



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Factores que controlan la concentración de proteína cruda del forraje en un campo natural de basalto de Uruguay

Laura Dahiana NÚÑEZ SUÁREZ

Magister en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Animales

Noviembre 2022

**Factores que controlan la concentración de
proteína cruda del forraje de un campo natural de
basalto en Uruguay**

Laura Dahiana NÚÑEZ SUÁREZ

Magister en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Animales

Noviembre 2022

Tesis aprobada por el tribunal integrado por el Ing. Agr. (PhD) Pablo Boggiano, el Ing. Agr. (PhD) Francisco Dieguez y Med. y Tec. Vet. (Dr.) Gilberto Kozloski, el 10 de noviembre de 2022. Autora: Ing. Agr. Laura Núñez. Director: Ing. Agr. (PhD) Martín Jaurena. Codirectora: Zoo. (PhD) Carolina Bremm.

Dedico este trabajo a «Los abuelos» y a mis «motores» Santi y Bauti.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis compañeros de maestría, William, Denise, Gracialda, Marlon, Mariana, Fernanda, por la amistad. A Pablo, Fabiana, Luis y Carlos que estaban cursando parte de sus estudios de doctorado-posdoctorado, por sus aportes. A Fiorella, Zully y Martin Durante, por los buenos consejos y aportes en este trabajo. A los tesisistas que ayudaron en el trabajo de campo, Flor, Yenni, F, Yeni, G, Mauro, Quique, Rodrigo, Gabriel y Bernardo, por el trabajo realizado, la seriedad con la que se tomaron las tareas asignadas y la buena disposición.

A Saulo, Ana, Yovana, Vasquito, Alfonso, Mauricio, Sebastián, Wal y Maxi, por la ayuda y el compañerismo tanto en el trabajo de campo como de laboratorio.

A todo el personal de INIA Tacuarembó y Glencoe, por la ayuda y la calidez recibida en todo este lindo proceso, especialmente a Martin Jaurena por la amistad, la buena disposición de siempre y por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en el área de campo natural. A Carolina Bremm, por los conocimientos compartidos y la buena disposición de siempre.

Agradezco a mi familia, sostén incondicional durante el proceso de la tesis: mamá, papá, abuela, Maicol, Santi y Bauti.

Gracias a Dios por estar presente en el recorrido de este hermoso camino.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN	III
AGRADECIMIENTOS	V
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	3
1.2 CAMPO NATURAL DE URUGUAY Y LA REGIÓN: SUS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS	3
1.3 CALIDAD DEL FORRAJE.....	6
1.3.1 <u>Definición e importancia del contenido de PC del forraje</u>	7
1.3.2 <u>Variaciones en el contenido de PC según los tipos funcionales de plantas</u>	9
1.3.3 <u>Dinámica de la acumulación de biomasa y el contenido de PC en el forraje de campo natural</u>	15
1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CONTENIDO DE PC DEL FORRAJE	16
1.3.1 <u>Efecto de la fertilización NP en la producción y contenido de PC en el forraje</u>	16
1.3.2 <u>Efecto del déficit hídrico en el contenido de PC del forraje</u>	19
1.3.3 <u>Efecto del pastoreo en el contenido de PC del forraje</u>	20
1.4 ANALISIS MULTIVARIADOS: MODELO DE ECUACIONES ESTRUCTURALES	21
2. <u>WHAT CONTROLS THE CRUDE PROTEIN CONTENT VARIATION OF A BASALTIC “CAMPOS” NATIVE GRASSLAND OF SOUTH AMERICA?</u>	21

2.1 RESUMEN.....	21
2.2 ABSTRACT.....	22
2.3 INTRODUCTION	23
2.4 MATERIAL AND METHODS	25
2.4.1 <u>Site Description and Experimental Design</u>	25
2.4.2 <u>Grasslands Measurements and Forage Sampling</u>	26
2.4.3 <u>Forage Crude Protein Analysis</u>	27
2.5 RESULTS	29
2.6 DISCUSSION	34
2.7 CONCLUSIONS.....	37
2.8 APPENDIX.....	38
2.9 REFERENCES.....	39
3. <u>CONCLUSIONES GLOBALES</u>	44
4. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	46

RESUMEN

La concentración de proteína cruda es uno de los componentes nutricionales más importantes para la alimentación de los rumiantes a pastoreo. La proteína cruda de los forrajes se ve afectada por múltiples factores como lo son la altura o biomasa de la pastura, la disponibilidad de agua y el nivel de fertilidad en el suelo. Nuestra hipótesis fue que, a través de la fertilización, el aumento del contenido de agua en el suelo y la disminución de altura del forraje se incrementaría el contenido de proteína en el campo natural debido a cambios en el contenido de nitrógeno de las hojas verdes, al incremento en la proporción de hojas verdes y a cambios en la composición de especies (favoreciéndose a aquellas más nitrófilas). La investigación se realizó entre agosto 2017 y abril 2019, sobre un experimento de largo plazo de fertilización de campo natural, en el cual se evaluó el efecto de la fertilización (100 kg N/ha/año y 40 kg P₂O₅/ha/año) y la altura de distintos parches (4, 8, 12 y 16 cm), en períodos que presentaron diferentes contenidos de agua disponible en el suelo. En las dos primaveras, *Lolium multiflorum* fue la especie indicadora del campo natural fertilizado en todos los parches de altura del forraje, mientras que *Paspalum notatum* lo fue en todas las alturas del campo natural sin fertilización. La fertilización incrementó la proporción de tallos en las primaveras evaluadas y disminuyó la proporción de hojas verdes durante el verano seco respecto al campo natural sin fertilizar. Este estudio determinó un modelo estructural que identificó a tres grupos claves de variables intermedias que explican los cambios en la proteína del forraje (coeficiente de determinación: 0.89): i) la concentración de nitrógeno en hojas verdes (coeficiente de determinación 0.73); ii) la estructura del forraje: porcentaje de hojas verdes (coeficiente de determinación 0.29) y iii) la composición de tipos funcionales de especies: porcentaje de especies C₄ (coeficiente de determinación -0.12).

Palabras clave: campo natural, proteína cruda, fertilización, altura de la pastura, déficit hídrico

MANAGEMENT AND ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING CRUDE PROTEIN CONTENT OF NATIVE GRASSLANDS

SUMMARY

Crude protein content is one of the most important nutritional components in the diet of grazing ruminants. Forage crude protein content is affected by multiple factors such as sward height or biomass, soil water availability and soil fertility. Our working hypothesis was that through fertilisation, increasing soil water availability and decreasing sward height, the crude protein content of native grasslands should increase due to changes in the nitrogen content of green leaves, an increase in the proportion of green leaves and through changes in the composition of species (favouring the most nitrophilous). The research was conducted between August 2017 and April 2019, on a long-term experiment of native grassland fertilisation. The effect of fertilisation (100 kg N/ha/year plus 40 kg P₂O₅/ha/year) and patch height (4, 8, 12, and 16 cm) were evaluated in periods which presented different soil water availability contents. During both springs, *Lolium multiflorum* was the indicator species of the fertilised native grassland throughout all the sward height patches, while *Paspalum notatum* was an indicator species of the unfertilised native grassland. Fertilising increased the proportion of stems during both springs and decreased the proportion of green leaves during the dry summer, compared to the unfertilised native grassland. This study presented a structural model that identified three groups of key intermediate variables which explain changes in the forage crude protein content (coefficient of determination: 0.89): i) nitrogen concentration in green leaves (coefficient of determination: 0.73); ii) forage structure (percentage of green leaves; coefficient of determination: 0.29) and iii) functional types of species composition (coefficient of determination: -0.12).

Key words: native grasslands, crude protein, fertilisation, sward height, soil water availability

1. INTRODUCCIÓN

El campo natural es la base nutricional de los sistemas ganaderos de la región Campos que abarca a Uruguay, centro-este de Argentina y sur de Brasil (Pallarés et al., 2005). Adicionalmente, estos campos están conformados por comunidades de alta diversidad taxonómica y funcional (Lezama et al. 2006) y son fuente de valiosos servicios ecosistémicos (Weyland et al., 2017). En la región, tradicionalmente, la producción sobre campo natural se ha relacionado con bajos niveles de productividad animal. Sin embargo, hay ejemplos que sugieren que existe un gran potencial de incremento de la producción animal, tanto en la fase de recría (Berretta et al., 2000, Nabinger y Carvalho, 2009, Rodríguez y Rodríguez, 2017) como en la de cría (Soca et al., 2013).

En pasturas cultivadas hay evidencias de que a medida que las plantas forrajeras se desarrollan y crecen, diluyen la concentración de proteína cruda del forraje (PC) a mayor biomasa (Lemaire y Belanger, 2019). En cambio, hay escasa evidencias de qué sucede en campos naturales que presentan una alta heterogeneidad estructural representada por parches de diferente composición de especies (Tonn et al., 2019) y tipos funcionales (Cruz et al., 2019), acumulación de biomasa (Moojen y Maraschin, 2002) y estados fenológicos (Fedrigo et al., 2018). En los campos naturales, las especies se agrupan en diferentes comunidades, las cuales cambian temporalmente su frecuencia debido a variaciones en el clima, especialmente lluvias (Berretta et al., 2000), en la intensidad de pastoreo (Altesor et al., 2005) y en la fertilidad del suelo (Rodríguez y Rodríguez, 2017). Incluso potrero a potrero, la fisionomía de la vegetación puede ser variable, y se expresa en un mosaico de parches que difieren en composición de especies y altura (Tonn et al., 2019). A pesar de todas estas fuentes de variación, en la región Campos, no existen antecedentes que cuantifiquen los impactos de las variaciones temporales y espaciales en el contenido de PC del campo natural.

La gran mayoría de los campos naturales presentan uso exclusivamente ganadero. En estos, la estructura de la pastura es definida como el arreglo espacial de las

comunidades, las especies, la biomasa y sus componentes (hojas, tallos y material senescente) en el plano vertical y horizontal (Marriott y Carrère, 1998). En los campos naturales la vegetación está compuesta por un mosaico de parches que contienen diferentes especies y biomasa, los cuales pueden ser diferentes a su vez, en el tiempo y en el espacio (Herrera y Laterra, 2011). En este sentido, Díaz et al. (2016) evidenciaron que distintas especies y tipos funcionales poseen diferente capacidad de acumular biomasa y niveles de contenido de nitrógeno en hojas. Estudios realizados por Lemaire y Belanger (2019) demostraron que forrajes con mayor proporción de hojas verdes relativo a tallos y restos senescentes presentan un mayor contenido de PC. Por lo tanto, el conocimiento de los efectos de factores ambientales y de manejo en la composición de especies y de los componentes de la biomasa permitiría generar estrategias de manejo que satisfagan la demanda de PC en forraje de los animales en pastoreo.

Estudios previos en experimentos de largo plazo reportan los siguientes efectos de la fertilización nitrógeno (N) y nitrógeno-fosfatada (NP) en la composición de tipos funcionales: i) menor porcentaje de gramíneas perennes estivales y ii) mayor porcentaje de gramíneas anuales invernales (Ávila et al., 2013, Rodríguez y Rodríguez, 2017). Otros estudios realizados en *Festuca arundinacea* Schreb. reportan que el nivel de PC de forraje es dependiente tanto del nivel de biomasa como de la proporción de hojas verdes (Lemaire y Belanger, 2019). Por otra parte, en cuanto al efecto de la sequía sobre el contenido de nitrógeno en la planta, He y Dijkstra (2014) sugieren que el impacto del estrés hídrico en la reducción en la absorción de nitrógeno puede ser mayor al de la disminución en el crecimiento de las plantas, lo cual provoca una disminución en el contenido de nitrógeno en el forraje.

Actualmente, en la región Campos no hay evidencia científica de cuáles son los principales factores que controlan la concentración de PC en el campo natural. Una herramienta útil para un estudio exploratorio de las variables afectadas por múltiples factores son los análisis multivariados (Hair et al., 2011).

1.1 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis del presente trabajo es que la fertilización NP, el aumento del contenido de agua disponible en el suelo y la disminución de altura del forraje incrementan el contenido de proteína en el campo natural debido a cambios en el contenido de nitrógeno de las hojas verdes, a un aumento en la proporción de hojas verdes y a cambios en la composición de especies.

Objetivo general: identificar y ordenar los efectos de los principales factores que explican los cambios en el contenido de PC del campo natural.

Objetivos específicos: i) identificar especies de diferentes combinaciones de sitios: altura de parche, fertilización y condición hídrica del suelo, ii) cuantificar el efecto de la fertilización en la estructura del campo natural, iii) cuantificar el efecto del contenido de PC en parches de diferente altura (4, 8, 12 y 16 cm) en condiciones de fertilidad contrastante, iv) identificar un modelo estructural con los principales factores que explican los cambios en el contenido de PC del campo natural.

1.2 CAMPO NATURAL DE URUGUAY Y LA REGIÓN: SUS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS

Los campos de Uruguay integran la unidad biogeográfica más extensa de Sudamérica, y una de las más importantes del mundo. Se extienden por 700.000 km², una región que comprende el este de Argentina, el sur de Brasil y Uruguay. A esta región se le ha denominado pastizales del Río de la Plata (Soriano et al., 1992). En cuanto a la vegetación, en los pastizales del Río de la Plata se han registrado en torno a las 4864 especies de plantas vasculares correspondientes a 194 familias, incluidas varias que han sido introducidas. Las familias más importantes en número de especies son asteráceas (659 especies) y poáceas (645 especies) (Andrade et al., 2018).

Uruguay se encuentra entre los paralelos 30° y 35° de latitud sur, zona de transición entre clima subtropical y templado. Una particularidad de esta zona de transición es la coexistencia de gramíneas C₃ y C₄ (Still et al., 2003), aspecto que contribuye a que el forraje crezca durante todo el año. En la mayoría de los campos de la región predominan las especies C₄ (Del Puerto, 1969). Además, la diversidad edafológica, topográfica y geológica da origen a diferentes tipos de campos, tanto por su fisonomía como por su composición específica (Rosengurtt, 1943, Millot et al., 1987, Lezama et al., 2011). Uruguay, a pesar de su escasa superficie, es una de las regiones más diversas a nivel mundial (centro de diversidad primario de especies vegetales). En Uruguay se han identificado 2750 especies de plantas superiores, de las cuales 302 son leñosas (Brazeiro, 2015).

Los campos naturales, a nivel global, se caracterizan por presentar diferentes tipos de gramíneas nativas, hierbas, pequeños arbustos y, ocasionalmente, árboles, en suelos con una fertilidad de suelos muy variable (Allen et al., 2011). Para precisar aún más ese concepto previo: «... se define como campo natural a aquella vegetación sin desmonte en los últimos 50 años (fecha de referencia fotos áreas del Servicio Geográfico Militar de 1967), con menos de 30 % de cobertura aérea de árboles y/o 70 % de arbustos, con una cobertura basal de al menos 50 % de especies herbáceas nativas y generalmente dominada por gramíneas nativas (adaptado de Oyarzabal M., 2014)» (Mesa de Ganadería sobre Campo Natural, 2017).

