

Participación como Técnico de Apoyo en la
Investigación Científica
Ecología de mallines en
Patagonia Norte



Alumno

Gabriel Rascovan

Profesores

Ing. Silvana Alzogaray, Ing. Ariel Mazzoni

Tutores

UNRN: Ing. María Victoria Cremona e Ing. Martha Riat

INTA: Dra. Andrea Soledad Enriquez

Período de práctica: Noviembre de 2016 hasta Marzo de 2017

Universidad Nacional de Río Negro - Sede Andina. San Carlos de Bariloche.

Agradecimientos

A Inti, por su luz, su ternura, sus enseñanzas. Por mostrarme siempre que la vida es para disfrutarla.

A Maru, compañera. Confidente. Consejera. Por acompañarme en este y otros tantos caminos. Por su amor, su mirada y su capacidad de profesar y propagar el lema que dice “con ternura venceremos”.

A mi papá y mi mamá. Que desde chiquitos nos criaron para volar. Para alcanzar lo que quisiéramos y ser fieles a nuestros deseos. Por el amor y la ayuda de siempre para que nuestros proyectos puedan ser realidad.

A mi hermano, que es mi gran amigo. Que es un ejemplo para mí desde siempre. Por las enseñanzas y aprendizajes que transitamos juntos.

A mi familia grande. Mis abuelos, los que están y los que ya no están pero están siempre. A mis tíos y tías. A mis primos y primas. A mis suegros, suegras, cuñadas y cuñado.

A Luna y Uma, que me hicieron tío. Que me muestran un poco de ese amor tan especial que se da con los sobrinos.

A Leah, que acaba de llegar y deseo conocerla .

A los amigos. Los de acá y los de allá que me soportan hablando de plantas y cosas que al parecer suenan medio extrañas.

A mis compañeros y compañeras de la carrera que permitieron que me enseñaron mucho de sus recorridos, disfrutando y aprendiendo cada día de este trayecto.

A los profesores y profesoras que me enseñaron tanto durante la tecnicatura. Que hacen de ésta, una formación de calidad.

A María Victoria Cremona y Andrea Enriquez por abrirme las puertas para el trabajo conjunto dentro del grupo de Aguas y Suelos de EEA- INTA Bariloche. Por su compromiso, compañerismo y sus enseñanzas.

Índice

1. Introducción	4
1.1 Objetivo general de la práctica laboral	5
1.2 Objetivos específicos de la práctica laboral	5
2. Tareas realizadas en función del método científico	6
2.1. Objetivo específico A) conocer e involucrarse con los fundamentos teóricos y los objetivos de la línea de investigación y de dos proyectos del grupo de Agua y Suelos	6
2.1. a. Presentación de la Línea de Investigación: “Efecto de la degradación por pastoreo en las dinámicas de C y N de mallines del Área ecológica de Sierras y Mesetas de Río Negro	6
2.1. b. Proyecto de investigación 1: “Absorción diferencial de formas de N en especies vegetales dominantes de mallines húmedo y mésico”	8
2.1. c. Proyecto de investigación 2: “Implicancias de un aumento de temperatura asociado al cambio climático en el ciclo de C de mallines de Patagonia Norte bajo diferentes intensidades de Pastoreo”	9
2.2. Objetivo específico B) Participar de la construcción de un diseño metodológico y experimental en el proyecto de absorción diferencial de N en plantas de mallines	9
2.2. a. Método de siembra de <i>Festuca pallescens</i> y <i>Juncus Balticus</i>	10
2.2. b. Instalaciones para etapa de crecimiento vegetativo	12
2.2. c. Sustrato del ensayo de absorción diferencial de N	13
2.2. d. Preparación de soluciones nutritivas para riego	17
2.2. e. Periodicidad del riego y dosis	18
2.2. f. Aleatorización de ensayo	19
2.3. Objetivo específico C) Participar en muestreo y relevamiento de datos a campo para ambos proyectos de investigación	20
2.3. a. Visita a diferentes sitios de muestreo y ensayos a campo	20
2.3. b. Toma de muestras para ensayo de implicancias del efecto invernadero en mallines de patagonia norte	23
2.3. c. Toma de muestras para ensayo de absorción de N Diferencial	24
2.3. d. Recopilación de información presente en instrumental de cada sitio	26

2.3. e. Procesamiento de las muestras: acondicionamiento de las muestras en función de los requerimientos del análisis a realizar	28
2.4. Objetivo específico D) Analizar muestras de suelo del proyecto de efecto del cambio climático en mallines con diversos grados de deterioro	28
2.4 .a. Participar como observador a modo de entrenamiento en diversas técnicas de análisis de laboratorio	28
2.4. b. Análisis de Nitrógeno Total por Kjeldahl	29
2.5. Objetivo específico E) Realizar análisis estadísticos de los datos obtenidos en las actividades de laboratorio	37
2.5. a. Análisis estadístico de los datos de Nitrógeno Total	37
2.5. b. Interpretación del análisis	38
3. Discusión acerca de la práctica	39
4. Conclusiones finales de la Práctica Laboral	42
5. Bibliografía	44

1. Introducción

Esta práctica laboral fue realizada en el marco de la Tecnicultura en Viveros de la Universidad Nacional de Río Negro, desde el mes de noviembre de 2016 hasta marzo de 2017. El objetivo general de este tipo de prácticas es que cada alumno se inserte en un espacio de trabajo con actividades en curso, para desarrollar las capacidades aprendidas durante la tecnicultura y, a la vez, adquirir nuevas. Específicamente, ésta práctica laboral tuvo como objetivo indagar en la metodología de trabajo de un perfil de apoyo técnico a la investigación científica en el marco de tareas desarrolladas por un grupo de trabajo que aborda como línea fuerte de investigación el estudio de la ecología y el uso sustentable de mallines en Patagonia Norte.

La práctica fue desarrollada en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Bariloche (EEA - Bariloche). Como organismo integrante del Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Nacional, el INTA desarrolla capacidades para el sector agroindustrial y genera conocimientos y tecnologías que pone al servicio de distintos sectores de la sociedad. Sus objetivos y esfuerzos se orientan a la innovación como motor del desarrollo nacional (<https://inta.gob.ar/>).

Las actividades en INTA EEA - Bariloche están organizadas en cuatro Áreas de Trabajo: Producción Animal, Forestales, Desarrollo y Recursos Naturales. El presente informe da cuenta de la experiencia realizada en el Área de Recursos Naturales, cuyo enfoque principal se orienta en generar conocimiento, propuestas tecnológicas y acciones de transferencia para lograr un uso sustentable de los recursos naturales. Sus principales líneas están orientadas a la evaluación, uso y monitoreo de las tierras, el ordenamiento territorial y al manejo de los pastizales y la fauna silvestre. En este marco, el área promueve la valoración de la biodiversidad y de los bienes y servicios que prestan los ecosistemas, considerando también las diferentes características agroecológicas, productivas y sociales en que se desarrollan los sistemas reales de producción (<https://inta.gob.ar/unidades/811000/area-recursos-naturales>).

La práctica laboral a su vez, se desarrolló en el Grupo de Aguas y Suelos, estrechamente vinculado al Laboratorio de Suelos y Aguas. Este grupo trabaja con diversas líneas de investigación científica, siendo una de las más importantes la relacionada al estudio de la ecología y el uso sustentable de mallines, dado que son ambientes con un valor importante en la región patagónica.

La participación realizada en el Grupo de Aguas y Suelos, consistió en brindar apoyo y aportes técnico-profesionales al equipo de trabajo en diferentes etapas del proceso de la investigación científica. Según el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) el rol de apoyo comprende las tareas de brindar y realizar una apoyatura técnica calificada a grupos de investigación. En este sentido, los técnicos ejecutan y conducen trabajos y experiencias técnicas generales bajo la

supervisión de investigadores y profesionales. También asisten en todos los niveles realizando entre otras tareas ensayos, mediciones, mantenimiento de equipos y laboratorios. (<http://www.conicet.gov.ar/personal-de-apoyo/>). Dado que los procesos de investigación requieren de tiempos mayores a los planteados para esta experiencia, y partiendo de los intereses personales del alumno, se consensuó con el grupo que las actividades a realizar durante la práctica abarcarían todas las etapas de la metodología de trabajo científico, fijando como prioridad la perspectiva técnica en esas etapas, y no el desarrollo de un proyecto de investigación desde su inicio hasta su final. De esta manera, se tomó ventaja de las diversas actividades de investigación que el grupo realiza de forma simultánea, en donde co-existen proyectos de investigación en diferentes etapas o grados de avance.

Las actividades de la práctica se enmarcaron dentro de la Línea de Investigación denominada “Efecto de la degradación por pastoreo en las dinámicas de Carbono (C) y Nitrógeno (N) de mallines del Área ecológica de Sierras y Mesetas de Río Negro”, efectuando las tareas en dos proyectos relacionados a dicha línea:

- “Absorción diferencial de formas de N en especies vegetales dominantes de mallines húmedo y mésico”.
- “Implicancias de un aumento de temperatura asociado al cambio climático en el ciclo de C de mallines de Patagonia Norte bajo diferentes intensidades de pastoreo”.

1.1 Objetivo general de la práctica laboral

- Familiarizarse con las diversas actividades que se desarrollan en el grupo de Aguas y Suelos, y participar activamente en los diferentes pasos aplicados en la investigación científica, a través de la realización de tareas que involucren la concepción de una idea o pregunta científica, la elaboración de un desarrollo metodológico y experimental, las actividades a campo, el procesamiento y análisis en laboratorio de los materiales muestreados y el análisis estadístico de los datos hasta la interpretación de resultados.

1.2 Objetivos específicos de la práctica laboral

Cada objetivo específico se relacionó con una etapa del método científico, organizándolos en el sentido lógico de un trabajo de investigación científica de la siguiente manera:

- A) Conocer e involucrarse con los **fundamentos teóricos y los objetivos** de la línea de investigación y de los dos proyectos mencionados.
- B) Participar de la construcción de un **diseño metodológico y experimental** en el proyecto de absorción diferencial de N en plantas de mallines.
- C) Participar en **muestreo y relevamiento de datos a campo** para ambos proyectos de investigación.

- D) **Analizar muestras de suelo** del proyecto de efecto del cambio climático en mallines con diversos grados de deterioro.
- E) Realizar **análisis estadísticos** de los datos obtenidos en las actividades de laboratorio.

El propósito principal del informe escrito fue dar cuenta de las diferentes actividades técnicas realizadas, describiendo con el mayor detalle posible el aporte ofrecido desde una perspectiva técnica (desde la especificidad de la formación de Técnico en Viveros) y los aprendizajes logrados durante la participando en diversas tareas en cada una de las etapas de la investigación científica (potencial universo de acción). Debe quedar claro que la práctica laboral no se centró en los avances, conclusiones y productos de cada proyecto de investigación en particular, sino en el abordaje de múltiples tareas relacionadas con una secuencia lógica de trabajo científico.

2. Tareas realizadas en función del método científico

Las siguientes tareas responden a los objetivos específicos diseñados para participar en diferentes etapas del trabajo en investigación. Las mismas se organizaron por etapas, desarrollándose según el grado de avance en el que se encontraba cada proyecto. De esta manera, las tareas relacionadas a diseño metodológico y experimental fueron desarrolladas en el marco del proyecto de absorción de N diferencial e implicó tareas relacionadas más íntimamente con los conocimientos propios de la formación de Técnico en Viveros. Las tareas de análisis químico de muestras de suelo y análisis estadístico de resultados se realizaron en el marco del proyecto sobre impacto del calentamiento global y permitieron ampliar los horizontes de acción desde una perspectiva más amplia, bajo el rol de técnico de apoyo a la investigación. El caso de muestreo y ensayo a campo, como veremos, fue el único caso donde se realizaron tareas que involucraron a ambos proyectos de investigación.

2.1. Objetivo específico A) *Conocer e involucrarse con los fundamentos teóricos y los objetivos de la línea de investigación y de los dos proyectos mencionados.*

2.1. a. Presentación de la Línea de Investigación: *“Efecto de la degradación por pastoreo en las dinámicas de C y N de mallines del Área ecológica de Sierras y Mesetas de Río Negro”*

El primer objetivo específico de la práctica laboral fue conocer e involucrarse con los fundamentos teóricos y los objetivos de la línea de investigación y de los dos

proyectos mencionados. Familiarizarse con ellos permitió la realización de aportes técnicos pertinentes en todas las etapas metodológicas.

La línea de Investigación en la que se participó propone conocer las dinámicas ecológicas de los mallines, ahondar en las problemáticas naturales y humanas que se generan en estos ambientes, así como también, diseñar estrategias que permitan el uso y la preservación de forma conjunta.

Los mallines son clasificados como humedales semipermanentes. Estos ambientes se desarrollan en áreas donde la topografía del paisaje es relativamente más baja que la de la zona esteparia circundante. Allí el agua de escurrimiento lateral (superficial y subsuperficial) y del ascenso de los niveles freáticos se concentran y conforman suelos saturados de manera temporaria (Enriquez, 2015; Cremona y Enriquez, 2015). Sin embargo, la humedad del suelo se modifica a lo largo del tiempo debido a la fluctuación del nivel freático con la estacionalidad climática.

En Patagonia durante el otoño e invierno se concentran las precipitaciones en forma de lluvia y nieve. Los veranos son cálidos y secos (Paruelo et al., 1998). La vegetación inicia su crecimiento durante el momento de aumento de la temperatura ambiente y la extensión del fotoperíodo, lo que ocurre a partir de la primavera. En el mismo período, en general, es característico el aumento del déficit hídrico para el desarrollo de las plantas, especialmente en las zonas áridas y semiáridas de la región como es el caso de los mallines de estepa.

El área central de los mallines, llamado **mallín húmedo**, posee una vegetación dominada por especies adaptadas a tolerar el anegamiento temporario o permanente tales como *Juncus balticus* y *Carex sp.* La Zona periférica, llamada **mallín mésico**, está ubicada en una posición relativa más elevada en el relieve, dominada en general por diferentes tipos de gramíneas entre las que predomina *Festuca pallescens*. Aquí la napa freática suele estar en los primeros 50 cm del perfil del suelo durante el invierno pero baja rápidamente durante la primavera. A pesar de ello el suelo permanece húmedo casi todo el año (Chimner et al., 2011; Cremona y Enriquez, 2015).

