

**Emisiones de óxido nitroso desde suelos con pastizales dedicados a
la ganadería extensiva.**

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

Mónica Gabriela Perez

Ingeniera agrónoma - Universidad de Buenos Aires - 2015

Lugar de trabajo:

Instituto de Suelos - Centro de Investigación de Recursos Naturales -INTA



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Alejandro Oscar Costantini

Ingeniero Agrónomo. (Universidad de Buenos Aires)

Magister Scientiae, área Ciencia del Suelo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias, área Suelos (Universidad Federal Rural do Río de Janeiro)

Co-directora

Romina Romaniuk

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Claudia Faverín

Lic. en Cs. Biológicas (Universidad Nacional de Mar del Plata)

Magister Scientiae en Producción Animal (Universidad Nacional de Mar del Plata)

Doctora en Ciencia Animal (Universidad Nacional del Centro de la Provincia. de Buenos Aires)

María Paula Juliarena

Lic. en Química (Universidad Nacional de la Plata)

Doctora (Universidad Nacional de la Plata)

Agustín del Prado Santeodoro

Biólogo (Universidad del País Vasco)

Master (Universidad del País Vasco)

Ph. D. (Universidad del País Vasco)

Fecha de defensa de la tesis: 7 de MARZO de 2025

A Zulma

Agradecimientos

Quiero expresar mi agradecimiento:

A mi comité de tesis, el Dr. Alejandro Costantini y la Dra. Romina Romaniuk, quienes confiaron en mí y me guiaron con paciencia y dedicación durante todo este proceso. Por brindarme la oportunidad de desarrollarme tanto a nivel personal como profesional. No tengo palabras para expresar mi gratitud por su inmenso apoyo.

A mi colega y amiga, Dra. Vanina Cosentino, por sus invaluable aportes a esta tesis y por nunca soltarme la mano. Su compañía y generosidad me impulsaron a lo largo de este recorrido.

A mis compañeros de camino, Lic. Franco González y Lic. Mercedes Busto y a los tesisistas de grado, Daniela, Valentina y Sebastián, cuyo entusiasmo y esfuerzo hicieron posible la realización de este trabajo.

A Matías Bailleres, José Otondo, Esteban Melani, Enrique y todo el equipo de la Chacra Experimental Integrada Chascomús, cuya colaboración en el campo fue fundamental para que este trabajo se llevase a cabo.

Al Dr. Bruno Alves de EMBRAPA Agrobiología, Seropédica, Brasil, por recibirme con los brazos abiertos y ofrecerme las herramientas necesarias para avanzar en el análisis de los datos.

Al Dr. David Chadwick de la Universidad de Bangor, Reino Unido, por abrirme las puertas del Environment Centre Wales y permitirme formarme como científica en un entorno tan inspirador.

Al Dr. Miguel Taboada, por su generosa contribución de conocimiento y experiencia en la construcción de esta tesis.

Al Instituto de Suelos y a todos mis compañeros por ofrecerme un espacio donde florecen mis ideas y mi trabajo.

A mis compañeros de cátedra de Edafología FAUBA, por los años compartidos.

Al FONCyT, al INTA, a FONTAGRO y PROCISUR por financiar mi trabajo doctoral.

A la Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano de la Facultad de Agronomía de la UBA, por su valioso apoyo.

A mis hermanas de la vida: Andrea, Leila y Zuni, por su apoyo incondicional y por siempre creer en mí, incluso cuando yo dudaba.

A la Universidad Pública, por abrazarme, por enseñarme sobre sueños colectivos y por transformarme para siempre.

A Ignacio, mi hermano, mi mejor amigo y compañero de aventuras, por estar siempre para mí y darlo todo y más para ayudarme a cumplir mis sueños.

A Liliana y Juan, mis padres, por amarme, por ser siempre el motor que impulsa mis sueños, por poner cuerpo y alma para ayudarme incondicionalmente a alcanzar mis metas, y por hacerme quien soy. Siempre fueron y serán mis guías en la vida.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

Publicaciones derivadas de la tesis

Perez, M. G., Romaniuk, R., Cosentino, V., Busto, M., Gonzalez, F., Taboada, M., Alves, B. y Costantini, A. (2020). Winter soil N₂O emissions from a meat production system under direct grazing of Argentine Pampa. *Animal Production Science*, 61(2), 156-162.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	iv
Publicaciones derivadas de la tesis	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiv
Abreviaturas	xv
Resumen.....	xvi
Abstract	xviii
Capítulo 1. Introducción general y metodología transversal a varios capítulos 1	
1.1 Antecedentes	2
1.1.1 El óxido nitroso.....	3
1.1.2 Cuantificación de las emisiones de N ₂ O provenientes de la ganadería	4
1.1.3 Las excretas animales como fuente de emisión de N ₂ O	8
1.1.4 ¿Secuestro o emisión de C? Interrogantes sobre la inclusión leguminosas en el pastizal.....	11
1.1.5 Región de estudio: la Cuenca del Salado.....	13
1.2 Objetivo general y organización de la tesis.....	16
1.2.1 Capítulo 2. Concentración de nitrógeno y volumen de la orina depositada en suelos como variables reguladoras de la emisión de N ₂ O.....	16
1.2.2 Capítulo 3. Emisiones de N ₂ O provenientes de las excretas bovinas en suelos hidro-halomórficos con pastizales naturalizados.	17
1.2.3 Capítulo 4. Emisiones de N ₂ O provenientes de las excretas de bovinos en suelos hidro-halomórficos con promoción de Lotus tenuis.....	17
1.2.4 Capítulo 5. Análisis comparativo de emisiones de N ₂ O, factores de emisión y secuestro de C en sistemas con y sin presencia de Lotus tenuis.	18
1.2.5 Relevancia de los resultados	18
1.3 Materiales y métodos.....	21
1.3.1 Descripción del sitio de estudio.	21
1.3.2 Diseño experimental.....	23
1.3.3 Caracterización climática de la región	24
1.3.4 Variables climáticas	26
1.3.5 Muestreo y determinación de N ₂ O.....	27
1.3.6 Preparación de los tratamientos	28
1.3.7 Determinaciones complementarias	31
Capítulo 2. Concentración de N y volumen de la orina depositada en suelos como variables reguladoras de la emisión de N₂O.	33
2.1 Introducción.....	34
2.2 Objetivos e hipótesis	37
2.3 Materiales y métodos.....	38
2.3.1 Sitio de estudio y diseño experimental.....	38
2.3.2 Cálculo de emisión acumulada y porcentaje de N-N ₂ O emitido.....	44
2.3.3 Construcción y validación del árbol de regresión.....	44
2.3.4 Análisis estadístico.....	44
2.4 Resultados	46
2.4.1 Área del parche de orina	46
2.4.2 Factores reguladores de la emisión de N ₂ O	48
2.4.3 Dinámica del C y el N soluble	51
2.4.4 Emisión de N ₂ O	53

2.5	Discusión	57
2.6	Conclusiones	62
2.7	Implicancias en los próximos capítulos.....	62
Capítulo 3. Emisiones de N₂O provenientes de las excretas animales en suelos hidro-halomórficos con pastizales naturalizados.....		64
3.1	Introducción.....	65
3.2	Objetivos e hipótesis	68
3.3	Materiales y métodos.....	69
3.3.1	Características del suelo	69
3.3.2	Características de las excretas bovinas aplicadas.....	70
3.3.3	Análisis estadístico.....	71
3.4	Resultados	72
3.4.1	Nitratos en suelo y Espacio poroso saturado con agua	72
3.4.2	Evolución de la emisión de N ₂ O en el tiempo y dinámica de las emisiones acumuladas.....	76
3.5	Discusión	82
3.6	Conclusiones	88
Capítulo 4. Emisiones de N₂O provenientes de excretas animales en suelos hidro-halomórficos con promoción de <i>Lotus tenuis</i>.....		90
4.1	Introducción.....	91
4.2	Objetivos e hipótesis	93
4.3	Materiales y métodos.....	93
4.3.1	Caracterización del suelo	93
4.3.2	Características de las excretas bovinas aplicadas.....	95
4.3.3	Análisis estadístico.....	95
4.4	Resultados	96
4.4.1	Nitratos en suelo y Espacio Poroso Saturado con Agua	96
4.4.2	Evolución de la emisión de N ₂ O en el tiempo y dinámica de emisiones acumuladas.....	102
4.5	Discusión	107
4.6	Conclusión.....	112
Capítulo 5. Análisis comparativo de emisiones de N₂O, factores de emisión y secuestro de C en sistemas con y sin presencia de <i>Lotus tenuis</i>.		114
5.1	Introducción.....	115
5.2	Objetivos e hipótesis	118
5.3	Materiales y métodos.....	119
5.3.1	Emisiones acumuladas por metro cuadrado y por hectárea.	120
5.3.2	Factores de emisión.....	122
5.3.3	Almacenajes de C.....	122
5.3.4	Análisis estadístico.....	123
5.3.5	Construcción y validación del árbol de regresión.....	124
5.4	Resultados	125
5.4.1	Factores que regulan la emisión de N ₂ O en sistemas de la cuenca del Salado	125
5.4.2	Emisiones acumuladas de N ₂ O con y sin promoción de <i>Lotus tenuis</i> por estación.	130
5.4.3	Factor de emisión de N ₂ O para las excretas.....	135
5.4.4	Almacenaje de C en los suelos y compensación de la emisión de N ₂ O	137

5.4.5 Emisiones anuales estimadas (Nivel 1) con factores de emisión propios vs Secuestro de C	139
5.5 Discusión	140
5.6 Conclusiones	147
Capítulo 6. Discusión general y conclusiones finales	149
6.1. Introducción.....	150
6.2. Hallazgos principales	150
6.3. Implicancias prácticas y metodológicas	155
6.4. Planes y posibles líneas de investigación futuras	157
Bibliografía	160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Emisiones globales de N ₂ O por sector, promedio de los datos anuales del período 1990-2022. Fuente: Elaboración propia con datos de European Commission, Joint Research Centre (JRC) (2024).	5
Figura 1.2. Emisiones globales de N ₂ O del sector Agricultura, promedio de los datos anuales del período 1990-2022. Fuente: Elaboración propia con datos de FAO (2024).	6
Figura 1.3. Ciclo del nitrógeno en el suelo a partir de las excretas bovinas en un sistema ganadero extensivo. Elaboración propia	10
Figura 1.4. Densidad de ganado bovino en cabezas por hectárea. Fuente: SAGyP, 2023.	14
Figura 1.5. Termómetro, cámara de tratamiento de heces y caja de muestreo utilizados durante un muestreo en condiciones de heladas durante el período invernal.	25
Figura 1.6. Temperatura media diaria (°C) y precipitación (mm) ocurrida durante los experimentos realizados en a) invierno, b) primavera, c) verano y d) otoño. El eje DDA representa el número de días después de la aplicación de excretas, considerando el día 0 como el día de la aplicación, La línea representa las temperaturas medias y cada barra un evento de precipitación ocurrida.	27
Figura 1.7. Materiales preparados para el inicio de la colecta de gases en suelos anegados. En la imagen se pueden ver los marcos de metal clavados en el suelo y las tapas que conformarán las cámaras cerradas estáticas.	30
Figura 1.8. Recolección de aire de la cámara estática cerrada por medio de jeringas.	30
Figura 1.9. Sistema de inyección de la muestra desde las jeringas hacia los viales a través de una bomba de vacío manual.	31
Figura 2.1. Parcela experimental con materiales preparados para el inicio de la colecta de gases, las estacas de colores indican los límites de los parches de orina que fueron aplicados para la toma de muestras de suelo.	40
Figura 2.2. Determinación a campo del área de los parches de orina con colorante azul brillante y hojas de acetato.	42
Figura 2.3. Área de mojado por cada volumen de parche aplicado. Las barras representan el error estándar de las áreas humedecidas. Letras diferentes indican áreas humedecidas estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).	47
Figura 2.4. Relación entre el volumen de orina aplicada y el área de mojado. La línea punteada es la línea de tendencia, el punto rojo indica el valor donde se observa un cambio en las de pendientes. La figura muestra una regresión con dos pendientes: una de $1370.41 \text{ cm}^2 \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0,99$) para volúmenes de orina menores a 0.926 L, y otra de $610 \text{ cm}^2 \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0.53$) para volúmenes mayores. En el valor de 0.926 L, se observa un cambio en la relación entre el volumen de orina aplicada y el área de mojado. ...	48
Figura 2.5. Evolución diaria de a) las precipitaciones, la temperatura del aire y del suelo después de la aplicación de orina b) porcentaje de EPSA en función de los días post-aplicación en diferentes tratamientos de volumen, concentración de N (N) y carga	

de N (CN) en parches de orina en kg. ha⁻¹. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos..... 49

Figura 2.6. Evolución en la concentración del NH₄⁺ (a) y NO₃⁻ (b) en suelos tratados con diferentes tratamientos de volúmenes de orina y concentraciones de N (N) durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en kg N.ha⁻¹. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 50

Figura 2.7. Evolución del N soluble (mg N kg suelo⁻¹), (a) y del C orgánico extraíble (mg C.kg suelo⁻¹) (b) en suelos tratados con diferentes volúmenes de orina y concentraciones de N durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en kg N.ha⁻¹. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 52

Figura 2.8. Emisiones de N₂O en suelos tratados con diferentes volúmenes de orina y concentraciones de N durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en kg N.ha⁻¹. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 53

Figura 2.9. Comparación de la emisión acumulada N₂O (mg N-N₂O m⁻²) (a) y el % de N emitido como N₂O (b) bajo diferentes tratamientos de volumen de orina y concentración de N. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Letras distintas representan diferencias significativas ($p<0.05$). 55

Figura 2.10. Resultados del análisis del árbol de regresión para este experimento, que muestra las principales variables que afectan las tasas de emisión de N₂O considerando los volúmenes y el contenido de N de la orina..... 55

Figura 3.1. Evolución de la concentración de nitrógeno de los nitratos en suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 73

Figura 3.2. Evolución del espacio poroso saturado con agua (EPSA) de 0 a 10 cm de profundidad excretas durante a)Invierno, b)Primavera, c)Verano y d)Otoño. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$). . 75

Figura 3.3. Evolución de la emisión de N₂O en función de los días post aplicación de tratamientos de excretas durante a)Invierno, b)Primavera, c)Verano y d)Otoño. Las miniaturas en los gráficos a) y b) muestran con mayor detalle en la escala de la evolución de las emisiones diarias de N₂O en N-N₂O ug⁻¹.m² h. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran

diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 77

Figura 3.4. Evolución de acumulación de N-N₂O para el período de muestreo de cada estación: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos. 80

Figura 4.1. Esquema del crecimiento y desarrollo de *Lotus tenuis* en la Cuenca del Salado a lo largo del año (julio a mayo). Se representan las etapas fenológicas, la tasa de acumulación de biomasa y la fijación biológica de nitrógeno. Los meses del año aparecen abreviados, y las abreviaturas incluyen Ndfa (Nitrogen derived from the atmosphere, nitrógeno derivado de la atmósfera) y la actividad de la nitrogenasa. Elaborado a partir de Refi et al. (1998), Vignolio et al. (2011), Bailleres et al. (2020), Nieva et al. (2021) e información propia de campo. 92

Figura 4.2. Evolución de la concentración de nitrógeno de los nitratos en suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 98

Figura 4.3. Evolución del EPSA del suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. . Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 101

Figura 4.4. Evolución de la emisión de N₂O en función de los días post aplicación de tratamientos de excretas durante a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las miniaturas en los gráficos a) y b) muestran con mayor detalle la escala de la evolución de las emisiones diarias de N₂O en N-N₂O $\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{h}$. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$)..... 104

Figura 4.5. Evolución de acumulación de N-N₂O para el período de muestreo de cada estación: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos..... 106

Figura 5.1. Patrón de distribución de las tasas de emisión de N₂O en función de la temperatura, el EPSA y concentración de N-NO₃⁻ del suelo (de izquierda a derecha). 126

Figura 5.2. Resultados del análisis del árbol de regresión, que muestra las principales variables que afectan las tasas de emisión de N₂O. Los promedios que se muestran debajo de cada grupo de las emisiones corresponden a la emisión promedio de ese grupo en $\mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, 127

Figura 5.3. Importancia de las variables reguladoras como fuente de variabilidad del modelo. % IncMSE es el % de variación del error medio cuadrático y el IncNodePurity es el incremento en la pureza de los nodos. 129

Figura 5.4. Emisiones acumuladas de N-N₂O en suelos con y sin promoción de *Lotus*, en diferentes estaciones del año. Se presentan los tratamientos de control, heces y orina, comparando la emisión en pastizales con promoción de *Lotus* (barras negras) y sin promoción de *Lotus* (barras grises). Las barras de error representan el error estándar

de las medias Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre PL y SPL en cada estación y en cada tipo de excreta ($p < 0,05$). 131

Figura 5.5. Emisiones acumuladas de N_2O para control heces y orina en pastizales con (PL) y sin promoción de *Lotus* (SPL) durante: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano, d) Otoño. La barra correspondiente a cada estación se divide en secciones que reflejan las diferentes fuentes de emisión de N_2O . La sección inferior de cada barra representa las emisiones del suelo sin excretas, mientras que las secciones superiores apilan las contribuciones de las heces y la orina, respectivamente. Los asteriscos representan diferencias significativas en la emisión total en $g\ N-N_2O.ha^{-1}$ 133

Figura 5.6. Dinámica de emisiones acumuladas de $N-N_2O$ ($g.ha^{-1}$) en función del tiempo en diferentes estaciones del año. Los gráficos muestran las curvas de emisión para suelos sin excretas y con excretas, en pastizales con y sin promoción de *Lotus*: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano, d) Otoño. 135

Figura 5.8. Contenido de carbono orgánico total (COT) en profundidad para suelos con promoción de *Lotus* (PL) y sin promoción de *Lotus tenuis* (SPL). Letras diferentes representan diferencias significativas dentro de cada profundidad ($p \leq 0.05$) 138

Figura 5.9. Almacenaje de C ($Mg. ha^{-1}$) a los 100 cm (a) y a los 30 cm (b) para suelos con (PL) y sin (SPL) promoción de *Lotus tenuis*. Las barras representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) 139

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Estadísticas climatológicas para el período 1991-2020 tomadas en la estación meteorológica de la ciudad de Dolores (Servicio Meteorológico Nacional, 2024)	25
Cuadro 2.1. Características físico-químicas del suelo.	38
Cuadro 2.2. Volumen de orina agregado, Concentración de N, Total de N aplicados y Carga de N del parche de orina para los 6 tratamientos.....	39
Cuadro 2.3. Volúmenes de parches y su correspondiente área de mojado.	42
Cuadro 2.4. Parámetros de rendimiento del modelo de árbol de regresión.	56
Cuadro 3.1. Propiedades físico-químicas del suelo.	69
Cuadro 3.2. Características de la orina y las heces agregadas al suelo al inicio de cada ensayo según la estación: nitrógeno total, porcentaje de materia seca, C total, nitrógeno total y relación Carbono/Nitrógeno (C:N). (n=3)	71
Cuadro 4.1. Descripción del suelo hasta los 40 cm de profundidad de la Chacra Experimental Integrada Chascomús.....	94
Cuadro 4.2. Características de la orina y las heces agregadas al suelo al inicio de cada ensayo según la estación: nitrógeno total, porcentaje de materia seca, C total, nitrógeno total y relación Carbono/Nitrógeno (C:N), (n=5)	95
Cuadro 5.1. Carga media estacional (animales.ha ⁻¹)utilizada en los cálculos	121
Cuadro 5.2. Valores promedio de las variables explicativas para cada período de muestreo con su correspondiente error estándar. SPL: Pastizales sin promoción de <i>Lotus</i> ; PL: Pastizales con promoción de <i>Lotus</i>	126
Cuadro 5.3. Parámetros de rendimiento del modelo de árbol de regresión.	128
Cuadro 5.4. Factores de emisión de N ₂ O derivados de la orina y las heces para un pastizal SPL y uno con PL con sus respectivos errores estándar.	136

Abreviaturas

ΔC : Cambio en la concentración del gas

Δt : Cambio en el tiempo

A: área de suelo cubierta por la cámara

C: Carbono

CH₄: Metano

CO₂: Dióxido de carbono

CN: Carga de nitrógeno

Dap: Densidad Aparente

EPSA: Espacio poroso saturado con agua

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

FE: Factor de emisión

GEI: Gases de efecto invernadero

IPCC: Intergovernmental Panel on Climate Change (Panel Intergubernamental para el Cambio Climático)

N: Nitrógeno

N₂: Nitrógeno atmosférico

N₂O: Óxido Nitroso

NH₄⁺: Amonio

N-NH₄⁺: Nitrógeno en forma de amonio

N-NO₃⁻: Nitrógeno en forma de nitrato.

N-N₂O: Nitrógeno en forma de óxido nitroso.

NO₃⁻: Nitrato

O₂: Oxígeno atmosférico

Ppm: Partes por millón

V: Volumen de la cámara

PL: Pastizales con promoción de *Lotus*

SPL: Pastizales sin promoción de *Lotus*

m: peso molecular

V_m: volumen molar del gas correspondiente

Resumen

En pastizales ganaderos, las excretas se distribuyen de forma heterogénea en el suelo, convirtiéndose en puntos críticos de emisión de óxido nitroso (N_2O), un potente gas de efecto invernadero (GEI). La inclusión de leguminosas en los pastizales podría incrementar la disponibilidad de nitrógeno (N), potenciando las emisiones de N_2O , pero también contribuir al secuestro de carbono (C) mitigando estas emisiones. El objetivo general de esta tesis fue estudiar las emisiones de N_2O , el almacenamiento de C y algunas variables condicionantes de la emisión en suelos ganaderos extensivos, con y sin promoción de *Lotus tenuis*. Se realizaron dos experimentos de campo: uno que exploró el volumen y la concentración de N en la orina como factores condicionantes en la emisión de N_2O y otro que midió las emisiones de N_2O y el secuestro de carbono en suelos hidromórficos con y sin promoción de *Lotus tenuis* a lo largo de un año, utilizando cámaras estáticas para el muestreo del gas. Los resultados mostraron que el volumen y la concentración de N en la orina son factores clave en la regulación de las emisiones de N_2O . A su vez, tanto los pastizales naturalizados como los promovidos con *Lotus tenuis* incrementaron el secuestro de C, manteniendo un balance positivo entre las emisiones de N_2O y el C almacenado. Así, la promoción de *Lotus tenuis* se posiciona como una práctica que mejora la calidad y la oferta del forraje en verano sin incrementar significativamente las emisiones de N_2O . Además, se identificó que los factores de emisión locales son significativamente más bajos que los propuestos por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC) para cálculos de Nivel 1, subrayando la necesidad de desarrollar factores específicos a nivel local. Futuros estudios podrían centrarse en el uso de otras leguminosas como mitigadoras de la emisión de GEI y en el uso de los datos generados para construir modelos predictivos.

Palabras clave: excretas, parches de orina, leguminosas, gases de efecto invernadero, secuestro de carbono, hidrohalomorfismo, factores de emisión.

Abstract

In grazing pastures, livestock excreta are heterogeneously distributed, creating critical hotspots for nitrous oxide (N₂O) emissions, a potent greenhouse gas (GHG). The inclusion of legumes in pastures could increase nitrogen (N) availability, potentially boosting N₂O emissions, but also contribute to carbon (C) sequestration, mitigating these emissions. The main objective of this thesis was to study N₂O emissions, C storage, and key factors influencing these processes in extensive grazing systems, with and without *Lotus tenuis* promotion. Two field experiments were conducted: one exploring urine volume and N concentration as factors influencing N₂O emissions, and another measuring N₂O emissions and C sequestration in hydrohalomorphic soils over a year, using static chambers for gas sampling. Results indicated that urine volume and N concentration are critical in regulating N₂O emissions. Both naturalized pastures and those with *Lotus tenuis* promotion increased C sequestration, maintaining a positive balance between N₂O emissions and stored C. Thus, *Lotus tenuis* promotion emerges as a practice that enhances forage quality and availability in summer without significantly increasing N₂O emissions. Additionally, local emission factors were found to be significantly lower than those proposed by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), emphasizing the need to develop region-specific emission factors. Future research could focus on using other legumes to mitigate N₂O emissions and utilizing generated data for predictive modelling.

Keywords: excreta, urine patches, legumes, greenhouse gases, carbon sequestration, hydrohalomorphism, emission factors.

Capítulo 1.

Introducción general y metodología transversal a
varios capítulos

1.1 Antecedentes

Los pastizales son sistemas naturales dominados por gramíneas. Se extienden aproximadamente en el 40% de la superficie terrestre y abarcan cerca del 70% de las tierras destinadas a uso agropecuario (Phukubye et al., 2022). En particular, alrededor del 100% de los pastizales sin cultivar son pastoreados por grandes mamíferos, lo que evidencia su vinculación con la actividad ganadera (Milchunas y Lauenroth, 1993).

El contexto actual muestra un incremento sostenido en la producción y el consumo global de carne (Godfray et al., 2018; Sanchez-Sabate y Sabate, 2019), causado principalmente por el crecimiento de la población mundial y de la actividad económica (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2024). Este panorama requiere proyectar la expansión del mercado cárnico minimizando los costos ambientales, y atendiendo a los factores económicos y sociales existentes a nivel regional (Fischer y Bilenca, 2020).

La ganadería constituye una fuente de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) tanto en Argentina como a nivel mundial (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible [MAyDS], (2021); FAO, 2023). En este sentido, es relevante destacar que el efecto invernadero es un fenómeno natural en el cual la superficie terrestre absorbe aproximadamente el 70% de la radiación solar, mientras que el resto se refleja de nuevo al espacio. La radiación absorbida se transforma en radiación infrarroja y regresa a la atmósfera, donde parte es devuelta al espacio y otra parte queda retenida por los GEI, lo que incrementa la temperatura global (Kweku et al., 2018). Entre los GEI derivados de la agricultura y la ganadería se incluyen el óxido nitroso (N_2O), el metano (CH_4) y el dióxido de carbono (CO_2). En el caso de la ganadería, predominan las emisiones de CH_4 producidas por la fermentación entérica, mientras que el N_2O adquiere relevancia debido a su estrecha relación con el suelo y la deposición de excretas animales, elementos que

forman parte del ciclo del nitrógeno, además de su elevado potencial de calentamiento global (Chataut et al., 2023).

1.1.1 El óxido nitroso

El N₂O es uno de los principales GEI. Es una de las moléculas más reactivas del ciclo de N. A su vez, contribuye con el 10% (0.16Wm²) del forzamiento radiativo antropogénico global total, definido como la variación de energía neta medida en la parte superior de la atmósfera como causa de las actividades del hombre (IPCC 2018). A su vez, el N₂O es actualmente la molécula más importante en cuanto al agotamiento de ozono en la estratosfera (Ravishankara et al., 2009). Su tiempo promedio de permanencia en la atmósfera es de aproximadamente 120 años y una molécula de N₂O tiene un potencial de calentamiento 273 veces mayor que el CO₂ (Forster et al., 2021).

Durante la mayor parte del Holoceno, la concentración de N₂O en la atmósfera se mantuvo por debajo de las 265 partes por billón. Desde el inicio de la industrialización, el aumento de las concentraciones atmosféricas de N₂O ha sido persistente, superando el ritmo de su eliminación química. Este proceso de eliminación ocurre principalmente a través de la fotólisis en la estratosfera y de reacciones con oxígeno atómico en estado excitado, que descomponen el N₂O en productos no perjudiciales para la capa de ozono (Prather et al., 2015). A partir de 2009, Thompson et al. (2019) encontraron que el aumento en las emisiones globales de N₂O se produjo a un ritmo incluso más rápido que el estimado inicialmente por el IPCC (Springmann et al., 2018).

El 70% del N₂O se produce de forma natural en los suelos como producto secundario de los procesos microbianos de nitrificación y desnitrificación. Sin embargo, asumir que estas son las únicas vías de producción de N₂O podría resultar en una simplificación del proceso, porque existe una gran diversidad de vías metabólicas que proveen procesos paralelos en los que la producción de N₂O está involucrada (Butterbach-Bahl et al., 2013).

Algunos autores han observado que las principales variables que controlan las emisiones de N_2O , son la temperatura y la humedad del suelo (Trumbore et al., 1996; Butterbach-Bahl et al., 2000). En la región pampeana, se ha observado que las emisiones son bajas cuando la temperatura del suelo es inferior a $14^{\circ}C$ mientras que, superando este umbral, junto con un EPSA mayor al 60-70%, los valores de N_2O aumentan significativamente (Álvarez et al., 2012; Cosentino et al., 2013). Cuando el EPSA supera el 60%, se favorece la desnitrificación, un proceso en el cual el nitrato (NO_3^-) actúa como aceptor de electrones en ausencia de oxígeno (Wrage et al., 2001). Sin embargo, la relación entre humedad y emisiones de N_2O no es lineal, sino que sigue un patrón en forma de campana, alcanzando un máximo en torno al 70-80% de EPSA. A partir de este punto, el ambiente se vuelve más anaeróbico, favoreciendo la conversión de N_2O a N_2 , lo que reduce las emisiones de N_2O (del Prado et al., 2006). Además de la temperatura y la humedad, otras variables como la disponibilidad de NO_3^- y la presencia de carbono lábil en el suelo también condicionan las emisiones de N_2O , ya que actúan como sustrato y fuente de energía en el proceso de desnitrificación (Saggar et al., 2012). Por otro lado, en suelos con niveles de humedad cercanos a capacidad de campo y alto contenido de N disponible, las emisiones de N_2O pueden estar más influenciadas por la nitrificación (Smith et al., 2003).

1.1.2 Cuantificación de las emisiones de N_2O provenientes de la ganadería

La ganadería contribuye con la emisión de GEI, sea directamente (por ejemplo, a través de la fermentación entérica y desde las excretas) o indirectamente (por ejemplo, por cambios de uso de la tierra) (Gerber et al., 2013). Uno de los procesos que tiene mayor injerencia en la emisión global de GEI es la emisión edáfica de N_2O generada por la deposición de excretas en el suelo (IPCC, 2019; López Aipun et al., 2020). Las emisiones de GEI no solo representan procesos de alto impacto ambiental, sino que también inciden

en aspectos comerciales de los productos de la actividad, ya que influyen en la percepción del consumidor, en la regulación de mercados internacionales y en el acceso a posibles certificaciones ambientales exigidas por algunos países (Duarte Cueva, 2014; Thøgersen, 2021; Desmet y Rossi-Hansberg, 2024).

Según estimaciones del Joint Research Centre de la Comisión Europea en 2024, las actividades agropecuarias representaron la principal fuente antropogénica de N₂O entre 1990 y 2022, con una contribución promedio de 69,9% durante ese período, pero que ha variado a lo largo de las décadas (Fig. 1.1).

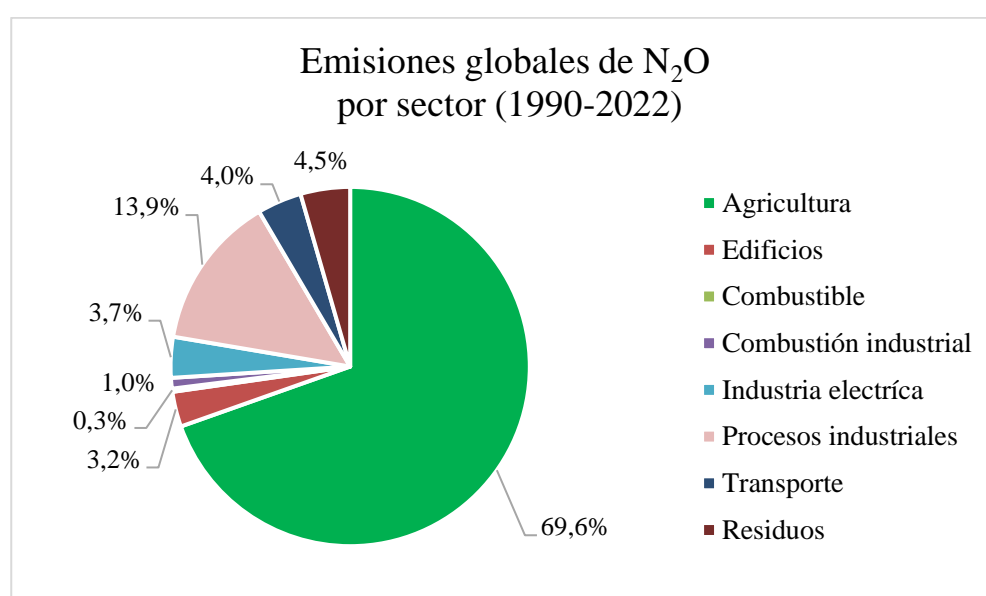


Figura 1.1. Emisiones globales de N₂O por sector, promedio de los datos anuales del período 1990-2022. Fuente: Elaboración propia con datos de European Commission, Joint Research Centre (JRC) (2024).

Dentro de las fuentes de emisión de N₂O del sector agropecuario, el IPCC clasifica aquellas pertenecientes al sector "Agricultura" según sus Directrices de 2006, considerando la actualización metodológica establecida en el refinamiento 2019 (IPCC, 2019). En esta clasificación, se incluyen como fuentes directas de N₂O los residuos agrícolas, quema de residuos agrícolas, gestión del estiércol, excretas depositadas en pasturas, estiércol aplicado a los suelos, fertilizantes sintéticos, suelos orgánicos drenados, incendios forestales/sabanas. No se consideran las emisiones provenientes de

silvicultura ni del cambio de uso de la tierra, ya que estas corresponden a otras categorías dentro del marco metodológico del IPCC. En particular, las excretas depositadas en pastizales representan una fuente clave de emisiones en sistemas ganaderos extensivos, constituyendo un 37,9% de las emisiones directas de N₂O del sector Agricultura (Fig 1.2).

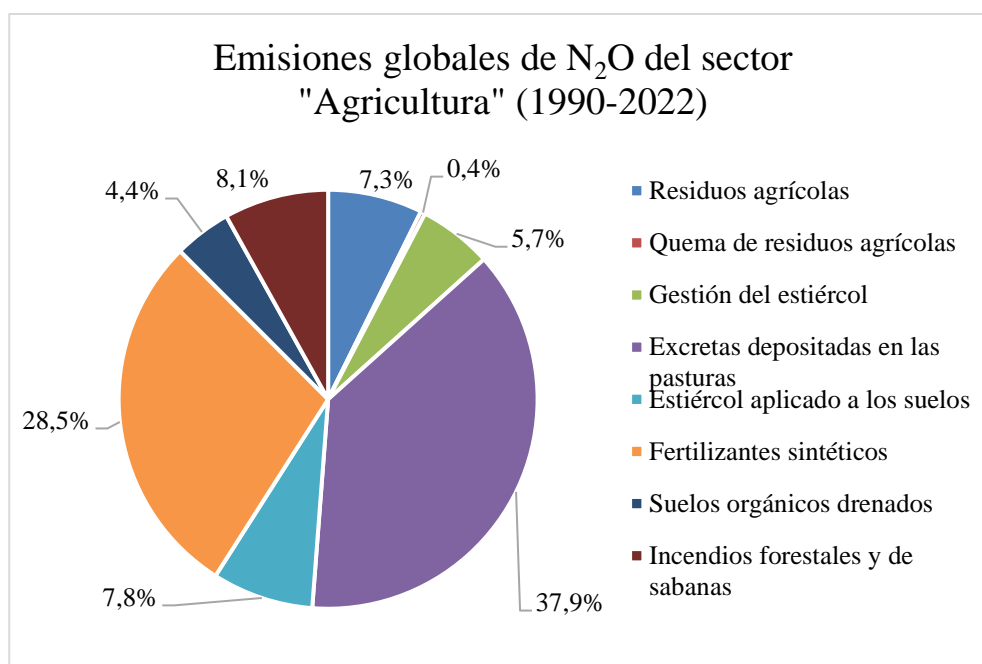


Figura 1.2. Emisiones globales de N₂O del sector Agricultura, promedio de los datos anuales del período 1990-2022. Fuente: Elaboración propia con datos de FAO (2024).

Para el caso de Argentina, según el Cuarto informe Bienal de Actualización de Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas para Cambio Climático (MAyDS, 2021) el sector agropecuario genera el 94,8% de las emisiones de N₂O, de las cuales el 36,1% provienen de excretas animales en sistemas pastoriles. Siendo el sector agropecuario el mayor emisor de N₂O y tomando en cuenta, a su vez, que una gran parte de ese gas emitido proviene de orina y heces depositadas en pasturas, los sistemas ganaderos se presentan como producciones donde la aplicación de estrategias para la disminución de las emisiones puede tener un alto impacto (Gill, Smith, & Wilkinson, 2010).

Dada la importancia de las emisiones de N_2O en sistemas ganaderos, resulta indispensable su cuantificación a distintas escalas. El IPCC es una organización que proporciona directrices metodológicas para que los países elaboren inventarios nacionales de gases de efecto invernadero (GEI). Como parte de este proceso, recopila y recomienda factores de emisión, que pueden ser valores por defecto basados en estudios previos o estimaciones ajustadas a condiciones específicas de cada región. Un factor de emisión se define como un valor representativo que relaciona la cantidad de un compuesto químico emitido a la atmósfera con una fuente emisora específica (IPCC, 2018). Estos factores son usualmente expresados como la masa del compuesto emitido por unidad de peso, volumen, distancia o duración.

Así, las emisiones de gases de efecto invernadero en sistemas ganaderos de un país se calculan multiplicando la población de animales por el correspondiente factor de emisión, expresado como una proporción de N o C emitida en relación con la biomasa consumida o los aportes al suelo (Wang et al., 2011). La estimación de las emisiones de GEI de acuerdo con las directrices del IPCC presenta una incertidumbre importante debido al uso de factores de emisión universales, que deben ser empleados ante la carencia de factores locales. De hecho, existen evidencias de sobreestimación de las emisiones por el uso de estos factores por defecto a nivel regional (Álvarez et al., 2012; Martins et al., 2015). En esta línea, Chirinda et al. (2019) evaluaron las emisiones de N_2O en sistemas ganaderos pastoriles de Argentina, específicamente en Córdoba y Balcarce, y demostraron que la cobertura vegetal en pastizales puede influir significativamente en las tasas de emisión. Estos resultados resaltan la necesidad de desarrollar factores de emisión locales que reflejen con mayor precisión las condiciones ambientales y de manejo regionales. Hasta el año 2019, el IPCC informaba un factor de emisión de N_2O para las emisiones directas por excretas en suelos en pastoreo de 2% del N de estas excretas,

independientemente de que fueran heces u orina (IPCC, 2006). Sin embargo, se ha demostrado en varias investigaciones que la orina y las heces, no afectan a la emisión de N_2O de igual manera y muchos investigadores han recomendado la desagregación del factor de emisión en heces y orina para aumentar la precisión de las estimaciones de los inventarios (van der Weerden et al., 2011; Lessa et al., 2014; Chadwick et al., 2018). Por todo esto, respondiendo a una demanda de la comunidad científica, el IPCC ha disgregado el factor de emisión por heces y orina, y por clima húmedo o seco (IPCC, 2019). No obstante, la incertidumbre en las mediciones locales persiste, por lo que sigue siendo fundamental realizar mediciones a campo de las emisiones de GEI y desarrollar factores de emisión específicos para cada región. Asimismo, es necesario profundizar en el conocimiento de los factores que pueden influir en el aumento de las emisiones en distintos sistemas productivos.

1.1.3 Las excretas animales como fuente de emisión de N_2O

En sistemas ganaderos, las excretas se disponen en forma de parches heterogéneamente distribuidos en el terreno. Estos parches funcionan como "hotspots" o "puntos críticos" de emisión de N_2O , definidos como zonas de alta emisión inducida por cambios en una o más variables microambientales.

El área de un parche de orina se compone de dos zonas: el área mojada, donde la orina es depositada directamente, y el área inmediata exterior, que comprende la zona adyacente desde donde las plantas pueden acceder al N urinario a través de la extensión de las raíces y la difusión del nitrógeno en el suelo. Esta última es clave en la dinámica de N_2O , ya que la absorción parcial del N por las plantas y la microbiota del suelo puede modificar la disponibilidad de sustratos para los procesos de nitrificación y desnitrificación, afectando la intensidad de la emisión (Selbie et al., 2015). La

combinación de estas dos áreas se denomina "área efectiva" del parche de orina, y su magnitud puede variar según el tipo de suelo, el régimen de precipitación y la densidad radicular de la vegetación circundante. La variabilidad en las emisiones de N_2O provenientes de los parches de orina es muy alta, incluso dentro de la misma especie de rumiantes. Esto puede ocurrir por diferencias en la composición de la orina, el contenido de N excretado, la frecuencia de eventos de orina y el volumen depositado en cada evento (Dijkstra et al., 2013, Marsden et al., 2016). Con respecto a las heces bovinas también son depuestas en forma de "parches" o "tortas", pero sus características sólidas conceden diferencias en los procesos que ocurren al llegar al suelo, con respecto a la orina (Cardoso et al., 2016).

En los parches de orina, la vía principal de ingreso de N es la urea (67-90 % del N total en la orina), aunque también ingresan compuestos nitrogenados no ureicos (Kool et al., 2006). La urea se hidroliza rápidamente a NH_4^+ (Fig.1.3) por acción de la enzima ureasa, mientras que los compuestos no ureicos requieren una amonificación microbiana para liberar NH_4^+ . Si se presentan condiciones favorables en el ambiente edáfico, el NH_4^+ se transforma en NO_2^- y luego en NO_3^- a través de la nitrificación, con posibles pérdidas de N_2O por oxidación incompleta (Madigan et al., 2009).

Dentro del sistema planta-suelo, el NO_3^- puede: (1) ser absorbido por las plantas para la síntesis de biomoléculas, (2) lixiviarse o escurrirse, (3) acumularse en el suelo o (4) sufrir desnitrificación, generando óxidos de N y N_2 . A su vez, el NH_4^+ puede: (1) ser captado por las plantas, (2) inmovilizarse en la biomasa microbiana, (3) nitrificarse a NO_3^- (con pérdidas parciales de N_2O), (4) lixiviarse o acumularse en el suelo, o (5) volatilizarse como NH_3 .

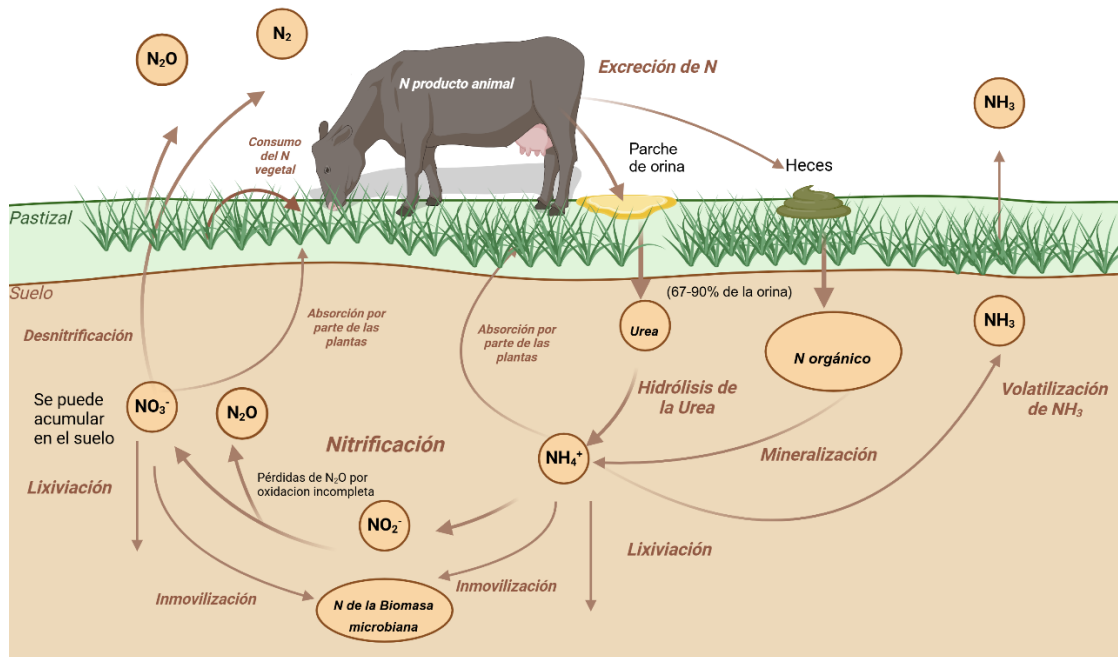


Figura 1.3. Ciclo del nitrógeno en el suelo a partir de las excretas bovinas en un sistema ganadero extensivo. Elaboración propia

Cuando se incorpora la escala planta-suelo-animal, el N absorbido por las plantas retorna al suelo mediante la consumición por el ganado y la excreción en forma de orina y heces, reiniciando el ciclo. En los sistemas ganaderos extensivos, la fracción de N ingerido que se retiene en tejidos o productos de interés comercial (carne, leche) es baja, mientras que la mayor parte se recicla al suelo en forma de excretas. Este reciclaje influye en la disponibilidad y destino del N en el sistema, afectando los procesos de nitrificación, desnitrificación y, por ende, las emisiones de GEI como N_2O y NH_3 . El aumento rápido en las emisiones de N_2O tras la aplicación de orina se atribuye, en gran medida, a la hidrólisis de urea a NH_4^+ y a la estimulación de la liberación de carbono soluble en agua, que provee sustrato a las bacterias desnitrificantes (Monaghan y Barraclough, 1993).

Por otro lado, en las tortas de heces, se ha comprobado que el secado y la formación de una costra pueden causar una reducción de los flujos de N₂O, ya que limitan la disponibilidad de oxígeno y reducen la actividad de los microorganismos responsables de la nitrificación y desnitrificación, inhibiendo así el efecto del N agregado a través de la excreta (Saggar et al., 2012; Cardoso et al., 2016).

Los parches de orina y heces representan fuentes significativas de emisiones de N₂O en sistemas ganaderos. Comprender la variabilidad espacial y temporal de estas emisiones es esencial para mejorar la precisión en las estimaciones de N₂O y desarrollar estrategias de mitigación más eficientes. Factores como la distribución heterogénea de la excreta, la composición del suelo, la densidad de vegetación y las condiciones climáticas influyen en la dinámica de producción y liberación de N₂O (Marsden et al., 2016; Cardoso et al., 2016; López-Aipún et al., 2020).

1.1.4 ¿Secuestro o emisión de C? Interrogantes sobre la inclusión leguminosas en el pastizal.

El secuestro de C es una estrategia de mitigación de la emisión de gases que ha despertado mucho interés de la comunidad científica (Lal et al., 2015). Se define como la captura del C atmosférico y su posterior almacenamiento en una reserva relativamente estable en la superficie terrestre. La producción agropecuaria de base pastoril toma un rol importante en el secuestro de C (Kowalska et al., 2020).

En pastizales, la retención de carbono (C) ha sido estudiada como una estrategia de mitigación capaz de contrarrestar parte de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). Según una revisión publicada por Bai y Cotrufo (2022), el potencial de secuestro de C por mejoras en el manejo del pastoreo es de 0,148 a 0,699 gigatoneladas de CO₂ equivalente por año (Gt CO₂eq.año⁻¹), valores que representan entre el 5 y el 14% de la

emisión anual del sector agropecuario a nivel mundial. Adicionalmente, la incorporación de leguminosas en los pastizales tendría un potencial adicional de 0,147 Gt CO₂e.año⁻¹, valor que representaría el 2.5% de la emisión global de GEI del sector agropecuario. Esto sugiere que la mejora en la gestión de los pastizales podría desempeñar un papel relevante en la reducción del impacto climático de la ganadería.

Los equivalentes de CO₂ se refieren a la masa total de gases emitida, expresada a través de su equivalencia en moléculas de CO₂. En las últimas dos décadas la importancia del contenido de C orgánico del suelo se ha incrementado a nivel global, ya que el aumento de este, además de proporcionarle mejores características, representa una forma de mitigar el calentamiento del planeta. Así, el aumento en el almacenaje de C orgánico del suelo es una vía para la reducción de las emisiones de CO₂ y una forma de compensación por las emisiones de CH₄ y N₂O. En este contexto, el sector ganadero tiene un gran potencial para generar estrategias de manejo que apunten a disminuir la emisión de GEI y/o a aumentar el almacenaje de C en los suelos (Lal, 2004; Gerber et al., 2013; Hristov et al., 2013; Viglizzo et al., 2014).