Los campos naturales presentan una gran heterogeneidad fisonómica, principalmente debido a la diversidad de especies de plantas que lo componen, donde desde el 80 al 90 % de la biomasa forrajera está constituida por gramíneas, en su mayoría perennes. Según Lezama et al. (2011), el conocimiento de las unidades de vegetación y comunidades es una condición base para lograr el uso racional y la conservación del campo natural. En este sentido, el conocimiento de las principales comunidades, especies dominantes y/o grupos funcionales que constituyen los campos naturales es de gran importancia, ya que permite considerar las particularidades ecofisiológicas de las especies antes de definir el manejo más adecuado.

En Uruguay, el 54 % de la superficie está ocupada por campo natural según Baeza et al. (2022). De acuerdo a datos oficiales publicados porDIEA (2022)), hay 44495.957 establecimientos ganaderos que ocupan una superficie de 13.020.000 hectáreas., de las cuales aproximadamente el 80 % tienen como base forrajera principal el campo natural. Este valioso recurso, además de proveer alimento para los animales, es muy importante porque proporciona numerosos servicios ecosistémicos (secuestro de carbono, filtrado de agua, hábitat, alimento, refugio para la fauna autóctona, entre muchos otros) (Modernel et al., 2016), además de recursos fitogenéticos de valor medicinal y ornamental (Millot et al., 1987, Berretta et al., 2007, Rivas, 2010).

Los campos naturales de Uruguay han sobrevivido a dotaciones altas y sobrepastoreos a lo largo de la historia, lo que ha conducido a pasturas muy resistentes al pisoteo y al diente del animal (Carámbula, 1991). Como consecuencia de este manejo, en algunos sitios se han degradado los campos naturales, lo que ha reducido de manera importante la densidad de la pastura, y se han producido cambios desfavorables en su composición botánica debido a la pérdida de especies de gramíneas perennes finas. Cuando ocurren dichos procesos de degradación, predominan especies ordinarias, se incrementan las gramíneas xerófilas, las leguminosas son muy escasas, invaden malezas de mediano y alto porte, se acentúan las diferencias estacionales de producción y, en casos extremos, se acelera la erosión del suelo por ausencia de cobertura vegetal en algunas áreas (Carámbula, 1991).

El forraje del campo natural es la base alimenticia de la producción bovina y ovina en Uruguay. En condiciones de campo natural, cuando se aplican escasas prácticas de gestión del pastoreo, se caracteriza por tener bajos valores productivos y, por lo tanto, económicos (Soca et al., 2007). Uno de los factores causales de los bajos niveles productivos es la falta de ajuste temporal de la carga animal, lo cual conduce a una baja altura de forraje en períodos de escaso crecimiento forrajero. Si a la situación de escaso forraje disponible para los animales le sumamos la variabilidad climática entre y dentro de los años, se afecta tanto la cantidad como la composición nutricional del forraje del campo natural y, con ello, la producción animal. La principal limitante para

que aumente la producción de carne es la baja cantidad u oferta de forraje (Mott, 1960), sobre todo cuando pasa a ser muy limitante en períodos de escaso crecimiento del forraje como lo son las sequías. Cuando la cantidad de forraje no es una limitante importante para el consumo animal, está demostrado que comienza a jugar un rol fundamental la calidad de la pastura (Sollenberger y Vanzant, 2011).

1.3 CALIDAD DEL FORRAJE

La calidad del forraje es estimada, generalmente, en base a dos características: (i) el contenido de PC y (ii) la concentración de energía potencialmente digestible y metabolizable por los animales, la cual es comúnmente expresada como la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) (Ball et al. 2001, Allen et al. 2011). Además, la calidad del forraje es definida como el potencial nutricional de una planta para alcanzar el desempeño del animal deseado. La calidad del forraje refiere a la concentración de nutrientes, la digestibilidad y el resultado final de la digestión (Collins y Fritz, 2003). Aparte de los factores ya nombrados, Buxton et al. (1995) identificaron al potencial de ingestión de forraje de los animales como otro de los factores determinantes de la calidad de la dieta, caracterizando a este factor como difícil de cuantificar debido a la variabilidad del consumo que existe entre los animales y a las dificultades para su evaluación. Referente a los animales, otro factor que influye en la calidad del forraje es la selectividad. Los nutrientes ingeridos por los animales es el resultado de la acumulación de bocados seleccionados con los cuales construyen su dieta diaria (Montossi et al., 2000).

Hay evidencias de que a medida que las plantas se desarrollan y crecen, hay una dilución del valor nutritivo debido a que hay una mayor proporción de tejido de sostén (tallos) y material senescente respecto al aparato fotosintético (hojas verdes) (Lemaire y Belanger, 2019). La relación del volumen de forraje disponible con su valor nutritivo es negativa. Esto se debe a que en la medida en que la planta se desarrolla, necesita mayor proporción de tejido de sostén (este no solo aumenta en cantidad, sino que

aumenta en espesor) para colocar el aparato fotosintético (hojas) más alto de forma que quede expuesto a la energía solar (Lemaire y Belanger, 2019).

La calidad del forraje depende de la época de crecimiento de las pasturas y de las diferentes fracciones de la planta (hoja, tallo y restos secos) (Chacon y Stobbs, 1976). También, la materia vegetal se puede dividir en dos componentes que producen energía para los animales: i) pared celular (tallos y forraje muerto) y ii) contenido celular (principalmente en hojas verdes). Las paredes de las células pueden componer entre 40 y 80 % de la materia orgánica en las plantas forrajeras. El contenido celular es casi completamente digerible, mientras que la digestibilidad de las paredes celulares dependerá, principalmente, de su composición y estructura (Buxton et al., 1995). En síntesis, las hojas son los órganos metabólicos de la planta que poseen el mayor valor nutricional y son elegidas preferentemente por los animales cuando estos tienen la posibilidad de elegir.

La calidad del forraje es altamente variable, dependiendo de las especies, la estación del año, el clima, la nutrición de la pastura, la disponibilidad de agua, etc. (Mieres, 2004, Pigurina et al., 1998). La calidad del forraje está determinada por muchos factores, a lo que le sumamos —en el caso de las pasturas naturales— la diversidad de especies que componen estas pasturas, la edad de las plantas y el estado fisiológico de estas. En este sentido, determinar la calidad de lo que ingiere el animal es complejo porque es el resultado de múltiples interacciones de diferentes factores.

1.3.1 Definición e importancia del contenido de PC del forraje

Los valores proteicos de los alimentos y los requerimientos de los animales se expresan, generalmente, en términos de PC. Las proteínas son compuestos orgánicos complejos que contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre. Dichos

compuestos se encuentran en todas las células vivas, donde se relacionan con todas las fases de actividad vital de las células (McDonald et al., 2011). Las plantas son capaces de sintetizar sus propias proteínas a partir de compuestos nitrogenados simples como lo son los nitratos. Sin embargo, los animales no pueden sintetizar el grupo amino y para construir sus proteínas deben tener una fuente dietética de aminoácidos (CSIRO, 2007). Ciertos aminoácidos pueden ser producidos a partir de otros, proceso conocido como transaminación. Sin embargo, los esqueletos de carbono de algunos aminoácidos no pueden sintetizarse en el cuerpo del animal: estos son llamados aminoácidos esenciales (CSIRO, 2007).

El suministro de aminoácidos a partir de proteínas microbianas limita la cantidad y la calidad para alcanzar las máximas tasas de crecimiento en animales jóvenes y para lograr buenos desempeños productivos. Además, hay reportes de que el bajo contenido de PC de las especies forrajeras tropicales y subtropicales en las estaciones secas reduce el crecimiento animal y extiende los tiempos desde la pubertad hasta la preñez de los animales jóvenes, a la vez que afecta la reproducción y la lactancia en animales adultos (CSIRO, 2007, Hennessy, 1983). Esto puede deberse a que cuando la concentración de PC en los forrajes es menor a 7 % de la materia seca, la fermentación ruminal puede verse muy limitada y, generalmente, no se cubren las necesidades de PC de los rumiantes (Buxton et al., 1995).

El contenido de nitrógeno de los alimentos se expresa en términos de PC, el nitrógeno total de un alimento multiplicado por el factor 6,25. El factor 6,25 surge de la relación 100/16, porque las proteínas en promedio tienen 16 % de nitrógeno. Para realizar este cálculo de la concentración de PC de los alimentos, se hacen dos suposiciones: 1) todo el nitrógeno está presente como proteína y 2) toda la proteína alimentaria contiene 160 g N/kg. El valor de PC incluye proteína verdadera y otros compuestos nitrogenados no proteicos (NNP) obtenidos por otros métodos de estimación. Ambas suposiciones no son totalmente aplicables a la variabilidad de proteínas existentes debido a que: 1) no toda la proteína tiene 16 % de nitrógeno y 2) no todo el nitrógeno que contienen los

alimentos son proteínas verdaderas; también hay amidas, aminoácidos, glucósidos, alcaloides, amonio, etc. (McDonald et al., 2011).

En algunos alimentos como, por ejemplo, forraje fresco o en el caso del ensilaje del nitrógeno disponible, el factor 6,25 puede ser menor debido a que tienen compuestos nitrogenados que no forman parte de proteínas. Sin embargo, en la estimación de los requerimientos proteicos de los animales el cálculo de la PC está hecho con el valor de 6,25, es una convención generalmente aceptada a nivel internacional (Mieres, 2004). También debe tenerse en cuenta que el NNP tiene valor nutricional para los rumiantes, ya que es incorporado a la proteína microbiana que es sintetizada en el rumen de los animales (CSIRO, 2007). Cuando la energía en el rumen no está limitada, la proteína microbiana puede ser suficiente para cubrir los requerimientos para el mantenimiento y crecimiento de los animales. Sin embargo, cuando la energía está suficientemente limitada, puede que la PC no sea tampoco suficiente para los requerimientos de animales en crecimiento, lactación o preñez tardía (Buxton et al., 1995). Las necesidades de PC para el ganado de carne adulto a mantenimiento oscilan en un mínimo de 7 % de la materia seca, mientras que para ganado lechero de alta producción en lactación puede alcanzar hasta el 19 % (Buxton et al., 1995).

1.3.2 Variaciones en el contenido de PC según los tipos funcionales de plantas

Los campos naturales de Uruguay poseen una alta heterogeneidad de tipos de suelos, lo que determina diferentes tipos de comunidades de plantas, y ello implica diferente producción de forraje, distribución estacional, y valor nutricional (Carámbula, 1991). El componente principal de la vegetación de todas las comunidades de campo natural son las gramíneas perennes, un número reducido de leguminosas, un número elevado de hierbas (pero, generalmente, de escasa contribución a la biomasa) y algunas gramíneas anuales. Las gramíneas pueden ser de tipo C₃ o C₄, predominando estas últimas (Del Puerto, 1969). Los diferentes tipos funcionales de plantas tienen

diferentes concentraciones de PC, y esto lo podemos ver en el trabajo de Minson (1990), en la figura 1.

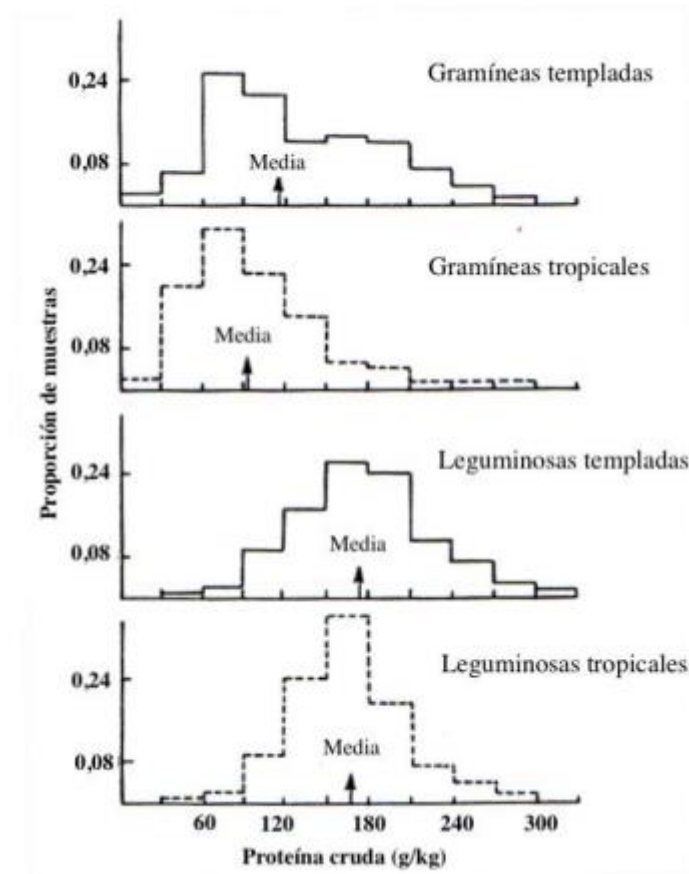


Figura 1. Contenido de proteína cruda PC (g/kg) para diferentes tipos funcionales: gramíneas y leguminosas tropicales y templadas (adaptado de Minson, 1990)

Según Minson (1990), la principal diferencia entre las leguminosas y las gramíneas es que tienen diferentes contenidos de PC, con promedios de 170 y 115 g/kg de MS en cada familia, respectivamente. Entre las gramíneas, las diferencias principales radican entre si son templadas o tropicales, con medias de 129 y 100 g/kg de MS, respectivamente. Existen algunas gramíneas tropicales que, al acumular mucho forraje, presentan 60 g de PC/kg MS o menos, estos valores son inferiores a los requerimientos mínimos para cubrir el funcionamiento de las bacterias del rumen (Minson, 1990). Los bajos niveles de PC en estas gramíneas tropicales están asociados

a su ruta metabólica C₄, así como a la alta proporción de tallos y grandes haces vasculares en sus hojas (Wilson y Minson, 1980).

En el cuadro 1 se pueden observar diferentes reportes del contenido de PC en las pasturas de diferentes comunidades de campo natural ubicadas en distintos tipos de suelo del Uruguay. En primavera y verano, el porcentaje de PC desciende, explicado, principalmente por un aumento de forraje disponible, y con ello ocurre una dilución del contenido de PC. En los suelos fértiles del grupo de Fray Bentos, se puede observar el mayor porcentaje de PC en invierno; esto puede deberse a un importante porcentaje de especies invernales productivas que existen para esos campos en esa estación del año (De Souza, 1985).

Cuadro 1. Valores de proteína cruda (PC) para los suelos cristalino, basalto profundo, basalto superficial, areniscas, Fray Bentos, pampeano, Fraile Muerto, Libertad, cuaternario, aluviones modernos y Yaguará, de Uruguay, para las estaciones de otoño, invierno, primavera y verano.