Los mallines se caracterizan por presentar elevados niveles de materia orgánica en el suelo (MOS) (Enriquez et al., 2015) y como el ciclo del N está fuertemente condicionado por la fuente de este elemento (el 98% proviene de la MOS), los mallines también son considerados sumideros de N (Richardson y Vepraskas, 2001). El N es un elemento químico fundamental para el desarrollo de las plantas, por lo que se lo categoriza como macronutriente y puede ser tomado por éstas en forma inorgánica (amonio, nitritos y nitratos) y orgánica (Mengel y Kirkby, 2001). La estructura de la MOS está formada fundamentalmente por C. Los mallines, por ende, son considerados reservorios de C, aspecto muy importante para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres (Enriquez, 2014). Ocupan 2-4% del territorio de Patagonia Norte, lo cual representa 500.000 ha (Paruelo et al., 1998; Bran et al., 2000, 2004) y son además ambientes clave para el manejo de ganado y uso sustentable en la región.

Los mallines son ambientes que presentan una producción natural de forraje que permite la alimentación de ganado, por lo que su uso es frecuente para este fin en muchas zonas de la Patagonia. Son zonas con elevada productividad rodeadas de una vegetación de estepa con baja productividad. Esto produce que el ganado se concentre especialmente en los mallines para alimentarse, lo que genera o puede generar ambientes intensamente pastoreados. El pastoreo es considerado la causa principal de la desertificación actual en la región (Willis, 1914), como también ocurre en muchas otras regiones semiáridas del mundo (FAO, 2005). Históricamente, el pastoreo se llevó adelante sin ningún tipo de práctica de manejo orientada a preservar el potencial productivo de los pastizales o las cuencas hidrográficas y la integridad del suelo. El sobrepastoreo se ha extendido tanto en las estepas (Golluscio et al., 1998) como en los mallines de la Patagonia (Del Valle et al., 1998; Chimner et al., 2011). En la actualidad, el proceso de pastoreo histórico intenso se ve reflejado en una matriz de mallines con diferentes condiciones de pastizal.

2.1. b. Proyecto de investigación 1: “Absorción diferencial de formas de N en especies vegetales dominantes de mallines húmedo y mésico”

Uno de los proyectos dentro de la Línea de Investigación general se focalizó en estudiar la dinámica de las formas inorgánicas de N (amonio y nitrato) en el suelo de mallín y las existencia de preferencias o adaptaciones para la absorción de esos elementos por parte de las especies vegetales dominantes en mallines de tipo húmedo (*Juncus balticus*) y mésico (*Festuca pallescens*).

Estudios previos encontraron que la concentración de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) varía en función del contenido de humedad del suelo (Enriquez et., al 2014). Durante períodos anegados el amonio se encuentra en mayor concentración y el nitrato está casi ausente (explicado por la inhibición de la nitrificación en condiciones anaeróbicas); en períodos secos la concentración de amonio disminuye significativamente (explicado por la activación de la nitrificación en condiciones aeróbicas) pero el nitrato no elevó su concentración y tampoco se encontró en los lixiviados (resultado no explicado por la dinámica química de estos elementos). Este último resultado sugirió que las plantas podrían estar consumiendo el nitrato originado a partir del amonio. Además, como los juncos comienzan a crecer cuando el suelo aún está anegado, cabe plantear si tienen algún mecanismo de absorción diferencial de amonio, forma predominante en el suelo en ese momento.

A partir de los nuevos interrogantes, Marcela Jaramillo realizó su proyecto de tesis de licenciatura en Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional del Comahue junto al Grupo de Aguas y Suelos. Sus objetivos fueron a) elucidar el destino del amonio y el nitrato en condiciones redox controladas en laboratorio y b) estudiar la capacidad de *Juncus balticus*, especie dominante de mallín húmedo, y de *Festuca pallescens*, especie dominante de mallín mésico para absorber y asimilar NH_4^+ y/o NO_3^- , en condiciones semi-controladas de invernáculo.

La práctica laboral se realizó durante el inicio de este proyecto de investigación, de manera que los aportes técnicos realizados en este marco, fueron en las primeras etapas de su desarrollo.

2.1. c. Proyecto de investigación 2: “Implicancias de un aumento de temperatura asociado al cambio climático en el ciclo de C de mallines de Patagonia Norte bajo diferentes intensidades de pastoreo”

En el marco de la problemática que se planteó en la Línea de Investigación general, el grupo de Aguas y Suelos estudió previamente el efecto del sobrepastoreo histórico sobre la estructura y dinámica de los mallines (Enriquez, et al., 2014, 2015, 2017). Por otro lado, existen estudios que proyectan un cambio de entre 2 y 4° C en las temperaturas medias anuales para esta zona (Hulme y Sheard, 1999) (Nuñez et al., 2005; Solman et al., 2007; Nuñez et al., 2008;) (Wanabe y Wetherald, 1987; Peri, 2012). Por este motivo las investigadoras María Victoria Cremona y Andrea Enriquez se propusieron estudiar el efecto de un aumento en la temperatura (~2 °C) en mallines húmedos y mésicos sobre el ciclo del C.

En este sentido, el segundo proyecto de investigación en el que se desarrolló esta práctica se centró en ahondar sobre los efectos a corto, mediano y largo plazo de estas dos problemáticas en los mallines, dado que se formula la preocupación de que a la problemática del deterioro de mallines por sobrepastoreo se le sumen los efectos del incremento de temperatura asociado al cambio climático.

Este proyecto comenzó previo a esta práctica, de manera que las actividades realizadas en este marco fueron en etapas de investigación más avanzadas.

2.2. Objetivo específico B) Participar de la construcción de un diseño metodológico y experimental en el proyecto de absorción diferencial de N en plantas de mallines.

Para el objetivo específico B, se planteó la realización de un ensayo que permitiera observar la respuesta de crecimiento de *Festuca pallescens* y *Juncus balticus*, las plantas dominantes de mallines húmedo y mésico, en diferentes situaciones de disponibilidad de formas inorgánicas de N.

Los cuatro tratamientos a generar para ambas especies fueron:

- Riego con solución nutritiva en la que el N disponible se encuentra en un 100% en forma de NH_4^+
- Riego con solución nutritiva en la que el N disponible se encuentra en un 100% en forma de NO_3^-
- Riego con solución nutritiva en la que el N disponible se encuentra en un 50% en forma de NH_4^+ y en un 50% en forma de NO_3^-
- Riego con agua desmineralizada, sin solución nutritiva (control).

Este ensayo permitió indagar sobre las preferencias nutricionales de estas especies, dado a que en un estudio previo (Enriquez et al., 2014) se encontraron diferencias en las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- en diferentes momentos del año.

Las decisiones que se tomaron respecto al diseño metodológico y experimental para realizar el ensayo permitieron contrastar las ideas preliminares sin interferencia. Los aspectos considerados se detallan a continuación:

2.2. a. Método de siembra de *Festuca pallescens* y *Juncus balticus*.

Para realizar el establecimiento del cultivo en macetas de *Juncus balticus* se recolectaron rizomas de la especie durante el mes de noviembre de 2016 y se decidió plantarlos en cajones con un sustrato de ceniza volcánica y turba, en una relación 1:1 (v/v).

Los mismos se procedieron a regar con una frecuencia de tres días, de manera que el sustrato se encontrara siempre cerca de su capacidad de contenedor.

La reproducción por rizoma suele ser la estrategia de reproducción más utilizada por la especie vegetal para propagarse dentro de los mallines. Es por esto que la reproducción por esta vía es muy efectiva, obteniéndose un porcentaje de enraizamiento superior al 70% a los 60 días de realizado el plantado (dato del Grupo de Agua y Suelos a partir de experiencias previas realizadas).

En el caso de *Festuca pallescens*, la reproducción se hizo desde semilla (Figura 1). Las mismas fueron brindadas por la Doctora Aldana López quien trabaja en INTA con poblaciones de esta especie. Se utilizaron semillas con un 80% de tasa de germinación y buen establecimiento y vigor (Lopez, 2018). Los porcentajes altos de germinación facilitaron mucho la posibilidad de generar un lote de plantas homogéneo en poco tiempo.

En estudios previos (López, 2018) se sembraron semillas de *Festuca pallescens* en cajas de petri con papel



Figura 1. Semillas de *Festuca pallescens*.



Figura 2. Plugs de 128 tubetes para siembra de *Festuca Pallescens*.

secante y agua, en incubadora . En este caso el objetivo fue observar la respuesta de las plantas (es decir su comportamiento de crecimiento radicular y aéreo, vigor) a diferentes estados nutricionales. Por este motivo el tipo de envase utilizado para la germinación fue el de 128 plugs o tubetes (Figura 2). Los plugs permiten desarrollar plantines con un sistema radicular y aéreo que aunque incipiente, sea homogéneo y vigoroso para entrar en etapa de crecimiento vegetativo de forma rápida.

La bandeja de plugs permitió en primer lugar, resolver la etapa de germinación y establecimiento en un sólo paso. Esta decisión permitió un trasplante menos respecto del uso de cajas de petri. Las plantas necesitan un tiempo de recuperación al ser trasplantadas y tienen más riesgos de lesionarse o contaminarse (Escobar, 2007). Por este motivo, resolver las dos etapas en un mismo envase resultó muy beneficioso.

En segundo lugar, el envase permitió la generación de plantines individuales con un sistema radicular firme y abundante, lo que mejoró la manipulación de los mismos para el trasplante al envase definitivo.

Estos dos aspectos redujeron los tiempos y facilitaron el manejo respecto de otros envases posibles (Viveros I y II, TEVI, UNRN, 2011 y 2012). El uso de tubetes permitió que las plantas entraran rápidamente en crecimiento vegetativo una vez empezada la nutrición por fertirriego (Baille, 1993).

Para la etapa inicial de germinación y establecimiento de *Festuca palleescens* en tubetes se utilizó un sustrato con

- **50 % de turba de sphagnum**
- **50 % de ceniza volcánica**

Ambos sustratos se pasaron previamente por un tamiz de 5 mm.

La turba le proporcionó al sustrato buenos porcentajes de porosidad para la respiración y exploración radicular muy necesario en esta etapa (Iskander, R. 2002). La ceniza volcánica le proporcionó al sustrato mayor retención de agua (Barbaro, et. al., 2014). Se procedió a mezclar cantidades de volumen iguales para cada ingrediente de forma manual.

Se sembraron dos bandejas, con dos semillas en cada uno de los 128 tubetes para garantizar que en todas las celdas germine al menos una semilla. Una de las bandejas se cubrió con una fina capa de sustrato sobre la semilla y la otra bandeja se dejó sin cubrirlas.

Las condiciones óptimas para la germinación de *Festuca Palleescens* sucede a 18°C (López, 2018). Es por esto que se propuso introducir las bandejas en incubadora a 18°C hasta obtener un porcentaje de germinación y de emergencia de la parte aérea suficiente como para que ya sea necesario el aporte de luz solar. La elongación de las primeras hojas por falta de luz no es deseable para la instalación de un cultivo. Además, *Festuca palleescens* se establece naturalmente en zonas donde hay muchas horas de luz solar ya que no hay sombra arbórea, lo que llevaría a pensar que es una especie que necesita buena cantidad de horas de luz para desarrollarse vigorosamente. . Por este motivo, una vez germinadas las semillas se colocaron en

bandejas sobre una mesada dentro del Laboratorio de Suelos y Aguas que permitía el aporte de luz solar a través de ventanas de vidrio con orientación al Norte (Figura 3). La orientación al Norte permitió una buena cuota de luz solar durante todo el día.

La decisión de utilizar este espacio para la etapa de establecimiento del cultivo se debe a que el mismo cuenta con control de temperatura por



calefacción. Si bien no se realizó una medición de temperatura, es un espacio calefaccionado, por lo que la amplitud térmica es menor a la de un invernáculo sin calefacción. Estas condiciones de temperatura son importantes para obtener un crecimiento del cultivo rápido, parejo y vigoroso (Challa, Van Straten. 1993). Durante esta etapa no se suministró ninguna dieta nutricional por fertirriego o con sustratos que aportaran cantidades significativas de nutrientes.

Figura 3. Ubicación de las bandejas de siembra de *Festuca pallescens*.

2.2. b. Instalaciones para etapa de crecimiento vegetativo

El ensayo de absorción diferencial de N por parte de *Juncus balticus* y *Festuca pallescens* se realizó en un invernáculo de INTA que utiliza el área de Recursos Naturales para diferentes investigaciones que involucran el cultivo de especies vegetales. El invernáculo tiene una orientación Norte-Sur y cuenta con buena exposición a la luz. La cubierta es de vidrio, con ventilación lateral y cenital. El sector utilizado no cuenta con riego automatizado ni calefacción para el control de temperatura. El invernáculo se encuentra subdividido en tres sectores, siendo el primero de ellos el que se utilizó en este proyecto.

Se procedió a instalar las bandejas de tubetes en este invernáculo quince días antes de su trasplante al envase final del ensayo. Esto se hizo para que las plántulas se adapten a la mayor amplitud térmica del invernadero respecto al laboratorio. Además las plantas dentro del invernáculo cuentan con mayor cantidad de horas de exposición de luz solar respecto de las instalaciones del laboratorio.

2.2. c. Sustrato del ensayo de absorción diferencial de N

i) Selección del sustrato

Se evaluaron diferentes parámetros de cultivo, materiales disponibles en la zona y costos de los mismos para decidir el sustrato del ensayo de absorción diferencial de N.

Un primer aspecto a tener cuenta fue la actividad biológica del sustrato. El diseño experimental del ensayo buscó controlar qué nutrientes se suministraron. Es por esto que no se utilizaron sustratos de origen orgánico. Su actividad microbiana y los aportes de nutrientes que los caracteriza (Iskander, 2002) no permiten aislar la variable de absorción de N.

Los productos que tienen baja actividad biológica y escaso aporte de nutrientes son aquellos de origen mineral, inorgánico e inerte como la perlita, la arena, la ceniza volcánica o la vermiculita (Iskander, 2002). Todos estos son diversos tipos de rocas minerales que aportan distintas características al sustrato y es necesario evaluarlos según diferentes parámetros de cualidad, calidad y precio.

Los sustratos con una granulometría más fina permiten una mayor capacidad de retención de agua respecto de sustratos con granulometría más gruesa que se drenan más fácilmente (Ansorena-Miner, 1994).

Para nuestro ensayo era necesario obtener un sustrato final con buena capacidad de retención de agua debido a que las especies con las que trabajamos necesitan de un sustrato con alto índice de humedad (Cremona y Enriquez, 2015).

Dentro de los sustratos inertes, la vermiculita es un mineral que tiene una alta capacidad de retención de agua. La vermiculita es una arcilla formada por silicatos de hierro o magnesio, del grupo de las micas. Entre las láminas queda retenida el agua. Es inerte y su pH es cercano al neutro (Ansorena-Miner, 1994).

