

Efecto de la fertilización con purín de cerdo en sistemas de doble cultivo en secanos subhúmedos del norte de Cataluña

Jonatan Ovejero García

TESIS DOCTORAL

Vic, diciembre de 2016

Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya

Efecto de la fertilización con purín de cerdo en sistemas de doble cultivo en secanos subhúmedos del noreste de Cataluña

Memoria de Tesis Doctoral presentada por **Jonatan Ovejero García** para optar al grado de Doctor por la Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya

Tesis realizada bajo la

dirección de:

Dra. Carme Casas Arcarons

y la codirección de:

Dr. Sergio Ponsá Salas

Programa de Doctorat en Ciències Experimentals i Tecnologies

Departament de Biociències - Centre Tecnològic BETA

Facultat de Ciències i Tecnologia

Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya

Vic, diciembre de 2016

«*Quod natura non dat, Salmantica non præstat*»

Proverbio latino

*Nuestras horas son minutos
cuando esperamos saber,
y siglos cuando sabemos
lo que se puede aprender.*

Antonio Machado

*El hombre que siente miedo sin peligro,
inventa el peligro para justificar su miedo.*

Johann Wolfgang von Goethe

*La vida es un toro y hay que torearlo,
si dejas que te embista puede hacerte daño.
Con mucha valentía tienes que lidiarlo,
cortarle las orejas y también el rabo.*

Manolo Escobar

*No existen más que dos reglas para escribir:
tener algo que decir y decirlo.*

Óscar Wilde

Agradecimientos

Esta tesis ha sido posible gracias al Departament d'Agricultura, Ramaderia Pesca i Alimentació de la Generalitat de Catalunya, que, desde su propuesta hace diez años, ha financiado el ensayo de campo que ha hecho posible la realización de la tesis aquí presentada. Agradecer, especialmente a Jaume Boixadera, su participación y soporte en el desarrollo del ensayo.

Quiero dar las gracias especialmente a mi directora de tesis Carme Casas por haberme aceptado para formar parte de una de sus líneas de investigación y por toda la ayuda y consejos recibidos para que esta tesis pudiera salir adelante. Siempre es bueno compartir con ella jornadas de campo y de despacho. “Moltes gràcies Carme”.

De manera muy especial, quería agradecer a Sergio Ponsá toda la confianza que depositó en mí desde que me conoció. Él fue, junto con Carme Casas, el primero que me abrió las puertas del Centro Tecnológico Beta. Agradecer enormemente su cálida acogida en el entorno laboral y su disposición a la hora de preparar actividades en grupo para todos los miembros del Beta. De igual forma, agradecer su amistad en el entorno personal durante los “after works” que realizamos como buenos “Vigatans d'adopció”.

Llenaría otras 200 páginas si tengo que agradecer todo lo que Jaume Lloveras hizo para que pudiera leer esta tesis. En primer lugar, me ayudó enormemente cuando más lo necesitaba y puso la confianza en mí para que pudiera continuar con mi carrera investigadora. Nunca lo olvidaré. Inmensamente agradecido por sus aportes científicos en la corrección de los capítulos que conforman esta tesis y su ayuda personal en todo lo relacionado con ello.

Agradecerle de la manera más sincera y afectiva a Carlos Cortés su confianza y apoyo que depositó en mí. Sus sabios consejos me ayudaron mucho. Nunca olvidaré todas las

veces que me dijo “no te preocupes que te va a dar igual”. ¡Cuánta razón llevaba!. Siempre tendré presente los buenos momentos que hemos pasado juntos.

A los miembros de la oficina de fertilización del DARP, Gemma Murillo, Elena Puigpinós, Jordi Tugues, Carlos Ortiz y Albert Pinyol por su colaboración en la consecución y desarrollo del plan de trabajo asociado con el ensayo del “Camp de Torelló”. Además, a Carlos Ortiz le agradezco, sus aportaciones en la revisión de algunos capítulos.

A los compañeros del Grupo de Recerca BETA, Joan, Carlota, Laia, Albert, Belén, Eli, Jorge, Mustafá, Nagore, Carmen, Ester, Mercè ...por todas las jornadas de trabajo que he pasado con ellos y por haber contribuido a la creación de un ambiente laboral extraordinario. Agradecer a Xevi Serra y a Anna Busquets su inestimable ayuda en todo lo relacionado con la gestión y trabajo de campo y de laboratorio durante estos años.

En general, a todas las personas con las que tuve la suerte de coincidir durante la realización del doctorado, que ayudaron a que esta etapa de mi vida fuera inolvidable, y que, sin duda, perdurará en mi retina.

No podría por menos que dedicar un espacio a mis padres y a mis hermanos Javi, Rubén y Héctor por el tiempo dedicado en animarme y apoyarme desde la lejanía, para que llegara hasta el final, sin su apoyo emocional esto no hubiera sido posible.

A la” Muy Leal”, “Muy Noble” y “Liberal y Heroica” ciudad de Béjar por ser donde nací y pasé los primeros años de mi vida. Al pueblo de Cabezabellosa, el más bonito de la zona donde hace un tiempo vivieron los vetones, por ser donde están mis orígenes. A la ciudad de Salamanca por ser dónde está mi *alma mater* y por ser la ciudad más bonita que jamás he visto.

Y como no, a mi novia Carmen, con la que llevo siete años compartiendo penas, alegrías y todos los buenos momentos que tiene la vida. Gracias por tu esfuerzo, dedicación y paciencia que has tenido a lo largo de estos años. Sé que para ti también ha sido duro, siempre me has animado a tirar hacia delante para que lo pudiera conseguir, y al final llegó la recompensa. “No hay plazo que no llegue, ni deuda que no se pague”. Gracias por hacerme mejor persona...”to be continued”.

Y por último a mí, porque le eché dos...eso que le ponen los toreros fuertes, valientes y perseverantes para salir por la puerta grande. Siempre podré decir que yo también salí, por lo menos una vez, por ella.

Esta tesis doctoral se ha realizado gracias a una Beca de Formación del Personal Investigador (FPI) del Ministerio de Economía y Competitividad (BES-2011-048090).