Suelos	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Cristalino	10,2 ± 3,4 (13)	14,0 ± 7,7 (13)	8,1 ± 1,2 (11)	8,4 ± 1,1 (10)
Basalto Profundo	10,3 ± 1,8 (4)	10,5 ± 2,0 (5)	8,7 ± 1,6 (5)	8,3 ± 1,1(4)
Basalto superficial	9,0 ± 2,0 (3)	10,9 ± 0,7 (3)	8,5 ± 2,7 (2)	7,9 ± 1,4 (2)
Areniscas Tacuarembó, Cretácico, Devónico	8,8 ± 2,1 (7)	9,7 ± 2,1 (9)	8,4 ± 1,6 (7)	7,6 ± 1,6 (6)
Fray Bentos, Pampeano, Fraile Muerto, Libertad, Cuaternario	10,4 ± 1,4 (5)	18,9 ± 3,8 (4)	6,7 ± 0,5 (5)	9,0 ± 0,6 (3)
Aluviones modernos	9,0 ± 1,1 (2)	12,6 ± 0,9(2)	7,2 ± 0,05 (2)	8,8 ± 1,1 (3)
Yaguará	8,4 ± 1,1 (3)	9,9 ± 0,1 (2)	10,1 ± 1,8 (3)	8,6 ± 1,7 (3)

Referencia: promedio ± desviación estándar; (números de observaciones)

Fuente: adaptado de Souza (1985) por Carámbula (1991).

Salvo algunos casos excepcionales, la PC del forraje en los campos naturales de Uruguay oscila generalmente entre 6 y 13 %, dependiendo fundamentalmente de la

estación del año y de la composición botánica. Los valores máximos se registran en invierno y comienzos de primavera, y los valores mínimos, a principios de verano (cuadro 2) (Berretta et al., 1990).

Cuadro 2. Valores de proteína cruda (PC) para los grupos funcionales gramíneas C₃ y gramíneas C₄ para las estaciones de otoño, invierno, primavera y verano

	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
	-----%-----			
Gramíneas C₄	6,5 - 11,0	6,5 - 11,0	9,0 - 14,0	6,0 - 8,0
Gramíneas C₃	6,0 - 15,0	11,7 - 16,0	10,5 - 12,0	4,3 - 7,2

Adaptado de Berretta et al. (1990).

En el cuadro 3, se puede observar cómo una misma especie puede variar su contenido de PC de acuerdo con el tipo de suelos, el pastoreo y al año de evaluación. En este sentido, los trabajos de Invernizzi y Silveira (1992) y de Berretta et al. (1990) evaluaron algunas especies similares, lo que nos permite comparar su contenido de PC. El experimento de Invernizzi y Silveira (1992) se desarrolla en un campo virgen de la zona basáltica sobre suelos profundos (Brunosoles y Vertisoles). Dichos autores reportaron que las especies predominantes en estos suelos eran estivales, mayormente finas y tiernas. El muestreo se realizó en un sistema de pastoreo rotativo con ovinos en 1.200 ha, dividido en 12 potreros con un área aproximada de 100 ha cada uno, con 5 días de ocupación en cada potrero y, luego, 55 días de descanso. Por otra parte, el experimento de Berretta et al. (1990) fue llevado a cabo en Estación Experimental Mario A. Cassinoni (EEMAC), en un campo natural virgen sobre un suelo brunosol, y fue pastoreado por vacunos y lanares. La dinámica estacional en los porcentajes de PC se mantiene para las especies estivales, similar a lo ya observado en el cuadro 2. En ambos experimentos, las especies que presentan mayor contenido de PC son *Paspalum dilatatum* y *Paspalum notatum*. Sin embargo, estas variaron su contenido de PC (%) para *Paspalum dilatatum* principalmente en las estaciones de otoño (14 vs. 10) e invierno (14 vs. 9,8) en los trabajos de Invernizzi y Silveira (1992) y Berretta et al. (1990), respectivamente. Asimismo, *Paspalum notatum* mostró variación de su PC,

principalmente en las estaciones de otoño (12,1 vs. 9,9) e invierno (12,4 vs. 11), en los trabajos de Invernizzi y Silveira, (1992) y Berretta et al. (1990) respectivamente. Mientras que las especies *P. plicatulum* varía muy poco entre sitios, *M. selloana* mantiene valores PC por debajo o similares a *P. dilatatum* y *P. notatum*.. En ambos casos fue mayor el porcentaje de PC para el trabajo de Invernizzi y Silveira, (1992), se le atribuye estas diferencias a los siguientes factores: tipos de suelo, disponibilidad de forraje, sistema de pastoreo, carga animal, composición de la carga, tipo de campo, condiciones climáticas del experimento, entre otros.

Cuadro 3. Contenido de proteína cruda (PC) para las especies de campo natural *Andropogon lateralis*, *Axonopus fissifolius*, *Bothriochloa laguroides*, *Mnesithea selloana*, *Paspalum dilatatum*, *Paspalum notatum*, *Paspalum plicatulum*, *Schizachyrium microstachyum* y *Andropogon ternatus* durante primavera, verano, otoño e invierno.

	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A
	Primavera	Primavera	Verano	Verano		Otoño		Invierno		Invierno Primavera
<i>Andropogon lateralis</i> Nees var. <i>trichocoleus</i> (Hack.) Henrard	10,2	8,7	-	6,2	-	7,9	-	9	-	8,2
<i>Axonopus fissifolius</i> (Raddi) Kuhl.	7,6	7,9	-	6,4	-	10,2	-	11	-	8,2
<i>Bothriochloa laguroides</i> (DC.) Herter	10	7,9	13,5	5,7	6,8	10	7	7,8	-	9,9
<i>Mnesithea selloana</i> (Hack.) de Koning y Sosef	8,1	5,8	10	-	6,8	11,9	7,5	11,9	7,8	12
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir. ssp. <i>flavescens</i> Roseng., B.R. Arrill. y Izag.	13,8	-	12,5	9	8,2	14	10	14	9,8	13,9
<i>Paspalum notatum</i> Flüggé var. <i>saurae</i> Parodi	10	10	14	6,2	7	12,1	9,9	12,4	11	12,2
<i>Paspalum plicatulum</i> Michx.	7,8	7,8	8,1	5,8	6,2	8,1	8	9,1	9,5	-
<i>Schizachyrium microstachyum</i> (Desv. ex Ham.) Roseng., B.R. Arrill. y Izag.	6,1	6	-	5	-	7	-	8,1	-	7,7
<i>Andropogon ternatus</i> (Spreng.) Nees	-	-	9,5	-	6	-	10,2	-	9,5	-

A: Invernizzi y Silveira (1992), B: Berretta et al. (1990)

1.3.3 Dinámica de la acumulación de biomasa y el contenido de PC en el forraje de campo natural

El campo natural está dominado por especies de gramíneas perennes principalmente subtropicales (C₄) y, en menor medida, gramíneas templadas (C₃). Dicho recurso posee una marcada heterogeneidad espacial y temporal, determinada, principalmente, por los tipos de suelo y la intensidad de pastoreo (Berretta et al., 2000), así como por las variaciones climáticas. En los potreros de campo natural se generan diferentes estructuras de la pastura que coexisten en el tiempo y en el espacio, caracterizadas por diferentes alturas, especies, proporción de forraje verde, forraje seco y tallos (Jaurena et al., 2021).

El contenido de nitrógeno o PC de cada especie estará determinado, en parte, por la proporción de tejido que contenga (hojas, tallos y resto seco). Uno de los eventos que modifica la proporción de tejidos es el desarrollo reproductivo de las especies, aumentando la fracción tallos e inflorescencia, que afectan de forma negativa la calidad del forraje (Chapman et al., 2014). Hay evidencia de que la concentración de nitrógeno entre las hojas verdes de un mismo macollo de una planta es diferente debido a que tienen diferente edad y, además, están ubicadas a distintas alturas, lo que determina que algunas estén más expuestas a luz y otras, más a la sombra. Además, estas hojas pueden desarrollarse bajo diferente suministro de nitrógeno por parte del suelo, lo que determinaría que la PC en la planta no sea uniformemente distribuida (Gastal y Lemaire, 2002, Grindlay, 1997).

Lemaire et al. (1991) estudiaron el flujo de nitrógeno (N) en diferentes niveles de estratos de hojas dentro de las plantas de alfalfa, las hojas que se encontraban en el estrato superior eran las que contenían mayor contenido de N. En este trabajo, dicho nutriente disminuyó su concentración a medida que se analizaban hojas de estratos inferiores, las cuales tienen mayor edad y muchas veces también están en los estratos más sombreados. Este proceso de dilución del contenido de nitrógeno podría, por un

lado, estar relacionado con el ajuste de la capacidad fotosintética de las hojas al menor nivel de luz incidente.

A diferencia de las leguminosas, las gramíneas tienen sus puntos de crecimiento y hojas nuevas en la base de la planta y la punta de las hojas es la parte más vieja. El flujo de nitrógeno en la planta también podría estar relacionado con la senescencia, ya que redistribuye el nitrógeno a hojas más nuevas previo a la muerte de las más viejas, posicionadas, generalmente, en el estrato inferior. Al igual que en las hojas, los tallos más expuestos a la luz son los que tienen mayor contenido de nitrógeno (Lemaire y Culleton, 1989). Cuando la planta comienza el período de senescencia, hay una autólisis de los compuestos nitrogenados en las hojas más viejas, para destinar este nitrógeno a las zonas en activo crecimiento. Este reciclaje de nitrógeno es muy importante, pudiendo reciclarse hasta un 75-80 % de nitrógeno foliar; solo el 20-25 % retorna al suelo en las hojas senescentes no defoliadas (Lemaire y Culleton, 1989).

1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CONTENIDO DE PC DEL FORRAJE

Son varios los factores que influyen en el contenido de PC del forraje, en este estudio nos centramos en discutir el efecto de la fertilización NP, el déficit hídrico y el pastoreo en el contenido de PC del forraje.

1.3.1 Efecto de la fertilización NP en la producción y contenido de PC en el forraje

Los campos naturales están compuestos principalmente por gramíneas, por lo tanto, es esperable que respondan al agregado de fertilizantes nitrogenados. Las gramíneas tienen altas demandas de nitrógeno y la concentración del mineral en el suelo es, generalmente, limitante para el crecimiento vegetal. Las gramíneas necesitan nitrógeno para producir clorofila y proteína suficiente, para macollar y elongar las hojas, sobre todo luego de pastoreos y durante las estaciones de alto crecimiento (Bemhaja, 1994).

Bemhaja (1994), en experimentos de fertilización con 120 kg/ha de nitrógeno en un campo natural de basalto profundo, obtuvo un incremento de 83 % de producción de forraje respecto a un testigo sin fertilizar. Además, dicha autora detectó mayor calidad del forraje en la pastura fertilizada y cambios en la composición botánica. La fertilización nitrogenada favoreció a las especies de ciclo invernal y a tipos productivos tiernos, por lo que aumentó la calidad de la pastura. Además, el tratamiento en el que se introduce una especie leguminosa es donde se aprecia mayor descenso de la fibra e incremento de PC. Los tratamientos de N no cambian sustancialmente en fibra pero si en PC (cuadro 4). Además, en este trabajo, la fertilización incrementó el tamaño y peso de los macollos, así como el número de estos, el largo y ancho de las láminas y el número de inflorescencias.

Cuadro 4. Contenido de fibra (FDN y FDA) y proteína cruda (PC) de campo natural (CN), CN más leguminosas (CN + Leg), CN más 40 unidades de N (CN + 40N), CN más 80 unidades de N (CN + 80N), CN más 120 unidades de N (CN + 120N) en basalto

Tratamiento	FDN	FDA	PC
CAMPO NATURAL	73.95	39.25	9.25
CN + LEG	62.30	23.45	18.95
CN + 40N	67.15	36.70	10.45
CN + 80N	65.65	35.30	13.20
CN + 120N	66.70	35.40	13.45

profundo

Fuente: adaptado de Bemhaja (1994).

Por otra parte, en otros experimentos que combinaron diferentes dosis de fertilizantes nitrogenados con diferentes ofertas de forraje, Boggiano et al. (2005) y Zanoniani et al. (2011) obtuvieron respuestas donde los tratamientos fertilizados superaron en producción de forraje invernal a aquellos sin fertilización. Además, los aumentos en producción de forraje en dosis elevadas de nitrógeno fueron optimizados utilizando bajas ofertas de forraje debido al rápido rebrote del forraje. Dicha respuesta fue

relacionada al tipo de gramíneas presentes (*Bromus auleticus* y *Nasella neesiana*), las cuales explicarían parte de la respuesta lograda (Boggiano et al., 2005, Zanoniani et al., 2011). Aumentos en la acumulación de forraje anual, con aumentos en la producción invierno-primaveral a partir del cuarto año de fertilización, también fueron reportados por (Rodríguez y Rodríguez, 2017). En la figura 2 se observa cómo varía la concentración de N en el forraje de *Festuca arundinacea* en función de la dosis de N aplicado al suelo. Para un mismo valor de N aplicado, a medida que aumenta la biomasa de forraje (t/ha), se diluye la concentración de N en este Lemaire y Belanger (201).

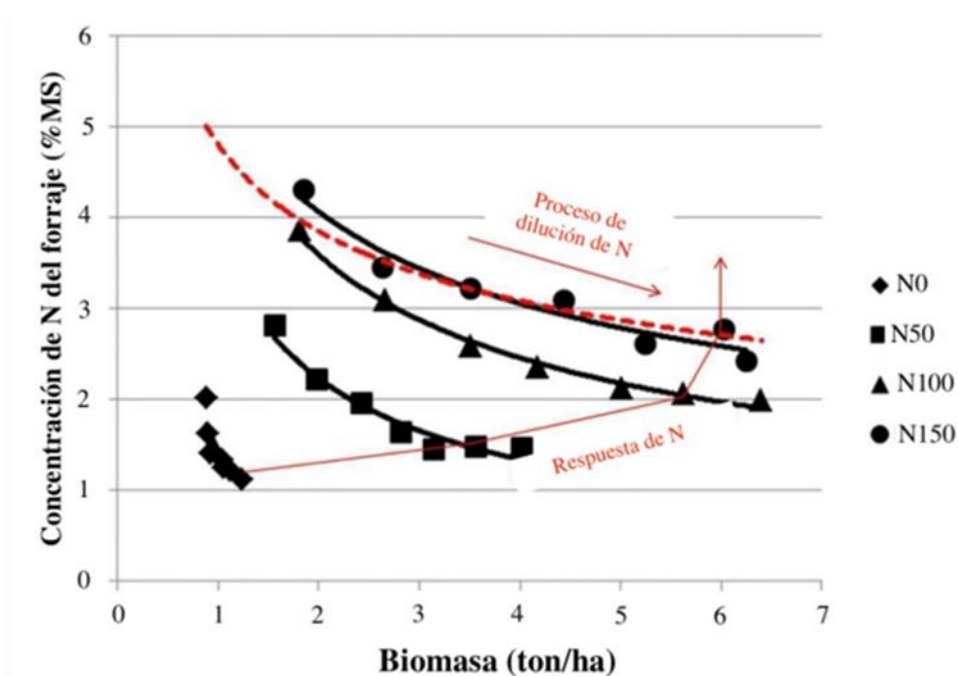


Figura 2. Adaptado de Lemaire y Belanger (2019). Variación de la concentración de N (N%) en relación con la masa de forraje (toneladas por hectárea), durante la estación de crecimiento primavera para *Festuca arundinacea* Schreb, bajo diferentes niveles de fertilización con nitrógeno aplicado. La línea roja punteada representa la curva crítica de dilución de nitrógeno ($\%N = 4,8W - 0,32$), correspondiente al mínimo porcentaje de nitrógeno en la biomasa necesario para alcanzar la máxima biomasa de forraje.

