductos (como fertilizantes orgánicos) no se encuentra aún desarrollada en el país: solo un 36,5% de las instalaciones usa el subproducto líquido con alguna finalidad.

En el informe de FAO (2019b) se detallan los sistemas de tratamiento de efluentes para su utilización encontrados en la Argentina (por orden de frecuencia): mezcla completa, laguna cubierta, flujo pistón, reactores de flujo ascendente y manto de lodos (UASB) y reactor anaeróbico de contacto (RAC). Entre los tipos de mezcla completa y laguna cubierta alcanzan el 65% de la totalidad de las instalaciones. En ese mismo informe, muestran que el 60% de las plantas relevadas dispone de algún sistema de adecuación de los efluentes líquidos y sólidos generados por el proceso de biodigestión anaeróbica, aunque el 21% no reúne las condiciones óptimas de tratamiento o acondicionamiento.

En la zona pampeana, el costo para realización del sistema de tratamiento de efluentes para 200 madres, con separador de sólidos y lagunas aeróbicas y anaeróbicas, varía entre 24000 USD y 39 000 USD (precio de proveedores, agosto 2019), dependiendo del grado de tecnificación buscado. El sistema de mayor eficiencia cuenta con un separador de sólidos mecánico y tres lagunas de tratamiento; mientras que en el sistema de menor costo, la separación se hace por medio de un tanque de sedimentación y cuenta con dos lagunas (Huerga, 2019).

Por otra parte, un sistema de biodigestión de última generación (de origen alemán) para la obtención de energía eléctrica, con un volumen de 18 378 m<sup>3</sup>, tiene un costo de 3 500 000 USD, a lo que hay que sumarles los costos de instalación, gestión, estudios ambientales y habilitación que podrían alcanzar el monto de 1.000.000 USD (precio de proveedores, septiembre 2019).

También existe una versión más económica para la obtención de biogás, que se denomina biodigestores de laguna cubierta (geomembranas flexibles). Se los utiliza principalmente para tratar residuos de explotaciones agropecuarias y de agroindustria, dado que estos establecimientos generan importantes cantidades diarias de residuos, como ser grandes tambos, criaderos de cerdos, establecimientos con gallinas ponedoras en jaulas, residuos sólidos desde plantas de tratamiento de efluentes. El costo de la geomembrana flexible es de 3,1 USD/m<sup>2</sup> y su instalación se acerca a los 1,8 USD/m<sup>2</sup> (precio de proveedores, agosto 2019).

## 8.3 Resultados de los costos y del rendimiento de la aplicación de EP y DEP

En resumen, la aplicación de los efluentes orgánicos permite reducir los costos y sostener, en el caso del EP, o aumentar, en el caso de DEP, los rendimientos económicos, no solo por el ahorro que implica la utilización de los nutrientes disponibles en el efluente crudo y el digerido, que actualmente se están desperdiciando por su vuelco a cauces o bajos, sino también por el beneficio que genera sobre la cantidad de MS por cosechar.

El valor de la infraestructura necesaria para obtener bioenergía y biofertilizante varía dependiendo de las tecnologías para utilizar. El tiempo de recuperación de la inversión debe calcularse con todos los beneficios, directos e indirectos, del sistema. En este estudio no se valoró económicamente el costo de la disposición final de los efluentes, que sería mucho menor si se utilizan parte de estos como fertilizante.

La utilización de los DEP depende de su calidad, inocuidad y bioseguridad. Es necesario iniciar el proyecto evaluando el impacto ambiental de su utilización y controlar los ingresos de material y el nivel de contaminantes de la producción porcina.

Además, es importante considerar la reducción de emisiones producto de la generación de energía renovable y de las que se evitan al dejar de producir esa cantidad a partir de energía fósil. También, devolver los nutrientes al suelo en una forma disponible disminuyendo el uso de los FQ significa un ahorro de la energía que se gasta en producirlos o extraerlos. Todos estos factores contribuyen a la sustentabilidad y sostenibilidad social, económica y ambiental.

## Capítulo 9. Fitotoxicidad y oportunidad de aplicación del digerido porcino

Como ya se mencionó en capítulos anteriores, el producto residual generado en la elaboración de biogás a partir de EP, llamado DEP, puede utilizarse como enmienda de suelo y/o fertilizante para los cultivos, lo que devuelve a los suelos agrícolas una significativa cantidad de macronutrientes vegetales N, P y K, principalmente, y micronutrientes que los animales de granja reciben en la ración, pero que absorben en porcentajes realmente bajos (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012). Este es el caso del N y del P, que son absorbidos por los cerdos en no más de un 30% del valor total recibido en la dieta. A su vez, se han registrado altos contenidos de sales y elementos potencialmente tóxicos, como Zn y Cu, en los EP, los cuales pueden generar efectos negativos sobre la germinación de semillas y el posterior desarrollo y crecimiento de las plantas, lo cual es importante considerar en su utilización como fertilizante o mejorador de las condiciones del suelo (Jeffery y Uren, 1979). Por este motivo se realizan bioensayos de germinación y de crecimiento de plantas, los cuales permiten evaluar la fitotoxicidad de los productos sobre los cultivos (van Gestel *et al.*, 2001; Fjällborg *et al.*, 2005).

Los bioensayos constituyen una herramienta de diagnóstico adecuada para determinar los efectos nocivos sobre las plantas por la aplicación de distintos materiales como potenciales enmiendas orgánicas en suelos. Hernández (2008) manifiesta que a través de los bioensayos se evalúan los efectos adversos de un compuesto puro o de una mezcla compleja en el proceso de germinación y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como respuesta se determina la inhibición de la germinación y de la elongación de la radícula y del hipocótilo. La evaluación del efecto sobre la elongación de la radícula y del hipocótilo de la plántula permite, a su vez, ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que, sin embargo, pueden retardar o inhibir completamente procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo, dependiendo del modo y sitio de acción del compuesto (Sobrero y Ronco, 2004).

La determinación específica de productos y subproductos potencialmente tóxicos es compleja, costosa y necesaria cuando se ha detectado previamente cierto nivel de contaminación. De allí la importancia que adquieren los bioensayos llevados a cabo con especies terrestres, consideradas sensibles (rúcula, lechuga, rabanito, berro, tomate, arroz) que, en un reducido tiempo de exposición, sin requerir equipamiento sofisticado ni altos costos, resultan sumamente útiles para ser aplicados en muestras ambientales o en el monitoreo de procesos de detoxificación, saneamiento, control de efluentes o reutilización de biosólidos, detección de salinidad o presencia de herbicidas en aguas (Lallana *et al.*, 2008).

En digeridos de residuos de la industria vitivinícola se evaluó su fitotoxicidad hacia micrófitos y la afectación por el  $\text{NH}_4^+$  y el Cu del digerido, se observó bioestimulación en bajas dosis para *Sorghum alba* y *Sorghum saccharatum* y varios beneficios al suelo (Da Ros *et al.*, 2018).

Por su parte, Coelho *et al.* (2018) analizaron la composición de once digeridos líquidos anaeróbicos diferentes de Irlanda y Reino Unido en cuanto a fitotoxicidad y elementos potencialmente tóxicos (EPT) en comparación con el digerido estándar irlandés. Los digeridos líquidos anaeróbicos exhibieron diferencia significativa ( $P < 0,001$ ) para la mayoría de los tratamientos evaluados con alta variabilidad encontrados para MS y K (CV=17,2 y 16,8, respectivamente), y menor variación para pH y P (CV=1,78 y 3,55, respectivamente). Las concentraciones de EPT estuvieron dentro de los límites recomendados, de cualquier modo, algunos digeridos mostraron mayores concentraciones que los límites recomendados en el caso del plomo (Pb), Zn y Cu.

Estos mismos autores observaron que los digeridos de las aguas tratadas de los efluentes de animales mostraron ser altos en EPT. Los digeridos anaeróbicos afectaron negativamente los estados tempranos de la germinación de las semillas, pero el efecto decayó en las diluciones con agua.

Una de las especies indicadoras altamente sensible a la aplicación de materiales como los digeridos es el rabanito (*Raphanus sativus*). Entre las características que hacen que este cultivo sea idóneo para la realización de ensayos de fitotoxicidad, se destacan su alta sensibilidad a compuestos fitotóxicos, su rápido crecimiento y que presenta un contacto directo entre el sustrato y el órgano de cosecha, que es la parte comestible (Pisco y Arena, 2006).

El rabanito es una hierba anual o bianual, de raíz carnosa y tallos ramificados de entre 20 a 89 cm de altura. Posee hojas basales en roseta y flores en racimos terminales con pétalos blancos, rosados o violáceos. Se desarrolla bien en climas medios con temperaturas que deberán encontrarse entre los 15 °C y 18 °C, con mínimas de 4 °C y máximas de 21 °C, temperaturas por encima del máximo pueden originar sabores picantes en sus raíces según la variedad. Su ciclo productivo es corto y puede variar entre 20 y 70 días; se adapta a cualquier tipo de suelo, pero lo favorecen suelos profundos y arcillosos, y el pH del suelo deberá encontrarse entre 5,5 y 6,8 (Montero *et al.*, 2006).

Los objetivos del estudio que se presenta en este capítulo fueron: a) Evaluar el efecto fitotóxico de la aplicación de diferentes dosis del digerido anaeróbico en la germinación de semillas de rabanito (*Raphanus sativus*); b) Definir el momento óptimo de aplicación del digerido al suelo para no producir efecto fitotóxico en las plantas y favorecer su germinación y crecimiento.

## 9.1 Estudio del efecto fitotóxico

Para la realización de los bioensayos se utilizó un DEP obtenido a partir del tratamiento de un EP crudo obtenido de un establecimiento productivo intensivo con sistema *slat*. La digestión anaeróbica se realizó en un reactor anaeróbico semicontinuo mesofílico (35 °C) de mezcla completa, a escala piloto (volumen= 200 l).

Se realizaron dos bioensayos. El primero fue para evaluar el efecto fitotóxico de la aplicación de diferentes dosis del digerido anaeróbico en la germinación de semillas de rabanito (*Raphanus sativus*), y consistió en un bioensayo de germinación en laboratorio. El segundo fue para definir el momento óptimo de aplicación del digerido al suelo para no producir efecto fitotóxico en las plantas y favorecer su germinación y crecimiento, por eso, se realizó un bioensayo de crecimiento de plantas en macetas en invernáculo utilizando también rabanito.

Previamente a la realización de los bioensayos se realizó una prueba del poder germinativo de las semillas del cultivo indicador (rabanito).

### 9.1.1 Prueba del poder germinativo de las semillas

Se considera que una semilla posee buen poder germinativo cuando el porcentaje de las semillas germinadas es mayor al 90% y tiene baja variabilidad de la elongación de la radícula (coeficiente de variabilidad < 30%) (Sobrero y Ronco, 2004). Para realizar esta prueba se seleccionaron semillas del mismo tamaño y se colocaron en cajas de Petri con papel de filtro (4 cajas de Petri con 25 semillas cada una) (Imagen 24). Se llevaron a cámara oscura con temperatura de 22 °C ( $\pm 2^\circ$ ) por cinco días y se regaron con agua destilada. La semilla fue considerada germinada cuando se observó la aparición de la radícula.

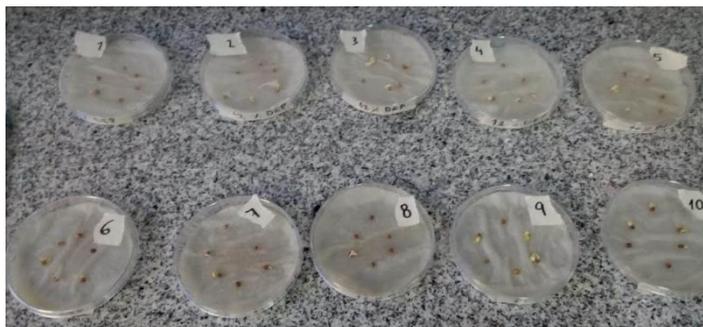
Imagen 24. Prueba del poder germinativo de las semillas



### 9.1.2 Bioensayo de germinación en laboratorio

El bioensayo se realizó en placas de Petri con un diseño de bloques completamente aleatorizados (DBCA) con 10 repeticiones (Imagen 25). Los tratamientos correspondieron a distintas diluciones de digerido porcino (1,5% DEP, 3% DEP, 6% DEP, 12% DEP, 25% DEP) y un tratamiento control con agua destilada (0%, T). Se colocaron 10 semillas en cada placa de Petri, las distintas diluciones de los residuos fueron aplicadas a cada placa de Petri y se las llevó a cámara a 22 °C ( $\pm 2^\circ$ C) por cinco días, manteniendo la humedad. Durante este período fueron observadas y registradas las alteraciones en la germinación y el número de semillas germinadas cada día. A los cinco días de iniciado el experimento, se evaluaron el número de semillas germinadas y la longitud de la radícula y del hipocótilo en cada uno de los tratamientos aplicados. Se calcularon: el porcentaje de germinación relativo (PGR), el índice de crecimiento relativo de la radícula (ICRr) y del hipocótilo (ICRh), el índice de germinación (IG), la velocidad de germinación y la curva dosis repuesta.

Imagen 25. Bioensayo de germinación en placas de Petri



### 9.1.2.1 Porcentaje de germinación relativo

El PGR es una determinación que relaciona el número promedio de semillas germinadas en cada tratamiento con el número promedio de semillas germinadas en el control por cien. Se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{PGR (\%)} = \frac{\text{SGT}}{\text{SGC}} \times 100$$

Donde

SGT: Número promedio de semillas germinadas con aplicación de la concentración del digerido (tratamiento).

SGC: Número promedio de semillas germinadas en el control.

### 9.1.2.2 Índice de crecimiento relativo de la radícula y del hipocótilo

El ICRr se calcula para cada tratamiento relacionando el largo promedio de la radícula de las semillas con aplicación de la dosis del digerido con el largo promedio de la radícula de las semillas del control (Imagen 26).

$$\text{ICRr} = \frac{\text{LRT}}{\text{LRC}}$$

Donde:

LRT: Largo promedio de la radícula de las semillas con aplicación de la dosis del digerido (tratamiento).

LRC: Largo promedio de la radícula de las semillas del control.

De igual manera, el ICRh se calcula para cada tratamiento relacionando el largo promedio del hipocótilo de las semillas con aplicación de la dosis del digerido con el largo promedio del hipocótilo de las semillas del control.

$$\text{ICRh} = \frac{\text{LHT}}{\text{LHC}}$$

Donde

LHT: Largo promedio del hipocótilo de las semillas con aplicación de la dosis del digerido (tratamiento).

LHC: Largo promedio del hipocótilo de las semillas del control.

Imagen 26. Medición del largo de la radícula



En la Cuadro 24 se presenta el efecto sobre el crecimiento de la radícula y del hipocótilo según los valores de ICRr e ICRh.

Cuadro 24. Valores del ICRr y del ICRh, y su correspondiente efecto sobre el crecimiento

ICRr e ICRh	Efecto sobre el crecimiento de la radícula y del hipocótilo
0 - 0,8	Inhibición en crecimiento
0,81 - 1,2	Sin efectos significativos
> 1,2	Estimulación del crecimiento

### 9.1.2.3 Índice de germinación

El IG utilizado por diversos autores (Zucconi *et al.*, 1981; Tiquia, 2000; Emino y Warman, 2004) constituye un parámetro sensible y completo para determinar la fitotoxicidad de residuos orgánicos (Gómez Sánchez, 2011). Este se determina integrando el PGR y el ICRr medidos a los cinco días de iniciado el ensayo. Por su parte, Zucconi *et al.* (1981) establecen el siguiente criterio de interpretación: valores de IG > 80% indicarían que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración; si el IG es de < 50%, indicaría que hay una fuerte presencia de sustancias fitotóxicas y si se obtiene un valor entre 50% y 80%, se interpretaría como la presencia moderada de estas sustancias (Cuadro 25). El IG es capaz de mostrar tanto la baja toxicidad, la cual afecta el crecimiento de la radícula, como la alta toxicidad, la cual afecta la germinación (Zucconi *et al.*, 1981).

$$IG (\%) = \frac{LRT \times SGT}{LRC \times SGC} \times 100$$

Donde

LRT: Largo promedio de la radícula de las semillas con aplicación de la dosis del digerido (tratamiento).

LRC: Largo promedio de la radícula de las semillas del control.

SGT: Número promedio de semillas germinadas con aplicación de la concentración del digerido (tratamiento).

SGC: Número promedio de semillas germinadas en el control.

Cuadro 25. Valores del índice de germinación y su correspondiente efecto sobre la germinación

IG	Efecto fitotóxico sobre la germinación
< 50%	Severo
50%-80%	Moderado
> 80%	Bajo o nulo

Fuente: Zucconi *et al.*, (1981).