Resumen

La producción intensiva de cerdos se ha desarrollado significativamente en muchas áreas de Europa en las últimas décadas. En estas zonas se genera gran cantidad de deyecciones ganaderas que pueden ser utilizadas directamente como fertilizante orgánico para los cultivos. Una inadecuada gestión de los purines, puede generar problemas medioambientales, tales como contaminación de las aguas freáticas por la lixiviación de nitratos, debido a un exceso de la fertilización nitrogenada. Conscientes de esta problemática, la Directiva de nitratos de 1991, no permite que la cantidad de deyecciones animales aplicadas al suelo supere los $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ en zonas declaradas vulnerables a la contaminación por nitratos. La fertilización mineral, sobre todo la nitrogenada, representa una fracción significativa del coste total de la producción de los cultivos. Por ello, la alta concentración de las explotaciones porcinas en el noreste de España permite que la utilización de purines sea una estrategia de fertilización atractiva para reducir los costes de producción. Con el fin de investigar los efectos de la fertilización nitrogenada con purín de cerdo en rotaciones de doble cultivo anual se llevó a cabo un ensayo de campo desde 2006 hasta 2015 en la comarca de Osona (Cataluña) bajo condiciones mediterráneas subhúmedas de secano. Desde 2006 hasta 2012, se llevó a cabo una rotación de maíz y triticale, y desde 2012 hasta 2015, de cebada y sorgo. El objetivo fue evaluar los efectos en el rendimiento, en la extracción del N, en las pérdidas de N, en el contenido en NO_3^- -N del suelo y en la calidad forrajera de los diferentes cultivos de cada rotación. Además, durante la campaña 2014-2015 se cuantificaron las pérdidas por volatilización de NH_3 -N después de la aplicación de purín en fondo y cobertera. Se realizaron cuatro tratamientos de fertilización con purín de cerdo con las siguientes dosis: 0, 170, 250 y $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Los resultados sugieren que, bajo nuestras condiciones, la aplicación de N, en forma de purín de cerdo, con dosis superiores a los $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ permitidos por la Directiva de nitratos, mejora tanto la producción obtenida por el sistema de doble cultivo, como la calidad del forraje en cuanto al contenido en proteína. Sin embargo, la aplicación de estas dosis origina mayores pérdidas de N, bien por lixiviación de nitratos y volatilización o bien por inmovilización del N de la materia orgánica del purín aplicado. Las pérdidas de NH_3 -N en la aplicación de fondo y cobertera fueron un 35 y 22%, respectivamente, del N total aplicado, teniendo lugar mayoritariamente durante las primeras 24 horas posteriores a la aplicación

Resum

La producció intensiva de porcs s'ha desenvolupat significativament en moltes àrees d'Europa en les últimes dècades. En aquestes zones es generen gran quantitat de dejeccions ramaderes que poden ser utilitzades directament com a fertilitzant orgànic per als cultius. Una gestió inadequada dels purins, pot generar un problema mediambiental, tal com la contaminació de les aigües freàtiques per la lixiviació de nitrats, a causa d'un excés de la fertilització nitrogenada. Conscients d'aquesta problemàtica, la Directiva de nitrats de 1991, no permet que la quantitat de dejeccions animals aplicades al sòl superi els $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ any}^{-1}$ en zones declarades vulnerables a la contaminació per nitrats. La fertilització mineral, sobretot la nitrogenada, representa una fracció significativa del cost total de la producció dels cultius. Per això, l'alta concentració de les explotacions porcines al nord-est d'Espanya permet que la utilització de purins sigui una estratègia de fertilització atractiva per reduir els costos de producció. Per tal d'investigar els efectes de la fertilització nitrogenada amb purí de porc en rotacions de doble cultiu anual es va dur a terme un assaig de camp des de 2006 fins a 2015 en la comarca d'Osona (Catalunya) en condicions mediterrànies subhúmedes de secà. Des de 2006 fins a 2012, es va dur a terme una rotació de blat de moro i triticale, i des de 2012 fins al 2015, d'ordi i sorgo. L'objectiu va ser avaluar els efectes en el rendiment, en l'extracció del N, en les pèrdues de N, en el contingut en NO_3^- -N del sòl i en la qualitat farratgera dels diferents cultius de cada rotació. A més, durant la campanya 2014-2015 es van quantificar les pèrdues per volatilització de NH_3 -N després de l'aplicació de purins en fons i cobertora. Es van realitzar quatre tractaments de fertilització amb purins de porc amb les següents dosis: 0, 170, 250 i 330 $\text{kg N ha}^{-1} \text{ any}^{-1}$. Els resultats suggereixen que, sota les nostres condicions, l'aplicació de N, en forma de purí de porc, amb dosis superiors als $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ any}^{-1}$ permesos per la Directiva de nitrats, millora tant la producció obtinguda pel sistema de doble cultiu, com la qualitat del farratge pel que fa al contingut en proteïna. No obstant això, l'aplicació d'aquestes altes dosis origina majors pèrdues de N, bé per lixiviació de nitrats i volatilització o bé per immobilització del N de la matèria orgànica del purí aplicat. Les pèrdues de NH_3 -N a l'aplicació de fons i cobertora van ser un 35 i 22%, respectivament, del N total aplicat, tenint lloc majoritàriament durant les primeres 24 hores posteriors a l'aplicació.

Abstract

Intensive pig production has developed significantly in many areas of Europe in the most recent decades. In these areas, large quantities of livestock slurries are generated and can be used directly as organic fertilizer for the crops. An inadequate management of the slurries can lead to environmental problems such as contamination of the groundwater by nitrate leaching due to the over-application of N. Aware of this problem, the Nitrates Directive 1991 does not allow the quantity of livestock manure applied to the soil to exceed $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ in Nitrates Vulnerable Zones. Mineral fertilization, especially nitrogen fertilization, represents a significant fraction of the total cost of crop production. Therefore, the high concentration of pig farms in the Northeastern Spain allows the use of slurry is an attractive fertilization strategy to reduce production costs. In order to investigate the effects of nitrogen fertilization in the form of pig slurry on double-annual cropping rotation, a field trial was carried out from 2006 to 2015 in the region of Osona (Catalonia) under rainfed sub-humid Mediterranean conditions. A maize-triticale rotation was carried out from 2006 to 2012, and barley-sorghum from 2012 to 2015. The aim was to evaluate the effects on yield, N uptake, N losses, soil NO_3^- -N content and forage quality of the different crops of each rotation. In addition, during the 2014-2015 season, volatilization losses of NH_3 -N were quantified after the application of pig slurry at sowing and side-dressing. Four pig slurry fertilization treatments were applied with the following doses: 0, 170, 250 and $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$. The results suggest that, under our conditions, the application of N, in the form of PS, at rates higher than the $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ of organic fertilizer allowed by the Nitrates Directive, improves both the yield obtained by the double cropping system and the forage quality in terms of protein content. However, the application of these high doses causes greater losses of N, either by leaching of nitrates and volatilization or by the N immobilization of the organic matter of the pig slurry applied. NH_3 -N losses at sowing and side-dressing were 35 and 22% respectively of the total N applied, taking place mostly during the first 24 hours after application.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	VII
Resumen.....	XI
Resum.....	XII
Abstract	XIII
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Hipótesis de partida, objetivos y estructura de la tesis	6
Referencias.....	8
CAPÍTULO 1	11
<i>PIG SLURRY FERTILIZATION IN A DOUBLE-ANNUAL CROPPING FORAGE SYSTEM UNDER SUB-HUMID MEDITERRANEAN CONDITIONS.....</i>	11
1. Introduction	15
2. Materials and methods	18
2.1 Experimental site.....	18
2.2 Experimental design.....	19
2.3 Cropping system.....	21
2.4 Analysis of plants and soil samples	22
2.5 Unrecovered N	22
2.6 Nitrogen efficiency	23
2.7 Statistical analysis.....	23
3. Results	24
3.1 Weather conditions during the experimental period	24
3.2 Crop yield	25
3.3 N uptake	26
3.4 Soil NO ₃ ⁻ -N content	29
3.5 Unrecovered N	31
3.6 N efficiency.....	33
4. Discussion.....	36
4.1 Crop yield and N uptake.....	36
4.2 Soil NO ₃ ⁻ -N content	38
4.3 Unrecovered N and N efficiency	39
5. Conclusions	42
6. References.....	43
CAPÍTULO 2	51