Se considera que una mayor presencia de leguminosas en los pastizales podría aumentar las emisiones de N₂O debido a la mayor disponibilidad de nitrógeno en el suelo. Sin embargo, también podría mejorar las propiedades físicas del suelo y favorecer el almacenamiento de carbono mediante el aporte de material con una baja relación C/N (Sisti et al., 2004). Por lo tanto, si bien el sector ganadero mundial representa una fuente significativa de emisiones antropogénicas de GEI, también tiene el potencial de contribuir a los esfuerzos de mitigación.

1.1.5 Región de estudio: la Cuenca del Salado.

Durante los últimos 30 años, el aumento de la presión agrícola ha llevado a un desplazamiento de la ganadería a ambientes marginales, con limitantes al crecimiento de la vegetación (Paruelo et al., 2006; Fischer y Bilenca, 2020). Aunque el ganado vacuno se encuentra distribuido en todo el país, la Región Pampeana es el área ganadera por excelencia, con mayor densidad de ganado bovino. La provincia de Buenos Aires con un stock de 19.737.883 aporta el 37% de las cabezas de ganado bovino del país (Fig.1.4). Aproximadamente el 30% de las existencias ganaderas de la provincia, se encuentra en la región de la Cuenca del Salado, lo que la convierte la zona de cría más importante del país (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca [SAGyP], 2023).

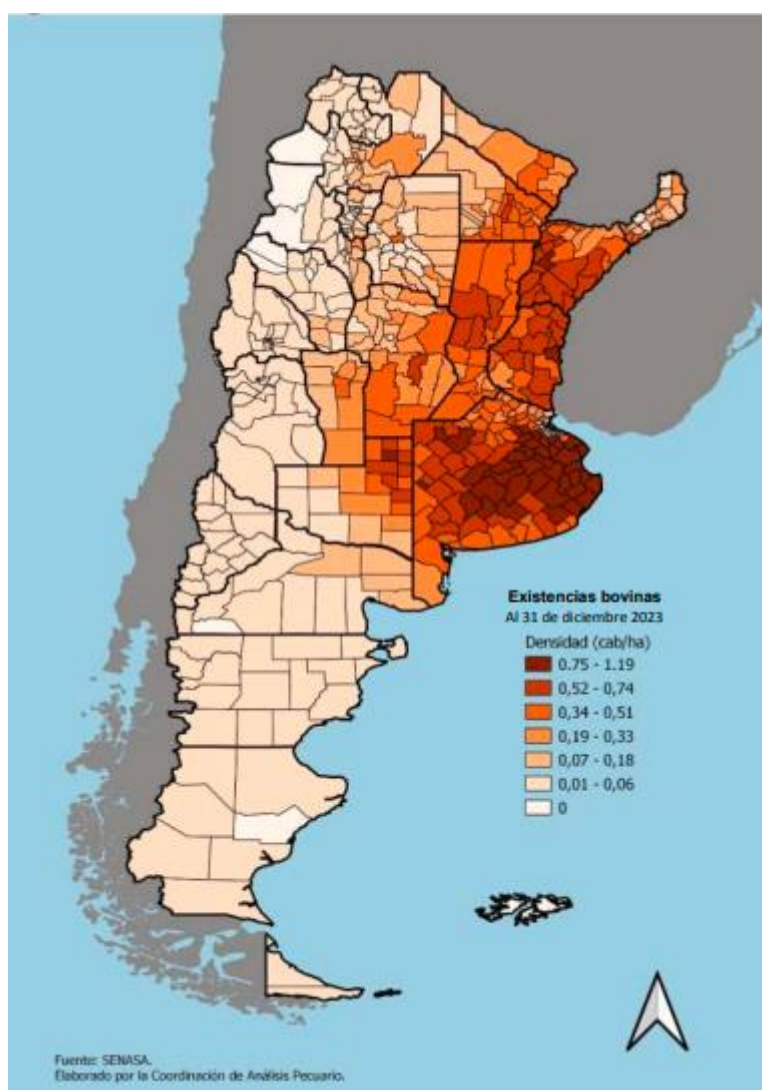


Figura 1.4. Densidad de ganado bovino en cabezas por hectárea. Fuente: SAGyP, 2023.

La fisonomía de la vegetación dominante es de pastizal herbáceo modificado de altura media y alta, sin endemismos importantes. El pastizal natural es el principal recurso forrajero que sostiene la actividad y el pastoreo continuo a lo largo de todo el año y, uno de los mayores determinantes de la estructura y el funcionamiento de la vegetación (Sala et al., 1981b; Insausti et al., 2005). La región abarca una extensa llanura anegable dominada por la presencia de suelos hidro-halomórficos pertenecientes a los Grandes Grupos Natracuol y Natracualf (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria [INTA], 1992). La escasa pendiente no ha permitido el desarrollo de una red de drenaje importante, por esa razón, la evapotranspiración es la principal salida de agua del sistema (García et al., 2018). Así, los excesos hídricos que ocurren en el invierno suelen ocasionar anegamientos periódicos en áreas deprimidas (Sala et al., 1981a). Por otro lado, durante el verano se registra un balance hídrico negativo, que puede ocasionar períodos de sequía.

La capa freática suele encontrarse a poca profundidad y varía en función del total de precipitaciones anuales (Scarpati y Capriolo, 2013), alcanzando el máximo nivel a fin de invierno y principio de primavera, y el mínimo a fin de verano y principio de otoño, coincidiendo con los periodos en los que ocurren inundaciones y sequías, respectivamente (Lavado y Taboada, 1988). Los suelos de la Cuenca del Salado suelen contener en ocasiones y, por causas genéticas, altas concentraciones de sales solubles que pueden variar a lo largo del año, sobre todo teniendo en cuenta las variaciones de contenido de humedad del perfil y de profundidad de la capa freática (Vazquez, 2011). Como consecuencia de estas condiciones, gran parte de la Cuenca del Salado se presenta como una superficie no apta para el establecimiento de cultivos agrícolas y es entonces, en este tipo de ambientes, donde la producción ganadera ha tomado gran relevancia.

En esta zona, el sistema ganadero históricamente predominante es de tipo extensivo, con variaciones significativas en la oferta forrajera a lo largo del año (Otondo et al., 2014). Si bien se trata de una región típicamente dedicada a la cría de ganado bovino, se encuentra en un proceso de transición hacia la actividad de ciclo completo (Jacobo et al., 2016), como una alternativa para diversificar la producción, por lo que la recría y la terminación de los terneros compiten por la superficie que se destina a la cría (Maresca et al., 2011). En la región se lleva a cabo una práctica conocida como promoción de *Lotus tenuis*, destinada a mejorar la receptividad y calidad de los pastizales en las condiciones ambientales ya mencionadas (Nieva et al., 2016; Nieva et al., 2018), aprovechando la característica de estar naturalizada en la región con muy buena adaptación a las condiciones edafo-climáticas locales. *Lotus tenuis* es una leguminosa con alta capacidad de resiembra natural y adaptación a suelos con problemas de halo-hidromorfismo (Marinoni et al., 2017). También es capaz de soportar déficits hídricos, que pueden suceder con cierta frecuencia en la región desde fines de primavera hasta el verano, con la particularidad de ofrecer abundante cantidad de forraje de alta calidad en la época estival (Vignolio et al., 2011; Acosta et al., 2015). La práctica de *promoción* se basa en favorecer el crecimiento de esta especie a fin del invierno, mejorando su capacidad de competencia respecto de otras herbáceas, de modo que pueda crecer y desarrollarse.

Se cree que la presencia de especies leguminosas en los pastizales podría incrementar la disponibilidad de N, a través de la fijación biológica, provocando que las emisiones de N₂O sean mayores (Rochette y Janzen, 2005). La ocurrencia de anegamientos frecuentes en la Cuenca del Salado ocasiona el incremento del EPSA, debido a la disminución en la difusión de oxígeno dentro de los agregados y el consecuente aumento de los sitios anaeróbicos (Russow et al., 2009), favoreciendo el proceso de desnitrificación.

Con el crecimiento de la actividad ganadera, sumado a las condiciones de saturación y anegamiento periódico de los suelos en esta región, puede generarse un ambiente favorable para la emisión de N₂O (Taboada y Cosentino, 2014). A pesar de la importancia que representa contar con valores propios de emisiones y conocer más acerca de los factores que las regulan, son pocos los trabajos que hay en la literatura mundial para sistemas ganaderos en suelos hidro-halomórficos. La creciente relevancia de esta región en la producción pecuaria, junto con el potencial de incorporación de *Lotus tenuis* como alternativa forrajera de alto valor en cantidad y calidad, justifican la necesidad de estudiar su impacto en las emisiones de N₂O y su contribución al incremento de los sumideros de carbono en los suelos de la región.

1.2 Objetivo general y organización de la tesis

El objetivo general de esta tesis fue estudiar las emisiones de N₂O, el almacenamiento de C y algunas variables que condicionan las emisiones en un suelo de pastizal dedicado a la ganadería extensiva, con y sin promoción de *Lotus tenuis*.

A continuación, se listarán los capítulos y los objetivos e hipótesis relacionados con cada uno de ellos.

1.2.1 Capítulo 2. Concentración de nitrógeno y volumen de la orina depositada en suelos como variables reguladoras de la emisión de N₂O

En este capítulo se explora como el contenido de N, el volumen de orina aplicado y algunas variables del suelo influyen en la emisión de N₂O y se evalúa su importancia como reguladoras de estas emisiones en sistemas pastoriles de clima templado. Se presentan los resultados de un experimento controlado, realizado en Bangor, UK, en un tipo de suelo distinto al de la Cuenca del Salado, donde se evaluó cómo el volumen y la concentración de N en la orina afectan el área humedecida y, en consecuencia, la emisión

de N₂O. Este abordaje experimental permitió aislar y analizar con mayor detalle los procesos de transformación del N en el suelo, generando una base metodológica sólida que se retoma en los capítulos posteriores para comprender la dinámica y el impacto de las excretas en condiciones más complejas.

1.2.2 Capítulo 3. Emisiones de N₂O provenientes de las excretas bovinas en suelos hidro-halomórficos con pastizales naturalizados.

Este capítulo realiza un estudio detallado de las emisiones de N₂O en un suelo hidrohalomórfico, en la localidad de Chascomús, Buenos Aires, Argentina. La caracterización de las emisiones de N₂O realizada en este capítulo es la que corresponde a un sistema de cría típico de la zona, en un pastizal con composición prioritaria de gramíneas otoño-invierno-primaverales (OIP) naturalizadas.

1.2.3 Capítulo 4. Emisiones de N₂O provenientes de las excretas de bovinos en suelos hidro-halomórficos con promoción de Lotus tenuis.

Este capítulo realiza un estudio detallado de las emisiones de N₂O en un suelo hidrohalomórfico, en la localidad de Chascomús, Buenos Aires, Argentina. La caracterización de las emisiones de N₂O realizada en este capítulo es la que corresponde a un sistema de cría típico de la zona, en un pastizal donde desde hace 16 años se prueba la inclusión de la leguminosa *Lotus tenuis* para incrementar la calidad del pastizal y la oferta de forraje en baches de productividad. El ciclo vegetativo y reproductivo de *Lotus tenuis* cobran particular interés en las condiciones del suelo que regulan la emisión de N₂O.

1.2.4 Capítulo 5. Análisis comparativo de emisiones de N₂O, factores de emisión y secuestro de C en sistemas con y sin presencia de Lotus tenuis.

En este capítulo se realiza el análisis comparativo de los sistemas estudiados en los capítulos anteriores, se calculan las emisiones acumuladas y los factores de emisión con base anual, y luego se realiza un análisis multivariado donde se incluyen los dos tipos de sistemas para jerarquizar las variables que regulan la emisión para en pastizales templados emplazados en suelos hidrohalomórficos de la Cuenca del Salado

1.2.5 Relevancia de los resultados

El acceso al consumo de proteína animal ha experimentado un crecimiento sostenido a nivel mundial, impulsado por el aumento poblacional y la mejora en los ingresos de la población, particularmente en economías en expansión como China (FAO, 2023). Esta mayor demanda internacional de carne vacuna tiene impacto directo en la producción ganadera de la región Pampeana, principal área de producción de carne bovina de Argentina. Sin embargo, no se trata solo de producir más para satisfacer una demanda: en la actualidad los mercados de exportación establecen exigencias en términos de calidad y sostenibilidad, lo que obliga a los sistemas productivos a adaptarse a nuevas normativas, certificaciones ambientales y estándares internacionales. La ganadería argentina se encuentra en recuperación tras una década de crisis marcada por sequías, restricciones comerciales y altos costos productivos. Entre 2008 y 2009, una intensa sequía redujo el stock en más de 3 millones de cabezas, y entre 2010 y 2015, la producción cayó un 18% y las exportaciones un 59% debido a limitaciones económicas y regulatorias (Paolilli et al., 2023). A partir de 2016, la eliminación de barreras comerciales y la demanda china impulsaron un repunte del 14% en la producción y del 190% en las exportaciones. Sin embargo, en 2021, la actividad volvió a verse afectada por sequías y crisis económicas,

reduciendo la producción un 6,1% interanual. En 2023, se alcanzaron 3,3 millones de toneladas, aunque en 2024 los datos preliminares indican una nueva caída del 5% (INTA, 2025).

En el actual escenario global, la competitividad del sector no solo depende de su capacidad de producción y comercialización, sino también de su desempeño ambiental. La ganadería es señalada como una de las actividades con impacto en términos de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), especialmente por la fermentación entérica del ganado, la gestión del estiércol y el uso de insumos agrícolas (FAO, 2023). Sin embargo, es fundamental destacar que Argentina es un país con una economía basada en la producción primaria, lo que explica la alta participación del sector agropecuario en las emisiones nacionales de GEI, que alcanzan el 39% del total (Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina [IPCVA], 2021) Si bien las emisiones de la ganadería argentina representan una parte muy pequeña de globales de GEI, el sector agropecuario es uno de los principales contribuyentes a las emisiones nacionales. Por ello, resulta fundamental contar con factores de emisión específicos para los sistemas productivos locales, tanto para cuantificar con mayor precisión su impacto como para optimizar estrategias de mitigación y garantizar la competitividad del sector en un mercado global cada vez más exigente en términos ambientales.

Esta investigación es particularmente relevante, ya que las emisiones de N₂O provenientes de la ganadería extensiva en países de América del Sur y el Caribe representan más del 25% del N₂O global estimado generado por esta fuente (Gerber et al., 2013). Actualmente, en muchos países en desarrollo, la estimación de las emisiones de metano y óxido nitroso se basa en coeficientes genéricos recomendados por el IPCC, debido a la falta de información específica que permita aplicar aproximaciones más precisas. Esta generalización puede generar distorsiones al utilizar valores diseñados para

modelos globales en realidades productivas que presentan condiciones significativamente diferentes.

La generación de factores de emisión propios permitiría una evaluación más precisa de la huella de carbono de la producción de carne, reflejando con mayor exactitud la eficiencia del sistema ganadero argentino y su impacto ambiental real (IPCVA, 2021). Este aspecto no solo es relevante desde una perspectiva ambiental, sino también desde el punto de vista comercial. Cada vez más países están incorporando exigencias ambientales en sus políticas de importación (FAO, 2023), estableciendo lo que se conoce como barreras paraarancelarias ambientales. Sin embargo, a pesar de estas restricciones, actualmente los productores argentinos no reciben incentivos económicos directos por la reducción de sus emisiones (IPCVA, 2021), lo que dificulta la adopción de estrategias de mitigación a gran escala. Contar con información local robusta y científicamente validada sobre las emisiones del sector permitirá a Argentina fortalecer su posición en los mercados internacionales, anticiparse a regulaciones más estrictas y demostrar la sostenibilidad de su producción cárnica (Viglizzo et al., 2014).

Finalmente, la medición de la emisión de GEI desde una perspectiva integral, considerando no solo las emisiones directas de los establecimientos ganaderos, sino también las posibilidades de mitigación y compensación a través del secuestro de carbono en suelos y pasturas. En este sentido, la generación de datos propios, la adopción de modelos de producción más eficientes y la implementación de estrategias de mitigación contribuirán a garantizar la sustentabilidad y competitividad de la ganadería argentina en el futuro.

A nivel mundial, se ha calculado, con base en el análisis del ciclo de vida, que la producción de proteína animal emite aproximadamente 6,2 Gt de CO₂-eq año⁻¹, o cerca

del 12 % del total de las emisiones de los GEI antropogénicas (FAO, 2023). Sin embargo, se ha probado que las mejoras en el manejo del pastoreo (Faverin et al., 2019; Faverin y Tieri, 2023) y la incorporación de leguminosas en los pastizales podrían llegar a retener 287 toneladas de CO₂-eq de C por año globalmente, durante un periodo de 20 años (Gerber et al., 2013). Es decir, que, si bien el sector ganadero nacional contribuye con una parte importante de las emisiones GEI, también puede colaborar de manera importante con los esfuerzos de mitigación necesarios. A pesar de la importancia que representa contar con valores locales de emisiones y conocer más acerca de los factores que las regulan, son pocos los trabajos que hay en la literatura mundial para sistemas ganaderos en suelos hidro-halomórficos. La importancia que ha tomado esta región desde el punto de vista de la producción pecuaria y la excelente alternativa que presenta la utilización de *Lotus tenuis* a la oferta forrajera, en cantidad y calidad, ameritan el estudio de su efecto sobre las emisiones de N₂O; el incremento en los sumideros de C y sobre propiedades físicas, químicas y biológicas en estos suelos y sistemas de producción.

1.3 Materiales y métodos

En la siguiente sección, se presenta una descripción detallada de los Materiales y Métodos empleados en este estudio, cuya aplicación es transversal a los capítulos 3, 4 y parte del capítulo 5. Esta sección integral ha sido diseñada para proporcionar una base metodológica coherente y consistente a lo largo de estos capítulos, asegurando así la uniformidad de los procedimientos y técnicas utilizados. El capítulo 2 y una parte del 5 tienen su propia sección detallada de Materiales y Métodos.

1.3.1 Descripción del sitio de estudio.

El estudio se llevó a cabo en la Chacra Experimental Integrada Chascomús (Latitud 35° 30' S. Longitud 58° 30' O), ubicada en el partido de Chascomús, provincia de Buenos

Aires, a 19 km al sur de la ciudad homónima y 20 km al norte del Río Salado. Se trata de un establecimiento de 630 hectáreas, de las cuales 450 están dedicadas a la actividad ganadera. El campo cuenta con una Estación meteorológica automática instalada que registra los principales datos meteorológicos cada 10 minutos, los que pueden ser tomados directamente desde internet (siga.inta.gob.ar).

Se analizaron dos sitios, a saber:

Sin promoción de *Lotus* (SPL): el sitio de estudio presenta un pastizal naturalizado compuesto predominantemente por especies nativas y forrajeras naturalizadas como *Festuca arundinacea*, *Lolium multiflorum*, *Thinopyrum ponticum*, *Ambrosia tenuifolia*, *Esporobolus indicus*, *Paspalum vaginatum* y *Lotus tenuis* (Nieva et al., 2016) con predominancia de gramíneas y con mínima presencia de leguminosas. Se trata de un bajo utilizado para la alimentación de ganado de cría durante todo el año con mayor producción en la estación primaveral. El suelo predominante ha sido clasificado a nivel de Subgrupo como Natracuol típico.

Con promoción de *Lotus* (PL): Estos sitios presentan un pastizal modificado en el que se realiza todos los años una práctica agronómica conocida como promoción, basada en la aplicación de herbicidas selectivos (Acosta et al., 2015) para favorecer la presencia de esta especie, al mejorar su condición de competencia respecto de las gramíneas. Se utiliza para cubrir la escasez estival de forraje, aunque son pastoreadas en mayor o menor medida durante todo el año (INTA Chascomús, comunicación personal). El suelo ha sido clasificado también como Natracuol típico. Las características del suelo serán detalladas con una descripción por horizonte en los capítulos 3 y 4 respectivamente.

1.3.2 *Diseño experimental*

Se implementó un diseño de parcelas divididas con medidas repetidas en el tiempo. Los factores considerados fueron: "Promoción de *Lotus*", con dos niveles: pastizales con promoción de *Lotus* (PL) y pastizales sin promoción de *Lotus* (SPL); y "Excretas", con tres niveles: Control, Heces y Orina. Cada nivel del factor "Promoción de *Lotus*" se adjudicó a tres parcelas principales (repeticiones), dando lugar a seis parcelas principales en total. Dentro de cada parcela principal se establecieron tres subparcelas, en las cuales

se aleatorizaron los niveles del factor "Excretas". Esto resultó en un total de 18 subparcelas experimentales (3 repeticiones \times 2 niveles de promoción de *Lotus* \times 3 niveles de excretas). Además, en cada combinación de parcela principal y subparcela se instaló un duplicado metodológico, cuyo propósito es controlar la variabilidad intra-subparcela;

Se implementó un diseño de parcelas divididas con medidas repetidas en el tiempo. Los factores considerados fueron: "Promoción de *Lotus*", con dos niveles: Pastizales con promoción de *Lotus* (PL) y pastizales sin promoción de *Lotus* (SPL); y "Excretas", con tres niveles: Control, Heces y Orina. Cada nivel del factor "Promoción de *Lotus*" se adjudicó a tres parcelas principales (repeticiones), dando lugar a seis parcelas principales en total. Dentro de cada parcela principal, se establecieron tres subparcelas donde se aleatorizaron los niveles del factor "Excretas". Esto que resultó en un total de 18 subparcelas experimentales (3 repeticiones \times 2 niveles de promoción de *Lotus* \times 3 niveles de excretas). Este enfoque permitió manejar eficientemente las diferentes escalas espaciales requeridas para los tratamientos de "Promoción de *Lotus*" y "Excretas". Los análisis estadísticos realizados serán detallados en cada capítulo de manera particular. Todos los gráficos de esta tesis han sido realizados en el software Sigmaplot 15.0.

1.3.3 Caracterización climática de la región

El régimen climático de la región es templado húmedo en respuesta a precipitaciones del orden de los 1000 mm anuales, concentrándose las máximas en verano y otoño (56%) y la mínima en invierno (con el 18%), siendo marzo el mes más lluvioso con el 10 % del total y junio el menor, acumulando sólo el 5%. Las temperaturas medias anuales son del orden de los 16 °C (Cuadro 1.1), enero es el mes más caluroso con 23 °C y julio el más frío, con temperaturas muchas veces menores a 0°C por las mañanas (Fig.1.5), con 10 °C aproximadamente (Fucks at al., 2012).

Cuadro 1.1. Estadísticas climatológicas para el período 1991-2020 tomadas en la estación meteorológica de la ciudad de Dolores (Servicio Meteorológico Nacional, 2024)

Mes	Temperatura media diaria (C°)	Temperatura máxima media (C°)	Temperatura mínima media (C°)	Precipitación media (mm)	Frecuencia media de días con heladas
Marzo	19,0	26,0	15,0	124,0	-
Abril	15,4	22,0	12,0	87,7	0,2
Mayo	11,6	18,0	8,0	79,3	2,2
Junio	8,8	15,0	6,0	52,0	6,1
Julio	8,5	14,0	5,0	61,5	6,7
Agosto	9,4	16,0	6,0	59,9	3,9
Septiembre	11,9	18,0	8,0	68,9	1,3
Octubre	14,5	21,0	11,0	110,0	0,4
Noviembre	17,8	24,0	13,0	103,0	-
Diciembre	20,2	27,0	16,0	95,2	-
Enero	22,1	29,0	18,0	112,1	-
Febrero	21,5	28,6	17,0	112,4	-
Total	15,0	21,6	11,3	1066	20,0



Figura 1.5. Termómetro, cámara de tratamiento de heces y caja de muestreo utilizados durante un muestreo en condiciones de heladas durante el período invernal.

El pastizal de la chacra experimental Manantiales no recibe ningún otro manejo extra al pastoreo controlado y está compuesto mayoritariamente por las especies exóticas

naturalizadas *Festuca sp.* y *Agropiro sp.* emplazado en un suelo de pH neutro en superficie con pH 9 a partir de los 25 cm de profundidad y cambios en la conductividad eléctrica que se dan de forma estacional. Las especies que componen el pastizal son sobre todo de ciclo OIP y tienen sus momentos de máxima producción en la temporada otoñal, invernal y primaveral.

1.3.4 Variables climáticas

Las temperaturas medias diarias y precipitaciones ocurridas durante cada muestreo variaron según la estación correspondiente (Fig. 1.6). Las temperaturas medias diarias oscilaron entre los 5 y 13 °C en el ensayo de invierno, entre 14 y 26°C durante el de primavera, entre 17 y 28 °C durante el ensayo de verano y entre 15 y 26 °C en el de otoño. Las precipitaciones acumuladas durante el ensayo de invierno fueron de 52 mm distribuidos en 8 eventos de diversa intensidad. Durante el experimento de primavera, la precipitación acumulada fue de 61 mm distribuidos en 5 eventos, dos de ellos de más de 20 mm. Por otro lado, durante los 41 días que duró el ensayo de verano precipitaron 80 mm distribuidos en 7 eventos, uno de ellos de casi 30 mm a la mitad del experimento. En el otoño la precipitación acumulada en los 34 días que duró el experimento fue de 18 mm, de los cuales 15 mm ocurrieron el día 28 luego de haber realizado la aplicación de las heces. Durante el ensayo invernal se registraron 5 días con heladas. Se registraron 2 anegamientos de 3 días durante el ensayo de verano y 3 de 2 días en el período otoñal. Los valores climáticos obtenidos se encuentran alrededor de los rangos relevados para la región en la serie climática detallada en la sección 1.5.7.

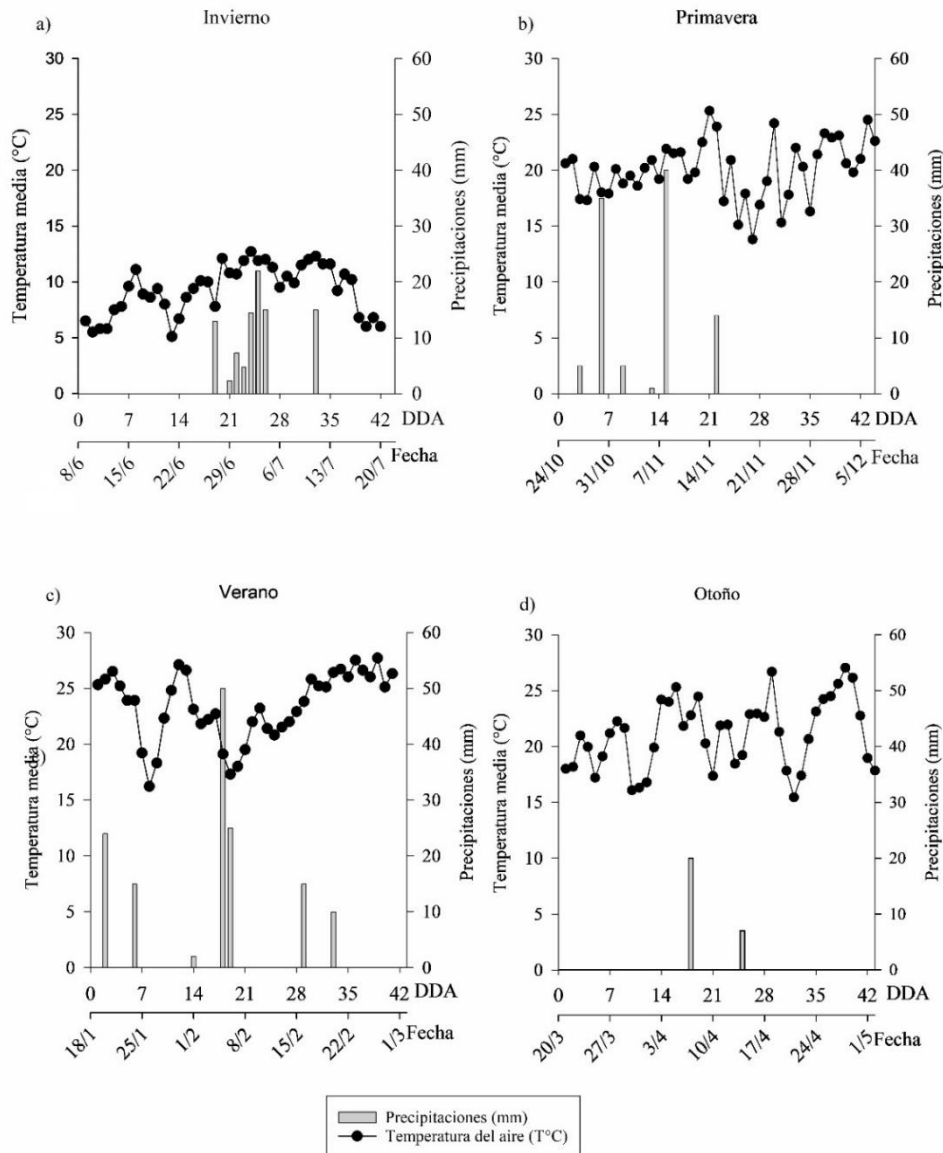


Figura 1.6. Temperatura media diaria (°C) y precipitación (mm) ocurrida durante los experimentos realizados en a) invierno, b) primavera, c) verano y d) otoño. El eje DDA representa el número de días después de la aplicación de excretas, considerando el día 0 como el día de la aplicación, La línea representa las temperaturas medias y cada barra un evento de precipitación ocurrida.

1.3.5 Muestreo y determinación de N_2O

Se realizaron cuatro muestreos estacionales de emisiones de N_2O a lo largo de un año, entre junio de 2017 y abril de 2018, con una duración mínima de 40 días por estación. Cada muestreo se llevó a cabo en parches aplicados en diferentes ubicaciones dentro de las parcelas, evitando la evaluación repetida sobre un mismo sitio. Los muestreos fueron

realizados entre las 9:00 y 12:00 hs, horario en el cual las temperaturas reflejan de manera más representativa el promedio diario y, en consecuencia, la emisión media de N₂O durante el día (Cosentino et al., 2012; Alves et al., 2012). La determinación de la concentración de los gases fue realizada por cromatografía gaseosa en un equipo cromatográfico con detector de electrones. Para determinar la emisión de N₂O y cuál es su tasa, se calculará el flujo de emisión de acuerdo con:

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

Donde $\Delta C/\Delta t$ es el cambio en la concentración del gas correspondiente dentro la cámara durante el tiempo de incubación Δt , V es el volumen de la cámara, A es el área de suelo cubierta por la cámara, m es el peso molecular del N₂O y V_m es el volumen molar del gas correspondiente. El flujo de gas se calcula como el incremento en la concentración durante el período de incubación.

1.3.6 Preparación de los tratamientos

Previo al inicio de cada período de muestreo de gas en la cámara, se realizaron extracciones de orina y heces de vaquillonas que, durante no menos de 15 días, habían estado pastoreando el recurso forrajero asignado a cada tratamiento. Es decir, en los pastizales con promoción de *Lotus*, las vacas se alimentaron de *Lotus*, mientras que en los pastizales naturalizados, consumieron el pasto característico de esos recursos. El bienestar animal en la experimentación con bovinos se ajustó a las directrices establecidas en los manuales de referencia, incluyendo las normativas del SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [SENASA], 2023). Esta guía proporciona estándares sobre manejo, sanidad y condiciones adecuadas para minimizar el estrés y garantizar el bienestar de los animales durante el estudio. El día 0, se realizó la aplicación de excretas

en las áreas donde fueron colocadas las cámaras, simulando un evento de deposición. Las aplicaciones de excretas se realizaron según el tratamiento asignado, es decir, heces, orina o ninguna excreta. Estas aplicaciones se llevaron a cabo en cada estación del año, asegurando que en cada ciclo se variara la posición dentro de la parcela principal. Para evitar la superposición de aplicaciones en un mismo sitio, se establecieron marcaciones precisas dentro de cada parcela, garantizando que cada nueva aplicación se realizara en una zona no afectada previamente. En el caso de la orina se aplicaron 1 L (valor aproximado correspondiente al volumen de un evento medio diario) y en el caso de las heces 1,5 kg (peso estimado de una torta promedio). Se llevaron a cabo 4 muestreos para determinación de N_2O (uno en cada estación del año), de aproximadamente seis semanas de duración: los primeros 10 días en forma diaria, luego día por medio hasta la tercera semana, y luego se disminuyó la frecuencia hasta la semana 6, a menos que condiciones de alta temperatura y humedad del suelo (que favorecen las emisiones de N_2O) ameritaran mantener alta frecuencia de muestreo. Para la toma de muestras de gases, se utilizó el método de la cámara estática cerrada descrita por Alves et al. (2012). Según esta metodología, cada cámara se compone por una base de hierro y una cubierta de PVC conectada al exterior por una válvula de dos vías. La base de hierro (43 cm x 29,5 cm) debe ser enterrada en el suelo a 5 cm de profundidad (Fig.1.7), como mínimo 24 horas antes del primer muestreo de gas. Al momento de la obtención de gas de la cámara, sobre la base de hierro se colocó la cubierta de PVC sujetándola firmemente con dos tiras elásticas.



Figura 1.7. Materiales preparados para el inicio de la colecta de gases en suelos anegados. En la imagen se pueden ver los marcos de metal clavados en el suelo y las tapas que conformarán las cámaras cerradas estáticas.

Luego, se tomó de cada cámara, una muestra de aire con jeringa de 60 mililitros (Fig.1.8) a través de la válvula a los 0, 20 y 40 minutos, según corresponda.



Figura 1.8. Recolección de aire de la cámara estática cerrada por medio de jeringas.

La toma de las muestras de gas se realizó todas las mañanas entre las 9 y las 12 AM. Se considera que esta franja horaria representa el momento del día en el que se emite el

flujo medio diario de N₂O (Alves et al., 2012). Una vez colectadas las muestras fueron inyectadas, mediante una bomba de vacío manual con manómetro (Fig.1.9), a viales de vidrio de 13 cm³.



Figura 1.9. Sistema de inyección de la muestra desde las jeringas hacia los viales a través de una bomba de vacío manual.

La concentración de N₂O en cada vial fue determinada mediante el análisis en cromatógrafo de gases en el laboratorio de EMBRAPA Agrobiología (Brasil).

1.3.7 Determinaciones complementarias

Al principio de cada estación se realizaron las siguientes determinaciones de suelo con el fin de caracterizar los sitios de estudio y tomar conocimiento de las variaciones estacionales que pudieran ocurrir. Las determinaciones fueron: a) textura del suelo (Bouyoucos, 1927) b) pH en una solución suelo-agua 1: 2,5 con pH metro (Page, 1982), c) Conductividad eléctrica sobre el extracto de saturación de las muestras de suelo (Rhoades, 1982), d) Relación de adsorción de sodio (Sumner y Miller, 1995), e) Dap por método del cilindro (Blake y Hartge, 1986). Con el fin de estudiar algunas causas que pueden influenciar las emisiones de GEI, se realizaron muestreos semanales de suelo para determinar contenido de N-NO₃ por nitración del ácido salicílico (Cataldo et al., 1975),

humedad actual del suelo (por secado en estufa hasta peso constante) y para el cálculo del porcentaje de espacio poroso saturado con agua (EPSA).

Capítulo 2.

Concentración de N y volumen de la orina
depositada en suelos como variables reguladoras de
la emisión de N₂O.

2.1 Introducción

La influencia de los parches de orina en la dinámica del N del suelo se ha estudiado a lo largo de las últimas décadas (López Aipun et al., 2020, Chadwick et al., 2014). El alto contenido de C, N disponible y humedad debajo de los parches de orina depositados por los rumiantes incrementan la nitrificación y desnitrificación, creando "puntos calientes" y "momentos calientes" para la emisión de N₂O en suelos de pastizales (McClain et al., 2003; Groffman et al., 2009). El N₂O es un potente gas de efecto invernadero y, además, contribuye a la depleción de la capa de ozono (Ravishankara et al., 2009). En sistemas ganaderos, entre el 70 % y 95 % del N ingerido se deposita sobre pastos en forma de heces y orina, concentrados en parches desde donde es altamente susceptible a pérdidas (López Aipun et al., 2020). La orina está compuesta principalmente de urea, aunque también contiene N no ureico y compuestos como el ácido hipúrico y sus derivados, que podrían influir en las emisiones de N₂O (Kool et al., 2006; Gardiner et al., 2018). El área de efecto de un parche de orina se define por la zona húmeda donde se depositó y el área circundante inmediata donde el N puede difundirse a través del suelo (Marsden et al., 2016). Inmediatamente después de que la orina se deposita en el suelo, aumentan tanto la humedad como el contenido de N disponible debajo del área afectada. La hidrólisis de la urea es rápida, con un 80 a 90 % de la urea hidrolizada en las primeras 48 horas (Haynes y Williams, 1992). Posteriormente, si las condiciones son adecuadas, ocurre la nitrificación, un proceso esencial en la dinámica del N en el parche urinario, ya que controla las cantidades de NH₄⁺ y NO₃⁻ como sustratos para varias vías del N, generalmente completándose en aproximadamente 30 días (Williams y Haynes, 2000; Moir et al., 2011).

La variabilidad en las emisiones de N₂O de los parches de orina puede incrementarse debido a diferencias en la composición de la orina, la cantidad de N excretado, el volumen

y la frecuencia de los eventos de micción (Dijkstra et al., 2013). Marsden et al. (2016) mostraron que, para un mismo volumen total y concentración de N excretado en la orina, los animales que orinan en pequeños parches con frecuencia pueden generar mayores emisiones que aquellos que orinan menos frecuentemente, pero en mayor volumen. El tamaño del parche es consecuencia del volumen que los animales excretan en cada evento de micción, el cual está influenciado principalmente por la ingesta de agua y la carga mineral ingerida por el animal (Selbie et al., 2015). Este volumen puede ser elevado cuando la dieta tiene un alto contenido de humedad, o cuando las hojas de la hierba están mojadas por la lluvia o el rocío (Doak, 1952). También puede variar en respuesta a cambios en la temperatura ambiente (Betteridge et al., 2010).

La variabilidad en las emisiones de N_2O de los parches de orina puede incrementarse debido a diferencias en la composición de la orina, la cantidad de N excretado, el volumen y la frecuencia de los eventos de micción (Dijkstra et al., 2013). Marsden et al. (2016) mostraron que, para un mismo volumen total y concentración de N excretado, los animales que orinan en pequeños parches con frecuencia pueden generar mayores emisiones que aquellos que orinan menos frecuentemente, pero en mayor volumen. El tamaño del parche depende del volumen excretado en cada micción, que en bovinos de carne puede oscilar entre 500 ml y 2.5 litros por evento, aunque puede variar en función de la dieta y la disponibilidad de agua (Selbie et al., 2015; Hoogendoorn et al., 2010). Este volumen puede ser elevado cuando la dieta tiene un alto contenido de humedad, o cuando las hojas de la hierba están mojadas por la lluvia o el rocío (Doak, 1952). También puede fluctuar en respuesta a cambios en la temperatura ambiente (Betteridge et al., 2010).

Sin embargo, el volumen de orina rara vez se mide, especialmente el volumen individual, debido al costo y la mano de obra requerida para capturar la orina en el campo (Clark et al., 2010). Otra razón de la falta de datos es la brecha de investigación entre los estudios sobre la partición del N y los que se centran en la dinámica del N en el parche de orina; pocos estudios han medido el volumen de orina, la frecuencia de micción o el área del parche de orina (Selbie et al., 2015). La concentración de N en la orina está influenciada principalmente por la ingesta de N y la ingesta de agua, lo que afecta tanto al volumen como a la frecuencia de la micción. Sin embargo, una dieta alta en N no se corresponde necesariamente con una alta concentración de N en la orina, ya que una mayor ingesta de agua tiende a diluir el N. La concentración de N en la orina puede variar de 1 a 18 g N.L⁻¹(Marsden, 2015). En promedio, la variabilidad en el contenido de N en la orina es mayor entre individuos de la misma especie que entre especies diferentes (Selbie et al., 2015). Además, la concentración de N en la orina varía con el estado reproductivo del animal, la estación y la hora del día (Petersen et al., 2004; Betteridge et al., 1986; Hoogendoorn et al., 2010). Por lo tanto, sería inexacto comparar las emisiones causadas por diferentes especies basándose únicamente en este parámetro.

La carga de N en un parche de orina es una función de la concentración de N en la orina, el volumen excretado y la superficie que recibe la orina. El destino del N depositado en los parches de orina está en gran medida definido por la carga de N, ya que se ha demostrado que el riesgo de lixiviación de N aumenta exponencialmente con el aumento de los aportes o excedentes de N (Di y Cameron, 2000; Ledgard et al., 2009; van Beek et al., 2003). El volumen y la concentración de N en la orina determinan en gran medida la carga de N en los parches y, por lo tanto, influyen significativamente en el destino del N urinario en los pastos. La relación entre el volumen urinario, la frecuencia de micción y la tasa de carga de nitrógeno en los parches de orina ha sido estudiada en tamaños de

parche relativamente pequeños (125-500 cm²), dado que dichos estudios estaban orientados a representar condiciones más cercanas a las generadas por ovinos en pastoreo (Marsden et al., 2016). Tener más datos en rangos más amplios, podría resultar más explicativo de los mecanismos detrás de esta relación y útil para la modelización y la estimación de las emisiones de N₂O.

2.2 Objetivos e hipótesis

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

- 1) Evaluar el efecto del contenido de N y el volumen de los eventos de micción sobre la emisión de N₂O.
- 2) Calcular los porcentajes de N₂O emitidos respecto del N aplicado.
- 3) Estudiar el comportamiento de algunas variables reguladoras de la emisión de N₂O a diferentes contenidos de N y volúmenes de orina.

Las hipótesis que guiaron este capítulo fueron:

Hipótesis 2.1. El volumen y la concentración de N en la orina son condicionantes de las emisiones de N₂O en pastizales al influir en la cantidad total de N disponible y la extensión del área afectada. Un mayor volumen amplía la superficie de mojado, mientras que una mayor concentración aumenta la carga de N, intensificando la producción de N₂O

Hipótesis 2.2. El EPSA y la temperatura del suelo modulan las emisiones de N₂O desde los parches de orina en pastizales templados. En condiciones de mayor humedad, la actividad microbiana, especialmente la desnitrificación, se intensifica debido a la mayor disponibilidad de agua, lo que incrementa la producción de N₂O.

2.3 Materiales y métodos.

2.3.1 Sitio de estudio y diseño experimental

El sitio experimental se estableció en la Estación experimental Henfaes , Abergwyngregyn, Gales del Norte en agosto de 2019. El suelo en el sitio está clasificado como un Cambisol eútrico y tiene un origen glacial mixto, depositado hace ~ 10 000 años (Marsden et al., 2016) con un horizonte superficial de textura franco arcillo arenosa hasta los 20 cm, ubicado en una zona baja (15m de altitud) con drenaje libre. La temperatura media anual de la superficie del suelo a 10 cm varía de 8 a 10 °C y la precipitación anual en el sitio de las tierras bajas es de 1250 mm (Lucas y Jones, 2006). La parcela está ubicada en las tierras bajas y no había sido pastoreada ni fertilizada en al menos un año antes de comenzar el experimento (Fig. 2.1).

Se realizó un análisis preliminar para la caracterización del suelo. Los resultados se muestran en el cuadro 2.1.

Cuadro 2.1. Características físico-químicas del suelo.

<i>Variable de suelo</i>	<i>Valor</i>
pH	6,6
CE (dS.m ⁻¹)	0,205
C orgánico (%)	2,23
N total (%)	0,232
Relación C:N	9,6
N-NO ₃ ⁻ en la solución del suelo (ppm)	10
N-NH ₄ ⁺ en la solución del suelo (ppm)	6,4
C orgánico extractable soluble (ppm)	112

N extractable soluble (ppm)	13
Dap (g.cm ⁻³)	1,29

El experimento se diseñó como un diseño de bloques completamente al azar, con siete tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos se establecieron a partir de la combinación de dos factores: volumen de orina aplicada y concentración de nitrógeno (N) en la solución urinaria.

El factor volumen incluyó cinco niveles: 0 L, 0,1 L, 0,5 L, 1 L y 1,5 L, mientras que el factor concentración de N en la orina presentó cuatro niveles: 0 g N L⁻¹, 6,7 g N L⁻¹, 10 g N L⁻¹ y 20 g N L⁻¹. Como resultado, los tratamientos no fueron fijados en términos de una carga de N predeterminada, sino que esta se generó a partir de la combinación de los factores mencionados. El detalle específico de cada tratamiento se presenta en el Cuadro 2.2. Los bloques fueron definidos en función de la micropendiente del sitio experimental, con el objetivo de controlar la variabilidad asociada a pequeños cambios en la topografía que pudieran influir en el drenaje, la distribución de la orina y la dinámica del nitrógeno en el suelo. La asignación de tratamientos dentro de cada bloque se realizó de manera aleatoria para minimizar el efecto de posibles gradientes ambientales sobre las variables de respuesta.

Cuadro 2.2. Volumen de orina agregado, Concentración de N, Total de N aplicados y Carga de N del parche de orina para los 6 tratamientos.

Tratamiento	Volumen (L)	Concentración de N (g N.L ⁻¹)	Total N aplicado (g.parche ⁻¹)	Carga de N (kg N.ha ¹)
T 1	1,5	6,7	10	633
T 2	1	10	10	785
T 3	0,5	20	10	1552
T 4	1	6,7	6,7	523

T 5	0,5	6,7	3,3	517
T 6	0,1	6,7	2	687
T7(Control)	0	0	0	0

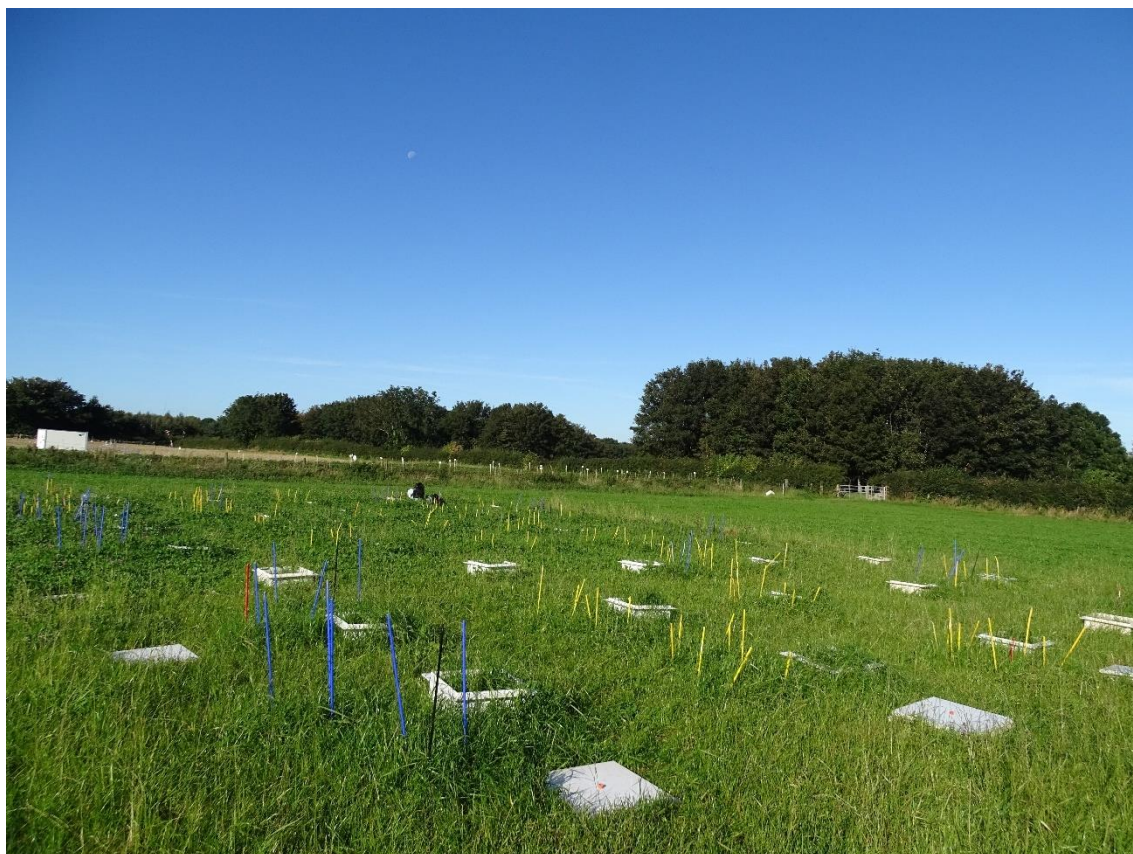


Figura 2.1. Parcela experimental con materiales preparados para el inicio de la colecta de gases, las estacas de colores indican los límites de los parches de orina que fueron aplicados para la toma de muestras de suelo.