### 9.1.2.4 Velocidad de germinación

La velocidad de germinación se calcula siguiendo la fórmula de Maguire (1962):

$$\text{Velocidad de germinación} = X1 + \frac{X2 - X1}{Y2 - Y1} + \dots + \frac{Xn - Xn-1}{Yn - Yn-1}$$

Donde

X1, X2, Xn son número de semillas germinadas al 1.<sup>er</sup>, 2.<sup>do</sup>, n días de la siembra.

Y1, Y2, Yn son número de días desde la siembra al 1.<sup>er</sup>, 2.<sup>do</sup>, n días en que se realizó el conteo.

### 9.1.2.5 Curva de dosis-respuesta

La curva de dosis-respuesta es la relación entre el porcentaje de inhibición de la germinación de semillas de rabanito (eje y) y las diferentes concentraciones del digerido (tratamientos) (eje x). La relación dosis-respuesta constituye la base para la evaluación del peligro y del riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente. Dichas relaciones muestran, en general, patrones no rectilíneos de tipo sigmoide (Díaz Baez *et al.*, 2004).

## 9.2 Bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo

El bioensayo se realizó en macetas en el invernáculo del Instituto de Suelos con un DBCA de 4 tratamientos con 10 repeticiones. Los tratamientos correspondieron a distintos momentos de aplicación de dosis de DEP y de FQ nitrogenado (urea) equivalentes a 120 kg N ha<sup>-1</sup>, utilizando semillas del cultivo indicador (*Raphanus sativus*) (Imagen 27).

Los tratamientos aplicados fueron:

- DEP 3APS: 3 aplicaciones de DEP previas a la siembra (15, 10 y 5 días antes de la siembra con dosis dividida en 3);
- DEP 1APS: 1 aplicación de DEP previa a la siembra (5 días antes de la siembra con dosis completa);
- DEP 1+2AyD: 1 aplicación previa a la siembra y 2 aplicaciones durante el cultivo de DEP (5 días antes de la siembra y 2 aplicaciones después de la siembra, a los 10 y 20 días de la siembra con dosis dividida en 3);
- FQ: aplicación de urea 1 día antes de la siembra;
- T: testigo, sin aplicación.

Imagen 27. Aplicación del digerido de efluente porcino



El sustrato utilizado estuvo conformado por 1/3 de suelo + 1/3 de perlita + 1/3 de turba (Imagen 28), una vez armadas las macetas, se regaron hasta alcanzar el 70% de la capacidad de retención de agua. Se sembraron 6 semillas del cultivo indicador *Raphanus sativus* por maceta y estas fueron mantenidas en condiciones de humedad óptima para el crecimiento de las plantas (Imagen 29). La cosecha de las plantas fue realizada a los 30 días de la siembra.

Imagen 28. Preparación del sustrato



Imagen 29. Macetas con cultivo de rabanito



Luego del ensayo, se realizó las siguientes evaluación de los siguientes aspectos: el porcentaje de emergencia relativo (PER), la velocidad de emergencia, el número de hojas verdaderas, la altura de la planta, el peso húmedo de la biomasa cosechada, la presencia de plagas, enfermedades y fisiopatías, la longitud parte aérea, y la longitud parte radical a cosecha.

### 9.2.1 Porcentaje de emergencia relativo

Es una determinación que relaciona el número promedio de semillas emergidas a los diez días en cada tratamiento con el número promedio de semillas emergidas en el control por cien. El PER se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{PER (\%)} = \frac{\text{SET}}{\text{SEC}} \times 100$$

Donde

SET: Número promedio de semillas emergidas con aplicación de la concentración del digerido (tratamiento).

SEC: Número promedio de semillas emergidas en el control.

### 9.2.2 Velocidad de emergencia

La velocidad de emergencia fue calculada siguiendo la fórmula de Maguire (1962):

$$\text{Velocidad de emergencia} = \frac{X_1}{Y_1} + \frac{X_2 - X_1}{Y_2} + \dots + \frac{X_n - X_{n-1}}{Y_n}$$

Donde

X1, X2, Xn son el número de semillas emergidas al 1.<sup>er</sup>, 2.<sup>do</sup>, n días de la siembra.

Y1, Y2, Yn son los números de días desde la siembra al 1.<sup>er</sup>, 2.<sup>do</sup>, n días en que se realizó conteo.

### 9.2.3 Número de hojas verdaderas

Se determinó contando el número de hojas plenamente desarrolladas en cada planta a los 20 días de la siembra.

### 9.2.4 Altura de la planta

Se midió la altura de las plantas con una regla milimétrica a los 20 días de la siembra tomando como origen el nivel del sustrato y como altura el extremo apical de la planta.

### 9.2.5 Peso húmedo de la biomasa cosechada

Las plantas fueron cosechadas y lavadas. Posteriormente fueron pesadas para obtener el peso húmedo (Imagen 30).

Imagen 30. Cosecha y pesaje de las plantas



### 9.2.6 Presencia de plagas, enfermedades y fisiopatías

Se evaluó de forma visual observando signos y síntomas y el estado de las plantas durante el ciclo de crecimiento del cultivo.

### 9.2.7 Longitud parte aérea y longitud parte radical al momento de la cosecha

Las plantas completas (parte aérea y radical) fueron retiradas de las macetas y lavadas para quitarles el sustrato. Luego se midió la longitud de la parte aérea y de la parte radical (Imagen 31).

Imagen 31. Medición de la longitud de la parte aérea y de la parte radical de las plantas



## 9.3 Resultados de la evaluación del poder germinativo

Según el ensayo realizado para la evaluación del poder germinativo, el porcentaje de semillas germinadas fue del 95% y presentó una variabilidad de la elongación de la radícula del 8%, indicando la buena aptitud de las semillas para realizar el experimento.

## 9.3.1 Bioensayo de germinación en laboratorio

### 9.3.1.1 Porcentaje de germinación relativo

De acuerdo a los resultados obtenidos (Gráfico 41 e Imagen 32), se observó un efecto fitotóxico severo en las semillas tratadas con un 25% DEP, mientras que las semillas tratadas con un 12% DEP presentaron un efecto fitotóxico moderado. Los tratamientos 6% DEP, 3% DEP y 1,5% DEP no mostraron efecto de fitotoxicidad, ni presentaron diferencias entre ellos. En el tratamiento 25% DEP, las semillas no germinaron. Estos resultados indican que el aumento de la dilución del DEP redujo su efecto fitotóxico sobre la germinación de las semillas tratadas.

Gráfico 41. Porcentaje de germinación relativa para las distintas dosis de digerido de efluente porcino estudiadas

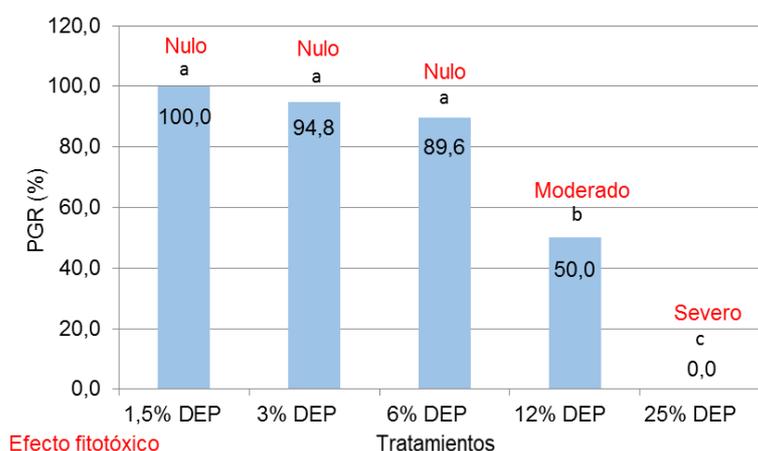
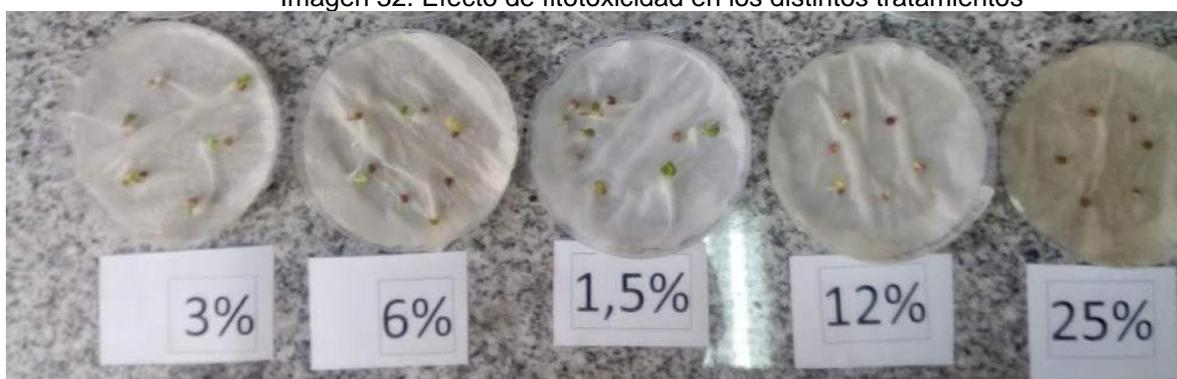


Imagen 32. Efecto de fitotoxicidad en los distintos tratamientos

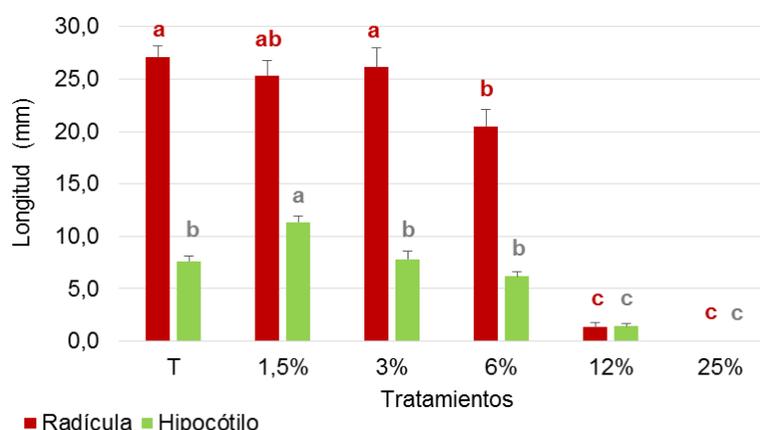


### 9.3.1.2 Longitud de radícula e hipocótilo

En el Gráfico 42 se presentan la longitud de la radícula y del hipocótilo. Según se observa en dicho gráfico, para la radícula, los tratamientos T y 3% presentaron los mayores valores sin diferencias estadísticas entre ambos, seguidos por los tratamientos 1,5% y 6%, también sin diferencias estadísticas entre ambos. El tratamiento de 12% presentó el menor valor de longitud de radícula. En tanto que, para el tratamiento de 25% no se observó presencia de este órgano.

Para el hipocótilo el mayor valor correspondió al tratamiento 1,5%, el cual presentó una longitud de radícula mayor al tratamiento T. Los tratamientos T, 3% y 6% presentaron valores intermedios, y el de 12%, el menor valor. Sin registrarse presencia de hipocótilo en el tratamiento de 25%.

Gráfico 42. Longitud de radícula e hipocótilo para las distintas dosis de digerido de efluente porcino estudiadas y el testigo



### 9.3.1.3 Índice de crecimiento relativo de la radícula y del hipocótilo

Según se observa en la Cuadro 26, las dosis por encima del 3% DEP afectan el crecimiento de la radícula, generando inhibición en su crecimiento.

En el caso del crecimiento del hipocótilo, se detectó una estimulación en el crecimiento con dosis de 1,5% DEP, mientras que dosis de 12% DEP y 25% DEP generaron el efecto contrario, inhibiendo el crecimiento (Cuadro 27).

Cuadro 26. ICRr y efecto sobre el crecimiento de la radícula para las distintas dosis de DEP estudiadas

Tratamientos	ICRr	Efecto sobre el crecimiento de la radícula
1,5% DEP	0,93 ( $\pm$ 0,05)	Sin efecto
3% DEP	0,97 ( $\pm$ 0,07)	Sin efecto
6% DEP	0,76 ( $\pm$ 0,06)	Inhibición
12% DEP	0,05 ( $\pm$ 0,02)	Inhibición
25% DEP	0,00	Inhibición

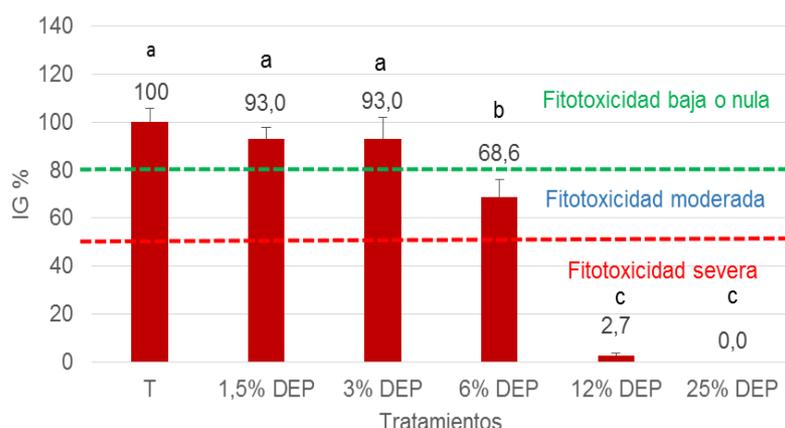
Cuadro 27. ICRh y efecto sobre el crecimiento del hipocótilo para las distintas dosis de DEP estudiadas

Tratamientos	ICRh	Efecto sobre el crecimiento el hipocótilo
1,5% DEP	1,49 ( $\pm$ 0,07)	Estimulación
3% DEP	1,03 ( $\pm$ 0,11)	Sin efecto
6% DEP	0,81 ( $\pm$ 0,06)	Sin efecto
12% DEP	0,19 ( $\pm$ 0,03)	Inhibición
25% DEP	0,00	Inhibición

### 9.3.1.4 Índice de germinación

En el Gráfico 43 se presentan los IG calculados para cada tratamiento. Los tratamientos T, 1,5% DEP y 3% DEP presentaron los mayores IG sin diferencias significativas entre ellos, observándose un efecto de fitotoxicidad baja o nula. El tratamiento 6% DEP presentó una fitotoxicidad moderada sobre la germinación. En cambio, para los tratamientos 12% DEP y 25% DEP la fitotoxicidad fue severa, observándose inhibición total en la germinación en el último tratamiento.

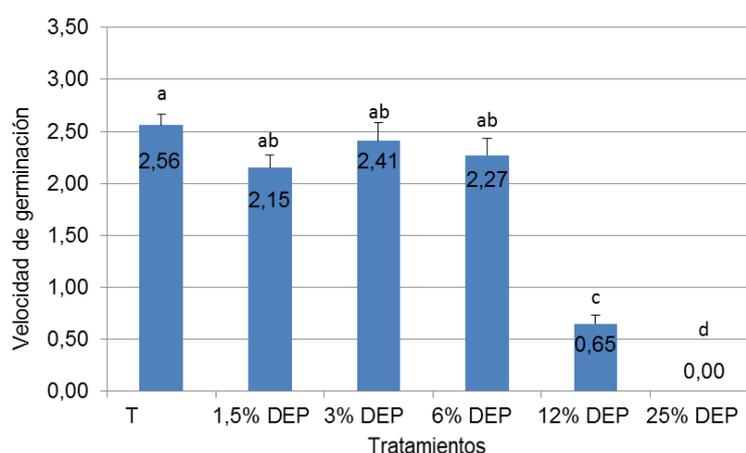
Gráfico 43. Índice de germinación para las distintas dosis de DEP estudiadas y el T



### 9.3.1.5 Velocidad de germinación

En el Gráfico 44 se observa que los tratamientos 1,5% DEP, 3% DEP y 6% DEP mostraron valores de velocidad de germinación mayores sin diferencias significativas respecto del T, mientras que el tratamiento 12% DEP presentó efectos negativos sobre la velocidad de germinación con diferencias significativas respecto del T y de los tratamientos 1,5% DEP, 3% DEP y 6% DEP. Para el tratamiento 25% DEP no se observan valores porque no hubo germinación de semillas.

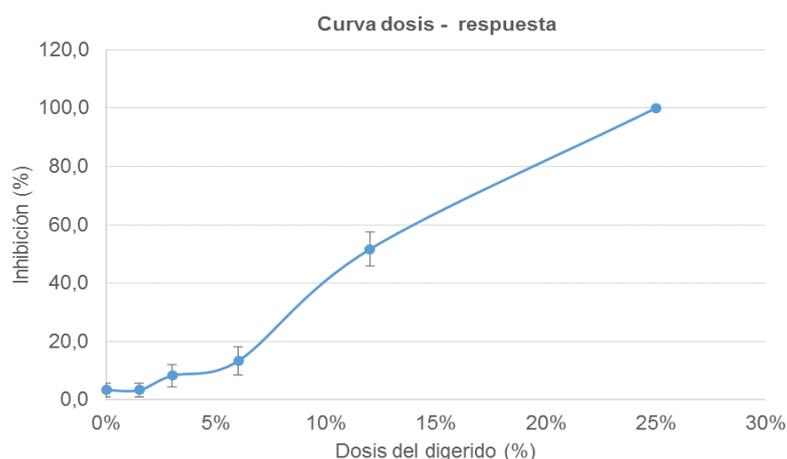
Gráfico 44. Velocidad de germinación para las distintas dosis de DEP estudiadas y T



### 9.3.1.6 Curva dosis-respuesta

Según se observa en el Gráfico 45, a medida que se incrementó la concentración de DEP, aumentó el porcentaje de inhibición de la germinación. La curva presenta un importante incremento en la inhibición con dosis de DEP por encima del 6%.