<i>EFFECTS OF PIG SLURRY FERTILIZATION ON FORAGE YIELD AND QUALITY IN A DOUBLE CROPPING SYSTEM</i>	51
1. Introduction	55
2. Material and methods.....	57
2.1 Experimental site and crop management.....	57
2.2 Experimental design.....	60
2.3 Slurry, soil and plant analysis.	61
2.4 Statistical analysis.....	63
3. Results	64
3.1 DM yield	64
3.2 Forage quality parameters.....	67
3.3 Mineral element concentrations.....	68
3.4 Soil NO ₃ ⁻ -N content	70
3.5 Nitrogen use efficiency.....	72
4. Discussion.....	73
4.1 DM yield and N use efficiency.....	73
4.2 Forage quality parameters	75
4.3 Mineral element concentrations.....	77
5. Conclusions	78
6. References.....	78
CAPÍTULO 3	89
<i>EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN CON PURÍN DE CERDO EN UN DOBLE CULTIVO ANUAL DE CEBADA Y SORGO EN CONDICIONES SUBHÚMEDAS MEDITERRÁNEAS</i>	89
1. Introducción	92
2. Material y métodos	94
2.1 Localización del experimento.....	94
2.2 Diseño experimental	95
2.3 Manejo del cultivo.....	96
2.4 Análisis de purín, suelo y planta.....	97
2.5 Pérdidas de N	99
2.6 Eficiencia en el uso del nitrógeno	100
2.7 Análisis estadístico	101
3. Resultados	101
3.1 Condiciones climáticas durante el periodo experimental.....	101
3.2 Rendimiento de los cultivos	103

3.3 Extracción de N por los cultivos	106
3.4 Contenido de NO ₃ ⁻ -N en el suelo.....	107
3.5 Pérdidas de N	108
3.6 Eficiencia en el uso del N.....	109
3.7 Calidad forrajera.....	109
4. Discusión	112
4.1 Rendimiento y extracción de N del cultivo	112
4.2 Contenido de NO ₃ ⁻ -N en el suelo, pérdidas de N y eficiencia en el uso del N.....	114
4.3 Calidad forrajera.....	116
5. Conclusiones.....	117
6. Referencias.....	118
CAPÍTULO 4	125
<i>LA VOLATILIZACIÓN DE AMONIACO TRAS LA FERTILIZACIÓN CON PURÍN DE CERDO EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS</i>	<i>125</i>
1. Introducción	128
2. Material and métodos.....	131
2.1 Localización del experimento.....	131
2.2 Diseño experimental	132
2.3 Análisis de purín y humedad del suelo.....	133
2.4 Estimación de la volatilización de NH ₃	133
2.5 Muestreo y proceso de extracción del NH ₃	135
2.6 Análisis estadístico	135
3. Resultados y discusión	135
3.1 Efecto de la aplicación con purín de cerdo en cobertera en la volatilización de NH ₃	137
3.2 Efecto de la aplicación con purín de cerdo en fondo en la volatilización de NH ₃	138
4. Conclusiones.....	142
5. Referencias.....	142
DISCUSIÓN GENERAL.....	151
Referencias.....	156
CONCLUSIONES GENERALES	161

INTRODUCCIÓN GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los problemas medioambientales derivados del nitrógeno y la lixiviación de los nitratos se suelen asociar a zonas de ganadería intensiva, principalmente porcina. El aumento de la dimensión media de las explotaciones y la elevada concentración territorial de las mismas, ha generado un problema medioambiental debido fundamentalmente al incremento en la concentración de nitratos en las aguas freáticas. Los países de la EU-28 con alta densidad ganadera, se caracterizan porque todos tienen problemas localizados de exceso de nutrientes que repercuten en la calidad de las aguas. Fruto de esta preocupación medioambiental, se han publicado diversas normativas de ámbito comunitario, nacional y autonómico. Todas ellas focalizan e insisten en el control de los aportes nitrogenados a sistemas agrícolas tanto en forma orgánica como mineral.

La directiva europea que incide más directamente sobre la problemática medioambiental generada por las explotaciones porcinas es la Directiva de nitratos (EEC, 1991). Según esta normativa, cada Estado miembro debe identificar en su territorio las aguas afectadas por este tipo de contaminación, o las que puedan llegar a estarlo, y declararlas como Zonas Vulnerables a la contaminación por Nitratos (ZVN).

En Cataluña, las zonas de producción de porcino intensivo que han sido declaradas como ZVN se concentran en algunas áreas geográficas concretas, que, a su vez, normalmente coinciden con las zonas de producción agrícola (Figura 1). Algunas de las zonas vulnerables como la 3 (Osona) y la 6 (Noguera, Segarra, Urgell, Pla del Urgell, Segriá) cuentan con una elevada concentración de ganadería porcina. En estas zonas se genera gran cantidad de deyecciones ganaderas que se mezclan con las aguas de la limpieza de las instalaciones incrementando el volumen del residuo. El subproducto resultante tiene un contenido importante de nutrientes que puede ser usado directamente como fertilizante orgánico para los cultivos.

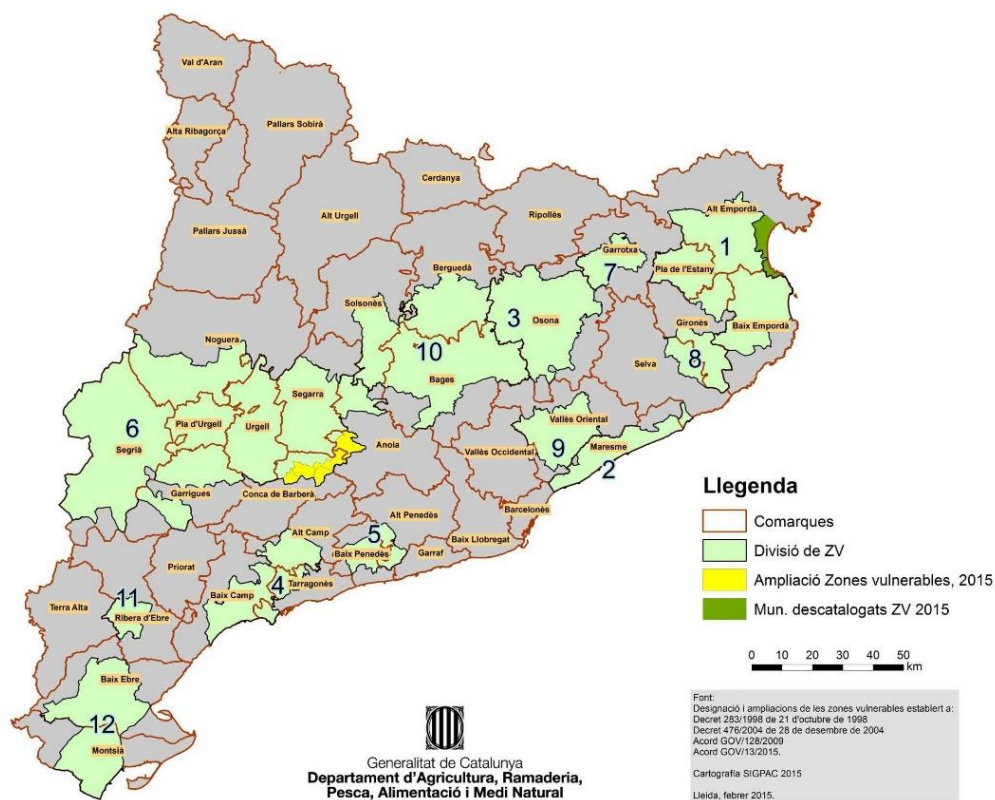


Figura 1. Distribución de las áreas donde se agrupan las zonas designadas vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario.