La aplicación de estos tratamientos permitió comparar las emisiones de N_2O bajo las mismas condiciones de cantidad de N, tasa de carga, concentración de N y volumen. Los tratamientos T1, T2 y T3 recibieron la misma cantidad total de N ($10 \text{ g N.parche}^{-1}$), mientras que T1, T4, T5 y T6 recibieron $6,7 \text{ g N.parche}^{-1}$. Por otro lado, T4 y T5 y T1 y T6 recibieron una tasa de carga de N similar, respectivamente. Se preparó orina artificial con 20 sustratos siguiendo el protocolo desarrollado por Lucas y Jones (2006) para simular de manera realista las emisiones de N_2O de parches de orina artificiales. Se

prepararon 70 litros de orina artificial el mismo día de su aplicación. La concentración de N se ajustó modificando la cantidad de urea, mientras se mantuvo constante la concentración del resto de compuestos nitrogenados. El área de los parches de orina se midió antes de la aplicación para asegurar que cada parche se ajustara dentro de la cámara de medición. Esta medición se realizó siguiendo la metodología descrita por Marsden et al. (2018), la cual determina el área de suelo en la que se aplica un volumen específico de orina (es decir, el tamaño del parche de orina). Para ello, se aplicaron volúmenes de tratamiento ($n = 3$; 0.1, 0.5, 1 y 1.5 litros) utilizando agua teñida con azul brillante, marcando la extensión del área mojada sobre una hoja de acetato. Posteriormente, se recortó la superficie marcada y se determinó su área por pesada, comparándola con hojas de referencia de área conocida (Fig. 2.2). Los volúmenes de los parches elegidos se presentan en el Cuadro 2.3.



Figura 2.2. Determinación a campo del área de los parches de orina con colorante azul brillante y hojas de acetato.

Cuadro 2.3. Volúmenes de parches y su correspondiente área de mojado.

Volumen del parche (L)	Área de mojado (cm ²)
0,1	97
0,5	644
1	1273
1,5	1579

Una semana antes de la aplicación de la orina, se realizó un corte de la hierba en las parcelas experimentales y se instalaron las cámaras para la medición de gases. Se utilizó una cámara cerrada estática de 50 cm x 50 cm x 15 cm. Este período previo a la aplicación donde las cámaras quedaron instaladas permitió que el suelo se recuperara de la perturbación causada. En ese mismo día, se realizaron muestreos de suelo para su caracterización y un muestreo inicial de gases (T-1) para verificar la variabilidad espacial de las emisiones. Los tratamientos se asignaron de manera aleatoria. Se aplicó orina artificial, siguiendo la metodología de Lessa et al. (2014), desde una altura de un metro para simular un evento de micción. Se utilizaron parches extra para realizar muestreos de suelo sin alterar el ambiente dentro de la cámara. En el caso de los parches pequeños (0,1 L), se aplicaron tres parches por cámara para asegurar la detección de las emisiones. El muestreo comenzó un día después de la aplicación de la orina, siguiendo el protocolo detallado por Chadwick et al. (2014). Durante cada fecha de muestreo se procedió de la siguiente manera: se cerraron las cámaras durante 60 minutos y se tomó una muestra al final del período (T60). Para establecer la concentración inicial (T0), se recolectaron diez muestras de aire ambiente, distribuidas en cinco al inicio y cinco al final del período de cierre. Las muestras se almacenaron en viales de 20 ml previamente evacuados y se

analizaron mediante cromatografía de gases. Cabe destacar que, en cada bloque experimental, se seleccionó aleatoriamente una cámara para verificar la suposición de linealidad; en dicha cámara se midió la concentración de N_2O a intervalos de 10 minutos a lo largo de la hora de cierre, confirmando que el incremento en la concentración era lineal. En los demás casos se asumió la linealidad sin realizar mediciones intermedias.

Las muestras de aire se tomaron durante un período de tres meses, con la siguiente frecuencia: tres veces por semana durante las primeras dos semanas, dos veces por semana durante la tercera y cuarta semana, y una vez por semana desde la quinta hasta la duodécima semana. El muestreo siempre se realizó entre las 09:00 y las 12:00 horas, siguiendo las recomendaciones de Alves et al. (2012) y Cosentino et al. (2013), quienes sugieren que este es el momento en que los flujos de gas tienden a representar el flujo medio diario.

Durante cada muestreo de gases, se monitorearon parámetros del suelo como el contenido de humedad, la temperatura del suelo, y las concentraciones de NO_3^- , amoníaco y C soluble. El C y el N total del suelo se determinaron en muestras de suelo secadas y molidas utilizando un analizador TruSpec® (Leco Corp., St. Joseph, MI). Dentro de las 24 horas posteriores a la recolección del suelo, se realizaron extracciones 1:5 (p/v) de suelo con K_2SO_4 0,5 M; el C y N disueltos (tanto minerales como orgánicos) en los extractos resultantes fueron determinados con un Analizador Multi N/C 2100S (AnalytikJena, Jena, Alemania). Las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ en los extractos de K_2SO_4 0,5 M se midieron utilizando métodos colorimétricos descritos por Miranda et al. (2001) y Mulvaney (1996).

Para simular el pastoreo, se cortó la hierba en cada parcela a una altura de aproximadamente 5 cm siete días antes del inicio del muestreo de gases y suelo, siguiendo el protocolo de Chirinda et al. (2019).

2.3.2 *Cálculo de emisión acumulada y porcentaje de N-N₂O emitido*

Las emisiones acumuladas de N₂O se determinaron mediante integración utilizando la regla trapezoidal. Las emisiones acumuladas resultantes se corrigieron para el área de la cámara que se supone no se ve afectada por la aplicación de orina (área del parche) restando las emisiones acumuladas que surgen del tratamiento de control. El porcentaje de N emitido como N-N₂O se calculó como las emisiones acumuladas del parche de orina dividido en N total aplicado.

2.3.3 *Construcción y validación del árbol de regresión.*

Se construyó un árbol de regresión con el conjunto de datos completo, que incluyó las emisiones de N₂O ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$), la temperatura del suelo ($^{\circ}\text{C}$), el contenido de NO₃⁻ en el suelo ($\text{mg N-NO}_3^{-}\cdot\text{kg}$ suelo seco), el contenido de NH₄⁺ en suelos, el volumen de la orina, la concentración de N de la orina. Se utilizó el paquete rpart en R. Se aplicó validación cruzada con 10 pliegues (10-fold cross-validation) para evaluar la estabilidad y la capacidad de generalización del modelo, utilizando la función train del paquete caret, especificando el método rpart y el número de pliegues.

2.3.4 *Análisis estadístico*

En primer lugar, se evaluaron las diferencias entre los tratamientos con distintos volúmenes de orina, utilizando el área de suelo humedecida como variable respuesta. Esta variable mostró una distribución normal y varianzas homogéneas, lo que permitió el uso de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y posteriormente una prueba de Tukey

para comparar las medias de los diferentes volúmenes de orina aplicados. Se consideró un nivel de significación de 0,05 para todas las pruebas.

Durante la evaluación de la relación entre el volumen de orina aplicado y el área del parche humedecido, se observó que, en los volúmenes más altos, las diferencias en el área humedecida entre tratamientos no fueron estadísticamente significativas. Esto sugiere una posible saturación o un cambio en la relación entre estas variables. Para abordar esta posible no linealidad y comprender mejor la relación subyacente, se decidió realizar un análisis de regresión segmentada. Este tipo de análisis es útil cuando se sospecha que la relación entre una variable independiente y una dependiente cambia en un punto específico, conocido como punto de cambio o umbral. El análisis de regresión segmentada se llevó a cabo utilizando el software R, a través del entorno de desarrollo RStudio, y se implementó con el paquete `segmented`.

Para evaluar el efecto de los tratamientos (volumen y contenido de N en la orina) sobre las emisiones acumuladas y los factores de emisión de N_2O , se verificó la normalidad y la homogeneidad de varianzas en las variables respuesta. Dado que el diseño experimental era un subconjunto de un factorial completo, se utilizaron únicamente las combinaciones disponibles. Se empleó un modelo de efectos mixtos, el cual permite incorporar la variabilidad entre bloques mediante efectos aleatorios y evaluar los efectos principales (volumen y concentración de N) como efectos fijos. Se realizó un ANOVA sobre el modelo mixto y, ante diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey para comparar las medias a un nivel de significación de 0,05. El análisis se efectuó en R utilizando el paquete “`lme4`”

Para la comparación de los niveles de NO_3^- , EPSA, NH_4^+ , carbono y nitrógeno solubles y las emisiones puntuales de N_2O entre los distintos tratamientos, se realizó un

test no paramétrico de Friedman para cada fecha de muestreo. Este enfoque es adecuado dado que los datos no cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La prueba de Friedman es apropiada para evaluar las diferencias entre los tratamientos ya que es robusta ante la heterogeneidad de varianzas que presentan estos datos. Cuando se encontraron diferencias significativas con esta prueba, se realizaron comparaciones post hoc utilizando la prueba de Dunn con corrección de Holm. Esta elección es adecuada porque la corrección de Holm proporciona un balance adecuado entre control de error tipo I y potencia estadística en un contexto no paramétrico. Los análisis fueron realizados con el software R a través del entorno de desarrollo RStudio, utilizando el paquete “PMCMRplus”.

2.4 Resultados

2.4.1 Área del parche de orina

En los parches de orina con volúmenes mayores, se observan áreas de mojado significativamente más amplias (Fig. 2.3). Así, los volúmenes de orina de 0,1 L generan áreas menores en comparación con los de 0,5 L, y estos, a su vez, son menores que los observados en parches de 1 L. No obstante, esta diferencia no se manifiesta entre los parches con los volúmenes más grandes, ya que las áreas resultantes de la aplicación de orina de 1 L y 1,5 L no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí.

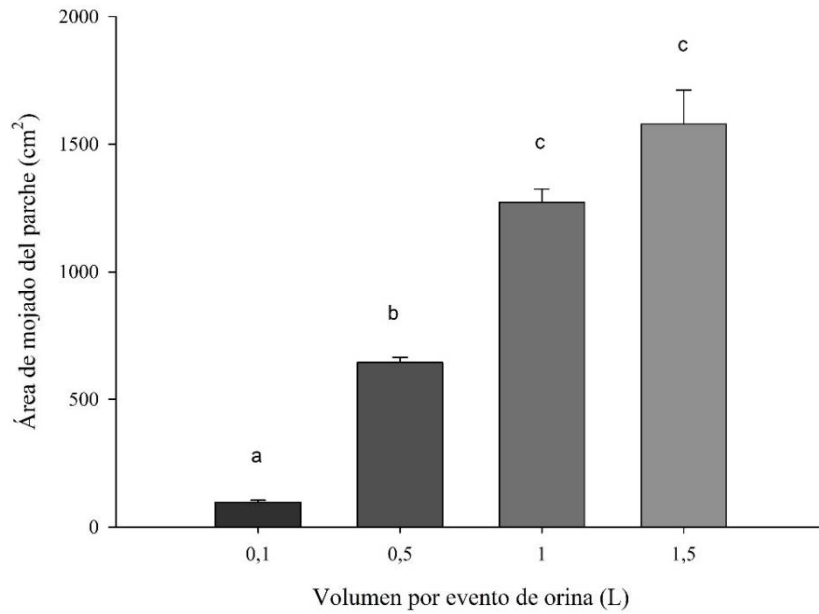


Figura 2.3. Área de mojado por cada volumen de parche aplicado. Las barras representan el error estándar de las áreas humedecidas. Letras diferentes indican áreas humedecidas estadísticamente diferentes ($p < 0,05$)

Al ajustar un modelo de regresión segmentada, el resultado sugiere un cambio en la relación entre el volumen del parche y el área humedecida a un volumen de parche de aproximadamente 0,926 L (Fig. 2.4) a partir de este valor umbral, disminuye la pendiente y la bondad de ajuste del modelo (R^2)

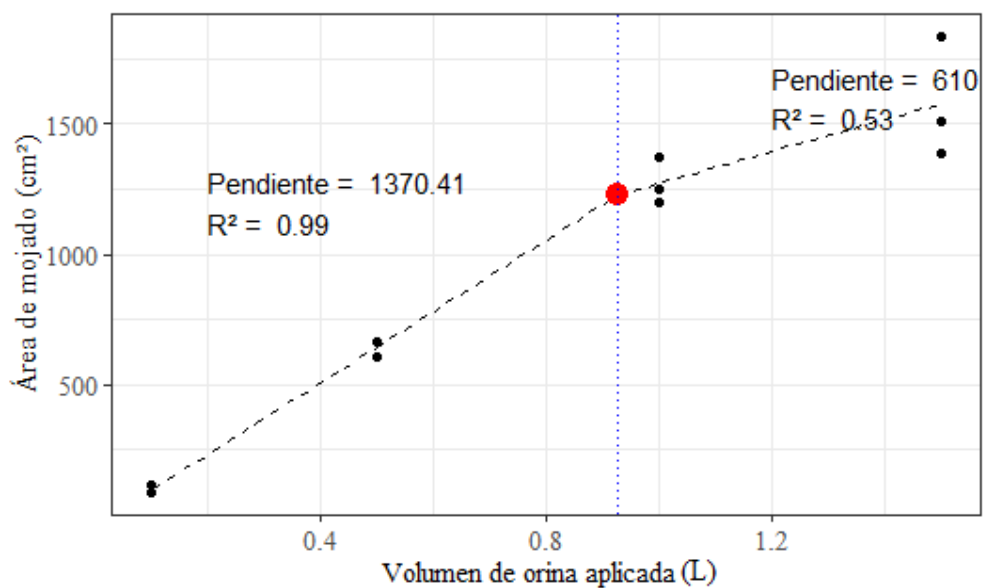


Figura 2.4. Relación entre el volumen de orina aplicada y el área de mojado. La línea punteada es la línea de tendencia, el punto rojo indica el valor donde se observa un cambio de pendientes. La figura muestra una regresión con dos pendientes: una de $1370.41 \text{ cm}^2.\text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0,99$) para volúmenes de orina menores a 0.926 L , y otra de $610 \text{ cm}^2.\text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0.53$) para volúmenes mayores. En el valor de 0.926 L , se observa un cambio en la relación entre el volumen de orina aplicada y el área de mojado.

2.4.2 Factores reguladores de la emisión de N_2O

Durante el período de 12 semanas (entre agosto y octubre) que duró el experimento, se registraron un total de 313 mm de precipitaciones. Adicionalmente, la temperatura del aire osciló entre 5 y $26 \text{ }^\circ\text{C}$, y se alcanzaron los valores máximos en el mes de agosto (temporada de verano de junio-septiembre). El rango de temperatura del suelo (0-10 cm) explorada durante este experimento tuvo su máximo de $18 \text{ }^\circ\text{C}$ a mediados del mes de agosto y su mínimo de $8 \text{ }^\circ\text{C}$ a finales del mes de octubre (Fig. 2.5a)

Los niveles de EPSA oscilaron entre 30 y 100%, con un promedio del 60%, alcanzando su punto más alto después de dos semanas con lluvias continuas y un descenso progresivo de la temperatura de una lluvia de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ para ese período. El punto más bajo de EPSA ocurrió luego de 14 días sin precipitaciones de al menos 10 mm (Fig. 2.5b)

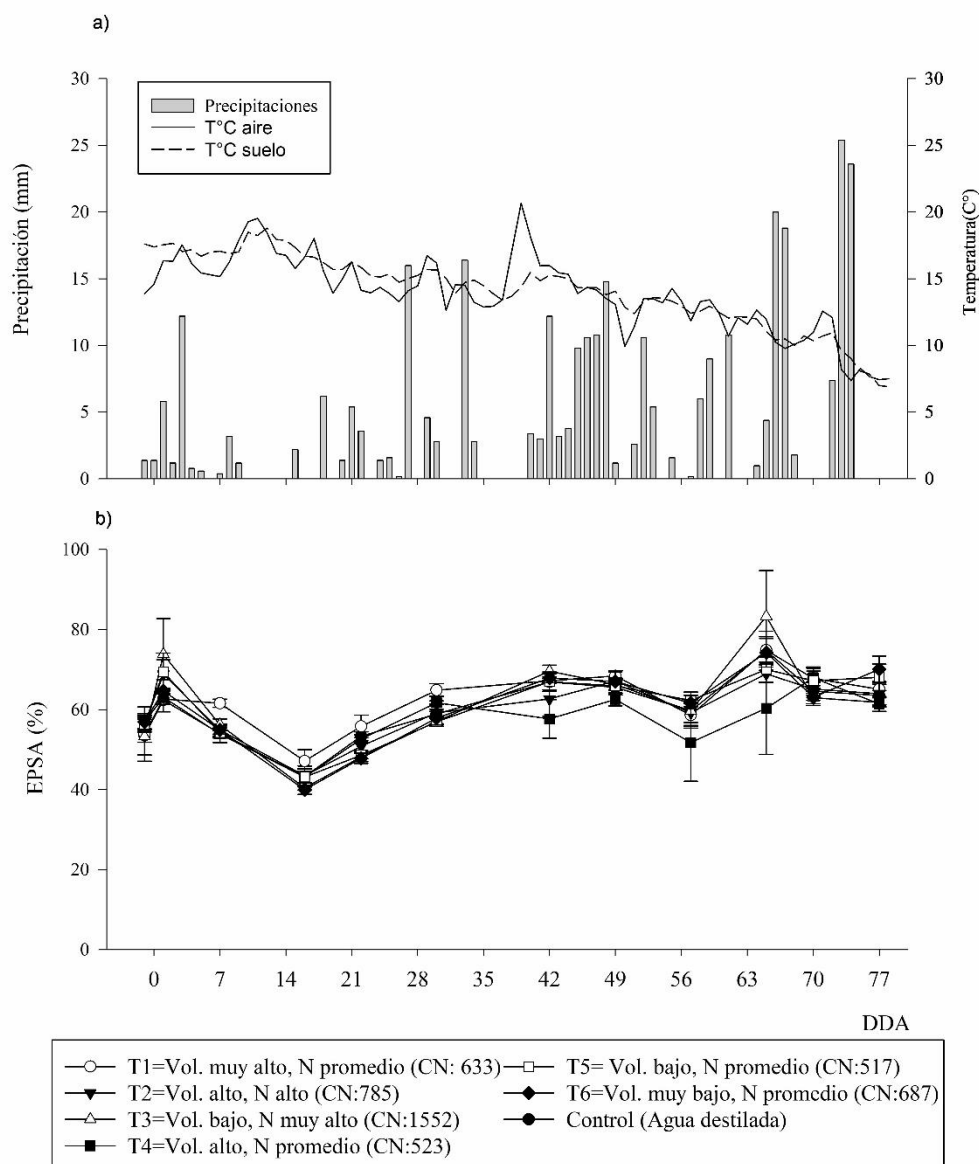


Figura 2.5. Evolución diaria de a) las precipitaciones, la temperatura del aire y del suelo después de la aplicación de orina b) porcentaje de EPSA en función de los días post-aplicación en diferentes tratamientos de volumen, concentración de N (N) y carga de N (CN) en parches de orina en kg. ha⁻¹. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos.

Se observó que lluvias mayores a 5 mm causaron aumentos transitorios en el EPSA, sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

En la Figura 2.6a puede observarse el patrón en la evolución de la concentración de NH₄⁺ en el suelo. Si bien las magnitudes son diferentes, todos los tratamientos presentaron sus picos de concentración 24 horas después de la aplicación de orina artificial, disminuyendo progresivamente la concentración hasta el día 30 post aplicación

donde todos los tratamientos tuvieron un pico de concentración de NH_4^+ posterior que coincidió con un incremento de aproximadamente el 20 % en el EPSA entre el día 14 y el día 30 post aplicación, causado por la ocurrencia de dos eventos de precipitación de 18 mm, 3 veces mayores a las precipitaciones que se venían registrando en los días previos.

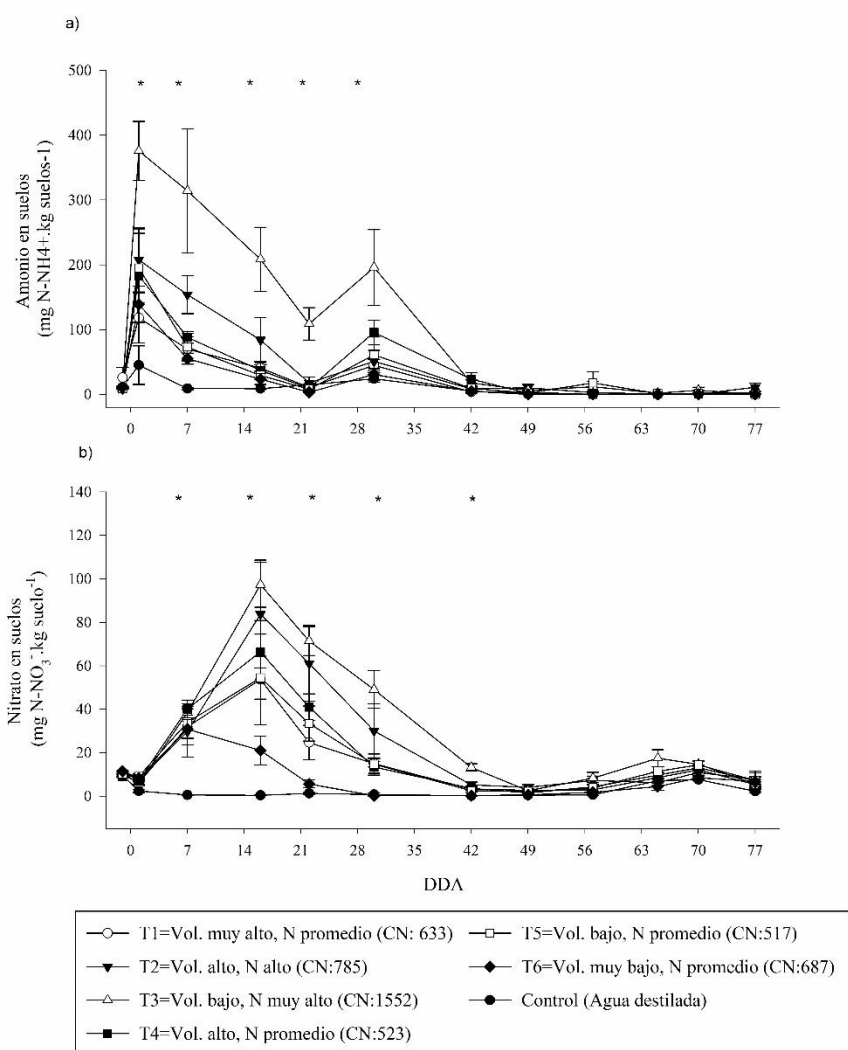


Figura 2.6. Evolución en la concentración del NH_4^+ (a) y NO_3^- (b) en suelos tratados con diferentes tratamientos de volúmenes de orina y concentraciones de N (N) durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en $\text{kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

Los tratamientos que mostraron mayores promedios en la concentración de NH_4^+ en el suelo durante todo el experimento fueron T3 y T2 (Fig. 2.6a). Estos tratamientos eran

iguales en cuanto al contenido de N por parche de orina, pero diferían en la carga de N, con 1550 y 785 kg N.ha⁻¹, respectivamente. A pesar de esta diferencia, fueron los dos tratamientos que presentaron las mayores cargas de N en sus parches. A su vez estos fueron los tratamientos que presentaron mayores valores de NO₃⁻ en suelo con un promedio de 27 y 21 mg N-NO₃⁻.kg suelo⁻¹ (Fig.2.6b) con picos de 97 y 83 respectivamente, ocurridos en el día 14 después de la aplicación de orina artificial.

2.4.3 *Dinámica del C y el N soluble*

No se observó una respuesta del C orgánico disuelto extraíble a la aplicación de orina en ninguna de las fechas de muestreo (Fig. 2.7a y b), con respuestas de tratamiento similares al control. En la Figura 2.7 se observa que el T3 con menor volumen de orina y muy alta concentración de N, seguido por el T2 con alto volumen y alta concentración de N, mostraron un incremento más pronunciado en los niveles de N soluble inmediatamente después de la aplicación, con un pico inicial que decrece gradualmente. Estos tratamientos también mantienen niveles relativamente más altos de N soluble hasta el día 20 después de la aplicación. En contraste, el resto de los tratamientos presentaron fluctuaciones menos marcadas en ambos parámetros sin diferencias significativas entre sí. Luego de 20 días después de la aplicación de orina, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

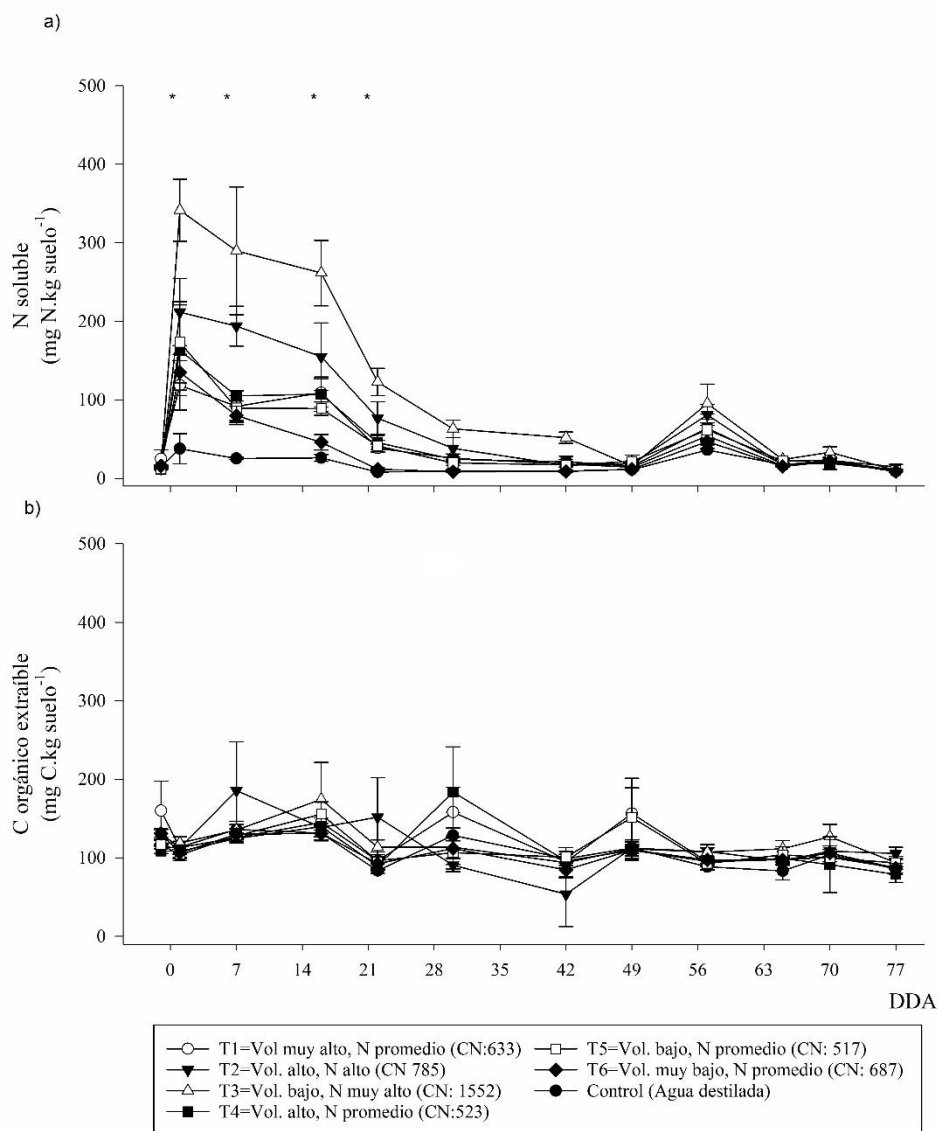


Figura 2.7. Evolución del N soluble ($\text{mg N kg suelo}^{-1}$), (a) y del C orgánico extraíble ($\text{mg C.kg suelo}^{-1}$) (b) en suelos tratados con diferentes volúmenes de orina y concentraciones de N durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en kg N.ha^{-1} . Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

En general, la CN de los parches aplicado parece influir significativamente en la disponibilidad de nutrientes solubles en el suelo.

2.4.4 Emisión de N₂O

El patrón de emisión N₂O de los parches de orina en el tiempo se caracterizó por presentar un pico inicial dentro de las primeras 24 horas después de la aplicación de orina artificial, seguido de una disminución gradual hasta que en el día 21, que las emisiones se aproximan a niveles similares al control (Fig.2.8). Entre los días 28 y 49 después de la aplicación de orina se observó un incremento en la emisión en todos los tratamientos, que fue progresivo y culminó en un pico de magnitud moderada a alta dependiendo de cada tratamiento. Este incremento progresivo de la emisión coincidió con una disminución de los NO₃⁻, el NH₄⁺ y el N soluble para el mismo período y un aumento del EPSA del 50 al 65%.

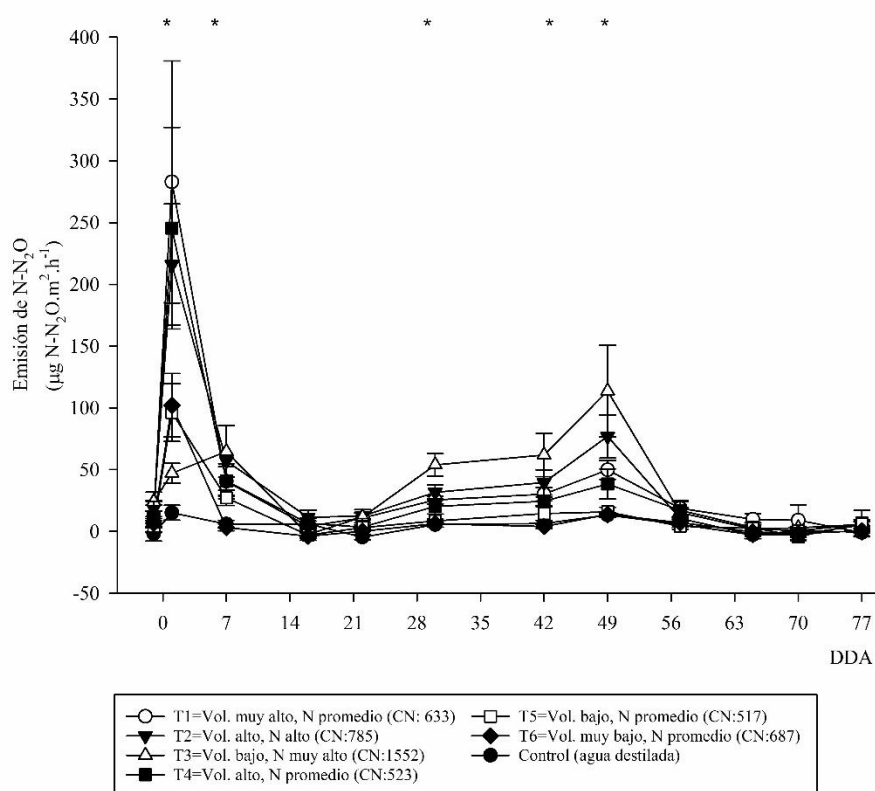


Figura 2.8. Emisiones de N₂O en suelos tratados con diferentes volúmenes de orina y concentraciones de N durante 77 días después de la aplicación (DDA). Las siglas CN que están entre paréntesis representan la carga de nitrógeno de cada parche de orina en kg Nha⁻¹. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

Los tratamientos que más emitieron fueron, T1, con un promedio de emisión de 41 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$, y una emisión de 283 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$ en el pico. Le siguieron el T4 y T2. El resto de los tratamientos presentaron emisiones puntuales menores, con excepción del T3 que tuvo un pico de emisión de 105 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$ el día 49, lo que lo convirtió en el que más emitió de todos los tratamientos.

El control mantuvo valores de emisión con un promedio de 19 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$ y no presentó picos ni cambios pronunciados en la emisión de N_2O durante el período del experimento. La emisión acumulada para los 77 días de experimento presentó diferencias estadísticamente significativas solo en T3, que es el tratamiento con volumen bajo, N muy alto, y mayor carga de N de todos. El resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí (Fig. 2.9a).

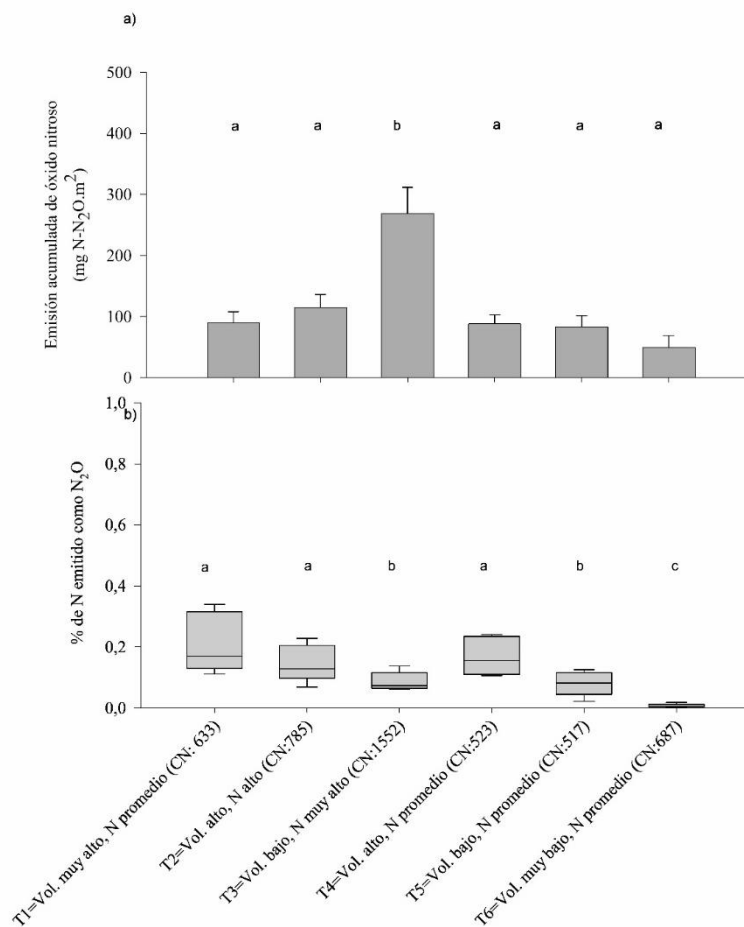


Figura 2.9. Comparación de la emisión acumulada N₂O (mg N-N₂O m⁻²) (a) y el % de N emitido como N₂O (b) bajo diferentes tratamientos de volumen de orina y concentración de N. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Letras distintas representan diferencias significativas (p<0.05).

Con respecto a los porcentajes de N emitidos como N-N₂O, se observaron diferencias significativas relacionadas al volumen de la aplicación de orina entre los tres tratamientos con valores promedio de concentración de N en la orina de 6.7 gN.ml⁻¹. El factor de emisión para esos casos fue mayor, cuanto mayor fue el volumen de orina aplicado (Fig. 2.9b). La Figura 2.10 muestra un árbol de clasificación que utiliza varias variables para predecir las emisiones de N₂O en un total de 335 observaciones

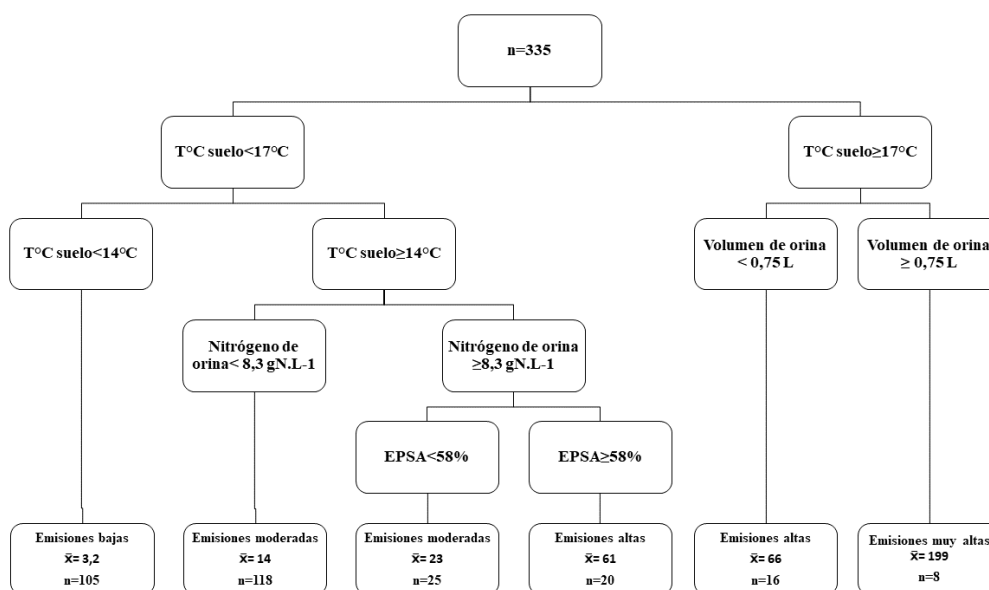


Figura 2.10. Resultados del análisis del árbol de regresión para este experimento, que muestra las principales variables que afectan las tasas de emisión de N₂O considerando los volúmenes y el contenido de N de la orina.

Comienza con la temperatura del suelo (T°C suelo) como primera variable condicionante en dividir grupos de emisión. Las observaciones se dividen en dos grupos: aquellas con temperaturas del suelo menores a 17°C y aquellas con temperaturas mayores o iguales a 17°C. Para las observaciones con temperaturas del suelo menores a 17°C, hay

una subdivisión adicional en aquellas con temperaturas menores a 14°C y aquellas con temperaturas mayores o iguales a 14°C. En el grupo con temperaturas menores a 14°C, se identifican como emisiones bajas con un promedio de 3,2 y un tamaño de muestra de 105. En el grupo con temperaturas entre 14°C y 17°C, se realiza una subdivisión basada en la concentración de N en la orina. Las muestras con concentraciones menores a 8,3 gN.L⁻¹ se clasifican como emisiones moderadas con un promedio de 14 y un tamaño de muestra de 118. Las muestras con concentraciones mayores a 8,3 gN.L⁻¹ se dividen según la fracción de poros de agua saturada (EPSA). Si EPSA es menor al 58%, las emisiones son moderadas con un promedio de 23 y un tamaño de muestra de 25. Si EPSA es mayor o igual al 58%, las emisiones son altas con un promedio de 61 y un tamaño de muestra de 20.

Para las observaciones con temperaturas del suelo mayores o iguales a 17°C, el volumen de orina es el siguiente factor decisivo. Las observaciones con un volumen de orina menor a 0,75 L se clasifican como emisiones altas con un promedio de 66 y un tamaño de muestra de 16. Las observaciones con un volumen de orina mayor o igual a 0,75 L se clasifican como emisiones muy altas con un promedio de 199 y un tamaño de muestra de 8.

Los resultados sugieren que el modelo tiene un rendimiento moderado, con una capacidad razonable para explicar la variabilidad en las emisiones, pero con margen para mejorar (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4. Parámetros de rendimiento del modelo de árbol de regresión.

Parámetro de complejidad (cp)	0,02
Error cuadrático medio (RMSE)	31,94

R²	0,545
Error medio absoluto (MAE)	17,11
R² ajustado	0,542

El RMSE y MAE indican que las predicciones están relativamente cerca de los valores reales, pero la variabilidad no explicada (aproximadamente el 45%) sugiere que podrían incluirse más variables o refinarse el modelo para mejorar su precisión. Sin embargo, el parámetro de complejidad (cp) ha ayudado a evitar un sobreajuste, permitiendo un modelo que generaliza razonablemente bien a los datos.

2.5 Discusión

Según los resultados obtenidos en este trabajo siempre que el suelo esté a capacidad de campo, una vez que el volumen del parche supera los 0,926 litros, el agregado adicional de orina no aumenta proporcionalmente el área humedecida, probablemente porque la porción mojada del suelo se satura, y la orina comienza a infiltrar más profundamente. Estos hallazgos no solo amplían la comprensión de la dinámica de la orina en el suelo, sino que también sientan las bases para futuros estudios que busquen afinar las estimaciones de la distribución del nitrógeno y su transformación en gases de efecto invernadero en sistemas pastoriles. Aunque el presente experimento es preliminar, los resultados sugieren que la identificación de un umbral en la expansión del área humedecida por la orina podría ser un factor determinante para mejorar los modelos predictivos de emisiones de N₂O. En este sentido, investigaciones posteriores con diseños experimentales más amplios y replicados podrían profundizar en este aspecto. Estos hallazgos podrían ser importantes para comprender y modelar cómo se distribuye la orina

en el suelo, lo que es relevante para la gestión de nutrientes y la evaluación del impacto ambiental en sistema pastoreados. Tanto las precipitaciones ocurridas como las temperaturas registradas coincidieron con la media climática de la región en esta época del año. El EPSA presentó alta variabilidad coincidiendo con valores reportados por Melaku et al. (2019) y Louro et al. (2013) para la misma región y época del año, que mostraron rangos entre 30 y 75%. En general, se vieron incrementos en el EPSA luego de lluvias mayores a 10 mm. El EPSA es un factor determinante en el ambiente del suelo, ya que regula el equilibrio entre agua y aire, lo que a su vez influye en los procesos microbianos que pueden desarrollarse. Por ejemplo, cuando el EPSA es elevado, el suelo tiende a volverse predominantemente anaeróbico, favoreciendo procesos como la desnitrificación, que pueden incrementar la producción de N_2O . En este estudio, no se observaron variaciones significativas de EPSA asociadas a los tratamientos. En un suelo como el que se trabajó en este capítulo sin restricciones de drenaje, aunque ocurrieron precipitaciones casi todos los días no se observó el suelo saturado en ningún momento durante el intervalo de tiempo que duró el experimento. Sin embargo, en muchos momentos el EPSA superó el 50-60% reportado en varios experimentos con distintos tipos de suelos como umbral para la emisión de N_2O (Cosentino et al., 2013) y los picos de emisión ocurrieron en un rango de EPSA entre el 40-80%, tal como enunciaron Araujo et al. (2021).

Con respecto al NH_4^+ y NO_3^- en suelos, el patrón de cambios en las concentraciones observadas coincidió con lo reportado por Lessa et al. (2014) y Bell et al. (2015) en climas tropicales y templados, respectivamente. El N en la orina del ganado está constituido principalmente por urea (~70–90%— Kool et al., 2006), que usualmente es rápidamente hidrolizada por la ureasa del suelo, lo que explica el aumento en la concentración de NH_4^+ en el suelo poco después de la adición de la orina (Lessa et al., 2014). La formación de

NO_3^- los primeros días luego de la aplicación donde el EPSA superó frecuentemente el 60% fue lenta, lo que podría explicarse por una intensa desnitrificación inicial que causó un pico de pérdidas N por emisión de N_2O en ese caso. Por otro lado, hacia la mitad del experimento con el incremento de las precipitaciones, se presentaron períodos de alta acumulación de NO_3^- particularmente mayor en parches con alta carga de N. Las concentraciones de N extraíble y en la solución del suelo fueron altas al inicio del estudio, debido a las grandes cantidades de N orgánico disuelto, depositadas en el suelo con la orina.

Con respecto a la emisión de N_2O , esta puede atribuirse a varios procesos subyacentes. Se observa un pico inicial de emisiones de N_2O que corresponde a un rápido proceso de desnitrificación en el suelo. En tratamientos con concentración de N promedio, los parches de mayor tamaño emitieron más N_2O durante los picos de emisión. En tratamientos de igual volumen aquellos que tuvieron mayor N emitieron más durante los picos de emisión. Esto muestra que los tratamientos que mayores emisiones tuvieron en los picos fueron aquellos que recibieron mayor cantidad de N por parche, siendo éste el producto del volumen y la concentración. También fue importante considerar los efectos de la carga de N de los parches, ya que los dos tratamientos con mayores valores de carga de N fueron los que mayores picos presentaron. En la mayoría de los tratamientos, la emisión alcanzó su pico más alto un día después de la aplicación de la orina, coincidiendo con una precipitación de más de 10 mm. Luego disminuyó gradualmente hasta acercarse a $20 \text{ ug}\cdot\text{m}^2\cdot\text{h}^{-1}$, que corresponde a la emisión del suelo control que solo recibió aplicación de agua destilada.

Los resultados indican que las emisiones de N_2O se ven fuertemente influenciadas por la cantidad de nitrógeno aplicado en cada parche de excreta. La observación de un pico de emisión un día después de la aplicación de orina, en coincidencia con una

precipitación superior a 10 mm, sugiere que un rápido proceso de desnitrificación es el principal impulsor de estos picos. Además, se evidencia que, en tratamientos con concentraciones promedio de N, aquellos parches de mayor tamaño —y, en consecuencia, mayor carga de N (producto del volumen y la concentración)— presentan picos de emisión más altos. Este comportamiento resalta la importancia de la distribución y acumulación espacial de las excretas en la modulación de las emisiones. Por último, la disminución gradual de las emisiones hasta niveles cercanos a $20 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ en el suelo control, que solo recibió agua destilada, refuerza la relación directa entre la aplicación de excretas y la elevación de las emisiones.

La carga de N influyó en las pérdidas de N_2O , cuando fue muy alta. El parche con mayor carga de N tuvo las mayores emisiones acumuladas de N_2O por m^2 , mientras que este efecto no se vio en los porcentajes de N- N_2O emitidos. Cardoso et al. (2016), también han reportado grandes variaciones para porcentajes de N- N_2O emitidos en orina y heces de ganado en un pastizal. Los porcentajes de N- N_2O emitidos en este capítulo de tesis coinciden con los reportados para el Reino Unido, que se ubican un rango de 0.00 a 2.96 con base anual a lo largo de diversas estaciones y sitios de campo en todo el Reino Unido (Chadwick et al., 2018). A pesar de esta alta variabilidad, los porcentajes de N- N_2O utilizados para predecir los flujos de N_2O en los inventarios globales se basan en un número limitado de estudios empíricos (Cai y Akiyama, 2016)

La jerarquía del volumen y la concentración de N (componentes de la carga de N) como variables reguladoras de la emisión fue evaluado en un árbol de regresión. Así las emisiones se dividieron en cuatro grupos de emisión (baja, moderadas, altas y muy altas), cada uno de los cuales se asoció a la limitación por una o más de las variables de estudio. Según Cosentino et al. (2013), las diferentes variables reguladoras de la emisión de N_2O afectan de manera diferencial los procesos de nitrificación y desnitrificación llevados a

cabo por los organismos, y como resultado afectan la emisión de N_2O desde el suelo. En este caso la primera variable que limitó la emisión de N_2O fue la temperatura del suelo, la cual separó al grupo de baja emisión del resto. La emisión de N_2O correspondiente a este grupo se observó cuando la temperatura del suelo fue inferior a los $14^\circ C$. Sobre este grupo de emisión, la temperatura del suelo tuvo un efecto directo, probablemente debido a una disminución de la actividad microbiana del suelo, lo que influyó en la emisión de N_2O (Cosentino et al., 2013). Cuando la temperatura fue mayor a $17^\circ C$, las emisiones fueron altas o muy altas dependiendo del volumen de orina aplicado. En parches de un volumen menor a 0,75 L las emisiones se consideraron altas, mientras que en parches de volúmenes mayores a 0,75L fueron muy altas con un promedio de $199 \text{ ug N-N}_2\text{O.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Esto sugiere que en condiciones de alta temperatura la cantidad de orina sería un factor determinante en la magnitud de los picos de emisión de N_2O que pueden suceder.

Existe también la posibilidad de que se produzcan emisiones altas en temperaturas entre 14 y $17^\circ C$ siempre que la concentración de N en la orina sea mayor $8,3 \text{ gN. L}^{-1}$ y el EPSA mayor al 58%. Así eventos caracterizados por alta temperatura y alto EPSA, podrían favorecer la producción de N_2O para muchos parches de orina, ya que un valor de 8.3 gN. L es un valor de concentración de N en la orina que se encuentra dentro de un rango promedio (Selbie et al., 2015) y podría ocurrir de manera muy frecuente en una situación de producción de carne. Además, siendo el EPSA una variable importante, este patrón también podría indicar que, en condiciones un poco menos cálidas, no solo la cantidad de N en la orina es relevante, sino también ciertas propiedades del suelo, posiblemente relacionadas con su capacidad de retención de agua o aireación.