Gráfico 45. Curva dosis-respuesta para las distintas dosis de DEP estudiadas y el T



El bioensayo de germinación en laboratorio mostró que, en términos generales, dosis superiores a un 6% de DEP presentan efectos negativos o fitotóxicos sobre los cultivos, afectando parámetros como el porcentaje de germinación relativa, velocidad de emergencia y longitud de hipocótilo y radícula. Este efecto podría ser asociado a la alta CE y al alto contenido de los elementos Cu y Zn observados en el digerido estudiado (Cuadro 1, capítulo 1). Según Brenchley y Probert (1998), la salinidad limita la germinación de muchas especies vegetales a través de efectos osmóticos o a través de toxicidad producida por aniones. Boluda *et al.* (2011) reportaron que niveles de salinidad mayores a 2,0-2,6 mS cm<sup>-1</sup> en efluentes pueden inhibir el número de semillas germinadas de *Lactuca sativa* y retardar el proceso de germinación. Además, correlaciones negativas entre la CE y la elongación de la raíz han sido también detectadas por Tam y Tiquia (1994) quienes utilizaron semillas de lechuga (*L. sativa*), repollo (*Brassica parachinensis*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*). Varios autores (Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Pivato *et al.*, 2016; Tigini *et al.*, 2016) observaron correlación positiva entre la inhibición de la germinación y altos niveles de CE en los digeridos aplicados. Esto puede ser asociado a altas concentraciones de sodio, cloro, amonio y también metales. En relación con metales en

digeridos, igual a lo observado en este estudio, Cu y Zn son los más recurrentes (Albuquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.*, 2012; Teglia *et al.*, 2011).

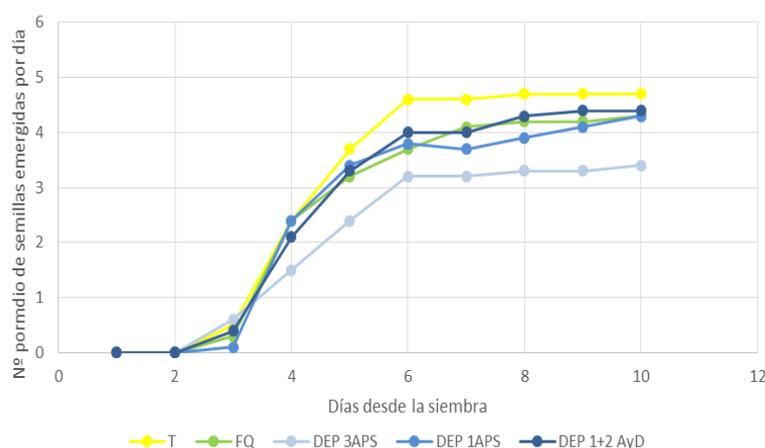
Por otro lado, se observó en este ensayo, un mayor crecimiento del hipocótilo con aplicación de la dosis de 1,5% DEP. Este hecho podría deberse a un efecto estimulante de aplicación de dosis de digerido con baja CE. Filidei *et al.* (2003) reportaron correlación positiva entre la conductividad y la germinación utilizando semillas de *Lepidium sativum* expuestas a efluentes de producción de aceite de oliva, debido a la baja conductividad de los efluentes utilizados en ese estudio.

## 9.4 Resultados del bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo

### 9.4.1 Número promedio de semillas emergidas por día

En el Gráfico 46 se observa que el patrón general de número de semillas emergidas por día sigue la misma tendencia en los cuatro tratamientos evaluados y en T. Respecto de los tratamientos DEP 1 APS, DEP 1+2 AyD y FQ presentaron un número promedio de 4,5 semillas emergidas al terminar el ensayo (diez días), mientras que el tratamiento DEP 3 APS presentó un promedio de 3,3 semillas. El T, por su parte, fue el que contó con mayor número promedio de semillas emergidas: 4,7.

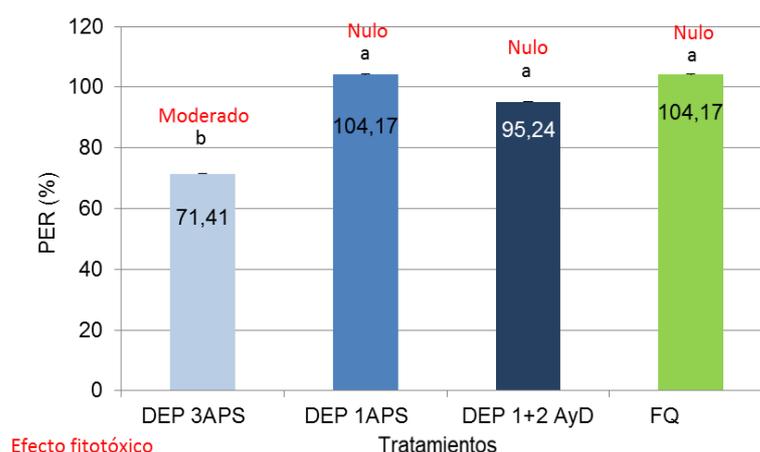
Gráfico 46. Número promedio de semillas emergidas por día en los distintos tratamientos y el T



## 9.4.2 Porcentaje de emergencia relativo

Respecto del PER (Gráfico 47) no se observó efecto fitotóxico ni diferencias entre los tratamientos DEP 1APS, DEP 1+2 AyD y FQ. El tratamiento DEP 3APS presentó un efecto fitotóxico moderado y una diferencia significativa en su PER, en comparación con los otros 3 tratamientos.

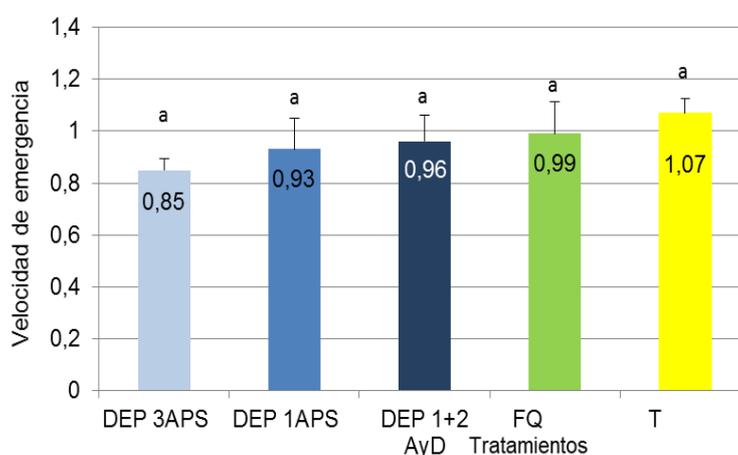
Gráfico 47. Porcentaje de emergencia relativo en los distintos tratamientos



## 9.4.3 Velocidad de emergencia

Al analizar la velocidad de emergencia no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Gráfico 48).

Gráfico 48. Velocidad de emergencia en los tratamientos y T

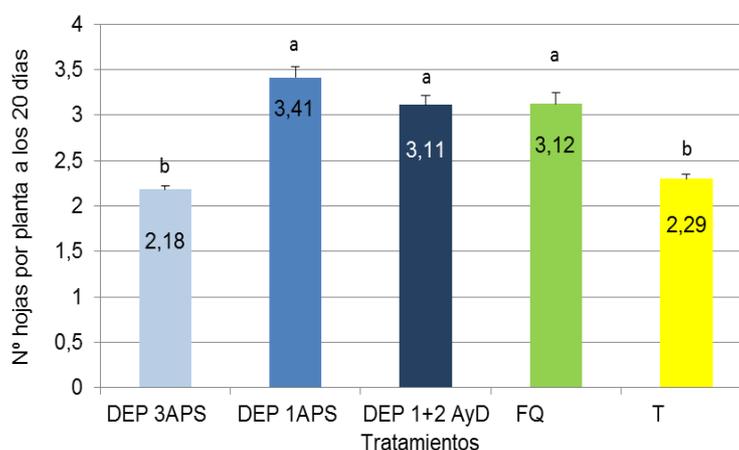


### 9.4.4 Número de hojas verdaderas

En el Gráfico 49 se presenta el número de hojas verdaderas por planta evaluado a los 20 días de la siembra. Los tratamientos FQ, DEP 1APS y DEP 1+2 AyD presentaron el mayor número de hojas por planta a los 20 días, con un promedio de 3,21, sin diferencias significativas entre tratamientos.

El T y el tratamiento DEP 3 APS mostraron menor número de hojas sin diferenciarse estadísticamente entre sí, pero con diferencias significativas respecto a los otros 3 tratamientos.

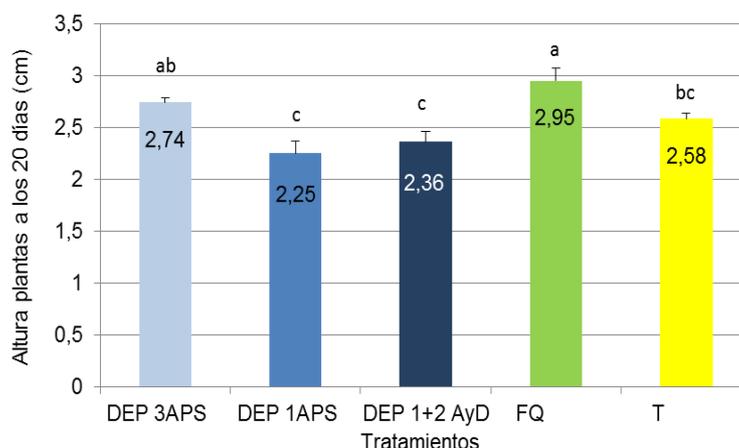
Gráfico 49. Número de hojas por planta a los 20 días de siembra



### 9.4.5 Altura de plantas

En el Gráfico 50 se observa que la altura de plantas a los 20 días fue significativamente mayor en el tratamiento FQ, seguido por el DEP 3APS, sin diferencias significativas entre ambos. Por su parte, DEP 1APS y DEP 1+2AyD presentaron los menores valores en la altura de las plantas.

Gráfico 50. Altura de plantas a los 20 días de la siembra en los tratamientos



### 9.4.6 Presencia de plagas, enfermedades y fisiopatías

No se observó presencia de plagas, enfermedades, ni fisiopatías durante el desarrollo del ensayo.

### 9.4.7 Peso húmedo de la biomasa a cosecha

En el Gráfico 51 se presenta el peso húmedo de la biomasa a cosecha (rendimiento) para los distintos tratamientos evaluados. El tratamiento DEP 1+2 AyD presentó mayor peso húmedo a cosecha en comparación con la totalidad de los tratamientos restantes. Esto podría deberse a un mejor aprovechamiento de los nutrientes postemergencia, cuando la fotosíntesis estaba activa. En segundo lugar, lo sigue el tratamiento DEP 1 APS. Los tratamientos DEP 3 APS y T presentaron menor peso húmedo respecto del tratamiento DEP 1+2 AyD, y una leve diferencia no significativa respecto del tratamiento DEP 1 APS. FQ presentó el menor peso húmedo en relación con todos los tratamientos, con diferencias significativas respecto del T y el tratamiento DEP 1+2AyD. En las Imágenes 33 y 34 se presenta el desarrollo del cultivo en los distintos tratamientos evaluados.

Gráfico 51. Peso húmedo biomasa a cosecha en los distintos tratamientos y T

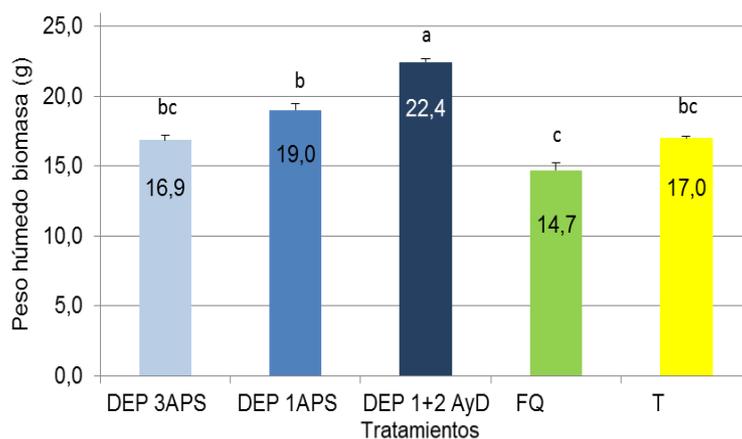


Imagen 33. Macetas del cultivo de rabanito en los distintos tratamientos y T

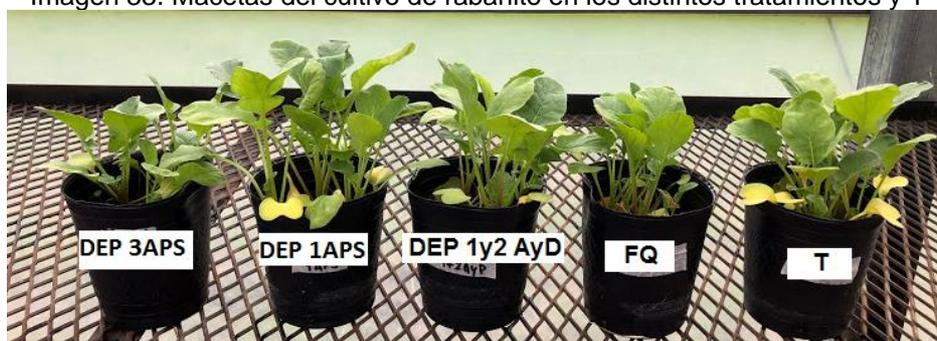


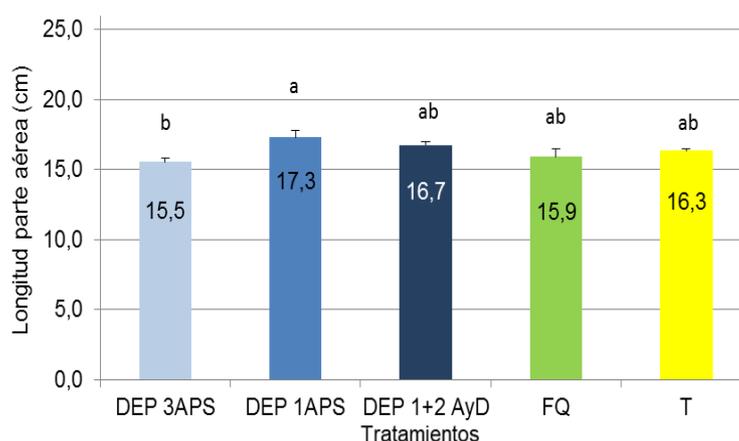
Imagen 34. Cultivo de rabanito en los diferentes tratamientos y T



### 9.4.8 Longitud parte aérea a cosecha

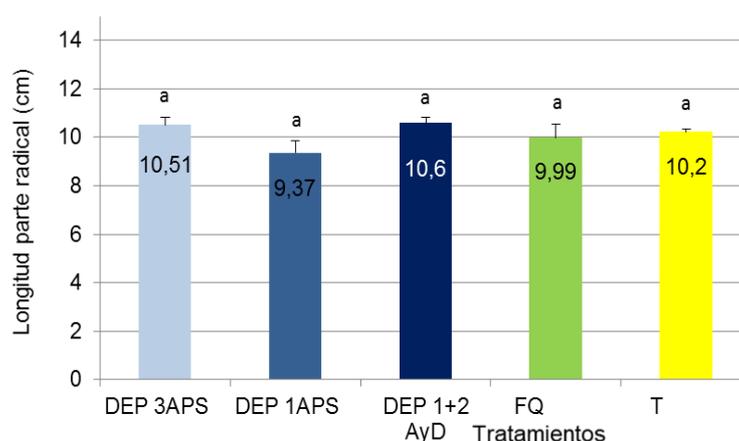
En el Gráfico 52 se representa la longitud de la parte aérea a cosecha. Según se observa, el tratamiento DEP 1APS presentó la mayor longitud. En cambio, el tratamiento DEP 3APS presentó el menor valor, con diferencias significativas entre ambos. Los demás tratamientos (DEP 1+2 AyD, FQ y T) se encontraron en los valores intermedios.

Gráfico 52. Longitud parte aérea a cosecha en los distintos tratamientos y T



La longitud de la parte radical fue similar en todos los tratamientos, sin observarse diferencias significativas entre ellos (Gráfico 53).