La respuesta del campo natural a la fertilización exclusiva con fósforo puede ser baja debido a la baja proporción de leguminosas nativas que están presentes en los campos de la región (Berreta, 1998). Sin embargo, si existe una fertilización basal con nitrógeno, el campo natural también incrementa su crecimiento en respuesta al agregado de fertilizante fosfatado (Rubio et al., 1997, Madeira, 2019).

1.3.2 Efecto del déficit hídrico en el contenido de PC del forraje

Todas las plantas requieren cuatro recursos principales para crecer: agua, nutrientes, radiación solar y CO₂. Si bien muchas veces se estudian los recursos por separado, en agronomía existen colimitaciones muy importantes, como, por ejemplo, el agua y los nutrientes. Esta colimitación es aún más importante en un contexto de cambio climático con sequías frecuentes, lo cual puede derivar en una disminución en la producción y en la calidad de los forrajes de los campos naturales (Durand et al., 2010).

Los efectos ambientales actúan sobre los procesos fisiológicos de las plantas y se reflejan en el crecimiento y la calidad del forraje. Las variaciones anuales, estacionales y geográficas del ambiente alteran el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que provoca que la calidad del forraje sea el resultado de la interacción de múltiples factores y no algo estable para los animales que pastorean (Buxton et al., 1995). Los factores ambientales que tienen mayor efecto en el valor nutritivo de los forrajes son: temperatura, radiación solar, agua y nutrientes disponibles en el suelo (Buxton et al., 1995). De estos, la disponibilidad de agua y nutrientes del suelo son algunos de los principales factores que condicionan la calidad del forraje.

El agua es un impulsor de los procesos naturales de los ecosistemas, ya que también influyen en los ciclos biogeoquímicos (nitrógeno, fósforo y otros). El déficit hídrico provoca una reducción de la conductancia estomálica, lo que causa una caída en la tasa de la fotosíntesis y en la transpiración y, consecuentemente, en la asimilación de CO₂ (Farooq et al., 2012, He y Dijkstra, 2014). También, el menor suministro de los

nutrientes a las plantas puede darse por la menor humedad del suelo, la cual provoca menor tasa de mineralización (He y Dijkstra, 2014).

El déficit hídrico generalmente inhibe el macollaje y el rebrote del forraje y también acelera la muerte de macollos ya establecidos. El área foliar y, en consecuencia, la densidad de hojas verdes se reduce debido a la aceleración de la senescencia de las hojas más viejas (Otegui, 1992). En la medida en que las hojas más viejas mueren, tanto el nitrógeno como los carbohidratos solubles se movilizan y se mueven hacia las hojas más nuevas u órganos de reserva (Hikosaka, 2005). Bajo estrés hídrico prolongado, muchas hojas se mueren y algunas especies perennes pueden entrar en dormancia, lo que hace que la mayoría de los nutrientes sean trasladados hacia las raíces, resultando esto en una disminución en la calidad de forraje (Eziz et al., 2017).

1.3.3 Efecto del pastoreo en el contenido de PC del forraje

Las hojas representan las partes de mayor calidad del forraje y son elegidas preferentemente por los animales cuando estos tienen la posibilidad de seleccionar su dieta (Gibson, 2009). Por su parte, a medida que avanza la estación de crecimiento, la proporción de tallos aumenta y disminuye la calidad tanto de las hojas como de los tallos (Gibson, 2009). En experimentos de defoliación progresiva, Chacon y Stobbs, (1976) reportaron que, en las primeras etapas de la defoliación, las vacas seleccionaron principalmente hojas, siendo la dieta > 80 % de hojas verdes en los estratos superiores de la vegetación, y allí el consumo fue máximo. A medida que disminuyó la cantidad de hojas verdes disponibles y aumentaron los tallos y restos secos, los animales tomaron bocados más pequeños y aumentó el tiempo de pastoreo. Por su parte, en las etapas finales de la defoliación, disminuyeron tanto el tiempo de pastoreo como el número de bocados, lo que dio como resultado una baja ingesta de forraje. En estas condiciones, Chacon y Stobs (1976) concluyeron que la hoja es el componente más importante del forraje y que tanto el porcentaje como la densidad de hojas verdes son los principales factores que influyen en la ingesta de los animales en pastoreo. En

definitiva, las alturas seleccionadas de los parches son moldeadas por el pastoreo animal y en ese accionar entra la selectividad orientada por la estructura presente (Mott y Lucas 1952) y por los tipos productivos de plantas.

1.4 ANALISIS MULTIVARIADOS: MODELO DE ECUACIONES ESTRUCTURALES

Los modelos de ecuaciones estructurales son una herramienta estadística multivariada que permiten estimar los efectos y las relaciones entre múltiples variables (Hair et al., 2011). Específicamente, dichos modelos permitirían ayudar a examinar las relaciones causales directas e indirectas de la fertilización, el nivel de biomasa y el contenido de agua en el suelo en el contenido de PC del forraje.

2. WHAT CONTROLS THE CRUDE PROTEIN CONTENT VARIATION OF A BASALTIC “CAMPOS” NATIVE GRASSLAND OF SOUTH AMERICA?

Éste artículo corresponde al capítulo 2 de la tesis. *What Factors Control the Crude Protein Content Variation of a Basaltic “Campos” Native Grassland of South America?* Núñez Laura, Hirigoyen Andrés, Durante Martín, Arroyo José María, Cazzuli Fiorella, Bremm Carolina and Jaurena Martín. Fue aceptado 19 de julio de 2022 por la revista *Agronomy* (Management of Grasslands: Forage Growth and Nutritive Composition, Livestock Grazing and Performance). Publicado en <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/8/1756/htm>

2.1 RESUMEN

El campo natural es la principal fuente de alimento para el ganado en la región “Campos” en Sudamérica. El forraje del campo natural tiene la característica de ser heterogéneo en composición de especies, sistema de pastoreo y fertilidad del suelo, todos estos factores que afectan en el tiempo y en el espacio el contenido de proteína

cruda en el forraje del campo natural. A pesar de la importancia del contenido de proteína cruda en la nutrición de los animales a pastoreo, existe una brecha de conocimiento de cómo influyen la fertilización, la altura de la pastura y la disponibilidad de agua del suelo, en el contenido de proteína cruda del forraje. Utilizamos datos de un experimento de fertilización de campo natural de largo plazo para construir un modelo estructural para identificar los principales factores que influyen en el contenido de proteína cruda en el forraje del campo natural en suelos de basalto, al norte de Uruguay. El modelo estructural reveló que tanto la fertilización como el aumento de la disponibilidad hídrica en el suelo (a través del aumento en el contenido de nitrógeno en las hojas verdes), son la principal vía mediante la cual aumenta el contenido de proteína cruda en el forraje de campo natural. Este nuevo enfoque que identifica y cuantifica los principales factores que inciden en el contenido de proteína cruda del forraje del campo natural, podría ser útil en modelos de predicción del contenido de proteína en el forraje con el fin de apoyar la nutrición de los animales en pastoreo sobre campo natural.

Palabras claves: contenido de proteína cruda del forraje, campo natural, altura de la pastura, fertilización, disponibilidad de agua en el suelo.

2.2 ABSTRACT

Native grasslands are the main source of food for livestock in the Campos region of South America. These forage resources are heterogeneous in species composition, grazing management, and soil fertility within a context of variable climate, all of which are factors that affect forage crude protein content over time and space. Despite the importance of protein in livestock nutrition, there is a gap in the knowledge of how fertilisation, sward height, and soil water availability influence the crude protein content of these grasslands. We used data from a long-term fertilisation experiment to construct a structural model aiming to identify the main factors influencing forage crude protein content of a basaltic native grassland in northern Uruguay. The structural model revealed that both fertilisation and the increase in soil water availability

(through the improvement of the nitrogen content of green leaves) are the main pathways by which forage crude protein content increases.

This new approach (which identifies and quantifies the main factors that drive forage crude protein content of native grasslands) could be used to support prediction models for forage protein content in order to improve grazing livestock nutrition of Campos native grasslands.

Keywords: forage crude protein content; native grasslands; sward height, fertilisation; soil water availability

2.3 INTRODUCTION

Pastures and especially native grasslands are the most inexpensive way to feed ruminants due to their ability to digest fibrous feeds. In the Campos region of southern South America, livestock production is based on the use of species-rich native grasslands (NG), which has a high potential for productivity improvement [1,2] and ecosystem services provision [3,4]. Forage quality is a key factor in determining livestock productivity in NG-based production systems, mainly when the forage allowance does not limit livestock intakes [5]. Several studies have reported that the forage crude protein content (FCPC) of NG can be a limiting resource for livestock production [6–9]. Due to the lack of information on the factors influencing FCPC of beef cattle grazing systems, it has not yet been possible to carry out precision management of livestock nutrition under grazing conditions.

Most NGs are composed of a spatial mosaic of patches that temporally varies in species composition [10, 11] as well as the relative abundance of C₃ and C₄ functional types [12, 13]. Grass species of C₄ functional types are the main component of NGs [14], which have greater content of vascular bundles in their leaves compared to C₃ grasses, which makes them of lower quality [15]. In addition, the plant composition of this NG can also spatially vary as a function of a gradient of soil water availability (SWA) determined by soil type and rooting depth [14] and also due to the canopy's height

[16]. Thus, this spatio-temporal heterogeneity in the species composition can lead to significant variations in the quality of forage, particularly in FCPC [17].

On the other hand, the occurrence of temporal variations in forage quality is associated with climatic conditions. Under drought conditions, the reduction in nitrogen absorption capacity may be greater than the decrease in plant growth, thus decreasing FCPC [18]. Within this context, SWA restrictions cause a dilution of FCPC by limiting the nitrogen absorption capacity as well as by the increase in the proportion of senescent material [18]. On the contrary, a meta-analysis study of climate change effects on forage quality in NG of Dumont et al. [19] detected an opposite trend, showing that a SWA restriction led to an increase of 5% in FCPC. Specifically, in NGs there is a knowledge gap on how SWA restrictions may influence FCPC in different contexts of soil fertility, sward heterogeneity, and species diversity.

The structural arrangement of the sward can also influence their FCPC [17]. Sward structure is defined as the spatial arrangement of the plant species, the standing biomass, and its morphological components (green leaves, stems, and senescent material) in the vertical and horizontal planes [20]. Moreover, the different species and plant functional types may have different capacities to accumulate biomass and nitrogen in their leaves [21, 22]. There is evidence from studies carried out on cultivated pastures that as forage plants develop and grow over time, they dilute their FCPC [23]. However, more research based on an integrative approach is needed to refine the knowledge of the effect of species composition and sward structure of FCPC of NG.

Previous studies in long-term experiments have found changes in species composition and plant functional types frequencies in response to nitrogen and phosphate fertilisation [24, 25]. In this sense, Rodríguez and Rodríguez [24] demonstrated that fertilisation decreased the frequency of summer perennial grasses and increased nitrophilic species, mainly winter annual grasses. These changes in botanical composition favour fast growing C_3 photosynthetic pathway species with a greater capacity to capture nitrogen [24], which could be also associated with an increase in

FCPC of NG. Thus, understanding the dynamics of species and functional type responses to NG fertilisation within a context of variable SWA is essential to predict the FCPC of NG.

To our knowledge, there is no scientific evidence of the mechanisms explaining how fertilisation, SWA, and sward height influence the FCPC through a variation in nitrogen content of green leaves with respect to the components of the sward structure and plant functional type frequencies. This study aimed to explore the main drivers that influence FCPC in a basaltic NG sward of Uruguay and to determine the intermediate pathways operating at different scales through a structural model.

2.4 MATERIAL AND METHODS

2.4.1 Site Description and Experimental Design

The research was conducted over a period of two years in two cycles, each cycle being a spring-summer growing season (first cycle 2017/2018, second cycle 2018/2019). During the two years, several pasture and climatic variables were registered. The study was conducted using the experimental units of an ongoing long-term experiment established in 1995 at Glencoe experimental station of the National Agricultural Research Institute (INIA), located north-west Uruguay Latitude: 32°09' S; Longitude: 57°81'W). The experimental long-term treatments consisted of two management schemes: (i) an unfertilised native grassland (UNG) as a control treatment, and (ii) an annually fertilised native grassland (FNG) with 100 kg N/ha and 40 kg P₂O₅/ha. Each year, phosphorus (as superphosphate) was applied to the FNG at the beginning of autumn, while nitrogen (as urea) was applied in two fractions of 50 kg/ha of N each at the beginning of autumn and spring. The experimental units were four paddocks of two ha randomly allocated in two blocks. The soil of the research station has a basaltic origin, with high clay content and medium-high potential rooting depth (Hapludolls). The sward was continuously grazed by livestock, with monthly stocking rate adjustments when necessary, aiming to maintain the sward height between 6 and 10 cm using the “put and take” method [26]. In practice, when the average pasture height deviated above or below the target range of 6 to 10 cm, 100 kg of livestock liveweight

per ha were put on or taken off for each cm below or above the target range, respectively. To that end, three tester calves and a variable number of put-and-take calves were used to maintain the target sward height. The animals of the first cycle entered with an average liveweight of 163 ± 10 kg, while animals of the second cycle entered with 184 ± 6 kg. Before the beginning of each annual evaluation cycle (autumn), a forage deferment (stockpiling) was carried out until a target overall average sward height of 10 cm was reached. Despite 10 cm being the target average sward height, the sward's heterogeneity still made it possible to find other heights within the same pasture (e.g., patches of 4, 8, 12, 16 cm). The stockpiling period of standing forage for the first and second cycle was 50 and 90 days, respectively.