2.6 Conclusiones

Los parches de orina depositados por el ganado en pastoreo representaron “puntos calientes” con cargas de N importantes, contribuyendo significativamente a las emisiones de N_2O . Los resultados confirman que el volumen y la concentración de nitrógeno en la orina son variables reguladoras de las emisiones de N_2O en pastizales, por lo tanto, no se rechaza la **Hipótesis 2.1**.

Se observó que, aunque el volumen de orina aplicado incrementa la superficie de mojado, el efecto no es constante en todos los rangos de volumen. A partir de un umbral de **0.926 L**, el incremento del área humedecida se atenúa, sugiriendo un posible cambio en la relación entre estas variables.

Asimismo, no se rechaza la **Hipótesis 2.2**, mostrando que la temperatura del suelo y el EPSA son factores moduladores críticos en la emisión de N_2O , con las emisiones más altas registradas en condiciones de alta temperatura y humedad. En particular, la temperatura del suelo se destacó como la variable de mayor jerarquía en la determinación de las emisiones de N_2O , separando claramente los grupos de emisión baja y alta. Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar tanto las características de la orina como las condiciones ambientales para predecir y gestionar las emisiones de N_2O en sistemas ganaderos.

2.7 Implicancias en los próximos capítulos.

En este capítulo se estudió al detalle la metodología para cuantificar con precisión el área de cada parche de orina. Esto resultó fundamental para los cálculos y análisis llevados a cabo en los capítulos posteriores. Además, el experimento permitió desarrollar un procedimiento sólido para relacionar el volumen de orina con la extensión del suelo

afectado, ofreciendo así una base metodológica clara para interpretar con mayor precisión los resultados subsiguientes.

Algunas de las implicancias del Capítulo 2 se utilizarán en el Capítulo 5 para contrastar y ajustar estos mecanismos a la realidad de la Cuenca del Salado, evidenciando las variaciones y similitudes que se derivan de las diferencias en ubicación geográfica y tipo de suelo. Esta articulación valida la robustez de la metodología empleada y sienta las bases para futuros estudios que afinen la predicción de emisiones en contextos diversos.

Capítulo 3.

Emisiones de N₂O provenientes de las excretas
animales en suelos hidro-halomórficos con
pastizales naturalizados.

3.1 Introducción

La producción de carne bovina es una de las actividades más relevantes del Sistema Agroalimentario Argentino. Una de las regiones más importantes a nivel ganadero es la Cuenca del Río Salado, emplazada en la subregión de la Pampa Deprimida (SENASA, 2021). En ella predominan suelos de tipo hidro-halomórficos de alta heterogeneidad espacial que sufren procesos de salinización temporaria y altas concentraciones de sodio tanto en la superficie del perfil del suelo como en profundidad (Taboada y Lavado, 2009). Los suelos halomórficos abarcan aproximadamente 160.000 km² en la Región Pampeana argentina (Imbellone et al., 2010) y poseen una gran relevancia económica. Sin embargo, suelen considerarse marginales para la agricultura debido a su elevado contenido de sales, lo que afecta la disponibilidad de agua para las plantas y limita el crecimiento de cultivos sensibles a la salinidad, como por ejemplo el maíz y la soja. Estas condiciones restringen su aptitud para las producciones agrícolas más tradicionales de la región, requiriendo prácticas de manejo específicas para su aprovechamiento. En estos suelos se emplaza un pastizal compuesto predominantemente por especies nativas y forrajeras naturalizadas como *Festuca arundinacea*, *Lolium multiflorum*, *Ambrosia tenuifolia*, *Esporobolus indicus*, *Paspalum vaginatum* y *L. tenuis* (Nieva et al., 2016). Los pastizales se mantienen productivos todo el año ya que en ellos conviven pastos de OIP y otros de crecimiento primavera-estivo-otoñal (PEO). Sin embargo, la producción y calidad de forraje muestran un claro patrón estacional, con un pico de máxima tasa de crecimiento en primavera que puede ser hasta 10 veces superior al crecimiento que se registra en invierno (Rodríguez y Jacobo, 2012). Con respecto al sistema, la productividad de los pastizales naturales de la Cuenca del Salado es muy heterogénea entre años y altamente dependiente de las condiciones climáticas. Una producción típica en la región cuenta con una carga anual de 0,7 EV ha⁻¹ en situaciones de campo natural donde la mejor producción de octubre no

logra compensar el déficit de mayo si se tienen cargas mayores a 0,9 EV ha⁻¹ (Cesa et al., 2019).

Como se detalló en el Capítulo introductorio, diversas investigaciones han evaluado las consecuencias ambientales de la producción ganadera, incluida su contribución a la emisión de gases de efecto invernadero (GEI). Dentro de esos gases, se destaca el N₂O como gas emitido desde el suelo. Aunque la emisión de N₂O es un proceso natural en los suelos, especialmente en aquellos que se encharcan, debido a la reducción del NO₃⁻ a N₂, esta emisión se intensifica en sistemas ganaderos, principalmente por la deposición de excretas animales en el suelo (Steinfeld et al., 2009). En los rumiantes, más del 70% del N ingerido se excreta en las heces y la orina (De Klein et al., 2008). Se ha demostrado que la deposición de orina en los pastos resulta en una emisión significativa de N₂O, principalmente debido a los procesos de nitrificación y desnitrificación (Chadwick et al., 2018). En los sistemas de pastoreo, la mayoría de las pérdidas de N provienen del N depositado en forma de parches de orina, lo que se da por aumentos localizados en las cargas de N. En cuanto a las heces, la mayor parte del N se encuentra en forma orgánica, por lo que el NH₄⁺ y el NO₃⁻ no están disponibles de inmediato como ocurre con la orina, por lo que las emisiones de N₂O suelen ser menores en comparación con las de los parches de orina (Lessa et al., 2014).

En la Pampa argentina se han realizado esfuerzos de investigación para estudiar los principales factores reguladores de las emisiones de N₂O de los suelos agrícolas, tales como la temperatura del suelo y del aire, la concentración de NO₃⁻, EPSA y las fracciones lábiles de materia orgánica del suelo (Álvarez et al., 2012; Cosentino et al., 2013). Cabe señalar que en estos estudios se consideraron, como fuentes de nitrógeno, la aplicación de fertilizantes sintéticos nitrogenados en sistemas agrícolas. Dichos autores han observado que la principal variable limitante de las emisiones de N₂O fue la temperatura

del suelo. Estos autores han observado que la principal variable limitante de las emisiones de N₂O fue la temperatura del suelo. Generalmente, las emisiones de N₂O del suelo durante la temporada de invierno son bajas, presumiblemente debido a las bajas temperaturas, como han reportado Cowan et al. (2017) y Ruan y Robertson (2017) en diversas regiones con alta diversidad de suelos. Sin embargo, Davidson et al. (1993) concluyeron que los flujos de N₂O aumentan significativamente cuando la temperatura de la superficie supera los 14 °C y el EPSA se sitúa por encima del 60–70%. En la Cuenca del Salado, aunque los inviernos presentan las temperaturas más bajas del año, se observa una mayor frecuencia de anegamiento, lo cual plantea la interrogante de si dichos eventos de saturación hídrica podrían inducir incrementos en las emisiones de N₂O, incluso en condiciones de frío.

Este análisis resulta particularmente relevante en el contexto de sistemas de pastizales y pasturas, donde la dinámica de las emisiones puede diferir de la observada en sistemas agrícolas tradicionales. Estudios locales, como el de Chirinda et al. (2019), han medido emisiones a partir de la aplicación de orina, subrayando la importancia de evaluar la variabilidad estacional y la interacción entre temperatura y la humedad. Ramos et al., 2024 también ha estudiado que en pastizales del Cerrado Brasileño las emisiones de N₂O varían significativamente entre las estaciones, siendo más elevadas durante la temporada de lluvias. La integración de estos factores en la investigación permite no solo una mejor comprensión de la influencia de variables ambientales en las emisiones de N₂O, sino también el desarrollo de estrategias de manejo que optimicen la mitigación de estos gases de efecto invernadero.

Actualmente poco se conoce sobre las emisiones de N₂O en suelos con hidrohalomorfismo. Conocer las emisiones es importante para mejorar las estimaciones

locales y tener herramientas para la competencia comercial en un mundo globalizado donde la demanda de proteína animal es creciente, pero debe ser satisfecha de manera sustentable.

3.2 Objetivos e hipótesis

Los objetivos de este capítulo fueron:

1. Analizar las emisiones de N_2O en suelos hidrohalmórficos con pastizales naturalizados.
2. Calcular las emisiones estacionales acumuladas de N_2O y evaluar la dinámica de acumulación de N_2O para las excretas en todas las estaciones del año.

Las hipótesis fueron:

Hipótesis 3.1: Las emisiones de N_2O en suelos hidrohalmórficos con pastizales de especies naturalizadas son mayores durante las épocas cálidas debido a que las temperaturas elevadas favorecen los procesos de nitrificación y desnitrificación. Por el contrario, en la época fría, las emisiones de N_2O son menores, pero no despreciables, ya que más allá de las bajas temperaturas, los problemas de drenaje y la saturación hídrica característica de los suelos hidrohalmórficos en esta estación, incrementan la producción de N_2O .

Hipótesis 3.2: La orina contribuye significativamente más a las emisiones de N_2O en comparación con las heces por su mayor contenido de componentes nitrogenados fácilmente mineralizables en suelos hidrohalmórficos.

3.3 Materiales y métodos

Analizar las emisiones de N₂O a lo largo del año es fundamental para comprender la evolución temporal de este gas en función de las fluctuaciones ambientales. Aunque el estudio se centró en capturar las tendencias a lo largo del ciclo anual, la monitorización continua permitió apreciar los cambios en las emisiones, proporcionando una visión integral del comportamiento del sistema y aportando información valiosa para estrategias de manejo y mitigación ambiental. Las características del sitio de estudio, el diseño experimental, la forma de muestreo y determinación de los flujos de gases, así como el detalle de los cálculos de emisiones puntuales y acumuladas de N₂O y los análisis utilizados, fueron descritos en la sección 1.3 del Capítulo 1. Esta organización permite evitar redundancias, ya que los mismos procedimientos son aplicables a los capítulos 3, 4 y parte del 5. Para facilitar la navegación, se recomienda al lector dirigirse a la sección 1.3 para conocer en detalle la metodología utilizada en estos capítulos.

3.3.1 Características del suelo

Mediante análisis a campo se ha realizado una descripción morfológica del suelo del sitio seleccionado y se han determinados sus características principales hasta los 40 cm de profundidad donde comenzaba un horizonte muy duro en seco con signos de acumulación de arcillas iluviales y características morfológicas de nátrico, coincidentes con los resultados encontrados en el análisis de los horizontes superficiales. En el cuadro 3.1 se detallan las características analíticas.

Cuadro 3.1. Propiedades físico-químicas del suelo.

Horizonte	A	Bn
Profundidad	0-20	20-40

Materia orgánica (%)	4,2	2,9
pH (1:2,5)	7	8,9
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,620	1,8
C orgánico (g.kg suelo ⁻¹)	0,21	0.13
N total (g.kg suelo ⁻¹)	0,022	0,012
Relación C:N	9,54	10,8
Arcilla (%)	22,3	31
Limo (%)	50	40,1
Arena (%)	27,7	28,9
Calcáreo	no	vest.
Cationes de cambio:		
Ca ⁺⁺	7,5	-
Mg ⁺⁺	2,6	-
Na ⁺	2,1	10,5
K ⁺	1,5	2,5
H ⁺	6,5	-
Capacidad de intercambio catiónico (cmol _c /kg)	15,9	20,4
PSI (%)	13	51

3.3.2 Características de las excretas bovinas aplicadas

Al inicio de cada ensayo estacional se recolectaron heces frescas y orina de bovinos para carne de raza *Angus* que pastorearon el pastizal naturalizado desde los 20 días previos hasta el día de la colecta. En el cuadro 3.2 se pueden observar las características de las excretas aplicadas al inicio de cada ensayo.

Cuadro 3.2. Características de la orina y las heces agregadas al suelo al inicio de cada ensayo según la estación: nitrógeno total, porcentaje de materia seca, C total, nitrógeno total y relación Carbono/Nitrógeno (C:N). (n=3)

Excreta	Estación	$N (g L^{-1})$	%MS	$C (g.kg^{-1} MS)$	$N (g.kg^{-1} MS)$	C:N
Orina	Invierno	$6,5 \pm 2,2$	-	-	-	-
	Primavera	$5,6 \pm 1,3$	-	-	-	-
	Verano	$4,2 \pm 1,0$	-	-	-	-
	Otoño	$4,7 \pm 2,4$	-	-	-	-
Heces	Invierno	-	15,5	467 ± 46	$22,5 \pm 2,5$	19,1
	Primavera	-	14,6	453 ± 45	$23,6 \pm 1,3$	18,2
	Verano	-	14,2	401 ± 20	$25,7 \pm 2,8$	18,2
	Otoño	-	13,9	479 ± 53	$26,1 \pm 5,9$	18,3

3.3.3 Análisis estadístico

Para la comparación de los niveles de NO_3^- , EPSA y las emisiones de N_2O entre los distintos tipos de excretas en el factor SPL, se realizó un test no paramétrico de Friedman para cada fecha de muestreo. Este enfoque es adecuado dado que los datos no cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La prueba de Friedman es apropiada para evaluar las diferencias entre los tratamientos de excretas dentro de las subparcelas del nivel SPL, dado que no requiere la suposición de normalidad. Cuando se encontraron diferencias significativas con esta prueba, se realizaron comparaciones post hoc utilizando la prueba de Dunn con corrección de Holm. Esta elección es adecuada porque la corrección de Holm proporciona un balance adecuado entre control de error tipo I y potencia estadística en un contexto no paramétrico. Los análisis fueron realizados

con el software R a través del entorno de desarrollo RStudio, utilizando el paquete “PMCMRplus”.

3.4 Resultados

3.4.1 Nitratos en suelo y Espacio poroso saturado con agua

El contenido de nitrógeno de nitratos (N-NO_3^-) en suelos hasta los 10 cm de profundidad en un año corrido de experimento con muestreos en todas las estaciones estuvo en el rango de los 9 y 238 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ para el suelo sin agregado de excretas, entre 5 y 197 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ el tratamiento con heces, y entre 5 y 388 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ en el tratamiento con agregado de orina. Los promedios fueron de 50, 52 y 80 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ para el control, heces y orina respectivamente y con diferencias estadísticamente significativas entre la orina y las heces y el control.

Al inicio del muestreo de invierno el contenido promedio de NO_3^- en suelos estuvo en el rango de los 18 a 28 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ sin diferencias entre el control y los tratamientos con agregado de heces y orina (Fig. 3.1a). Dos semanas después de la aplicación de excretas al suelo, se observó un pico significativo en la concentración de nitratos en suelo en el tratamiento con agregado de orina, alcanzando valores promedio cercanos a 137, 46 y 49 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$, para la orina, las heces y el control respectivamente. Posteriormente, las concentraciones disminuyeron gradualmente hacia el final del ensayo, igualando el contenido de nitrato de los tratamientos a los niveles del control en la última fecha de muestreo con valores de 22, 31 y 33 $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

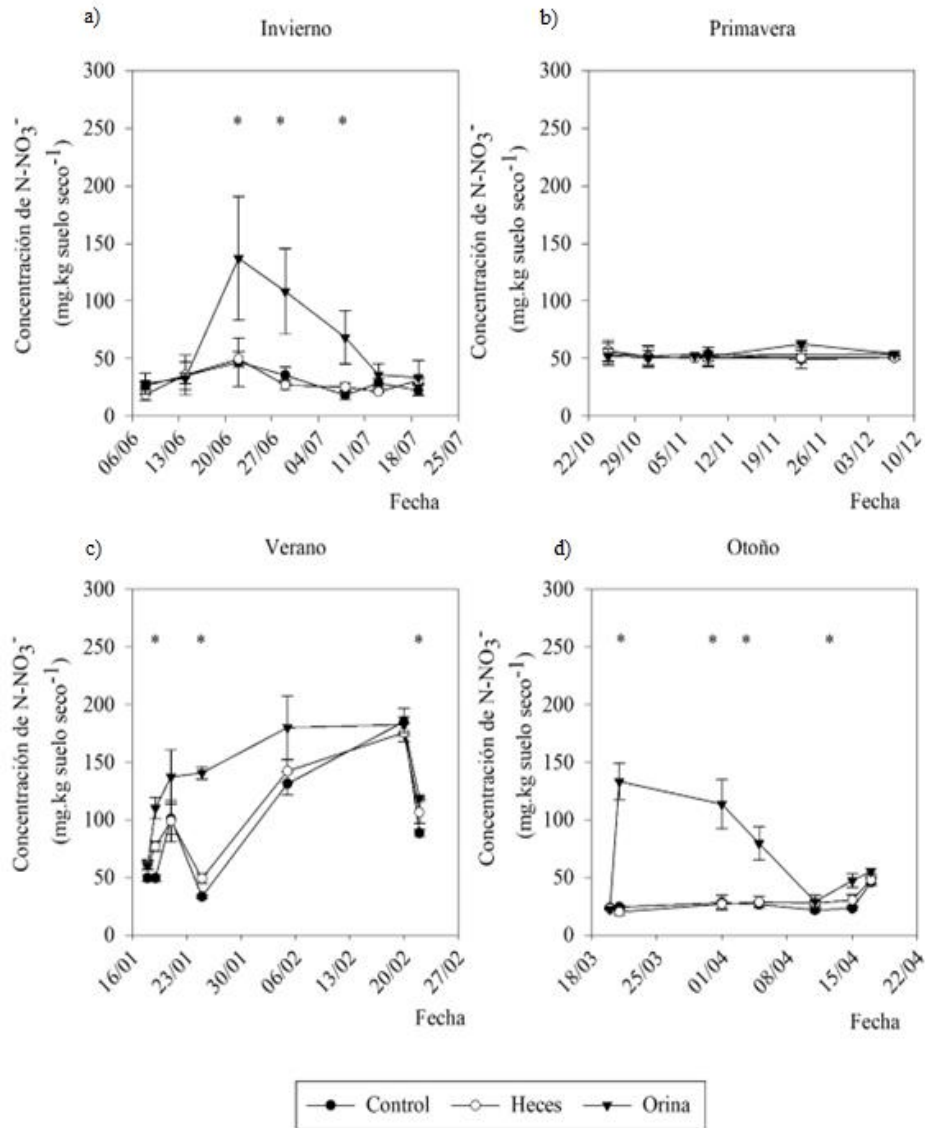


Figura 3.1. Evolución de la concentración de nitrógeno de los nitratos en suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

Por otro lado, en el ensayo realizado en la época primaveral (Fig. 3.1b) las concentraciones de nitratos se mantuvieron constantes en todos los tratamientos con un promedio de 50 mg kg⁻¹ de suelo en todo el período, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos. El muestreo de verano (Fig. 3.1c), se inició con contenidos promedio de nitratos entre los 50 y 60 mg kg⁻¹ de suelo seco sin diferencias significativas

entre los tratamientos y el control. Luego de 24 horas de la aplicación de las excretas, se observó una variabilidad considerable en el tratamiento con orina, con un aumento a mediados del verano, donde los contenidos de nitratos en suelo fueron los máximos observados para todas las estaciones, registrándose promedios de $150 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$, es decir un incremento del 50% con respecto a los valores iniciales N-NO_3^- . El tratamiento con orina en esta temporada mostró diferencias significativas respecto al control en varios puntos de muestreo. Al comienzo del período otoñal (Fig. 3.1d), el promedio del contenido de nitratos inicia en valores aproximados de $20 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ siendo que en el tratamiento con agregado de orina se incrementa 6 veces 24 horas después de su aplicación, alcanzando su máximo valor de $133 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$. Luego decrece hasta los $28 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ y hacia el final del experimento se incrementa hasta los 56 mg kg^{-1} de suelo seco. Por otra parte, el control sin aplicación de excretas y el tratamiento con agregado de heces, se mantuvieron en niveles promedio entre 20 y $30 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$. Sin embargo, en el intervalo entre las dos últimas fechas de muestreo Los tratamientos con orina y heces mostraron un incremento leve en la concentración de nitratos hacia el final de la estación sin superar contenidos promedio de $50 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ y sin diferencias significativas entre ellos.

Por su parte, los valores promedio de EPSA durante el invierno se mantuvieron consistentemente altos, con poca variabilidad entre las fechas de medición (Fig. 3.2a). Las medias de EPSA en esta estación para los tratamientos de control, heces y orina fueron 87%, 85% y 86% respectivamente, sin diferencias significativas entre tratamientos.

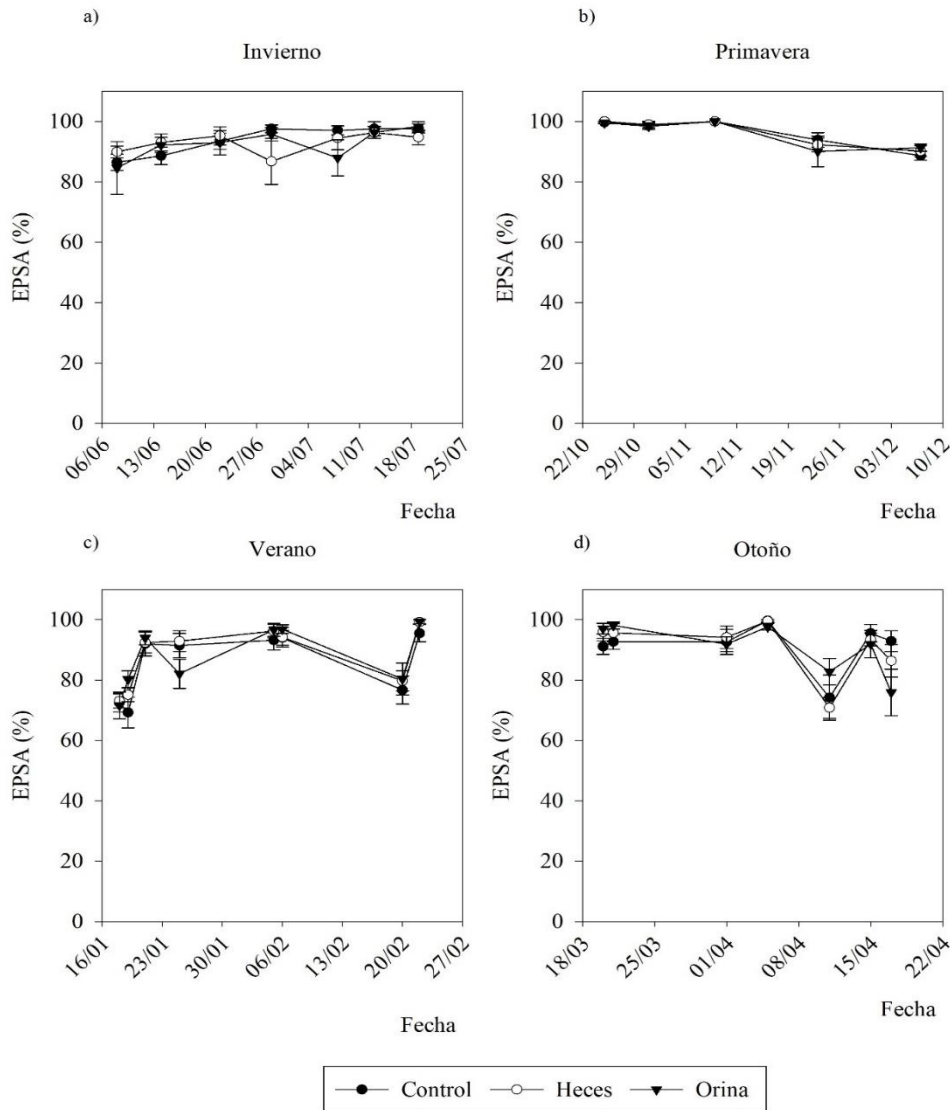


Figura 3.2. Evolución del espacio poroso saturado con agua (EPSA) de 0 a 10 cm de profundidad excretas durante a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

En la primavera (Fig. 3.2b) los valores de EPSA continuaron siendo altos y mostraron una ligera disminución a medida que avanzaba la estación. Los promedios se mantuvieron siempre elevados, alrededor del 80%, para los tres tratamientos, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El período estival (Fig. 3.2c) presentó los valores promedio más bajos de EPSA del año, reflejando una situación

esperada dado el aumento estacional de la demanda atmosférica. Los promedios fueron de 84,3% para el control, 85,5% para heces y 84,5% para orina, pero aun así fueron suficientemente elevados para que se generen al menos micrositios anaeróbicos. Durante el otoño (Fig. 3.2d), los valores de EPSA mostraron un aumento en comparación con el verano, manteniendo promedios elevados similares a los observados en invierno y primavera. Los promedios de EPSA para el control, heces y orina fueron del 91%, 90,8% y 90,7%, respectivamente. En ninguna de las estaciones relevadas, se observaron variaciones estadísticas significativas entre tratamientos en EPSA.

3.4.2 Evolución de la emisión de N₂O en el tiempo y dinámica de las emisiones acumuladas.

A lo largo del año, las emisiones puntuales de N₂O presentaron un amplio rango de variabilidad, alcanzando valores máximos de hasta 1021 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$ en los picos más altos. Los resultados evidencian fluctuaciones estacionales en las emisiones, asociadas a la influencia de los factores que regulan la producción y liberación de N₂O (Fig. 3.3). En particular, el tratamiento con orina mostró la mayor variabilidad y los picos de emisión más elevados en todos los casos, mientras que los valores más bajos se registraron en los controles sin aplicación de excretas y en los tratamientos con agregado de heces.

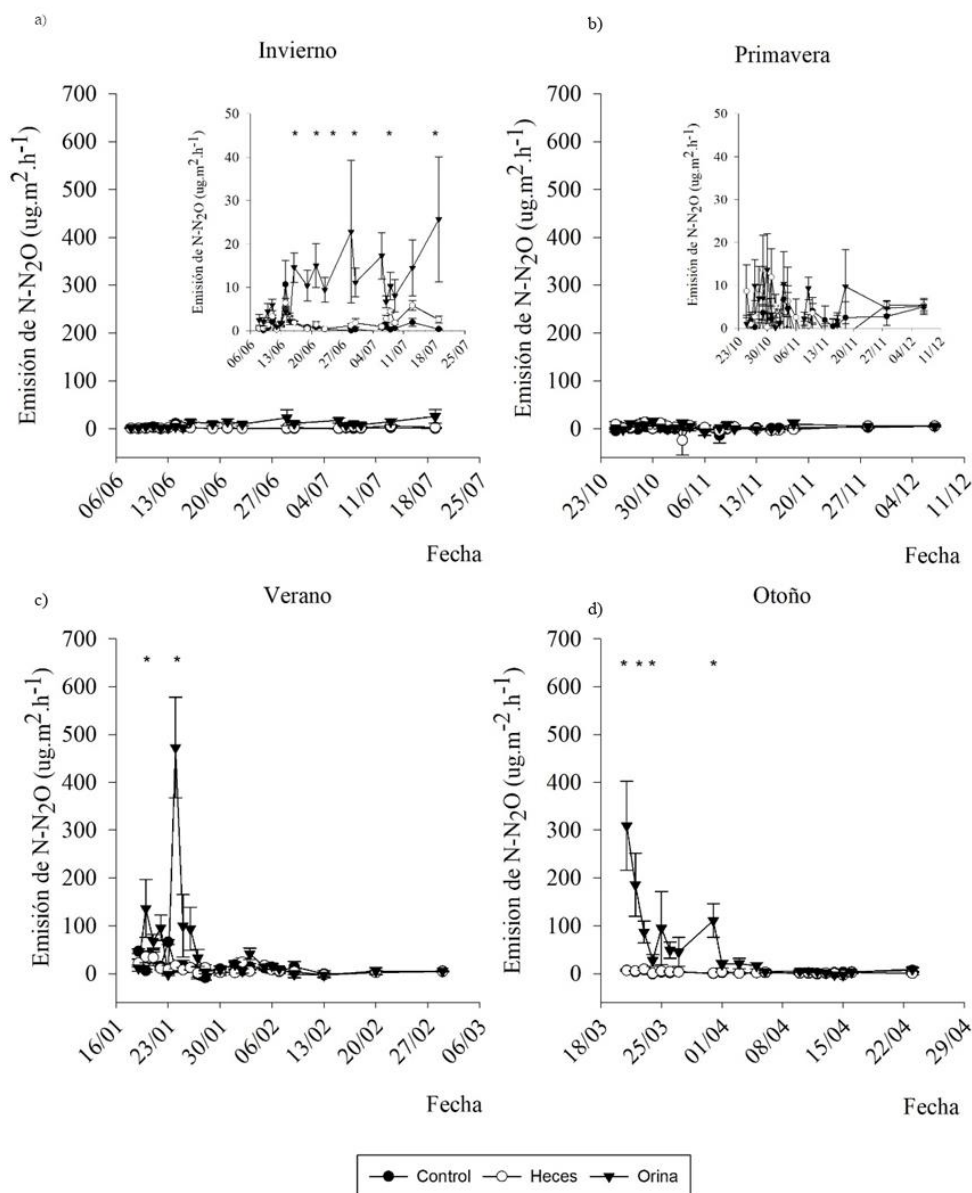


Figura 3.3. Evolución de la emisión de N_2O en función de los días post aplicación de tratamientos de excretas durante a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las miniaturas en los gráficos a) y b) muestran con mayor detalle en la escala de la evolución de las emisiones diarias de N_2O en $N-N_2O \text{ ug}^{-1} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{h}$. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

Las emisiones de N_2O durante el invierno (Fig. 3.3a) para el control fueron en promedio de 1,4 en un rango de -2,2 a $35,3 \mu\text{g N-N}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$. Durante el invierno hubo 4 eventos de precipitación ligeramente mayores a 10 mm, los días 26/6, 1/7, 3/7 y 10/7 y un evento de 22 mm el día 2/7 (Fig. 1.6, Capítulo 1). El tratamiento con orina presentó

variaciones, con algunos picos que sugirieron episodios esporádicos de mayor emisión. Se observaron dos picos de emisión los días 28/6 y 18/7 (correspondientes a los días 21 y 41 días después de la aplicación de orina) donde se emitieron 22 y 25 $\mu\text{g}^{-1} \text{N-N}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, es decir una emisión más de 10 veces mayor que el promedio del control en invierno. En el muestreo de primavera (Fig. 3.3b) hubo dos precipitaciones cercanas a los 40 mm y las emisiones mantuvieron una tendencia general muy baja con un promedio de 0,6 en un rango de 1,9 y 3,8 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$, sin picos de emisión ni diferencias significativas entre tratamientos.

Durante el verano, se observaron promedios de 14, 10 y 54 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$ para los tratamientos control, heces y orina respectivamente (Fig. 3.3c). Los rangos en los que se produjo la emisión de N_2O fueron, para el control desde -32 a 80 54 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$, para las heces de -54 a 72 y para la orina de -23 a 706 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$. Se observó un pico significativo del promedio de emisiones en el tratamiento con orina donde aumentaron las emisiones aproximadamente 100 veces respecto del promedio del período muestreado, alcanzando valores promedio cercanos a los 600 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$. Este pico representa el valor medio más alto registrado en todas las estaciones y tratamientos y ocurrió el día 24/01, 6 días después de la aplicación de orina y pocas horas después de una lluvia de cerca de 40 mm. Después de este evento, las emisiones volvieron a niveles similares a los valores iniciales del control.

Por otro lado, durante el período otoñal, las emisiones promedio de N_2O fueron de 2,56, 2,42 y 49 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{h}^{-1}$, presentándose una respuesta similar a la que ocurrió en el muestreo de verano (Fig. 3.3d). La máxima emisión puntual de N_2O ocurre un día luego de la aplicación en el tratamiento de orina y se extiende, con algunas variaciones, durante las dos semanas posteriores. Los tratamientos control y con aplicación de heces tuvieron

emisiones de baja magnitud y constantes durante el tiempo de este experimento, sin picos de emisión significativos.

Con respecto a las emisiones acumuladas de N_2O , estas fueron mucho mayores y se acumularon más rápidamente en el tratamiento de orina que en los de heces y control, mostrando esa tendencia desde el inicio del experimento. La acumulación de emisiones de N_2O durante el invierno mostró un incremento gradual y sostenido en todos los tratamientos. Si bien en los primeros días post aplicación las temperaturas fueron cercanas, y hasta inferiores, a los $0^{\circ}C$ se observaron emisiones medibles que aportaron de manera significativa con la emisión acumulada final en todos los tratamientos, pero principalmente en los que habían recibido aplicación de orina (Fig.3.4).

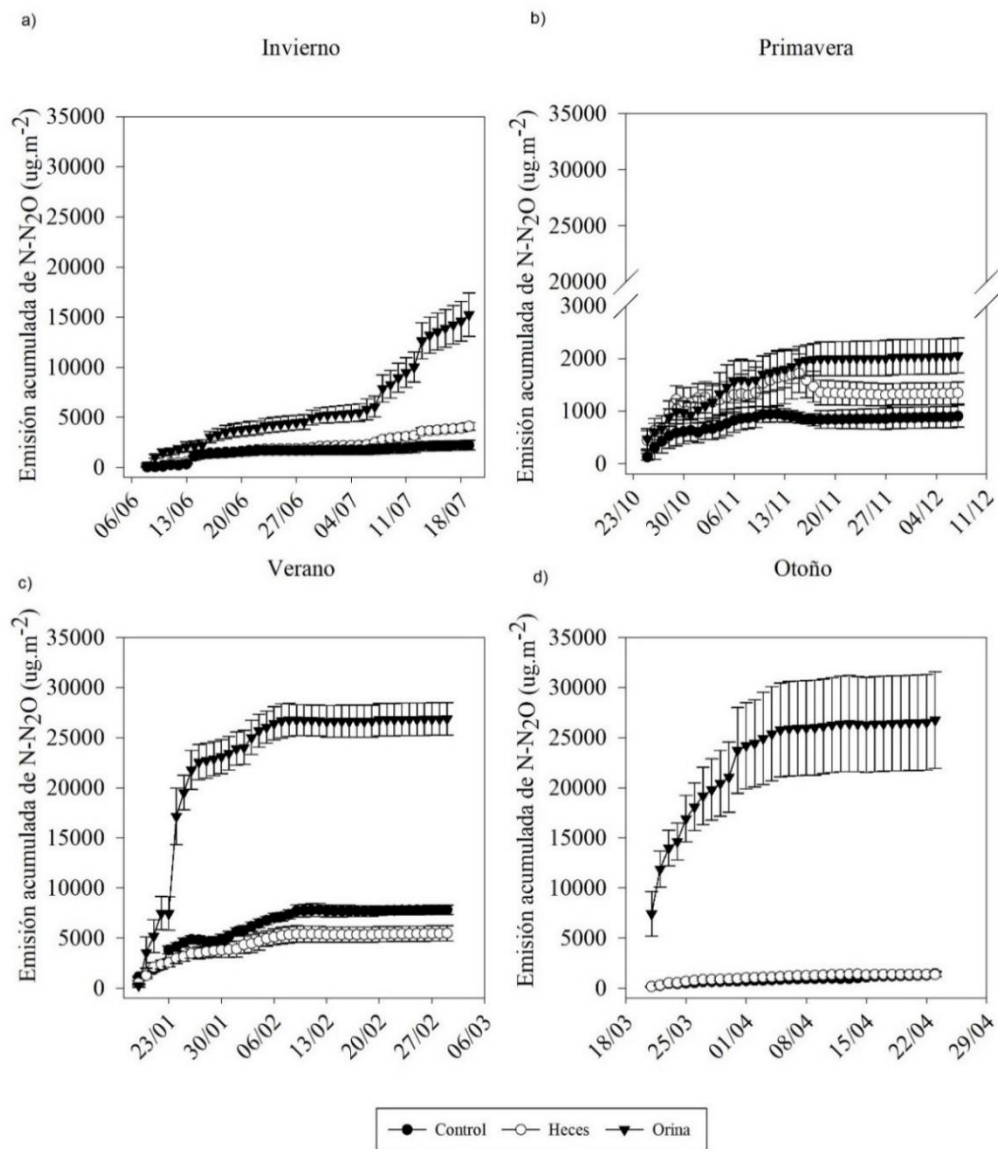


Figura 3.4. Evolución de acumulación de N-N₂O para el período de muestreo de cada estación: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos.

Durante el invierno, el tratamiento con agregado de orina registró las mayores emisiones acumuladas, seguido de las heces y el control. Al final de la estación, el tratamiento con orina acumuló aproximadamente 15000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$, mientras que el control y las heces se mantuvieron alrededor de los 5000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2}$.

Durante la estación primaveral, las emisiones acumuladas de N₂O aumentaron gradualmente en todos los tratamientos. Hacia el final de la primavera, las emisiones acumuladas en el tratamiento con orina superaron ligeramente los 2000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$,

mientras que las emisiones acumuladas tanto para el tratamiento de heces como para el control se mantuvieron sustancialmente más bajas, permaneciendo por debajo de los 1000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$. Esta diferencia muestra una mayor liberación de N_2O en el tratamiento con orina en comparación con los otros tratamientos. Sin embargo, aunque la emisión en orina es aproximadamente el doble que, en los otros tratamientos, la cantidad total sigue siendo relativamente baja en comparación con otras estaciones del año, incluido el invierno. En el verano las emisiones acumuladas de N_2O en el tratamiento con orina mostraron un aumento pronunciado al inicio de la estación, seguido de una estabilización hacia el final. Las emisiones acumuladas para este tratamiento excedieron los 25.000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2}$. Los tratamientos con agregado de heces y el control mostraron un aumento más moderado y lineal a lo largo de la estación, ambos superando levemente los 5000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$.

En otoño, se observó una tendencia de acumulación de emisión de N_2O similar a la del verano en el tratamiento con agregado de orina. Las emisiones acumuladas en ese tratamiento mostraron inicialmente un ligero aumento, seguido de un incremento más marcado hacia el final de la estación, con valores cercanos a los 35.000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$. Los tratamientos de heces y control exhibieron perfiles de acumulación más lineales y menos pronunciados, con las heces acumulando y el control, finalizando el ensayo cerca de 2000 $\mu\text{g N-N}_2\text{O.m}^{-2}$.

Durante las cuatro estaciones en que se realizaron las mediciones, las mayores emisiones acumuladas de N_2O registradas en este experimento ocurrieron durante el verano y el otoño, especialmente en el tratamiento con orina. La comparación entre tratamientos refleja una clara distinción en la capacidad de cada tratamiento para acumular N_2O , siendo consistentemente más alta en aquellos suelos tratados con orina.

3.5 Discusión

El estudio anual de las emisiones de N_2O en un pastizal sobre suelos hidrohalmórficos en la Cuenca del Salado reveló patrones complejos que reflejan la influencia combinada de varios factores reguladores en estos ecosistemas naturalizados. Investigaciones similares, como las de Chirinda et al. (2019), Lombardi et al. (2022), y Cardoso et al. (2019), han destacado la importancia de la temperatura, la humedad del suelo y la disponibilidad de nitrógeno mineral en forma de nitratos en la modulación de las emisiones de N_2O en sistemas ganaderos con pastizales en América Latina. En este experimento se observó un incremento en las emisiones de $N-N_2O$ con la adición de orina, cuya concentración de nitrógeno mostró una variabilidad considerable entre estaciones. Particularmente, cuando ocurrieron picos de emisión significativos de emisión en los tratamientos con orina, se dieron después de eventos de precipitación de alguna importancia, aunque esto no siempre sucedió. Esto sugiere que el efecto de las variables reguladoras de la emisión es combinado y no puede ser evaluado de manera individual sobre cada factor, coincidiendo con lo postulado por O'Neill et al. (2021). En general, el aumento de los flujos N_2O del suelo se encuentra después de la lluvia como resultado de la desnitrificación facilitada por un mayor contenido de humedad (Barton et al., 2008). Los picos de emisión post-lluvia no se dieron de manera inmediata, si no que ocurrieron uno o dos días después, coincidiendo con Cardoso et al. (2022) que propone que luego de una precipitación la población microbiana involucrada en los procesos de nitrificación y desnitrificación crece y estimula las transformaciones de N hacia N_2O . Según Ábalos et al. (2017), estos flujos de alta intensidad ocurren luego de lluvias mayores a 20 mm, coincidiendo con la mayoría de los picos de emisión que se dieron en este experimento.

Los valores del EPSA siempre estuvieron muy por encima del umbral de 58,5% para la emisión de N_2O que ha sido reportado para la región pampeana (Cosentino et al., 2013).

Incluso en muchas ocasiones los valores de EPSA para estos suelos se han aproximado al 100%. Estos resultados pueden ser comunes en suelos con alta microporosidad, como los suelos hidrohalmórfico con alto contenido de arcilla (Amadori et al., 2022; Clough et al., 2020), deficiente estructuración y en muchos casos presencia de capa freática cercana a la superficie. Los microporos de estos suelos con contenidos elevados de arcilla (mayor al 20% en el horizonte superficial, y de 31% y hasta 50% en los horizontes sódicos subsuperficiales) retienen el agua mediante fuerzas capilares, y debido a su reducido tamaño, el agua retenida en estos poros no se drena por gravedad y no puede ser absorbida por las plantas. Esta retención de agua es crítica desde el punto de vista agronómico y ambiental, ya que influye en la disponibilidad de agua para las plantas, así como en la aireación del suelo y sus procesos biológicos, incluyendo los que están implicados en el ciclo del nitrógeno. En relación con esto, Bronson y Fillery (1998) midieron grandes flujos de N_2O y N_2 , pero solo 1-3 días después de que se produjera un evento de encharcamiento. El retraso probablemente se debió a que los poros del suelo se llenaron de agua durante los primeros 2 días, lo que restringió el transporte de N_2O y N_2 hacia la superficie. También se han medido picos de emisión cuando comienza el proceso de secado del suelo, luego de un período largo de anegamiento con valores de EPSA de 90-100%, debido a liberación de N_2O atrapado en la matriz del suelo (Harris, et al., 2016). Sin embargo, la condición de humedad excesiva, generalmente a $> 70\%$ de EPSA podría llegar a retardar las emisiones de N_2O debido a un cambio donde la mezcla entre la nitrificación y la desnitrificación que ocurre en micrositios anaeróbicos deja de ser la combinación principal de procesos productores de N_2O y se muta hacia la desnitrificación completa (Davidson et al., 1993). La ausencia de variaciones marcadas en EPSA entre los tratamientos indica que la adición de excretas no tiene efecto sostenido sobre los valores

de EPSA en las condiciones en que se desarrolló este trabajo, si bien ocurre un humedecimiento inmediato luego de la aplicación.

En contraste con los tratamientos con agregado de orina, las emisiones de N_2O del tratamiento que incluyó agregado de heces mostraron valores consistentemente bajos a lo largo del año. La magnitud y dinámica de las emisiones acumuladas de las heces fueron similares a las observadas en el tratamiento control. Estos hallazgos están en línea con lo reportado por Sordi et al. (2014), quienes encontraron que menores emisiones de N_2O derivadas de las heces en comparación con la orina, se deben a las distintas formas de nitrógeno presentes en cada tipo de excreta. Específicamente, más del 70% del nitrógeno en la orina se encuentra en forma de urea, estando más disponible para hidrolizarse en NH_4^+ , el sustrato principal de la nitrificación. En cambio, en las heces la mayoría del nitrógeno se halla en formas orgánicas- NH_2 , como alimentos no digeridos y productos metabólicos de la digestión, además de células bacterianas. Este nitrógeno no está tan fácilmente disponible para la hidrólisis como el de la urea, resultando en un aumento más lento de NH_4^+ después de la aplicación de estiércol, con picos de NH_4^+ observados 15 días después, en comparación con los tratamientos con orina. No obstante, en este experimento tampoco se registraron incrementos de N_2O en ninguno de los muestreos realizados durante más de 40 días. Cardoso et al. (2016) sugieren que, tras su aplicación, las heces forman una costra que actúa como barrera física, limitando tanto la emisión de gas como la incorporación de nutrientes al suelo. Por ende, aunque el contenido de nitrógeno en las heces no sea necesariamente inferior al de la orina, su disponibilidad es más lenta, lo que restringe las emisiones de N_2O . Este fenómeno evidencia el doble efecto del entorno sobre las emisiones de N_2O derivadas de la materia fecal: inicialmente, por la baja disponibilidad del nitrógeno presente, y posteriormente, por la formación de una costra sobre el parche de heces.

En este experimento, durante el muestreo de invierno, el EPSA cercano al 100% contribuyó a la emisión de N_2O , probablemente prevaleciendo la vía de la desnitrificación sobre la de la nitrificación (Du et al., 2024). Sin embargo, se observaron picos significativos en la concentración de nitratos en el tratamiento con orina, lo que puede ser el resultado de la mineralización lenta pero constante del nitrógeno orgánico proveniente de la orina en condiciones frías (Dessureault-Rompré et al., 2010). Además, la baja permeabilidad del suelo restringiría la lixiviación de nitratos, permitiendo su acumulación temporal. A pesar de ello, las emisiones de N_2O , fueron relativamente bajas en invierno respecto del resto de las estaciones posiblemente debido a la limitada actividad microbiana, regulada en gran parte por la temperatura. Sin embargo, fueron detectables y particularmente las de la orina presentaron picos de emisión significativos.

En un trabajo derivado de este capítulo de la tesis se estudió que sistemas ganaderos basados en pastizales de la Cuenca del Salado, las emisiones de N_2O durante el invierno pueden resultar significativas, aunque las temperaturas sean bajas, debido a la presencia de suelo saturado y la presencia de las excretas bovinas. Se observó que la orina incrementaba las emisiones de N_2O casi diez veces más que los suelos sin excretas o los tratados con heces, ya que contiene formas de N fácilmente mineralizables que favorecen los procesos de nitrificación y desnitrificación. Estas emisiones se ven potenciadas tras las lluvias, cuando el exceso de humedad promueve condiciones más reductoras en el suelo, favoreciendo la producción de N_2O . Además, se ha observado que la temperatura— aunque baja—sigue siendo un factor determinante, puesto que variaciones de unos pocos grados pueden desencadenar picos de emisión, en combinación con altos contenidos de nitratos. Por otro lado, la aplicación de heces genera menor liberación de N_2O , probablemente por la formación de costras secas y la forma más orgánica del nitrógeno contenido en ellas. En conjunto, durante el período invernal, las excretas representan un

aporte adicional de N₂O de hasta un 5% más sobre la línea base del suelo sin animales, valor que adquiere relevancia al extenderlo a toda la superficie ganadera de la región. Pese a que la contribución es menor comparada con épocas más cálidas, se destaca la importancia de monitorear y cuantificar estas emisiones durante todo el ciclo anual. Por ende, las estrategias de mitigación deben considerar la influencia del clima, las características del suelo y la forma de excreta para reducir significativamente el impacto ambiental de la ganadería extensiva. Esta diferencia en la emisión de N₂O se vuelve aún más relevante una vez extrapolada al área total bajo pastoreo en la Pampa argentina, donde el período de bajas temperaturas representa al menos el 25 % del año (Perez et al., 2020)

Por otro lado, durante la época primaveral las emisiones de N₂O fueron muy bajas y sin diferencias entre los tratamientos con el control. La estabilidad en la concentración de nitrato podría indicar que la absorción de nitrógeno por las plantas en crecimiento está equilibrando la liberación de N₂O por los procesos microbianos. Este fenómeno también puede reflejar la competencia por nitrógeno en el suelo debido a la mayor actividad biológica y a una alta absorción de nitrógeno por parte del pastizal que está en un momento de máxima tasa de crecimiento (Jaramillo y Detling, 1992)

En el verano, las emisiones puntuales de N₂O mostraron un pico notable el día 6 después de la aplicación de orina, coincidiendo con una precipitación y un incremento en las concentraciones de nitratos. Este pico puede estar asociado con episodios de rehumedecimiento del suelo después de periodos de alta demanda atmosférica lo que, junto con las altas temperaturas, podría haber estimulado los procesos de nitrificación y desnitrificación. Sin embargo, luego del pico de emisión, éstas descienden hasta ser iguales a las de los tratamientos con agregado de heces y el control y, por lo tanto, la acumulación de N₂O se detiene, aun cuando los valores de nitratos en suelo se mantienen

elevados. Esto podría explicarse con una mayor mineralización del nitrógeno de la materia orgánica en esta época, pero que puede ser absorbido por la comunidad vegetal que se encuentra aún con altas tasas de crecimiento.