Gráfico 53. Longitud parte radical a cosecha en los distintos tratamientos y T



Respecto del bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en macetas, el tratamiento DEP 3APS presentó valores bajos para las variables número de semillas germinadas por día, PER, número de hojas verdaderas, peso húmedo de la biomasa a cosecha y longitud de la parte aérea. Este tratamiento parece generar un efecto negativo, indicando que si bien la dosis total es la misma para los 3 tratamientos con DEP, el mayor período de contacto entre el sustrato y el digerido previo a siembra podría tener un efecto negativo sobre los parámetros mencionados.

Por su parte, los tratamientos DEP 1APS, DEP1+2 AyD y FQ presentaron un comportamiento similar para las variables número de semillas germinadas por día, PER, velocidad de emergencia, número de hojas por planta y longitud parte aérea a cosecha. Esto indicaría que aplicaciones más cercanas a la siembra y luego de ella permiten un mejor aprovechamiento de los nutrientes presentes en el DEP, con un comportamiento similar a la aplicación del FQ nitrogenado. A su vez, al analizar el resultado de rendimiento (peso húmedo a cosecha), se detectó que el tratamiento DEP 1+2 APS presentó el valor más alto (inclusive mayor a FQ y T), lo cual apoyaría esta teoría. Estos resultados indican una estimulación del crecimiento del cultivo o incluso efectos de estos materiales semejantes a las fitohormonas. Similares resultados fueron observados por Alburquerque, de la Fuente, Ferrer-Costa *et al.* (2012) al evaluar el potencial fertilizante de DEP y residuos agrícolas y agroindustriales aplicados en bioensayos con berro y lechuga.

Por su parte, respecto al momento de aplicación, similar a lo observado en este estudio, Mórtoła *et al.* (2018) recomiendan la aplicación de DEP en un período mayor a los cinco días previos a la siembra, con el objetivo de evitar la inhibición o retraso en la germinación de las semillas y el contacto con plantas jóvenes.

A pesar de la dificultad de relacionar los resultados de un bioensayo de germinación con la concentración de uno o más contaminantes específicos de una matriz compleja como es el digerido, se observó que, en términos generales, dosis superiores a un 6% de DEP presentan efectos negativos o fitotóxicos sobre los cultivos, afectando así parámetros como el porcentaje de germinación relativa, velocidad de emergencia y longitud de hipocótilo y radícula. Este efecto podría ser asociado a la alta CE y alto contenido de los elementos Cu y Zn observados en el digerido estudiado. Por otra parte, se observó que a dosis bajas del digerido (1,5%) se estimuló el crecimiento del hipocótilo.

Según el bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo, el digerido estudiado aplicado al sustrato presentó un alto valor potencial como fertilizante. Según este estudio, aplicaciones del digerido con la dosis probada, cinco días antes a la siembra y durante el desarrollo del cultivo no presentan riesgo de producir efectos fitotóxicos en las plantas y favorecen su germinación y crecimiento.

## Conclusiones

Según los resultados obtenidos, bajo las condiciones planteadas a lo largo de esta publicación, se concluye que el digerido anaeróbico resultante del tratamiento de un EP para la obtención de biogás presentó potencial para ser utilizado como biofertilizante. Como se pudo ver en los diferentes capítulos, el uso del DEP logró incrementar los rendimientos de la pastura en un 70% respecto al resto de los tratamientos (T, con aplicación de FQ y con aplicación de EP), sin afectar negativamente la calidad de los parámetros edáficos evaluados. Sin embargo, la aplicación del DEP generó tasas de emisión de  $N_2O$  aproximadamente 5 veces mayores que el suelo con aplicación de FQ, por lo que debe ser considerado debido a su efecto sobre el cambio climático. La mayor emisión de  $N_2O$  acumulada a lo largo del ensayo desde el suelo con aplicación de los materiales evaluados (EP y DEP) posiblemente se relacionó al alto contenido de N y C fácilmente disponibles para los microorganismos del suelo. De estos resultados se concluye que el tratamiento de digestión anaeróbica del EP no incrementó la emisión de  $N_2O$  desde el suelo respecto del EP crudo. Sin embargo, ambos materiales mostraron emisiones de  $N_2O$  altamente superiores a las observadas en el suelo con aplicación de FQ. Cuando el contenido de N en el suelo excede el tomado por el cultivo, se incrementa el riesgo de emisión de  $N_2O$ ; por lo tanto, una alternativa para mitigar la emisión de  $N_2O$  podría ser el fraccionamiento en la aplicación de estos materiales orgánicos o el ajuste del momento de aplicación con el momento de mayor requerimiento del cultivo. Otras prácticas recomendables para evitar las pérdidas de N por volatilización son la incorporación al suelo a través de la inyección y la regulación del pH del digerido, el cual influye fuertemente las emisiones.

Teniendo en cuenta la heterogeneidad en la composición que presentan los diferentes digeridos obtenidos mediante la digestión anaeróbica, surge la importancia de realizar una adecuada caracterización de estos materiales con énfasis en sus atributos generales, contenido de MO, composición de macro y micronutrientes y presencia de patógenos, lo cual permitirá identificar sus potencialidades y limitaciones asociadas a la aplicación de estos materiales al suelo.

El digerido utilizado en los estudios de esta publicación presentó óptimas condiciones de higienización para su aplicación para uso agrícola, evidenciando que el proceso anaeróbico

fue capaz de remover la carga patogénica presente en los EP, generando ventajas respecto al grado de higienización del residuo/efluente a tratar; y minimizando los riesgos de su manipulación.

Una vez aplicado el digerido al suelo, y transcurridas dos semanas, el tratamiento con aplicación de digerido mostró un significativo valor como fertilizante aumentando las concentraciones de P, K y nitrato en el suelo. El mayor contenido de estos elementos nutritivos fue probablemente el principal responsable del aumento en el rendimiento de la pastura bajo este tratamiento. Dos meses después de la aplicación de los tratamientos, se encontraron mayores valores de C lábil y contenidos de Co y Zn en el tratamiento con aplicación de digerido porcino. También se registró un incremento en los valores de CE del suelo, los cuales si bien se mantuvieron dentro del rango óptimo para el crecimiento de los cultivos, deben ser monitoreados en aquellos casos donde se apliquen dosis continuas, a fin de evitar un efecto negativo que conlleve a la progresiva salinización del suelo. Del mismo modo, debería monitorearse el posible incremento en los contenidos de Co y Zn que podría ocurrir por aplicaciones sucesivas del digerido, ya que podría constituir un riesgo si se alcanzaran niveles considerados contaminantes para el ambiente.

El efecto de la aplicación de DEP al suelo sobre la comunidad microbiana medido a los 15 días posteriores a su aplicación muestra una disminución en la actividad y diversidad funcional microbiana y de la actividad ureásica. Sin embargo, a los dos meses, no se observaron diferencias significativas en la actividad microbiana entre tratamientos medida como respiración del suelo, con una tendencia hacia mayores valores para el DEP, probablemente relacionada con el incremento en rendimiento de la pastura y el consecuente incremento en C lábil. Sobre la base de estos resultados, parece ser que la aplicación del digerido produce un efecto negativo a corto plazo sobre la comunidad microbiana, pero luego tiende a desaparecer con el transcurso del tiempo y el desarrollo del cultivo. Considerando la importancia de los microorganismos como pieza clave para el adecuado funcionamiento de los suelos y en función de los resultados preliminares, se sugiere intensificar en futuras investigaciones, el estudio del impacto de la aplicación de digeridos a suelos sobre la microbiota edáfica en el corto, mediano y largo plazo.

Respecto de las propiedades físicas del suelo, el período de ensayo resultó muy corto para la detección de diferencias significativas desde un punto de vista estadístico. De todas maneras, los cambios inducidos por los tratamientos con aplicaciones de EP y DEP

tendieron a favorecer las principales características hídricas del suelo, aumentando la retención de agua útil y el movimiento de agua en el perfil, aspectos claves como variables determinantes de la producción agropecuaria. Esto sugiere la necesidad de realizar ensayos de larga duración que permitan evaluar la potencialidad de los digeridos como enmienda mejoradora de suelo.

Según el análisis económico realizado, la aplicación de los materiales orgánicos evaluados permitió reducir los costos y sostener, en el caso del EP, o aumentar, en el caso del DEP, los rendimientos económicos, no solo por el ahorro que implica la utilización de los nutrientes disponibles en el efluente crudo y el digerido, sino también por el beneficio que genera sobre la cantidad de MS para cosechar, que como se pudo ver en esta publicación, se tradujo en un incremento relativo del 70% mediante la aplicación del digerido sobre el resto de los tratamientos evaluados. Estudios futuros deberían incluir mayor número de factores involucrados en la generación de los costos a fin de poder obtener un valor representativo de los beneficios y márgenes económicos que pueden lograrse al reemplazar parte o la totalidad del uso de FQ, por el uso de digeridos. La obtención de estos datos es crucial para incentivar a los productores en la reutilización de los residuos generados en sus establecimientos, minimizando de esta manera el impacto ambiental que implica la disposición final o vuelco de estos materiales a suelos o cursos de agua.

Otro aspecto importante para considerar previo a la aplicación de digeridos al suelo es su potencial efecto fitotóxico, para lo que resulta imprescindible la realización de bioensayos. En el estudio del Capítulo 9, al trabajar con diferentes diluciones del digerido sobre semillas en placas de Petri, se observó que, en términos generales, dosis superiores a un 6% del digerido presentaron efectos negativos o fitotóxicos, afectando parámetros como el porcentaje de germinación relativa, velocidad de germinación y longitud de hipocótilo y radícula. Este efecto, podría ser asociado a la alta conductividad eléctrica y alto contenido de los elementos Co y Zn observados en el digerido estudiado. Por otra parte, se observó que a dosis bajas del digerido (1,5%) se estimuló el crecimiento del hipocótilo. Según el bioensayo de crecimiento de plantas y momento de aplicación en invernáculo, el digerido estudiado aplicado a macetas con sustrato presentó un alto valor potencial como fertilizante. Según este estudio aplicaciones del digerido con la dosis probada, cinco días antes a la siembra y durante el desarrollo del cultivo no presentan riesgo de producir efectos fitotóxicos en las plantas y favorecen su germinación y crecimiento.

Considerando los altos volúmenes de efluentes agropecuarios generados en nuestro país y el aumento de la instalación de reactores anaeróbicos, tanto en establecimientos productivos como en plantas de generación de biogás, surge la necesidad de contar con información y conocimientos sobre la gestión y uso de los digeridos anaeróbicos en condiciones locales. Este trabajo ha constituido un primer paso en este sentido, abordando el estudio del uso de digeridos derivados de la producción de biogás como biofertilizante y enmienda de suelo, de una manera integral y con una perspectiva ambiental, evaluando el impacto sobre el suelo, el agua y el aire en el corto plazo. Sin embargo, son necesarias más investigaciones en el futuro que permitan evaluar los efectos en el mediano y largo plazo, en parcelas de mayor escala, donde se puedan avaluar los parámetros y respuestas en diferentes tipos de suelos y a través del tiempo con diferentes dosis y frecuencias de aplicación.

Este trabajo es un aporte a la normativa vigente y a los organismos nacionales del ambiente y la producción que estén involucrados en la generación de biogás a partir de efluentes de la cría intensiva de animales, tanto como a las empresas de este tipo de energías en constante implementación hoy día en nuestro país.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abubaker, J., H. Cederlund, V. Arthurson y M. Pell. 2013. "Bacterial community structure and microbial activity in different soils amended with biogas residues and cattle slurry". *Applied Soil Ecology*, 72, 171-180.
- Adam, G., y H. Duncan. 2001. "Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils". *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7-8), 943-951.
- Information and Advisory Service on Appropriate Technology (ISAT). 2002. *Biogas Digest Vol. 3. Biogas Costs and Benefits and Biogas Programme Implementation*. Eschborn, (Alemania). ISAT.
- Albiach, R., R. Canet, F. Pomares y F. Ingelmo. 2000. "Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil". *Bioresource Technology*, 75(1), 43-48.
- Albiach, R., R. Canet, F. Pomares y F. Ingelmo. 2001. "Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil". *Bioresource Technology*, 76(2), 125-129.
- Albuquerque, J.A., C. de la Fuente, A. Ferrer-Costa, L. Carrasco, J. Cegarra, M. Abad y M.P. Bernal. 2012. "Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues". *Biomass and Bioenergy* 40: 181-189 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.02.018>).
- Albuquerque, J.A., C. de la Fuente y M.P. Bernal. 2012. "Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils". *Agric. Ecosyst. Environ* 160: 15-22 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.007>).
- Alef, K. 1995. "Soil respiration", en: K. Alef, P. Nannipieri (eds.), *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Nueva York (EE. UU.). Academic Press.
- Anderson, T.H. y K.H. Domsh. 1990. "Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> y qD) on microbial biomasses from soil of different cropping histories". *Soil Biol. Biochem*, 22, 251-255.
- Andrade, F.H. (Comp.). 2017. *Los desafíos de la agricultura argentina: satisfacer las futuras demandas y reducir el impacto ambiental*. Buenos Aires. Ediciones INTA.
- Andruschkewitsch, M., C. Wachendorf y M. Wachendorf. 2013. "Effects of digestates from different biogas production systems on above and belowground grass growth and the nitrogen status of the plant-soil-system". *Grassland Science*, 59(4), 183-195.
- Antezana, W., C. De Blas, P. García-Rebollar, C. Rodríguez, A. Beccaccia, P. Ferrer y S. Calvet. 2016. "Composition, potential emissions and agricultural value of pig slurry from Spanish commercial farms". *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 104(2), 159-173 (disponible en <https://doi.org/10.1007/s10705-016-9764-3>).
- American Public Health Association (APHA); American Water Works Association (AWWA); Water Pollution Control Federation (WPCF). 1992. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*, 17° ed. Washington. American Public Health Association.
- Arthurson, V. 2009. "Closing the global energy and nutrient cycles through application of biogas residue to agricultural land—potential benefits and drawback". *Energies*, 2(2), 226-242.
- Astals, S., V. Nolla-Ardèvol y J. Mata-Álvarez. 2012. "Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate". *Bioresource Technology* 110: 63-70 (disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.080>).
- Bachmann, S., M. Gropp y B. Eichler-Löberman. 2014. "Phosphorus availability and soil microbial activity in a 3 year field experiment amended with digested dairy slurry". *Biomass Bioenergy*, 70, 429-439.
- Baethgen, W.E. and M.M. Alley. 1989. "A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 20, 961-969.
- Baethgen, W.E. 1996. "Dinámica del nitrógeno en los sistemas agrícola-ganaderos. CPIA-SRA", 3° Seminario de actualización técnica Fertilización en cultivos extensivos y forrajeras.
- Baigorria, T. y C. Cazorla. 2010. "Eficiencia del uso del agua por especies utilizadas como cultivos de cobertura". *XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Rosario (Argentina).
- Barakan, F.N., S.H. Salem, A.M. Heggo y M.A. Bin-Shiha. 1995. "Activities of rhizosphere microorganisms as affected by application of organic amendments in a calcareous loamy soil. 2. Nitrogen transformation". *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 9(4), 467-480.
- Baruah, A. y K.K. Baruah. 2015. "Organic manures and crop residues as fertilizer substitutes: impact on nitrous oxide emission, plant growth and grain yield in pre-monsoon rice cropping system". *Journal of Environmental Protection*, Vol. 6, N° 07, pp. 755-770.