2.4.2 Grasslands Measurements and Forage Sampling

The forage sampling procedure was carried out according to Figure 1. On each sampling date (springs of 2017 and 2018 and summers of 2018 and 2019), four different "patches" were identified on each plot according to their height into: 4, 8, 12 or 16 cm. To determine these heights, five random measurements were taken within a 0.5×0.2 m quadrat placed on each patch. Above ground clippings were performed on each quadrat, into 4 cm thick strata. Thus, 4 cm patches were trimmed into one forage sample (0–4 cm), 8 cm patches were trimmed into two forage samples (0–4 and 4–8 cm), 12 cm patches were trimmed into three forage samples (0–4, 4–8 and 8–12 cm), and 16 cm patches were trimmed into four forage samples (0–4, 4–8, 8–12 and 12–16 cm). Five samples per patch per stratum were harvested and then taken to the lab, where each of them was fresh weighted and separated into three sub-sample plant fractions: green leaves, green stems and inflorescences, and dead material. Once this procedure was over, all similar fractions of the same paddock, patch and stratum were pooled into a simple sample, thus generating three subsamples of each plant fraction per sampling date. In this way, 30 pooled plant fraction samples were oven-dried at 60°C until constant weight and finally dry weighed. These samples were later analysed to estimate CP content, as will be explained in the following section.

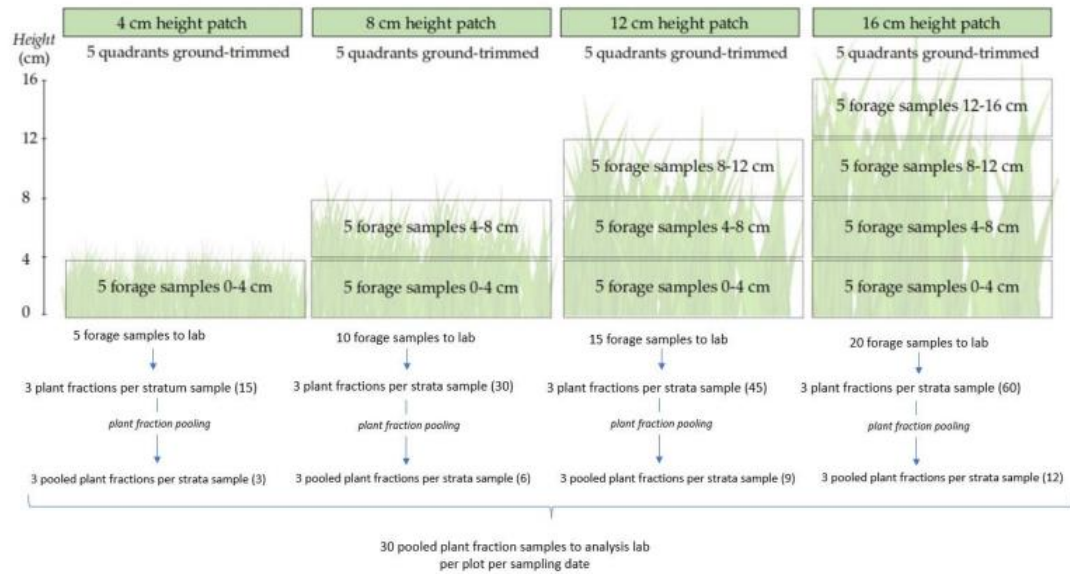


Figure 1. Sampling procedures diagram.

The coverage proportions of all vascular plants were visually recorded in the field using the Braun-Blanquet scale modified by ElleMBERG and Mueller–Dombois [27] recording the five most dominant species in five places of 0.1 m² squares prior to the biomass sample clippings. Also, to maintain the target average sward height, during each experimental cycle, sward height measurements were carried out twice a month on six fixed transects per plot using a graduated ruler. These evaluations were performed by measuring the upper canopy layer where the highest number of green leaves apices were concentrated [28].

2.4.3 Forage Crude Protein Analysis

The dried samples of green leaves, green stems and inflorescences, and dead material of each patch were pooled into upper stratum (the top 4 cm) and the rest of the strata underneath it (the bottom strata), and subsequently milled through a 1 mm screen in a Thomas-Wiley mill (Thomas Scientific, Swedesboro, NY, USA). Total N concentration was determined according to the Dumas method (procedure 968.06 of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [29]) using a Leco LECO CHN 628 nitrogen analyser (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA) and expressed as FCPC (total N × 6.25) concentration. (Appendix B).

2.4. Data Analysis

Soil water availability was estimated using a daily water balance. This balance considered an available water storage capacity of 80 mm and used the daily rainfall data obtained from the automatic weather station located at Glencoe experimental station, as well as the potential evapotranspiration, which was calculated using the FAO Penman Monteith equation. Data of summer samplings were separated into dry and wet periods. Three samplings coincided with periods of normal rains with respect to those expected for the season, while the remaining period was below the average rainfall (Appendix A). The data was analysed using generalized and mixed linear models of the Infostat statistical package [30]. The statistical models included “treatment”, “patch height”, “sampling period” and their interactions as fixed factors, and “block” as a random factor. Normality of the residuals was evaluated by the Shapiro–Wilk test ($p > 0.05$) and the QQ-plot visual assessment. The residuals of FCPC did not meet normality criteria; therefore, it was necessary to apply a natural-log transformation. Means for significant fixed effects were compared using Fisher’s LSD test ($p < 0.05$). The species indicator value (IndVal) described by Dufrene and Legendre [31] was used as the measurement index that associates species and environments. This method is based on the degree of specificity (exclusivity to a particular environment) and the degree of fidelity (frequency of occurrence within the same environment). The R package “indicpecies”, was used to identify indicator species, selecting species with an IndVal greater than 60. We used linear regressions to verify the relationships among FCPC components’, comparing upper vs. bottom strata, and comparing the two contrasting summers. If the 95% confidence interval of the slopes of the regressions overlapped between fertilisation treatments, they were grouped in the analysis. These regression analyses were performed using InfoStat software [30]. In addition, we used a partial least squares structural equation modelling (PLS-SEM) to estimate how fertilisation, forage patch height and SWA affected FCPC, either directly or indirectly through intermediate variables. An a priori model with all potential causal relationships was specified and estimated. A bootstrap analysis of 5000 replications was carried out to test path significance. Subsequently, the model was simplified, excluding 10 of 18 paths between fertilisation, forage patch height and intermediate variables and 3 of the 6 paths between intermediate variables

and FCPC which displayed higher bootstrapped values than the significance level of 0.05. The final model quality evaluation was performed following Hair et al. [32]. All the quality measures of the variables selected in the final model were significant (composite reliability coefficients > 0.7 and average variances extracted (AVE) > 0.5). We used the Smart PLS 3.3.5 software to perform the structural model estimation. This software uses the PLS-SEM algorithm and a graphical user interface for testing causal models that include multiple factors [32].

2.5 RESULTS

A total of 40 plant species were registered from UNG and FNG. Fertilisation, patch sward height, season of the year, and SWA of the soil modified the species composition. In spring, the winter annual grass *Lolium multiflorum* Lam. was an indicator of all the patch sward heights in the fertilised plots. In the UNG treatment, two summer perennial grasses were found to be an indicator species: *Paspalum notatum* Flüggé was an indicator species in all classes of sward heights while *Paspalum plicatulum* Michx. was an indicator species of patch sward height of 8 cm or greater. On the other hand, no indicator species were found in summer for any of the sward heights. During summer, the summer perennial grass *Sporobolus indicus* (L.) R. Br. was an indicator species (only during the dry summer) of patch sward heights of 4, 12, and 16 cm in the fertilised plots, and *Panicum* sp. was an indicator species of patch sward heights of above 8 cm. In the UNG treatment, two summer perennial grasses were found to be an indicator species, *Paspalum plicatulum* Michx. was an indicator species of patch sward height of 12 cm or greater, and *Andropogon ternatus* (Spreng.) Nees (only during the drysummer) was an indicator species of patches sward height of 8 cm or greater (Figure 2).

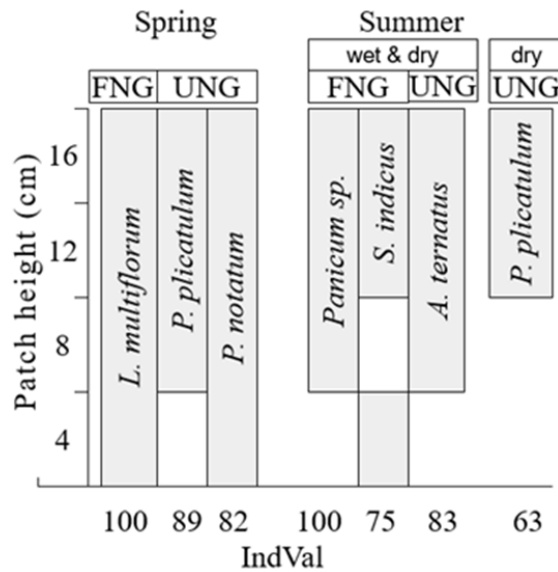


Figure 2. Indicator species (IndVal > 60, and $p < 0.05$) of patch sward heights (4, 8, 12 and 16 cm) of an unfertilised native grassland (UNG) and a fertilised native grassland (FNG) registered both in spring and summer (wet and dry periods).

The effect of fertilisation on the components of the sward structure varied according to the sampling period. The proportion of green leaves showed no significant differences ($p > 0.05$) between FNG and UNG neither in spring 2017, nor in summer 2019. Nonetheless, during the summer and spring 2018 UNG showed a greater proportion of green leaves than FNG. The proportion of stems was similar ($p > 0.05$) between treatments in the two summers, while during both springs it was greater for FGN. The proportion of dead tissue was greatest in the dry summer of 2018 compared with the rest of the evaluations. The proportion of dead tissue presented differences only during a severe drought occurred on summer 2018, when FNG presented a greater proportion of dead tissue than UNG (Figure 3).

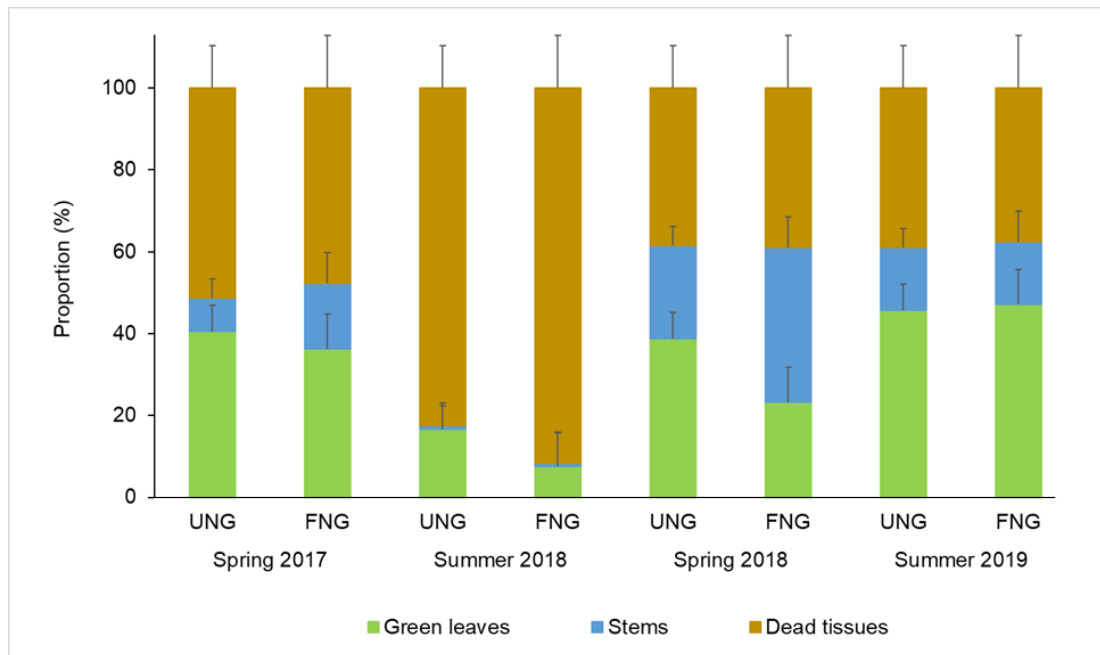
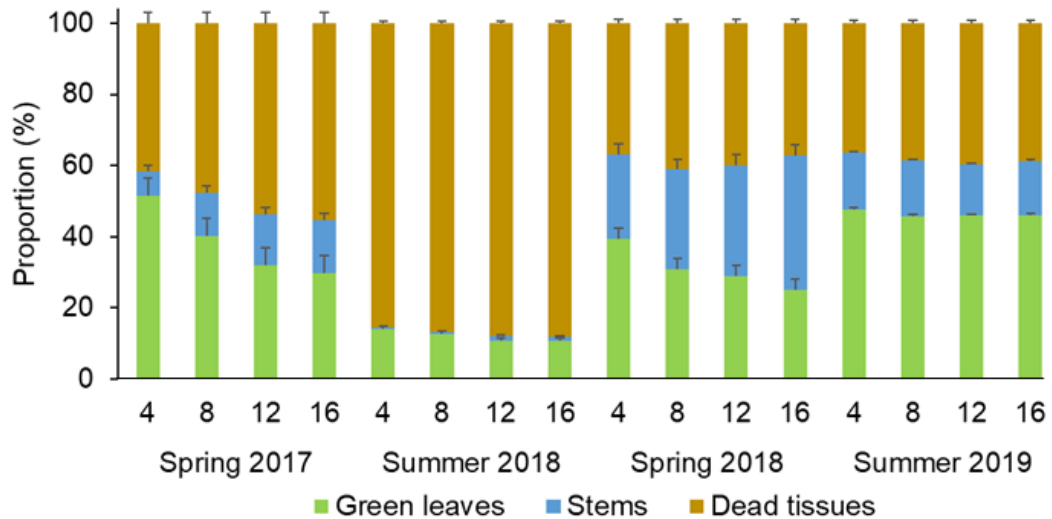


Figure 3. Proportion of green leaves, stems and dead tissue (average percentage \pm standard error) of an unfertilised native grassland (UNG) and fertilised native grassland (FNG) during spring 2017, summer 2018, spring 2018 and summer 2019.

During spring, significant differences ($p < 0.05$) were detected in the proportion of the biomass components between the forage patches of different heights. The shortest forage patches (4 cm and 8 cm in spring 2017 and 4 cm in spring 2018) presented a greater proportion of green leaves than the rest of the patches, in both treatments. The reduction in the proportion of green leaves was compensated by the increase of stems and dead tissue in spring 2017 and only by the increase of stems in spring 2018. In

contrast, in the summer samplings no differences were detected in the proportion of the biomass components between patches of different heights (Figure 4).

Figure 4. Proportions of green leaves, stems and dead tissue (average percentage \pm standard error) of patches with 4, 8, 12 and 16 cm during spring 2017, summer 2018,



spring 2018 and summer 2019, of the average of an unfertilised native grassland (UNG) and a fertilised native grassland (FNG).