La ceniza volcánica que se utilizó en el ensayo fue proveniente de la erupción del volcán Puyehue en 2011 en la zona de San Carlos de Bariloche. La misma posee una granulometría menor a la ceniza del mismo origen pero de la zona de Villa La Angostura. La ceniza utilizada tiene mayor capacidad de retención de agua respecto de otros sustratos minerales. (análisis de retención de agua en sustratos. Cátedra de Suelos y Sustratos. TEVI, UNRN. 2011)

La retención de agua y la porosidad de aire están íntimamente relacionadas y suelen contraponerse la una a la otra. Como se dijo, los sustratos con una granulometría más fina aportan una alta capacidad de retención de agua. Por el contrario, los sustratos con una granulometría más gruesa dejan entre sí poros más grandes, denominados macroporos en los que el agua no queda retenida. Estos macroporos tienen la característica de permitir la aireación del sustrato y generar espacios para la exploración radicular de una manera más accesible para las plantas. Estos espacios de aire dentro del sustrato constituyen la porosidad de aire. Sustratos muy porosos se drenan muy fácilmente lo que reduce el almacenamiento de agua. Para cada cultivo, en función de sus necesidades de agua y de aire, se busca una proporción de retención de agua y de porosidad de aire que sea

ventajoso para su crecimiento (Ansorena-Miner, 1994). Se buscó un sustrato con alta capacidad de retención de agua, ya que las condiciones del suelo de mallines son poco aireados.

Otro componente que se podría haber utilizado es la turba, ya que la misma presenta bajas tasas de descomposición, y aunque es de origen orgánico se puede considerar inerte. Como característica hay que destacar una baja densidad aparente, una buena capacidad de intercambio catiónico, es bien aireado y generalmente se descompone lentamente. Como desventaja hay que resaltar que la turba produce inmovilización del N (Urrestarazu, 2000) lo cual es contraproducente para nuestro ensayo. En la zona existen diferentes tipos de turba disponible (*Carex sp.* y *Sphagnum sp.*) con diferentes calidades y grados de estabilidad microbiana. Se decidió no utilizar este componente por estos motivos y se optó por componentes minerales que garantizaran la aislación de la variable N así como una baja tasa de descomposición y actividad microbiana.

El sustrato elegido y sus proporciones fue el siguiente (V/V):

- **50% de vermiculita**
- **50% de ceniza volcánica**

ii) Esterilización del sustrato

Para disminuir la posibilidad de que otros organismos vivos además de las especies vegetales estudiadas, utilicen y/o transformen el N de cada tratamiento, se procedió a esterilizar la ceniza volcánica ya que su procedencia de origen no garantizaba que fuera un componente libre de actividad microbiana.

Existen diferentes alternativas de limpieza o esterilización de sustratos.

Para decidir el tipo de método se evaluó por un lado la efectividad del sistema empleado, pero también se tuvo en cuenta la complejidad del proceso y la practicidad a la hora de elaborar el sustrato final para todo el ensayo.

Los tratamientos de estabilización de actividad microbiana a los que se sometió la ceniza volcánica fueron:

- Lavado.
- Secado a 105°C durante tres horas.
- Lavado y luego secado en estufa a 105°C durante tres horas.
- Autoclavado sin lavado.
- Autoclavado con lavado.

Los tratamientos se ordenaron desde el menos complejo y más práctico, al más efectivo y trabajoso.

Se procedió a analizar la ceniza volcánica por NH_4^+ y NO_3^- inmediatamente después de esterilizar. Luego se incubaron durante siete días los diferentes tratamientos. Finalmente se realizó una nueva medición de NH_4^+ y NO_3^- . Los resultados de las mediciones (Tabla 1) permitieron observar la cantidad presente de ambos tipos de N mineral en la ceniza volcánica, antes y después de la incubación.

Tabla 1. Cantidad de NH_4^+ y NO_3^- presente en ceniza volcánica al finalizar el tratamiento y después de incubación de siete días, para cada método de limpieza o esterilización. El ítem *Vermiculita con NH_4^+* , permitió analizar qué grado de nitrificación se tendría durante el ensayo con fertirriego.

ppm N = partes por millón de Nitrógeno.

Tratamientos	ppm N- NH_4^+		ppm N- NO_3^-	
	INICIO (16/11/16)	FINAL (23/11/16)	INICIO (16/11/16)	FINAL (23/11/16)
Ceniza sin lavar	6.4	8.9	0	2.1
Ceniza lavada	17.4	12.7	0	1.2
Ceniza a 105°C sin lavar	9.2	8.3	1.4	0.3
Ceniza a 105°C lavada	13.6	10.6	0	0
Ceniza autoclavada sin lavar	12.1	13.1	0.5	1.5
Ceniza autoclavada lavada	7.3	11.6	0	0.5
Vermiculita con NH_4^+	57.3	59.5	1.4	0

Esta medición se hizo a modo de control, por lo que no se efectuaron repeticiones para cada tratamiento, ni el análisis estadístico correspondiente. Se evaluó el método a utilizar a partir de los datos obtenidos en una sola tanda de análisis de muestras. Las mediciones fueron hechas a partir de submuestras de 8 gramos extraídas de las bandejas de ceniza volcánica correspondientes a cada tratamiento. Se registraron bajos niveles de N inorgánico presente en la ceniza volcánica. Los valores de NH_4^+ son mayores para todos los casos respecto de los valores de NO_3^- . No se observaron diferencias significativas en el contenido de N entre fechas, lo que demuestra que la actividad de los microorganismos es baja, o no producen transformaciones grandes en la variable a analizar (N). En el caso del tratamiento de *ceniza lavada* o el de *ceniza sin lavar*, se observó un leve aumento en los niveles finales de NO_3^- . Este efecto pudo deberse a procesos de nitrificación indeseados. En los tratamientos de esterilización donde se aplicó calor (secado en estufa y autoclavado), los valores fueron similares entre sí. No se observaron datos que hicieran pensar en procesos de transformación de N inorgánico, ni grandes aumentos de NO_3^- y NH_4^+ .

Se optó por el tratamiento de *ceniza tratada a 105°C sin lavar* que es lo suficientemente efectivo como para reducir la actividad de microorganismos y menos complejo que otros métodos de esterilización.

iii) Envase del ensayo y peso inicial por maceta

Para el ensayo realizado se decidió utilizar envases de polietileno negro de 10 cm de diámetro y 20 cm de altura. El ensayo se realizó durante los meses de verano ya que es el tiempo en que las especies estudiadas se encuentran en etapa de crecimiento vegetativo y consumen cantidades elevadas de N. Dado que las plantas fueron trasplantadas al envase final cuando aún eran pequeñas se esperaba que el

tamaño final de cada planta no sea muy grande, por lo que no fue necesario una maceta de mayor volumen. El ensayo contó con 11 macetas para cada uno de los 4 tratamientos a realizar para cada una de las dos especies. Esto es 88 macetas en total: 44 para *Juncus balticus* y 44 para *Festuca pallescens*.

Para realizar el llenado se procuró completar el volumen del envase con pala de mano. Se procedió a golpear la base de la maceta contra la mesada para compactar el sustrato incorporado. Realizar tres golpes y no más evita la sobrecompactación. Luego se completó el envase con sustrato hasta llenarlo.

Cada maceta fue pesada al finalizar el llenado para que los valores sean similares entre sí.

Para saber la cantidad de solución nutritiva a aplicar en cada riego, se procedió a registrar el peso inicial de cada maceta. La metodología de registro del peso inicial por maceta, fue la siguiente:

- Se regó cada maceta hasta saturar su contenido con agua desmineralizada.
- Se dejó drenar cada maceta durante 48 hs para establecer su capacidad de contenedor.
- Se registró el peso inicial de cada maceta.

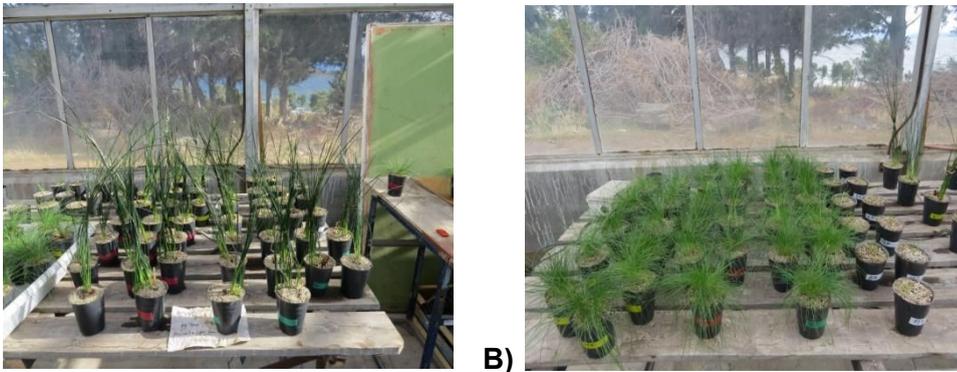
iv) Trasplante al envase final

Para el trasplante se lavaron las raíces de ambas especies con una solución al 5% de lavandina en agua desmineralizada, a fin de asegurar una esterilización radicular. Tanto la esterilización del sustrato como el lavado de raíces tuvo como principal objetivo eliminar la mayor cantidad de bacterias posible. Esto se debe a que la transformación de NH_4^+ a NO_3^- es realizado por bacterias *Nitrobacter* y *Nitrosomonas* (Claussen, 1999). La incorporación de estas bacterias en el ensayo sería contraproducente para el desarrollo del mismo ya que el objetivo fue poder controlar la forma de N mineral disponible.

Se procedió a realizar un orificio en el centro del sustrato de las macetas (previamente llevadas a capacidad de contenedor). Luego se introdujo la plántula en el orificio realizado. Para taparlo se sostuvo la planta desde su cuello y se tiró suavemente desde allí para que las raíces no queden apelmazadas dentro del sustrato, lo que permite mayor velocidad en la recuperación post-trasplante (técnica utilizada en cátedra de Viveros I y II de TEVI, UNRN). Para no introducir diferencias de crecimiento entre plantas por errores en el trasplante, fue fundamental realizar el procedimiento de manera prolija y metódica. De esta manera se logró una situación inicial homogénea.

La elección de las plántulas para el ensayo también fue muy importante. Por este motivo se generó un lote de plantas lo suficientemente amplio que permitiese elegir los ejemplares más sanos y vigorosos, cuidando que sean similares entre sí.

Luego del trasplante se realizó el primer fertirriego. En este caso, el mismo se realizó con la cantidad necesaria de nutrientes para cada uno de los cuatro tratamientos (Figura 4).



A) **B)**
Figura 4. Tratamientos de soluciones nutritivas: rojo ($100\% \text{NH}_4^+$), amarillo ($100\% \text{NO}_3^-$), verde ($50\% \text{NH}_4^+ -50\% \text{NO}_3^-$) y control (agua desmineralizada). **A)** tratamientos de *Juncus balticus* y **B)** tratamientos de *Festuca Pallescens*.

2.2. d. Preparación de soluciones nutritivas para riego.

Para realizar el ensayo de absorción diferencial de N mineral, fue necesario utilizar el método de fertirriego. Este método combina la aplicación de agua de riego con los fertilizantes. Incrementa notablemente la eficiencia de la aplicación de los nutrientes, obteniéndose mayores rendimientos y mejor calidad. El fertirriego permite aplicar los nutrientes en forma exacta y uniforme solamente al volumen radicular humedecido, donde están concentradas las raíces activas (Imas, 1999). En el caso de nuestro ensayo, el uso de fertirriego permitió aislar la variable de estudio a partir del control de los nutrientes aportados (en particular sobre las formas de N inorgánico). Para esto, se produjeron soluciones concentradas de nutrientes, que luego se disolvieron en concentraciones menores junto con el agua de riego.

Las plantas absorben macronutrientes (fundamentalmente N, P, K) y micronutrientes (Mg, Mn, Zn, Fe, etc.). Debido a esta diferenciación se suelen realizar dos tipos de solución madre. La solución madre A es la que contiene los macronutrientes. Es decir los elementos que las plantas necesitan en mayores concentraciones. La solución madre B incluye a todos los micronutrientes, cuya concentración es mucho menor. Para utilizar como fertilizante es necesario disolver ambas en el agua de riego.

Para realizar la solución madre A o de macronutrientes se utilizó la bibliografía de Cao y Tibbitts (1993).

A partir de la Tabla 2 se realizaron las soluciones nutritivas para cada tratamiento:

- 100% en forma de NH_4^+
- 100% en forma de NO_3^-
- 50% en forma de NH_4^+ y 50% en forma de NO_3^-

COMPOSICIÓN (MM) DE SEIS SOLUCIONES NUTRITIVAS PARA VARIOS PORCENTAJES DE N-NH₄⁺/N-NO₃⁻ Y LA MISMA CONCENTRACIÓN DE N-TOTAL

Sal	Porcentaje N-NH ₄ ⁺ /N-NO ₃ ⁻					
	0/100	20/80	40/60	60/40	80/20	100/0
Ca(NO ₃) ₂	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0
KNO ₃	2,0	1,6	1,2	0,8	0,4	0
(NH ₄) ₂ SO ₄	0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
K ₂ SO ₄	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
CaSO ₄	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
CaCl ₂	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
KH ₂ PO ₄	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
MgSO ₄	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Tomado de Cao y Tibbitts (1993). Los nutrimentos menores fueron abastecidos de acuerdo con Hammer *et al.* (1978).

Tabla 2. Valores utilizados como referencia para realizar las diferentes soluciones nutritivas para riego.

Utilizando las concentraciones de la Tabla 2, se realizaron los cálculos de proporcionalidad para generar la cantidad de solución concentrada A, a fin de arribar a 5 lts de solución nutritiva para cada uno de los tres tratamientos.

La dinámica de preparación consistió en disolver cada elemento en la menor cantidad de agua posible. De manera que al finalizar la dilución de cada uno de ellos, se mezclaran y se pudiera enrasar con agua hasta llegar al volumen final de 5 litros. En la práctica fue difícil disolver el NH₄⁺. Esto implicó aumentar en varias oportunidades la cantidad de agua necesaria para disolver el NH₄⁺ para la solución madre A de 100% de NH₄⁺ ya que el mismo no se disolvía. Para lograr la disolución de NH₄⁺ se agitó y aportó calor durante aproximadamente 30 minutos (Juárez Hernández *et al.*, 2006).

Para la realización de la solución B de micronutrientes, se utilizó la bibliografía de Roosta *et al.* (2009).