En algunas comarcas, tales como la de Osona, el volumen de nutrientes de las deyecciones supera la capacidad que tiene el sistema agrícola para reciclarlos adecuadamente, lo que conlleva a estas comarcas a tener un considerable excedente de N. Para evitar problemas ambientales derivados de este excedente es necesario optimizar la fertilización nitrogenada con purín de cerdo en los cultivos. Osona es una comarca con una elevada actividad ganadera donde el destino más económico y natural de las deyecciones generadas es la aplicación agrícola como fertilizante. Por otra parte, en algunas explotaciones, es habitual la práctica del doble cultivo anual, combinando un cereal de invierno (cebada, trigo y triticale) y un cereal de verano (maíz, el sorgo o el mijo). Habitualmente se trata de cultivos forrajeros que son utilizados como alimento para el ganado de las explotaciones de la zona. Dado el carácter singular que tienen estas

explotaciones, es necesario llevar a cabo un correcto plan de fertilización, principalmente con el nitrógeno proveniente del purín de cerdo. La elevada disponibilidad de purín en esta comarca, conlleva a que su uso como fertilizante orgánico sea rentable económicamente, lo que provoca que la fertilización mineral sea muy poco utilizada.

Varios estudios en diferentes áreas han demostrado que las aplicaciones con purín de cerdo pueden lograr rendimientos satisfactorios en los cultivos, reemplazando parcial o totalmente los fertilizantes minerales (Zebarth et al., 1996; Jensen et al., 2000). Numerosos estudios se han realizado sobre los efectos del fertilizante nitrogenado orgánico o mineral bajo condiciones climáticas mediterráneas en maíz de regadío (Biau et al., 2012; Trindade et al., 2009; Perego et al., 2013), mientras que otros se han concentrado en cereales de invierno bajo condiciones semiáridas en secano (Hernández et al., 2013; Bosch-Serra et al., 2015). Los estudios sobre los efectos de la fertilización del N en los sistemas de doble cultivo se han publicado principalmente utilizando fertilizantes minerales (Hartmann et al., 2014; Shang et al., 2014). Sin embargo, son menos numerosos los estudios que hayan analizado el efecto de la fertilización orgánica en sistemas de doble cultivo en condiciones mediterráneas. En esta línea, recientemente se han publicado artículos en Italia en condiciones mediterráneas de regadío (Tomasoni et al., 2011; Giola et al., 2012; Cavalli et al., 2016; Demurtas et al., 2016) y en un secano húmedo del NE de España (Perramon et al., 2016).

Por otro lado, la dosis de aplicación de fertilizante nitrogenado necesaria para maximizar tanto el rendimiento como el valor nutritivo del forraje de los cultivos están bien documentadas en la literatura (Rostamza et al., 2011; Restelatto et al., 2014). Sin embargo, los resultados publicados son inconsistentes debido a la discrepancia en los resultados obtenidos por los diversos autores, sobre los efectos de la fertilización en las concentraciones de proteína bruta y fibra fundamentalmente. Min et al. (2002) publicó

que la aplicación de N con dosis altas aumentó la concentración de proteína bruta, pero el contenido en fibra no se vio afectado. Otros autores concluyeron que, la concentración de fibra disminuyó con el aumento de la dosis de fertilización nitrogenada (Adeli et al., 2005), sin embargo, Belanger y McQueen (1998) observaron un aumento en la concentración de fibra con el aumento de la fertilización con N. Otros investigadores observaron que el aumento de la fertilización nitrogenada no tuvo casi ningún efecto sobre las concentraciones de fibra (Cuomo y Anderson, 1996). En zonas mediterráneas, varios autores han analizado los efectos de los fertilizantes nitrogenados sobre la producción y la calidad del forraje principalmente en el maíz (Carpici et al., 2010), siendo la información escasa en la literatura en el caso de sistemas de doble cultivo (Tomasoni et al., 2011).

Hipótesis de partida, objetivos y estructura de la tesis

La Directiva de nitratos 91/676/CEE no permite que la cantidad de deyecciones animales aplicadas al suelo en ZVN supere los $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Además, permite que los Estados miembros puedan establecer excepciones respecto a este límite. Las situaciones para poder solicitar la derogación incluyen rotaciones de cultivos con ciclos largos en los que se evite el suelo desnudo, cultivos con alta absorción de N o suelos con alta capacidad de desnitrificación. De hecho, la UE ha permitido derogar la Directiva en algunas regiones o países en los cuales se daba alguna de las situaciones planteadas (Holanda, Alemania, Irlanda, Irlanda del Norte, región de Flandes y diversas regiones de Italia) y se permite la aplicación de hasta un máximo de $250 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de origen orgánico.

La hipótesis de partida de este estudio es que el límite de $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de fertilizantes orgánicos puede ser adecuado si sólo se realiza un cultivo al año, ya sea un cereal de invierno o de verano. Sin embargo, en ZVN con alta densidad ganadera, cuando

se establece una rotación forrajera de doble cultivo anual, aumenta la demanda de N y este límite puede provocar un déficit en el adecuado suministro de nutrientes a los cultivos. Por lo tanto, en estos sistemas agrícolas, debería ser posible superar el umbral de la cantidad fijada por la Directiva europea, manteniendo una alta productividad y minimizando el impacto ambiental en las aguas subterráneas.

Con el fin de validar dicha hipótesis, el objetivo general de la presente Tesis Doctoral es evaluar la respuesta a la fertilización nitrogenada, en forma orgánica con purín de cerdo, en una rotación de doble cultivo anual en condiciones subhúmedas mediterráneas. Con este trabajo se pretende identificar aquellas prácticas de fertilización que garanticen la sostenibilidad ambiental, sin menoscabo de la productividad, de los sistemas agrícolas propios de la Cataluña central, concretamente de la comarca de Osona.

Para alcanzar el objetivo general se plantean los siguientes objetivos específicos:

- i. Evaluar los efectos de diferentes dosis de fertilización nitrogenada con purín de cerdo en la productividad, en la absorción de nitrógeno y en el contenido en NO_3^- -N del suelo en cada cultivo y en diferentes rotaciones.
- ii. Establecer la dosis de fertilización óptima teniendo en cuenta el balance de N global en sistemas de doble cultivo anual.
- iii. Evaluar la eficiencia del N en los sistemas de doble cultivo en condiciones subhúmedas mediterráneas propios de los secanos del norte de Cataluña.
- iv. Comparar el efecto de diferentes dosis de fertilización nitrogenada con purín de cerdo en la calidad forrajera de los cultivos.
- v. Cuantificar las pérdidas por volatilización de NH_3 -N durante los días posteriores a la aplicación de purín de cerdo.