The relationship between the protein content of different components of the structure or periods with contrasting SWA was maintained beyond the variations between fertilisation treatments. The FCPC of green leaves was always above the FCPC of both dead tissue and stems, regardless of the fertilisation treatment. The FCPC of green leaves was 2.7% and 3.9% greater on average than in stems and dead tissue, respectively. On the other hand, FCPC of the upper stratum was 1% greater than that of the bottom stratum located underneath. During the wet summer, FCPC was 2.5% greater compared to the dry summer (Figure 5).

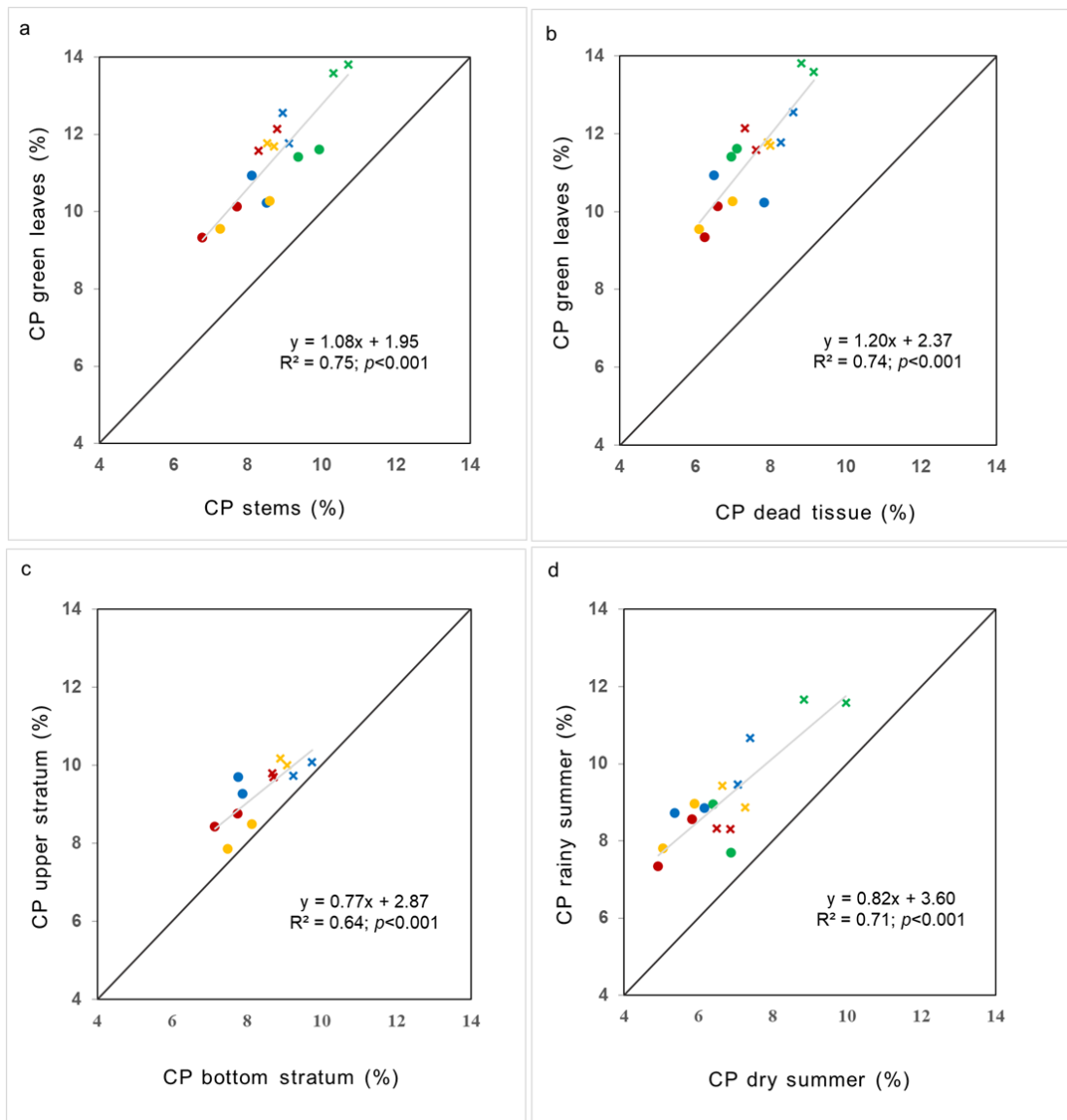


Figure 4. Relationship between forage crude protein content (FCPC) of (a) green leaves vs. green stems, (b) green leaves vs. dead tissue, (c) all forage from the illuminated upper sward stratum (top 4 cm) vs. all forage from the shaded sward strata (forage below the top 4 cm), (d) all forage in the rainy summer vs. all forage in the dry summer. Patch height: 4 cm (green), 8 cm (blue), 12 cm (yellow) and 16 cm (red). Point symbols indicate unfertilised native grasslands (UNG) and cross symbols indicate fertilised native grasslands (FNG). Note: Diagonal grey lines indicate the 1:1 regression line. R^2 represents the coefficient of determination and p value indicates the significance of this coefficient. The slopes of the regressions of each fertilisation treatment were not different when compared using a 95% confidence interval.

2.6 DISCUSSION

Our results revealed that NG fertilisation led to strong changes in species composition. Thus, fertilisation decreased the frequency of the dominant functional group of summer perennial C⁴ grasses at the expense of increasing winter annual C₃ grasses, mainly *Lolium multiflorum*, at all sward heights, which are similar results to those from previous studies [24,33–35]. During winter, annual C₃ grasses flower and stem production is concentrated at the end of the spring while the same production of perennial C⁴ grasses occurs throughout the summer. However, these changes in species composition and plant functional type frequency, which imply differences in the phenology as well as light and nutrient-capture strategies [12], did not lead to significant variations in FCPC.

The present study identified a structural model that quantified the direct and indirect effects of sward height and SWA on FCPC. Three groups of intermediate variables that mediate the path between primary variables (fertilisation, sward height and soil available water) and FCPC were identified: (i) total nitrogen concentration in green leaves; (ii) forage canopy structure (proportion of: green leaves, stems, and dead tissue); and (iii) plant functional type composition (proportion of annual C₃ grasses, perennial C₃ grasses, perennial C₄ grasses and dicots herbs). The final structural model revealed that the effects of fertilisation and SWA, through an increase of nitrogen content in green leaves, were the main pathways that influence FCPC on a basaltic NG (Figure 6).

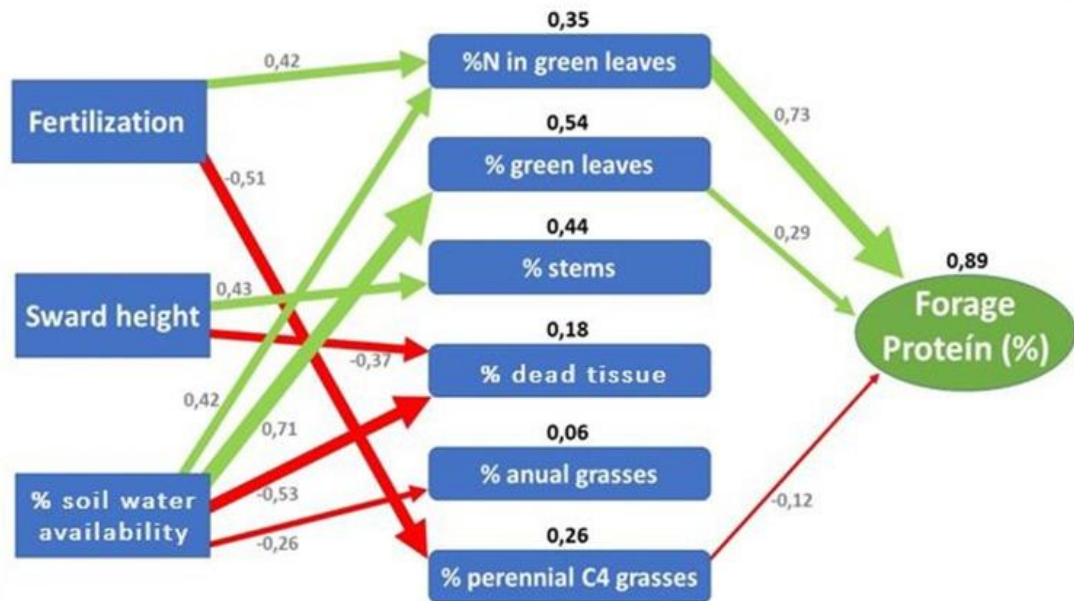


Figure 6. Structural equation model illustrating the direct and indirect effects of fertilisation, sward height and soil water availability (SWA) on a basaltic native grassland (NG) forage crude protein content (FCPC). The arrows represent significant positive (green) and negative (red) pathways, and the arrow width is proportional to the strength of the relationship. The grey numbers indicate the standard path coefficients (the strength of a relationship between variables), and the black numbers represent the coefficient of determination R^2 of intermediate and final variables.

As expected, when nitrogen is no longer limiting, fertilisation had a strong positive effect on %N in green leaves, which was the intermediate variable more related to FCPC. However, correlation analyses showed that the greatest difference in the %N between components occurred between green leaves and dead tissue evidencing that nitrogen was remobilised from senescent to young green leaves as described by Gastal and Lemaire [36]. A consistent difference of 3.9% FCPC between green leaves and dead tissue was observed for all treatments, regardless of whether they were fertilised or not, showing that nitrogen continued to be a limiting factor of forage production [37]. In contrast, our data also revealed slight variations of FCPC of the upper vs. the bottom stratum evidencing that: (i) green leaves were distributed in all sward heights

patches; and (ii) the density of leaves in the upper stratum did not cause excessive shading of the lower leaves to prevent light reaching prostrate species.

In line with Lemaire and Belanger [23], we found an inverse relationship between green leaves proportion and sward height, yet this finding was only observed during spring evaluations. Although sward height patches were characterised by very different species composition, the lack of a relationship between the proportion of green leaves and sward height during both summers prevented us from detecting a general response pattern. The increase of sward height only modified the components of its structure by increasing stem proportion and reducing dead tissue proportion. Nonetheless, these pathways did not affect the overall protein content of the forage. There is strong evidence of the decline of FCPC as forage plants grow, which implies a clear trade-off between forage biomass and its nutritional value [23,38–40]. However, unlike what was found by Lemaire and Belanger [23] mainly from studies with pure tall fescue pastures, we did not find evidence of sward patch height having any effect on the forage protein content. This difference could be explained by the highly diverse grassland patches of the present study, which were probably grazed at different intensities throughout the grazing cycles.

The SWA was the only factor that significantly influenced the forage protein content throughout all the groups of intermediate variables of the structural model. This emphasises what Knapp et al. [41] state regarding SWA as one of the main drivers of forage production of NG. A greater SWA increased total nitrogen concentration in green leaves, green leaves proportion and C4 perennial grasses proportion, while decreasing at the same time dead tissue proportion in the forage biomass as well as the frequency of winter annual grasses.

Despite all these changes, the effect of SWA on both green leaves' nitrogen content and green leaves proportion were key factors in explaining the variations in the FCPC. The decline in SWA reduced the green leaves' nitrogen content and accelerated leaf senescence [18], hence diluting the metabolic component (green leaves) as forage biomass increased, as was postulated by Lemaire and Belanger [23]. The drought

effect was in line with the response described by He and Dijkstra [18], in which the reduction in the nitrogen absorption

capacity was greater than the decline in plant growth and contrary to what was reported by Dumont et al. [19] (an increase in FCPC). This controversial effect of droughts on the nitrogen content of plants has been clarified in the review of Deng et al. [42], postulating that drought effects on soil nitrogen are mediated by drought duration and intensity. In our study the drought was not extreme, which means that the effect of a drought-induced limitation of nitrogen supply by water shortage would have been greater than the restricted growth of the pasture, thus decreasing FCPC. Our study identified both the main drivers and the intermediate pathways that influence FCPC of a basaltic native grassland of Uruguay. We hope that the results of this study will contribute to the development of prediction models for forage protein content to improve the livestock nutrition of grazing ruminants of Campos native grasslands. Nevertheless, we must highlight that the experiment was carried out on a site that accumulates more than 20 years of fertilisation, in which changes in species composition are not recent.

This situation allowed us to identify a long-term change in functional type frequencies and to include this effect in the structural model. However, a major limitation of the study is that it is difficult to extrapolate our results to short-term effects in the early years of a fertilisation scheme or other types of grassland communities. Hence, for future studies, it would be advisable to take a larger sample size of sward patches of more contrasting NG communities to capture, to a greater extent, the existing variability.

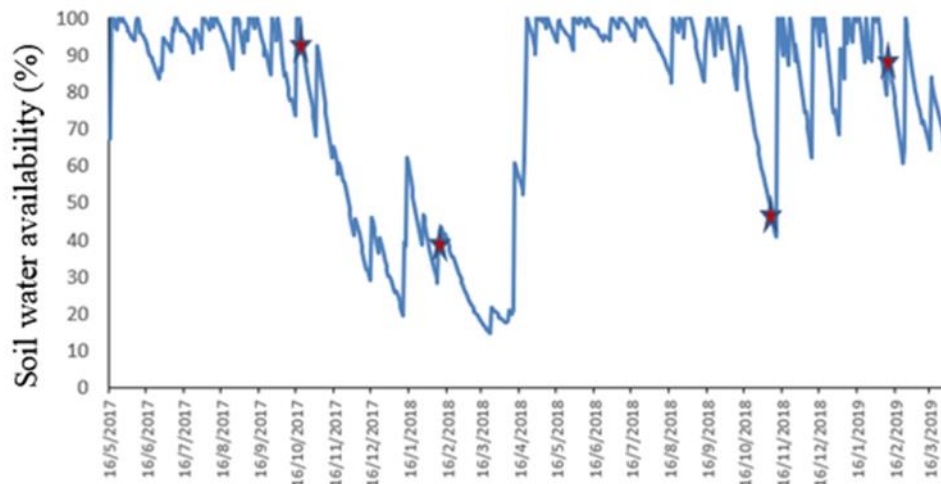
2.7 CONCLUSIONS

The greatest forage crude protein content occurs in the upper strata of green leaves during seasons without the occurrence of droughts in fertilised native grasslands. The effects of fertilisation and soil water availability on the green leaves' nitrogen content,

-and to a lesser extent by influencing the proportion of green leaves-, were the main pathways explaining the variation in the grassland forage crude protein content.

2.8 APPENDIX

A)



Soil water availability (%) for the period experiment.