Una vez realizadas las soluciones madre A y B se prepararon los 5 litros de solución final para cada uno de los tres tratamientos y de las dos especies vegetales analizadas.

El NH₄⁺ tiende a acidificar la solución madre, por lo que fue necesario realizar una corrección de pH con hidróxido de potasio K(OH) 1N en la solución de 100% NH₄⁺ debido a que se encontraba por debajo del rango óptimo de pH. El rango óptimo de pH para las soluciones concentradas debe oscilar entre 4 y 7 (Trejo Tréllez y Gómez Merino, 2012).

2.2. e. Periodicidad del riego y dosis

Para decidir el *intervalo de riego* que se utilizó en el ensayo se propusieron una serie de pasos:

- Llevar cada maceta a capacidad de contenedor
- Realizar pesos diarios hasta obtener un peso de un 20% menor al que tenía inicialmente.

- El intervalo de tiempo entre el riego a saturación y el peso de maceta a un 80% de su capacidad, fue la periodicidad del riego. En este caso el intervalo de riego fue de 3 días.

Como se dijo anteriormente, para llevar a capacidad de contenedor cada maceta, se procedió a saturar con agua el sustrato y dejar drenar durante 48 hs. El peso obtenido luego de ese tiempo fue considerado el *peso inicial* o capacidad de contenedor.

Una vez establecidos el *peso inicial* de cada maceta y el *intervalo de riego*, se pudo desarrollar una metodología de riego sistemático. Cada tres días se procedió a pesar cada maceta ($P_a = \text{peso actual}$). Para establecer la cantidad de solución a regar se comparó el valor del P_a de cada maceta con su *peso inicial* (P_i). De esta forma la cantidad de solución nutritiva a regar (R°) fue igual a la diferencia de ambos valores ($R^\circ = P_i - P_a$).

Esta metodología permitió en cada riego, llevar a capacidad de contenedor cada maceta sin perder nutrientes por lixiviación. La importancia de utilizar un método sistemático se debe a que la naturaleza del ensayo necesitó de un control exhaustivo de los nutrientes aplicados.

Por otro lado, la salinización del sustrato suele ser perjudicial para las plantas, de manera que altas conductividades eléctricas o valores extremos de pH implican la necesidad de lavar el sustrato para eliminar sales disueltas (Imas, 1999).

Para mantener una CE y pH dentro del rango saludable para las plantas, se procedió a medir estas variables luego del primer fertirriego. Ese dato fue el patrón para comparar con mediciones posteriores cada 3 semanas aproximadamente.

2.2. f. Aleatorización de ensayo.

Para contemplar factores de variación no sistemáticos/aleatorios como la disponibilidad de luz o la temperatura, se realizó una mecánica de aleatorización del ensayo.

En este ensayo la cercanía a la ventana, las macetas en la periferia respecto que las del centro, la posición respecto del movimiento del sol dentro del invernáculo, entre otros aspectos tienen un impacto en la respuesta de crecimiento de las plantas. Para no generar tendencias sesgadas o análisis que no sean confiables, se realizó un dispositivo que permitiera ubicar las 88 plantas de manera no ordenada en la mesada del invernáculo (Figura 4). La aleatorización de las plantas en su posición final dentro del invernadero eliminó el error que pudiera introducirse dentro del ensayo.

Metodología de aleatorización:

- Se enumeraron las 11 macetas de los cuatro tratamientos realizados del 1 al 44 para ambas especies.
- Se enumeraron las 44 posiciones para cada especie dentro del invernáculo.

- Se realizó una planilla de cálculo y se asignó para cada maceta un número aleatorio de posición.

2.3. Objetivo específico C) *Participar en muestreo y relevamiento de datos a campo para ambos proyectos de investigación.*

Las actividades planteadas en el objetivo específico C se orientaron a conocer los sitios de estudio para ambos proyectos de investigación, involucrándose en tareas de muestreo y ensayo a campo. Además permitieron observar variaciones de los parámetros estudiados asociados a determinados factores ambientales.

Para que los datos obtenidos en un ensayo ganen en confiabilidad es necesario un adecuado diseño experimental que permita ampliar o extrapolar los resultados a un mayor rango de sitios con características similares. Un ensayo a campo no manipulativo permite evaluar dinámicas ecológicas en sitios que sean representativos del ambiente a analizar y de la pregunta científica que se busca responder sin perturbarlos. Para obtener datos se utilizan diferentes técnicas de muestreo. Además como veremos más adelante, también se utilizan instrumentos de medición a campo para la obtención de datos (Filgeira y Micucci, 2004).

2.3. a. Visita a diferentes sitios de muestreo y ensayos a campo.

Para realizar actividades a campo, de ensayo o de muestreo, es necesario establecer sitios que se constituyan como objeto de estudio. Para que ese objeto de estudio sea representativo del ambiente a describir y permita extrapolar los resultados es necesario tener en cuenta diferentes aspectos.

Las repeticiones reales no son posibles en la naturaleza (López Ritas y López Mérida, 1990). Sin embargo se utiliza este concepto para analizar varios sitios diferentes, relativamente distantes y similares entre sí al mismo tiempo. Los datos obtenidos en cada uno de los sitios para la unidad de análisis deseada constituyen repeticiones.

Para elegir los sitios de estudio y poder considerarlos repeticiones, se buscaron mallines que tuvieran características compartidas entre sí. Para esto se tuvieron en cuenta las siguientes consideraciones:

- **Zona geográfica:** Que sea una zona que tenga un promedio de precipitaciones anuales de 250-300mm.
- **Región ecológica:** Que sea un mallín rodeado de estepa. En una longitud y latitud similar.
- **Paisaje:** Que la forma del entorno y del mallín en sí sea similar.
- **Posición en la cuenca.** Que se encuentren en situaciones similares en cuanto al relieve circundante y al movimiento del agua.
- **Características del suelo:** Fundamentalmente que la cantidad de MO sea similar.

- **Cubierta vegetal:** Tipos de especies, presencia de especies claves, densidad de vegetación, vigor, cantidad de plantas introducidas creciendo allí, resquebrajamiento, salinización, en proporciones similares.
- **Intensidad de uso:** Que se puedan observar diferentes situaciones de uso. Muy degradado, poco degradado.

Se utilizaron tres sitios de estudio para la línea de investigación de “Efecto de degradación en las dinámicas de C y N por sobrepastoreo, en mallines de Río Negro” (Figura 5). Cada uno de los sitios se consideró una repetición y fueron denominados:

- Puesto Blanco (PB).
- Cañadón Bonito (CB).
- Casa de piedra (CP).



Figura 5. Ubicación de los tres sitios de investigación. Casa de Piedra (CP), Puesto Blanco (PB), Cañadón Bonito (CB).

i) Tipos de mallín

Dado que el comportamiento de los mallines H difiere al de los mallines M en diversos aspectos, se contempló en la elección de los sitios a investigar que esté presente esa diferenciación de forma clara. De esta manera, se instalaron clausuras metálicas compuestas de malla cima, cerrando un sector de mallín H y un sector de mallín M en cada sitio (Figuras 6 y 8). Las clausuras permitieron la exclusión de pastoreo logrando que no se modifiquen las condiciones del espacio elegido o se destruya el material de los ensayos.

Para los estudios realizados en estos sitios, la variable *tipo de mallín* nos determinó para cada muestra si fue de mallín *Húmedo* o *Mésico* (H o M).



Figura 6. Mallín Mésico del sitio Cañadón Bonito, en buena condición de pastizal.



Figura 7. Mallín Húmedo del sitio Cañadón Bonito, en buena condición de pastizal.

ii) Calidad de mallín en función de su uso

Uno de los aspectos más importantes de la Línea de Investigación es comparar lugares con un deterioro por pastoreo intenso histórico respecto de sitios con bajo deterioro por pastoreo (Enriquez, 2015). Es por esto que se eligieron tres sitios (PB, CB y CP) que presenten mallines en *Condición Regular de pastizal* (R) (Figuras 8 y 9) y mallines en *Condición Buena de pastizal* (B) (Figuras 6 y 7). Los síntomas visibles de las diferentes intensidades de uso se observaron en la cobertura, en la presencia o ausencia de las especies claves (*Juncus balticus* y *Festuca pallescens*), el vigor, la presencia de sales en el suelo, el resquebrajamiento (Bustos, 2006).

Las clausuras metálicas utilizadas para limitar el pastoreo también fueron utilizadas en ambas situaciones de condición de pastizal (R y B). Para decidir el lugar exacto donde se instalaría la clausura, fue necesario observar el entorno y elegir un sector que sea representativo del aspecto general del tipo y condición del mallín.

Las mediciones y muestreos a realizarse sobre vegetación o suelos de mallines se efectuaron dentro o fuera de las clausuras según el objetivo de cada proyecto de investigación y del tipo de intervención a realizar.



Figura 8. Mallín Mésico del sitio Cañadón Bonito, en condición pobre de pastizal. Nótese la menor cobertura respecto de la condición buena de pastizal (Figura 6).



Figura 9. Mallín Húmedo del sitio Cañadón Bonito, en condición regular de pastizal. Nótese la presencia de *Carduus thoermeri*, especie invasora en mallines con estas características.

2.3. b. Toma de muestras para ensayo de absorción de N diferencial.

El proyecto de investigación que abordó las *formas de absorción de N por parte de las plantas en mallines H y M* tuvo como objetivo la descripción de las dinámicas del N mineral en los mallines. Por eso, además del ensayo de absorción diferencial de N, Marcela Jaramillo se planteó determinar la forma predominante de N mineralizado en distintas condiciones de humedad del suelo, a través de un ensayo de laboratorio.

El ensayo intentó determinar la predominancia de alguna de las formas de N inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) generadas en el suelo en condiciones de saturación, alta, media y baja.

El objetivo fue contrastar esta información con la del ensayo de absorción diferencial de N para comprender más sobre las dinámicas de N en estos ambientes.

i) La muestra compuesta

La realización de este ensayo de incubación implicó la obtención de muestras representativas de suelo de mallín. Para obtener una porción representativa de suelo fue necesario partir de una recolección de submuestras. La cantidad de submuestras y el tipo de muestreo a realizar dependen del objetivo de investigación, del destino de la muestra, del ambiente que se quiere describir. En este caso, se realizó una salida de campo para coleccionar suelos de cada tipo de mallín (H y M).

- Se tomaron muestras dentro de los tres sitios previamente nombrados (PB, CB, CP).
- Se muestrearon solamente mallines en buenas condiciones de pastizal (Bonvissutto et al., 2008). Esto se debe a que el objetivo del proyecto es comprender las dinámicas del N en mallines en condiciones normales.
- Se muestrearon los dos tipos de mallín (H y M)

Para este ensayo se utilizó la *muestra compuesta*. La metodología de muestreo fue la siguiente:

- En cada uno de los tres sitios (PB, CB, CP) y dos tipos de mallín (H y M) se realizaron 10 pozos de 30cm de profundidad y se extrajo toda la porción de suelo (Figura 10).
- Se mezcló en bolsas el contenido de las 10 submuestras de cada sitio y tipo de mallín.



Figura 10. Toma de muestra compuesta en el sitio Casa de Piedra.

- Se rotuló cada bolsa con la denominación correspondiente a sitio y tipo de mallín.

2.3. c. Toma de muestras para ensayo de implicancias del efecto invernadero en mallines de patagonia norte.

El proyecto de investigación 2 tuvo como objetivo analizar el impacto del cambio climático registrado a nivel mundial, en mallines H y M según su condición por pastoreo histórico (B o R).

Previo al inicio de esta práctica laboral, se diseñó un ensayo a campo que permitió analizar este juego de variables. Es decir, cuál es el impacto del aumento de temperatura en mallines húmedos y mésicos con distintos grados de deterioro por pastoreo. Se procedieron a instalar unas cámaras de efecto invernadero OTC (“open top chambers”) al interior de cada clausura (Figura 11).



Figura 11. Clausuras con cámaras de efecto invernadero instaladas y sensores para registro de humedad y temperatura. OTC: “open top chambers”.

Las OTC producen en su interior un aumento de la temperatura media de entre 2 a 4°C. De esta forma se pudo comparar para cada uno de los sitios, tipos y condiciones de mallín el impacto del calentamiento global. La variable introducida con la instalación de cámaras de efecto invernadero determinó si las muestras se tomaron *dentro* o *fuera* de las OTC (D o F).

Evaluar el impacto del calentamiento global en mallines a partir de información obtenida dentro o fuera de las OTC permite una descripción acerca del efecto a corto plazo de esta problemática. En cambio, para elaborar predicciones a mediano y largo plazo fue necesario recurrir a una modelización.

La modelización realizada contó con información de tres años obtenida a partir de instrumentos de medición (como los dattaloggers, freatrímetros, estación meteorológica) y de ensayos a campo con sus respectivos análisis físico-químicos posteriores. Uno de los aspectos a tener en cuenta fue la estructura de los agregados que forman el suelo y su posible modificación por acción del aumento de

temperatura. Por este motivo se realizó un muestreo que permitiera en la modelización analizar esta variable.

i) El muestreo no disturbado

La estructura de un suelo no sólo depende de las partículas individuales del mismo (que serían su textura), sino que también se define por la interacción de estas partículas entre sí (matriz) y el arreglo en el espacio de estos complejos y agregados. Es decir, el tamaño, la cantidad y la forma de los agregados, su composición, su estabilidad, su ordenamiento en la masa del suelo (Hillel, 1980).

Para el estudio del impacto del calentamiento global en mallines fue necesario tener en cuenta las modificaciones generadas en la estructura del suelo. Es por esto que se recolectaron muestras de suelo de los sitios a analizar, en estado “*no disturbado*”. Esto quiere decir que las muestras fueron tomadas de manera tal que no se alteró la estructura de macroagregados.

Para la mayoría de las técnicas de análisis que realiza el Laboratorio de Suelos y Aguas, por convención se necesita que las muestras de suelo sean tamizadas a 2 mm. Esto se realiza para descartar fracciones mayores que pueden representar a minerales de gran tamaño, raíces, hongos, etc. que no son consideradas suelo. Por otro lado, tamizar las muestras a 2mm permite un análisis físico-químico más eficiente ya que las transformaciones necesarias para medir parámetros de suelo no se dan de forma completa en partículas de mayor tamaño. En este proceso de molienda y tamizado se desarman los agregados, lo que impide un análisis de la estructura, de la morfología de los mismos, de los tipos de MO que los componen, de la función de éstos en el suelo.