El presente documento se compone de cuatro capítulos elaborados en formato de artículo científico. Por esta razón algunas de las partes de material y métodos y de la

bibliografía pueden contener cierto grado de repetición. En el momento de la redacción de esta Memoria de Tesis Doctoral, el capítulo 1 ha sido publicado en “European Journal of Agronomy” (Ovejero et al., 2016), el capítulo 2 se encuentra en fase de revisión y los capítulos 3 y 4 están en fase de preparación.

Referencias

- Adeli, A., Varco, J.J., Sistani, K.R., Rowe, D.E., 2005. Effects of swine lagoon effluent relative to commercial fertilizer applications on warm-season forage nutritive value. *Agron. J.* 97, 408-417.
- Belanger, G., McQueen, R.E., 1998. Analysis of the nutritive value of timothy grown with varying N nutrition. *Grass Forage Sci.* 53, 109-119.
- Biau, A., Santiveri, F., Mijangos, I., Lloveras, J., 2012. The impact of organic and mineral fertilizers on soil quality parameters and the productivity of irrigated maizecrops in semiarid regions. *Eur. J. Soil Biol.* 53, 56-61.
- Bosch-Serra, A.D., Ortiz, C., Yagüe, M.R., Boixadera, J., 2015. Strategies to optimize nitrogen efficiency when fertilizing with pig slurries in dryland agricultural systems. *Eur. J. Agron.* 67, 27-36.
- Carpici, E.B., Celik, N., Bayram, G., 2010. Yield and quality of forage maize as influenced by plant density and nitrogen rate. *Turk. J. Field Crop.* 15, 128-132.
- Cavalli, D., Cabassi, G., Borrelli, L., Geromel, G., Bechini, L., Degano, L., Marino Gallina, P., 2016. Nitrogen fertilizer replacement value of undigested liquid cattle manure and digestates. *Eur. J. Agron.* 73, 34-41.
- Cuomo, G.J., Anderson, B.E., 1996. Nitrogen fertilization and burning effects on rumen protein degradation and nutritive value of native grasses. *Agron. J.* 88, 439-442.
- Demurtas, C.E., Seddaiu, G., Ledda, L., Cappai, C., Doro, L., Carletti, A., Roggero, P.P., 2016. Replacing organic with mineral N fertilization does not reduce nitrate leaching

- in double crop forage systems under Mediterranean conditions. *Agric. Ecosyst. Environ.* 44, 78-86.
- EEC, 1991. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. *Off. J. Eur. Commun.* 91/676/EEC.
- Giola, P., Basso, B., Pruneddu, G., Giunta, F., Jones, J.W., 2012. Impact of manure and slurry applications on soil nitrate in a maize–triticale rotation: field study and long term simulation analysis. *Eur. J. Agron.* 38, 43-53.
- Hartmann, T.E., Yue, S., Schulz, R., Chen, X., Zhang, F., Müller, T., 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize – wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Res.* 160, 22-30.
- Hernández, D., Polo, A., Plaza, C., 2013. Long-term effects of pig slurry on barley yield and N use efficiency under semiarid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 44, 78-86.
- Jensen, L.S., Pedersen, I.S., Hansen, T.B., Nielsen, N.E., 2000. Turnover and fate of ¹⁵N-labelled cattle slurry ammonium–N applied in the autumn to winter wheat. *Eur. J. Agron.* 12, 23-35.
- Min, D.H., Vough, L.R., Reeves, J.B., 2002. Dairy slurry effects on forage quality of orchardgrass, reed canarygrass, and alfalfa-grass mixtures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95, 143-157.
- Ovejero, J., Ortiz, C., Boixadera, J., Serra, X., Ponsá, S., Lloveras, J., Casas, C., 2016. Pig slurry fertilization in a double-annual cropping forage system under sub-humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 81, 138-149.
- Perego, A., Giussani, A., Fumagalli, M., Sanna, M., Chiodini, M., Carozzi, M., Alfieri, L., Brenna, S., Acutis, M., 2013. Crop rotation, fertilizer types and application

- timing affecting nitrogen leaching in nitrate vulnerable zones in Po Valley. *Ital. J. Agrometeorol.* 18, 39-50.
- Perramon, B., Bosch-Serra, A.D., Domingo, F., Boixadera, J., 2016. Organic and mineral fertilization management improvements to a double-annual cropping system under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 76, 28-40.
- Restelatto, R., Pavinato, P.S., Sartor, L.R., Paixão, S.J., 2014. Production and nutritional value of sorghum and black oat forages under nitrogen fertilization. *Grass Forage Sci.* 68, 1-12.
- Rostamza, M., Chaichi, M.R., Jahansouz, M.R., Alimadadi, A., 2011. Forage quality, water use and nitrogen utilization efficiencies of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) grown under different soil moisture and nitrogen levels. *Agric. Water Manage.* 98, 1607-1614.
- Shang, Q., Gao, C., Yang, X., Wu, P., Ling, N., Shen, Q., Guo, S., 2014. Ammonia volatilization in Chinese double rice-cropping systems: a 3-year field measurement in long-term fertilizer experiments. *Biol. Fertil. Soils* 50, 715-725.
- Tomasoni, C., Borrelli, L., Ceotto, E., 2011. Effect of integrated forage rotation and manure management on yield, nutrient balance and soil organic matter. *Ital. J. Agron.* 6, 55-60.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2009. Effects of different rates and timing of application of nitrogen as slurry and mineral fertilizer on yield of herbage and nitrate-leaching potential of a maize/Italian ryegrass cropping system in north-west Portugal. *Grass Forage Sci.* 64, 2-11.
- Zebarth, B.J., Paul, J.V., Schmidt, O., McDougall, R., 1996. Influence of the time and rate of liquid-manure application on yield and nitrogen utilization of silage corn in south coastal British Columbia. *Can. J. Soil Sci.* 76, 153-164.

CAPÍTULO 1

*PIG SLURRY FERTILIZATION IN A DOUBLE-ANNUAL CROPPING FORAGE
SYSTEM UNDER SUB-HUMID MEDITERRANEAN CONDITIONS*

CAPÍTULO 1

PIG SLURRY FERTILIZATION IN A DOUBLE-ANNUAL CROPPING FORAGE SYSTEM UNDER SUB-HUMID MEDITERRANEAN CONDITIONS

Los resultados que se presentan en este capítulo han sido incluidos en la siguiente publicación científica: **Ovejero, J., Ortiz, C., Boixadera, J., Serra, X., Ponsá, S., Lloveras, J., Casas, C., 2016. *European Journal of Agronomy*. 81, 138-149.**

Keywords: Double cropping, N fertilization, maize, soil NO₃⁻-N, pig slurry, triticale.