- Basso, L. y M.A. Herrero. 2013. "Producción animal y medio ambiente", en L. Giuffré y S. Ratto (eds.) *Agrosistemas: impacto ambiental y sustentabilidad*. Facultad de Agronomía. FAUBA. Buenos Aires, 383-407.
- Bateman, E.J. y E.M. Baggs. 2005. "Contributions of nitrification and denitrification to N<sub>2</sub>O emissions from soils at different water-filled pore space". *Biology and fertility of soils*, Vol. 41, N° 6, pp. 379-388.
- Beily, M.E. 2015. *Caracterización de efluentes de cerdos, con énfasis en su biodegradabilidad anaeróbica* (tesis de Maestría en Ciencias Ambientales). Instituto Tecnológico Buenos Aires (ITBA), Buenos Aires, Argentina.
- Beily, M.E., P.A. Bres, P.F. Rizzo, O. Giampaoli y D.C. Crespo. 2010. "Monitoreo de un reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Parte II". *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente (ASADES)*, 14: 37-42.
- Beily, M.E., G. Morici, D. Crespo y J. Schapiro. 2019. "Biochemical methane potential of sheep manure: Focus in pathogen removal". *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 12(1), 24-31.
- Beltran, M., L. Brutti, R. Romaniuk, S. Bacigaluppo, F. Salvagiotti, H. Sainz-Rozas y J. Galantini. 2016. "Soil organic matter quality, macro and micronutrient availability in response to the inclusion of wheat as cover crop". *Ciencia del Suelo*, 34(1), 67-79.
- Bending, G.D., M.K. Turner y J.E. Jones. 2002. "Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities". *Soil Biology and Biochemistry*, 34(8), 1073-1082.
- Bernal Calderón, M.P., J.A. Albuquerque Méndez, M.A. Bustamante Muñoz y R.C Carrillo (eds.). 2011. *Guía de utilización agrícola de los materiales digeridos por biometanización*. España. Fondo Europeo de Desarrollo Regional.
- Bernasconi Torres, V. (2019). *Evaluación del potencial metanogénico de efluentes porcinos en co-digestión con glicerol* (tesis de grado. Ingeniería Agronómica). Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Bicudo, J.R. y S.M. Goyal. 2003. "Pathogens and manure management systems: a review". *Environmental technology*, 24(1), 115-130.
- Blake, G.R., y K.H. Hartge. 1986. "Bulk density", en A. Klute (ed.) *Methods of soil analysis. Part 1. 2nd ed.* American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Wisconsin (EE. UU.).
- Boluda, R., L. Roca-Pérez y L. Marimón. 2011. "Soil plate bioassay: an effective method to determine ecotoxicological risks". *Chemosphere*, Vol. 84, N° 1, pp. 1-8.
- Bonten, L.T.C., K.B. Zwart, R.P.J.J. Rietra, R. Postma and M.J.G. de Haas. 2014. *Bio-slurry as fertilizer; Is bio-slurry from household digesters a better fertilizer than manure? A literature review*. Wageningen UR (University & Research centre), Alterra report 2519.
- Bougnom, B.P., C. Niederkofler, B.A. Knapp, E. Stimpfl y H. Insam. 2012. "Residues from renewable energy production: their value for fertilizing pastures". *Biomass and bioenergy*, 39, 290-295.
- Bracmort, K. 2010. "Nitrous oxide from agricultural sources: Potential role in greenhouse gas emission reduction and ozone recovery". *Congressional Research Service*, 1(5), 1-9.
- Brenchley, J.L. y R.J. Probert. 1998. "Seed germination responses to some environmental factors in the seagrass *Zostera capricorni* from eastern Australia". *Aquatic Botany*, Vol. 62, N° 3, pp. 177-188.
- Bres, P.A., M.E. Beily, P.F. Rizzo, O. Giampaoli y D.C. Crespo. 2010. Monitoreo de reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de residuos de cereales. Parte I. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente (ASADES)*, 14: 29-36.
- British Standards Institution (BSI). 2010. *PAS 110. Specification for whole digestate, separated liquor and separated fibre derived from the anaerobic digestion of source-segregated biodegradable materials*. Londres. BSI.
- Broucek, J. (2017). Nitrous oxide production from soil and manure application: A review. *Slovak Journal of Animal Science*, 50(1), 21-32.
- Brunori, J. 2012. *Producción de Cerdos en Argentina. Situación, Oportunidades y Desafíos*. Buenos Aires. INTA (disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/produccion-de-cerdos-en-argentina-situacion-oportunidades-desafios-1>).
- Brunori, J., M. Rodríguez Fazzone y M.E. Figueroa (eds.). 2012. *Buenas prácticas pecuarias para la producción y comercialización porcina familiar*. Buenos Aires. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) e Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
- Cambardella, C.A. y E.T. Elliott. 1992. "Particulate Soil Organic-Matter across a Grassland Cultivation Sequence". *Soil Sci. Soc.Am.J.*, 56, 777-783.
- Cameron, K.C., H.J. Di y R.G. McLaren. 1997. "Is soil appropriate dumping ground for our wastes?". *Australian Journal of Soil*, 35: 995-1035.

- Canessa, E., A. Santana, J. Coto, T. Abeles y S. Indrick. 1985. "Simposio centroamericano sobre aplicaciones de energía biomásica. Diseño y construcción de biodigestores". 2.ª ed, Cartago, Costa Rica.
- Carfagno P.F., M.J. Eiza, J.M. Rivera Vázquez, A. Quiroga y F. Babinec. 2014. "Cultivos de cobertura: efecto sobre la porosidad y el rendimiento de soja". En: Actas en CD del XXIV Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo y II Reunión Nacional Materia Orgánica y Sustancias Húmicas. 5 al 9 de mayo de 2014. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
- Carfagno, P.F., M.J. Eiza, A. Quiroga, F. Babinec, C. Chagas y R. Michelena. 2013. "Agua disponible en monocultivo de soja con cultivos de cobertura y barbechos reducidos en la Región Semiárida y Subhúmeda Pampeana". *Ci. Suelo*, 31(1), 67-81.
- Cataldo, D.A., M. Maroon, L.E. Schrader y V.L. Youngs. 1975. "Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid". *Communications in soil science and plant analysis*, 6(1), 71-80.
- Cayci, G.; LK Heng; HS Öztürk; D Sürek; C Kütük y M Saglam. 2009. Crop yield and water use efficiency in semi-arid region of Turkey. *Soil Till Res.* 103: 65-72.
- Cendales Ladino, E.D. 2011. *Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable* (Disertación Doctoral), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Chakraborty, P., Babu, P. R., Vudamala, K., Ramteke, D., y Chennuri, K. (2014). Mercury speciation in coastal sediments from the central east coast of India by modified BCR method. *Marine pollution bulletin*, 81(1), 282-288.
- Chaudhry, A.N., G. Jilani, M.A. Khan y T. Iqbal. 2009. "Improved processing of poultry litter reduces nitrate leaching and enhances its fertilizer quality". *Asian journal of Chemistry*, 21(7), 4997-5003.
- Chen, J. L., Ortiz, R., Steele, T. W. J., y Stuckey, D. C. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1523–1534. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.005>
- Cheung Y.H.; Wong M.H. (1983). Utilisation of animal manures and sewage sludges for growing vegetables. *Agric. Wastes*, 5: 63-81.
- Chevallier Boutell, S. y M. Toribio. 2006. "Volatilización del amoníaco. *Publicación Miscelánea*, 105, 69-82.
- Ciarlo, E., D. Cosentino, O. Heredia y M.E. Conti. 2004. "Efecto del uso del suelo sobre fracciones de la materia orgánica y cantidad de agregados estables". *Revista Científica Agropecuaria*, 8(2): 15-23.
- Coelho, J.J., A. Hennessy, I. Casey, T. Woodcock y N. Kennedy. 2019. "Responses of ryegrass, white clover, soil plant primary macronutrients and microbial abundance to application of anaerobic digestates, cattle slurry and inorganic N-fertiliser". *Applied Soil Ecology*, 144, 112-122.
- Coelho, J.J., M.L. Prieto, S. Dowling, A., Hennessy, I., Casey, T. Woodcock y N. Kennedy. 2018. "Physical-chemical traits, phytotoxicity and pathogen detection in liquid anaerobic digestates". *Waste management*, 78, 8-15.
- Cosentino, D.J. y C. Pecorari. 2002. "Limos de baja densidad: Impacto sobre el comportamiento físico de los suelos de la región pampeana". *Ciencia del Suelo*, 20(1), 9-16.
- Cosentino, N.R.V., P.L. Fernandez, S.A. Figueiro Aureggi y M.A. Taboada. 2012. "N<sub>2</sub>O emissions from a cultivated Mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature". *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36(6), 1814-1819.
- Cuevas, J., O. Seguel, A. Ellies y J. Dörner. 2006. "Efectos de las enmiendas orgánicas sobre las propiedades físicas del suelo con especial referencia a la adición de lodos urbanos". *J. Soil Sc. Plant. Nutr.*, 6(2), 1-12.
- Cosentino V., M.G. Perez, R. Romaniuk, M. Ostinelli, A. Costantini y M. Taboada. 2017. "¿Es el compostaje de residuos orgánicos una alternativa de mitigación de N<sub>2</sub>O?". *3.ª conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica*. Colonia, Uruguay. 4-6 de octubre de 2017.
- Da Ros, C., G. Libralato, A.V. Ghirardini, M. Radaelli y C. Cavinato. 2018. "Assessing the potential phytotoxicity of digestate from winery wastes". *Ecotoxicology and environmental safety*, Vol. 150, pp. 26-33.
- Da Silva, D.M., Z.I. Antonioli, R.J.S. Jacques, A. de Oliveira Silveira, D.A.A. da Silva, M.M. Rache, V.H. Gomes Passos y B.R. da Silva. 2015. "Indicadores microbiológicos de solo em pastagem com aplicação sucessiva de dejetos de suínos". *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 39(6), 1585-1594.
- Dalal, R.C., I. Gibson, D.E. Allen y N.W. Menzies. 2010. "Green waste compost reduces nitrous oxide emissions from feedlot manure applied to soil". *Agriculture, ecosystems and environment*, Vol. 136, N° 3-4, pp. 273-281.
- Dalal, R.C., W. Wang, G.P. Robertson y W.J. Parton. 2003. "Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: a review". *Soil Research*, Vol. 41, N° 2, pp. 165-195.
- Davies, P.R., W.M. Morrow, F.T. Jones, J. Deen, P.J. Fedorka-Cray y I.T. Harris. 1997. "Prevalence of Salmonella in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA". *Epidemiology y Infection*, 119(2), 237-244.

- De Araújo, A.S.F., y R.T.R. Monteiro. 2007. "Indicadores biológicos de qualidade do solo". *Bioscience Journal*, 23(3), 66-75.
- Del Grosso, S.J., T. Wirth, S.M. Ogle y W.J. Parton. 2008. "Estimating agricultural nitrous oxide emissions". *EOS, Transactions American Geophysical Union*, 89(51), 529-540.
- Delgado, A., E. Aspé, M.C. Martí y M. Roeckel. 2004. "The effect of volatile fatty acids on the nitrification of a saline effluent". *Environmental technology*, 25(4), 413-422.
- Department of Environment and Conservation (DEC). 2006. *Life Cycle Inventory and Life Cycle Assessment for Windrow Composting Systems*. Recycled Organics Unit, The University of New South Wales.
- Di Maria, F., A. Sordi, G. Cirulli, G. Gigliotti, L. Massaccesi y M. Cucina. 2014. "Co-treatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters. An analysis of the relationship among bio-methane generation, process stability and digestate phytotoxicity". *Waste management*, 34(9), 1603-1608.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Cuadro y C.W. Robledo. 2009. *InfoStat Versión 2009*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Cuadro y C.W. Robledo. 2016. *InfoStat Versión 2016*. Grupo InfoStat, FCA, National University of Córdoba, Argentina.
- Díaz-Zorita, M. 1998. "Producción de carne bajo pastoreo en Argentina: ¿Es una práctica sostenible?", en *Conferencias*. 22° Congreso AAPA. Río IV. Córdoba, Argentina.
- Dilallo, R. y O.E. Albertson. 1961. Volatile Acids By Direct Titration. *Water Pollution Control Federation*, 33(4), 356-365.
- Dilly, O., y J.C. Munch. 1998. "Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils". *Biology and fertility of Soils*, 27(4), 374-379.
- Dobbie, K.E. y K.A. Smith. 2001. "The effects of temperature, water-filled pore space and land use on N<sub>2</sub>O emissions from an imperfectly drained gleysol". *European Journal of Soil Science*, Vol. 52, N° 4, pp. 667-673.
- Doran, J.W. 2002. "Soil health and global sustainability: translating science into practice". *Agriculture, ecosystems y environment*, 88(2), 119-127.
- Doran, J.W., y Parkin, T.B. 1994. "Defining and assessing soil quality", en: J.W. Doran, D.C. Coleman, D.E. Bezdicek, B.A. Stewart (eds.). *Defining soil quality for a Sustainable Environment*. Wisconsin (EE. UU.). Soil Science Society of America.
- Doran, J.W., M. Sarrantonio y M.A. Liebig. 1996. "Soil health and sustainability", en D.L. Sparks (ed.). *Advances in Agronomy*. Academic Press Inc. California (EE. UU.).
- Duval, M., E. de Sa Pereira, J. Iglesias y J.A. Galantini. 2014. "Efecto de uso y manejo del suelo sobre las fracciones de carbono orgánico en un Argiudol". *Ciencia del Suelo*, 32(1), 105-115.
- Effron, D., A.M. de la Horra, R.L. Defrieri, V. Fontanive y R.M. Palma. 2004. "Effect of cadmium, copper, and lead on different enzyme activities in a native forest soil". *Communications in soil science and plant analysis*, 35(9-10), 1309-1321.
- Eickenscheidt, T., A. Freibauer, J. Heinichen, J. Augustin y M. Drösler. 2014. "Short-term effects of biogas digestate and cattle slurry application on greenhouse gas emissions affected by N availability from grasslands on drained fen peatlands and associated organic soils". *Biogeosciences*, Vol. 11, N° 22, pp. 6187-6207.
- Eivazi, F., y M.A. Tabatabai. 1977. "Phosphatases in soils". *Soil biology and biochemistry*, 9(3), 167-172.
- Eiza M.J. y P. Carfagno. 2018. "Medición de la infiltración en el suelo. Infiltrómetro de anillo simple y simulador de lluvias", en A. Quiroga, R. Fernández y C. Álvarez. *Análisis y evaluación de propiedades físico hídrica de los suelos*. INTA, Buenos Aires.
- Eiza, M., N. Fioriti, G.A. Studdert y H.E. Echeverría. 2005. "Fracciones de carbono orgánico en la capa arable: efectos de los sistemas de cultivo de la fertilización nitrogenada". *Ciencia del Suelo*, 23, 59-67.
- Eiza, M., P. Carfagno y C. Iruña. 2014. "Automatización de la ecuación de horton aplicada a mediciones de infiltración con simuladores de lluvia e infiltrómetros utilizando Excel Solver". *Actas del II Congreso Internacional de hidrología de Llanuras*. 23 al 26 de septiembre de 2014.
- Erhart, E., T.H. Siegl, M. Bonell, H. Unterfrauner, R. Peticzka, C. Ableidinger, D. Haas y W. Hartl., 2014. "Fertilization with liquid digestate in organic farming-effects on humusbalance, soil potassium contents and soil physical properties", en *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 16:4419.
- Fangueiro, D., H.M. Ribeiro, E. Vasconcelos, J. Coutinho y F. Cabral. 2012. "Influence of animal slurries composition and relative particle size fractions on the C and N mineralization following soil incorporation". *Biomass and bioenergy*, 47, 50-61.
- FAO. (2019a). Estudio de cuencas de biogás. Buenos Aires (disponible en <http://www.probiomasa.gob.ar/pdf/Informe%20Tecnico%20Nro4-Estudio%20de%20cuencas%20de%20biogas-19-08-22.pdf>).