Las variaciones en las emisiones de N_2O y en las concentraciones de nitratos en el suelo pueden atribuirse a la interacción entre la disponibilidad de nitrógeno en forma mineral y las variaciones en las condiciones ambientales del suelo, que son influenciadas por episodios irregulares de precipitación y altos niveles de evaporación durante el período estival. Esta interpretación se alinea con los hallazgos presentados en los estudios de Luo et al. (2008) y Smith et al. (2003).

En el otoño la tendencia fue similar a la del verano, con mayores emisiones acumuladas de N_2O en los tratamientos con orina principalmente, seguido de las heces, sugiriendo que en estas estaciones las condiciones templadas y húmedas favorecieron en alguna medida la mineralización del nitrógeno orgánico y la actividad microbiana.

En todas las estaciones se observa como los picos de emisión ocurren luego de eventos de lluvia, lo que conlleva a un incremento del EPSA en el perfil. Los picos de emisión después de las lluvias, con un desfase de uno o dos días, apoyan la hipótesis previamente mencionada de que el agua de lluvia moviliza el gas a través del suelo, estimulando la emisión por pulsos (Leitner et al., 2017).

Al evaluar la evolución de las emisiones diarias en conjunto con la dinámica de las emisiones acumuladas, puede observarse que los eventos puntuales de alta emisión contribuyeron significativamente al N_2O total emitido durante un ciclo estacional. Esto es evidente en los picos de verano y otoño asociados con el tratamiento de orina, donde eventos individuales parecen ser responsables de una proporción considerable de las emisiones acumuladas, en coincidencia con lo observado por Hall et al. (2018) y Wagner-

Riddle et al. (2020). La acumulación de N_2O en este pastizal muestra una clara respuesta estacional y una influencia significativa de las adiciones de nitrógeno en forma de heces y orina, probablemente debido a los altos contenidos de compuestos nitrogenados fácilmente mineralizables presentes en la orina (Chadwick et al., 2018). Además, después de la primera semana de agregadas, las heces se secaron en su superficie, formando una costra, lo que también contribuye a la disminución de las pérdidas de N_2O a partir de ese material (Cardoso et al., 2016). Las emisiones acumuladas de N_2O en los tratamientos de orina fueron aproximadamente el 80 % del N total emitido como N_2O durante las primeras 3 semanas, en las estaciones de primavera, verano y otoño, concordando con los datos presentados por Bell et al. (2015), que informaron que los picos de N_2O del suelo en parches de orina siempre ocurrieron durante las primeras 3 semanas posteriores a la deposición de excretas, aunque la magnitud de los flujos variaba según la estación del año. Al igual que en este trabajo, Bell et al. (2015) informaron que los picos de N_2O del suelo en parches de orina siempre ocurrieron durante las primeras 3 semanas posteriores a la deposición de excretas, aunque la magnitud de los flujos variaba según la estación del año.

3.6 Conclusiones

En este capítulo se pudo observar la influencia de la humedad del suelo (a través del EPSA y las precipitaciones), de los nitratos del suelo y de las temperaturas de manera combinada sobre los patrones de emisión de N_2O . La influencia diferencial de las variables ambientales en la evolución diaria de las emisiones de N_2O refuerza la idea de que esta relación debe ser evaluada como un conjunto y no como variables reguladoras aisladas.

En cuanto a las hipótesis planteadas, los resultados muestran diferentes conclusiones. La **Hipótesis 3.1**, que proponía que las emisiones de N₂O en suelos hidrohalmórficos con pastizales naturalizados son mayores cuando las temperaturas son cálidas, pero no despreciables en invierno, cuando las temperaturas son bajas pero el suelo está en gran parte de la época saturado, no se rechaza. Aunque las emisiones fueron menores en invierno, estas fueron medibles y contribuyeron de manera significativa a la emisión acumulada de N₂O en esa estación, lo que indicaría que las bajas temperaturas no impidieron totalmente los procesos de nitrificación y desnitrificación.

Por otro lado, la **Hipótesis 3.2** no fue rechazada, ya que las emisiones acumuladas de N₂O fueron mayores en los tratamientos con orina, confirmando que este tipo de excreta contribuye de manera más significativa a las emisiones de N₂O en comparación con las heces en los suelos estudiados.

Capítulo 4.

Emisiones de N₂O provenientes de excretas
animales en suelos hidro-halomórficos con
promoción de *Lotus tenuis*.

4.1 Introducción

Lotus tenuis es una leguminosa naturalizada originaria de Europa que se ha adaptado satisfactoriamente a las condiciones ambientales de la Cuenca del Salado. Se caracteriza por su elevado contenido proteico, que enriquece la calidad nutricional de la dieta del ganado, lo cual es especialmente relevante en una región donde los pastizales no se destacan por su alto potencial nutritivo. Además, su ciclo de crecimiento, que abarca la primavera, el verano y el otoño, resulta ventajoso para proporcionar forraje durante el "bache forrajero de verano", un período crítico debido a la disminución de la productividad en los pastizales naturales, donde la mayoría de las especies presentan un ciclo de crecimiento centrado en el otoño, el invierno y la primavera (Vignolio et al., 2010). *Lotus tenuis* tiene una alta capacidad de fijación biológica de nitrógeno (FBN), un proceso crucial para la incorporación de N atmosférico al suelo, lo que puede influir en la dinámica de N en los pastizales (Vitousek et al., 2013). La FBN en esta especie, es particularmente importante durante las fases de crecimiento activo de la planta, como la floración y el rebrote (Fig.4.1), donde la actividad de la nitrogenasa (enzima clave en el proceso) es más intensa (Refi et al., 1998). Durante estas etapas, la FBN no solo contribuye al enriquecimiento del suelo, sino que también podría interactuar con otros procesos del ciclo del nitrógeno, incluyendo aquellos que generan emisiones de N₂O.

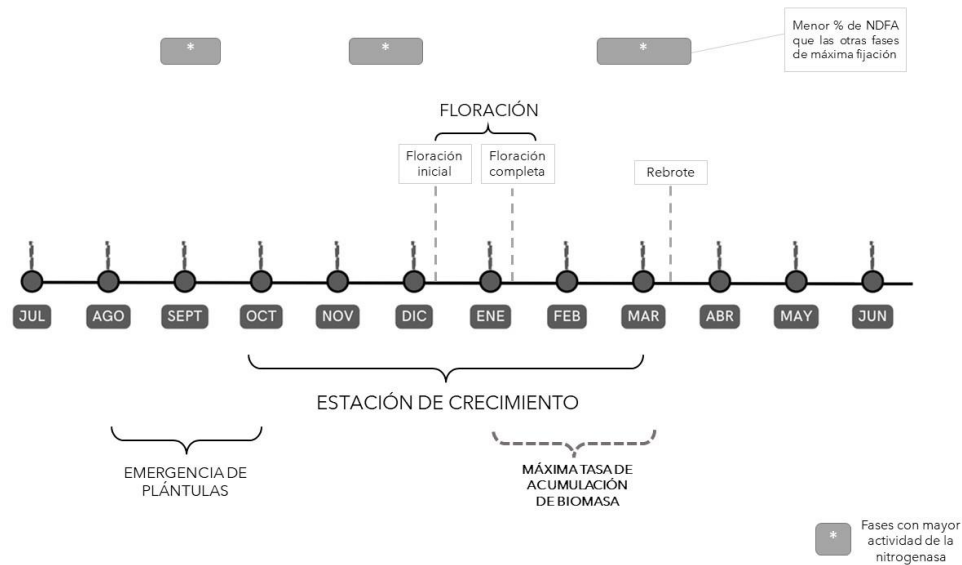


Figura 4.1. Esquema del crecimiento y desarrollo de *Lotus tenuis* en la Cuenca del Salado a lo largo del año (julio a mayo). Se representan las etapas fenológicas, la tasa de acumulación de biomasa y la fijación biológica de nitrógeno. Los meses del año aparecen abreviados, y las abreviaturas incluyen Ndfa (Nitrogen derived from the atmosphere, nitrógeno derivado de la atmósfera) y la actividad de la nitrogenasa. Elaborado a partir de Refi et al. (1998), Vignolio et al. (2011), Bailleres et al. (2020), Nieva et al. (2021) e información propia de campo.

La presencia de *Lotus tenuis* en los pastizales podría tener un doble efecto: por un lado, incrementar la disponibilidad de nitrógeno mineral en el suelo, potenciando las emisiones de N_2O , y por otro, contribuir al secuestro de C y a la inmovilización de nitrógeno, lo que podría mitigar estas emisiones (Li et al., 2011). En este sentido, se hace necesario comprender cómo la inclusión de *Lotus tenuis* en los pastizales puede afectar las emisiones de N_2O , dado que estas representan un componente importante en el balance de gases de efecto invernadero de los sistemas ganaderos. En 2020, Barneze et al. realizaron un estudio en mesocosmos con pasturas consociadas de gramíneas y leguminosas, en el que evaluaron las emisiones de N_2O bajo diferentes niveles de fertilización nitrogenada. Los resultados mostraron que las emisiones de N_2O aumentaron como resultado de la fertilización nitrogenada, independientemente de la proporción de leguminosas presente en la pastura.

4.2 Objetivos e hipótesis

Los objetivos este trabajo fueron:

1. Estudiar las emisiones de N₂O en suelos hidrohalomórficos con promoción de *Lotus tenuis* en suelos hidrohalomórficos
2. Calcular las emisiones acumuladas de N₂O y evaluar la dinámica de acumulación de N₂O para las excretas en todas las estaciones del año en suelos hidrohalomórficos con promoción de *Lotus tenuis*.

La hipótesis de este capítulo será:

Hipótesis 4.1: Las emisiones de N₂O en suelos hidrohalomórficos con promoción de *Lotus tenuis* son mayores durante los períodos de crecimiento activo de la planta (primavera y verano) en comparación con las estaciones de menor actividad (otoño e invierno), debido a la mayor disponibilidad de N en suelo.

4.3 Materiales y métodos

Las características del sitio de estudio, el diseño experimental, la forma de muestreo y determinación de los flujos de gases, y variables complementarias, así como el detalle en los cálculos de flujos de emisiones puntuales y acumuladas de N₂O y los análisis utilizados fueron los detallados en el Capítulo 1.

4.3.1 Caracterización del suelo

Mediante análisis a campo se ha realizado una descripción morfológica del suelo del sitio seleccionado y se han determinados sus características principales hasta los 40 cm de profundidad donde comenzaba un horizonte muy duro en seco con signos de acumulación de arcillas iluviales y características morfológicas de nátrico, coincidentes

con los resultados encontrados en el análisis de los horizontes superficiales. En el cuadro 4.1 se detallan las características analíticas.

Cuadro 4.1. Descripción del suelo hasta los 40 cm de profundidad de la Chacra Experimental Integrada Chascomús.

<i>Horizonte</i>	<i>A</i>	<i>Bn</i>
Profundidad	0-20	20-40
Materia orgánica(%)	5,4	3,1
pH (1:2,5)	7,2	9,4
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0,643	1,5
C orgánico (g.kg suelo ⁻¹)	0,27	0,15
N total (g.kg suelo ⁻¹)	0,029	0,012
Relación C:N	9,31	9,37
Arcilla (%)	20,1	30,8
Limo (%)	52	38,3
Arena (%)	27,9	30,9
Calcáreo	no	vest.
Cationes de cambio (cmolc.kg ⁻¹):		
Ca ⁺⁺	7,5	-
Mg ⁺⁺	2,6	-
Na ⁺	2,1	10,5
K ⁺	1,5	2,5
H ⁺	6,5	-
Capacidad de intercambio catiónico (cmolc.kg ⁻¹)	15,9	20,4
PSI(%)	13	51

4.3.2 Características de las excretas bovinas aplicadas

Al inicio de cada estación se recolectaron heces frescas y orina de bovinos para carne de raza *Angus* que pastorearon el PL desde los 20 días previos hasta el día de la colecta, con el fin de estabilizar su dieta. En el cuadro 4.2 se pueden observar las características de las excretas aplicadas al inicio de cada ensayo.

Cuadro 4.2. Características de la orina y las heces agregadas al suelo al inicio de cada ensayo según la estación: nitrógeno total, porcentaje de materia seca, C total, nitrógeno total y relación Carbono/Nitrógeno (C:N), (n=5)

Excreta	Estación	N (g.L ⁻¹)	%MS	C (g.kg ⁻¹ MS)	N (g.kg ⁻¹ MS)	C:N
Orina	Invierno	6,3±1,9	-	-	-	-
	Primavera	4,1±0,8	-	-	-	-
	Verano	8,5±2,1	-	-	-	-
	Otoño	7,1±1,7	-	-	-	-
Heces	Invierno	-	16,5	484,8± 29,1	23,2±4,2	20,9
	Primavera	-	14,1	463,3±22,9	23,4±3,6	19,8
	Verano	-	15,2	409,5±21,5	22,5±6,4	18,2
	Otoño	-	14,1	378,24±19,4	19,7±2,2	19,2

4.3.3 Análisis estadístico

Para la comparación de los niveles de nitratos, EPSA y las emisiones puntuales de N₂O entre los distintos tipos de excretas en el factor PL, se realizó un análisis estadístico utilizando la prueba no paramétrica de Friedman para cada fecha de muestreo. Este enfoque es adecuado dado que los datos no cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La prueba de Friedman es apropiada para evaluar las diferencias entre los tratamientos de excretas dentro de las subparcelas del nivel PL, dado que no requiere la suposición de normalidad. Cuando se encontraron diferencias

significativas con esta prueba, se realizaron comparaciones múltiples post hoc utilizando la prueba de Dunn con corrección de Holm. Esta elección es adecuada porque la corrección de Holm proporciona un balance adecuado entre control de error tipo I y potencia estadística en un contexto no paramétrico. Los análisis fueron realizados con el software R a través del entorno de desarrollo RStudio, utilizando el paquete “PMCMRplus”.

4.4 Resultados

4.4.1 Nitratos en suelo y Espacio Poroso Saturado con Agua .

Durante el periodo experimental de un año, que incluyó muestreos en todas las estaciones, se observó una variabilidad significativa en el contenido de nitrógeno en forma de nitratos (N-NO_3^-) hasta una profundidad de 10 cm en suelos con pastizales con PL. En el suelo control, sin adición de excretas, los niveles de N-NO_3^- fluctuaron entre 2 y 154 mg.kg^{-1} , con un promedio de 26 mg.kg^{-1} . En los suelos tratados con heces, la concentración varió de 3 a 120 $\text{mg N-NO}_3^-.\text{kg}^{-1}$ y promedió los 40 mg.kg^{-1} , mientras que, en los suelos con agregado de orina, los niveles oscilaron entre 4 y 320 $\text{mg N-NO}_3^-.\text{kg}^{-1}$, con niveles promedio de 65 mg.kg^{-1} .

Al inicio del periodo de muestreo en invierno, el contenido medio de N-NO_3^- fue de 29 mg.kg^{-1} , sin diferencias estadísticamente significativas entre el control y los tratamientos con heces y orina. Una semana más tarde, la concentración de N-NO_3^- se duplicó en todos los tratamientos, manteniéndose uniforme entre ellos (Fig. 4.2a). Dos semanas después de la aplicación de excretas, se registró un incremento considerable en la concentración de nitratos en los suelos tratados con orina, triplicando el valor inicial. Posteriormente, las concentraciones de N-NO_3^- disminuyeron gradualmente y, un mes

después de la aplicación, retornaron a los niveles iniciales sin diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Al comienzo del muestreo en la temporada primaveral, los niveles de N-NO_3^- presentaron un promedio de 38 mg.kg^{-1} en todos los tratamientos, sin diferencias significativas (Fig. 4.2b). Una semana después de la aplicación de excretas, los tratamientos con heces y el control mostraron un incremento del 36%, mientras que, en el tratamiento con orina, el aumento fue del 85%. Una semana más tarde, los niveles en los tratamientos con orina y el control disminuyeron a 29 mg.kg^{-1} , sin diferencias entre ellos, aunque el tratamiento con heces mostró un contenido estadísticamente diferente, de $36 \text{ mg N-NO}_3^-.\text{kg}^{-1}$. Al final del muestreo primaveral, todos los tratamientos y el control retornaron a los valores iniciales de N-NO_3^- del período.

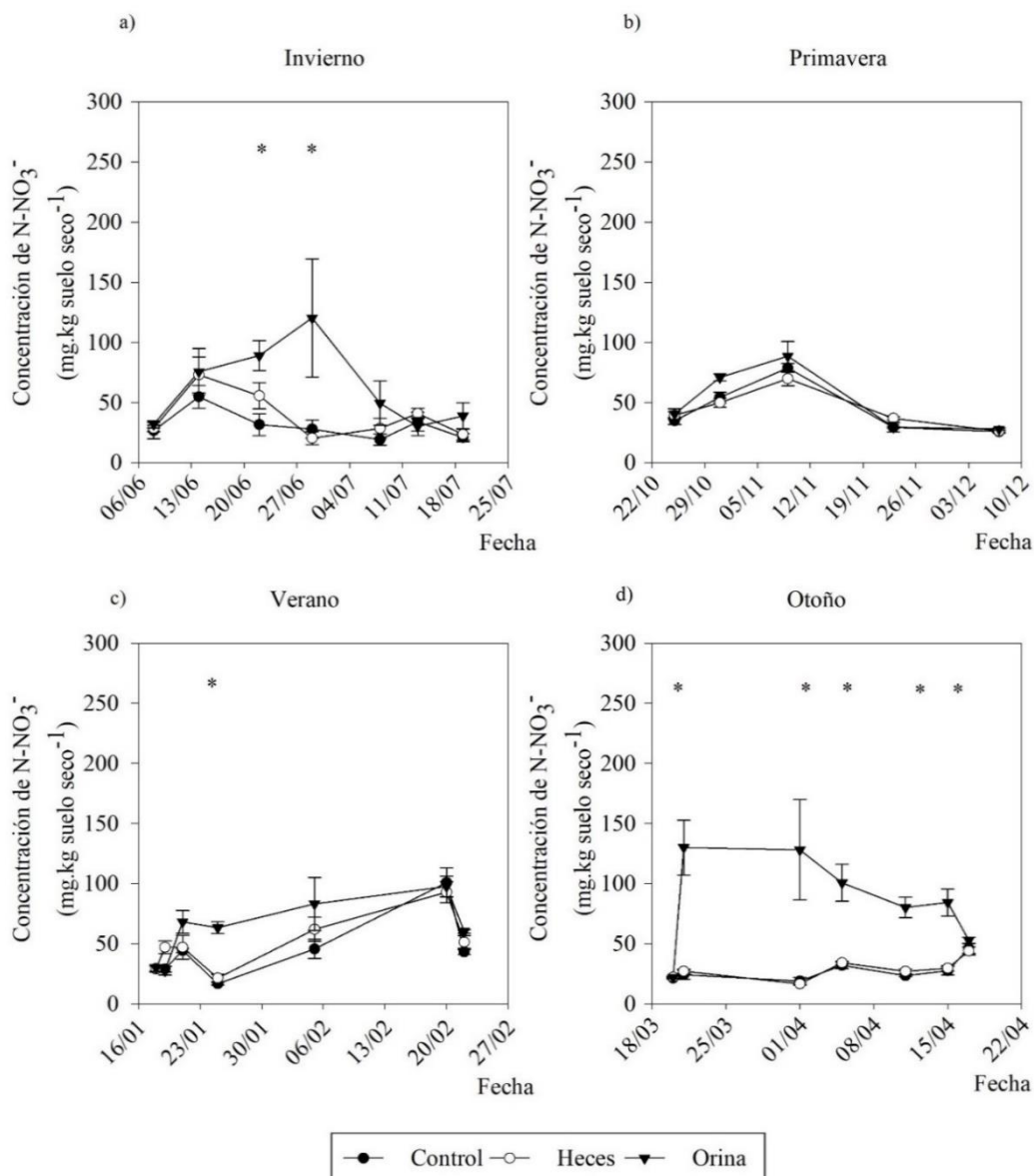


Figura 4.2. Evolución de la concentración de nitrógeno de los nitratos en suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

En el período estival, la concentración inicial de N-NO_3^- fue en promedio de 29 mg.kg^{-1} para todos los tratamientos y el control, sin diferencias significativas entre ellos, al igual que en los períodos de muestreo de invierno y primavera (Fig. 4.2c). Tres días después de la aplicación de las excretas, se observó un aumento en la concentración de N-NO_3^- , alcanzando valores de 44 mg.kg^{-1} para el control, 48 mg.kg^{-1} para el tratamiento

con heces, y 68 mg.kg^{-1} para el tratamiento con orina. Solo se encontraron diferencias significativas entre el control y el tratamiento con aplicación de orina. El incremento en la concentración de N-NO_3^- se mantuvo durante el resto del período estival, alcanzando sus valores máximos el 20 de febrero, un mes después de la aplicación de las excretas, con un promedio de 97 mg.kg^{-1} . En este punto, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control, siendo este valor más de tres veces superior al medido al inicio del muestreo estival. Posteriormente, los valores de N-NO_3^- en el suelo volvieron a los niveles iniciales del muestreo, sin diferencias significativas entre las medias de los tratamientos.

Por otro lado, la dinámica de los nitratos durante el otoño mostró un patrón distinto al del resto de las estaciones. Al inicio del período de muestreo, el contenido de N-NO_3^- fue en promedio de 22 mg.kg^{-1} , sin diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos. Sin embargo, un día después de la aplicación de las excretas, el tratamiento con orina registró un incremento significativo en el valor de N-NO_3^- en el suelo, alcanzando un promedio de 130 mg.kg^{-1} , casi seis veces el valor inicial (Fig. 4.2d). Esta diferencia se mantuvo a lo largo del período de muestreo, aunque la concentración de N-NO_3^- disminuyó progresivamente hacia la fecha final de muestreo, promediando 52 mg.kg^{-1} . En contraste, los valores de N-NO_3^- en el control y en el tratamiento con heces se mantuvieron en el rango de $30\text{-}44 \text{ mg.kg}^{-1}$, sin diferencias significativas en ninguna fecha de muestreo.

Por otro lado, el EPSA presentó un promedio anual del 82%, con valores que variaron entre el 27% y el 100%. Durante el muestreo realizado en invierno, el EPSA promedió un 93%, oscilando entre el 63% y el 100%, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Fig. 4.3a). En los muestreos de primavera, el EPSA para el tratamiento control fue del 94%, con un rango de 76% a 100% (Fig. 4.3b). Los

tratamientos con agregado de heces y orina mostraron promedios de EPSA del 92% (59-100%) y 91% (64-100%), respectivamente. Durante las primeras tres semanas posteriores a la aplicación de heces, el EPSA se mantuvo cerca del 100%, sin diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, en la cuarta semana, se observaron diferencias estadísticamente significativas. Al final del período de muestreo, el EPSA promedió un 88%, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Durante el período de muestreo estival (Fig. 4.3c), el EPSA promedió un 83% tanto para el control como para el tratamiento con heces, sin diferencias significativas entre ellos. El tratamiento con orina registró un EPSA promedio del 81%, con un rango de 43% a 100%. Durante el otoño, se registraron los valores más bajos de EPSA de todos los períodos muestreados (Fig. 4.3d). La primera lluvia ocurrió varios días después de la aplicación de excretas. Antes de la precipitación, el EPSA estuvo alrededor del 40%. Tras la recarga del perfil por la lluvia, los valores de EPSA oscilaron entre 70% y 80%, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

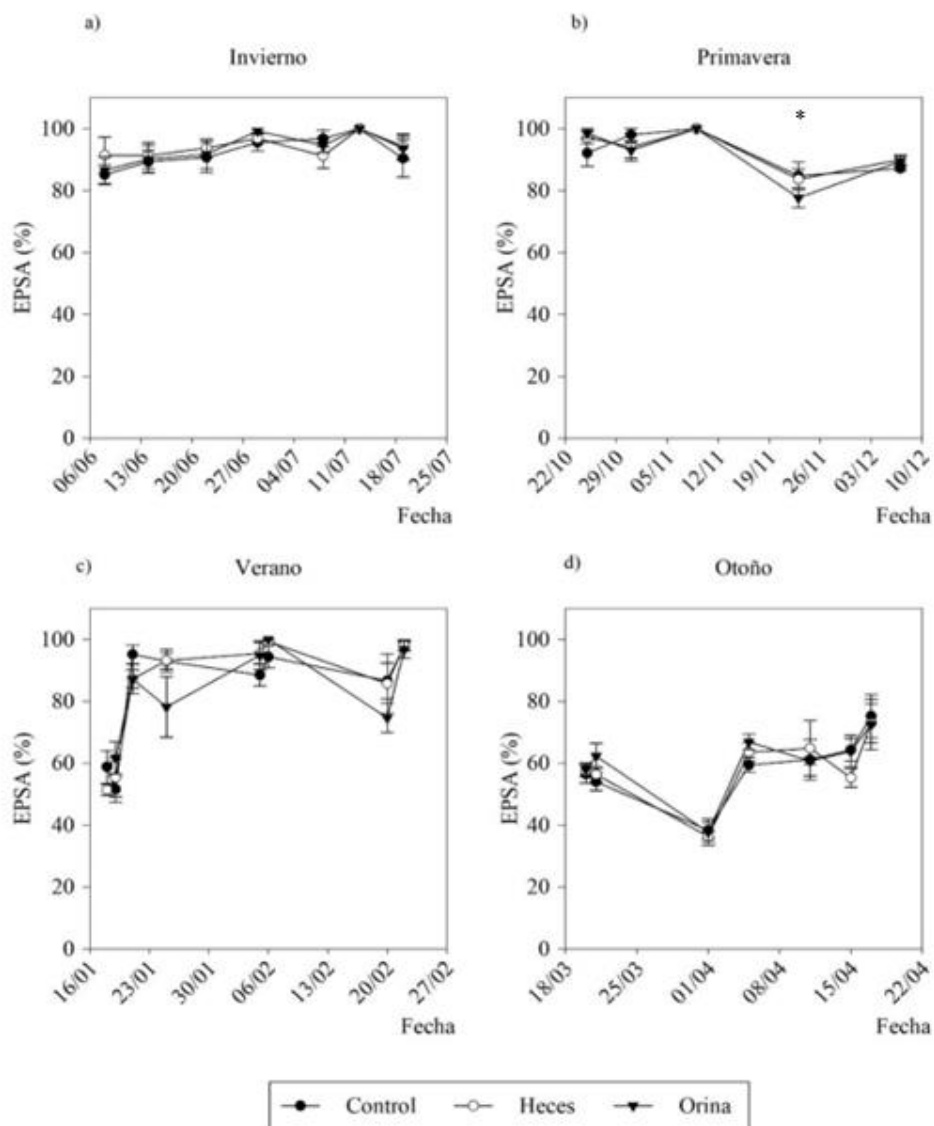


Figura 4.3. Evolución del EPSA del suelo (0-10 cm) a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes, según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

Durante el período de muestreo estival, el EPSA promedió un 83% tanto para el control como para el tratamiento con heces, sin diferencias significativas entre ellos. El tratamiento con orina registró un EPSA promedio del 81%, con un rango de 43% a 100%. Durante el otoño, se registraron los valores más bajos de EPSA de todos los períodos muestreados. La primera lluvia ocurrió varios días después de la aplicación de excretas. Antes de la precipitación, el EPSA estuvo alrededor del 40%. Tras la recarga del perfil

por la lluvia, los valores de EPSA oscilaron entre 70% y 80%, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

4.4.2 Evolución de la emisión de N_2O en el tiempo y dinámica de emisiones acumuladas

Las emisiones de N_2O en PL para el año muestreado fueron, en promedio, de $4 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$, con un rango de -17 a $45 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$ para el control. Con respecto al tratamiento con orina, este mostró la mayor variabilidad y los picos de emisión más altos en todos los casos. Las emisiones más bajas se observaron en el control sin aplicación de excretas y en los tratamientos con agregado de heces, que solo mostraron diferencias significativas entre sí, con una mayor emisión por parte de las heces en pocas fechas de muestreo durante la primavera.

En invierno, las emisiones promedio de N_2O fueron de $0,7 \mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$ (con un rango de $4,0$ a $9,7$) para el control, $1,6 \mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$ (con un rango de $3,1$ a 10) para las heces y $7,8 \mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$ (con un rango de $0,01$ a 72) para el tratamiento con orina (Fig. 4.4a). Aunque las emisiones fueron de baja magnitud respecto a las épocas de mayor temperatura, mostraron diferencias medibles y significativas, siendo mayores en el tratamiento con adición de orina en comparación con las de las heces y el control, que no presentaron diferencias significativas entre sí. Las emisiones fueron mayores en el tratamiento con orina, seguidas por las heces y finalmente el control. En un análisis detallado, se observan incrementos en la emisión promedio de N_2O , aunque nunca superiores a los $40 \mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$.

Durante la primavera, el tratamiento con orina registró las emisiones más altas del año, con repetidos picos sostenidos. La mayor emisión del tratamiento con orina fue 13 veces mayor que la emisión más alta del control, 2 veces mayor que el pico máximo del tratamiento con heces, y 14 veces mayor que el pico más alto del invierno, también en el tratamiento con orina (Fig.4.4b). Esta alta emisión comenzó a incrementarse

progresivamente desde el segundo día después de la aplicación de excretas, alcanzó su pico máximo el sexto día y fue decreciendo hasta el día 13/11, 20 días después de la aplicación. En el período de muestreo estival, el promedio de emisiones fue de 10, 11 y 43 $\mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{ h}^{-1}$ para el control, heces y orina, respectivamente (Fig. 4.4c). Se observaron solo en el tratamiento con orina dos picos de emisión de N-N₂O de alrededor de 200 $\mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$, aproximadamente 20 veces más que las emisiones del control y las heces, que no mostraron diferencias significativas entre sí. Dos semanas después del experimento, las emisiones se estabilizaron en los niveles iniciales. En el muestreo de otoño, se presentaron los menores valores de emisión, que nunca superaron los 30 $\mu\text{g m}^2 \text{ h}^{-1}$ a lo largo de todo el muestreo, sin diferencias significativas entre tratamientos (Fig.4.4d).

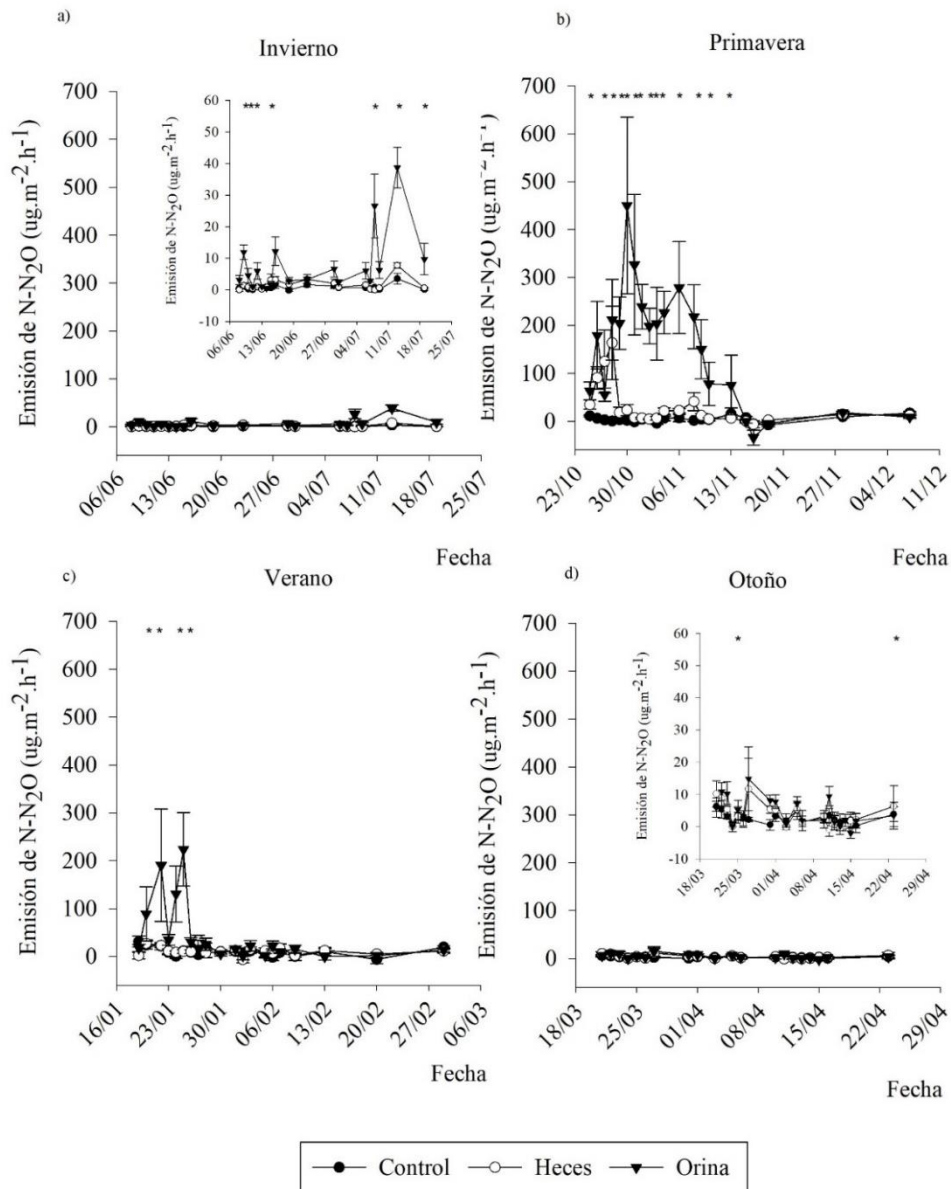


Figura 4.4. Evolución de la emisión de N₂O en función de los días post aplicación de tratamientos de excretas durante a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las miniaturas en los gráficos a) y b) muestran con mayor detalle la escala de la evolución de las emisiones diarias de N₂O en N-N₂O μg⁻¹.m².h. Las barras de error representan el error estándar de la media de tratamientos. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las fechas de muestreo correspondientes según el test no paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

La dinámica de acumulación de las emisiones también mostró diferencias entre estaciones (Fig. 4.4). Como se ha detallado, las emisiones de N₂O provenientes del tratamiento con agregado de orina fueron mayores, y la dinámica de emisiones

acumuladas fue distinta en los diferentes períodos de muestreo en cada estación. Durante el invierno, se acumuló en promedio $29 \text{ mg N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}$, con una acumulación que alcanzó el 80% del total emitido el día 15/07, 37 días después de la aplicación de orina. Las heces mostraron una acumulación promedio de $6,7 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$, mayor que la del suelo sin excretas, que promedió 3 mg m^{-2} y se acumuló de forma uniforme durante todo el muestreo. En el período de primavera, la emisión de N_2O presentó sus picos máximos para todo el experimento. La emisión acumulada promedio de la orina fue 45 veces mayor que la del control, mientras que la de las heces fue 8 veces mayor que la del control, que promedió $2 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$. La acumulación en los tratamientos con excretas fue rápida (Fig. 4.5) y, 15 días después de la aplicación, ya se había acumulado el 95% del gas emitido durante todo el muestreo primaveral, tanto en los suelos con agregado de orina como en los que recibieron heces.

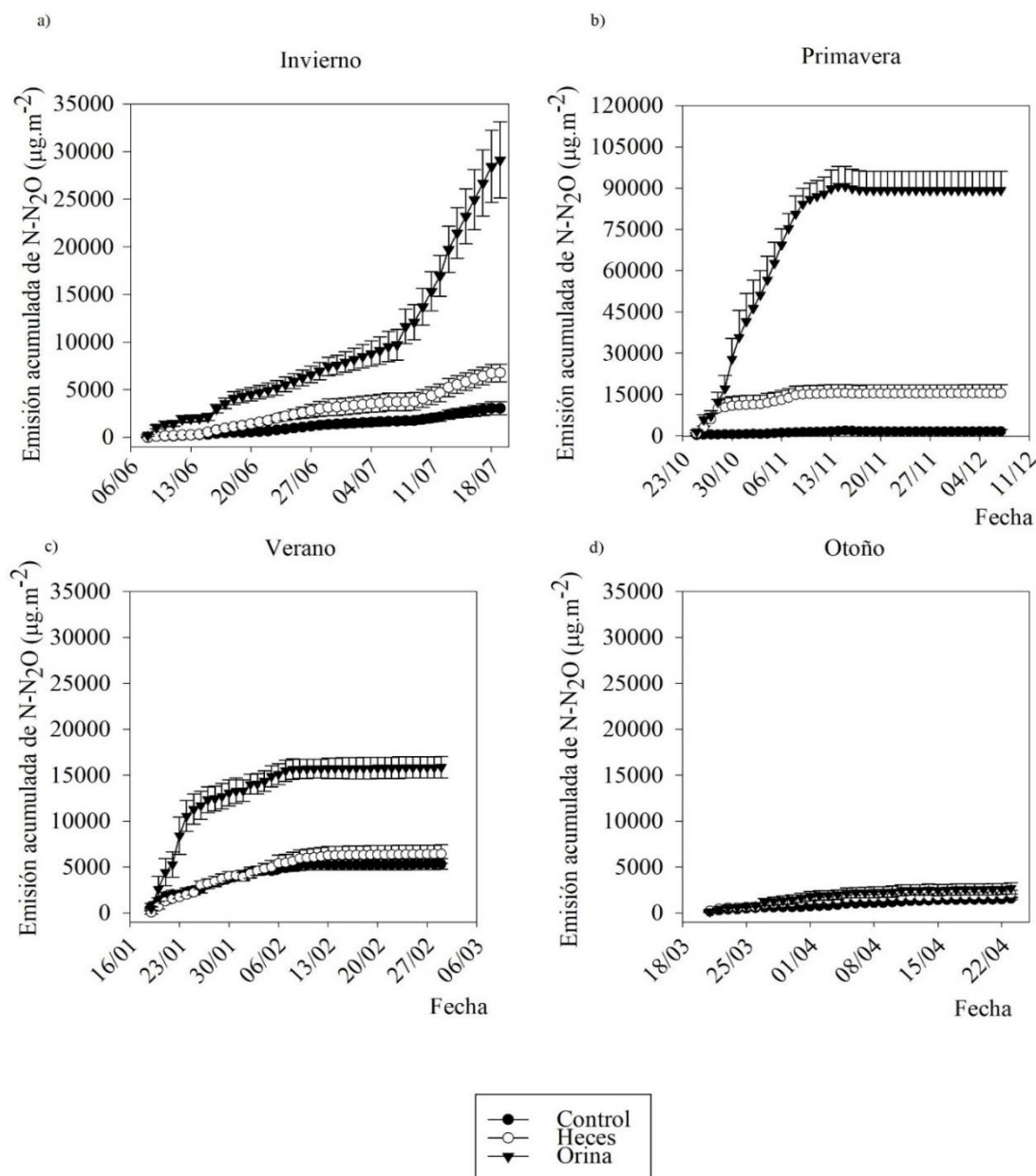


Figura 4.5. Evolución de acumulación de N-N₂O para el período de muestreo de cada estación: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano y d) Otoño. Las barras representan el error estándar de la media de tratamientos.

Para el muestreo estival, el tratamiento con orina acumuló en promedio 17 mg N₂O m⁻², duplicando el promedio de acumulación de las heces y triplicando el del control sin agregado de excretas. Esta acumulación se produjo de manera acelerada, alcanzando el 90% del N₂O emitido durante las dos primeras semanas después de la aplicación de orina.

En el caso de las heces, la tasa de acumulación fue progresiva y mayor que la del control, pero menor que la de orina.

En el otoño, las emisiones acumuladas de N₂O fueron mucho menores que en el resto de las estaciones. Los promedios de acumulación fueron de 0,9, 1,4 y 1,9 mg N₂O m⁻² para el control, el tratamiento con heces y el tratamiento con orina, respectivamente. Aunque presentaron diferencias significativas entre sí, estos valores de emisión fueron muy bajos en comparación con los medidos en el resto del año.

4.5 Discusión

El estudio anual de las emisiones de N₂O en un pastizal con promoción de *Lotus tenuis* en suelos hidro-halomórficos en la Cuenca del Salado reveló patrones que reflejan la influencia combinada de varios factores reguladores y el ciclo de crecimiento de *Lotus* sobre el ciclado del nitrógeno. Algunos de los resultados observados en el capítulo 3, que analizan las emisiones de N₂O en SPL, se repiten en el capítulo 4, donde se estudian las emisiones de N₂O en pastizales con PL. Estos resultados, que ya fueron discutidos en detalle en el capítulo 3, incluyen la variabilidad en la concentración de N de la orina, el incremento de las emisiones de N₂O de 1 a 3 días después de un evento de lluvia y la microporosidad en los suelos utilizados, que favorecen la emisión de N₂O a través del proceso de desnitrificación. Por lo tanto, este capítulo se centra en evaluar cómo es la emisión de N₂O cuando se incluyen leguminosas en el pastizal.

Las emisiones de N₂O obtenidas en este estudio fueron similares a las informadas por Perdomo et al. (2008), y Alfaro et al. (2022), quienes midieron las emisiones de GEI en sistemas de pastizales con leguminosas en Latinoamérica con condiciones diversas de clima y suelos. En contraste, Boddey et al. (2020) realizaron una revisión sobre las emisiones de GEI en pasturas con leguminosas en la región tropical de Brasil. Ellos

reportaron valores de emisión de N_2O mayores que los obtenidos en esta tesis. Esta diferencia se debió probablemente a las condiciones de mayor humedad y temperatura predominantes en esa región, que incrementaron la actividad microbiana, y así la producción de N_2O . En suelos con características hidrohalomórficas como los elegidos para este experimento, se espera que la desnitrificación sea el principal proceso que contribuye a la producción de N_2O , debido a la disminución de la presión parcial de oxígeno en los poros del suelo en condiciones de anegamiento (Xiang et al., 2023). Aunque la condición de mayor humedad en la región favoreció una mayor actividad microbiana y, por ende, la producción de N_2O en suelos hidrohalomórficos, estudios han evidenciado que, en pastizales, la desnitrificación se presenta como el proceso principal responsable de la emisión de N_2O , incluso en ausencia de anegamiento. Es decir, a pesar de que en estos suelos se generan condiciones propicias para la formación de zonas anóxicas, la predominancia de la desnitrificación en pastizales no depende exclusivamente del contenido de humedad.

En este capítulo, las emisiones más altas de N_2O se registraron en los tratamientos con agregado de orina, seguidas por los suelos con aplicación de heces, y finalmente los suelos de control sin aplicación de excretas. El aumento de las emisiones de N_2O debido al agregado de orina concuerda con otros estudios donde se encontró que, en sistemas con leguminosas, los parches de orina son puntos de alta concentración de nitrógeno mineral rápidamente mineralizable, lo que resulta en mayores emisiones de N_2O (Samad et al., 2021; O'Neill et al., 2021; Alfaro et al., 2022). En pastizales y/o pasturas con presencia de leguminosas, tanto el proceso biológico de fijación de nitrógeno, como la descomposición de los residuos de leguminosas, pueden ambos producir N_2O . Sin embargo, en otros estudios de emisiones de N_2O realizados en suelos ganaderos que incluyeron leguminosas en sus recursos forrajeros, se ha encontrado que la orina es la

principal fuente de emisión de N₂O (Li et al., 2011; Schmeer et al., 2014; Rochette et al., 2014).

En contraste, el tratamiento con heces mostró emisiones de N₂O menores que las de la orina, pero mayores que las del control en varios puntos de muestreo. Esto está en línea con resultados previos (Capítulo 3) que indican que, aunque las heces aportan C y nitrógeno, estos nutrientes están en una forma menos biodisponible que en el caso de la orina (Cardoso et al., 2016). Además, la formación de una costra sobre las heces, discutida en el capítulo 3, presenta una dificultad física para la emisión de N₂O.

Con respecto al análisis estacional de las emisiones de N₂O, los principales picos de emisión ocurrieron en tratamientos con orina durante la primavera, período que se caracterizó por temperaturas moderadas y una alta saturación del suelo (detalle de datos climáticos en el capítulo 1). Esto coincide con un estudio realizado en el sur de Chile, donde pasturas puras con *Lotus corniculatus* presentaron los máximos picos de emisión durante esa estación (Alfaro et al., 2022). En la región estudiada en este capítulo, la primavera y el verano coinciden con la estación de crecimiento activo de *Lotus tenuis*. Esta planta resiste bien anegamientos prolongados, lo que justifica su presencia y establecimiento en PL (Vignolio et al., 2017). El EPSA en este experimento presentó valores entre 80 y 100% durante la mayoría de los puntos de muestreo, coincidiendo con lo encontrado en el capítulo 3. Estos altos valores de EPSA tienen relación con el drenaje imperfecto de estos suelos hidromórficos con alta microporosidad que ya ha sido mencionado en capítulos 1 y 3. En Schmeer et al. (2014), se observó que, en suelos compactados, las leguminosas no mostraron influencia en las emisiones de N₂O, mientras que, en suelos no compactados, las leguminosas contribuyeron a reducir las emisiones de N₂O en comparación con las praderas basadas en fertilizantes. Esto podría sugerir que el efecto de las leguminosas en la reducción de las emisiones de N₂O puede depender del

estado de compactación del suelo, con un mayor beneficio observado en suelos no compactados.

Durante el crecimiento activo de *Lotus tenuis* (primavera y verano) la concentración de nitratos en suelos mostró incrementos tras el agregado de excretas, aunque estos fueron mucho menores que los registrados en otoño e invierno. Se ha demostrado que, cuando la presencia de leguminosas es alta, la volatilización de NH_4^+ disminuye significativamente, independientemente del pH del suelo. Esto sucede por el contenido de lignina presente en leguminosas que inhibe la volatilización de amonio (Glasener et al., 1995). Por otro lado, la lixiviación en esta región es muy improbable debido a la limitada infiltración y el drenaje imperfecto, lo cual se debe a las características específicas de sus suelos, la fisiografía, y el nivel freático elevado. Esto sugiere que el nitrógeno mineral en este estudio podría estar siendo absorbido por las plantas o emitido hacia la atmósfera. Durante los meses de septiembre, noviembre y marzo, se espera que ocurra la fase de máxima fijación biológica de *Lotus tenuis* para la región estudiada, lo que debería incrementar la disponibilidad de nitrógeno mineral en el suelo. Sin embargo, varios estudios indican que en estas fechas predomina la absorción sobre la fijación biológica, lo que podría explicar la falta de variaciones significativas entre tratamientos en los niveles de NO_3^- en el suelo (Galbally et al., 2010). Por otro lado, Byrnes et al., 2017 identificaron que la presencia de orina en el suelo podría ejercer un efecto inhibitorio sobre la FBN. En invierno, con condiciones de saturación cercanas al 100% durante todos los días de muestreo y temperaturas invernales menores a las históricas para la región, las emisiones de N_2O del tratamiento con orina fueron bajas en comparación con las de primavera, hasta el final del período. Un incremento de la temperatura media y una ligera disminución en el EPSA provocaron una leve variación en las emisiones. Al observar las emisiones acumuladas de N_2O , estas diferencias muestran una acumulación lenta pero constante, lo que resulta

en emisiones acumuladas de N₂O mayores en invierno en comparación con verano y otoño. Sin embargo, la disponibilidad de nitrógeno mineral sigue siendo alta debido a la menor absorción por parte de las plantas en esta estación.

En el período otoñal y en el verano, las emisiones fueron menores, aunque las temperaturas fueron mayores que en invierno y la saturación de los poros del suelo promedió el 70%. A pesar de las bajas emisiones, la disponibilidad de nitrógeno mineral durante el invierno y el otoño fue mayor que en las otras estaciones evaluadas. Esto coincide con los resultados observados en Chile por Alfaro et al. (2022) en un experimento realizado en 2021, donde se demostró que la descomposición de los residuos vegetales libera nitrógeno y otros nutrientes al suelo, beneficiando el crecimiento de especies en la siguiente temporada. Parte de la liberación de nitrógeno mineral durante el verano y el otoño probablemente deriva del follaje de las leguminosas, ciclado a través de la descomposición de los residuos de leguminosas. Esto se observa en estudios como los de Amato et al. (1987), Thompson y Fillery (1997) y Urquiaga et al. (1998), que muestran que la descomposición de leguminosas en la primavera anterior contribuye significativamente a la liberación de nitrógeno mineral en otoño (Peoples y Baldock, 2001).