Abbreviations:

DM: dry matter

PS: pig slurry

NVZs: nitrate vulnerable zones

ANRF: apparent nitrogen recovery fraction

ANE: agronomic nitrogen efficiency

RESUMEN

En las zonas del sur de Europa con una elevada producción intensiva de cerdos, la mayor parte del purín se aplica como fertilizante. Sin embargo, en la Unión Europea, no se pueden aplicar más de 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ provenientes de deyecciones animales en las zonas declaradas vulnerables a la contaminación por nitratos. En este contexto, se llevó a cabo un ensayo de seis años con una rotación de doble cultivo anual de maíz y triticale bajo condiciones de secano. Se aplicaron cuatro dosis diferentes de N (0, 170, 250 y 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹), en forma de purín de cerdo, para evaluar su efecto sobre el rendimiento de los cultivos, la extracción de N, el N no recuperado y el contenido de NO₃⁻-N en el suelo. El rendimiento de materia seca de maíz fue influenciado principalmente por las condiciones climáticas, y el rendimiento de materia seca de triticale estuvo claramente

influenciado por la dosis de fertilización y el contenido inicial de NO_3^- -N en el suelo. El N no recuperado se vio afectado por la dosis de fertilización y el contenido inicial de NO_3^- -N en el suelo. Cuando se aplicó el purín en el maíz, el efecto residual afectó al contenido de NO_3^- -N en el suelo y al posterior rendimiento de materia seca del triticale. Por otro lado, la media anual total del N no recuperado, considerando la suma de ambos cultivos (maíz + triticale), fue de 91, 144 y 222 kg N ha^{-1} en las dosis 170, 250 y 330 kg N ha^{-1} , respectivamente. Con el fin de evitar parte de este N no recuperado, principalmente por lixiviación de nitratos, la fertilización de purín en triticale se debería aplicar en cobertera durante el ahijamiento. La aplicación de N, en forma de purín de cerdo, a dosis superiores al máximo permitido legalmente de 170 kg N ha^{-1} año^{-1} , resulta en mejores rendimientos. Sin embargo, las dosis altas de fertilización con purín pueden originar una eficiencia del uso del N significativamente menor y un mayor impacto ambiental en sistemas de doble cultivo, practicados en condiciones mediterráneas subhúmedas de secano.

ABSTRACT

In areas of Southern Europe with very intensive pig production, most of the pig slurry (PS) is applied as fertilizer. However, in the European Union, no more than 170 kg N ha^{-1} year^{-1} can be applied in nitrate vulnerable zones (NVZs) from livestock manures. In this context, a six-year trial was conducted for a maize-triticale double-annual forage cropping rotation under rainfed conditions. Four different N rates were applied (0, 170, 250 and 330 kg N ha^{-1} year^{-1}), to evaluate their effect on crop yield, N uptake, unrecovered N and soil nitrate content. The corresponding PS rates were defined as zero (PS 0), low (PSL) medium (PSM) and high (PSH). The annual average dry matter (DM) yields (maize + triticale) for the PS fertilization treatments PS0, PSL, PSM and PSH were 12.6, 17.7, 20.2 and 22.0 Mg DM ha^{-1} , respectively. Maize DM yield was influenced mainly by weather conditions, and triticale DM yield was clearly influenced by initial soil NO_3^- -N

and PS fertilization rates. Unrecovered N was affected by PS fertilization rate and initial soil NO_3^- -N content. A residual effect of the PS when applied to maize had an important effect on soil NO_3^- -N and subsequent triticale DM yield. Moreover, total annual average unrecovered N, considering the sum of both crops (maize + triticale), were 91, 144, and 222 kg N ha⁻¹ in PSL, PSM and PSH, respectively. In order to avoid part of this unrecovered N, mainly by lixiviation of nitrates, PS fertilization in triticale should be applied as side dressing at tillering. The application of N, in the form of PS, at rates higher than the legally permitted maximum of 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹, may result in better yields. However, high rates of PS fertilization may originate in significantly lower N use efficiency and a higher potential environmental impact in double-cropping systems, practiced in rainfed sub-humid Mediterranean conditions.

1. Introduction

Intensive swine production is an important agricultural and economic activity in many areas of Europe. Spain is the second largest European country in pig production after Germany, with approximately 26 million head which represents about 20% of total European production (Eurostat, 2013). Approximately 49% of the total Spanish pig herd is concentrated in the North East (NE) part of Spain (MAGRAMA, 2013).

The land application of pig slurry (PS) is a low-cost method of disposal and most PS is applied as fertilizer in agriculture (Yagüe and Quílez, 2010a). However, the total amount of nitrogen (N) applied to soil when disposing of PS normally exceeds a crop's N requirements, and any excess may be leached through drainage (Yagüe and Quílez, 2010a) and surface runoff.

Application of PS, and often the over-application of N, can lead to environmental problems such as contamination of the water and soils in nitrate sensitive areas (Ramos

et al., 2002; Gollany et al., 2004). Aware of these problems, the European Commission (EC) developed and implemented the Nitrates Directive 91/676 (EEC, 1991), which determined the establishment of Nitrates Vulnerable Zones (NVZs). In these areas, farming practices are restricted by limiting to a maximum of 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹ the application of N from livestock manures and slurries. Optimization of N fertilization with PS in these NVZs is therefore important to avoid nitrate losses by lixiviation and to achieve maximum efficiency in N absorption by crops.

A double-cropping forage strategy (summer crop - winter crop) has been increasingly applied in the NE of Spain during recent years. A summer crop (sorghum or maize) is grown from June to October, and in November a winter cereal such as barley or triticale is subsequently sown as in other forage production areas (Lloveras, 1987; Trindade et al., 2001; Monaco et al., 2008). The typical methodology for PS fertilization in these areas has been the direct use of PS in the soil before summer and winter cereal crop sowing. Mineral N fertilizer alone is seldom applied due to the considerable amounts of PS available in this region.

Many studies in different areas have shown that PS applications can achieve satisfactory yields in different crops by partially or completely replacing mineral fertilizers, depending on crop, soil, and climate characteristics (Zebarth et al., 1996; Jensen et al., 2000; Berenguer et al., 2008; Yagié and Quílez, 2010a). However, a consistent fraction of N applied with PS could be temporary unavailable to the crop (Sørensen and Jensen, 1995; Morvan et al., 1997; Sørensen and Amato, 2002; Yagié and Quílez, 2010c), due to microbial N immobilisation and ammonium fixation by soil clay minerals (Chantigny et al., 2004). Moreover, some of the N applied with PS, can be available for the subsequent crops, or can even supply N to the crops for several years due to mineralization generally extends over a much longer period than just one year

(Schröder, 2005a). This residual effect of PS has been studied for irrigated maize production under Mediterranean conditions in the Ebro Valley in Spain (Daudén et al., 2004; Yagüe and Quílez, 2010b; Cela et al., 2011a). These authors analysed the residual effects of PS application to maize on winter cereal production, suggesting that mineralization of the organic N applied with PS to maize contributes to fertilization of the subsequent wheat crop, and its residual effect would therefore allow farmers to save mineral N fertilizer. Along similar lines, Sieling et al. (2014) analysed the residual effects of PS application to oilseed rape on winter wheat and winter barley yields in northern Germany, reporting that small residual fertilizer effects were only detected in the first year.