- FAO. (2019b). *Relevamiento Nacional de Biodigestores. Relevamiento de plantas de biodigestión anaeróbica con aprovechamiento energético térmico y eléctrico*. Buenos Aires. Disponible en: [http://www.probiomasa.gob.ar/pdf/Relevamiento%20Nacional%20de%20Biodigestores\\_10-7-2019.pdf](http://www.probiomasa.gob.ar/pdf/Relevamiento%20Nacional%20de%20Biodigestores_10-7-2019.pdf).
- FAO. 1976. "A framework for land evaluation". *FAO Soil Bulletin* 52. Roma.
- FAOSTAT. 2017. Statistics of Food and Agricultural Commodities Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations (disponible en <http://www.fao.org>).
- Ferrer, P.J., J.B. Sanz y J. Pomar. 1983. "Posibilidades de utilización agrícola del estiércol líquido de porcino (elp) en relación con su valor fertilizante y su incidencia sobre el suelo. I. Composición y valor fertilizante del elp". *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias*.
- Fertilizar. 2019. Proyecto Fertilizar INTA / Estadísticas. <http://www.fertilizar.org>
- Filidei, S., G. Masciandaro y B. Ceccanti. 2003. "Anaerobic digestion of olive oil mill effluents: evaluation of wastewater organic load and phytotoxicity reduction". *Water, air, and soil pollution*, Vol. 145, N° 1-4, pp. 79-94.
- Fisk, M.C., K.F. Ruether y J.B. Yavitt. 2003. "Microbial activity and functional composition among northern peatland ecosystems". *Soil Biology and Biochemistry*, 35(4), 591-602.
- Fjällborg, B., G. Ahlberg, E. Nilsson y G. Dave. 2005. "Identification of metal toxicity in sewage sludge leachate". *Environment International*, Vol. 31, N° 1, pp. 25-31.
- Food and Agricultural Organization statistics database (FAOSTAT). (2017). *World agriculture data*.
- Gaind, S., y L. Nain. 2007. "Chemical and biological properties of wheat soil in response to paddy straw incorporation and its biodegradation by fungal inoculants". *Biodegradation*, 18(4), 495-503.
- Galantini, J., y L. Suñer. 2008. "Las fracciones orgánicas del suelo: análisis en los suelos de la Argentina". *Agriscientia*, 25(1), 41-55.
- García, F., F. Micucci, G. Rubio, M. Ruffo e I. Daverede. 2002. *Fertilización de forrajes en la región pampeana*. Buenos Aires. Instituto de la Potasa y el Fósforo - Potash and Phosphate Institute - Potash and Phosphate Institute of Canada.
- García-Sánchez, M., J.A. Siles, T. Cajthaml, I. García-Romera, P. Tlustoš y J. Száková. 2015. "Effect of digestate and fly ash applications on soil functional properties and microbial communities". *European journal of soil biology*, 71, 1-12.
- Garland, J.L. 1996. "Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization". *Soil Biology and Biochemistry*, 28(2), 213-221.
- Garland, J.L. y A.L. Mills. 1991. "Classification and characterization of heterotrophic bacterial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization". *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(8), 2351-2359.
- Gastaldi, L.B., A. Cuatrin, M. Maekawa, G.M. Litwin, M.R., Marino, A.R., Centeno, M.L. Moreto y P.L. Engler. 2018. *Lechería Pampeana. Resultados Productivos. Ejercicio 2016-2017*. Buenos Aires. INTA (disponible en [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_encuesta\\_lechera\\_2016\\_2017\\_informe\\_tecnico\\_version\\_20\\_abr\\_18.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_encuesta_lechera_2016_2017_informe_tecnico_version_20_abr_18.pdf)).
- Gelati, P.R., y M.E. Vázquez. 2008. "Extracción agrícola de bases en el norte de la provincia de Buenos Aires, Argentina: costo de su remediación e implicancias económicas". *Revibec: revista iberoamericana de economía ecológica*, Vol. 7, pp. 117-129.
- Gerba, C.P., C. Wallis y J.L. Melnick. 1975. "Fate of wastewater bacteria and viruses in soil". *Journal of the Irrigation and Drainage Division*, 101 (3).
- Gil-Sotres, F., C. Trasar-Cepeda, M.C. Leirós y S. Seoane. 2005. "Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties". *Soil Biol. Bioch.*, 37(5), 877-887.
- Ginebra Aguilar, M., M. Rodríguez Alfaro, B. Calero Martín, D. Ponce de León, y L. Font Vila. 2015. "Carbono lábil como un indicador de cambios en dos suelos bajo diferentes usos". *Cultivos Tropicales*, 36(3), 64-70.
- Golchin, A., P. Clarke, J.M. Oades y J.O. Skjemstad. 1995. "The effects of cultivation on the composition of organic matter and structural stability of soils". *Aus J Soil Res.*, 33, 975-993.
- Gomez, E., L. Ferreras y S. Toresani. 2006. "Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application". *Bioresource technology*, 97(13), 1484-1489.
- Gomez, E., Ferreras, L., Toresani, S., Ausilio, A., y Bisaro, V. (2001). Changes in some soil properties in a Vertic Argiudoll under short-term conservation tillage. *Soil Till. Res.*, 61, 179-186.
- Gomez, E., J. Garland y M. Conti. 2004. "Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient". *Applied Soil Ecology*, 26(1), 21-30.
- Gómez, P. 2015. *Producción Sostenible de Biogás a pequeña escala a partir de residuos de la agroindustria, para el autoabastecimiento energético*. BIOGAS. 3. [Webinar]. Programa de la Unión Europea.

- González Martineaux, S. 2005. *Caracterización de los purines de cerdos. Taller de capacitación en evaluación ambiental de plantales ganaderos*. Serie Actas del Instituto de Investigaciones Agropecuarias-INIA, 29: 23-44. Temuco (Chile).
- González-Arias, J., C. Fernández, J.G. Rosas, M.P. Bernal, R. Clemente, X. Sánchez y M.E. Gómez. 2019. "Integrating anaerobic digestion of pig slurry and thermal valorisation of biomass". *Waste and Biomass Valorization*, 11, 6125-6137 (disponible en <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00873-w>).
- Govasmark, E., J. Ståb, B. Holen, D. Hoornstra, T. Nesbakk, y M. Salkinoja-Salonen. 2011. "Chemical and microbiological hazards associated with recycling of anaerobic digested residue intended for agricultural use". *Waste management*, 31(12), 2577-2583.
- Gracia Fernández, J.J. 2012. *Efectos de los compost sobre las propiedades del suelo: evaluación comparativa de compost con separación en origen y sin separación en origen*. (Tesis para optar al grado de Máster en Ingeniería ambiental y química). Universidad Politécnica de Cartagena. Colombia.
- Gregorich, E.G., M.R. Carter, D.A. Angers, C.M. Monreal y B.H. Ellert. 1994. "Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils". *Can. J. Soil Sci.*, 74, 367-385.
- Gregoruttia, V.C. y O.P. Caviglia. 2017. "Nitrous oxide emission after the addition of organic residues on soil surface". *Agriculture, Ecosystems y Environment*, Vol. 246, pp. 234-242.
- Guenet, B., K. Lenhart, J. Leloup, S. Giusti-Miller, V. Pouteau, P. Mora, N. Nunan, N. y L. Abbadie. 2012. "The impact of long-term CO<sub>2</sub> enrichment and moisture levels on soil microbial community structure and enzyme activities". *Geoderma*, 170, 331-336.
- Gunnarsson, A., F. Bengtsson y S. Caspersen. 2010. "Use efficiency of nitrogen from biodigested plant material by ryegrass". *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(1), 113-119.
- Hair, J.F., R.E. Anderson, R.L. Tatham y W.C. Black. 1995. *Multivariate data analysis with readings*. 4.<sup>a</sup> ed. Nueva Jersey (EE. UU.). Prentice-Hall.
- Halvorson, J.J., L. Jeffery y R.I. Papendick. 1997. "Issues of scale for evaluating soil quality". *J. Soil Water Cons*, 55(1), 26-30.
- Hammer, Ø., D.A. Harper y P.D. Ryan. 2001. "PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis". *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Hatfield, J.L. y B.A. Stewart. 1998. *Animal waste utilization: effective use of manure as a soil resource*. Boca Ratón (EE. UU.). CRC Press Company.
- Hatfield, J.L., M.C. Brumm y S.W. Melvin. 1990. "Swine Manure Management" en R.J. Wright *et al.* (ed.) *Agricultural uses of municipal, animal, and industrial byproducts. Conservation Research Rep*, 44.
- Hayakawa, A., H. Akiyama, S. Sudo y K. Yagi. 2009. "N<sub>2</sub>O and NO emissions from an Andisol field as influenced by pelleted poultry manure". *Soil biology and biochemistry*, Vol. 41, N° 3, pp. 521-529.
- Helgason, B.L., H.H. Janzen, M.H. Chantigny, C.F. Drury, B.H. Ellert, E.G. Gregorich, y C. Wagner-Riddle, C. 2005. "Toward improved coefficients for predicting direct N<sub>2</sub>O emissions from soil in Canadian agroecosystems". *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, Vol. 72, N° 1, pp. 87-99.
- Hernández, D., J.M. Fernández, C. Plaza y A. Polo. 2007. Water-soluble organic matter and biological activity of a degraded soil amended with pig slurry. *Science of the Total Environment*, 378(1-2), 101-103.
- Hernández, R.U. 2008. "Ensayo de inhibición de la germinación y del alargamiento radicular en semillas de cebolla *Allium cepa* y Soya *Glycine max*". En P. Ramiro Romero y A. Mendoza Cantú, (eds.) *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo La experiencia en México*. México. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT.
- Hicklenton, P.R., V. Rodd y P.R. Warman. 2001. "The effectiveness and consistency of source-separated municipal solid waste and bark compost as componentes of container growing media". *Scientia Horticulturae*, 91(3-4), 365-378.
- Hilbert, J. 2003. *Manual para la producción de biogás*. Buenos Aires. Instituto de Ingeniería Rural, INTA.
- Hinojosa, M.B., J.A. Carreira, R. García-Ruiz y R.P. Dick. 2004. "Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils". *Soil Biology and Biochemistry*, 36(10), 1559-1568.
- Holmes, C.W., I.M. Brookes, D.J. Garrick, D.D.S. MacKenzie, T.J. Parkinson y G.F. Wilson. 2002. "Principles of nutrition and feeding". En *Milk production from pasture: Principles and practices*. Palmerston North, (Nueva Zelanda), Massey Univ., pp. 209-313.
- Horton, R. 1939. "Approach toward a Physical Interpretation of Infiltration Capacity". *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 23, 399-417.
- Hribar, C. 2010. *Understanding concentrated animal feeding operations (CAFOs) and their impact on communities*. Ohio (Estados Unidos). National Association of Local Boards of Health.

- Hu, Y., H. Cheng, y S. Tao. 2017. "Environmental and human health challenges of industrial livestock and poultry farming in China and their mitigation". *Environment International*, 107(March), 111-130 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.07.003>).
- Huerga, I. 2019. *Monitoreo de efluentes y proyecto de tratamiento*. Buenos Aires. Agencia de Extensión Rural Venado Tuerto – INTA.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2014. *Cambio climático 2014: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*. Ginebra. IPCC.
- Iocoli, G.A., y M.A. Gómez. 2015. "Utilización de digerido anaeróbico de purín de cerdo: actividad biológica del suelo y desarrollo vegetal". *Ciencia del suelo*, Vol. 33, N° 1, pp. 1-9.
- IRAM-SAGyP 29570-1. 2010. Determinación de fósforo extractable en suelos. Parte 1 – Método modificado Bray Kurtz 1 (Extracción con solución de fluoruro de amonio – ác. clorhídrico).
- IRAM-SAGyP 29571-2. 2011. Determinación de materia orgánica en suelos. Parte 2 – Determinación de carbono orgánico oxidable por mezcla oxidante fuerte, escala semi-micro.
- IRAM-SAGyP 29572-1. 2012. Determinación de nitrógeno en suelo por el método Kjeldahl modificado. Parte 1: escala semi-micro.
- IRAM-SAGyP 29573. 2017. Extracción de amonio, nitrito y nitrato de muestras de suelo.
- IRAM-SAGyP 29574. 2011. Determinación del pH del suelo para uso agrícola.
- IRAM-SAGyP 29579. 2011. Conductividad eléctrica en extracto saturado.
- Jantalia, C. P., dos Santos, H. P., Urquiaga, S., Boddey, R. M., y Alves, B. J. (2008). Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 82(2), 161-173.
- Jeffery, J.J. y N.C. Uren. 1979. "Effect of the application of piggery effluent to soils and pastures". *Progress in water technology*, Vol. 11, p. 275-282.
- Jenkins, M.B., D.D. Bowman y W.C. Ghiorse. 1998. "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts by ammonia". *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(2), 784-788.
- Jenkins, M.B., D.D. Bowman y W.C. Ghiorse. 1999. "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by Ammonia". *Applied and environmental microbiology*, 65(3), 1362.
- Jenkinson, D.S. y D.S. Powlson. 1976. "The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass". *Soil Biology and Biochemistry*, 8(3), 209-213.
- Jiang, H, Han, X, Zou, W, Hao, X, y Zhang, B. 2018. Seasonal and long-term changes in soil physical properties and organic carbon fractions as affected by manure application rates in the Mollisol region of Northeast China. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 268: 133-143.
- Johansen, A., M.S. Carter, E.S. Jensen, H. Hauggard-Nielsen y P. Ambus. 2013. "Effects of digestate from anaerobically digested cattle slurry and plant materials on soil microbial community and emission of CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O". *Applied Soil Ecology*, 63, 36-44.
- Johnson, A. 1963. *A field method for measurement of infiltration*. United States Government Printing Office, Washington.
- Jondreville, C., P.S. Revy y J.Y. Dourmad. 2003. "Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter". *Livestock Production Science*, 84(2), 147-156.
- Jun, D., Z. Yong-sheng, H. Mei y Z. Wei-Hong, Z. 2009. "Influence of alkalinity on the stabilization of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor". *Journal of Hazardous Materials*, 163(2-3), 717-722.
- Kaur, T., B.S. Brar y N.S. Dhillon. 2008. "Soil organic matter dynamics as affected by long-term use of organic and inorganic fertilizers under maize—wheat cropping system". *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 81(1), 59-69.
- Kearney, T.E., M.J. Larkin y P.N. Levett. 1993. "The effect of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria". *Journal of Applied Bacteriology*, 74(1), 86-93.
- Kirckner, M.J., A.G. Wollum y L.D. King. 1993. "Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystem". *J. Soil Sci. Am. Society*, 57(5), 1289-1295.
- Klute A.; Dirksen C. 1986. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. En: *Methods of Soil Analysis*, Part 1, 2nd ed. Klute A. Ed. Agron. Monogr. 9. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI. 687p.
- Kolver, E.S., J.R. Roche, M. De Veth, P. Thorne y A.R. Napper. 2002. "Total mixed ration versus pasture diets: Evidence of a genotype x diet interaction in dairy cow performance". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Vol. 62, pp. 246-251.
- Kolver, E.S. y L.D. Muller. 1998. "Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration". *Journal of dairy science*, Vol. 81, N° 5, pp. 1403-1411.

- Koszel, M., E. Lorencowicz. 2015. "Agricultural use of biogas digestate as a replacement fertilizer. Farm Machinery and Processes Management in Sustainable Agriculture". *7<sup>th</sup> International - Scientific Symposium Agriculture and Agricultural Science Procedia*, pp. 119-124.
- Kramer, P.J. 1983. *Water Relations of Plants*. New York Academic Press, New York (EE. UU.).
- Kravchenko, A.N., S.S. Snapp y G.P. Robertson. 2017. "Field-scale experiments reveal persistent yield gaps in low-input and organic cropping systems". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(5), 926-931.
- Kucher, A. V. 2016. "Economic effectiveness of use of liquid organic fertilizers". *ЕКОНОМІКА АПК*, Vol. 4, pp. 45-50.
- Kunito, T., K. Saeki, S. Goto, H. Hayashi, H. Oyaizu y S. Matsumoto. 2001. "Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long-term sludge-amended soils". *Bioresource Technology*, 79(2), 135-146.
- Kunte, D.P., T.Y. Yeole y D.R. Ranade. 2000. "Inactivation of *Vibrio cholerae* during anaerobic digestion of human night soil". *Bioresource Technology*, 75(2), 149-151.
- Kunte, D.P., T.Y. Yeole y D.R. Ranade. 2004. "Two-stage anaerobic digestion process for complete inactivation of enteric bacterial pathogens in human night soil". *Water Science and Technology*, 50(6), 103-108.
- Kupper, T., D. Bürge, H.J. Bachmann, S. Güsewell y J. Mayer. 2014. "Heavy metals in source-separated compost and digestates". *Waste Management*, 34(5), 867-874.
- Lal, R. y M.K. Shukla. 2004. *Principles of Soil Physics*. New York (EE. UU.). Marcel Dekker.
- Lazcano, C., Gómez-Brandón, M., Revilla, P., y Domínguez, J. (2013). Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. *Biology and Fertility of Soils*, 49(6), 723-733.
- Legros, S., E. Doelsch, F. Feder, G. Moussard, J. Sansoulet, J.P. Gaudet y J.Y. Bottero. 2013. "Fate and behaviour of Cu and Zn from pig slurry spreading in a tropical water-soil-plant system". *Agriculture, Ecosystems y Environment*, Vol. 164, pp. 70-79.
- Leguizamón, E.S. y D.V. Verdelli. 2011. "Rendimientos de maíz y soja en sistemas de cultivos en franjas y monocultura: efectos de la orientación de la siembra". *Agriscientia*, Vol. 28, N° 2, pp. 147-156.
- Leirós, M.C., C. Trasar-Cepeda, F. García-Fernández y F. Gil-Sotres. 1999. "Defining the validity of a biochemical index of soil quality". *Biology and Fertility of Soils*, 30(1-2), 140-146.
- Liebig, M.A. 2001. *Soil health: perceptions of the past, directions for the future*. USDA-ARS.
- Limam, I., M. Mezni, A. Guenne, C. Madigou, M.R. Driss, T. Bouchez y L. Mazéas. 2013. "Evaluation of biodegradability of phenol and bisphenol A during mesophilic and thermophilic municipal solid waste anaerobic digestion using <sup>13</sup>C-labeled contaminants". *Chemosphere*, 90(2), 512-520.
- Lindsay, W.L. y W.A. Norvell. 1978. "Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper 1". *Soil science society of America journal*, 42(3), 421-428.
- Lobato Fuertes, Á. 2012. *Estudio de la co-digestión anaerobia de residuos ganaderos con otros substratos agroindustriales*. [Tesis Doctoral]. Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad, Universidad de León.
- López, M.V. y J.L. Arrúe. 1997. "Growth, yield and water use efficiency of winter barley in response to conservation tillage in a semi-arid region on Spain". *Soil Till. Res.* 44, 35-54.
- Loria, E.R. y J.E. Sawyer. 2005. "Extractable soil phosphorus and inorganic nitrogen following application of raw and anaerobically digested swine manure". *Agronomy Journal*, 97(3), 879-885.
- Mäder, P., A. Fliessbach, D. Dubois, L. Gunst, P. Fried y U. Niggli. 2002. "Soil fertility and biodiversity in organic farming". *Science*, 296(5573), 1694-1697.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, C. Barrachina, M. Berlanga, M. Gonzalo, C. Diaz y F. Ruiz Berraquero. 2009. *Brock: Biología de los microorganismos*. Pearson Educación.
- Maguire, J.D. 1962. "Speed of Germination-Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor 1". *Crop science*, Vol. 2, N° 2, pp. 176-177.
- Maisonave, R. 2012. *Buenas Prácticas de Manejo y Utilización de Efluentes Porcinos*. Buenos Aires. Ministerio de Agroindustria de la Nación.
- Maisonave, R. y A. Fabrizio de Ioro. 2001. "Contaminación de aguas. Impacto ambiental en agrosistemas (cap. 5): 69-91. Ed. Fac. de Agronomía (UBA).
- Makádi, M., A. Tomócsik y V. Orosz. 2012. "Digestate: a new nutrient source-review" en S. Kumar (ed.). *Biogas*. Londres. In Tech (disponible en <https://doi.org/10.5772/31355>).
- Makoi, J.H., y P.A. Ndakidemi. 2008. "Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem". *African Journal of Biotechnology*, 7(3), 181-191.