El muestreo *no disturbado* en cambio, permitió analizar el suelo con el objetivo de clasificar los distintos tipos y tamaños de agregados. Se realizó una salida de campo a fin de poder muestrear los 48 lugares correspondientes a los entrecruzamientos de todas las variables de análisis (PB, CP o CB; H o M; B o R; D o F) con un muestreo que preservara lo mejor posible la estructura del suelo.

La metodología de muestreo *no disturbado* fue la siguiente:

- Se tomaron muestras con pala de mano (Figura 12) para que no se destruyeran los macroagregados del suelo (en general se usa barreno para los muestreos, pero es un método destructivo).
- Se definió muestrear en los primeros 5 cm de suelo dado que el efecto de aumento de temperatura ambiente afecta en mayor medida al suelo superficial. En capas inferiores, el impacto del



Figura 12. Muestreo no disturbado de los primeros 5 cm de suelo en Cañadón Bonito.

cambio de temperatura ambiente no es significativo.

- Las muestras se tomaron en cada una de las 24 clausuras, en un lugar aleatorio dentro y fuera de las cámaras de efecto invernadero.
- Se colocaron en bolsas pequeñas sin que el bloque de suelo se rompa.
- Se guardaron en recipientes plásticos rotulados a fin de identificar las muestras y cuidar el contenido durante el transporte.

2.3. d. Recopilación de información presente en instrumental de cada sitio.

En la salida de campo se visitaron los tres sitios de muestreo, es decir Puesto Blanco, Cañadón Bonito y Casa de Piedra. Cada uno de ellos cuenta con distintos instrumentos de medición. Éstos permiten obtener información acerca distintos factores que hacen a las dinámicas ecológicas de cada sitio.

Durante la salida de campo, una de las actividades técnicas realizadas fue la observación de todo el instrumental y la metodología de obtención de datos de cada uno los instrumentos.

La información obtenida a partir de los diferentes instrumentos de medición fue utilizada en la modelización que evaluó el impacto del calentamiento global en mallines de Patagonia Norte.

Cada instrumento de medición tiene su propio sistema y técnica de medición, lo que permite registrar información relevante acerca de las dinámicas ecológicas de cada sitio de análisis. El acercamiento a cada uno de ellos permitió comprender su funcionamiento, así como también la aplicación de cada uno de ellos en el proyecto de investigación citado.

i) Dataloggers

Los dataloggers son dispositivos electrónicos que permiten vincular el lenguaje digital con sensores enterrados en el suelo que miden diversas variables del mismo. En este caso, los sensores se encontraban en los tres sitios de estudio, tanto en mallines H como M, en los distintos grados de deterioro y dentro y fuera de las OTC (Figura 13). Los sensores instalados fueron de temperatura del aire (a 5cm de altura) y humedad del suelo (enterrados a 0-5cm de profundidad). Los dataloggers permiten monitorear las diferentes lecturas que obtiene de los sensores. Almacena los datos obtenidos durante largos períodos pudiendo conocer sobre la dinámica de las variables monitoreadas en el suelo.

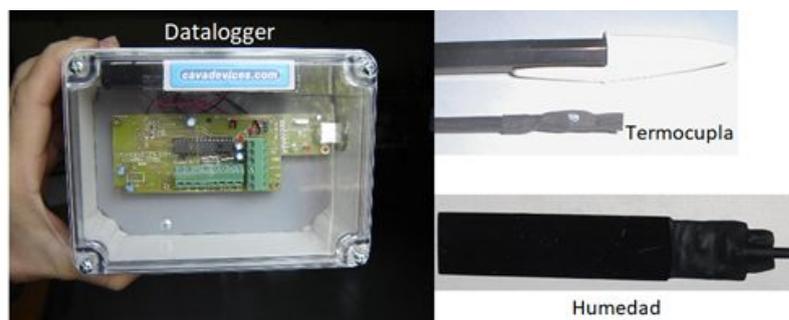


Figura 13. Datalogger Cava devices[®] y sensores de temperatura y humedad edáfica

ii) Freatímetros

Los freáticos permiten conocer a qué profundidad se encuentran las napas freáticas del suelo (Figura 14). Es un dato muy relevante respecto de la dinámica ecológica de los mallines. Los freáticos constan de un tubo perforado de 3 metros de longitud, que enterrado permite el ingreso del agua al mismo nivel que la altura donde se encuentra saturado el suelo. De esta forma, para obtener el valor se introduce una cinta métrica al interior del tubo y se registra el nivel al que se humedece.

Este sistema de medición presenta dos dificultades. Por un lado los orificios del tubo pueden taparse provocando que el freático no funcione correctamente. Para resolver este problema se los puede envolver en una tela permeable que disminuye este efecto adverso. Por otro lado, este sistema no permite monitorear el nivel de la napa periódicamente. La medición manual no es posible de realizar diariamente. Para poder realizar un monitoreo constante del nivel de napa se utilizó otro sensor y datalogger que permite sondear y registrar estos valores de forma periódica (Figura 15).

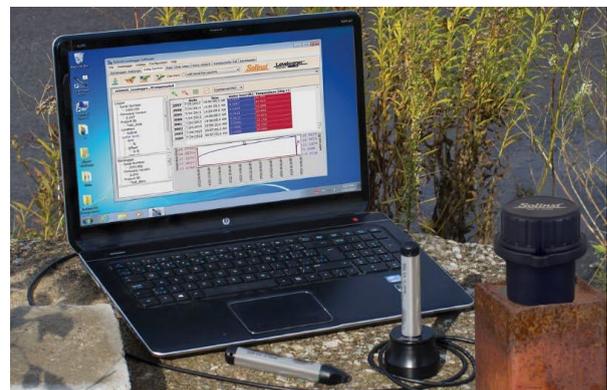


Figura 14. Modalidad de funcionamiento de freáticos.

Figura 15. Sensor Solinist® para niveles de napa freática y presión atmosférica.

iii) Estación meteorológica

Otro de los instrumentales presentes en los diferentes sitios fue la estación meteorológica (Figura 16). La recopilación de información y monitoreo de variables climáticas de manera automática a través de una estación de este tipo, tales como la temperatura del aire, la humedad relativa, el viento (velocidad y dirección), la cantidad de precipitaciones, el nivel de radiación (toma en cuenta la nubosidad) y la presión atmosférica, fueron indispensables para conocer el impacto a largo plazo que pudiera tener el calentamiento global en los mallines estudiados.



Figura 16. Estación Meteorológica ubicada en Puesto Blanco.

2.3. e. Procesamiento de las muestras: acondicionamiento de las muestras en función de los requerimientos del análisis a realizar.

Al arribar al laboratorio, las muestras de suelo fueron procesadas. De acuerdo al uso que se le dio a cada conjunto de muestras, el tipo de procesamiento fue diferente.

i) Procesamiento de muestras no disturbadas

Como se dijo anteriormente, para el análisis del efecto a largo plazo en suelos de mallín por acción del calentamiento global, se tomó un muestreo no disturbado de cada sitio. No obstante, el material vegetal, hongos, piedras, presentes en cada muestra no se consideran parte del suelo. Es por esto que se realizó un procedimiento que permitió separar las fracciones grandes presentes en el suelo sin destruir los macro y microagregados que se analizaron posteriormente. De esta manera se pasaron las muestras por un tamiz de 8mm (Figura 17).

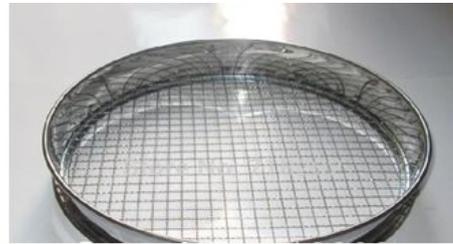


Figura 17. Tamiz grueso de 8 mm.

ii) Procesamiento de muestras para análisis físico-químicos de laboratorio

Para realizar los análisis físico-químicos de suelo involucrados en el impacto del calentamiento global, a excepción del de estructura, las muestras de suelo se pasaron a través de un tamiz de 2 mm antes de ser analizadas. En algunos casos, como por ejemplo el análisis de NT por Kjeldahl, además las muestras se molieron en mortero para que todo el material pase por tamiz de 0,5 mm.



Figura 18. Tamices de 0,5 mm y de 2 mm.

En ambas situaciones, la búsqueda al pasar las muestras por estos tamices finos (Figura 18), fue lograr que cada partícula de suelo pueda ser atacada o digerida químicamente en los diferentes análisis. De esta manera se logró que los datos obtenidos fueran representativos de las cantidades reales de cada elemento en el suelo.

2.4. Objetivo específico D) *Analizar muestras de suelo del proyecto de efecto del cambio climático en mallines con diversos grados de deterioro.*

2.4 .a. Participar como observador a modo de entrenamiento en diversas técnicas de análisis de laboratorio

En el objetivo específico D de la práctica laboral se propuso realizar tareas que implicaran el análisis de muestras de suelo relacionadas al proyecto de

investigación que estudia las implicancias del calentamiento global y el sobrepastoreo en mallines. En este sentido, los datos obtenidos a partir de los diferentes análisis realizados durante tres años permitieron realizar una modelización que evaluó el impacto del calentamiento global a largo plazo en el ciclo de C de mallines.

Las técnicas de análisis realizadas para la modelización permitieron describir características físicas y químicas de cada suelo de mallín estudiado. En relación a las *características físicas y fisicoquímicas del suelo*, se realizaron análisis de textura, de capacidad de intercambio catiónico (CIC), retención de agua, salinidad, pH (Sparks et. al., 1996).

En relación a las *características químicas*, se realizaron análisis que permiten conocer la concentración de elementos en el suelo, como el fósforo, la materia orgánica (MO), el N inorgánico o el Nitrógeno Total (NT).

En el marco de la investigación de Enriquez sobre el impacto del calentamiento global en diferentes tipos y calidades de mallines, durante el tiempo que duró la práctica laboral se realizaron tres análisis de componentes del suelo. Éstos son cantidad de C orgánico (MO), NT y N inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-). Se participó como observador en el desarrollo de los tres análisis a modo de entrenamiento tanto desde el punto de vista técnico y de seguridad, como de los procesos químicos que permiten obtener datos concretos de los componentes de las muestras.

En el caso de los análisis de MO (Figura 19) y N inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) se participó sólo como observador. En relación a NT, se realizó el análisis técnico de las 48 muestras recolectadas.



Figura 19. Erlenmeier utilizados durante la técnica de análisis de MO.

En el presente informe se desarrolló de forma exhaustiva la técnica de NT para dar cuenta de la metodología de trabajo de análisis de muestras utilizada en el laboratorio de suelos.

2.4. b. Análisis de Nitrógeno Total por Kjeldahl

El valor de NT de un suelo cuantifica la sumatoria del N orgánico (NO) y el N inorgánico (Ni) ($NT = Ni + NO$). La cantidad de N que está presente en los suelos está fuertemente relacionado con la MO. Esto se debe a que es en la MO donde se encuentra más del 95 % del NT del suelo (Brady y Weil, 2002). Además, la fracción de NO es mucho más grande que la fracción de Ni. El N se encuentra en gran medida formando parte de las estructuras orgánicas que hay en el suelo. Una porción de ese NO se mineraliza dando lugar a liberación de NH_4^+ y NO_3^- . Las estructuras vitales de las plantas tienen una gran cantidad de N, y éste es absorbido

del suelo fundamentalmente en estas formas minerales. Conocer el dato de NT nos permite saber acerca de su disponibilidad actual y potencial.

La realización de la técnica de medición de NT implica la transformación de todas las formas de N contenidas en la porción del suelo a analizar a formas inorgánicas gaseosas de N como el amoníaco mediante un proceso de destilación. Para lograr esto es necesario apelar a distintos procesos químicos que degradan las complejas sustancias orgánicas que contienen el N de las muestras en un proceso llamado digestión. Una vez lograda esta doble transformación, se busca poder contabilizar la cantidad de NT dentro de la muestra mediante la titulación (Sparks et. al., 1996).

i) Medidas de seguridad de la técnica

Cada técnica de laboratorio tiene algunas medidas de seguridad que permiten realizar los análisis minimizando los riesgos de accidente.

Los análisis químicos que se realizan en el Laboratorio de Suelos y Aguas utilizan diferentes reactivos. Cada uno de ellos tiene características propias.

Para cada uno de los reactivos que se utilizan en el laboratorio hay una *hoja de seguridad*. Las hojas de seguridad permiten brindar información a quien va a desarrollar la técnica para conocer sobre:

- identificación de la sustancia o la mezcla
- usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados
- identificación de los peligros
- consejos de prudencia
- composición/información sobre los componentes
- primeros auxilios
- indicaciones generales
- inhalación
- contacto con la piel
- contacto con los ojos
- ingestión
- medidas de lucha contra incendios
- peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla
- precauciones personales
- equipo de protección (Figura 20)
- procedimientos de emergencia
- precauciones relativas al medioambiente
- métodos y material de contención y de limpieza
- manipulación y almacenamiento
- propiedades físicas y químicas
- condiciones que deben evitarse
- materiales incompatibles
- toxicidad aguda

- efectos peligrosos para la salud
- información ecológica
- consideraciones relativas a la eliminación

En el caso de la técnica de NT por Kjeldahl, los reactivos utilizados fueron: Ácido sulfúrico 98%N (H_2SO_4), Ácido Bórico (H_3BO_3), Hidróxido de sodio (NaOH).

Antes de comenzar con el entrenamiento de realización de la técnica, se leyó cada hoja de seguridad de los reactivos a utilizar y se recorrieron las instalaciones para saber cómo actuar en caso de algún accidente con alguno de ellos. El trabajo en un laboratorio implica tareas metódicas para analizar las muestras. Por este motivo, resulta indispensable incorporar las precauciones y la forma de manipular los distintos elementos.

Por ejemplo, para la manipulación de los diferentes reactivos se necesita del uso de guantes y gafas para prevenir quemaduras (Figura 20), la utilización de una campana extractora de aire (Figura 23) permite manipular el H_2SO_4 y realizar la digestión de las muestras sin riesgos de inhalación. Otros aspectos a tener en cuenta son la metodología de lavado, el desechado de residuos sólidos y líquidos, etc.



Figura 20. Elementos de seguridad y protección del laboratorio. Gafas, Guardapolvo, Guantes.

ii) Instrumental y equipamiento de la técnica:

- Balanza analítica adventurer OHAUS
- 12 tubos de ensayo de 100ml
- Digestor Foss-tecator para tubos de 100ml
- Destilador Foss-tecator
- Desmineralizador de agua

El equipo permite analizar un total de doce tubos de ensayo en cada tanda. En cada tubo de ensayo se debe agregar una cantidad conocida de suelo previamente tamizado a 0,5mm tal como se explicó anteriormente. Además en uno de los tubos se coloca una cantidad conocida de una muestra patrón y otro se deja vacío para funcionar como blanco.