Many authors have analysed N fertilizer effects on irrigated maize yields with either mineral or organic fertilizers (Schröder et al., 2005b; Wachendorf et al., 2006). Several studies have been made in Mediterranean climate conditions in irrigated areas (Biau et al., 2012; Trindade et al., 2009; Perego et al., 2013), while others have concentrated on winter cereal under rainfed semiarid conditions (Abad et al., 2004; Angás et al., 2006; Hernández et al., 2013; Bosch-Serra et al., 2015). Studies of N fertilization effects under double-cropping systems have mainly been published on the use of mineral fertilizers (Guo et al., 2008; Qiu et al., 2012; Hartmann et al., 2014; Shang et al., 2014), though analyses of the effects of organic fertilizers under double-cropping systems have been conducted in Italy (Giola et al., 2012; Demurtas et al., 2016) and Spain (Perramon et al., 2016). Similarly, Tomasoni et al. (2011) and Cavalli et al. (2016) analysed the effects of manure management in a double-annual crop rotation of maize and Italian ryegrass in the Po Valley (Northern Italy).

The objectives of this study were (i) to evaluate different fertilization strategies with PS in terms of crop yields, N uptake, unrecovered N and soil mineral N content and (ii)

to assess and optimize PS fertilization in a medium-term (six years) double-annual forage cropping system under rainfed sub-humid conditions.

2. Materials and methods

2.1 Experimental site

The study was performed over six years in an experimental field located at Torelló in a rainfed sub-humid area of Catalonia (Northeastern Spain). Double-annual forage cropping rotation of maize and triticale was practiced between 2006 and 2012. This rotation is representative of the common farming practices in the area, where summer cereal (maize or sorghum) is planted in June after the winter cereal harvest (triticale, wheat or barley), which is usually planted in October-November after the maize harvest.

The annual mean precipitation of the trial site between 1986 and 2006 was 651 mm and mean temperature was 13.1°C. Weather data were recorded by an automatic meteorological station two kilometers away from the experimental field (Meteorological Observatory of Torelló). The soil is calcareous, moderately-alkaline pH and loam texture. The main soil properties of the field site are presented in Table 1.

Table 1. Selected soil properties for different soil depths at the beginning of the experiment (2006).

	Depth		
	0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
pH	8.3	8.3	8.3
EC _{1:5} (dS m ⁻¹)	0.22	0.15	0.17
Organic matter (%)	1.75	1.23	0.88
Nitric Nitrogen (mg NO ₃ ⁻ -N kg ⁻¹)	6.46	4.76	7.70
N (%)	0.13	0.10	0.06
C:N ratio	7.45	6.70	5.70
P (mg kg ⁻¹)	34	22	11
K (mg kg ⁻¹)	197	79	62
Sand (%)	31.7	32.1	34.6
Silt (%)	47.2	44.9	44.9
Clay (%)	21.1	23	20.5

2.2 Experimental design

The trial was designed as a randomized complete block with four PS treatments and three replications. Each plot was 12 m wide by 40 m long. The fertilizer applications were made onto the same experimental plots each year. The PS treatments were:

- PS zero (PS0): refers to control plots, where only 80 kg K₂O ha⁻¹ year⁻¹ were applied entirely before sowing maize, in order to avoid deficits in K on these plots.
- PS low (PSL): 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹, corresponding to the maximum legal dose according to Nitrates Directive 91/676 (EEC, 1991).
- PS medium (PSM): 250 kg N ha⁻¹ year⁻¹, corresponding to the dose which we hypothesize as being optimal for crop N requirements in the double crop rotation considered in this paper.

- PS high (PSH): $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$, corresponding to a PS dose above crop N requirements, to assess the cropping system response to surplus N.

Prior to the establishment of the experiment, the field was conventionally fertilized with PS for two decades. In this experiment, PS was obtained each year from a pig-fattening farm close to the experimental site. PS was spread using a commercial splash plate spreader and incorporated into the soil immediately after the application to minimize ammonia volatilization losses. During application, the tank of the spreader was calibrated to apply the target PS rates by measuring the electrical conductivity and density of PS in order to adjust the speed of the tractor. Also, several slurry samples were taken from each tank and mixed to make a composite sample. They were frozen and stored at -20°C until they were analysed in a reference laboratory. The real amount of N applied and taken into account for calculations in this paper, was established according to the physiochemical characteristics of the PS (Table 2).

The PS was applied twice a year in the PSH and PSM treatments and once a year in PSL, just before the sowing of the crops. The PSH and PSM rates were split into two applications. One with approximately 250 and 170 kg N ha^{-1} for PSH and PSM respectively, being broadcast before maize sowing and the remaining PS was applied before triticale sowing (corresponding to approximately 80 kg N ha^{-1} in both cases). In the PSL treatment, the PS was applied entirely before maize sowing. No fertilization with phosphorus was applied throughout the experiment in the PS0 treatment, as the levels of this element in the soil were sufficient for the correct development of both crops.

Table 2. Average physicochemical characteristics of pig slurry applied from 2006 to 2012 in the experimental field.

Parameter	Average from 2006 to 2012
pH	8,4 ± 0,2
Electrical conductivity (dSm ⁻¹)	21,6 ± 3,5
Dry matter (kg DM Mg ⁻¹)	69 ± 20
Organic matter (kg OM Mg ⁻¹)	50,9 ± 16,4
Ammonium-N (kg N m ⁻³)	3,4 ± 0,8
Organic N (kg N m ⁻³)	1,7 ± 1,0
Total N (kg N m ⁻³)	5,1 ± 1,4
P (kg m ⁻³)	1,5 ± 0,5
K(kg m ⁻³)	2,8 ± 0,8

2.3 Cropping system

Maize and triticale were managed according to normal practices in the area. The tillage operations before the maize and triticale crops consisted of a pass with a field cultivator, to 15 cm depth, after the harvest of the previous crop. The PS was then surface applied and incorporated into the soil by a pass of a cultivator to 15 cm depth. In triticale, no herbicide was used during the experimental season. Forage maize (FAO class 500) was sown in June, at a density of 80 000 plants ha⁻¹ and with a space between rows of 70 cm, and was harvested approximately at R3 milk-stage (Hanway and Ritchie, 1984) in late October-early November. Forage triticale (early cycle) was sown after maize, from October to early November depending on the weather conditions, and was harvested in May-early June when the grain was in early milk development (Scale 73) (Zadoks et al., 1974). The forage biomass obtained could be used for dairy cattle feed (silage).

2.4 Analysis of plants and soil samples

The soil mineral nitrogen content (NO_3^- -N) was determined twice per year, just before PS fertilization of each crop (October and June). Soil samples were collected up to a depth of 90 cm every 30 cm. A sample for each plot, at each depth, was obtained by mixing two different subsamples. Soil mineral content is reported as the sum of soil NO_3^- -N in the 0-90 cm profile. Soil nitrates were analysed in a certified laboratory by colorimetric method (Kempers, 1974). Soil NH_4^+ -N was considered insignificant in the experimental area (Villar-Mir et al., 2002; Berenguer et al., 2008) and was not measured in this study.

Total fresh crop yield was obtained directly in the field by harvesting each plot with a conventional reaping-chopping machine. One crop subsample per plot was collected and stored at 4°C for a maximum of 48h before analysing DM and N content. The DM was determined by drying at 60°C for 48h and its N content was determined by an NIR spectroscopy procedure. The N uptake was calculated by multiplying plant N content by DM at harvest.