- Mandal, A., A.K. Patra, D. Singh, A. Swarup y R.E. Mastro. 2007. "Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages". *Bioresource technology*, 98(18), 3585-3592.
- Marcato, C.E., E. Pinelli, P. Pouech, P. Winterton y M. Guisresse. 2008. "Particle size and metal distributions in anaerobically digested pig slurry". *Bioresource Technology*, 99(7), 2340-2348.
- Marcato, C.E., R. Mohtar, J.C. Revel, P. Pouech, M. Hafidi, M. Guisresse. 2009. "Impact of anaerobic digestion on organic matter quality in pig slurry". *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 63(3), 260-266.
- Márgenes Agropecuarios. 2019. Revista Márgenes Agropecuarios, los números del campo. Vol. 35, N.º 411.
- Marinari, S., G. Masciandaro, B. Ceccanti y S. Grego. 2000. "Influence of organic and mineral fertilizers on soil biological and physical properties". *Biores. Technol.*, 72(1), 9-17.
- Martínez-Carballo, E., C. González-Barreiro, S. Scharf y O. Gans. 2007. "Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria". *Environmental Pollution*, 148(2), 570-579.
- Martinez-Suller, L., A. Azzellino y G. Provolo. 2008. "Analysis of livestock slurries from farms across Northern Italy: Relationship between indicators and nutrient content". *Biosystems Engineering*, 99(4), 540-552.
- Masaka, J., Nyamangara, J., y Wuta, M. (2014). Nitrous oxide emissions from wetland soil amended with inorganic and organic fertilizers. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(10), 1363-1387.
- Mattera, J., J.N. Camarasa, E.M. Pacente y L.B. Gastaldi. 2019. "Siembra de pasturas: ¿Cuánto, cuándo y cómo?". *Producir XXI* (disponible en <https://repositorio.inta.gov.ar/handle/20.500.12123/4674>).
- MAYDS. (2017). *Segundo informe bienal de actualización de la República Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático*. Buenos Aires. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable.
- McLaughlin, M. J., McBeath, T. M., Smernik, R., Stacey, S. P., Ajiboye, B., y Guppy, C. (2011). The chemical nature of P accumulation in agricultural soils—implications for fertiliser management and design: an Australian perspective. *Plant and Soil*, 349(1-2), 69-87.
- McSwiney, C.P. y G.P. Robertson. 2005. "Nonlinear response of N<sub>2</sub>O flux to incremental fertilizer addition in a continuous maize (Zea mays L.) cropping system". *Global Change Biology*, Vol. 11, N.º 10, pp. 1712-1719. *Microbiol and Biochem.* (pp. 214-218). Academic Press, San Diego.
- Migone, B. y J.A. Hilbert. 2014. *Estudio comparativo de alternativas de generación de electricidad con diferentes biocombustibles*. [Tesis de maestría en Energías Renovables]. Universidad Tecnológica Nacional.
- Ministerio de Agroindustria 2016. *Anuario Porcino 2016*. Buenos Aires (disponible en [https://www.magyp.gov.ar/sitio/areas/porcinos/estadistica/\\_archivos//000005-Anuario/160000-Anuario%202016.pdf](https://www.magyp.gov.ar/sitio/areas/porcinos/estadistica/_archivos//000005-Anuario/160000-Anuario%202016.pdf)).
- Moldes, A., Y. Cendón y M.T. Barral. 2007. "Evaluation of municipal solid waste compost as a plant growing media component, by applying mixture design". *Bioresource Technology*, 98(16), 3069-3075.
- Molinuevo-Salces, B., X. Gómez, A. Morán, M.C. García-González. 2013. "Anaerobic co-digestion of livestock and vegetable processing wastes: fibre degradation and digestate stability". *Waste Manag.*, 33(6), 1332-1338.
- Möller, K. 2009. "Effects of biogas digestion on soil organic matter and nitrogen inputs, flows and budgets in organic cropping systems". *Nutr Cycl Agroecosyst* 84(2),179-202.
- Möller, K. 2015. "Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity". *A review. Agron. Sustain. Dev.*, 35(3), 1021-1041.
- Möller, K. y T. Müller, T. 2012. "Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review". *Engineering in Life Sciences*, Vol. 12 N.º 3, 242-257 (disponible en <https://doi.org/10.1002/elsc.201100085>).
- Möller, K., y Stinner, W. (2009). Effects of different manuring systems with and without biogas digestion on soil mineral nitrogen content and on gaseous nitrogen losses (ammonia, nitrous oxides). *European Journal of Agronomy*, 30(1), 1-16.
- Möller, K., W. Stinner, A. Deuker y G. Leithold. 2008. "Effects of different manuring systems with and without biogas digestion on nitrogen cycle and crop yield in mixed organic dairy farming systems". *Nutrient cycling in agroecosystems*, 82(3), 209-232.
- Montero Chávez, S.M., B.K. Singh y R. Taylor. 2006. "Evaluación de seis estructuras de producción hidropónica diversificada en el trópico húmedo de Costa Rica". *Tierra Tropical*, Vol. 2, pp. 27-37.
- Moral, R., M.D. Perez-Murcia, A. Perez-Espinosa, J. Moreno-Caselles y C. Paredes. 2005. "Estimation of nutrient values of pig slurries in Southeast Spain using easily determined properties". *Waste Management*, 25(7), 719-725.

- Moral, R., M.D. Perez-Murcia, A. Perez-Espinosa, J. Moreno-Caselles, C. Paredes y B. Rufete. 2008. "Salinity, organic content, micronutrients and heavy metals in Pig slurries from South-Eastern Spain". *Waste Management*, 28: 367-371.
- Mórtola N., M.E. Beily, M.A. Brieva, A. Soto, M. Eiza, P. Carfagno, N. Riera, P. Bres, P. Rizzo y L. Brutti. 2018. "Evaluación de la calidad y momento de aplicación al asuelo de un efluente porcino crudo y digerido anaeróbicamente". *II Simposio de residuos agropecuarios y agroindustriales del NOA y Cuyo*.
- Mortola, N., Romaniuk, R., Cosentino, V., Eiza, M., Carfagno, P., Rizzo, P., Bres, P., Riera, N., Roba, M., Butti, M., Sainz, D., y Brutti, L. (2019). Potential use of an anaerobic digestate as biofertiliser; evaluation on soil properties and lactuca sativa growth. *Pedosphere*, 29, 60–69.
- Murage, E.W., P.R. Voroney, B.D. Kay, B. Deen y R.P. Beyaert. 2007. "Dynamics and turnover of soil organic matter as affected by tillage". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 71(4), 1363-1370.
- Mylavarapu, R.S. y G.M. Zinati. 2009. "Improvement of soil properties using compost for optimum parsley production in sandy soils". *Scientia Horticulturae*, 120(3), 426-430.
- Nannipieri, P., S. Grego, y B. Ceccanti. 1990. "Ecological significance of the biological activity in soil", en: J.M. Bollag y G. Slotzky (eds). *Soil Biochem*. Nueva York (EE. UU.). Marcel Dekker.
- Nannipieri, P., F. Pedrazzini, P.G. Arcara y C. Piovanelli. 1979. "Changes in amino acids, enzyme activities, and biomasses during soil microbial growth". *Soil Science*, 127(1), 26-34.
- Navroski, D., G.M. de Cesare Barbosa y A. Moreira. 2019. "Soil enzymatic activity and chemical attributes after continuous and interrupted application of pig slurry". *Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14(1).
- Nicoletto, C., Galvao, A., Maucieri, C., Borin, M., y Sambo, P. (2017). Distillery anaerobic digestion residues: A new opportunity for sweet potato fertilization. *Scientia Horticulturae*, 225, 38-47.
- Nkoa, R. 2014. "Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review". *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 473-492.
- Nortcliff, S. 2002. "Standardisation of soil quality attributes". *Agric., Ecosys. Environ.*, 88(2), 161-168.
- Nyord, T., H.T. Sogaard, M.N. Hansen y L.S. Jensen. 2008. "Injection methods to reduce ammonia emission from volatile liquid fertilisers applied to growing crops". *Biosystems Engineering*, 100(2), 235-244.
- O'Neill, B.F., M.H. Deighton, B.M. O'loughlin, F.J. Mulligan, T.M. Boland, M. O'donovan y E. Lewis. 2011. "Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered to spring-calving Holstein-Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk production". *Journal of dairy science*, Vol. 94, N°4, pp. 1941-1951.
- Odlare, M., V. Arthurson, M. Pell, K. Svensson, E. Nehrenheim y J. Abubaker. 2011. "Land application of organic waste—effects on the soil ecosystem". *Applied Energy*, 88(6), 2210-2218.
- Oehl, F., Oberson, A., Tagmann, H. U., Besson, J. M., Dubois, D., Mäder, P., Roth, H. y Frossard, E. (2002). Phosphorus budget and phosphorus availability in soils under organic and conventional farming. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 62(1), 25-35.
- Ogunwande, G.A., J.A. Osunade y L.A.O. Ogunjimi. 2008. "Effects of carbon to nitrogen ratio and turning frequency on composting of chicken litter in turned-windrow piles". *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*.
- Olsen, J.E. y H.E. Larsen. 1987. "Bacterial decimation times in anaerobic digestions of animal slurries". *Biological wastes*, 21(3), 153-168.
- Ottoson, J.R., A. Schnürer y B. Vinnerås. 2008. "In situ ammonia production as a sanitation agent during anaerobic digestion at mesophilic temperature". *Letters in applied microbiology*, 46(3), 325-330.
- Pain, B.F. y K.A. Smith. 1994. "Organic manures and nitrate leaching", en *Solving the nitrate problem, progress in research and developments*. Londres. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Publications.
- Paul, E.A., D. Harris, M.J. Klug y R.W. Ruess. 1999. "The determination of microbial biomass", en: G.P. Robertson *et al.* (eds.). *Standard soil methods for long-term ecological research*. Nueva York (EE. UU.). Oxford University Press.
- Paustian, K., B.A. Babcock, J. Hatfield, C.L. Kling, R. Lal, B.A. McCarl y G.P. Robertson. 2004. *Climate change and greenhouse gas mitigation: challenges and opportunities for agriculture*. Iowa (EE. UU.). Council for Agricultural Science and Technology.
- Pegoraro, V.R., M.F. Boccolini, M.B. Aimetta, T. Baigorria y C.R. Cazorla. 2014. "Influencia de la aplicación de efluente porcino sobre las propiedades químicas y biológicas de un Argiudol típico (Córdoba, Argentina)". *Cienc. Suelo*, 32(2), 283-289.
- Peralta Alba, J.M. (ed.). 2005. *Recomendaciones Técnicas para la Gestión Ambiental en el Manejo de Purines de la Explotación Porcina*. Santiago de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).
- Pérez Brandán, C., Huidobro, J., Conforto, C., Arzeno, J. L., March, G., Meriles, J., y Gil, S. V. (2011). Impacto de los sistemas de labranza sobre indicadores biológicos de calidad de suelo.

- Pino, A. D., Repetto, C., Mori, C., y Perdomo, C. (2008). Patrones de descomposición de estiércoles en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 26(1), 43-52.
- Pisco, R.R., y M.I.P. Arenas. 2006. "Evaluación del potencial de los biosólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y su efecto sobre el cultivo de rabano rojo (*Raphanus sativus* L.)". *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, Vol. 59, N° 2, pp. 3543-3556.
- Pivato, A., S. Vanin, R. Raga, M.C. Lavagnolo, A. Barausse, A. Rieple, A. Laurente y R. Cossu. 2016. "Use of digestate from a decentralized on-farm biogas plant as fertilizer in soils: an ecotoxicological study for future indicators in risk and life cycle assessment". *Waste management*, Vol. 49, pp. 378-389.
- Plassart, P., Vincelas, M. A., Gangneux, C., Mercier, A., Barray, S., y Laval, K. (2008). Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agriculture, ecosystems y environment*, 127(3-4), 286-293.
- Pordomingo, A.J. 1998. "Evaluación de la sustentabilidad en los agrosistemas mixtos de la región pampeana". *AAPA, 22° Congreso Argentino de Producción Animal "Sustentabilidad de los sistemas mixtos agrícola-ganaderos"*. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Prager Mósquera, M., O.E. Sanclemente Reyes, M. Sánchez de Prager, J. Miller Gallego, A. Sánchez y D. Iván. 2012. "Abonos verdes: Tecnología para el manejo agroecológico de los cultivos". *Agroecología*, Vol. 7, N° 1, pp. 53-62.
- Quakernack, R., Pacholski, A., Techow, A., Herrmann, A., Taube, F., y Kage, H. (2012). Ammonia volatilization and yield response of energy crops after fertilization with biogas residues in a coastal marsh of Northern Germany. *Agriculture, ecosystems y environment*, 160, 66-74.
- Quiroga, A., M. Diez y I. Frasier. 2010. "Aspectos de gestión del agua en sistemas mixtos de producción". *XVIII Congreso Aapresid Rosario*.
- Quiroz Espinoza, M. 2007. Evaluación de la actividad enzimática y su relación con el C orgánico y la actividad respiratoria microbiana en un andisol con distintas rotaciones (tesis de grado). Universidad de Chile. Santiago de Chile.
- Ratcliff, A.W., M.D. Busse y C.J. Shestak. 2006. "Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils". *Applied Soil Ecology*, 34(2-3), 114-124.
- Riera, N. 2019. *Evaluación del manejo de residuos porcinos de un sistema intensivo y semi-intensivo. Su caracterización, estabilización y aplicación de efluente y compost sobre la matriz suelo y planta* (tesis de Maestría en Ciencias de Suelo). Escuela de posgrado Alberto Soriano EPG-FAUBA, Buenos Aires, Argentina.
- Riera, N., M. Beily, M. Viton, L. Giuffré, y D.E. Crespo. 2018. Removal of organic matter and nutrients from a porcine effluent, through geo-containment filtration. *Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 11(1), 35-41.
- Risberg, K., H. Cederlund, M. Pell, V. Arthurson, y A. Schnürer. 2017. "Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure-chemical composition and effects on soil microbial activity". *Waste management*, 61, 529-538.
- Riva, C., Orzi, V., Carozzi, M., Acutis, M., Boccasile, G., Lonati, S., Tambone, F., D'Imporzano, G. y Adani, F. (2016). Short-term experiments in using digestate products as substitutes for mineral (N) fertilizer: Agronomic performance, odours, and ammonia emission impacts. *Science of The Total Environment*, 547, 206-214.
- Robert Pullés, M., M. Agramonte Hernández, M. Cruz Arias, y E. Cruz Martínez. 2010. "Evaluación microbiológica del sistema de cama profunda en la crianza porcina". *CENIC. Ciencias biológicas*, 41, 1-10.
- Ottoson Roberts, F.H.S. y P.J. O'sullivan. 1950. "Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle". *Australian Journal of Agricultural Research*, 1(1), 99-102.
- Rochette, P., y N.S. Eriksen-Hamel. 2008. "Chamber measurements of soil nitrous oxide flux: are absolute values reliable?". *Soil Science Society of America Journal*, Vol. 72, N° 2, pp. 331-342.
- Roig, N., Sierra, J., Martí, E., Nadal, M., Schuhmacher, M., y Domingo, J. L. (2012). Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: effects on soil functioning. *Agriculture, ecosystems y environment*, 158, 41-48.
- Román, P., M.M. Martínez y A. Pantoja. 2013. *Manual de compostaje del agricultor: Experiencias en América Latina*. Santiago de Chile. FAO.
- Romaniuk, R., M. Beltrán, L. Brutti, A. Costantini, S. Bacigaluppo, H. Sainz-Rozas y F. Salvagiotti. 2018. "Soil organic carbon, macro- and micronutrient changes in soil fractions with different lability in response to crop intensification". *Soil and Tillage Research*, 181, 136-143.
- Romaniuk, R., L. Giuffré, C. Chagas, C. Pascale, A. Costantini y M. Davidovich. 2006. "Calidad de suelo: sensibilidad de variables físicas, químicas y biológicas con diferentes sistemas de manejo". *Revista Facultad de Agronomía*, 26(1), 53-60.