Al comienzo de la realización de la técnica de NT, se analizó cada muestra dos veces para tener repeticiones de todas las muestras y comprobar que los valores obtenidos eran similares entre sí. En la medida que las repeticiones fueron mostrando confiabilidad en los valores obtenidos, se procedió a realizar sólo tres repeticiones por tanda. Por convención, en el Laboratorio de Suelos y Aguas se realizan tres repeticiones por tanda para la técnica de NT. Para obtener los resultados de las 48 muestras fueron necesarias 9 tandas de análisis.

iii) La función del Patrón

En los laboratorios de análisis de suelo y en muchas otras ramas de la investigación científica se utilizan los patrones. Por definición un patrón es un dato conocido previamente. En el caso de los suelos, un patrón es una muestra de suelo del cual se conoce su procedencia, sus características y el valor aproximado que se obtiene de la variable a analizar (Sparks et. al., 1996). Conocer el valor aproximado que se debe obtener al analizar el patrón permite acreditar o desacreditar los datos obtenidos en cada tanda de análisis. Si el valor obtenido del patrón difiere del valor conocido entonces los datos obtenidos en la tanda no son confiables y se descartan. Para que una muestra pueda ser utilizada como patrón existen procedimientos de rutina que permiten asegurar que los valores obtenidos en cada tanda se repitan sistemáticamente. En el caso de la técnica realizada de NT, el patrón que se utilizó fue el denominado “San Ramón” por la procedencia de la estancia con el mismo nombre.

iv) La función del blanco

El blanco tiene, al igual que el patrón, el objetivo de asegurar la confiabilidad de los datos obtenidos en una tanda de análisis. Utilizar un tubo de la tanda sin muestra permite analizar si hubo algún error en el proceso. Lo esperable debido a la inexistencia de muestra de suelo en el tubo es que la cantidad de NT sea nula. En el caso de que el valor de NT en el blanco fuera significativamente mayor a 0 o que se observe algún color diferente al que se debe observar durante el proceso, los datos obtenidos en toda la tanda de análisis deben desacreditarse.

Por otro lado, la utilización del blanco permite realizar correcciones en los valores obtenidos en cada tanda de análisis. En muchas oportunidades el valor obtenido al analizar el blanco fue cercano a 0, aunque levemente mayor. El pequeño valor obtenido en esa titulación si era igual o inferior a 0,3 ml se consideraba válido. Este dato representa el error provocado por posibles contaminaciones propias del proceso. Por este motivo, se considera que afecta a todos los tubos de la tanda por igual. Para corregirlo, se utiliza el valor obtenido del blanco como factor de ajuste en la ecuación de la técnica.

v) El pesado de las muestras

Para saber la cantidad de muestra de suelo a introducir en cada tubo, fue necesario estimar los valores de N de manera que a la hora de titular cada una de ellas, la cantidad de N a medir se encontrara dentro del rango de detección de la técnica. El rango está dado por el volumen de la bureta utilizada para la titulación. En este caso la bureta utilizada tenía un rango de 0 a 20 ml. Se buscó que los valores del gasto de H₂SO₄ (0,02 N) utilizado en la titulación sean entre 5 y 15 ml preferiblemente.

Se recomienda para muestras de suelo una cantidad de entre 0,25 a 2g. Para suelos que se presume tienen poca MO se deben poner valores más cercanos a 2g mientras que para suelos con mucha MO se deberán pesar valores más cercanos a 0,25g (Sparks et. al., 1996). El color del suelo es un buen indicador para poder estimar el valor, dado que suelos más oscuros tienen por lo general valores más altos de MO, y suelos más claros cantidades menores de MO. Saber la procedencia de las muestras también es útil ya que el conocimiento de las características edáficas de cada zona permite poder estimar qué cantidad de MO tendrá y por ende cuánto suelo debo pesar.

En el caso de muestras procedentes de mallines, la cantidad de MO se presume será bastante elevada. Por este motivo se utilizó un pesaje de entre 0,6 a 0,8 g por tubo. Se realizaron los pesajes con una balanza de precisión (Figura 21 A). Este tipo

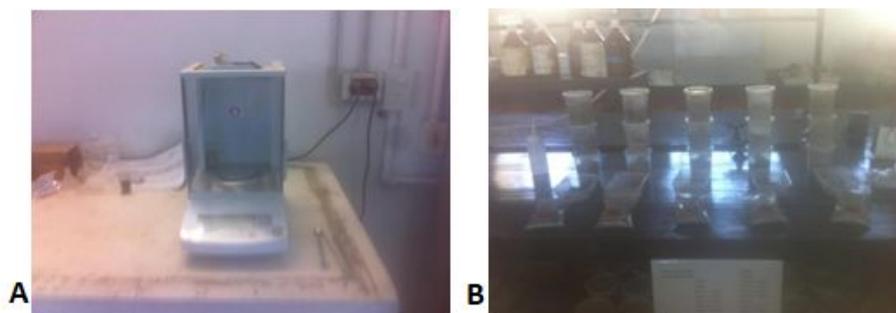


Figura 21. A) Balanza analítica adventurer OHAUS. B) Muestras de suelo a analizar por NT.

de balanzas permiten registrar cuatro cifras decimales, lo que otorgó mayor singularidad/exactitud a cada dato.

Se procedió a tomar con una cuchara una porción de cada muestra (Figura 21 B) y se apoyó en una lámina de aluminio sobre el plato de la balanza. Se agregó o se quitó suelo hasta obtener un valor de entre 0,6 a 0,8g. Se depositó el contenido pesado dentro de uno de los tubos, registrando el peso, la identificación de la muestra y el número de tubo. Se tabuló la información dejando un espacio para luego agregar el gasto de H₂SO₄ (0,02 N) utilizado en la titulación (Tabla 3).

Es importante mencionar que el trabajo en un laboratorio necesita de un orden y una estructura metódica en cada tarea. Utilizar siempre los mismos tubos para el blanco y para el patrón permitieron disminuir la posibilidad de contaminación en esos tubos. Mantener limpio y ordenado el espacio

No. tubo	Identificación	Peso g.	Titulación	%
39	1	0,8123	4,8	
40	2	0,8615	3,4	
41	3	0,8631	4,6	
42	4	0,8445	4,8	
43	5	0,8451	4,5	
44	6	0,8074	3,6	
45	7	0,8317	8,2	
39'	8	0,7537	3,9	
42'	9	0,6030	3,4	
45'	10	0,6069	6,1	
Blanco	11	0,6244	9,2	
	12		0,2	

Tabla 3. Registro escrito de una tanda de análisis de NT por Kjeldahl.

de trabajo fue fundamental para que todo el personal pudiera utilizar el laboratorio en óptimas condiciones.

vi) La digestión

En la digestión todo el N presente en cada muestra, se transforma en una solución de sulfato de NH_4^+ .

Para lograr esta transformación se agregó a cada uno de los 12 tubos, 3 ml de ácido H_2SO_4 concentrado (98%). Este ácido concentrado tiene cierto grado de riesgo en su manipulación. Es por esto que para prevenir la inhalación de gases ácidos se trabajó bajo campana (Figura 23.A), con guantes y gafas. La botella utilizada para almacenar este ácido fuerte contaba con un dosificador que permitía regular en un rango de 0 a 10 ml cuánta solución se quería agregar en cada tubo (Figura 23.B). Esto disminuyó el tiempo de manipulación del ácido.

Antes de incorporar el H_2SO_4 concentrado (98%) se procedió a agregar una mezcla catalizadora de la digestión. La misma se compone de 96 g de K_2SO_4 y 4g de $CuSO_4$ cada 100 g de mezcla. Por cada tubo se agregaron 0,5 g de mezcla catalizadora. Esto se efectuó con una cuchara medidora calibrada para este fin.



Figura 22. Tubos de ensayo utilizados para el análisis de NT.

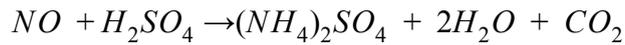


Figura 23. A) Campana extractora para el trabajo con sustancias tóxicas que puedan inhalarse. B) Dosificador de H_2SO_4 para la digestión del N.

Una vez incorporado el catalizador y el H_2SO_4 concentrado (98%) se procedió a ubicar los tubos dentro del digestor Foss-tecator para tubos de 100ml (Figura 24). Este equipo permitió elevar la temperatura de los tubos a $360^{\circ}C$. Este proceso sostenido durante el lapso de 3 horas (puede ser más o menos tiempo dependiendo de la cantidad de N presente en las muestras) permite degradar todo el N contenido

en la fracción de suelo y transformarlo en una solución de $(NH_4)_2SO_4$. Para estar seguros de que la digestión concluyó se debe observar una coloración verde grisáceo en el material presente en los tubos.

La reacción química de la digestión es la siguiente:



En este proceso los gases emanados durante la digestión son succionados y recirculados por un sistema de aspiración por corriente de agua y una tapa especial de vidrio que permite ese movimiento sin pérdida de N por evaporación.

vii) La destilación

La destilación es un proceso por el cual al agregar un exceso de álcali (hidróxido de sodio NaOH 300 g/l) a la mezcla ácida de digestión, se transforma el amonio (NH_4^+) en amoníaco (NH_3 gas), seguido por la ebullición y condensación del NH_3 gas que es recibido en una disolución de ácido bórico H_3BO_3 al 2%.

Para la realización de este proceso fue necesario dejar enfriar los tubos sometidos a altas temperaturas durante la digestión. Pasado un tiempo prudente de enfriamiento se procedió a agregar a cada uno de los doce tubos 10-15 ml de agua desmineralizada. Esto permitió frenar la reacción de digestión al interior de cada tubo. El agregado del agua desmineralizada permite evitar el error que se puede generar al continuar la digestión en los tubos durante el tiempo de duración de la técnica.

El equipo que se utilizó es el destilador Foss-tecator (Figura 25). El mismo permitió automatizar el proceso de destilación. Al encender el equipo se programó la cantidad de NaOH a agregar (30 ml) y el tiempo de duración de la destilación (4 minutos). El equipo agrega el NaOH a la solución de NH_4^+ obtenida en la digestión y le agrega calor. Esta reacción genera amoníaco (NH_3 gas) y



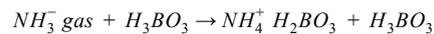
Figura 24. Equipo de digestión con control de temperatura Foss-tecator para tubos de 100 ml.



Figura 25. Equipo de destilación Foss-tecator para tubos de 100 ml. Tanques de reserva de NaOH y agua desmineralizada.

vapor de agua, que arrastra al mismo. Luego este se condensa y recoge en una solución de ácido bórico (H_3BO_3 al 2%) formando el NH_4^+ necesario para la titulación. La coloración de la solución resultante es verdosa.

La reacción química es la siguiente:



viii) La titulación

El objetivo de la titulación es poder cuantificar la cantidad de NH_4^+ presente en la solución recibida luego de la destilación. Para poder obtener el valor fue necesario utilizar una bureta graduada (Figura 26). Se realizó una reacción química que permitió el viraje de la coloración de la solución, desde verde a colorado. La cantidad de ml de H_2SO_4 (0,02 N) gastados para provocar ese viraje se anotaban en el cuadro utilizado durante el pesaje. El valor numérico de NT presente en cada muestra se calculó de la cantidad de iones de NH_4^+ en la disolución de H_2BO_3 de concentración conocida.



Figura 26. Bureta graduada con H_2SO_4 al 0,02N utilizada para la titulación.

Cálculos

$$\%N = (Título \text{ de muestra} - Título \text{ de Blanco}) \times 0,02 \times 0,014 / \text{peso de muestra} \times 100$$

Procedimiento

- Llenar la bureta con una solución de H_2SO_4 (0,02 N) y enrasar a 0ml.
- Abrir la llave de paso de la bureta e introducir de a gotas en la solución de coloración verde proveniente de la destilación.
- Agitar la solución verde con una mano en contra de las agujas del reloj durante el agregado de H_2SO_4 (0,02 N)
- Agregar de a gotas el H_2SO_4 (0,02 N) hasta que la coloración verde vire a rojo.
- Anotar la cantidad de ml de H_2SO_4 (0,02 N) gastados en ese viraje.
- Luego de cada anotación llenar nuevamente la bureta enrasando a 0ml.

Fue necesario tener especial cuidado en no dejar que el colorado sea muy intenso. Se utilizó una lámpara para iluminar la solución y una hoja blanca debajo para poder observar mejor el viraje.

Para obtener el valor final de NT se cargaron los datos en una hoja de cálculo (Tabla 4). Esto permitió estandarizar el proceso matemático para luego analizar los resultados.

Tabla 4. Ejemplo de planilla de cálculo donde a partir de los valores de las titulaciones se obtiene la cantidad de NT de cada muestra.

muestra	nº tubo	peso (g)	conc. H ₂ SO ₄	ml gastados	blanco	%NT ppm	Fecha
2	1	0.8605	0.02	9.5	0.3	0.299	13/12/16
14	2	0.7981	0.02	6	0.3	0.200	
15	3	0.8005	0.02	4.6	0.3	0.150	
16	4	0.8069	0.02	4.3	0.3	0.139	
17	5	0.8581	0.02	4.5	0.3	0.137	
18	6	0.8073	0.02	9.8	0.3	0.329	
19	7	0.8203	0.02	4.9	0.3	0.157	
14'	8	0.6022	0.02	4.7	0.3	0.205	
17'	9	0.5112	0.02	3	0.3	0.148	

ix) Lavado y desechado de reactivos

El objetivo de un lavado intenso con agua desmineralizada se basa en poder eliminar todos los residuos químicos de las muestras de suelo y de los reactivos utilizados y dejarlos en condiciones para poder volver a ser utilizados. Un lavado mal realizado puede provocar contaminación en los tubos para tandas siguientes.

Los tubos, los erlenmeyer, la tapa del sistema de aspiración durante la digestión se lavan en una pileta. Se realiza un triple lavado abundante con agua de red y luego se hace un último lavado con agua desmineralizada. El equipo destilador foss-tecator se lava con pizetas de plástico con agua desmineralizada y luego se seca con un trapo humedecido con el mismo tipo de líquido.

2.5. Objetivo específico E) Realizar análisis estadísticos de los datos obtenidos en las actividades de laboratorio.

2.5. a. Análisis estadístico de los datos de Nitrógeno Total.