Appendix B

Forage sample analyses were performed immediately after the samples arrived in the laboratory. After that, a 0.1 g subsample of ground material was heated up to 60 °C for at least 2 h until a stabilised weight was reached. For every 50 analysed samples an alfalfa sample (LECO reference material) was used to ensure the precision of the results of the prior 50 samples in terms of outlier identification. We used Tukey's test based on statistical methods to identify outliers. This process uses quartiles to identify possible outliers. It can calculate the upper limit UF and lower limit LF in the data. Outliers may be out of this range. $LF = Q2 - (Q3 - Q1)$, $UF = Q2 + (Q3 - Q1)$. Values outside the range (UF) were considered as outliers and so these samples were reanalyzed. Reanalysis values still outside the above-mentioned threshold, were eliminated

2.9 REFERENCES

1. Jaurena, M.; Durante, M.; Devincenzi, T.; Savian, J.V.; Bendersky, D.; Moojen, F.G.; Pereira, M.; Soca, P.; Quadros, F.L.F.; Pizzio, R.; et al. Native Grasslands at the Core: A New Paradigm of Intensification for the Campos of Southern South America to Increase Economic and Environmental Sustainability. *Front. Sustain. Food. Syst.* 2021, 1–11.
2. Carvalho, P.C.; Batello, C. Access to Land, Livestock Production and Ecosystem Conservation in the Brazilian Campos Biome: The Natural Grasslands Dilemma. *Livest. Sci.* 2009, 120, 158–162.
3. Viglizzo, E.F.; Frank, F.C. Land-Use Options for Del Plata Basin in South America: Tradeoffs Analysis Based on Ecosystem Service Provision. *Ecol. Econ.* 2006, 57, 140–151.
4. Weyland, F.; Barral, M.P.; Laterra, P. Assessing the Relationship between Ecosystem Functions and Services: Importance of Local Ecological Conditions. *Ecol. Indic.* 2017, 81, 201–213. *Agronomy* 2022, 12, 1756 11 of 12
5. Da Trindade, J.K.; Neves, F.P.; Pinto, C.E.; Bremm, C.; Mezzalira, J.C.; Nadin, L.B.; Genro, T.C.; Gonda, H.L.; Carvalho, P.C. Daily Forage Intake by Cattle on Natural Grassland: Response to Forage Allowance and Sward Structure. *Rangel. Ecol. Manag.* 2016, 69, 59–67.
6. Moore, J.E.; Brant, M.H.; Kunkle, W.E.; Hopkins, D.I. Forage Supplementation and Grazing-Effects of Supplementation on Voluntary Forage Intake. *J. Anim. Sci.* 1999, 77 (Suppl. 2), 122–135.
7. Poppi, D.P.; Quigley, S.P.; da Silva, T.A.C.C.; McLennan, S.R. Challenges of Beef Cattle Production from Tropical Pastures. *Rev. Bras. Zootec.* 2018, 47, 1–9.
8. Ramos, Z.; De Barbieri, I.; van Lier, E.; Montossi, F. Body and Wool Growth of Lambs Grazing on Native Pastures Can Be Improved with Energy and Protein Supplementation. *Small Rumin. Res.* 2019, 171, 92–98.
9. Soussana, J.-F.; Lüscher, A. Temperate Grasslands and Global Atmospheric Change: A Review. *Grass Forage Sci.* 2007, 62, 127–134.

10. Chaneton, E.J. Factores que determinan la heterogeneidad de la comunidad vegetal en diferentes escalas espaciales. In *La Heterogeneidad de la Vegetación de los Agroecosistemas*; Oesterheld, M., Aguiar, M.R., Ghera, C.M., Paruelo, J.M., Eds.; Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires: Buenos Aires, Argentina, 2005; pp. 19–42.
11. Tonn, B.; Densing, E.M.; Gabler, J.; Isselstein, J. Grazing-Induced Patchiness, Not Grazing Intensity, Drives Plant Diversity in European Low-Input Pastures. *J. Appl. Ecol.* 2019, 56, 1624–1636.
12. Cruz, P.; Lezana, L.; Durante, M.; Jaurena, M.; Figari, M.; Bittencourt, L.; Theau, J.-P.; Massa, E.; Viegas, J.; Ferreira de Quadros, F.L. Una Clasificación Funcional de 63 Poáceas Comunes de Los Pastizales Naturales de Sudamérica. *Ecol. Austral.* 2019, 29, 239–248.
13. Jaurena, M.; Lezama, F.; Cruz, P. Perennial Grasses Traits as Functional Markers of Grazing Intensity in Basaltic Grasslands of Uruguay. *Chil. J. Agric. Res.* 2012, 72, 541–549.
14. Lezama, F.; Altesor, A.; León, R.J.; Paruelo, J.M. Heterogeneidad de La Vegetación En Pastizales Naturales de La Región Basáltica de Uruguay. *Ecol. Austral.* 2006, 16, 167–182.
15. Wilson, J.R.; Minson, D.J. Prospects for Improving the Digestibility and Intake of Tropical Grasses. *Trop. Grassl.* 1980, 14, 253–259.
16. Herrera, L.P.; Littera, P. Relative Influence of Size, Connectivity and Disturbance History on Plant Species Richness and Assemblages in Fragmented Grasslands. *Appl. Veg. Sci.* 2011, 14, 181–188.
17. Azambuja Filho, J.C.R.; de Faccio Carvalho, P.C.; Bonnet, O.J.F.; Bastianelli, D.; Jouven, M. Functional Classification of Feed Items in Pampa Grassland, Based on Their Near-Infrared Spectrum. *Rangel. Ecol. Manag.* 2020, 73, 358–367.
18. He, M.; Dijkstra, F.A. Drought Effect on Plant Nitrogen and Phosphorus: A Meta-Analysis. *New Phytol.* 2014, 204, 924–931.
19. Dumont, B.; Andueza, D.; Niderkorn, V.; Lüscher, A.; Porqueddu, C.; Picon-Cochard, C. A Meta-Analysis of Climate Change Effects on Forage Quality in

- Grasslands: Specificities of Mountain and Mediterranean Areas. *Grass. Forage Sci.* 2015, 70, 239–254.
20. Marriott, C.A.; Carrère, P. Structure and Dynamics of Grazed Vegetation. *Ann. Zootech.* 1998, 47, 359–369.
21. Dos Santos, A.B.; de Quadros, F.L.F.; Rossi, G.E.; de Pereira, L.P.; Kuinchtner, B.C.; de Carvalho, R.M.R. Valor Nutritivo de Gramíneas Nativas Do Rio Grande Do Sul/Brasil, Classificadas segundo uma tipologia funcional, sob queima e pastejo. *Cienc. Rural.* 2013, 43, 342–347.
22. Díaz, S.; Kattge, J.; Cornelissen, J.H.C.; Wright, I.J.; Lavorel, S.; Dray, S.; Reu, B.; Kleyer, M.; Wirth, C.; Colin Prentice, I.; et al. The Global Spectrum of Plant Form and Function. *Nature* 2016, 529, 167–171.
23. Lemaire, G.; Belanger, G. Allometries in Plants as Drivers of Forage Nutritive Value: A Review. *Agriculture* 2019, 10, 5.
24. Rodríguez Palma, R.; Rodríguez, T. Campo Natural de Basalto: Cuánto Responde En Producción de Forraje? In Proceedings of the XXIV Reunión del Grupo Técnico en Forrajeras del Cono Sur, Tacuarembó, Uruguay, 13–14 July 2017; Ayala, W., Boggiano, P., Alvarez, O., Eds.; Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria: Tacuarembó, Uruguay, 2017; pp. 57–59.
25. Ávila, M.R.D.; Nabinger, C.; Brambilla, D.M.; Carassai, I.J.; Kunrath, T.R. The Effects of Nitrogen Enrichment on Tiller Population Density and Demographics of Annual Ryegrass Overseeded on Natural Pastures South of Brazil. *Afr. J. Agric. Res.* 2013, 8, 3013–3018.
26. Mott, G.O.; Lucas, H.L. The Design, Conduct and Interpretation of Grazing Trials on Cultivated and Improved Pastures. In Proceedings of the International Grassland Congress, State College, PA, USA, 17–23 August 1952; pp. 1380–1395.
27. Ellenberg, D.; Mueller-Dombois, D. *Aims and Methods of Vegetation Ecology*; Wiley: New York, NY, USA, 1974.
28. Hodgson, J. *Grazing Management: Science into Practice*; Longman Handbooks in Agriculture; Longman Scientific and Technical and John Wiley: New York, NY, USA, 1990; 203p.

29. AOAC International. AOAC Official Methods of Analysis, 17th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 2000.
30. Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C. InfoStat Statistical software 2011. Available online: <https://www.infostat.com.ar/index.php> (accessed on 30 May 2022).
31. Dufrêne, M.; Legendre, P. Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecol. Monogr.* 1997, *67*, 345–366.
32. Hair, J.F.; Ringle, C.M.; Sarstedt, M. PLS-SEM: Indeed a Silver Bullet. *J. Mark. Theory Pract.* 2011, *19*, 139–152. [CrossRef] *Agronomy* 2022, *12*, 1756 12 of 12
33. Zanoniani, R.; Boggiano, P.; Cadenazzi, M. Respuesta Invernal de Un Campo Natural a Fertilización Nitrogenada y Ofertas de Forraje. *Agrocienc. Urug.* 2011, *15*, 115–124.
34. Jaurena, M.; Lezama, F.; Salvo, L.; Cardozo, G.; Ayala, W.; Terra, J.; Nabinger, C. The dilemma of improving native grasslands by overseeding legumes: Production intensification or diversity conservation. *Rangel. Ecol. Manag.* 2016, *69*, 35–42.
35. Berendse, F.; Elberse, W.T.; Geerts, R.H.M.E. Competition and Nitrogen Loss from Plants in Grassland Ecosystems. *Ecology* 1992, *73*, 46–53.
36. Gastal, F.; Lemaire, G. N Uptake and Distribution in Crops: An Agronomical and Ecophysiological Perspective. *J. Exp. Bot.* 2002, *53*, 789–799.
37. Madeira, W. Efectos de La Fertilización Primavera-Estival Nitrogeno Fosfatada y Del Riego Suplementario En La Productividad y Eficiencia de Uso de Nutrientes Del Campo Natural. Master's Thesis, UdelaR, Montevideo, Uruguay, 2019.
38. Duru, M.; Lemaire, G.; Cruz, P. Grasslands. In *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*; Lemaire, G., Ed.; Crops; Lemaire; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1997; p. 239. ISBN 978-3-642-64506-8.
39. Hejzman, M.; Szaková, J.; Schellberg, J.; Tlustoš, P. The Rengen Grassland Experiment: Relationship between Soil and Biomass Chemical Properties, Amount of Elements Applied, and Their Uptake. *Plant Soil* 2010, *333*, 163–179. [CrossRef] 40.
- Lemaire, G.; Ciampitti, I. Nitrogen Use Efficiency across Genotype-by-Environment-by-Management Scenarios: A Review. *Plants* 2020, *9*, 1309.

41. Knapp, A.K.; Briggs, J.M.; Koelliker, J.K. Frequency and Extent of Water Limitation to Primary Production in a Mesic Temperate Grassland. *Ecosystems* 2001, 4, 19–28.
42. Deng, L.; Peng, C.; Kim, D.-G.; Li, J.; Liu, Y.; Hai, X.; Liu, Q.; Huang, C.; Shangguan, Z.; Kuzyakov, Y. Drought Effects on Soil Carbon and Nitrogen Dynamics in Global Natural Ecosystems. *Earth-Sci. Rev.* 2021, 214, 103501.

3. CONCLUSIONES GLOBALES

El presente estudio identificó un modelo estructural que cuantificó los efectos directos e indirectos de la fertilización nitrógeno-fosfatada, la altura del forraje y el contenido de agua en el suelo en la PC del forraje en un campo natural de basalto en el norte de Uruguay. Se identificaron tres grupos de variables que median el camino entre las variables primarias (fertilización, altura del forraje y agua disponible en el suelo) con el contenido de PC del forraje: i) el efecto en la concentración de nitrógeno total en hojas verdes; ii) el efecto en la estructura del dosel forrajero (porcentaje de: hojas verdes, tallos y tejidos muertos) y iii) la composición de tipos funcionales de especies (porcentaje de gramíneas anuales C₃, gramíneas perennes C₃, gramíneas perennes C₄).

Fueron registradas un total de 40 especies de media y alta dominancia (mayor a 5 % de cobertura en parches de 0,1 m²) en las situaciones campo natural y campo natural fertilizado. La estación del año, la fertilización, la disponibilidad de agua en el suelo y la altura del parche provocaron modificaciones en la frecuencia de especies indicadoras y en los componentes de la estructura del forraje del campo natural. En las primaveras, el contenido de PC fue mayor en hojas verdes, en hojas de los estratos iluminados y en períodos con ausencia o con moderadas restricciones hídricas en el suelo.

El porcentaje de nitrógeno en hoja fue la variable que más influyó en la concentración de PC del forraje, el cual es afectado, a la vez, tanto por la disponibilidad de agua en el suelo como por la fertilización. Sin embargo, en este estudio se utilizó como unidad porcentaje de PC en la biomasa y no con gramos o densidades por superficie de los componentes estructurales. Por lo cual, un punto porcentual más de PC puede significar que proporcionalmente hay más de ese componente que de los otros y no necesariamente un aumento de masa del componente.

Esperamos que los resultados del presente trabajo puedan aportar información relevante para la construcción de nuevos modelos que permitan orientar las decisiones

de manejo del pastoreo y la fertilización del campo natural, así como para predecir las necesidades de suplementos proteicos en los predios ganaderos en diferentes situaciones de manejo y clima.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Allen VG, Batello C, Berretta EJ, Hodgson J, Kothmann M, Li X, McIvor J, Milne J, Morris C, Peeters A, Sanderson M. 2011. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and forage science*, 66(1), 2-29.
- Altesor A, Oesterheld M, Leoni E, Lezama F, Rodríguez C. 2005. Effect of grazing on community structure and productivity of a Uruguayan grassland. *Plant Ecology*, 179(1), 83–91.
- Ávila MR, Nabinger C, Brambilla DM, Carassai IJ, Kunrath TR. 2013. The effects of nitrogen enrichment on tiller population density and demographics of annual ryegrass overseeded on natural pastures South of Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, 8(23), 3013-3018.
- Andrade BO, Marchesi E, Burkart S, Setubal RB, Lezama F, Perelman S, Schneider AA, Trevisan R, Overbeck GE, Boldrini II. 2018. Vascular plant species richness and distribution in the Río de la Plata grasslands. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 188(3), 250–256.
- Baeza S, Vélez-Martin E, De Abelleira D, Banchemo S, Gallego F, Schirmbeck J, Veron S, Vallejos M, Weber E, Oyarzabal M, Barbieri A, Petek M, Guerra Lara M, Sarrailhé SS, Baldi G, Bagnato C, Bruzzone L, Ramos S, Hesenaek H. 2022. Two decades of land cover mapping in the Río de la Plata grassland region: The MapBiomass Pampa initiative. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 28, 100834. <https://doi.org/10.1016/j.rsase.2022.100834>
- Ball D, Collins M, Lacefield G, Martin N, Mertens D, Olson K, Putnam D, Undersander, D, Wolf M. 2001. Understanding forage quality. *American Farm Bureau Federation Publication*, 1(01), 1-15.