En este experimento se ha observado un incremento en la concentración de nitratos en suelos con leguminosas tras la aplicación de excretas. Esto coincide con los estudios de Nešić et al. (2007) y Chen et al. (2021), aunque esta respuesta varía según la época del año y tiene alta heterogeneidad espacial. Tonn et al. (2019) han realizado estudios con enriquecimiento de ¹⁵N que sugieren que la heterogeneidad temporal en el ciclo del nitrógeno en un pastizal es más pronunciada cuando hay una mayor cantidad de leguminosas. En otoño e invierno, se alcanzaron los valores más altos, principalmente en tratamientos con aplicación de orina. En primavera y verano, durante el crecimiento

activo de *Lotus*, los niveles de nitratos mostraron leves incrementos, sin diferencias significativas entre tratamientos. Parte de la liberación inicial de nitrógeno mineral durante el verano y el otoño probablemente deriva del follaje de leguminosas ciclado a través de animales de pastoreo o de la descomposición de los residuos de brotes, en lugar del gran reservorio de nitrógeno.

Las emisiones acumuladas fueron mayores en los primeros días de primavera, con emisiones de base también superiores a otros períodos. Durante la primavera y el verano, las emisiones principales de N_2O , especialmente en el tratamiento con orina, se acumularon predominantemente en los primeros días de cada estación de muestreo. En contraste, en invierno, tasa de incremento de los valores acumulados fue mucho más lenta, alcanzando su pico hacia el final del período de muestreo, y las emisiones de base fueron menores que las de primavera y verano. Las menores emisiones de N_2O en invierno corresponden a bajas emisiones de base, posiblemente debido a las condiciones ambientales menos favorables para la producción de N_2O . Sin embargo, a pesar de la acumulación lenta, el tratamiento con orina logró acumular más N_2O durante el invierno que durante el verano, con dos picos de emisión aislados y el resto de las emisiones en valores iguales o muy cercanos a cero.

4.6 Conclusión

La hipótesis planteada en este estudio propuso que las emisiones de N_2O en suelos hidrohalmórficos con PL serían significativamente mayores durante los períodos de crecimiento activo de la planta (primavera y verano) en comparación con las estaciones de menor actividad (otoño e invierno), debido a la mayor disponibilidad de nitrógeno mineral y la mayor actividad biológica durante estas fases.

Los resultados obtenidos no coinciden con la hipótesis planteadas, ya que, si bien las emisiones de N₂O fueron efectivamente mayores durante la primavera, en el invierno también se registraron emisiones, particularmente en el tratamiento con aplicación de orina, a pesar de que se esperaba que fueran menores. Contrariamente a lo esperado, las emisiones acumuladas durante el invierno fueron mayores que en el verano, lo que sugiere que, aunque las bajas temperaturas y condiciones ambientales menos favorables en invierno ralentizan los procesos de nitrificación y desnitrificación, no los inhiben por completo.

Este hallazgo vuelve a destacar la necesidad de reconsiderar la influencia de las estaciones de menor actividad biológica, como el invierno, en las emisiones acumuladas de N₂O en suelos hidromórficos, ya que estas estaciones también pueden contribuir de manera significativa a las emisiones totales anuales. Esto pone de manifiesto la importancia de un enfoque que contemple las emisiones a lo largo de todas las estaciones del año para evaluar con mayor precisión el impacto de *Lotus tenuis* en la dinámica de emisiones de N₂O en sistemas ganaderos.

Capítulo 5.

Análisis comparativo de emisiones de N₂O, factores de emisión y secuestro de C en sistemas con y sin presencia de *Lotus tenuis*.

5.1 Introducción

La emisión de N₂O desde el suelo es un fenómeno multicausal impulsado por la interacción de diversos factores ambientales. Los procesos biológicos como la nitrificación y la desnitrificación son centrales en la producción de N₂O, con la actividad microbiana de nitrificadores y desnitrificadores desempeñando roles clave bajo diferentes condiciones de oxígeno. La influencia de la química del suelo, particularmente la disponibilidad de sustratos de N mineral es sustancial, ya que estos sustratos impactan directamente la actividad microbiana y, por ende, las emisiones de N₂O (Li et al., 2011). Las propiedades físicas del suelo, incluidas el contenido de humedad y el pH, también pueden influir en estos procesos al afectar las condiciones redox y el equilibrio entre la nitrificación y la desnitrificación (Xu et al., 2024). La interacción dinámica de estos factores subraya la complejidad de las emisiones de N₂O en el suelo, lo que hace esencial considerarlos en conjunto, en lugar de forma aislada, para una realizar una modelización más precisa y mejores estrategias de mitigación. Algunos autores han conducido análisis estadísticos multivariados con este fin y han logrado explicar la complejidad de los factores que regulan la emisión de N₂O y sus interacciones (Jones et al., 2022; Soares et al., 2023). En sistemas agrícolas de Argentina, Cosentino et al. (2012) y Alvarez et al., (2012) utilizaron árboles de regresión para definir la jerarquía de las variables reguladoras de la emisión de N₂O. Mientras que para Cosentino et al. (2012) la principal variable reguladora de la emisión en la Pampa ondulada fue la temperatura del suelo, para Álvarez et al (2012), en la Pampa Semiárida, la principal variable reguladora fue el EPSA. Como ya se ha mencionado en esta tesis, los pastizales naturales de la Cuenca del Río Salado son sistemas sumamente importantes en la producción ganadera a nivel nacional. El uso de *Lotus tenuis* se ha explorado en la región, dando buenos resultados en el incremento de proteína de calidad en la dieta animal y de ganancia de peso vivo (Bailleres et al., 2020;

Acosta et al., 2015). En la Cuenca del Salado hay experiencias con la promoción de leguminosas, particularmente *Lotus tenuis* (Nieva et al., 2018). La alta eficiencia en el uso de nutrientes de esta especie y su capacidad para resistir anegamientos frecuentes podrían mitigar las emisiones de N₂O en suelos hidrohalmórficos a través del secuestro de carbono en los suelos, ayudando así a capturar CO₂ atmosférico.

Dada la importancia de la ganadería en esta región, es fundamental cuantificar sus contribuciones a los GEI, ya que representan una parte significativa de las emisiones nacionales. El inventario nacional de GEI es un documento que proporciona una evaluación detallada de las emisiones de diversos sectores, incluyendo energía, procesos industriales, uso de solventes, agricultura y residuos. Como se ha detallado en el capítulo 1, el sector ganadero se destaca como uno de los principales emisores de N₂O. La cuantificación de estas emisiones se realiza utilizando metodologías de distinta complejidad, que van desde el uso de factores de emisión por defecto propuestos por el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) generales y con un alto nivel de incertidumbre (Nivel 1), hasta modelos más detallados y datos específicos locales (Nivel 3) (IPCC, 2006). Sin embargo, el inventario nacional de GEI de Argentina actualmente no incluye estimaciones bajo la metodología de Nivel 3. Estas metodologías permiten ajustar las estimaciones a las condiciones particulares de las diferentes regiones ganaderas del país, mejorando así la precisión y relevancia de los datos obtenidos.

Según la última actualización Inventario Nacional de GEI (MAyDS, 2021), las excretas depositadas en pasturas en Argentina representan una proporción significativa de las emisiones nacionales de N₂O (36%), debido a la gran población de bovinos que asciende a 52.783.892 de cabezas (SAGyP, 2023). El IPCC ha establecido factores de emisión que sirven como referencia global para la estimación de emisiones en distintos sistemas de uso de la tierra. Estos se derivan de un conjunto amplio de datos globales y

estudios científicos que proporcionan estimaciones promedio de las emisiones de GEI para diversas fuentes y actividades, y son herramientas importantes para la construcción de los inventarios nacionales. Sin embargo, estos factores, aunque útiles a nivel global, pueden no ser totalmente precisos cuando se aplican a condiciones locales o específicas, como los suelos hidrohalmórficos. La variabilidad regional y la influencia de condiciones específicas del suelo, como el hidrohalmorfismo y las prácticas de manejo adaptadas, podrían resultar en factores de emisión reales distintos a los propuestos por el IPCC.

En estos pastizales, la presencia de *Lotus* no solo puede alterar la dinámica del nitrógeno, sino también mejorar la estructura del suelo y su capacidad para retener carbono orgánico (Maguire et al., 2022). En las últimas décadas, se ha incrementado significativamente la importancia atribuida al almacenamiento de carbono orgánico en el suelo, dado su potencial como alternativa de mitigación frente a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) (Rumpel et al., 2023; Mustafa et al., 2023). El balance de GEI en los sistemas ganaderos es bidireccional, pues incluye, entre otros, la emisión de CH₄ y N₂O por parte del ganado y los suelos (flujo desde el sistema hacia la atmósfera) y la captura de CO₂ mediante fotosíntesis, que posteriormente puede secuestrarse en el suelo (flujo desde la atmósfera hacia el sistema) (Jacobo, 2020). La cantidad de CO₂ capturada dependerá del equilibrio entre la fijación de carbono y la respiración del sistema, además de otros procesos que regulan el almacenamiento de carbono en el suelo (Jacobo, 2020).

En los sistemas extensivos, donde la principal fuente de alimento es el forraje de pastoreo directo proveniente de pasturas cultivadas o pastizales naturales, dicho alimento presenta menor concentración de energía y nutrientes, pero mayor contenido de fibra, en

comparación con los sistemas intensivos, en los que se incrementa el aporte de granos y balanceados, de mayor concentración energética y nutricional (Fernández, 2010). En un metaanálisis que incluyó 115 estudios en 300 sitios, Conant et al. (2001) concluyeron que los biomas con mayor potencial de secuestro de carbono son los pastizales y las sabanas, siempre que se practique un manejo adecuado del pastoreo. Asimismo, otros autores han sugerido que, bajo cargas ganaderas moderadas, las ganancias de carbono en pastizales pueden superar las emisiones de GEI (Soussana, 2008; Chang et al., 2015; Costa et al., 2022).

Sin embargo, los modelos que han sido desarrollados para estimar los balances de GEI de establecimientos ganaderos no suelen incluir posibles cambios en el almacenaje de C de los suelos bajo distintos sistemas de manejo ganadero (Schils, et al, 2007; del Prado et al., 2013). Tampoco se suelen incluir los cambios en el almacenaje de C del suelo en los estudios que calculan la huella de C de los productos provenientes de sistemas pastoriles (Batalla et al., 2015).

5.2 Objetivos e hipótesis

Los objetivos de este capítulo fueron:

1. Comparar las emisiones acumuladas de N₂O en sistemas con y sin promoción de *Lotus tenuis*.
2. Evaluar la relación entre las emisiones de N₂O y algunos de sus factores condicionantes, ante el agregado de excretas animales en sistemas con y sin promoción de *Lotus tenuis*.
3. Calcular los factores de emisión de N₂O para las excretas y compararlos con los sugeridos por el IPCC para estimaciones de nivel 1.

4. Cuantificar el almacenaje de C de los suelos de pastizal con y sin promoción de *Lotus tenuis*.

Las hipótesis que se abordaron fueron:

Hipótesis 5.1. La promoción de *Lotus* en los pastizales estimula la emisión de N₂O en relación con pastizales compuestos mayoritariamente por gramíneas, debido a su capacidad de fijación de nitrógeno, que incrementa la disponibilidad de N en el suelo

Hipótesis 5.2 La estimación de las emisiones de N₂O basadas en el uso de factores de emisión de N₂O de excretas de nivel 1 sugeridos por el IPCC, al estar basados en condiciones generalizadas, no reflejan las emisiones reales en sistemas de ganadería extensiva en la Cuenca del Salado. Esto resalta la necesidad de mediciones locales para mejorar la estimación de emisiones y reducir la incertidumbre en los inventarios nacionales.

Hipótesis 5.3 La presencia de leguminosas en el pastizal estimula el almacenaje de C y tiene, por lo tanto, un efecto compensador sobre las emisiones de N₂O del pastizal, en términos de C equivalente.

5.3 Materiales y métodos

Las características del sitio de estudio, el diseño experimental, la forma de muestreo y determinación de los flujos de gases, y variables complementarias, así como el detalle en los cálculos de flujos de emisiones puntuales y acumuladas de N₂O y los análisis utilizados fueron los detallados en el Capítulo 1. Se nombrará “PL” a pastizales con promoción de *Lotus* y “SPL” a pastizales con mayoría de gramíneas de crecimiento otoño primavera estival, sin promoción de *Lotus*.

5.3.1 Emisiones acumuladas por metro cuadrado y por hectárea.

Las emisiones de N₂O acumuladas por metro cuadrado de suelo son útiles para visualizar las diferencias de emisión entre distintos tratamientos de manejo de pastizal y de excretas. Estas se obtienen calculando el área bajo la curva de los gráficos que muestran emisión puntual de N-N₂O en función del tiempo post-aplicación de excretas (Capítulos 3 y 4). Esos valores representaron las emisiones acumuladas de N₂O durante el período de muestreo correspondiente. Por otro lado, para calcular las emisiones de N₂O por hectárea, fue necesario hacer un cambio de escala y utilizar algunos factores de conversión para tal fin, ya que en la realidad las excretas se depositan en el pastizal de manera muy heterogénea, haciendo imprecisa la extrapolación por la simple multiplicación de las unidades de superficie.

Para realizar el escalamiento se realizó el siguiente cálculo, uno por cada estación del muestreo y del año, a saber:

$$E(n) = \sum_{i=1}^n [F(i) \times A(i) \times Eevent \times C]$$

Donde:

$E(n)$ = Emisiones acumuladas de N₂O por hectárea hasta el día n ($\mu\text{g N}_2\text{O} \cdot \text{ha}^{-1}$).

$F(i)$ = Flujo de N₂O en el día i ($\mu\text{g N}_2\text{O m}^{-2} \text{ día}^{-1}$).

$A(i)$ = Área total acumulada de excretas en m². animal⁻¹ hasta el día i (crece diariamente, por ejemplo, si cada día se depositan 1 m² de orina por animal por día, entonces el día 5 serán 5 m² por animal)

Eevent=es el número de eventos de micción/defecación por animal y por día, asumido constante.

C = Carga animal instantánea (animales.ha⁻¹) (se considerará constante en cada cálculo estacional). Sin tener en cuenta rotación en los potreros

Se extrajeron la cantidad de eventos de excreta por día y el volumen de excreta por evento de la bibliografía (Selbie, 2015). La carga media estacional se calculó como el promedio de varios años de datos de producción, proporcionados mediante comunicación personal (Cuadro 5.1). Además, el área del parche, medida en los potreros de la Chacra Experimental Chascomús, fue de 1125 cm², determinada según el método de azul brillante estudiado en el Capítulo 2 de esta tesis.

Cuadro 5.1. Carga media estacional (animales.ha⁻¹) utilizada en los cálculos

Estación	Carga media (animales.ha ⁻¹)	
	SPL	PL
Verano	0,95	1,45
Otoño	0,74	0,75
Invierno	0,24	0,19
Primavera	0,58	1,54

También se realizaron las siguientes suposiciones en la construcción del modelo:

Al ser pastoreo extensivo el animal no defeca ni orina dos veces en el mismo lugar (White et. al, 2001).

No se tuvieron en cuenta los conocidos “hot places” (aguadas, manga y otros lugares de alta concentración del ganado)

Se asume esta emisión para el largo de cada muestreo estacional (35-40 días aproximadamente) sin tener en cuenta rotaciones de pastoreo.

Las emisiones finales por año están calculadas siguiendo las directrices de IPCC para el cálculo de inventarios Nivel 1, y utilizando los factores de emisión propios calculados previamente. Los supuestos de este cálculo tienen incertidumbres asociadas a sus limitaciones. Por ejemplo, asumir que el animal no defeca ni orina dos veces en el mismo lugar podría minimizar la heterogeneidad espacial de las deposiciones, subestimando áreas de alta concentración de excretas. Asimismo, no considerar los "hot

places" (como aguadas y mangas) y asumir una emisión constante durante el periodo estacional sin tener en cuenta la rotación de pastoreo, introducen fuentes adicionales de error.

5.3.2 Factores de emisión

Los factores de emisión fueron calculados de la diferencia entre las emisiones totales acumuladas de cada tratamiento y la emisión del control dividido por la cantidad de N aplicado. Como esta descrito en la siguiente ecuación:

$$FE = \frac{Et - Ec}{N \text{ total aplicado}} * 100$$

Donde FE es el factor de emisión (N-N₂O emitido como un porcentaje del N aplicado), Et la emisión acumulada del tratamiento, Ec la emisión acumulada del control y es el N total aplicado es el N total aplicación con la excreta, en gramos(g).

5.3.3 Almacenes de C

Se consideraron tres puntos de muestreo para cada tratamiento (n=3), PL, SPL y una situación de referencia tomada del mismo tipo de suelos debajo de los alambrados, dada la imposibilidad de encontrar pastizales prístinos en la región.

Se obtuvieron muestras de suelo para determinar C orgánico total (COT) y para densidad aparente (Dap) con el Método del cilindro (Blake y Hartge, 1986). Las muestras se tomaron a las profundidades de 0-10, 10-20, 20- 30, 30-50, 50-70, 70-100 cm. Las determinaciones de COT se realizaron con auto analizador de combustión completa (LECO, Corporation, St. MI, USA). Previo al análisis, a cada muestra se le determinó cualitativamente la presencia o ausencia de carbonatos con ácido clorhídrico; en los casos en que la reacción fue positiva, a cada muestra se le realizó un proceso de

descarbonatación con ácido clorhídrico, según lo descrito por Skjemstad y Baldock (2008).

Para comparar los Almacenes de COT del perfil del suelo en las condiciones del ensayo, fue necesario realizar una corrección para llevar los perfiles de suelo a masa equivalente hasta la profundidad que se evaluó, según lo expresado matemáticamente según Sisti et al. (2004)

$$C_s = \sum_{i=1}^{n-1} C_{ti} + \left[M_{tn} - \left(\sum_{i=1}^n M_{ti} - \sum_{i=1}^n M_{si} \right) \right] C_{tn}$$

Donde $\sum_{i=1}^{n-1} C_{ti}$ la suma de contenido de C total desde la capa 1 (superficie) hasta la capa "n-1" (penúltima) del perfil de suelo del tratamiento, M_{tn} es la masa de la capa más profunda del perfil del tratamiento, $\sum_{i=1}^n M_{si}$ es la suma de la masa de suelo (Mg ha^{-1}) desde la capa 1 (superficie) a "n" (última capa) del perfil de suelo de referencia, $\sum_{i=1}^n M_{ti}$ es la suma de la masa de suelo (Mg ha^{-1}) de la capa 1 (superficie) a "n" (última capa) del perfil del suelo del tratamiento y C_{tn} el contenido de C en Mg.Mg^{-1} suelo de la última capa del perfil de un tratamiento dado. Con esta corrección se logra que los almacenajes de COT sean comparables en las distintas situaciones, independientemente de que existiese algún grado de compactación variable entre los tratamientos.

5.3.4 Análisis estadístico

Se construyó un modelo mixto para evaluar el efecto de la promoción de *Lotus tenuis* y de las excretas sobre las emisiones acumuladas de N_2O en cada estación del año. En este modelo, los factores "Promoción de *Lotus*" y "Excretas" se incluyeron como efectos fijos, y se incorporó la interacción entre ellos para determinar si la combinación de ambos generaba un efecto distinto al de cada factor por separado. Los efectos aleatorios se definieron considerando la estructura jerárquica del experimento, anidando las

subparcelas dentro de las parcelas principales, lo que permitió capturar la variabilidad inherente a estos niveles de muestreo.

Tras ajustar el modelo, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante el análisis de los residuos, confirmando así la validez del análisis estadístico. Posteriormente, se aplicó un ANOVA al modelo mixto y, en caso de encontrar diferencias significativas, se realizaron comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey HSD. Todo el análisis se llevó a cabo en el entorno RStudio, utilizando el paquete lme4. Para realizar comparaciones entre las emisiones acumuladas de N₂O, se construyó un modelo mixto para evaluar el efecto de la promoción de *Lotus tenuis* y las excretas sobre dichas emisiones en cada estación del año. Finalmente, cuando las diferencias fueron significativas, se llevaron a cabo comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey HSD. Se utilizó el software R en entorno RStudio, específicamente el paquete lme4.

Por otro lado, para analizar las diferencias en el almacenamiento de C entre SPL y PL, se realizaron ANOVAs de una vía separados para las profundidades de 0-30 cm y 0-100 cm, dado que los datos mostraron distribuciones normales y varianzas homogéneas en cada profundidad. Asimismo, se evaluaron las diferencias en COT del suelo a distintas profundidades (0-10 cm, 10-20 cm, etc.) mediante ANOVA. Tras identificar diferencias significativas en los resultados del ANOVA, se aplicó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples entre los tratamientos. Estos análisis se realizaron utilizando el paquete “stats” en R en el entorno de Rstudio.

5.3.5 Construcción y validación del árbol de regresión.

Se construyó un árbol de regresión con el conjunto de datos completo, que incluyó las emisiones de N₂O ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$), la temperatura del suelo ($^{\circ}\text{C}$), el contenido de nitratos

en el suelo ($\text{mg N-NO}_3^- \cdot \text{kg suelo seco}$), el EPSA (%), el tipo de excreta depositada en el suelo y la presencia o ausencia de leguminosas en el pastizal debido a la promoción de *Lotus tenuis*. Se utilizó el paquete “rpart” en R. Se aplicó validación cruzada con 10 pliegues (10-fold cross-validation) para evaluar la estabilidad y la capacidad de generalización del modelo, utilizando la función “train” del paquete “caret, especificando el método “rpart” y el número de pliegues. El rendimiento del modelo se evaluó mediante el error cuadrático medio (RMSE) y la proporción de varianza explicada (R^2). Para obtener resultados más precisos sobre la jerarquía de las variables como reguladoras de la emisión de N_2O , se utilizaron las funciones “importance” y “varImpPlot” del paquete “randomForest”.

5.4 Resultados

5.4.1 Factores que regulan la emisión de N_2O en sistemas de la cuenca del Salado

Al evaluar individualmente las emisiones de N_2O en relación con algunos de sus factores reguladores, no se observan correlaciones estadísticamente significativas, debido a la multicausalidad de las emisiones de N_2O . Sin embargo, se identifican distintos patrones entre las emisiones más altas y los factores reguladores (Fig. 5.1). En cuanto a la temperatura del suelo, se observa que las emisiones más altas ocurren a temperaturas más elevadas, aunque este patrón no es lineal, ya que las emisiones más bajas se presentan en todo el rango de temperaturas exploradas (Cuadro 5.2), entre 8°C y 23°C .

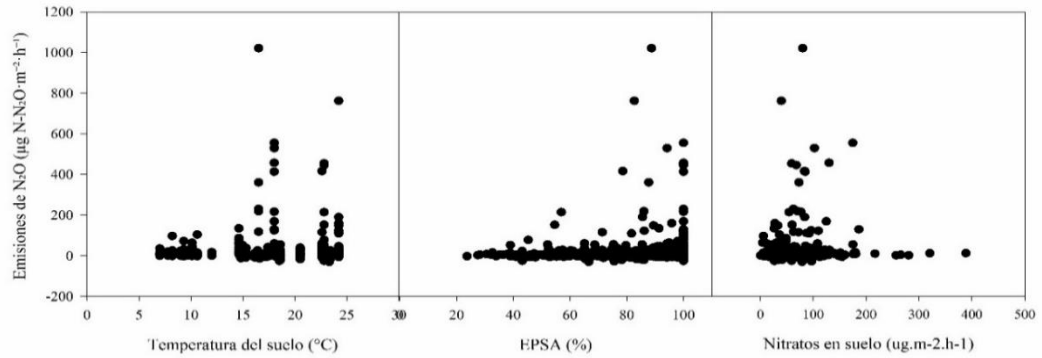


Figura 5.1. Patrón de distribución de las tasas de emisión de N₂O en función de la temperatura, el EPSA y concentración de N-NO₃⁻ del suelo (de izquierda a derecha).

Cuadro 5.2. Valores promedio de las variables explicativas para cada período de muestreo con su correspondiente error estándar. SPL: Pastizales sin promoción de *Lotus*; PL: Pastizales con promoción de *Lotus*.

Variable	Tipo de excreta	Invierno		Primavera		Verano		Otoño	
		SPL	PL	SPL	PL	SPL	PL	SPL	PL
T ^o C suelo		8,89 ± 0,18	9,34 ± 0,21	17,1 ± 0,22	16,9 ± 0,24	22,66 ± 0,19	22,72 ± 0,19	16,97 ± 0,19	16,79 ± 0,15
EPSA (%)	Control	94,06 ± 1,02	92,58 ± 1,49	98,06 ± 0,61	96,87 ± 0,99	84,49 ± 2,11	82,94 ± 2,84	91,22 ± 1,88	58,73 ± 2,34
	Heces	92,94 ± 1,41	94,13 ± 1,36	97,81 ± 0,66	93,31 ± 1,62	87,24 ± 1,65	83,38 ± 3,05	89,95 ± 1,87	58,22 ± 2,45
	Orina	92,61 ± 1,73	93,74 ± 1,37	97,03 ± 1,1	87,57 ± 3,12	86,62 ± 1,70	79,32 ± 2,70	89,01 ± 1,99	60,76 ± 2,32
N-NO ₃ ⁻ (mg.kg suelo ⁻¹)	Control	30,56 ± 3,7	30,79 ± 3,03	52,49 ± 2,93	49,4 ± 3,23	52,52 ± 5,13	47,3 ± 5,03	28,14 ± 1,69	28,74 ± 1,73
	Heces	29,83 ± 3,02	38,76 ± 3,99	52,31 ± 2,6	49,06 ± 2,43	54,28 ± 4,64	54,08 ± 4,54	30,08 ± 1,82	29,79 ± 1,47
	Orina	63,54 ± 11,28	62,29 ± 9,07	53,58 ± 2,32	57,45 ± 4,39	81,97 ± 3,66	67,96 ± 5,47	75,36 ± 7,16	96,02 ± 8,34

Respecto a la relación del N₂O con el contenido de agua del suelo, expresado como el porcentaje de saturación de agua del poro (EPSA), los puntos de emisión más altos se concentran en torno al 80% de EPSA, aunque también se observan emisiones elevadas alrededor del 100% de EPSA. No se registran valores altos de emisión con EPSAs

menores al 50%. Por otro lado, las emisiones de N₂O no parecen ocurrir a niveles de nitratos en suelo superiores a 200 mg N-NO₃·kg suelo seco⁻¹, lo que sugiere que otros factores limitantes podrían estar influyendo en la capacidad del suelo para emitir N₂O en esas condiciones.

Un análisis multivariado del árbol de regresión (Fig. 5.2) permitió dividir las emisiones de N₂O en cuatro grupos: bajas, moderadas, altas y muy altas. Las emisiones bajas se agruparon con un promedio de entre 5 y 6 μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹, las emisiones moderadas con un promedio de 14 μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹, las emisiones altas entre 40 y 54 μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹, y las emisiones muy altas alrededor de 250 μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹.

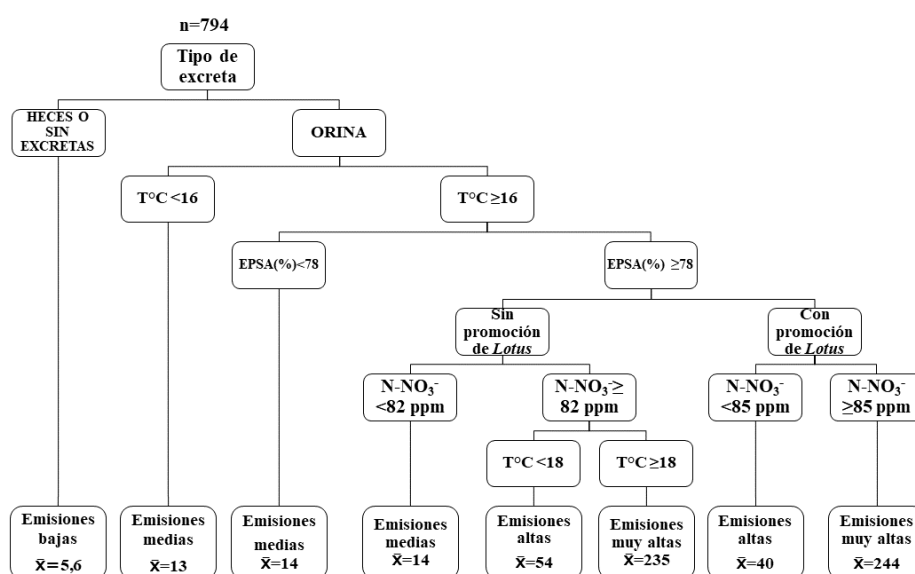


Figura 5.2. Resultados del análisis del árbol de regresión, que muestra las principales variables que afectan las tasas de emisión de N₂O. Los promedios que se muestran debajo de cada grupo de las emisiones corresponden a la emisión promedio de ese grupo en μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹,

Las emisiones más bajas ocurrieron en suelos sin excretas o con aplicación de heces. En suelos con deposición de orina, se observaron emisiones medias cuando las temperaturas eran menores a 16°C, con un promedio de 13 μg N-N₂O·m⁻²·h⁻¹. También se registraron emisiones medias cuando las temperaturas superaban los 16°C y el EPSA

era inferior al 78%, con un promedio de $14 \mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Además, en suelos con EPSA superior al 78%, sin promoción de leguminosas y con valores de nitratos en suelo menores a 82 ppm, las emisiones fueron medias, con un promedio de $14 \mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. En suelos con orina, temperaturas mayores a 16°C y EPSA superior al 78%, las emisiones de N_2O variaron según los niveles de nitratos en el suelo. En suelos con nitratos superiores a 82 ppm y temperaturas menores a 18°C , las emisiones fueron altas, con una media de $54 \mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Cuando la temperatura superaba los 18°C , las emisiones fueron muy altas, promediando $240 \mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Las mayores emisiones se encontraron en suelos con aplicación de orina, temperaturas mayores a 16°C , EPSA superior al 78%, promoción de *Lotus tenuis*, y niveles de nitratos en suelo superiores a 85 ppm. Si el valor de nitratos era inferior a 85 ppm, las emisiones de N_2O se clasificaban como altas, con una media de $40 \mu\text{g N-N}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

En el cuadro 5.3 se presentan los parámetros de rendimiento del modelo del árbol de regresión.

Cuadro 5.3. Parámetros de rendimiento del modelo de árbol de regresión.

Parámetro de complejidad (cp)	0,041
Error cuadrático medio (RMSE)	57,983
R²	0,21
Error medio absoluto (MAE)	20,42
R² ajustado	0,19

El valor de cp de 0,041 indica que se ha controlado la complejidad del árbol para evitar el sobreajuste, logrando un equilibrio entre la fidelidad al conjunto de datos y la capacidad de generalización. Con un R² de 0,21 y un R² ajustado de 0,19, se explica

actualmente alrededor del 20% de la variabilidad de la variable respuesta. Aunque esto deja espacio para mejoras, demuestra que el modelo logra captar relaciones relevantes en un escenario complejo donde intervienen un gran número de variables. Esto, junto con un error cuadrático medio (RMSE) relativamente alto (57,983) y un error medio absoluto (MAE) de 20,42, sugiere que existen discrepancias importantes entre los valores observados y los predichos. Así, este árbol muestra una aceptable capacidad explicativa, pero no tan buena capacidad predictiva.

La Figura 5.3 muestra la importancia de las variables en el modelo. El tipo de excreta (excreta) es el parámetro más influyente en la variación del error medio cuadrático (%IncMSE), lo que indica que la naturaleza de la excreta (heces u orina) tiene un impacto significativo en la precisión del modelo. La temperatura del suelo a 0-10 cm (T° suelo) también es crucial, ya que las temperaturas más altas pueden acelerar los procesos microbianos que conducen a la producción de N_2O .

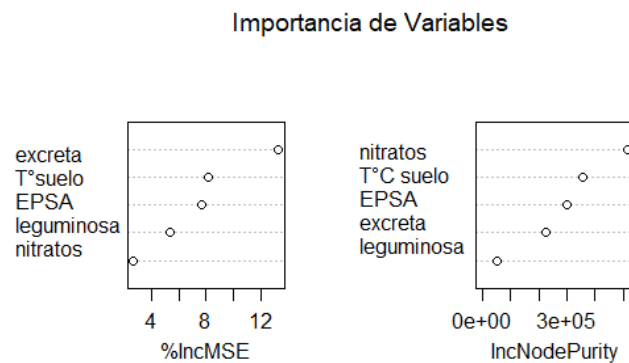


Figura 5.3. Importancia de las variables reguladoras como fuente de variabilidad del modelo. %IncMSE es el % de variación del error medio cuadrático y el IncNodePurity es el incremento en la pureza de los nodos.

El EPSA es otra variable importante, ya que niveles altos de saturación pueden crear condiciones anaerobias favorables para la desnitrificación, un proceso clave en la emisión

de N₂O.

Los nitratos en el suelo son la variable más importante para la separación de grupos (IncNodePurity), indicando que la disponibilidad de nitratos en el suelo es un factor determinante en la diferenciación de las emisiones de N₂O. La jerarquía de importancia muestra que el tipo de excreta, la temperatura del suelo y los niveles de nitratos son las variables principales para comprender las emisiones de N₂O en estos sistemas. Estas variables no solo influyen en la cantidad de N₂O emitido, sino que también determinan las condiciones bajo las cuales las emisiones son más probables, proporcionando una comprensión integral de los factores que regulan las emisiones de N₂O en la Cuenca del Salado.

Es importante destacar que, aunque todas las variables incluidas en el árbol son explicativas en algún grado, la temperatura del suelo es la más importante de todas, ya que combina altos valores de los dos parámetros de evaluación de importancia (%IncMSE e IncNodePurity). Esto indica que la temperatura no solo afecta la precisión del modelo, sino que también es crucial para la formación de grupos, subrayando su papel esencial en la regulación de las emisiones de N₂O.

5.4.2 Emisiones acumuladas de N₂O con y sin promoción de *Lotus tenuis* por estación.

En la Figura 5.4 se presentan las emisiones acumuladas de N-N₂O en de los tratamientos de control, heces y orina, comparando la emisión entre pastizales PL y SPL en las cuatro estaciones del año.

Durante el período invernal (Fig. 5.4a), se observaron emisiones acumuladas de N₂O considerables y medibles, superando incluso a las registradas en otros períodos, especialmente en el tratamiento con orina y PL. En primavera, por otro lado, los pastizales PL mostraron emisiones acumuladas de N₂O significativamente más altas que SPL en

todos los tratamientos. Específicamente, las emisiones acumuladas en suelos con aplicaciones de heces fueron 10 veces mayores en PL en comparación con SPL (Fig. 5.4b). En suelos con aplicación de orina, las emisiones fueron aproximadamente 30 veces mayores en PL que en SPL. La primavera es la única estación donde se observó una diferencia de tal magnitud.

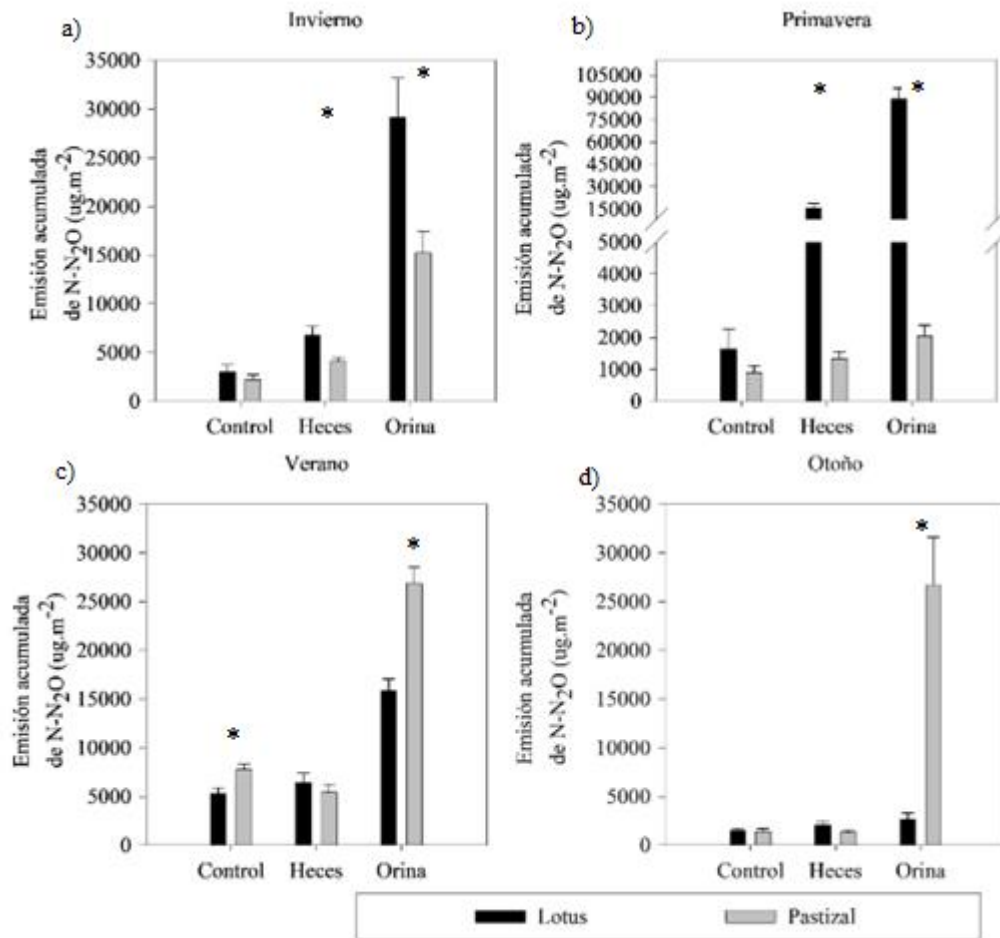


Figura 5.4. Emisiones acumuladas de N-N₂O en suelos con y sin promoción de *Lotus*, en diferentes estaciones del año. Se presentan los tratamientos de control, heces y orina, comparando la emisión en pastizales con promoción de *Lotus* (barras negras) y sin promoción de *Lotus* (barras grises). Las barras de error representan el error estándar de las medias. Los asteriscos muestran diferencias estadísticamente significativas entre PL y SPL en cada estación y en cada tipo de excreta ($p < 0,05$).

En verano, no se observaron diferencias significativas entre PL y SPL en los tratamientos con heces (Fig. 5.4c). Sin embargo, en suelos con aplicación de orina y en los controles, la emisión acumulada de N-N₂O fue mayor. En cuanto a los suelos sin

aplicación de excretas, solo se observaron diferencias significativas entre PL y SPL durante el verano. En otoño, por otro lado, la emisión acumulada en SPL fue aproximadamente 10 veces mayor que en los demás tratamientos durante esta estación de muestreo (Fig. 5.4d).

En cuanto a las emisiones de N_2O por hectárea, se observa un patrón complejo. Si bien las emisiones por metro cuadrado son más elevadas en los tratamientos donde se aplica orina (Fig. 5. 4), estos picos de emisión se comportan como "puntos calientes" o "hot spots". Estos puntos calientes representan áreas de alta emisión localizada, pero su impacto en la emisión total por hectárea es limitado. Esto se debe a que, aunque los "hot spots" generen altas emisiones en pequeñas áreas, cuando se considera la totalidad de la hectárea, el área afectada por estos "puntos calientes" es pequeña en comparación con el resto del suelo. Como resultado, la contribución de estos "hot spots" a la emisión acumulada por hectárea es menor de lo que podría esperarse, y puede incluso ser superada por las emisiones de un suelo de control que, aunque genera menos N_2O por metro cuadrado, lo hace de manera más uniforme en toda la superficie.

La Figura 5.5 muestra las emisiones acumuladas de N₂O para pastizales SPL y PL durante las cuatro estaciones de muestreo: invierno, primavera, verano y otoño.

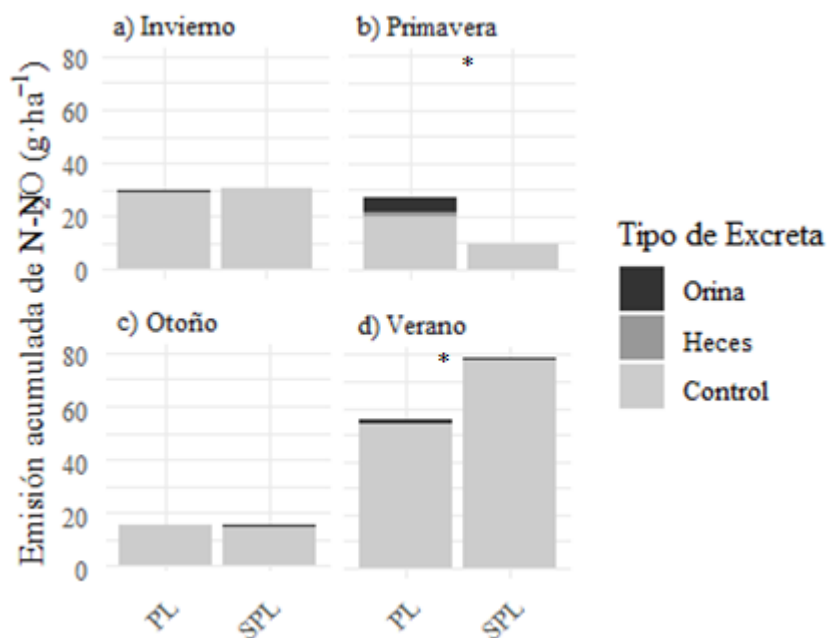


Figura 5.5. Emisiones acumuladas de N₂O para control heces y orina en pastizales con (PL) y sin promoción de *Lotus* (SPL) durante: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano, d) Otoño. La barra correspondiente a cada estación se divide en secciones que reflejan las diferentes fuentes de emisión de N₂O. La sección inferior de cada barra representa las emisiones del suelo sin excretas, mientras que las secciones superiores apilan las contribuciones de las heces y la orina, respectivamente. Los asteriscos representan diferencias significativas en la emisión total en g N-N₂O.ha⁻¹

Los resultados están representados en barras apiladas que desglosan las emisiones en tres categorías: suelo sin excretas (control), heces y orina.

En todos los casos, la principal contribución a la emisión acumulada de N₂O proviene del suelo sin excretas. Esto es consistente con la mayor superficie ocupada por esta fracción en comparación con las áreas específicas donde se depositan las excretas. Esta representación permite observar no solo las diferencias estacionales en las emisiones de N₂O, sino también la influencia relativa de las diferentes fuentes de excretas en la emisión total.

En invierno, las emisiones totales acumuladas de N₂O por hectárea no mostraron diferencias significativas entre SPL y PL. En SPL, la contribución de las excretas fue del 0,79 % (0,25% de las heces y 0,54% de la orina) y en PL fue del 1,47% (0,31% de las heces y 1,16% de la orina). Sin embargo, se observaron algunas diferencias en la dinámica de acumulación. Mientras que, en PL, la acumulación fue más rápida y sostenida, en SPL, fue más progresiva. En primavera (Fig. 5.5b), se observaron diferencias significativas entre SPL y PL. En PL, las emisiones acumuladas fueron 30 veces mayores que en SPL, con una contribución de la orina del 30,53 % y de las heces del 4,4% respecto de la emisión acumulada total. Por otro lado, en SPL, la contribución fue de las excretas en primavera fue del 2,81% (1,03% correspondiente a las heces y 1,78% correspondiente a la orina). En el grafico 5.6b se puede observar la acumulación rápida aproximadamente hasta el 13/11 y luego una caída en la tasa acumulación, mientras que en SPL esta acumulación fue más progresiva y de menor magnitud. En verano (Fig. 5.6c), la emisión total acumulada de N₂O fue significativamente mayor en SPL en comparación con PL. Mientras que en SPL la contribución de las excretas fue del 1,57% (0,27% proveniente de las heces y 1,30% proveniente de la orina), en PL fue del 2,84% (0,83% proveniente de las heces y 2,01% proveniente de la orina) en verano se puede observar cómo en SPL se acumuló más N₂O, pero con un patrón de acumulación similar en el tiempo. Durante el otoño (Fig. 5.5d), las emisiones acumuladas fueron bajas respecto de las otras épocas del año y similares en ambos tratamientos (SPL y PL). Además, su patrón de acumulación fue progresivo sin durante del tiempo que duró el muestreo (Fig.5.6d). La contribución de las excretas en otoño fue de 4,84% y 0,77% respectivamente en SPL y PL

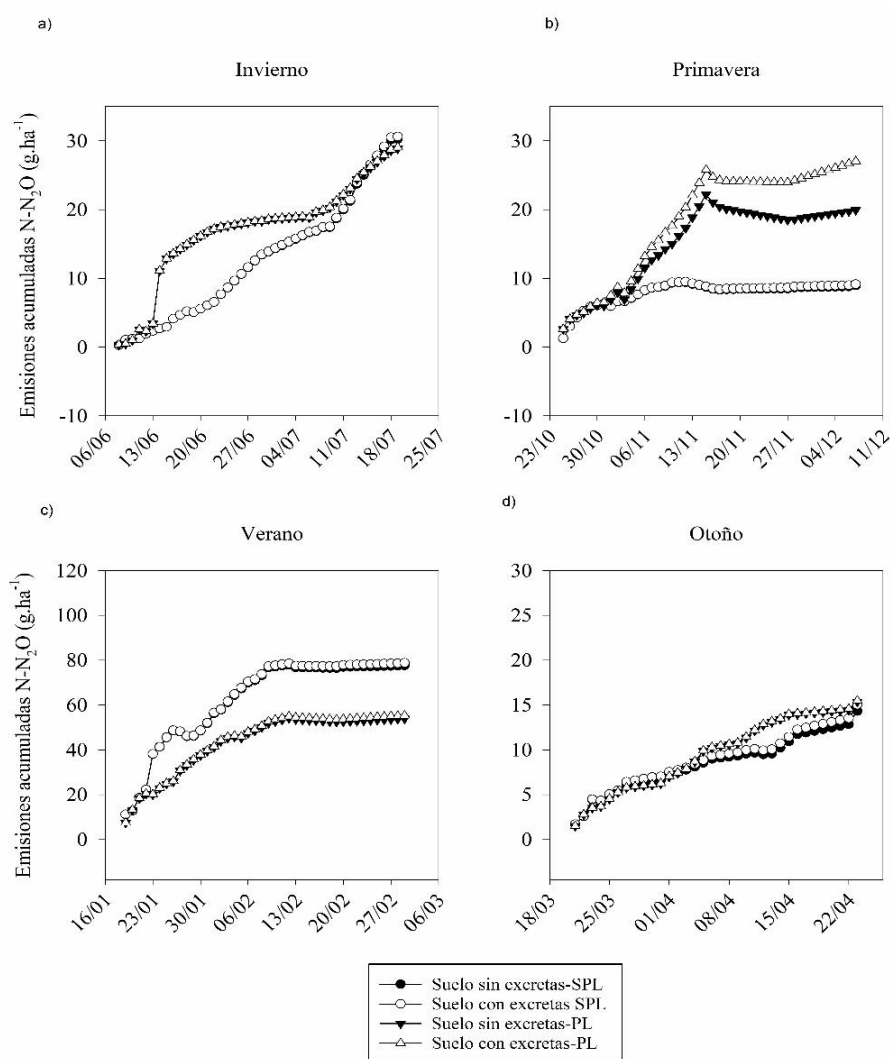


Figura 5.6. Dinámica de emisiones acumuladas de $N-N_2O$ ($g\cdot ha^{-1}$) en función del tiempo en diferentes estaciones del año. Los gráficos muestran las curvas de emisión para suelos sin excretas y con excretas, en pastizales con y sin promoción de *Lotus*: a) Invierno, b) Primavera, c) Verano, d) Otoño.

Finalmente, la contribución media anual de las excretas en PL fue del 8,90% (1,47% y 7,43%, de heces y orina respectivamente) y la de SPL fue de 2,50% (0,45% y 2,05% de heces y orina, respectivamente)

5.4.3 Factor de emisión de N_2O para las excretas

El cuadro 5.4 y figura 5.7 se presentan factores de emisión (FE) de N_2O derivados de orina y heces en tres contextos diferentes: Pastizal (SPL), Promoción de *Lotus* (PL) y los valores de referencia del IPCC 2019, expresados en porcentaje (%).