Los 48 datos de NT obtenidos en el análisis de muestras corresponden a valores luego de un año de uso de las OTC. Los mismos brindaron información para observar el impacto del calentamiento global a corto plazo en el NT de cada tipo de suelo de mallín y condición de pastizal. En el ensayo de Enriquez para evaluar el impacto del calentamiento global en mallines, el NT fue uno de los parámetros a tener en cuenta, entre otros. Cada uno de ellos constituyó una variable para la modelización que buscó comprender el impacto a largo plazo del efecto invernadero.

Para esta práctica laboral se buscó realizar un tipo de análisis estadístico sobre los datos obtenidos de NT para el anterior ensayo. En primer lugar se ordenaron los

datos en una tabla donde se pudiera comparar la cantidad de NT en función de las diferentes tratamientos: Mallín Húmedo o Mésico, condición Buena o Regular, Fuera o Dentro de las OTC, para cada sitio de muestreo PB, CB, CP.

Con el programa INFOSTAT se analizaron gráficos de medias y dispersión por cada grupo para observar la calidad de los datos y verificar la ausencia de datos anómalos (outliers). Una vez verificados los datos se procedió, con el mismo programa, a realizar un análisis de variancia (ANOVA) con diseño factorial para todos los datos juntos. Con el análisis se verificó la existencia de interacciones con diferentes sentidos y magnitud. En función de dichos resultados, se realizó un nuevo ANOVA para cada situación de tipo de mallín y condición de pastizal, considerando como factor de interés Dentro/Fuera de la cámara OTC. En el nuevo ANOVA se contrastaron las medias del % NT, Dentro y Fuera de la cámara, para mallines Mésicos y Húmedos, y condición Buena o Regular. De cada comparación se obtuvo un *p-valor* que cuando fue inferior a 0.05 indicó diferencias significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de nitrógeno total (NT) (%) +/- error estándar en muestras de suelo Dentro y Fuera de las Open Top Chambers (OTC) para cada Tipo (Húmedo y Mésico) y Condición de mallín (Buena y Regular).

El * muestra diferencias significativas (*p*-valor < 0,05) entre el NT de suelos Dentro y Fuera de las OTC.

Tipo	Condición	Fuera	Dentro	p- valor
Mallín Mésico	Buena	0,14 +/-0,01	0,21 +/- 0,03	0.0267 *
(<i>Festuca Pallescens</i>)	Regular	0,18 +/- 0,04	0,12 +/- 0,01	0.1514
Mallín Húmedo	Buena	0,18 +/- 0,01	0,18 +/- 0,03	0.3803
(<i>Juncus balticus</i>)	Regular	0,18 +/- 0,03	0,16 +/- 0,03	0.585

2.5. b. Interpretación del análisis.

El análisis estadístico permitió analizar para qué casos fue significativa la diferencia entre sitios expuestos a un efecto invernadero respecto de sitios sin exposición a ese efecto. Los datos obtenidos no permitieron analizar un efecto a mediano o largo plazo ya que no fue posible realizar una comparación de evolución temporal.

Por el contrario sí se pudo analizar en qué situaciones existió una diferencia significativa al momento del muestreo (un año después de la instalación de las OTC). Es decir, la injerencia del efecto invernadero en el NT de suelos de mallines a corto plazo. Se encontraron diferencias significativas en la concentración de NT para el caso del tipo de mallín Mésico en condición Buena de pastizal. Para el resto de las situaciones no se observaron diferencias significativas (Tabla 5).

Si bien se observó una tendencia a la disminución del % de NT, esta no ocurrió en magnitudes significativas en todos los casos. Esto indicaría que el efecto del calentamiento global en el % de NT de suelos de mallín a corto plazo no es de gran impacto, pero no descarta que los efectos del calentamiento global se pudieran expresar a más largo plazo.

La única diferencia significativa observada en el NT entre dentro y fuera de las OTC fue en el tipo de mallín Mésico y en condición Buena del pastizal. Este resultado puede deberse a dos características de este ambiente por separado. Por un lado, el mallín mésico en buena condición de pastizal tenía mayores niveles de NT que el mallín mésico en condición deteriorada (Enriquez et al., 2014). Esto pudo generar que la caída en el NT del mallín mésico en buena condición sea mayor por el efecto del calentamiento de las OTC que en condiciones regulares de pastizal debido al deterioro inicial existente y los menores niveles de NT.

Por otro lado, el hecho de que se hayan observado diferencias significativas en mallín mésico alimentan la idea de que la variación en la profundidad de las napas freáticas probablemente produzcan que este tipo de ambiente sea más vulnerable a este tipo de efectos. En mallines húmedos el suelo se encuentra anegado todo el año lo que atenúa los efectos de cambios de temperatura, debido a la capacidad buffer del agua. Por este motivo en mallines húmedos, independientemente de la condición de pastizal, no se observaron diferencias significativas a corto plazo.

3. Discusión acerca de la práctica

La naturaleza de esta práctica laboral implicó múltiples y diversas tareas que en su conjunto conformaron una muestra significativa de la modalidad de trabajo del grupo de Aguas y Suelos, dependiente del Área de Recursos Naturales del INTA EEA - Bariloche. La misma permitió la inserción al grupo de trabajo desde el rol de técnico de apoyo para la investigación. Dicha participación permitió poner en juego contenidos, herramientas y aprendizajes propios de la formación de técnico en viveros, así como también arribar a nuevos alcances relacionados a cada objetivo específico que se planteó. Para que esto fuera posible, el grupo de trabajo cumplió un rol fundamental. La incorporación al equipo se dio de manera tal que permitió involucrarse como un integrante más. Hubo predisposición para escuchar y aceptar aportes técnicos, así como también para enseñar y compartir los saberes y herramientas del equipo de investigación.

Por otro lado, la posibilidad de participar de diversas actividades dentro de INTA EEA-Bariloche permitió conocer mejor su rol en la comunidad. Resultó muy interesante entrar en contacto con diferentes profesionales que desempeñan actividades en la Estación Experimental. Cada uno de ellos tuvo voluntad para transmitir sus recorridos, objetivos de investigación, conocimientos y herramientas. Esto permitió dimensionar el impacto que tiene esta institución en toda la región. Ya sea por actividades que apuntan al conocimiento de los ecosistemas regionales, así como también las que implican el desarrollo, mejoramiento y sustentabilidad de actividades productivas agropecuarias. En este sentido, la participación en el grupo de Agua y Suelos cobró nuevas perspectivas, ya que se enmarcó en tareas más amplias que apuntan al desarrollo de la región desde una lógica de aprovechamiento, cuidado y preservación.

En el objetivo específico A se propuso *conocer e involucrarse con los fundamentos teóricos y los objetivos de la línea de investigación y de dos proyectos del grupo de Agua y Suelos.*

Como técnicos de apoyo en la investigación científica se espera que podamos realizar aportes en todos los niveles. Idealmente, se espera que el técnico se convierta en un miembro más del equipo de investigación. Sin embargo, esto no siempre sucede. En muchas oportunidades el técnico simplemente ejecuta las diferentes tareas técnicas asignadas por el grupo para el que trabaja, sin mayor internalización.

La modalidad de esta práctica posibilitó que la realización de tareas de apoyo técnico no se circunscribieran a las tareas básicas de las investigaciones en las que se participó, sino que habilitó una fuerte interacción con los fundamentos teóricos. Es decir, ejecutar cada una de las técnicas propias de cada campo con el conocimiento necesario para realizarlos de la mejor manera. La formulación de este primer objetivo específico manifestó la intención de que las tareas técnicas a realizar se produjeran en el marco de conocer no sólo el “*qué*” hacer sino “*por qué*” y “*para qué*”. Familiarizarse con los conceptos y objetivos de la línea y proyectos de investigación permitieron entablar un lenguaje común al interior del equipo. Posibilitaron la comprensión acerca de cómo se entrelazó un proyecto con otro. Favorecieron la problematización de cada tarea y actividad de la práctica laboral, en función de cómo estas respondieron a las diferentes preguntas científicas.

El objetivo específico B propuso *participar de la construcción de un diseño metodológico y experimental en el proyecto de absorción diferencial de N en plantas de mallines.*

Este objetivo específico resultó en tareas que fueron de las más afines al rol de técnico en viveros y, por ende, posibilitó una fuerte e interesante participación. Como vimos, en este proyecto se realizaron ensayos para evaluar el comportamiento de las formas inorgánicas de N en suelos de mallines y para entender la relación de estos elementos con las plantas dominantes de estos ambientes. Uno de ellos se basó en la propagación y desarrollo de plantas en condiciones controladas de invernáculo. La participación desde el rol de apoyo en la construcción de su diseño metodológico y experimental implicó diversas decisiones. Éstas estuvieron relacionadas con definir parámetros de cultivo como el tipo de envases y sustratos, las instalaciones necesarias para cada etapa, el método de riego, la formulación de las soluciones nutritivas, todos conocimientos adquiridos en la formación propia de la Tecnicultura en Viveros.

Así como ocurre en otras áreas del conocimiento, estar instruido en temáticas de producción vegetal no implica tener todas las respuestas, sino el conocimiento inicial suficiente como para detectar la necesidad de profundizar en nuevos temas, en función de cada situación a resolver. La participación en este proyecto tuvo la

calidad de desarrollarse con una estudiante de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Marcela Jaramillo, lo que posibilitó que el trabajo sea conjunto tanto en el diseño como en la puesta en marcha del ensayo. Por otro lado, en el grupo de Agua y Suelos no suelen realizarse ensayos de este tipo, motivo por el cual la participación como técnico en este proyecto fue de suma relevancia para el equipo. Por último, a través de los aportes realizados para este objetivo específico se pudo trabajar a la par de investigadores a partir de los conocimientos propios de cada uno.

En el objetivo específico C se propuso *participar en actividades de muestreo y relevamiento de datos a campo para ambos proyectos de investigación.*

El abordaje del mismo implicó una salida a campo donde se pudieron realizar diversas actividades y arribar a aprendizajes significativos. Por un lado, la salida permitió conocer la heterogeneidad entre diferentes sitios de estudio, las características de cada tipo de mallín y el contraste entre las diferentes condiciones de pastizal, comprendiendo mejor el ambiente de estudio y los efectos del sobrepastoreo en la región. Por otro lado, fue posible comprender la finalidad de ejecutar diferentes tipos de muestreo en función de cada pregunta científica y cada necesidad. Cada una de estas tareas permitió dimensionar la logística, el esfuerzo y el tiempo necesarios para cada salida y actividad de campo. En el laboratorio, una muestra es sólo una porción de tierra en un sobre numerado. No obstante, la realización de estas tareas posibilitó conocer el origen de las muestras que se procesaron y analizaron en el laboratorio, cada una de las cuales es el resultado de mucho esfuerzo y trabajo.

En relación al proyecto que evaluó el impacto del calentamiento global en mallines, se pudieron además observar y manipular diferentes equipos de medición. El contacto con los mismos permitió conocer más acerca de cómo se obtienen datos en ensayos a campo no manipulativos.

En el objetivo específico D se propuso *analizar muestras de suelo para el proyecto de efecto del cambio climático en mallines con diversos grados de deterioro.*

La participación en las tareas de análisis químicos de laboratorio suelen demandar mucho tiempo de trabajo. El abordaje de este objetivo específico implicó destinar gran parte de la práctica en este tipo de actividad no tan abordada en la formación como técnico en viveros.

En primer lugar fue necesario estudiar y comprender el proceso químico de cada técnica, los materiales e instrumentos utilizados y los pasos a seguir. En segundo lugar, fue imprescindible conocer los aspectos de seguridad higiene propios del laboratorio y de cada técnica, las precauciones y modalidad de manipulación de cada reactivo utilizado y la ubicación y modo de uso de todos los elementos de seguridad del laboratorio. En tercer lugar, la realización de cada técnica demandó un tiempo prudente de observación y entrenamiento junto a las investigadoras. De esta forma se desarrollaron los conocimientos y habilidades necesarias para cada

análisis. Específicamente, lograr autonomía y eficacia en la realización de la técnica de NT implicó varias tandas de análisis, con chequeos, constataciones y hasta repeticiones.

Por otro lado, este objetivo específico permitió ampliar los conocimientos propios de la formación en la Tecnicultura en Viveros. Estas tareas dieron cuenta de la flexibilidad y capacidad para arribar a nuevos alcances y aprendizajes. Todo esto quiso se vea reflejado en el detalle con el que fueron expuestos los análisis químicos en el desarrollo del informe.

Por último, la posibilidad de ejecutar autónomamente análisis químicos desde un rol de apoyo técnico, permitió optimizar el tiempo de trabajo del equipo de investigación. Este es un aspecto clave y valorado en la dinámica de trabajo de un grupo de investigación, que no solamente debe plantearse preguntas y abordarlas metodológicamente, sino que también debe generar proyectos, buscar fondos, entrenar y formar estudiantes, mantener espacios de trabajo como el laboratorio donde se realizó la práctica, etc..

El objetivo específico E planteó *realizar análisis estadísticos de los datos obtenidos en las actividades de laboratorio*.

Este objetivo específico buscó obtener resultados estadísticos a partir de los datos obtenidos de las actividades de laboratorio y analizarlos a la luz de alguna de las preguntas científicas formuladas.

En este sentido, cabe señalar que el trabajo estadístico realizado fue una pequeña aplicación del proyecto que evaluó el impacto del calentamiento global en mallines. No obstante, la decisión de ejercitar actividades de análisis estadístico en función de los datos obtenidos en la técnica de NT fue necesaria para comprender el trabajo metodológico científico.

Se pudo poner en práctica la forma de llegar a interpretaciones y conclusiones acerca del fenómeno estudiado. Fue posible agrupar y observar los datos obtenidos en función de los parámetros del proyecto de calentamiento global y sobrepastoreo. A partir de dicha observación pudo decidirse qué tipo de análisis estadístico se realizaría y cómo ordenar los resultados en torno a un factor de interés. Los resultados obtenidos se presentaron de una forma en particular y ésta fue decisión del equipo de investigación. Además se intentó realizar una interpretación de los resultados en función de si los mismos confirmaban, refutaban o ampliaban las hipótesis formuladas. Por último el trabajo realizado en este punto puso a prueba el objetivo específico A, demostrando la importancia de conocer y manejar los fundamentos teóricos a cada caso.

En resumen, los tiempos y objetivos pautados al comienzo de la práctica laboral definieron la forma y el tipo de actividades realizadas. En su conjunto, permitieron desarrollar tareas en todas las etapas de la investigación científica. En lo particular,

implicaron la participación en dos proyectos diferentes (aunque entrelazados), lo que posibilitó una diversidad y riqueza mayor en las labores ejecutadas.