- Romaniuk, R., y L. Giuffré. 2008. "Influencia del sistema de manejo y los años de agricultura sobre distintas formas de carbono en un Argiudol vértico bajo producción hortícola", en *Las fronteras de la física química y ambiental en Iberoamérica*. 169-173.
- Sadak, Y.M., I. Ghariani, A.B. M' Berek y L. Tayachi. 2015. "Qualitative study of solid poultry digestate from an industrial digester installed in Tunisia", *Moroccan Journal of Chemistry* 3(1), 157-166.
- SAGPyA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación Argentina (2005). Estadísticas en línea.
- Sainz Rozas, H.S., M. Eyherabide, H.E. Echeverría, P., Barbieri, H. Angelini, G.E. Larrea y M. Barraco. 2013. "¿Cuál es el estado de la fertilidad de los suelos argentinos?", *Simposio Fertilidad 2013. Nutrición de cultivos para la intensificación productiva sustentable*, pp. 62-72.
- Sainz Rozas, H.S., H.E. Echeverría y H.P. Angelini. 2011. "Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas de la región pampeana y extrapampeanas Argentina". *Informaciones Agronómicas*, Vol. 2, pp. 1-7.
- Salomon, K.R., E.E.S. Lora, M.H. Rocha y O.O. Almazán. 2011. "Cost calculations for biogas from vinasse biodigestion and its energy utilization". *Sugar Industry*, Vol. 136, N° 4, pp. 217-223.
- Sánchez, M. y J.L. González. 2005. "The fertilizer value of pig slurry. I. Values depending on the type of operation". *Bioresource technology*, 96(10), 1117-1123.
- Sanclemente, O.E. 2013. *Efecto de Mucuna pruriens asociada a una gramínea sobre la actividad simbiótica rizosférica y la movilización de N y P, en un sistema de cultivo maíz (Zea mays L.)-soya (Glycine max L.)*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
- Sänger, A., D. Geisseler y B. Ludwig. 2014. "C and N dynamics of a range of biogas slurries as a function of application rate and soil texture: a laboratory experiment". *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(12), 1779-1794.
- Sasal, C., A. Andriulo, J. Ullé, F. Abrego y M. Bueno M. 2000. "Efecto de diferentes enmiendas sobre algunas propiedades edáficas en sistemas de producción hortícola del centro norte de la región pampeana húmeda". *Ciencia del Suelo*, Vol. 18, N° 2, p. 95-114.
- Saveyn, H. y P. Eder. 2014. *End-of-waste criteria for biodegradable waste subjected to biological treatment (compost y digestate): technical proposals*. Luxemburgo. Publications Office of the European Union.
- Schindlbacher, A., S. Zechmeister-Boltenstern y K. Butterbach-Bahl. 2004. "Effects of soil moisture and temperature on NO, NO<sub>2</sub>, and N<sub>2</sub>O emissions from European forest soils". *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, Vol. 109, N° 17, pp. 1-12.
- Schloter, M., P. Nannipieri, S.J. Sørensen y J.D. van Elsas. 2018. "Microbial indicators for soil quality". *Biology and Fertility of Soils*, 54(1), 1-10.
- Schneider G., E. Comerón y L. Romero. 2001. *El rendimiento y la eficiencia de uso de la secuencia de cultivos forrajeros sobre la productividad física y económica del tambo en Argentina*. Informe técnico INTA (disponible en [http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001\\_165.htm](http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001_165.htm))
- Schoenholtz, S.H., H. Van Miegroet y J.A. Burger. 2000. "Review: A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities". *Forest Ecology and Management*, 138, 335-356.
- Schwarzenbach, R.P., P.M. Gschwend y D.M. Imboden. 2016. *Environmental organic chemistry*. Nueva York (EE. UU.). John Wiley y Sons.
- Scottford, I.M., T.R. Cumby, R.P. White, O.T. Carton, F. Lorenz, U. Hatterman y G. Provoló. 1998. "Estimation of the nutrient value of agricultural slurries by measurement of physical and chemical properties". *Journal of Agricultural Engineering Research*, 71(3), 291-305.
- [Secretaría de Gobierno de Ambiente y Desarrollo Sustentable. 2019. Resolución 19/2019 Norma Técnica para la Aplicación Agrícola de Digerido Proveniente de Plantas de Digestión Anaeróbica](#). Buenos Aires.
- Sharma, S.K., A. Ramesh, M.P. Sharma, O.P. Joshi, B. Govaerts, K.L. Steenwerth y D.L. Karlen, 2010. "Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality". *Sustainable Agriculture Reviews*, 5, 317-358.
- Shelton, D.R., A.M. Sadeghi y G.W. McCarty. 2000. "Effect of soil water content on denitrification during cover crop decomposition". *Soil Science*, Vol. 165, N°4, pp. 365-371.
- Shiralipour, A., D.B. McConnell y W.H. Smith. 1992. "Physical and chemical properties of soil as affected by municipal solid waste compost application". *Biomass and Bioenergy*, 3(3-4), 261-266.
- Silva, D. M. D., Antonioli, Z. I., Jacques, R. J. S., Silveira, A. D. O., Silva, D. A. A. D., Rache, M. M. y Silva, B. R. D. (2015). Microbiological Indicators of Pasture Soil with Successive Applications of Pig Slurry. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 39(6), 1585-1594.
- Sobrero, M.C. y A. Ronco. 2004. "Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.)". En

- G. Castillo (ed.), Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México. IMTA.
- Solís, E. 1991. "Determinación de la dosis (mezcla abono fertilizante) y la época de aplicación del efluente utilizando el estiércol caprino como materia prima en el cultivo del frijoles (*Phaseolus vulgaris*) y su efecto sobre las propiedades físicas del suelo" (tesis de licenciatura) Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.
- Sørensen, P., H.B. Møller. 2009. "The fate of nitrogen in pig and cattle slurries applied to the soil-crop system", en: Adani, F., Scievano, A., Boccasile, G. (eds.), *Anaerobic digestion: Opportunities for agriculture and environment. Proceeding from the conference: Anaerobic digestion: Opportunity for agriculture and environment*, Milano January 2008. DiProVe University of Milan.
- Soriano, A. 1983. "El agua y la producción vegetal: consumo y eficiencia". *IDIA, Suplemento 36*, 44-50.
- Spielmeyer, A., J. Ahlborn y G. Hamscher. 2014. "Simultaneous determination of 14 sulfonamides and tetracyclines in biogas plants by liquid-liquid-extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(11), 2513-2524.
- Spoor, G. 2006. "Alleviation of soil compaction: requirements, equipment and techniques". *Soil Use Manage*, 22(2), 113-122.
- Stocking M. y J. Albaladejo. 1994. "Refuse isn't rubbish!". *Ambio*, 23(3), 229-232.
- Stratton, M.L., V.A. Barker y J.E. Rechcigl. 1995. "Compost", en J.E. Rechcigl, *Soil Amendments and environmental quality*. Lewis Publisher. Nueva York (EE. UU.).
- Strauch, D. 1991. "Survival of pathogenic microorganisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge". *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 10(3), 813-846.
- Studdert, G., y H.E. Echeverría. 2000. "Crop rotations and nitrogen fertilization to manage soil organic carbon dynamics". *Soil Science Society of America Journal*, 64(4), 1496-1503.
- Syakila, A., y C. Kroeze. 2011. "The global nitrous oxide budget revisited". *Greenhouse Gas Measurement and Management*, Vol. 1, N° 1, pp. 17-26.
- Tabatabaei, M., y H. Ghanavati. 2018. "Biogas. Fundamentals, process and operation", en V. Kumar Gupta y M. G. Tuohy (eds.), *Biofuel and biorefinery technologies*. Suiza: Springer International Publishing AG (disponible en <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-77335-3>).
- Tabatabai, M. A. 1994. "Soil enzymes", en R. W. Weaver, J. S. Angle, y P. S. Botttomley (eds.) *Methods of soil analysis: part 2—microbiological and biochemical properties*, (methods of soil an2), 775-833.
- Taboada, M.A., O.A. Barbosa y D.J. Cosentino. 2008. "Null creation of air-filled structural pores by soil cracking and shrinkage in silty loam soils". *Soil Sci*. 173, 130-142.
- Tam, N.F.Y. y S. Tiquia. 1994. "Assessing toxicity of spent pig litter using a seed germination technique". *Resources, Conservation and Recycling*, Vol. 11, N° 1-4, pp. 261-274.
- Tambone, F., y Adani, F. (2017). Nitrogen mineralization from digestate in comparison to sewage sludge, compost and urea in a laboratory incubated soil experiment. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 180(3), 355-365.
- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., y Adani, F. (2010). Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere*, 81(5), 577-583.
- Teglia, C., A. Tremier y J.L. Martel. 2011. "Characterization of solid digestates: part 1, review of existing indicators to assess solid digestates agricultural use". *Waste and Biomass Valorization*, Vol. 2, N° 1, pp. 43-58.
- Tejada, M., y Gonzalez, J.L. (2003). Effects of the application of a compost originating from crushed cotton gin residues on wheat yield under dryland conditions. *Eur. J. Agron.*, 19, 357-368.
- Tigini, V., M. Franchino, F. Bona y G.C. Varese. 2016. "Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure". *Science of the Total Environment*, Vols. 551-552, pp. 127-132 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.004>).
- Tilman, D., K.G. Cassman, P.A. Matson, R. Naylor y S. Polasky. 2002. "Agricultural sustainability and intensive production practices". *Nature*, 418, 671-677.
- Tiquia, S.M. 2000. "Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig on litter system", en P.R. Warman y B.R. Taylor (ed.), *Proceeding of the International Composting Symposium*. Nueva Escocia (Canadá). CBA Press Inc.
- Tisdall, J.M., y J.M. Oades. 1982. "Organic matter and water-stable aggregates in soil". *J. Soil Sci.*, 33(2), 141-163.
- Tosi, J.C. 2018. *Costos de implantación de pasturas y verdes. Informe técnico*. Buenos Aires. INTA (disponible en [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_costo\\_past\\_y\\_verd\\_03\\_2018.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_costo_past_y_verd_03_2018.pdf)).

- Trelo-Ges, V. y T. Chuasavathi. 2002. "Effect of municipal waste and grass cultivation on physical properties of a sandy soil of northeast Thailand", en *Abstracts 17th World Congress of Soil Science*, 14-17 agosto 2002, Bangkok, Thailand.
- Trumbore, S.E., O.A. Chadwick y R. Amundson. 1996. "Rapid exchange between soil carbon and atmospheric carbon dioxide driven by temperature change". *Science*, Vol. 272, N° 5260, pp. 393-396.
- Unc, A. y M.J. Goss. 2004. "Transport of bacteria from manure and protection of water resources". *Applied Soil Ecology*, 25(1), 1-18.
- USDA y USCC. 2001. *Test Methods for the examination of composting and compost*. Edaphos International, Department of Agriculture and Composting Council, USA.
- Valenzuela, O. y C. Gallardo. 2002. "Sustratos Hortícolas. Un insumo clave en los sistemas de producción de plantines". *Revista hortalizas*. Vázquez-Rowe, I., K. Golkowska, V. Lebuf, C. Vaneeckhaute, E. Michels, E. Meers, E. Benetto y D. Koster. 2015. "Environmental assessment of digestate treatment technologies using LCA methodology". *Waste Management*, Vol. 43, pp. 442-459.
- Vivas, H. (1995). Fertilización de pasturas base alfalfa en la región central de Santa Fe. *Información técnica para productores*. INTA Rafaela.
- van Gestel C.C., J.J. van der Waarde, J.G. Derksen, E.E. van der Hoek, M.F. Veul, S. Bouwens, B. Rusch, R. Kronenburg, G.N. Stokman. 2001. "The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils". *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 20, N° 7, pp. 1438-1449.
- Varela M.F., P.L. Fernández, G. Rubio y M.A. Taboada. 2011. "Cultivos de cobertura: efectos sobre la macroporosidad y la estabilidad estructural de un suelo franco-limoso". *Ciencia del Suelo*, 29(1), 99-106.
- Venglovsky, J., N. Sasakova y I. Placha. 2009. "Pathogens and antibiotic residues in animal manures and hygienic and ecological risks related to subsequent land application". *Bioresource technology*, 100(22), 5386-5391.
- Verbist, K., A.W. Robertson, W. Cornelis y D. Gabriels. 2010. "Seasonal predictability of daily rainfall characteristics in central-northern Chile for dry-land management". *J. Appl. Meteorol. Clim.*, 49(9), 1938-1955.
- Walker M.; Banks C.; Heaven S.; Frederickson J. (2010). Residual biogas potential test for digestates.
- Walker, M., Banks, C., Heaven, S., y Frederickson, J. (2010). Development and evaluation of a method for testing the residual biogas potential of digestates. OFW004-005. Waste and Resources Action Programme.
- Walkley, A. y I.A. Black. 1934. "An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method". *Soil Science*, 37, 29-37.
- Walsh, J.J., D.L. Jones, D.R. Chadwick y A.P. Williams. 2018. "Repeated application of anaerobic digestate, undigested cattle slurry and inorganic fertilizer N: Impacts on pasture yield and quality". *Grass and Forage Science*, 73(3), 758-763.
- Walsh, J.J., D.L. Jones, G. Edwards-Jones y A.P. Williams. 2012. "Replacing inorganic fertilizer with anaerobic digestate may maintain agricultural productivity at less environmental cost". *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175(6), 840-845.
- Walsh J.J., J. Rousk, G. Edwarda-Jones, D.L. Jones y A. Prysor Williams. 2012. "Fungal and bacteria growth following the application of slurry and anaerobic digestate of livestock manure to temperature pasture soils". *Biol Fertil Soils*, Vol. 48, pp. 889-897.
- Wang, F., J.T. Sims, L. Ma, W. Ma, Z. Dou y F. Zhang. 2011. "The phosphorus footprint of China's food chain: implications for food security, natural resource management, and environmental quality". *Journal of environmental quality*, 40(4), 1081-1089.
- Weil, R.R., K.R. Islam, M.A. Stine, J.B. Gruver y S.E. Samson-Liebig. 2003. "Estimating active carbon for soil quality assessment: A simplified method for laboratory and field use". *American Journal of Alternative Agriculture*, 18(1), 3-17.
- Wilken, D. et al. 2018. *Digestato como fertilizante*. Freising (Alemania). Fachverband Biogas e.V. (disponible en [https://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE-Digestato-como-fertilizante/\\$file/Digestato\\_como\\_fertilizante.pdf](https://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE-Digestato-como-fertilizante/$file/Digestato_como_fertilizante.pdf)).
- Winding, A., K. Hund-Rinke y M. Rutgers. 2005. "The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 230-248.
- Yagüe, M.R., À.D. Bosch-Serra y J. Boixadera. 2012. "Measurement and estimation of the fertiliser value of pig slurry by physicochemical models: usefulness and constraints". *Biosystems Engineering*, 111(2), 206-216 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.11.013>).
- Yasar, A., R. Rasheed, A.B. Tabinda, A. Tahir y F. Sarwar. 2017. "Life cycle assessment of a medium commercial scale biogas plant and nutritional assessment of effluent slurry". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 67, pp. 364-371.

- Yenigün, O. y B. Demirel. 2013. "Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review". *Process Biochemistry*, 48(5-6), 901-911 (disponible en <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.012>).
- Zagal, E., N. Rodríguez, I. Vidal y L. Quezada. 2002. "Actividad microbiana en un suelo de origen volcánico bajo distinto manejo agronómico". *Agricultura Técnica*, 62(2), 297-309.
- Zanotti, N.L. y D. Buschiazzo. 1997. "El suelo. Un cálculo económico de la degradación. INTACR La Pampa/San Luis". *Horizonte Agropecuario*, pp. 4-5.
- Zhang, S.H., Y.M. Hua y L.W. Deng. 2016. "Nutrient status and contamination risks from digested pig slurry applied on a vegetable crops field". *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(4), 406.
- Ziemer, C.J., J.M. Bonner, D. Cole, J. Vinje, V. Constantini, S. Goyal y L.J. Saif. 2010. "Fate and transport of zoonotic, bacterial, viral, and parasitic pathogens during swine manure treatment, storage, and land application". *Journal of Animal Science*, 88(suppl\_13), E84-E94.
- Zink, T.A., y M.F. Allen. 1998. "The effects of organic amendments on the restoration of a disturbed coastal sage scrub habitat". *Restoration-Ecology*, 6 (1), 52-58.
- Zucconi, F., A. Pera, M. Forte, M. de Bertoli. 1981. "Evaluating toxicity in immature compost". *Biocycle*, Vol. 22, pp. 54-57.

Secretaría de Agricultura,  
Ganadería y Pesca



Ministerio de Economía  
**Argentina**