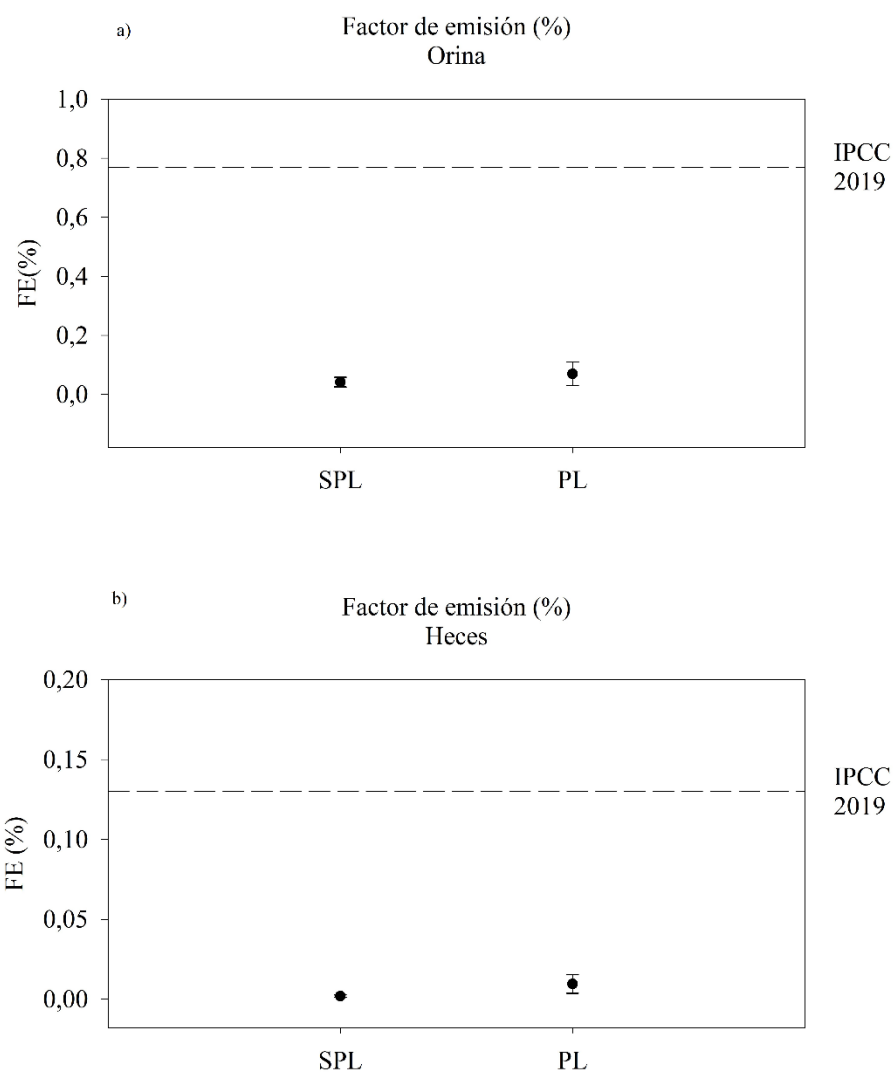


Figura 5.7. Factores de emisión (FE) de N₂O (%) en función del tipo de excreta (orina y heces) para los tratamientos SPL y PL, en comparación con el valor de referencia del IPCC (2019 Refinement). En la gráfica superior se muestran los FE para la orina, mientras que en la gráfica inferior se presentan los FE para las heces. Las líneas de puntos representan los valores de referencia del IPCC (2019 Refinement, Annex 11A.4, Tabla 4A.1: EF values for cattle and sheep dung and urine, in wet and dry climates), correspondientes a los factores de emisión por defecto (EF₃PR) para estiércol y orina de bovinos en climas húmedos.

Cuadro 5.4. Factores de emisión de N₂O derivados de la orina y las heces para un pastizal SPL y uno con PL con sus respectivos errores estándar.

	FE (%)Orina	FE(%) Heces
PASTIZAL	0,042±0,016	0,002±0,0007

PROMOCIÓN DE <i>LOTUS</i>	0,070±0,040	0,009±0,005
IPCC 2019 (Nivel 1, inespecífico, para regiones húmedas)	0,770	0,13

Los datos revelan que los FE de orina en el contexto de Pastizal son de 0.042% y en Promoción de *Lotus* son de 0.070%, mientras que el valor del IPCC 2019 es significativamente mayor, con un 0.770%. De manera similar, los FE de heces en Pastizal y Promoción de *Lotus* son de 0.002% y 0.009%, respectivamente, comparados con el 0.130% del IPCC 2019. En detalle, los factores de emisión de orina en SPL y PL son aproximadamente **18 veces y 11 veces** menores (Fig. 5.7), respectivamente, que los valores del IPCC. Por otro lado, los factores de emisión de heces en SPL y PL son **65 veces y 14 veces** menores, respectivamente, comparados con los del IPCC 2019.

5.4.4 Almacenaje de C en los suelos y compensación de la emisión de N₂O

La concentración de COT (g.kg⁻¹ suelo) en las dos capas más superficiales (0-10 y 10-20 cm) fue significativamente mayor en situaciones SPL (Fig. 5.8).

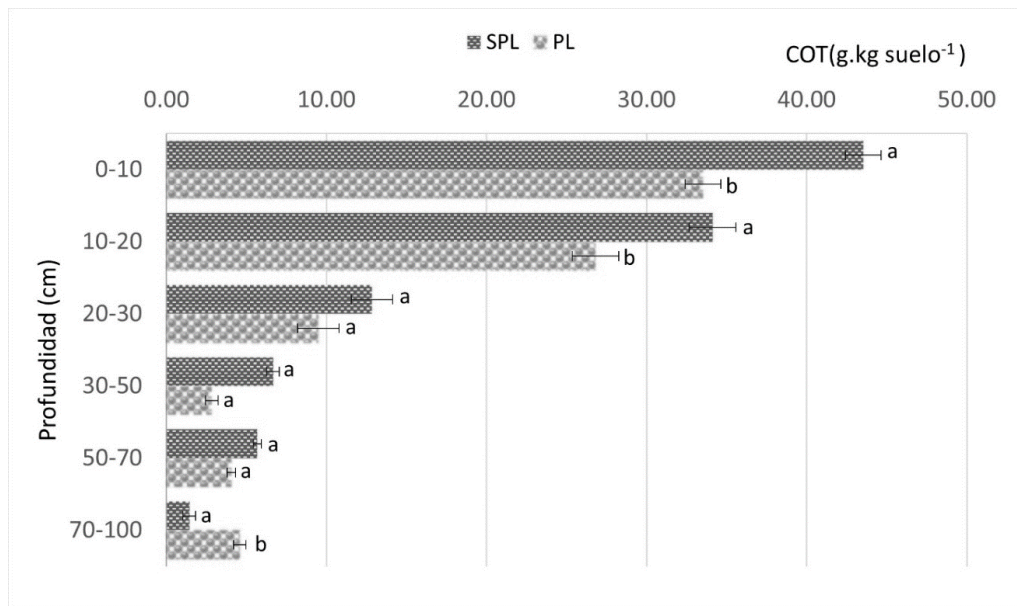
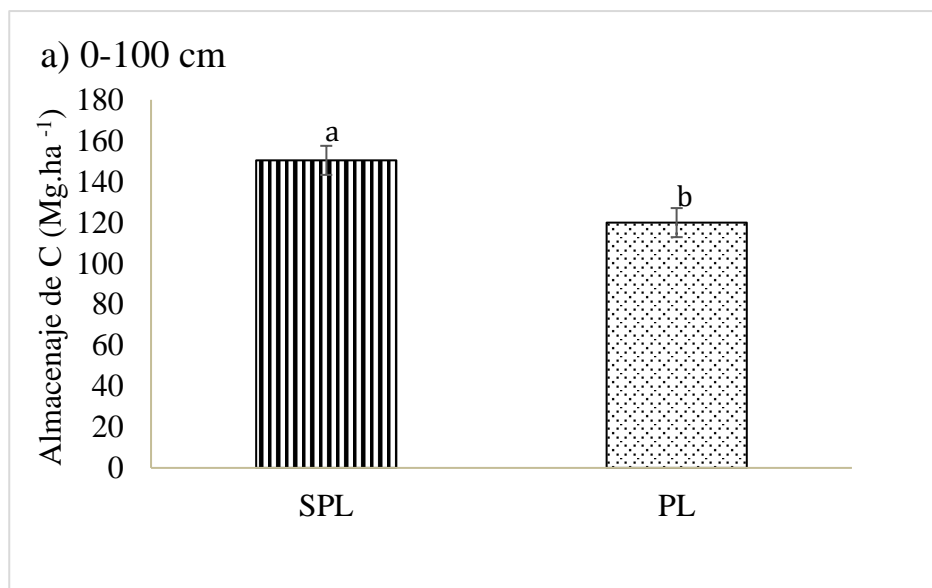


Figura 5.8. Contenido de carbono orgánico total (COT) en profundidad para suelos con promoción de *Lotus* (PL) y sin promoción de *Lotus tenuis* (SPL). Letras diferentes representan diferencias significativas dentro de cada profundidad ($p \leq 0.05$)

Por debajo de 20 cm de profundidad no se vieron diferencias significativas entre los tratamientos, con excepción de la última capa donde el tratamiento PL presenta mayor contenido de COT.

Del análisis de almacenaje de C hasta los 100 cm de profundidad (Fig. 5.9) surge una diferencia significativa ($P \leq 0,05$) a favor del tratamiento SPL. Estas diferencias no se observaron cuando el análisis del almacenaje se realizó solo hasta los 30 cm.



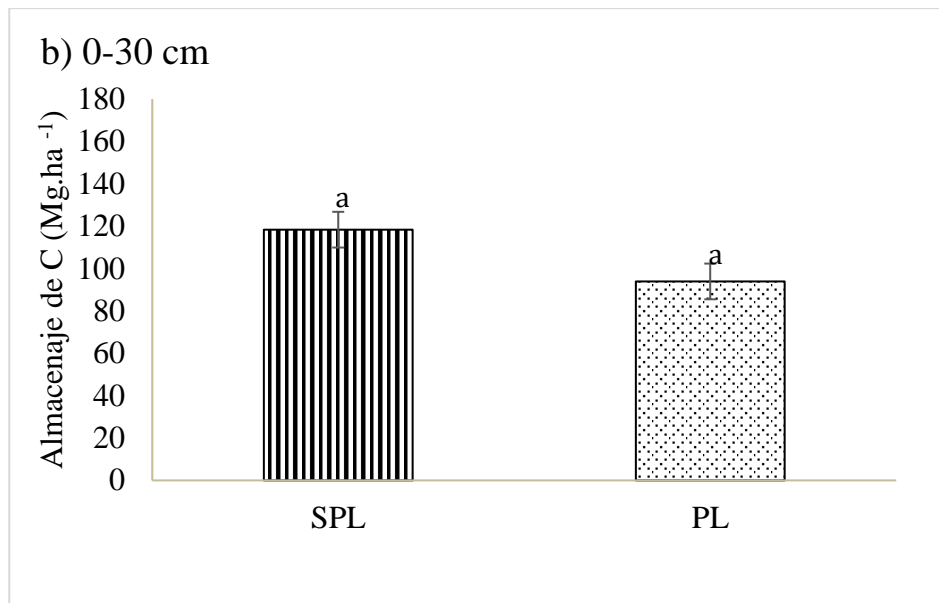


Figura 5.9. Almacenaje de C (Mg. ha⁻¹) a los 100 cm (a) y a los 30 cm (b) para suelos con(PL) y sin (SPL) promoción de *Lotus tenuis*. Las barras representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

No obstante, el almacenaje de C hasta los 30 cm representó el 79% del almacenaje a los 100 cm para ambos tratamientos.

5.4.5 Emisiones anuales estimadas (Nivel 1) con factores de emisión propios vs Secuestro de C

Finalmente, la emisión anual estimada de N₂O (Nivel 1), utilizando la carga animal instantánea y FE medidos durante el año de muestreo fue de 1,85 kg C_{eq}.ha⁻¹. año⁻¹ y de 5,41 kg C_{eq}.ha⁻¹. año⁻¹, para SPL y PL respectivamente. Por otro lado, el incremento en el almacenaje de C al metro para SPL respecto de una situación prístina, alcanzó una tasa de aumento de 1622 kg C_{eq}.ha⁻¹. año⁻¹ durante los últimos 45 años desde la implementación del recurso forrajero, mientras que se registró un incremento de 2940 kg C_{eq}.ha⁻¹. año⁻¹ en 18 años de implementación de la práctica de promoción de *Lotus tenuis*. Según estos resultados, en SPL la emisión de N₂O derivada de las excretas fue compensada con el 0,12% del aumento anual en el almacenaje de carbono, resultando en un excedente de 1620,15 kg C_{eq}.ha⁻¹. año⁻¹, mientras que en PL se requirió del 0,19% del

aumento anual de Almacenaje de C para compensar la emisión de N₂O, resultando en un excedente de 2934 kg CO₂eq.ha⁻¹. año⁻¹

Por otro lado, el incremento en el almacenamiento de carbono hasta un metro de profundidad para SPL respecto a una situación prístina alcanzó una tasa de aumento de 1622 kg CO₂eq ha⁻¹ año⁻¹ durante los últimos 45 años desde la implementación del recurso forrajero, mientras que en el sistema con promoción de *Lotus tenuis* se registró un incremento de 2940 kg CO₂eq ha⁻¹ año⁻¹ en 18 años de implementación de la práctica. Según estos resultados, en SPL la emisión de N₂O derivada de las excretas fue compensada en un 0.12% por el aumento anual en el almacenamiento de carbono, resultando en un excedente de 1620.15 kg CO₂eq ha⁻¹ año⁻¹ .

5.5 Discusión

Dentro de las variables que se han incluido en el árbol de regresión y clasificación para explicar las emisiones de N₂O de un sistema con ganadería extensiva en suelos hidrohalmórficos la primera variable explicativa en separar grupos de emisiones fue el tipo de excreta depositada en el pastizal. Es decir, mientras el suelo está sin excretas o recibe deposición de heces, las emisiones siempre serán del grupo de las más bajas. Esto coincide con múltiples autores que han mostrado que las emisiones de N₂O provenientes de la orina son mayores a las provenientes de las heces y además ocurren más rápido luego de la adición de estas en el suelo (Lessa et al, 2014; Cardoso et al., 2016). Wu et al. (2020) han estudiado suelos negros en Canadá, en los que se observaba que mientras que la orina incrementa la nitrificación, las heces la disminuyen. Al reducir las tasas de nitrificación, la adición de heces limita indirectamente la disponibilidad de nitrato NO₃⁻ en el suelo, lo que afecta al proceso de desnitrificación.

Entre las emisiones que provienen de la orina, la principal variable que explicó el modelo fue la temperatura del suelo. Dentro de este grupo, las emisiones que ocurren por debajo de 16°C son consideradas moderadas. Además, la temperatura del suelo fue la variable más importante por su doble influencia tanto sobre el rendimiento del modelo como su capacidad de dividir grupos importantes de emisiones. Esto coincide con los resultados del árbol de regresión construido en el Capítulo 2 de esta tesis, donde la temperatura se comporta también como primera variable reguladora de la emisión de N₂O a pesar de que el experimento fue realizado en un sitio con distintas condiciones de clima y suelo. En esta línea múltiples autores (Keeney et al., 1979; Trumbore et al., 1996; Farquharson y Baldock, 2008; Maljanen et al., 2009) que postulan el efecto directo de la temperatura sobre la actividad microbiana, necesaria para que ocurran las emisiones de N₂O.

A su vez, en la región de la Pampa Ondulada, Cosentino et al. (2012) han postulado a la temperatura como el factor regulador de mayor importancia, siendo el valor umbral de 14 °C en sistemas agrícolas. Por otro lado, Alvarez et al. (2012) en su estudio realizado en la Pampa semiárida no han encontrado que la temperatura fuese una variable explicativa particularmente importante en las emisiones de N₂O, siendo el agua el recurso limitante en estos sistemas. Estos resultados muestran que la jerarquía de las variables que regulan la emisión es muy dependiente del sistema de producción y de las limitaciones propias de cada ambiente.

Además del tipo de excreta depositada y la temperatura del suelo, el EPSA, es la siguiente variable que explicar las emisiones de N₂O. El valor límite determinado por el modelo para distinguir entre emisiones moderadas y altas/muy altas fue del 78%. Este valor es significativamente mayor que los reportados por otros estudios, como el de Cosentino et al., (2013) que establece un umbral del 58.5%, y los de Álvarez et al. (2012),

que sugieren límites de 43% y 52% dependiendo del período de crecimiento del cultivo. Otros estudios también han postulado valores cercanos al 60% como umbral (Wang et al, 2010; Taghizadeh-Toosi et al., 2021). Este resultado puede explicarse por las características particulares del suelo estudiado en esta tesis. Los suelos Natracuales, que predominan en la región de estudio, presentan condiciones específicas como un alto contenido de sodio y permeabilidad reducida, lo que puede resultar en valores de EPSA cercanos al 100% durante gran parte del año. Estas condiciones crean un ambiente diferente que puede influir significativamente en la dinámica de los GEI, particularmente en la emisión de N₂O. La estructura del suelo, junto con una comunidad microbiana potencialmente más adaptada a condiciones de saturación, podría estar contribuyendo a un umbral de EPSA más elevado en el modelo utilizado, en comparación con otros suelos menos influenciados por estas condiciones de anegamiento.

Luego la presencia o no de leguminosas (a través de la práctica de promoción de *Lotus*) y el contenido de nitratos fueron las variables que separaron los grupos de emisiones más altas. Respecto al contenido de nitratos, además, fue la variable más importante para la separación de los nodos del árbol de regresión, lo que indica que es la variable de mayor jerarquía en cuanto a la distinción de los grupos de alta y muy alta emisión de N₂O. La utilización de métodos estadísticos multivariados permitió jerarquizar la influencia de las diferentes variables reguladoras de la emisión, lo cual resulta novedoso, ya que, en varios trabajos, si bien se puede ver la tendencia de las emisiones de N₂O a ser más altas cuando mayores son los valores de nitratos en suelo, cuando se realizan correlaciones de manera individual es muy difícil observar diferencias significativas por la alta variabilidad tanto de los nitratos en suelo como de las emisiones de N₂O.

En emisiones acumuladas de N_2O se observa nuevamente, como fue explicado en capítulos anteriores, que la orina debido a su alto contenido de N, es una fuente importante de emisiones de N_2O y los resultados más significativos de este experimento ocurren, en la mayoría de los casos en los tratamientos con aplicaciones de orina. Esto coincide con lo mencionado por el árbol de regresión construido, siendo el tipo de excreta la primera variable explicativa de la emisión de N_2O en estos sistemas y es un resultado consistente que se repite a lo largo de toda la tesis. En este experimento no se han encontrado diferencias en las concentraciones de N de la orina proveniente de animales pasando en potreros con PL y SPL (Datos presentados y discutidos en Capítulo 3 y 4). Por lo tanto, las diferencias que se pueden encontrar están más relacionadas con el ciclado del N en el suelo y no con el contenido de N aplicado, a pesar de haber usado orinas diferenciadas de los dos tipos de recursos forrajeros. En 2014, Lessa et al. observaron en el caso de los animales alimentados en sistemas de pastoreo extensivo en Brasil, donde la fertilización es raramente practicada, hay una tendencia a una mayor recalcitrancia de las heces y una disminución en el contenido de N de las heces y la orina excretadas con respecto a sistemas más intensivos. Además, aunque en la mayoría de las estaciones y manejos, los suelos con aplicación de excretas son los que más emiten, se puede observar comparativamente que las emisiones de base de suelos sin excretas (controles) varían entre estaciones, pero en ningún momento del año muestran diferencias significativas entre los tratamientos SPL y PL. Esto indicaría que la presencia de leguminosas en estos suelos no afecta la emisión de N_2O del suelo per se, sino que el efecto está en la forma en que el N, que ingresa a través de las excretas, cicla, como se explicó en los capítulos 3 y 4. Por lo tanto, las diferencias que se pueden encontrar están más relacionadas al ciclado del N en el suelo y no al contenido de N aplicado, a pesar de haber usado orinas diferenciadas de los dos tipos de recursos forrajeros. En invierno por ejemplo se puede

ver que las emisiones en PL son significativamente mayores a SPL en los tratamientos con excreta. Esto podría suceder porque invierno la cobertura del tapiz vegetal es mucho menor en los pastizales con PL y, aunque el promedio de EPSA y nitratos es igual, la temperatura del suelo promedio de todo el muestreo de invierno muestra un incremento para PL (con 9,4°C respecto de 8.7°C) lo que podría traducirse en un incremento leve siendo la temperatura el principal factor limitante. En primavera por otro lado en PL, es un momento de alta fijación porque *Lotus* está estableciéndose, pero aún no es el momento de máxima productividad, por lo que podría haber un aumento del N mineral disponible, siendo los nitratos promedio de la estación de 57 mg .kg suelo seco en suelos que recibieron aplicación de orina. Estas condiciones promedio cumplen la premisa del árbol de regresión postulado, para tener la mayoría de las emisiones del grupo altas (Temperatura > 16°C, EPSA > 78%, con promoción de *Lotus tenuis* y nitratos en suelo < 82 ppm). Si estas condiciones se repiten a lo largo de todo el experimento, podrían dar lugar a acumulaciones muy significativas de N₂O, como ocurre en este tratamiento. En primavera, en SPL, las condiciones promedio (Temperatura > 16°C, EPSA > 78%, sin promoción de *Lotus tenuis* y nitratos en suelo < 82 ppm) resultan en emisiones mayoritariamente moderadas, lo que se refleja en una acumulación de N₂O más progresiva y de menor magnitud. De manera inversa, en otoño, el tratamiento con orina en SPL emite mucho más que el tratamiento PL. Esto probablemente se deba al consumo de agua por parte de *Lotus tenuis*, que está en un momento de rebrote y alta producción de biomasa, mientras que el pastizal, con especies típicas de otoño-invierno-primavera, no está en su periodo de mayor producción de biomasa. En este caso, los valores promedio de EPSA son del 90% en SPL y del 60% en *Lotus*. Estos resultados coinciden con los estudios de Lessa (2014) y Smith (2003), que postulan que la combinación de una alta disponibilidad de N mineral en el suelo y un alto EPSA se considera un desencadenante

para la inducción de flujos de N₂O en el suelo, siempre y cuando no haya otro factor limitante importante en el sistema. En primavera, el factor limitante es el contenido de nitratos, mientras que, en otoño, el factor limitante para tener más puntos de alta emisión sería la humedad del suelo.

Las diferencias entre los factores de emisión (FE) sugieren que, bajo las condiciones locales y con la presencia o ausencia de *Lotus tenuis*, las emisiones de N₂O son significativamente menores que las estimadas por el IPCC. Estas diferencias podrían atribuirse a características específicas del suelo o a condiciones climáticas locales que no se reflejan en los FE de nivel 1 del IPCC. De hecho, utilizar los factores de emisión por defecto del IPCC podría llevar a sobreestimar hasta 18 veces las emisiones anuales de N₂O en la Cuenca del Salado, una de las regiones ganaderas más importantes a nivel nacional. Otros estudios han reportado repetidamente factores de emisión de N₂O en excretas en pastizales menores a los propuestos por el IPCC (Ongaratto et al., 2023; Zhu et al., 2021; Marsden et al., 2018), incluso después de la actualización de las directrices en 2019, que desagregó y redujo el factor de emisión de las excretas (IPCC, 2019)

En cuanto al almacenaje de C, tanto los sistemas SPL como PL lograron incrementarlo en comparación con un suelo de referencia. Según una revisión realizada por Guenet et al. en 2021, la inclusión de leguminosas en los pastizales, entre otras prácticas de manejo, ha demostrado que, aunque pueda haber un aumento en las emisiones de N₂O, este no es suficiente para anular el potencial de secuestro de C y la reducción de gases de efecto invernadero (GEI) que estas prácticas pueden lograr. Es posible que el mayor almacenamiento de C en los pastizales SPL se deba al mayor tiempo de implementación de esta práctica en los potreros (45 años), con respecto al tiempo que lleva la promoción de *Lotus tenuis* (18 años).

Con respecto a los valores de Almacenaje de C mayores para el pastizal SPL este trabajo se diferencia de los de Conant et. al. (2017), quienes han observado que la inclusión de leguminosas en el pastizal incrementó el almacenaje de C en los suelos en varios experimentos entre los 20 y los 100 cm. Sin embargo, Rodríguez et. al. (2022) observaron que los efectos positivos de las leguminosas en el almacenaje de C podrían desaparecer cuando la composición de leguminosas en el pastizal es muy alta, al perder el equilibrio entre leguminosas y gramíneas del ecosistema como el caso de la promoción de *Lotus tenuis* que, en verano, puede alcanzar altos niveles (90-100%) de cobertura con la leguminosa. A su vez Cong et al. (2014) encontraron evidencia de que la entrada adicional de N dada por la fijación biológica de N no es requisito indispensable para lograr altos niveles de almacenaje de C en el suelo. De cualquier manera, la promoción de *Lotus* es una práctica de manejo que puede ser beneficiosa en múltiples aspectos del sistema productivo y mostró un incremento del Almacenaje de C respecto a la situación de referencia y una altísima compensación de las emisiones de N₂O, lo que lo hace una práctica a tener en cuenta independientemente de que el pastizal sin manejo pueda haber almacenado más C.

Sin embargo, para interpretar el balance total de carbono del sistema, es importante considerar otras fuentes de entrada y salida de C. Entre las entradas de carbono, además del secuestro en el suelo vía fotosíntesis, se incluyen los aportes de biomasa aérea y radicular, así como la incorporación de materia orgánica de origen animal a través de excretas. Por otro lado, dentro de las pérdidas de carbono, además de la emisión de N₂O derivada de las excretas, se deben considerar las emisiones de CH₄ entérico proveniente de la fermentación ruminal, las emisiones de CH₄ y CO₂ desde la degradación de materia orgánica en el estiércol y en el suelo, y la respiración microbiana. También pueden ocurrir pérdidas de carbono por erosión del suelo y lixiviación de compuestos orgánicos disueltos

En este sentido, la inclusión de *Lotus tenuis* en los sistemas pastoriles no solo ha demostrado mejorar la calidad del forraje, sino que también ha sido identificada como una estrategia potencial para la mitigación de emisiones de CH₄ entérico en la Cuenca del Salado, Argentina. Se ha reportado una reducción del 17% en las emisiones diarias de CH₄ en bovinos alimentados con pasturas con predominancia de *Lotus tenuis*, en comparación con pasturas naturalizadas con predominancia de gramíneas (González et al., 2024). La integración de estos flujos en futuras estimaciones permitiría una evaluación más completa del impacto neto de estos sistemas pastoriles sobre el balance de carbono y su contribución a la mitigación del cambio climático

5.6 Conclusiones

La temperatura del suelo fue identificada como el factor de mayor jerarquía en la regulación de la emisión de N₂O y el tipo de excreta como la variable principal en la explicación de la separación de grupos de emisión de N₂O. El efecto de *Lotus tenuis* sobre la emisión de N₂O mostró un componente estacional, vinculado al ciclo del nitrógeno en las distintas etapas de las comunidades vegetales del pastizal.

No se rechaza la hipótesis 5.1 que planteaba que la promoción de *Lotus* en los pastizales estimularía la emisión de N₂O en comparación con pastizales compuestos mayoritariamente por gramíneas, los resultados indicaron una mayor contribución de la orina, (tratamiento que produjo más emisión de N₂O) en sistemas con *Lotus*. Los resultados muestran que la presencia de *Lotus tenuis* efectivamente interactúa con las condiciones del suelo y la dinámica del nitrógeno para influir en las emisiones de N₂O, aunque este efecto es complejo y depende de múltiples factores.

Respecto a la Hipótesis 5.2, que postulaba que el factor de emisión de N-NO₃ de excretas establecido por el IPCC diferiría del medido a campo debido a la falta de

consideración de las condiciones ambientales locales, los resultados mostraron que los factores de emisión (FE) obtenidos de orina y heces fueron entre 11 y 64 veces menores que los propuestos por el IPCC en su actualización de 2019. Esto confirma que los FE medidos localmente reflejan mejor las condiciones específicas de la Cuenca del Salado, subrayando la necesidad de desarrollar FE adaptados a las condiciones locales en futuros estudios, en lugar de utilizar los valores por defecto del IPCC.

Finalmente, los resultados del estudio apoyan la Hipótesis 5.3, ya que se observó una tasa positiva de secuestro de C tanto en los PL como en SPL. Aunque en SPL mostraron una mayor tasa de secuestro de C, en PL también resultó en un almacenamiento consistente y positivo de C en suelos Natracuoles. A pesar del incremento en las emisiones de N₂O en sistemas con *Lotus*, el balance entre las emisiones de N₂O y el secuestro de C fue positivo, destacando el efecto compensador de las leguminosas en términos de mitigación del cambio climático.

Capítulo 6.

Discusión general y conclusiones finales

6.1. Introducción

Este capítulo presenta una síntesis de los principales resultados obtenidos en esta tesis, analizando sus implicancias en un contexto más amplio y explorando los posibles escenarios futuros que podrían derivarse de estos hallazgos. La discusión se organiza en tres secciones: a) hallazgos principales, b) implicancias prácticas y metodológicas y d) recomendaciones y posibles líneas de investigación futuras.

6.2. Hallazgos principales

El objetivo general de esta tesis fue estudiar las emisiones de N₂O y el almacenaje de C, producidos en un suelo de pastizal dedicado a la ganadería con pastoreo directo, con y sin promoción de *Lotus tenuis*. En diversos estudios se han postulado a algunas variables del suelo como la temperatura, el EPSA y la concentración de nitratos en el suelo reguladoras de la emisión de N₂O proveniente de sistemas agrícolas (Liu et al., 2024, Wang et al., 2021). Sin embargo, es necesario tener en cuenta diferencias fundamentales en la evaluación de las emisiones de N₂O entre la ganadería y la agricultura, derivadas de la forma en que el N se deposita y distribuye en el suelo. A diferencia de la agricultura, donde es relativamente simple extrapolar las emisiones a gran escala, en los sistemas ganaderos, la deposición irregular de excretas en parches de pasturas complica significativamente el análisis. Particularmente los parches de orina, identificados como "puntos calientes" de alta carga de N, representan fuentes críticas de pérdidas de N que pueden tener un impacto ambiental considerable. Es por esto por lo que inicialmente se realizó un experimento manipulativo (Capítulo 2) en condiciones controladas, utilizando orina artificial para explorar un rango de volúmenes y concentraciones de N, que permitió un análisis más profundo de estos factores como reguladores las emisiones de N₂O. La alta variabilidad que existe en los

volúmenes de orina y las concentraciones de N entre animales, incluso de la misma especie, destacó la complejidad de relacionar estos factores con el tamaño y efecto de los parches de orina. Se observó que a partir de un volumen umbral de 0.926 litros, el área de suelo humedecida no se incrementa proporcionalmente, lo que afecta la distribución de N en el suelo y, en consecuencia, las emisiones. En términos de las hipótesis propuestas, los resultados confirmaron que el volumen y la concentración de N en la orina efectivamente regulan las emisiones de N₂O desde los parches en pastizales. Como sugiere la primera hipótesis, un mayor volumen de orina amplía la superficie de impacto y una mayor concentración de N en la orina aumenta la carga de N por unidad de área. Esta combinación intensificaría los procesos microbianos, como la nitrificación y desnitrificación, que son responsables de la producción de N₂O, especialmente en los parches con altas cargas de N. Este estudio también reveló un papel primordial de la temperatura del suelo y el EPSA, desempeñando un papel modulador en las emisiones de N₂O. Así, el volumen y la concentración de N en la orina solo mostraron ser reguladores de importancia, siempre que se cumplieran umbrales mínimos de temperatura del suelo y EPSA. En este estudio esos valores umbrales fueron de 17°C y de 58% para temperatura del suelo y EPSA, respectivamente. Además, la temperatura del suelo se identificó como el factor más influyente, indicando que, en épocas con temperaturas elevadas, las emisiones pueden ser significativamente mayores, mientras que, en condiciones menos cálidas, las propiedades del suelo, como su capacidad de retención de agua y absorción de nitrógeno, adquieren un papel moderador crucial. Estos resultados enfatizan la necesidad de generar más datos sobre la cantidad de N depositada en pastizales y sobre la distribución espacial y temporal de los parches de orina. A lo largo de esta tesis (Cap. 2, 3, 4 y 5), la temperatura y el EPSA han demostrado nuevamente ser variables

cruciales en la regulación de las emisiones de N₂O incluso en sitios con características ambientales contrastantes (Bangor y la Cuenca del Salado). Sin embargo, los resultados de este estudio también revelan que otras variables, como la concentración de N en la orina y el volumen agregado al suelo, son factores específicos del parche de orina que juegan un papel igualmente importante en la determinación de las emisiones de N₂O.

Luego de estudiar las variables reguladoras relacionadas con la orina en pastizales templados, el enfoque de la investigación se amplió hacia la caracterización de una región ganadera clave en Argentina: la Pampa Deprimida. En los capítulos 3, 4 y 5, se abordó el estudio de las emisiones de N₂O desde suelos hidrohalomórficos, caracterizados por su alta concentración de sales y sodio, considerando las variaciones estacionales y la adición de excretas bovinas. Los resultados obtenidos confirman la complejidad de los procesos que regulan estas emisiones, destacando la importancia de la interacción entre la humedad del suelo, los niveles de nitratos y la temperatura, los cuales, en conjunto, modulan los patrones de emisión. Este enfoque integral subraya la necesidad de considerar estas variables como un sistema interconectado, en lugar de tratarlas como factores aislados.

El tratamiento con orina mostró ser el más significativo en términos de emisiones de N₂O debido a la alta concentración de N fácilmente disponible, mientras que las heces generaron emisiones menores. Sin embargo, al contrastar estos hallazgos obtenidos en un pastizal naturalizado sin manejo, con los obtenidos en un sistema que incluye una gran presencia de leguminosas, como la promoción de *Lotus tenuis* (Capítulo 4), se observan diferencias interesantes. En esos sistemas, si bien los tratamientos con orina continúan mostrando las mayores emisiones de N₂O, la dinámica de emisión cambia en función del ciclo de crecimiento de *Lotus*. Durante la

primavera, se observaron picos más pronunciados de emisión de N₂O, coincidiendo con la fase de alta fijación de *Lotus tenuis*, lo que sugiere que la presencia de leguminosas altera la disponibilidad de N en el suelo y, por ende, la dinámica de las emisiones de N₂O.

Otro hallazgo importante fue que, en invierno, si bien con variaciones, las emisiones de N₂O fueron medibles y contribuyeron significativamente a la acumulación de N₂O emitido a lo largo del año a pesar de las bajas temperaturas, tanto en PL como en SPL. En el pastizal con promoción de *Lotus* se registraron emisiones acumuladas significativas, aunque a un ritmo más progresivo. Esto contrasta con los sistemas sin leguminosas, donde las bajas temperaturas redujeron las emisiones de N₂O. La presencia de *Lotus tenuis* parece mantener una mayor disponibilidad de N mineral durante los meses más fríos, lo que podría explicar la mayor emisión de N₂O.

Luego de caracterizar en profundidad la evolución de la emisión de N₂O y la dinámica de acumulación tanto en pastizales PL como en pastizales SPL, se realizó un análisis comparativo de la emisión acumulada a lo largo de todo el año y se presentaron los factores de emisión de N₂O de heces y orina (Capítulo 5). A su vez se estudió el secuestro de C para cada uno de estos sistemas y se evaluó si este secuestro podía compensar la emisión de N₂O desde las excretas. Por último, a través de un árbol de regresión y clasificación que englobó los datos de ambos sistemas se identificó de manera contundente la temperatura del suelo como el factor más influyente en la dinámica de las emisiones de N₂O, y se destacó el tipo de excreta como la variable principal para explicar las diferencias en los grupos de emisión. Este enfoque permitió desentrañar la compleja interacción entre la excreta y las condiciones ambientales, arrojando resultados inéditos para el contexto nacional. Los factores de emisión (FE) de orina en SPL y PL fueron aproximadamente **18 veces** y **11 veces** menores,

respectivamente, que los valores propuestos por el IPCC en su actualización de 2019 para la confección de inventarios nacionales. Este descubrimiento no solo resalta la importancia de desarrollar FE locales, sino que también subraya la necesidad urgente de actualizar las metodologías empleadas en el país para reflejar con mayor precisión las condiciones específicas de nuestros ecosistemas. Estos FE ajustados, más representativos de la realidad local, tienen el potencial de mejorar significativamente la precisión de los inventarios de GEI en Argentina, lo que es crucial para las estrategias de mitigación del cambio climático. Además, los muestreos fueron todos mayores a 30 días y a lo largo de un año corrido como es recomendado por las directrices del IPCC, con lo que los factores de emisión calculados en este trabajo son elegibles para ser elevados al IPCC (López Aipun et al., 2020).

Un hallazgo no menos importante de este capítulo fue una tasa positiva de secuestro de C en ambos tipos de pastizales estudiados: los naturalizados y aquellos promovidos con *Lotus tenuis*. Aunque los pastizales naturalizados mostraron una mayor tasa de secuestro, es notable que la promoción de *Lotus tenuis* en suelos hidrohalmórficos también resultó en un almacenamiento consistente y positivo de C. En términos de las emisiones acumuladas de N₂O por hectárea, se observó una mayor contribución de la orina en sistemas con *Lotus*, lo que indica una interacción compleja entre la dinámica del N, las condiciones del suelo y la estacionalidad. Sin embargo, lo que resulta particularmente destacado es que, a pesar de estas emisiones, el balance neto entre las emisiones de N₂O y el secuestro de C fue positivo en suelos hidrohalmórficos promovidos con *Lotus*. Esto subraya la importancia de considerar no sólo los beneficios edáficos de la leguminosa, sino también sus ventajas técnicas y socioeconómicas, al ser una opción viable y beneficiosa en términos productivos por el incremento de la calidad y la oferta forrajera y ambientales porque no implica que

el balance entre el N₂O emitido y secuestro de C deje de ser positivo. Estos hallazgos no solo enriquecen el conocimiento sobre la dinámica de los ciclos de N y C en suelos con halomorfismo, sino que también proporcionan datos críticos para la mitigación del cambio climático en el sector ganadero.

6.3. Implicancias prácticas y metodológicas

Este estudio proporciona una contribución significativa tanto en el ámbito científico como en la gestión práctica de sistemas pastoriles. En el plano científico, aporta nuevos datos sobre las emisiones de N₂O en sistemas ganaderos bajo distintas condiciones de manejo, mejorando la comprensión de los factores que regulan estos procesos. Desde una perspectiva aplicada, los resultados pueden informar estrategias de manejo agropecuario sostenible, optimizando la implementación de prácticas que reduzcan las emisiones de GEI sin comprometer la productividad. Además, estos hallazgos pueden servir como insumo para la formulación de políticas públicas, orientadas a la mitigación del impacto ambiental del sector ganadero y al desarrollo de marcos regulatorios basados en evidencia científica.

Desarrollo de factores de emisión locales: Los factores de emisión (FE) obtenidos en este estudio son considerablemente más bajos que los propuestos por el IPCC, lo que subraya la necesidad de desarrollar y utilizar FE locales para reflejar con mayor precisión las condiciones específicas de los ecosistemas argentinos. Esta adaptación local es necesaria para mejorar la exactitud de los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero y para diseñar estrategias de mitigación del cambio climático más efectivas y relevantes a nivel regional. La cuantificación y mitigación de las emisiones de N₂O es crucial para el cumplimiento de los compromisos internacionales de Argentina en materia de cambio climático. Las Contribuciones

Determinadas a Nivel Nacional (NDC) de Argentina, presentadas en el marco del Acuerdo de París, incluyen metas específicas para la reducción de emisiones de GEI en el sector agrícola y ganadero. Particularmente en este sitio de estudio, los suelos hidrohalmórficos, caracterizados por su alto contenido de sodio y condiciones salinas, presentan particularidades que pueden influir en las de N₂O. Las condiciones de salinidad en estos suelos pueden afectar tanto la disponibilidad de N como la actividad microbiana, que son factores cruciales en la producción y emisión de N₂O. Los factores de emisión del IPCC no siempre capturan estas variaciones locales y específicas del suelo, lo que puede llevar a subestimaciones o sobreestimaciones de las emisiones reales. Por lo tanto, la aplicabilidad de los factores de emisión del IPCC a los suelos hidrohalmórficos específicos requiere un ajuste basado en datos locales. Estudios detallados y mediciones directas en estos suelos pueden proporcionar FE más precisos, reflejando mejor las condiciones locales y mejorando la exactitud de los inventarios de GEI. Esta adaptación es crucial para desarrollar estrategias de mitigación efectivas y específicas para las condiciones locales, asegurando una gestión ambiental más precisa y sostenible.

Promoción de *Lotus tenuis*: Los resultados destacan la importancia de inclusión de leguminosas como *Lotus tenuis* en los pastizales. Los resultados muestran que, aunque la orina de los animales es una fuente significativa de emisiones de N₂O, la promoción de *Lotus tenuis* incrementa la calidad del pastizal y la oferta forrajera, sin comprometer un balance positivo entre el secuestro de C y las emisiones de N₂O. Esto implica que prácticas de manejo que integren leguminosas podrían ser una estrategia eficaz para mejorar la sostenibilidad ambiental de los sistemas ganaderos.

Enfoque Integrador en la Evaluación de Emisiones: se demostró la importancia de un enfoque integrador que considere no solo los factores individuales,

como el tipo de excreta o el contenido de N, sino también la interacción entre estos y las variables ambientales como la temperatura del suelo, el EPSA, la concentración de nitratos. Este enfoque permite una comprensión más completa de la dinámica de emisiones de N₂O y puede servir como modelo para futuros estudios en otros ecosistemas o bajo diferentes condiciones climáticas.

Uso de Modelos de Clasificación y Regresión: La aplicación de árboles de regresión y clasificación ha sido fundamental para identificar los principales factores que influyen en las emisiones de N₂O. Esta metodología ha demostrado ser eficaz para desentrañar la compleja interacción entre variables múltiples y ofrece un marco robusto que puede ser aplicado a otros estudios de emisiones de GEI. Además, este enfoque puede ser utilizado para desarrollar modelos predictivos más precisos que puedan informar la toma de decisiones en la gestión agropecuaria.

Monitoreo y Medición a Largo Plazo: Los hallazgos de este estudio, que incluyen la variabilidad estacional de las emisiones y el secuestro de C, subrayan la necesidad de realizar monitoreos y mediciones a largo plazo. Estos datos a largo plazo son esenciales para capturar la variabilidad y las tendencias en la dinámica del N₂O, lo que permite una mejor evaluación de los impactos de diferentes prácticas de manejo sobre el clima.

6.4. Planes y posibles líneas de investigación futuras

De los resultados obtenidos se derivan los siguientes planes y posibles líneas de investigación a abrirse en el futuro

Expansión geográfica del estudio de emisiones de N₂O: Una línea de investigación futura podría centrarse en expandir el estudio de las emisiones de N₂O en parches de excreta a diferentes regiones agroecológicas de Argentina, que presentan

diversas características de suelo y clima. Esto incluiría el análisis de suelos en regiones áridas, semiáridas y húmedas, así como en diferentes altitudes y tipos de vegetación. El objetivo sería determinar si los patrones observados en suelos hidrohalmórficos son consistentes en otras áreas o si se requieren ajustes específicos en los FE.

Impacto de diversas leguminosas en las emisiones de N₂O: Dado el éxito observado con *Lotus tenuis*, sería valioso investigar el impacto de otras leguminosas nativas o introducidas en las emisiones de N₂O y el secuestro de C en sistemas pastoriles. Comparar diferentes especies de leguminosas podría ayudar a identificar las opciones más efectivas para la integración en distintos tipos de pastizales, optimizando los beneficios ambientales y productivos.

Evaluación de estrategias de mitigación complementarias: Se propone investigar el impacto de la implementación de estrategias de mitigación complementarias, como el uso de inhibidores de nitrificación, biochar, o la incorporación de sistemas de pastoreo rotacional y silvopastoriles en la reducción de las emisiones de N₂O. Estas prácticas podrían ser evaluadas no solo en términos de su efectividad para mitigar las emisiones, sino también en relación con su viabilidad económica y su aceptación por parte de los productores. Estas estrategias podrían potencialmente reducir aún más las emisiones de N₂O y aumentar el secuestro de C, optimizando los beneficios ambientales del manejo de pastizales.

Interacción entre emisiones de N₂O y otros gases de efecto invernadero: Sería interesante explorar cómo las prácticas de manejo del suelo y del pastizal influyen en la emisión de otros GEI, como el CH₄ y el CO₂. Esta línea de investigación permitiría desarrollar una visión más completa del balance de C en los sistemas pastoriles y

contribuiría a la formulación de estrategias integradas para la mitigación del cambio climático.

Modelización Predictiva de Emisiones de N₂O y Secuestro de C: Basado en los datos recopilados, es recomendable desarrollar y perfeccionar modelos predictivos que puedan simular las emisiones de N₂O y el secuestro de C bajo diferentes escenarios de manejo y condiciones climáticas. Estos modelos servirán como herramientas cruciales para la toma de decisiones en la gestión agropecuaria y en la formulación de políticas públicas.

Efectos de la biodiversidad del suelo en las emisiones de N₂O: Investigar la relación entre la biodiversidad del suelo, especialmente la microbiota involucrada en los ciclos del N, y las emisiones de N₂O. Esto podría abrir nuevas vías para manejar las emisiones a través del manejo de la salud del suelo, fomentando comunidades microbianas que reduzcan las emisiones de GEI.

Integración de datos socioeconómicos en estrategias de mitigación:

Finalmente, sería relevante explorar cómo integrar datos socioeconómicos en el desarrollo de estrategias de mitigación de emisiones de N₂O. Esto incluiría analizar la rentabilidad de diferentes prácticas de manejo del pastizal y la disposición de los productores a adoptar nuevas tecnologías, asegurando que las estrategias de mitigación sean tanto efectivas como económicamente viables.

Estas líneas de investigación futuras tienen el potencial de ampliar significativamente el conocimiento existente y contribuir a la sostenibilidad de los sistemas agropecuarios en Argentina, mientras se avanza en los esfuerzos globales por mitigar el cambio climático.

Bibliografía

Ábalos, D., Sanz-Cobena, A., Aabalosndreu, G. y Vallejo, A. (2017). Rainfall amount and distribution regulate DMPP effects on nitrous oxide emissions under semiarid Mediterranean conditions. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 238, 36-45.

Acosta, A.P., Rossi, J.L., Acosta, G.R., Bailleres, M., Golluscio, R., Schor, A. y Filippini, S. (2015). Grazing behavior and productive response of steers in a *Lotus tenuis* pasture. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 24, 11-14.

Alfaro, M., Hube, S., Salazar, F., Beltrán, I., Rodriguez, M., Ramírez, L. y Sagar, S. (2022). Soil greenhouse gas emissions in different pastures implemented as a management strategy for climate change. *Agronomy*, 12(5), 1097.

Álvarez, C., Costantini, A., Álvarez, C.R., Alves, B.J., Jantalia, C.P., Martellotto, E.E. y Urquiaga, S. (2012). Soil nitrous oxide emissions under different management practices in the semiarid region of the Argentinian Pampas. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 94, 209-220.

Alves, B.J.R., Smith, K.A., Flores, R.A., Cardoso, A.S., Oliveira, W.R.D., Jantalia, C.P., Urquiaga, S y Boddey, R.M. (2012). Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean N₂O flux from soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 46, 129–135.

Amadori, C., Dieckow, J., Zanatta, J. A., de Moraes, A., Zaman, M. y Bayer, C. (2022). Nitrous oxide and methane emissions from soil under integrated farming systems in southern Brazil. *Science of The Total Environment*, 828, 154555. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154555>

Amato, M., Ladd, J. N., Ellington, A., Ford, G., Mahoney, J. E., Taylor, A. C. y Walscott, D. (1987). Decomposition of plant material in Australian soils. IV.

Decomposition in situ of ¹⁴C labeled and ¹⁵N labeled legume and wheat materials in a range of southern Australian soils. *Soil Research*, 25(1), 95-105.