4. Conclusiones finales de la Práctica Laboral

La experiencia de haber participado de un grupo de trabajo de investigación fue muy formativa. Por un lado, permitió el vínculo con los saberes aprendidos durante la Tecnicultura en Viveros para ponerlos en juego en la actividad científica. Por otro lado, la realización de la práctica junto al Grupo de Agua y Suelos dentro del área de Recursos Naturales en la EEA- INTA Bariloche, supuso un gran desafío. Esto se debió a que las tareas, ensayos y proyectos en los que se participó, se vincularon con técnicas nuevas y relativamente alejadas de la formación previa. En este sentido, una de las riquezas más importantes del trabajo en el laboratorio fue la posibilidad de comprender la manera en que se generan los datos que como Técnicos en Viveros recibimos cuando solicitamos un análisis determinado a un laboratorio. Ser consciente de la cantidad de procedimientos y técnicas implicadas en este tipo de análisis otorgó nuevas perspectivas al recorrido realizado.

En cada una de estas etapas de investigación, el rol de técnico de apoyo implicó desarrollar una función de solucionador de problemas operativos de cada ensayo, es decir un rol flexible y adaptable. Los aportes realizados se nutrieron del conocimiento de la línea de trabajo y de los diferentes proyectos en los que se participó y se enfocaron en facilitar la obtención de los resultados específicos a cada etapa que cada proyecto requería. La participación en dos proyectos de investigación de diferente índole permitió garantizar el trabajo en todas las etapas de la investigación científica. Si se hubiese llevado a cabo la práctica en el mismo tiempo pero en uno sólo de los proyectos abordados, no hubiese sido posible participar en la formulación de la pregunta científica, en la construcción de un diseño experimental, en la toma y procesamiento de muestras, en el análisis físico-químico de suelo, hasta la interpretación estadística de los resultados obtenidos. Por otro lado, participar en dos proyectos permitió poner en juego diversos tipos de conocimientos y tareas. En este sentido, el proyecto de absorción diferencial de formas de N en especies vegetales dominantes de mallines implicó el desarrollo de actividades más afines a los conocimientos de la Tecnicultura en Viveros. En cambio, el proyecto de implicancias de un aumento de temperatura asociado al cambio climático en el ciclo de C de mallines, permitió incorporar y desarrollar nuevas herramientas y conocimientos. A su vez, la participación en este proyecto supuso dimensionar nuevos y potenciales alcances del rol técnico.

El informe desde su estructura y contenido, vislumbra estos recorridos y conocimientos, dando cuenta de la importancia de las tareas de apoyo técnico en ciencia, así como de la necesidad de manejar los fundamentos propios de cada proyecto de investigación.

Por último, a pesar de que se trabajó en dos proyectos de investigación diferentes, estos estaban relacionados en su temática fundamental, lo que permitió ahondar

específicamente en el conocimiento de los ambientes de mallines, sus dinámicas naturales y sus problemáticas. La posibilidad de haber participado en actividades que vinculan a los seres humanos con el entorno geográfico de la Patagonia, entendiendo que hay que conocerla, protegerla y utilizarla de maneras más sustentables, sin dudas también constituyó un aprendizaje muy significativo de esta práctica laboral.

5. Bibliografía

- **Ansorena-Miner, J. 1994.** Sustratos: Propiedades y Caracterización. Ediciones Mundi-Prensa, España. 172 pg.
- **Amundson, R. 2001.** The carbon budget in soil. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 29:535–62.
- **Baille, M (González - Real), Baille, A. 1993.** Greenhouse soilless crops in mediterranean countries: the need for a better environmental control. In *Environmental Constraints in Protected Cultivation. Possibilities for new growing techniques and crops*. 91-106. Ed. P.F. Martinez, EC- DG6, Rep. EUR 15123 EN
- **Barbaro, L. A., Mazzoni, A., Karlanian, M. A., Fernández, M. N. y Morisigue, D. E. 2014.** Cenizas del volcán Puyehue como sustrato para plantas. Congreso Argentino de Horticultura. 37. Encuentro de Docentes de Horticultura. 7. Jornadas de Floricultura. 15. Jornada de Semillas Hortícolas. Jornada de Fruticultura de Precisión. 2014 09 23-26, 23 a 26 de septiembre de 2014. Mendoza. AR.
- **Bonvissutto, G., Somlo, R.C., Lanciotti, M.L., González Carteau, A. y Busso, C., 2008.** Guías de condición para pastizales naturales de “Precordillera”, “Sierras y Mesetas” y “Monte Austral” de Patagonia. INTA EEA Bariloche–Global Environ. Facil. Patagon.
- **Bran, D. E., Ayesa, J. y López, C. 2000.** Regiones ecológicas de Río Negro. Laboratorio de Teledetección-SIG. INTA-EEA Bariloche. Informe Técnico.
- **Bran D. E., Gaitán, J. J., Ayesa, J. A. y López, C. R. 2004.** La vegetación de los mallines del Noroeste de la Patagonia. Comunicación técnica Área de Recursos Naturales. Relevamiento integrado, N°88. Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, INTA, 13 pp.
- **Bustos, J. C. 2006.** Características climáticas del campo anexo Pilcaniyeu (Río Negro). INTA EEA Bariloche. Serie Comunicaciones Técnicas, Área Recursos Natura-81 les. Agrometeorología N°25.

- **Bunge, M. A. 2017.** El planteamiento científico. Revista Cubana de Salud Pública 2017;43(3).
- **Cao, W. y Tibbitts, T. W. 1993.** Study of Various NH₄/NO₃ Mixtures for Enhancing Growth of Potatoes. *J. Plant Nutr.* 16: 1691-1704.
- **Challa, H., Van Straten, G. 1993.** Optimal diurnal Climate Control in Greenhouses as related to greenhouse management and crop requirements. . In *The Computerized Greenhouse*. 119-138, Hashimoto Ed., Academic Press, New York.
- **Chimner R. A., Bonvissuto G. L., Cremona M. V., Gaitan J. J. y Lopez C. R. 2011.** Ecohydrological conditions of wetlands along a precipitation gradient in Patagonia, Argentina. *Ecologia Austral* 21:329-337.
- **Cremona, M. V. y Enriquez, A. S. 2015.** Los mallines de Patagonia Norte: sus funciones productivas y ambientales. *Presencia* 63: 9-13.
- **Claussen, W. y Lenz, F. 1999.** Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry. *Plant and Soil* 208:95-102.
- **Del Valle, H. F., Elissalde, N. O., Gagliardini, D. A. y Milovich, J. 1998.** Status of desertification in the Patagonian region: assessment and mapping from satellite imagery. *Arid Land Research and Management*, 12:95-121.
- **Enriquez, A. S. 2015.** Dinámica de C y N en suelo y agua de mallines de Patagonia Norte y su relación por la degradación por pastoreo histórico intenso. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universitario Bariloche. 309 pp. **Enriquez, A. S. 2008.** Caracterización del reservorio de C (C) y nutrientes (N y P) en mallines del Norte de Patagonia, a lo largo de un gradiente de precipitaciones Oeste-Este. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universitario Bariloche. 81pp
- **Enriquez A.S y M.V. Cremona. 2017.** Particulate organic carbon is a sensitive indicator of soil degradation related to overgrazing in Patagonian wet and mesic meadows. *Wetlands Ecol Manage* DOI 10.1007/s11273-017-9577-4
- **Enriquez, A. S., Chimner, R., Diehl, P., Cremona, M. V. y Bonvissuto, G. L. 2015.** Historical overgrazing affects C sequestration of Northern Patagonia wet and mesic meadows. *Wetland Ecology and Management* 23:439-451.

- **Enriquez, A. S., Chimner, R. y Cremona, M. V. 2014.** Long-term grazing negatively affects nitrogen dynamics in Northern Patagonian wet meadows. *Journal of Arid Environment* 109:1-5.
- **Escobar, R. 2007.** Manual de viverización: *Eucalyptus globulus* a raíz cubierta. Instituto Forestal. INNOVA Chile – CORFO.
- **FAO. 2005.** Grassland of the world FAO Plant Production and Protection Series.
- **Failde, V. y Ramilo, D. 2006.** El desarrollo rural participativo como herramienta de lucha contra la desertificación INTA AER Seclantás, Salta, 12 pp.
- **Ferrando, A., y Francisco, J. 2003.** En torno a los desastres naturales: Tipología, conceptos y reflexiones. revista INVI, 18(47).
- **Filgeira, R. y Micucci, F. 2004.** Metodologías físicas para la investigación del suelo: penetrometría e infiltrometría. EDULP. La Plata, 180p.
- **García Correa, O., Alcántar, G., Cabrera, R. I., Gavi, F. y Volke, V. 2001.** Materiales orgánicos como sustratos para la producción de *Epiprenum aureum* y *Spathiphyllum wallisii* cultivadas en maceta. *Terra* 19(3): 249-258.
- **Gherardi, L. A, Sala, O. E. y Yahdjian, L. 2013.** Preference for different inorganic nitrogen forms among plant functional types and species of the Patagonian steppe. *Oecologia* 173:1075–1081.
- **Gigon, A. y Rorison, I. H. 1972.** The response of some ecologically distinct plant species to nitrate-and to ammonium-nitrogen. *The Journal of Ecology* 93-102.
- **Golluscio, R. A., Deregibus, V. A. y Paruelo, J. M. 1998.** Sustainability and range management in the Patagonian steppes *Ecología Austral*, 8:265-284
- **Hart, S. C., Stark, J. M., Davidson, E. A., & Firestone, M. K. 1994.** Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. *Methods of Soil Analysis: Part 2—Microbiological and Biochemical Properties*, (methodsofsoilan2), 985-1018.
- **Hillel, D. 1980.** Texture, particle size distribution, and specific surface. *Fundamentals of soil Physics*, 55-69.
- **Hulme, M. y Sheard, N. 1999.** Escenarios de Cambio Climático para Argentina, Unidad de Investigación Climática, Norwich, Reino Unido, 6pp.
- **Imas, P. 1999.** Manejo de nutrientes por fertirriego en sistemas frutihortícolas. In XXII Congreso Argentino de Horticultura. Argentina.

- **Iskander, R. 2002.** Manejo de sustratos para la producción de plantas ornamentales en maceta. Department of Horticultural Sciences. Texas University. Texas, USA.
- **Juárez Hernández, Ma. de J., Baca Castillo, G. A., Aceves Navarro, L. A., Sánchez García, P., Tirado Torres, J.L., Sahaún Castellanos, J., Colinas de León, M. T. 2006.** Propuesta para la formulación de soluciones nutritivas en estudios de nutrición vegetal. *Interciencia* Vol. 31 N°4: 246-253.
- **López Ritas, J. y López Mélida, J. 1990.** El diagnóstico de suelos y plantas (métodos de campo y laboratorio). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- **López A. 2018.** Variación genética y ecofisiológica de *Festuca pallescens* (Parodi) en relación a un gradiente pluviométrico en Patagonia Norte. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche.
- **Manabe, S. y Wetherald, R. T. 1987.** Large-scale changes of soil wetness induced by an increase in atmospheric carbon dioxide. *Journal of Atmospheric Science*, (April 1987), Vol.44, No.8, pp. 1211-1235, ISSN 0022-4928
- **Mengel, K. y Kirkby, E. A. 2001.** Principles of plant nutrition. 5° Edición. Kluwer Academic Publishers. Boston, London.
- **Núñez M. N., S.A. Solman y M. F. Cabré. 2008.** Regional climate change experiments over southern South America. II: Climate change scenarios in the late twenty-first century. *Climate Dynamics*. DOI 10.1007/s00382-008-0449-8
- **Núñez M. N., S. Solman, C. Menéndez, C.C.A. Rolla y M. F. Cabré. 2005.** Estimación de escenarios regionales de cambio climático mediante el uso de modelos climáticos regionales. 2da Comunicación Nacional de Cambio Climático. Proyecto GEF. BIRF PF 51286 AR. CIMA/CONICET B-9 Modelos Climáticos Regionales.
- **Paruelo, J. M., Beltran, A., Jobbagy, E., Sala O. E. y Golluscio, R. A. 1998.** The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic. *Ecol. Austral* 8:85-101.
- **Peri, P. 2012.** Carbon Storage in Cold Temperate En: Atazadeh (Edt). 2013 Biomass and Remote Sensing Biomass. Intech Press, Croatia
- **Prentice, I. C., Farquhar, G. D., Fasham, M. J. R., Goulden, M. L., Heimann, M., Jaramillo, V. J., Khashgi, H. S., LeQuéré, C., Scholes, R. J. Douglas y W. R. Wallace. 2001.** The Carbon Cycle and Atmospheric Carbon Dioxide. Cambridge University Press. 185-237 pp.

- **Richardson, J. L. y Vepraskas, M. J. 2001.** Wetlands Soils. Genesis, Hydrology, Landscapes and Classification. Lewis Publishers, CRC Press LLC, 417 pp.
- **Roosta, H. R., Sajjadinia, A., Rahimi, A. y Schjoerring, J. K. 2009.** Responses of cucumber plant to NH_4^+ and NO_3^- nutrition: The relative addition rate technique vs. cultivation at constant nitrogen concentration. Scientia Horticulturae 121: 397-403.
- **Solman S., M. N. Nuñez y M. F. Cabré. 2007.** "Climate change experiments over southern South America. I: Present climate. Climate Dynamics. Published online 5 September 2007. Print in Volume 30, Number 5, 2008.
- **Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Soltanpour, P. N., Tabatabai, M. A., Johnson, C. T. y Sumner, M.E. (Eds.). 1996.** Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series N° 5. SSSA, ASA, Madison, Wisconsin, EEUU.
- **Szporak-Wasilewskaa, S. , Piniewski, N., Kubrak, J. y Tomasz, O. 2015.** What we can learn from a wetland water balance? Narew National Park case study. Ecohydrology & Hydrobiology 15:136–149
- **Trejo Tréllez, L. I. y Gómez Merino, F.C. 2012.** Nutrient Solutions for Hydroponic Systems. Hydroponics - A Standard Methodology for Plant Biological Researches. Toshiki Asao. Chapter N°1.
- **Urrestarazu Gavilán, M. 2000.** Manual de cultivo sin suelo (No. 631.585 U7). Universidad de Almería.
- **Willis, B. 1914.** El Norte de la Patagonia. Naturaleza y Riqueza Tomo 1. Informe de la Comisión de Estudios Hidrológicos.