- Bemhaja M. 1994. Fertilización nitrogenada en sistemas ganaderos. En: Moron A, Risso D, (Coords.). Nitrógeno en pasturas Seminario de Actualización Técnica. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 51). 49-56.
- Berretta A, Condon F, Rivas M. 2007. Segundo informe país sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Montevideo: MGAP. 120p.
- Berretta E, Risso D, Montossi F, Pigurina G. 2000. Campos in Uruguay. En: Lemaire G, Hodgson J, Moraes A, Nabinger C, Carvalho, P (Eds.). Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology. Curitiba: CAB International 2000. 377-394.
- Berretta E. 1998. Principales características climáticas y edáficas de la región de basalto en Uruguay. En: Berretta EJ. (Ed.). Seminario de actualización en tecnologías para Basalto. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 102). 3-10.
- Berretta EJ, Formoso D, Carbajal CM, Fernández J, Gabachutto IR. 1990. Producción y calidad de diferentes especies forrajeras nativas en condiciones de campo. In Seminario Nacional de Campo Natural, 2, 1990, Tacuarembó, Uruguay. Hemisferio Sur
- Boggiano P, Zanoniani R, Millot JC. 2005. Respuestas del campo natural a manejos con niveles crecientes de intervención. En: Risso D, Ayala W, Bermúdez R, Berretta E. Seminario de actualización técnica en manejo de campo natural. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 151). 105–113.
- Brazeiro A. 2015. Eco-regiones de Uruguay: Biodiversidad, Presiones y conservación. Aportes a la Estrategia Nacional de Biodiversidad. Montevideo: Ediciones Facultad de Ciencias, CIEDUR vs. Uruguay. 122 p.

- Buxton DR, Mertens DR, Moore KJ. 1995. Forage Quality for Ruminants: Plant and Animal Considerations. *Professional Animal Scientist*, 11(3), 121–131.
- Carámbula M. 1991. Aspectos relevantes para la producción forrajera. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 19) 46 p.
- Chacon E, Stobbs TH. 1976. Influence of progressive defoliation of a grass sward on the eating behaviour of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 27(5), 709–727.
- Chapman DF, Lee JM, Waghorn GC. 2014. Interaction between plant physiology and pasture feeding value: A review. *Crop and Pasture Science*, 65(8), 721–734.
- Collins M, Fritz J. 2003. Forage quality. En: Barnes RF, Nelson CJ, Collins M and Moore KJ (Eds.). *Forages: an introduction to grassland agriculture*, vol. 1. Ames: Iowa State University Press. 363–390
- Crampton EW, Harris LE. 1974. *Nutrición animal aplicada* (2.^a ed.). Zaragoza: Acribia. 756 p.
- Cruz P, Lezana L, Durante M, Jaurena M, Figari M, Bittencourt L, Theau JP, Massa E, Viegas J, Ferreira de Quadros FL. 2019. Una clasificación funcional de 63 Poáceas comunes de los pastizales naturales de Sudamérica. *Ecología Austral*, 29(2), 239–248.
- CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation). 2007. *Nutrient Requirements of Domesticated Ruminants*. Collingwood: CSIRO publishing. 270 p.
- Del Puerto O. 1969. *Hierbas del Uruguay*. Montevideo: Nuestra Tierra. 69 p.

- Díaz S, Kattge J, Cornelissen JHC, Wright IJ, Lavorel S, Dray S, Reu B, Kleyer M, Wirth C, Colin Prentice I, Garnier E, Bönisch G, Westoby M, Poorter H, Reich PB, Moles AT, Dickie J, Gillison AN, Zanne AE, Gorné LD. 2016. The global spectrum of plant form and function. *Nature*, 529(7585), 167–171.
- Durand JL, Gonzalez-Dugo V, Gastal F. 2010. How much do water deficits alter the nitrogen nutrition status of forage crops? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 88(2), 231–243.
- Eziz A, Yan Z, Tian D, Han W, Tang Z, Fang J. 2017. Drought effect on plant biomass allocation: A meta-analysis. *Ecology and Evolution*, 7(24): 11002–11010.
- Farooq M, Hussain M, Wahid A, Siddique K. 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. En: Aroca, R (Ed.). *Plant Responses to Drought Stress*. Granada: Springer. 1-33.
- Fedrigo JK, Ataíde PF, Filho JA, Oliveira LV, Jaurena M, Laca EA, Overbeck GE, Nabinger C. 2018. Temporary grazing exclusion promotes rapid recovery of species richness and productivity in a long-term overgrazed Campos grassland. *Restoration Ecology*, 26(4), 677–685.
- Gastal F, Lemaire GN. 2002. Uptake and Distribution in Crops: An Agronomical and Ecophysiological Perspective. *Journal of Experimental Botany*, 53(370): 789–799.
- Gibson D. 2009. *Grasses and Grassland Ecology*. New York: Oxford University Press Inc. 305 p.

- Grindlay DJC. 1997. Towards an explanation of crop nitrogen demand based on the optimization of leaf nitrogen per unit leaf area. *Journal of Agricultural Science*, 128(4): 377–396.
- Hair JF, Ringle CM, Sarstedt M. 2011. PLS-SEM: Indeed a silver bullet. *Journal of Marketing Theory and Practice*, 19(2): 139–152.
- He M, Dijkstra FA. 2014. Drought effect on plant nitrogen and phosphorus: A meta-analysis. *New Phytologist*, 204(4): 924–931.
- Hennessy DW. 1983. Improved production from grazing cattle when given protein. *South African Journal of Animal Science*, 13(1): 9-11.
- Herrera LP, Laterra P. 2011. Relative influence of size, connectivity and disturbance history on plant species richness and assemblages in fragmented grasslands. *Applied Vegetation Science*, 14(2): 181–188.
- Hikosaka K. 2005. Leaf canopy as a dynamic system: Ecophysiology and optimality in leaf turnover. *Annals of Botany*, 95(3): 521–533.
- Invernizzi J, Silveira M. 1992. Valor nutritivo de diferentes especies nativas en suelos de basalto, en condiciones de Pastoreo. Montevideo: Facultad de Agronomía. Universidad de la República. 98 p.
- Jaurena M, Durante M, Devincenzi T, Savian JV, Bendersky D, Moojen FG, Pereira M, Soca P, Quadros FLF, Pizzio R, Nabinger C, Carvalho PCF, Lattanzi FA. 2021. Native Grasslands at the Core: A New Paradigm of Intensification for the Campos of Southern South America to Increase Economic and Environmental Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5: 11.

- Lemaire G, Belanger G. 2019. Allometries in plants as drivers of forage nutritive value: A review. *Agriculture*, 10(1): 17.
- Lemaire G, Onillon B, Gosse G, Chartier M, Allirand, JM. 1991. Nitrogen distribution within a lucerne canopy during regrowth: Relation with light distribution. *Annals of Botany*, 68(6): 483–488.
- Lemaire G, Culleton N. 1989. Effects of nitrogen applied after the last cut in autumn on a tall fescue sward. II. Uptake and recycling of nitrogen in the sward during winter. *Agronomie*, 9(3): 241–249.
- Lezama F, Altesor A, Pereira M, Paruelo JM. 2011. Descripción de la heterogeneidad florística en los pastizales naturales de las principales regiones geomorfológicas de Uruguay. En: Altesor A, Ayala W, Paruelo JM. (Eds.). *Bases ecológicas y tecnológicas para el manejo de pastizales*. Montevideo: INIA. (Serie FPTA; 26): 15 – 32.
- Lezama F, Altesor A, León RJ, Paruelo JM. 2006. Heterogeneidad de la vegetación en pastizales naturales de la región basáltica de Uruguay. *Ecología Austral*, 16: 167–182.
- Madeira W. 2019. Efectos de la fertilización primavera-estival nitrógeno fosfatada y del riego suplementario en la productividad y eficiencia de uso de nutrientes del campo natural. Montevideo. Tesis de maestría. Programa de posgrado de Facultad de Agronomía. Universidad de la Republica de Uruguay. Udelar. 69 p.
- Marriott CA, Carrère P. 1998. Structure and dynamics of grazed vegetation. *Annales de Zootechnie*, 47(5–6): 359–369.
- Mesa de Ganadería sobre Campo Natural (MGCN). 2017. [En línea]. 10 noviembre de 2020. Aspectos a promover. *Revista Plan Agropecuario*, 161: 52-53: disponible

en: <https://www.planagropecuario.org.uy/web/173/revistas/marzo-2017-n%C2%B0161.html>).

McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh J, Morgan C, Sinclair L, Wilkinson R. 2011. Proteins, nucleic acids and other nitrogenous compounds. En: McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh J, Morgan C, Sinclair L, Wilkinson R. Animal nutrition 7th edition. England: Pearson Education Limited. (111; 2793). 53-69.

Mieres JM. 2004. Guía para la alimentación de rumiantes. Montevideo: INIA. (Serie Técnica; 142) 82 p.

Millot JC, Methol R, Risso D. 1987. Relevamiento de pasturas naturales y mejoramientos extensivos en áreas ganaderas del Uruguay. Montevideo: FUCREA-CHPA. 199 p.

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Estadística Anuario estadístico agropecuario (MGAP- DIEA). 2022 [En línea]. 16 de enero de 2023. 276 p. Disponible en: https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2022/O_MGAP_Anuario_estad%C3%ADstico_%202022-DIGITAL.pdf .

Minson DJ. 1990. Forages in Ruminant Nutrition. New York: A. Press. 483 p.

Modernel P, Rossing WAH, Corbeels M, Dogliotti S, Picasso V, Tittonell P. 2016. Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. Environmental Research Letters, 11(11), 1–22.

Montossi F, Pigurina G, Santamarina I, Berretta EJ. 2000. Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos: teoría y práctica. INIA Serie Técnica.

- Moojen EL, Maraschin GE. 2002. Potencial productivo de una pastagem nativa do Rio Grande do Sul submetida a níveis de oferta de forragem. *Ciência Rural*, 32: 127-132.
- Mott GO. 1960. Grazing pressure and the measurement of pasture production. En: Skidmore CLP, Boyle J, Raymond L, Al E (Eds.). *Proceedings 8th International Grassland Congress*, Reading UK. 606–611.
- Mott GO, Lucas HL. The design, conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. En *International grassland congress*. 1952. p. 1380-1395.
- Nabinger C, Faccio Carvalho PC. 2009. Ecofisiología de sistemas pastoriles: aplicaciones para su sustentabilidad. *Agrociencia Uruguay*, 13(3): 18-27.
- Otegui ME. 1992. Incidencia de una sequía alrededor de antesis en el cultivo de maíz. Consumo de agua, producción de materia seca y determinación del rendimiento. Tesis Magister Scientiae. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce. Buenos Aires. Argentina. 93 p.
- Pallarés OR, Berretta EJ, Maraschin GE. 2005. The south american campos ecosystem. *Grasslands of the World*, 171–219.
- Pigurina G, Soares de Lima JM, Berretta E, Montossi F, Pittaluga O, Ferreira G, Silva J. 1998. Características del engorde a campo natural. En: Risso DF, Bemhaja M, Zamit W, Carracelas G, Berretta EJ. *Seminario de actualización en tecnologías para basalto*. Montevideo: INIA. (Serie técnica, 102): 150-160.
- Rodríguez Palma R, Rodríguez T. 2017. Campo natural de Basalto: ¿cuánto responde en producción de forraje? En: XXIV Reunión del grupo técnico en forrajeras del

Cono Sur - Grupo Campos. (24º, 2017, Tacuarembó, Uruguay). Proceedings. Montevideo. INIA. Ayala W, Boggiano P, Alvarez, O. (Eds.). 57 – 58.

Rosengurtt, B. 1943. Estudios sobre praderas naturales del Uruguay: Tercera contribución. 281 p.

Rivas M. 2010. Valorización y conservación de la biodiversidad en Uruguay. En: García Préchac F, Ernst O, Arbeletche P, Pérez Bidegain M, Pritsch C, Ferenczi A, Rivas M. (Eds.). Intensificación agrícola: oportunidades y amenazas para un país productivo y natural. Montevideo: Universidad de la República. CSIC (Colección Artículo 2): 89 - 109.

Rubio G, Taboada MA, Lavado RS, Rimski-Korsakov H, Zubillaga MS. 1997. Acumulación de biomasa, nitrógeno y fósforo en un pastizal natural fertilizado de la pampa deprimida. *Ciencia del Suelo*, 15(1): 48–50.

Smith KF, Flinn PC. 1991. Monitoring the performance of a broad-based calibration for measuring the nutritive value of two independent populations of pasture using near infrared reflectance (Nir) spectroscopy. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31(2): 205–210.

Soca P, Carriquiry M, Keisler DH, Claramunt M, Do Carmo M, Olivera-Muzante J, Rodríguez M, Meikle A. 2013. Reproductive and productive response to suckling restriction and dietary flushing in primiparous grazing beef cows. *Animal Production Science*, 53(4): 283–291.

Soca P, Do Carmo M, Claramunt M. 2007. Sistemas de cría vacuna en ganadería pastoril sobre campo nativo sin subsidios : propuesta técnica tecnológica para estabilizar la producción de terneros con intervenciones de bajo costo y fácil implementación. *Avances en producción animal*, 32(1-2): 3-26.

- Sollenberger LE, Vanzant ES. 2011. Interrelationships among forage nutritive value and quantity and individual animal performance. *Crop Science*, 51(2): 420–432.
- Soriano A, 1992. Río de la Plata grasslands. En: León RJ, Sala O, Lavado RS, Deregibus VA, Cahuepé MA, Coupland RT. *Ecosystems of the world 8A. Natural grasslands*. 367-407.
- Still CJ, Berry JA, Collatz GJ, DeFries RS. 2003. Global distribution of C₃ and C₄ vegetation: Carbon cycle implications. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(1): 1-14.
- Tonn B, Densing EM, Gabler J, Isselstein J. 2019. Grazing-induced patchiness, not grazing intensity, drives plant diversity in European low-input pastures. *Journal of Applied Ecology*, 56(7): 1624–1636.
- Weyland F, Barral MP, Laterra P. 2017. Assessing the relationship between ecosystem functions and services: Importance of local ecological conditions. *Ecological Indicators*, 81: 201–213.
- Wilson JR, Minson DJ. 1980. Prospects for improving the digestibility and intake of tropical grasses. *Tropical Grasslands*, 14(3): 253–259.
- Zanoniani R, Boggiano P, Cadenazzi M. 2011. Respuesta invernal de un campo natural a fertilización nitrogenada y ofertas de forraje. *Agrociencia Uruguay*, 15(1): 115–124.