Araujo, P. I., Piñeiro-Guerra, J. M., Yahdjian, L., Acreche, M. M., Álvarez, C., Álvarez, C. R., Costantini, A., Chalco Vera, J. M., De Tellería, T., Della Chiesa, N., Lewczuk, N. A., Petrasek, M., Piccinetti, C. F., Picone, L., Portela, S. I., Posse, G., Seijo, M. C., Videla, C. y Piñeiro, G. (2021). Drivers of N₂O emissions from natural forests and grasslands differ in space and time. *Ecosystems*, 24(2), 335-350. <https://doi.org/10.1007/S10021-020-00522-7>

Bai, Y., y Cotrufo, M. F. (2022). Grassland soil carbon sequestration: Current understanding, challenges, and solutions. *Science*, 377(6606), 603-608.

Bailleres, M., Campestre, M. P., Antonelli, C. J., Melani, G., Menéndez, A. y Ruiz, O. A. (2020). Promotion of *Lotus tenuis* and calf early weaning as a good management practice for breeding herds in marginal soils of the Flooding Pampa (Argentina). *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 46(2), 267-274.

Barneze, A. S., Whitaker, J., McNamara, N. P. y Ostle, N. J. (2020). Legumes increase grassland productivity with no effect on nitrous oxide emissions. *Plant and Soil*, 446(1), 163-177.

Barton, L., Kiese, R., Gatter, D., Butterbach-Bahl, K., Buck, R., Hinz, C. y Murphy, D. V. (2008). Nitrous oxide emissions from a cropped soil in a semi-arid climate. *Global Change Biology*, 14(1), 177-192.

Batalla, I., Knudsen, M. T., Mogensen, L., del Hierro, Ó., Pinto, M. y Hermansen, J. E. (2015). Carbon footprint of milk from sheep farming systems in Northern Spain including soil carbon sequestration in grasslands. *Journal of Cleaner Production*, 104, 121-129.

Bell, M. J., Rees, R. M., Cloy, J. M., Topp, C. F. E., Bagnall, A. y Chadwick, D. R. (2015). Nitrous oxide emissions from cattle excreta applied to a Scottish grassland: effects of soil and climatic conditions and a nitrification inhibitor. *Science of the Total Environment*, 508, 343-353.

Betteridge, K., Andrewes, W. G. K., y Sedcole, J. R. (1986). Intake and excretion of nitrogen, potassium and phosphorus by grazing steers. *The Journal of Agricultural Science*, 106(2), 393-404.

Betteridge, K., Costall, D., Balladur, S., Upsdell, M., y Umemura, K. (2010). Urine distribution and grazing behaviour of female sheep and cattle grazing a steep New Zealand hill pasture. *Animal Production Science*, 50(6), 624-629.

Blake, G. R. y Hartge, K. H. (1986). Bulk density (pp. 363-382). En A. Klute (Ed.), *Methods of soil analysis. Part 1—Physical and mineralogical methods* (2nd ed., Agronomy Monograph 9). American Society of Agronomy—Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.

Boddey, R. M., Casagrande, D. R., Homem, B. G., y Alves, B. J. (2020). Forage legumes in grass pastures in tropical Brazil and likely impacts on greenhouse gas emissions: A review. *Grass and Forage Science*, 75(4), 357-371.

Bouyoucos, G.J. (1927). The hydrometer as a new method for the mechanical analysis of soils. *Soil Science*, 23, 343-354.

Bronson, K. F. y Fillery, I. R. P. (1998). Fate of nitrogen-15-labelled urea applied to wheat on a waterlogged texture-contrast soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 51, 175–183.

Butterbach-Bahl, K., Baggs, E.M., Dannenmann, M., Kiese, R. y Zechmeister-Boltenstern, S. (2013). Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls?. *Philosophical Transaction of the Royal Society*, 368,1-13.

Butterbach-Bahl, K., Stange, F., Papen, H., Grell, G., y Li, C. (2000). Impact of changes in temperature and precipitation on N₂O and NO emissions from forest soils. In *Non-CO₂ Greenhouse Gases: Scientific Understanding, Control and Implementation: Proceedings of the Second International Symposium*, Noordwijkerhout, The Netherlands, 8–10 September 1999 (pp. 165-171). Springer Netherlands.

Byrnes, R. C., Nùñez, J., Arenas, L., Rao, I., Trujillo, C., Alvarez, C., Arango, J., Rasche, F. y Chirinda, N. (2017). Biological nitrification inhibition by *Brachiaria* grasses mitigates soil nitrous oxide emissions from bovine urine patches. *Soil Biology and Biochemistry*, 107, 156-163. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.029>

Cai, Y. y Akiyama, H. (2016). Nitrogen loss factors of nitrogen trace gas emissions and leaching from excreta patches in grassland ecosystems: A summary of available data. *Science of the Total Environment*, 572, 185-195.

Cardoso, A.S., Berndt, A., Leytem, A., Alves, B.J., de Carvalho, I.D.N., de Barros Soares, L.H, Urquiaga, S y Boddey, R.M. (2016). Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. *Agricultural Systems*, 143, 86-96.

Cardoso, A., Oliveira, S. C., Januszkiewicz, E. R., Brito, L. F., da Silva Morgado, E., Reis, R. A. y Ruggieri, A. C. (2019). Seasonal effects on ammonia, nitrous oxide,

and methane emissions for beef cattle excreta and urea fertilizer applied to a tropical pasture. *Soil and Tillage Research*, 194, 104341.

Cardoso, A. da S., Alari, F. de O., de Andrade, N., da Silva Nascimento, T., Scarpino van Cleef, F. de O., Rodrigues Alves, B. J., Ruggieri, A. C., y Malheiros, E. B. (2022). Nitrous oxide emissions in silvopastoral systems: Key driving variables and seasonality. *Agricultural and Forest Meteorology*, 316, 108851. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2022.108851>

Cataldo, D.A., Maroon, M., Schrader, L.E. y Youngs, V.L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in soil science and plant analysis*, 6, 71-80.

Cesa, A., Rodriguez, A., Otondo, J., Melani, E., Ressia, M. A., Melani, G., Maletti, E. J., Irisarri, G. y Oyarzabal, M. (2019). *Estado de situación en la Cuenca del Salado: Una mirada al forraje y la hacienda, pensando en el servicio*. INTA EEA Cuenca del Salado y Laboratorio de análisis regional y teledetección FAUBA-CONICET.

Chadwick, D. R., Cardenas, L., Misselbrook, T. H., Smith, K. A., Rees, R. M., Watson, C. J y Dhanoa, M. S. (2014). Optimizing chamber methods for measuring nitrous oxide emissions from plot-based agricultural experiments. *European Journal of Soil Science*, 65(2), 295-307.

Chadwick, D. R., Cardenas, L. M., Dhanoa, M. S., Donovan, N., Misselbrook, T., Williams, J. R., Thorman, R. E., McGeough, K. L., Watson, C. J., Bell, M., Anthony, S. G. y Rees, R. M. (2018). The contribution of cattle urine and dung to nitrous oxide emissions: Quantification of country-specific emission factors and implications for

national inventories. *Science of the Total Environment*, 635, 607-617.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.152>

Chataut, G., Bhatta, B., Joshi, D., Subedi, K. y Kafle, K. (2023). Greenhouse gases emission from agricultural soil: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 11, 100533.

Chen, C., Han, H., Meng, Y., Gong, H., Jia, R., Xu, T. y Li, J. (2021). Total and denitrifying bacterial communities associated with the interception of nitrate leaching by carbon amendment in the subsoil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 2559-2572.

Chirinda, N., Loaiza, S., Arenas, L., Ruiz, V., Faverín, C., Alvarez, C., Savian, J. V., Belfon, R., Zuniga, K., Morales-Rincon, L. A., Trujillo, C., Arango, M., Rao, I., Arango, J., Peters, M., Barahona, R., Costa Jr., C., Rosenstock, T. S., Richards, M., ... Cardenas, L. (2019). Adequate vegetative cover decreases nitrous oxide emissions from cattle urine deposited in grazed pastures under rainy season conditions. *Scientific Reports*, 9, 908. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37453-2>

Clark, C. E. F., McLeod, K. L. M., Glassey, C. B., Gregorini, P., Costall, D. A., Betteridge, K. y Jago, J. G. (2010). Capturing urine while maintaining pasture intake, milk production, and animal welfare of dairy cows in early and late lactation. *Journal of Dairy Science*, 93(5), 2280-2286.

Clough, T. J., Cardenas, L. M., Friedl, J. y Wolf, B. (2020). Nitrous oxide emissions from ruminant urine: science and mitigation for intensively managed perennial pastures. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 47, 21-27.

Conant, R. T., Paustian, K., y Elliott, E. T. (2001). Grassland management and conversion into grassland: effects on soil carbon. *Ecological applications*, 11(2), 343-355.

Conant, R. T., Cerri, C. E., Osborne, B. B. y Paustian, K. (2017). Grassland management impacts on soil carbon stocks: a new synthesis. *Ecological Applications*, 27(2), 662-668.

Cong, W. F., van Ruijven, J., Mommer, L., De Deyn, G. B., Berendse, F yHoffland, E. (2014). Plant species richness promotes soil carbon and nitrogen stocks in grasslands without legumes. *Journal of ecology*, 102(5), 1163-1170.

Cosentino, V. R. N, Fernandez, P. L., Figueiro Aureggi, S. A. y Taboada, M. A. (2012). N₂O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36, 1814-1819.

Cosentino, V.R.N., Figueiro Aureggi, S.A. y Taboada, M.A. (2013). Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. *European journal of Soil Science*, 64, 550-557.

Costa Jr, C., Villegas, D. M., Bastidas, M., Matiz-Rubio, N., Rao, I. y Arango, J. (2022). Soil carbon stocks and nitrous oxide emissions of pasture systems in Orinoquía region of Colombia: Potential for developing land-based greenhouse gas removal projects. *Frontiers in Climate*, 4, 916068.

Cowan, N. J., Levy, P. E., Famulari, D., Anderson, M., Reay, D. S., y Skiba, U. M. (2017). Nitrous oxide emission sources from a mixed livestock farm. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 243, 92-102.

Davidson, E.A. (1993). Soil Water Content and the Ratio of Nitrous Oxide to Nitric Oxide Emitted from Soil. In: Oremland, R.S. (eds) *Biogeochemistry of Global Change*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2812-8_20

De Klein, C. A. M. y Eckard, R. J. (2008). Targeted technologies for nitrous oxide abatement from animal agriculture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48, 14-20.

del Prado, A., Merino, P., Estavillo, J. M., Pinto, M., y González-Murua, C. (2006). N₂O and NO emissions from different N sources and under a range of soil water contents. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 74(3), 229–243. <https://doi.org/10.1007/s10705-006-9001-6>

del Prado, A., Crosson, P., Olesen, J. E. y Rotz, C. A. (2013). Whole-farm models to quantify greenhouse gas emissions and their potential use for linking climate change mitigation and adaptation in temperate grassland ruminant-based farming systems. *Animal*, 7(s2), 373-385.

Desmet, K., y Rossi-Hansberg, E. (2024). Climate change economics over time and space. *Annual Review of Economics*, 16.

Dessureault-Rompré, J., Zebarth, B. J., Georgallas, A., Burton, D. L., Grant, C. A. y Drury, C. F. (2010). Temperature dependence of soil nitrogen mineralization rate: Comparison of mathematical models, reference temperatures and origin of the soils. *Geoderma*, 157(3–4), 97-108. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.04.001>

Di, H. J. y Cameron, K. C. (2000). Calculating nitrogen leaching losses and critical nitrogen application rates in dairy pasture systems using a semi-empirical model. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 43(1), 139-147.

Dijkstra, J., Oenema, O., Van Groenigen, J. W., Spek, J. W., Van Vuuren, A. M., y Bannink, A. (2013). Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. *Animal*, 7(s2), 292-302.

Doak, B. W. (1952). Some chemical changes in the nitrogenous constituents of urine when voided on pasture. *The Journal of Agricultural Science*, 42(1-2), 162-171.

Du, F., Yin, Y., Zhai, L., Zhang, F., Wang, S., Liu, Y., y Liu, H. (2024). Increased anaerobic conditions promote the denitrifying nitrogen removal potential and limit anammox substrate acquisition within paddy irrigation and drainage units. *Science of The Total Environment*, 175616.

Duarte Cueva, F. (2014). Efectos del cambio climático en la economía, el comercio internacional y la estrategia empresarial. *Contabilidad y Negocios*, 9(18), 75-98. <https://doi.org/10.18800/contabilidad.201402.005>

European Commission, Joint Research Centre, Crippa, M., Guizzardi, D., Pagani, F., Banja, M., Muntean, M., Schaaf, E., Monforti-Ferrario, F., Becker, W. E., Quadrelli, R., Risquez Martin, A., Taghavi-Moharamli, P., Köykkä, J., Grassi, G., Rossi, S., Melo, J., Oom, D., Branco, A., San-Miguel, J., Manca, G., Pisoni, E., Vignati, E., y Pekar, F. (2024). *GHG emissions of all world countries*. Publications Office of the European Union. <https://doi.org/10.2760/4002897>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2023). *Pathways towards lower emissions – A global assessment of the greenhouse gas emissions and mitigation options from livestock agrifood systems*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc9029en>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2024).
FAOSTAT: Greenhouse gas emissions. FAOSTAT.
<https://www.fao.org/faostat/en/#data>

Farquharson, R. y Baldock, J. (2008). Concepts in modelling N₂O emissions from land use. *Plant and Soil*, 309(1-2), 147-167. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9465-3>

Faverin, C., Bilotto, F., Fernández Rosso, C., y Machado, C. (2019). Modelación productiva, económica y de gases de efecto invernadero de sistemas típicos de cría bovina de la Pampa Deprimida. *Chilean Journal of Agricultural y Animal Science*, 35(1), 14-25.

Faverin, C., y Tieri, M. P. (2023). Emisiones de gases de efecto invernadero en ganadería. En M. A. Herrero, M. C. Saucedo, y S. Gil (Eds.), *Indicadores ambientales para la producción animal: Con énfasis en la producción animal bovina* (pp. 95-120). Asociación Argentina de Producción Animal (AAPA).

Fernández, H. (2010). Cuadros de composición de alimentos para rumiantes. Recuperado de [http:// www.produccion-animal.com.ar/cuadros_composicion_alimentos/46-Cuadro.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/cuadros_composicion_alimentos/46-Cuadro.pdf)

Fischer, C., y Bilenca, D. (2020). Can we produce more beef without increasing its environmental impact? Argentina as a case study. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 18(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2020.01.001>

Forster, P., Storelvmo, T., Armour, K., Collins, W., Dufresne, J.-L., Frame, D., Lunt, D. J., Mauritsen, T., Palmer, M. D., Watanabe, M., Wild, M., y Zhang, H. (2021). *The Earth's energy budget, climate feedbacks, and climate sensitivity*. En V. Masson-Delmotte, P. Zhai, A. Pirani, S. L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y.

Chen, L. Goldfarb, M. I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J. B. R. Matthews, T. K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, y B. Zhou (Eds.), *Climate change 2021: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 923–1054). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157896.009>

Fucks, E., Pisano, F., Carbonari, J., y Huarte, R. (2012). Aspectos geomorfológicos del sector medio e inferior de la Pampa Deprimida, provincia de Buenos Aires. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 25(1-2), 107-118.

Galbally, I. E., Meyer, M. C., Wang, Y. P., Smith, C. J., y Weeks, I. A. (2010). Nitrous oxide emissions from a legume pasture and the influences of liming and urine addition. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 136(3-4), 262-272.

García, P. E., Menéndez, A. N., Podestá, G., Bert, F., Arora, P. y Jobbágy, E. (2018). Land use as possible strategy for managing water table depth in flat basins with shallow groundwater. *International Journal of River Basin Management*, 16(1), 79-92.

Gardiner, C. A., Clough, T. J., Cameron, K. C., Di, H. J., Edwards, G. R. y de Klein, C. A. (2018). Assessing the Impact of Non-Urea Ruminant Urine Nitrogen Compounds on Urine Patch Nitrous Oxide Emissions. *Journal of environmental quality*, 47(4), 812-819.

Garzón, J.E. y Cárdenas, E.A.(2013). Emisiones antropogénicas de amoníaco, nitratos y óxido nítrico: compuestos nitrogenados que afectan el medio ambiente en el sector agropecuario colombiano. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60, 121-138.

Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A. y Tempio, G. (2013). *Enfrentando el cambio climático a través de la*

ganadería – Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma, Italia. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3437s.pdf>

Gill, M., Smith, P., y Wilkinson, J. M. (2010). Mitigating climate change: The role of domestic livestock. *Animal*, 4, 323–333.

Glasener, K. M., y Palm, C. A. (1995). Ammonia volatilization from tropical legume mulches and green manures on unlimed and limed soils. *Plant and Soil*, 177, 33-41.

Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., y Jebb, S. A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361(6399), eaam5324.

González, F. A., Cosentino, V. R. N., Loza, C., Cerón-Cucchi, M. E., Williams, K. E., Bualó, R., Costantini, A., y Gere, J. I. (2024). Inclusion of *Lotus tenuis* in beef cattle systems in the Argentinian flooding pampa as an enteric methane mitigation strategy. *New Zealand Journal of Agricultural Research*.
<https://doi.org/10.1080/00288233.2024.2333841>

Groffman, P. M., Butterbach-Bahl, K., Fulweiler, R. W., Gold, A. J., Morse, J. L., Stander, E. K., Tague, C., Tonitto, C. y Vidon, P. (2009). Challenges to incorporating spatially and temporally explicit phenomena (hotspots and hot moments) in denitrification models. *Biogeochemistry*, 93(1), 49–77.
<https://doi.org/10.1007/s10533-008-9277-5>

Guenet, B., Gabrielle, B., Chenu, C., Arrouays, D., Balesdent, J., Bernoux, M., ... y Zhou, F. (2021). Can N₂O emissions offset the benefits from soil organic carbon storage? *Global Change Biology*, 27(2), 237-256.

Hall, S. J., Reyes, L., Huang, W. y Homyak, P. M. (2018). Wet spots as hotspots: Moisture responses of nitric and nitrous oxide emissions from poorly drained agricultural soils. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 123(12), 3589-3602.

Harris, R. H., Armstrong, R. D., Wallace, A. J. y Belyaeva, O. N. (2016). Effect of nitrogen fertiliser management on soil mineral nitrogen, nitrous oxide losses, yield and nitrogen uptake of wheat growing in waterlogging-prone soils of south-eastern Australia. *Soil Research*, 54(5), 619-633.

Haynes, R. J., y Williams, P. H. (1992). Changes in soil solution composition and pH in urine-affected areas of pasture. *Journal of soil Science*, 43(2), 323-334.

Hoogendoorn, C. J., Betteridge, K., Costall, D. A. y Ledgard, S. F. (2010). Nitrogen concentration in the urine of cattle, sheep and deer grazing a common ryegrass/cocksfoot/white clover pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 53(3), 235-243.

Hristov, A.N., Oh, J., Lee, C., Meinen, R., Montes, F., Ott, T., Firkins, J., Rotz, A., Dell, C., Adesogan, A. yang, W., Tricarico, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Dijkstra, J. y Oosting, S. 2013. Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera – Una revisión de las opciones técnicas para la reducción de las emisiones de gases diferentes al CO₂. Editado por Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar. Producción y Sanidad Animal FAO Documento No. 177. FAO, Roma, Italia. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i3288s.pdf>.

Imbellone, P. A., Gimenez, J. E. y Panigatti, J. L. (2010). Suelos de la Región Pampeana. Procesos de formación. Ediciones INTA.

Insausti, P., Chaneton, E. J. y Grimoldi, A. A. (2005). Las inundaciones modifican la estructura y dinámica de la vegetación en los pastizales de la Pampa Deprimida (pp. 253-269). En Oesterheld, M., Aguiar, M. R., Ghersa, C. y Paruelo, J. M. (Eds.), *La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas*. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires.

Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (IPCVA). (2021). *Carne Argentina, carne sustentable*. IPCVA. <https://www.someve.com.ar/images/noticias/2021/Carne-Argentina-carne-sustentable.pdf>

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (1992). *Carta de suelos de la República Argentina. Hoja 3557 - 31 - General Belgrano*. INTA. http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/3557/G_Belgrano/3557-31-1.htm

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (2025). Dinámica del consumo de carnes tradicionales en Argentina. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/inta/cr-buenosaires-norte/indicadores-economicos-e-informes-tecnicos>

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2006). *IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories*. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. Institute for Global Environmental Strategies (IGES).

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2018). *Anexo I: Glosario* (J. B. R. Matthews, Ed.). En *Calentamiento global de 1,5 °C. Informe especial del IPCC sobre los impactos del calentamiento global de 1,5 °C con respecto a los niveles preindustriales y las trayectorias correspondientes que deberían seguir las emisiones*

mundiales de gases de efecto invernadero, en el contexto del reforzamiento de la respuesta mundial a la amenaza del cambio climático, el desarrollo sostenible y los esfuerzos por erradicar la pobreza (V. Masson-Delmotte, P. Zhai, H.-O. Pörtner, D. Roberts, J. Skea, P. R. Shukla, A. Pirani, W. Moufouma-Okia, C. Péan, R. Pidcock, S. Connors, J. B. R. Matthews, Y. Chen, X. Zhou, M. I. Gomis, E. Lonnoy, T. Maycock, M. Tignor, y T. Waterfield, Eds.).

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2019). *2019 Refinement to the 2006 IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories* (E. Calvo Buendia, K. Tanabe, A. Kranjc, J. Baasansuren, M. Fukuda, S. Ngarize, A. Osako, Y. Pyrozhenko, P. Shermanau, y S. Federici, Eds.). IPCC. <https://www.ipcc.ch/report/2019-refinement-to-the-2006-ipcc-guidelines-for-national-greenhouse-gas-inventories/>

Jacobo, E. J., Cadaviz, N., Vecchio, M. C. y Rodriguez, A. M. (2020). Estimación del balance de gases de efecto invernadero en sistemas de producción ganadera de la cuenca del río Salado. *Agriscientia*, 37(1), 15-32.

Jacobo, E., Rodríguez, A., González, J. y Golluscio, R. 2016. Efectos de la intensificación ganadera sobre la eficiencia en el uso de la energía fósil y la conservación del pastizal en la cuenca baja del río Salado, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Agriscientia*, 33: 1-14.

Jaramillo, V. J. y Detling, J. K. (1992). Small-scale heterogeneity in a semi-arid North American grassland. I. Tillering, N uptake and retranslocation in simulated urine patches. *Journal of Applied Ecology*, 1-8.

Jones, C. M., Putz, M., Tiemann, M. y Hallin, S. (2022). Reactive nitrogen restructures and weakens microbial controls of soil N₂O emissions. *Communications biology*, 5(1), 273.

Keeney, D. R., Fillery, I. R. y Marx, G. P. (1979). Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Science Society of America Journal*, 43(6), 1124-1128.

Kool, D. M., Hoffland, E., Hummelink, E. W. y Van Groenigen, J. W. (2006). Increased hippuric acid content of urine can reduce soil N₂O fluxes. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(5), 1021-1027.

Kowalska, A., Pawlewicz, A., Dusza, M., Jaskulak, M. y Grobelak, A. (2020). Plant–soil interactions in soil organic carbon sequestration as a restoration tool. In *Climate change and soil interactions* (pp. 663-688). Elsevier.

Kweku, D. W., Bismark, O., Maxwell, A., Desmond, K. A., Danso, K. B., Oti-Mensah, E. A., ... y Adormaa, B. B. (2018). Greenhouse effect: greenhouse gases and their impact on global warming. *Journal of Scientific research and reports*, 17(6), 1-9.

Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, 304, 1623–1627

Lal, R., Negassa, W. y Lorenz, K. (2015). Carbon sequestration in soil. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 15, 79-86.

Lavado, R. S. y Taboada, M. A. (1988). Water, salt, and sodium dynamics in a Natraquoll in Argentina. *Catena*, 15, 577-594.

Ledgard, S., Schils, R., Eriksen, J. y Luo, J. (2009). Environmental impacts of grazed clover/grass pastures. *Irish journal of Agricultural and food research*, 209-226.

Leitner, S., Homyak, P. M., Blankinship, J. C., Eberwein, J., Jenerette, G. D., Zechmeister-Boltenstern, S. y Schimel, J. P. (2017). Linking NO and N₂O emission pulses with the mobilization of mineral and organic N upon rewetting dry soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 115, 461-466. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.08.023>

Lessa, A. C. R., Madari, B. E., Paredes, D. S., Boddey, R. M., Urquiaga, S., Jantalia, C. P. y Alves, B. J. (2014). Bovine urine and dung deposited on Brazilian savannah pastures contribute differently to direct and indirect soil nitrous oxide emissions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 190, 104-111.

Li, D., Lanigan, G. y Humphreys, J. (2011). Measured and simulated nitrous oxide emissions from ryegrass-and ryegrass/white clover-based grasslands in a moist temperate climate. *PloS one*, 6(10), e26176.

Liu, D., Ma, C., Liu, Y., Mo, Q., Lin, W., Li, W y Han, Q. (2024). Driving soil N₂O emissions under nitrogen application by soil environmental factor changes in garlic-maize rotation systems. *European Journal of Agronomy*, 156, 127167.

Lombardi, B., Alvarado, P. I., Ricci, P., Buraschi, L. M., Viduzzi, G., Palladino, R. A., Gonda, H. L., y Juliarena, M. P. (2022). Combination of cattle urine and dung patches synergically increased nitrous oxide emissions from a temperate grassland under wet conditions. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 340, 108147. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108147>

López-Aizpún, M., Horrocks, C. A., Charteris, A. F., Marsden, K. A., Ciganda, V. S., Evans, J. R., Chadwick, D. R. y Cárdenas, L. M. (2020). Meta-analysis of global livestock urine-derived nitrous oxide emissions from agricultural soils. *Global Change Biology*, 26(4), 2002-2013. <https://doi.org/10.1111/gcb.15012>

Louro, A., Sawamoto, T., Chadwick, D., Pezzolla, D., Bol, R., Báez, D. y Cardenas, L. (2013). Effect of slurry and ammonium nitrate application on greenhouse gas fluxes of a grassland soil under atypical South West England weather conditions. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 181, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.09.018>

Lucas, S. D., y Jones, D. L. (2006). Biodegradation of estrone and 17 β -estradiol in grassland soils amended with animal wastes. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2803-2815.

Luo, J., Lindsey, S. B., y Ledgard, S. F. (2008). Nitrous oxide emissions from animal urine application on a New Zealand pasture. *Biology and Fertility of Soils*, 44(4), 463–470. <https://doi.org/10.1007/s00374-007-0228-4>

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Barrachina, C., Berlanga, M., Gonzalo, M., Diaz, C. y Ruiz Berraquero, F. (2009). *Brock: Biología de los microorganismos* (12^a ed., pp. 774-775). Pearson Educación.

Maguire, V. G., Rodriguez, A. A., Ezquiaga, J. P., Salas, N., Gortari, M., Ayub, N. y Ruiz, O. A. (2022). Analysis of the contribution of *Lotus corniculatus* to soil carbon content in a rice-pasture rotation system. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 340, 108159.

Maljanen, M., Virkajärvi, P., Hytönen, J., Öquist, M., Sparrman, T., y Martikainen, P. J. (2009). Nitrous oxide production in boreal soils with variable organic matter content at low temperature–snow manipulation experiment. *Biogeosciences*, 6(11), 2461-2473.

Maresca, S. (2010). Presente y futuro en la Cuenca. *Revista Ida y Vuelta Rural*, Ediciones INTA, 27, 14-15.

Marinoni, L., Zabala, J. M., Patiño, J. y Pensiero, J. F. (2017). Efecto de la temperatura y salinidad en la germinación y crecimiento inicial de un material naturalizado de *Lotus tenuis* Waldst. y Kit. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 16(2), 47-59.

Marsden, K. A., Jones, D. L., y Chadwick, D. R. (2016). Disentangling the effect of sheep urine patch size and nitrogen loading rate on cumulative N₂O emissions. *Animal Production Science*, 56(3), 265-275.

Marsden, K. A., Holmberg, J. A., Jones, D. L. y Chadwick, D. R. (2018). Sheep urine patch N₂O emissions are lower from extensively-managed than intensively-managed grasslands. *Agriculture, ecosystems y environment*, 265, 264-274.

Martins, M.R., Jantalia, C.P., Polidoro, J.C., Batista, J.N., Alves, B.J., Boddey, R.M. y Urquiaga, S. (2015). Nitrous oxide and ammonia emissions from N fertilization of maize crop under no-till in a Cerrado soil. *Soil and Tillage Research*, 151, 75-81.

McClain, M. E., Boyer, E. W., Dent, C. L., Gergel, S. E., Grimm, N. B., Groffman, P. M., Hart, S. C., Harvey, J. W., Johnston, C. A., Mayorga, E., McDowell, W. H. y Pinay, G. (2003). Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. *Ecosystems*, 6(4), 301-312.

Melaku, N. D., Shrestha, N. K., Wang, J. y Thorman, R. E. (2019). Predicting nitrous oxide emissions after the application of solid manure to grassland in the United Kingdom. *Journal of Environmental Quality*, 49(1), 104-112. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20002>

Milchunas, D. G., y Lauenroth, W. K. (1993). Quantitative effects of grazing on vegetation and soils over a global range of environments. *Ecological Monographs*, 63(4), 327–366. <https://doi.org/10.2307/2937086>

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible [MAyDS]. (2021). *Cuarto Informe Bienal de Actualización de Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC)*. <https://unfccc.int/documents/419772>

Miranda, K. M., Espey, M. G. y Wink, D. A. (2001). Spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5(1), 62-71. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>

Moir J.L., Cameron K.C., Di H.J. y Fertsak U. (2011) The spatial coverage of dairy cattle urine patches in an intensive grazed pasture system. *Journal of Agricultural Science*, 149, 473–485.

Monaghan, R. M. y Barraclough, D. (1993). Nitrous oxide and dinitrogen emissions from urine-affected soil under controlled conditions. *Plant and Soil*, 151, 127-138.

Mulvaney, R. L. (1996). Nitrogen - Inorganic forms. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis, Part 3* (pp. 1123-1184). Soil Science Society of America.

Mustafa, A., Xu, H., Sun, N., Liu, K., Huang, Q., Karimi Nezhad, M. T. y Xu, M. (2023). Long-term fertilization alters the storage and stability of soil organic carbon in Chinese paddy soil. *Agronomy*, 13(6), 1463. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061463>

Nešić, Z., Tomić, Z., Vučković, S. y Ružić-Muslić, D. (2007). Yield of grass-leguminous mixtures depending on the botanical composition and fertilization with nitrogen. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 44(1), 375-379.

Nieva, A. S., Bailleres, M. A., Corriale, M. J., Llames, M. E., Menéndez, A. B. y Ruiz, O. A. (2016). Herbicide-mediated promotion of *Lotus tenuis* (Waldst. y Kit. ex

Wild.) did not influence soil bacterial communities, in soils of the Flooding Pampa, Argentina. *Applied Soil Ecology*, 98, 83-91.

Nieva, A. S., Bailleres, M. A., Llames, M. E., Taboada, M. A., Ruiz, O. A. y Menéndez, A. (2018). Promotion of *Lotus tenuis* in the Flooding Pampa (Argentina) increases the soil fungal diversity. *Fungal Ecology*, 33, 80-91.

Nieva, A. S. y Ruiz, O. A. (2021). *Lotus* spp.: A foreigner that came to stay forever: Economic and environmental changes caused by its naturalization in the Salado River Basin (Argentina). *Saline and Alkaline Soils in Latin America: Natural Resources, Management and Productive Alternatives*, 431-446.

O'Neill, M., Sagggar, S., Richards, K. G., Luo, J., Singh, B. P., Mehra, P., y Forrestal, P. J. (2021). Nitrous oxide emission factors in conventionally and naturally simulated cattle urine patches. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 121(2), 129-147.

Ongaratto, F., Fernandes, M. H. M. da R., Dallantonia, E. E., Lima, L. de O., do Val, G. A., Cardoso, A. da S., Rigobello, I. L., Gomes, L. M., Reis, R. A., Ruggieri, A. C. y Malheiros, E. B. (2023). Effect of the interaction between excreta type and nitrogen fertilizer on greenhouse gas and ammonia emissions in pastures. *Atmosphere*, 14(3), 492. <https://doi.org/10.3390/atmos14030492>

Otondo, J., Melani, E., Casal, A., Coria, D. y Martinefsky, J. (2014). Monitoreo de estado y utilización de pastizales. *Anuario 2014. INTA EEA Cuenca del Salado. Área Investigación*, 39-40.

Page, A. L. (Ed.). (1982). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* (2nd ed.). American Society of Agronomy (Agronomy Series no. 9). Madison, Wisconsin, USA.

Paolilli, M. C., Cabrini, S. M., y Fillat, F. A. (2023). La cadena de carne vacuna en Argentina: período 2000-2022. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino, INTA. Recuperado de <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/10834>

Paruelo, J.M., Guerschman, J.P., Piñeiro, G., Jobbagy, E.G., Verón, S.R., Baldi, G. y Baeza, S. (2006). Cambios en el uso de la tierra en Argentina y Uruguay: marcos conceptuales para su análisis. *Agrociencia*, 10, 47-61.

Peoples, M. B., y Baldock, J. A. (2001). Nitrogen dynamics of pastures: nitrogen fixation inputs, the impact of legumes on soil nitrogen fertility, and the contributions of fixed nitrogen to Australian farming systems. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(3), 327-346.

Perdomo, C., Irisarri, P. y Ernst, O. (2009). Nitrous oxide emissions from an Uruguayan argiudoll under different tillage and rotation treatments. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 84, 119-128.

Perez, M. G., Romaniuk, R., Cosentino, V., Busto, M., Gonzalez, F., Taboada, M., Alves, B. y Costantini, A. (2020). Winter soil N₂O emissions from a meat production system under direct grazing of Argentine Pampa. *Animal Production Science*, 61(2), 156-162.

Petersen, S. O., Roslev, P. y Bol, R. (2004). Dynamics of a pasture soil microbial community after deposition of cattle urine amended with [13C] urea. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(11), 6363-6369.

Phukubye, K., Mutema, M., Buthelezi, N., Muchaonyerwa, P., Cerri, C. y Chaplot, V. (2022). On the impact of grassland management on soil carbon stocks: a worldwide meta-analysis. *Geoderma Régional*, 28, e00479.

Prather, M. J., Hsu, J., DeLuca, N. M., Jackman, C. H., Oman, L. D., Douglass, A. R. y Funke, B. (2015). Measuring and modeling the lifetime of nitrous oxide including its variability. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 120(11), 5693-5705.

Ramos, M. L. G., da Costa, A. R., Madari, B. E., Carvalho, G. D., Pereira, A. C. d. C., Corrêa, R. S., de Sousa, T. R., y de Carvalho, A. M. (2024). Nitrous oxide emissions and ammonia volatilization from pasture after cattle dung and urine applications in the dry and rainy seasons of the Brazilian Cerrado. *Agronomy*, 14(6), 1257. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061257>

Ravishankara, A.R., Daniel, J.S. y Portmann.R.W. (2009). Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century. *Science*, 326,123–25.

Refi, R. O. y Escuder, C. J. (1998). Nitrogen fixation by *Trifolium repens* and *Lotus tenuis*-based pastures in the Flooding Pampa, Argentina. *Agronomie*, 18(4), 285-297. <https://doi.org/10.1051/agro:19980409>

Rhoades, J. D. (1982). Soluble salts (pp. 167-179). En A. L. Page, R. H. Miller y D. R. Keendy (Eds.), *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* (2nd ed.). American Society of Agronomy (Agronomy Series no. 9). Madison, Wisconsin, USA.

Rochette P. y Janzen H. (2005). Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 73, 171–179.

Rochette, P., Chantigny, M. H., Ziadi, N., Angers, D. A., Bélanger, G., Charbonneau, É. Y Bertrand, N. (2014). Soil nitrous oxide emissions after deposition

of dairy cow excreta in eastern Canada. *Journal of Environmental Quality*, 43(3), 829-841.

Rodríguez, A. y Jacobo, E. (2012). Pastoreo controlado. Una herramienta para el manejo de los pastizales naturales en sistemas ganaderos extensivos. Con P. Prelliasco, G. Roitman y F. Miñarro (Colab.). 1ra, Ed. Fundación Vida Silvestre Argentina, Aves argentinas/AOP. FAUBA, Buenos Aires.

Rumpel, C. (Ed.). (2023). *Understanding and fostering soil carbon sequestration* (pp. 489–522). Burleigh Dodds Science Publishing. <https://www.bdspublishing.com>.

Russow, R., Stange, C.F. y Neue, H.U. (2009). Role of nitrite and nitric oxide in the processes of nitrification and denitrification in soil: Results from ¹⁵N tracer experiments. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 785–795.

Saggar, S., Jha, N., Deslippe, J., Bolan, N.S., Luo, J., Giltrap, D.L., Kim, D., Zaman, M. y Tillman, R.W. (2012). Denitrification and N₂O:N₂ production in temperate grasslands: Processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. *Science of the Total Environment*, 465, 173-195.

Sala, O., Deregibus, V. A., Schlichter, T. y Alippe, H. (1981a). Productivity dynamics of a native temperate grassland in Argentina. *Journal of Range Management*, 34(1), 48-51

Sala, O. E., Soriano, A. y Perelman, S. (1981b). Relaciones hídricas de algunos componentes de un pastizal de la Depresión del Salado. *Revista Facultad de Agronomía*, 2, 1-10.

Samad, M. S., Ganasamurthy, S., Highton, M. P., Bakken, L. R., Clough, T. J., de Klein, C. A., y Morales, S. E. (2021). Urea treatment decouples intrinsic pH control over N₂O emissions in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 163, 108461.

Sanchez-Sabate, R., y Sabaté, J. (2019). Consumer attitudes towards environmental concerns of meat consumption: A systematic review. *International journal of environmental research and public health*, 16(7), 1220.

Scarpati, O. E. y Capriolo, A. D. (2013). Sequías e inundaciones en la provincia de Buenos Aires (Argentina) y su distribución espacio-temporal. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, 82, 38-51.

Schils, R. L., Olesen, J. E., del Prado, A. y Soussana, J. F. (2007). A review of farm level modelling approaches for mitigating greenhouse gas emissions from ruminant livestock systems. *Livestock Science*, 112(3), 240-251.

Schmeer, M., Loges, R., Dittert, K., Senbayram, M., Horn, R. y Taube, F. (2014). Legume-based forage production systems reduce nitrous oxide emissions. *Soil and Tillage Research*, 143, 17-25.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2023). Stock Bovino por departamento y estratificación al 31 de diciembre (2007–2023) [Dataset]. Recuperado de https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/bovinos/informacion_interes/informes/index.php

Selbie, D. R., Buckthought, L. E. y Shepherd, M. A. (2015). The challenge of the urine patch for managing nitrogen in grazed pasture systems. En *Advances in agronomy* (Vol. 129, pp. 229-292). Academic Press.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). (2021). *Caracterización de existencias bovinas al 31/12/2021*. SENASA. <https://www.argentina.gob.ar/senasa/mercados-y-estadisticas/estadisticas/animal-estadisticas/bovinos/bovinos-y-bubalinos-sector-primario>

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). (2023). *Manual de bienestar animal: Un enfoque práctico para el buen manejo de especies domésticas durante su tenencia, producción, concentración, transporte y faena*. SENASA. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bienestar_animal.pdf

Servicio Meteorológico Nacional. (2024). *Estadísticas climáticas normales para la ciudad de Dolores*. Recuperado de <https://ssl.smn.gob.ar/dpd/observaciones/estadisticas.txt>

Sisti, C.P.J., Dos Santos, H.P., Kohmann, R., Alves, B.J.R., Urquiaga, S. y Boddey, R.M. (2004). Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil and Tillage Research*, 76: 39–58.

Skjemstad, J. O. y Baldock, J. A. (2008). Total and organic carbon. *Soil sampling and methods of analysis*, 2, 225-237.

Smith, K.A., Ball, T., Conen, F., Dobbie, K.E., Massheder, J. y Rey, A. (2003). Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: interactions of soil physical factors and biological processes. *European Journal of Soil Science*, 54: 779-791.

Soares, J. R., Souza, B. R., Mazzetto, A. M., Galdos, M. V., Chadwick, D. R., Campbell, E. E., y Lynd, L. R. (2023). Mitigation of nitrous oxide emissions in grazing systems through nitrification inhibitors: a meta-analysis. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 125(3), 359-377.

Sordi, A., Dieckow, J., Bayer, C., Albuquerque, M. A., Piva, J. T., Zanatta, J. A., Tomazi, M., da Rosa, C. M. y de Moraes, A. (2014). Nitrous oxide emission factors for urine and dung patches in a subtropical Brazilian pastureland. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 190, 94-103.

Soussana, J. F. (2008). The role of the carbon cycle for the greenhouse gas balance of grasslands and of livestock production systems. *Livestock and Global Climate Change*, 12.

Springmann, M., Clark, M., Mason-D’Croz, D., Wiebe, K., Bodirsky, B. L., Lassaletta, L., de Vries, W., Vermeulen, S. J., Herrero, M., Carlson, K. M., Jonell, M., Troell, M., DeClerck, F., Gordon, L. J., Zurayk, R., Scarborough, P., Rayner, M., Loken, B., Fanzo, J., ... Willett, W. (2018). Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature*, 562(7728), 519–525. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0594-0>

Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. y de Haan, C. (2009). *La larga sombra del ganado – problemas ambientales y opciones*. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-a0701s.pdf>.

Sumner, M. E. y Miller, P. (1995). Cation exchange capacity and exchange coefficients (p. 1209). En D. L. Sparks, A. L. Page y P. A. Helmke (Eds.), *Methods of soil analysis. Part 3: Chemical methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

Taboada, M. A. y Cosentino, V. (2014). Emisiones gases de efecto invernadero (GEI). Participación de la agricultura a nivel global y del país (pp. 110-127). En C. Pascale Medina, M. Zubillaga y M. A. Taboada (Eds.), *Suelos, producción*

agropecuaria y cambio climático: avances en la Argentina. Buenos Aires: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación.

Taboada, M. A., y Lavado, R. S. (2009). *Alteraciones de la fertilidad de los suelos. El halomorfismo, la acidez, el hidromorfismo y las inundaciones*. FAUBA, Buenos Aires.

Taghizadeh-Toosi, A., Janz, B., Labouriau, R., Olesen, J. E., Butterbach-Bahl, K. y Petersen, S. O. (2021). Nitrous oxide emissions from red clover and winter wheat residues depend on interacting effects of distribution, soil N availability and moisture level. *Plant and Soil*, 466(1), 121-138.

Thøgersen, J. (2021). Consumer behavior and climate change: Consumers need considerable assistance. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 42, 9-14.

Thompson, R. B. y Fillery, I. R. P. (1997). Transformation in soil and turnover to wheat of nitrogen from components of grazed pasture in the south of Western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 48(7), 1033-1048.

Thompson, R. L., Lassaletta, L., Patra, P. K., Wilson, C., Wells, K. C., Gressent, A., Koffi, E. N., Chipperfield, M. P., Winiwarter, W., Davidson, E. A., Tian, H., y Canadell, J. G. (2019). Acceleration of global N₂O emissions seen from two decades of atmospheric inversion. *Nature Climate Change*, 9(11), 993–998. <https://doi.org/10.1038/s41558-019-0613-7>

Tonn, B., Porath, I., Lattanzi, F. A. y Isselstein, J. (2019). Urine effects on grass and legume nitrogen isotopic composition: Pronounced short-term dynamics of $\delta^{15}\text{N}$. *PLoS One*, 14(1), e0210623.

Trumbore, S.E., Chadwick, O.A. y Amundson, R. 1996. Rapid exchange between soil carbon and atmospheric carbon dioxide driven by temperature change. *Science*, 272: 393-396.

Urquiaga, S., Cadisch, G., Alves, B. J., Boddey, R. M., y Giller, K. E. (1998). Influence of decomposition of roots of tropical forage species on the availability of soil nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(14), 2099-2106.

Van der Weerden, T.J., Luo, J., Klein, C.A.M., Hoogendoorn, C.J., Littlejohn, R.P. y Rys, G.J. 2011. Disaggregating nitrous oxide emission factors for ruminant urine and dung deposited onto pastoral soils. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 141, 426–436.

Vazquez, P., Masuelli, S., Platzcek, G. y Boolsen, O. (2011). Capítulo 2: Recurrencia de anegamiento en la pampa deprimida, Provincia de Buenos Aires (pp. 31–46). En R. Rivas, F. Carmona y D. Ocampo (Eds.), *Teledección: Recientes aplicaciones en la Región Pampeana*. Editorial Martín, Buenos Aires, Argentina.

Viglizzo, E. F., Montero, G., Ricard, F. y Sirotiuk, V. (2014). La huella del carbono en la agroindustria (1a ed.). Ediciones INTA, La Pampa, Argentina.

Viglizzo, E. F., Ricard, M. F., Taboada, M. A. y Vázquez-Amábile, G. (2019). Reassessing the role of grazing lands in carbon-balance estimations: Meta-analysis and review. *Science of the Total Environment*, 661, 531-542.

Vignolio, O. R. y Fernández, O. N. (2011). *Lotus tenuis* seedling establishment and biomass production in Flooding Pampa grasslands (Buenos Aires, Argentina). *Chilean journal of agricultural research*, 71(1), 96.

Vignolio, O. R., Fernández, O. N., y Maceira, O. N. (2017). Respuestas de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus* (Leguminosae) al anegamiento en plantas de distintas edades. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 101(1), 57-66.

Vignolio, O.R., Cambareri, G.S. y Maceira, N.O. (2010). *Lotus tenuis* (Fabaceae). Productividad y manejo agronómico. *Revista Argentina de Producción Animal*, 30: 97-116.

Vitousek, P. M., Menge, D. N., Reed, S. C. y Cleveland, C. C. (2013). Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130119.

Wagner-Riddle, C., Baggs, E. M., Clough, T. J., Fuchs, K. y Petersen, S. O. (2020). Mitigation of nitrous oxide emissions in the context of nitrogen loss reduction from agroecosystems: managing hot spots and hot moments. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 47, 46-53.

Wang, C., Amon, B., Schulz, K y Mehdi, B. (2021). Factors that influence nitrous oxide emissions from agricultural soils as well as their representation in simulation models: a review. *Agronomy*, 11(4), 770.

Wang, G. L., Chen, D. L., y Li, Y. (2010). Effect of soil temperature, moisture and $N-NH_4^+$ concentration on nitrification and nitrification-induced N_2O emission. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 18(1), 1-6.

Wang, J., Cardenas, L. M., Misselbrook, T. H., y Gilhespy, S. (2011). Development and application of a detailed inventory framework for estimating nitrous oxide and methane emissions from agriculture. *Atmospheric Environment*, 45(7), 1454-1463. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.12.014>

White, S. L., Sheffield, R. E., Washburn, S. P., King, L. D. y Green, J. T. (2001). Spatial and time distribution of dairy cattle excreta in an intensive pasture system. *Journal of Environmental Quality*, 30, 2180-2187.

Williams, P. H. y Haynes, R. J. (2000). Transformations and plant uptake of urine N and S in long and short-term pastures. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 56, 109-116.

Wrage, N., Velthof, G.L., Van Beusichem, M.L. y Oenema, O. (2001). Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1723-1732.

Wu, Q., Kwak, J. H., Chang, S. X., Han, G., y Gong, X. (2020). Cattle urine and dung additions differently affect nitrification pathways and greenhouse gas emission in a grassland soil. *Biology and Fertility of Soils*, 56(2), 235-247.

Xiang, H., Hong, Y., Wu, J., Wang, Y., Ye, F., Ye, J., Lu, J. y Long, A. (2023). Denitrification contributes to N₂O emission in paddy soils. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1218207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1218207>

Xu, X., Liu, Y., Tang, C., Yang, Y., Yu, L., Lesueur, D y Xu, J. (2024). Microbial resistance and resilience to drought and rewetting modulate soil N₂O emissions with different fertilizers. *Science of the Total Environment*, 917, 170380.

Zhu, Y., Merbold, L., Leitner, S., Wolf, B., Pelster, D., Goopy, J. y Butterbach-Bahl, K. (2021). Interactive effects of dung deposited onto urine patches on greenhouse gas fluxes from tropical pastures in Kenya. *Science of the Total Environment*, 761, 143184.