2.5 Unrecovered N

The N balance was calculated in each plot, separately for each year and crop. Native soil organic mineralization (N_{\min}) was estimated in the control plots (PS0) and assuming that nitrate leaching, ammonia losses and N from rainfall water were negligible in unfertilized plots according to the equation (Sexton et al., 1996):

$$1) N_{\min} = N_f + N_u - N_i$$

where N_f is post-harvest soil NO_3^- -N, N_u is the plant N uptake and N_i is pre-plant soil NO_3^- -N. A negative value of N_{\min} was interpreted as N that could not be accounted for.

Unrecovered N was estimated from the N balance for the fertilized plots (Berenguer et al., 2009; Cela et al., 2011b) according to the equation:

$$2) \text{ Unrecovered N} = N_f + N_u - N_i - N_{\min} - N_{\text{fert}}$$

where N_{fert} is the N applied by fertilization. A negative value for the unrecovered N was interpreted as the sum of leached NO_3^- -N, N lost by ammonia volatilization and denitrification, applied organic N, immobilised NH_4^+ -N and clay-fixed NH_4^+ -N. Whereas a positive value was interpreted as uncounted N inputs.

2.6 Nitrogen efficiency

The following N-efficiency parameters (López-Bellido and López-Bellido, 2001a) were calculated for each fertilized treatment in both crops:

- 3) Apparent N recovery fraction (ANRF; %): $(\text{N uptake in fertilized plots} - \text{N uptake in unfertilized plots}) / \text{N applied to fertilized plots}$.
- 4) Agronomic N efficiency (ANE; kg kg^{-1}): $(\text{DM yield in fertilized plots} - \text{DM yield in unfertilized plots}) / \text{N applied to fertilized plots}$.

2.7 Statistical analysis

Statistical analyses of the data were performed using the IBM SPSS statistical software for Windows, version 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). A mixed-design analysis of variance model (ANOVA), taking into account the growing seasons as repeated measures, was carried out to evaluate the response of the variables measured to PS fertilization. In the mixed-design ANOVA model, the PS treatment was a between-subjects variable (a fixed effects factor) and the growing season was a within-subjects variable (a random effects factor). If the interaction of growing seasons and treatment was significant, special contrasts were performed in order to detect differences, at 0.05 probability level, between combinations of PS fertilization strategies planned. Regression

analysis was used to relate yield, N uptake and unrecovered N to initial soil NO_3^- -N content + N applied by PS fertilization ($p < 0.05$).

3. Results

3.1 Weather conditions during the experimental period

Under rainfed agricultural conditions, total precipitation and mean temperatures are very important and are presented in Table 3. Total precipitation, recorded during the trial period, was highly variable between the six experimental growing seasons (sum of rainfall of both summer and winter crops) with a difference of over 450 mm between maximum rainfall (994.3 mm in 2011/12) and minimum rainfall (555.8 mm in 2006/07). As annual average rainfall in the 1985-2006 period was 651 mm, two of the six growing seasons could be considered dry (2006/07 and 2007/08), three wet (2008/09, 2009/10 and 2010/11) and one very wet (2011/12).

Differences in mean temperature, between the whole growing seasons studied, were relatively small, varying from 12.6 °C in 2009/10 to 14.0 °C in 2006/07, which were the coldest and hottest growing seasons, respectively. The annual average temperature throughout the trial period was 13.2 °C.

Table 3. Total precipitation (P) and mean air temperature (T) in Torelló for each growing season in both crops (maize and triticale) for the experimental period (2006-2012) and for the historical periods (1985-2006).

Season	1985-2006	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2006/07-2011/12
	P (mm)	P (mm)	P (mm)	P (mm)	P (mm)	P (mm)	P (mm)	P (mm)
Maize growing season ¹	351.9	314.5	237.5	448.5	504.0	523.7	594.3	424.9
Triticale growing season ²	299.4	241.3	378.8	377.5	341.5	333.4	400.0	338.8
Total	651.3	555.8	616.3	826.0	845.5	857.1	994.3	763.8
	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)	T (°C)
Maize growing season ¹	19.5	20.6	19.1	18.5	19.6	18.7	19.0	19.3
Triticale growing season ²	9.9	10.4	8.5	8.7	7.8	8.4	8.6	8.9
Mean *	13.1	14.0	12.7	13.2	12.6	12.8	13.8	13.2

*Mean corresponds to the average monthly value in each growing season and the historical period (Meteorological Observatory of Torelló).

¹ June-October

² November-May

3.2 Crop yield

Throughout the experiment, average seasonal DM yields (maize + triticale) were affected significantly by the PS fertilization rate and the growing season and its interaction (Table 4). An overall significant fertilizer effect of PS on DM yields was observed between unfertilized treatment (12.6 Mg DM ha⁻¹) and fertilized treatments. Average DM yields in PSL (17.7 Mg ha⁻¹) was significantly lower than in the remaining fertilized treatments. Furthermore, significant differences were found between the PSM and PSH treatments (20.2 and 22.0 Mg DM ha⁻¹, respectively) (Table 4, Fig.1).

Regarding maize, and on average for the six-year study, DM yields were influenced by the PS fertilization rate and the growing season. However, no interaction between them were observed (probably due to the great variability). PSH yield was 10.5 Mg DM ha⁻¹, the maximum yield compared to the low and medium fertilized plots (9.5 and 9.4 Mg DM ha⁻¹, respectively) and unfertilized plots (8.1 Mg DM ha⁻¹) (Fig. 1). No maize was

harvested in 2007 as it failed to grow due to a shortage of rainfall during the summer. Maize did not respond to PS applications in 2006, the maize growing seasons with the lowest yield (Fig. 1).

The average triticale yield response to PS fertilization treatments interacted with the growing season factor (Table 4). For the six-year trial, average triticale yield (10.4 Mg DM ha⁻¹) was about 10% higher than average maize yield (9.4 Mg DM ha⁻¹). It is important to point out the considerable difference (about 30%) between the DM yields of the two crops in the PSH and PSM treatments. Furthermore, average triticale yields in PSH and PSM (13.3 and 12.3 Mg DM ha⁻¹, respectively) were significantly higher than in the PSL and PS0 treatments (9.8 and 6.1 Mg DM ha⁻¹, respectively). However, no differences were observed in PSM compared to PSH (Table 4). In the PS0 treatment across six-year experiment, a continuous decrease of the DM yields was observed (Fig. 1).

3.3 N uptake

Maize and triticale responded to the applied PS, which affected the N uptake of the crops. Total N uptake (maize + triticale) averaged over six years in the fertilized PS treatments were significantly greater than in the control treatment (119 kg ha⁻¹) (Tables 4 and 5). The statistical analysis of the N uptake showed significant differences between the PSM and PSH treatments (219 and 261 kg ha⁻¹, respectively). When were analysed PSM together with PSH, these were compared to PSL (190 kg ha⁻¹) and also were found statistical differences (Tables 4 and 5).

In maize, statistical analysis showed that N uptake varied significantly with the PS rates and the growing season and its interaction (Table 4). The great variations in maize yield were associated with N uptake, which oscillated (as annual average) from 83 to 130

kg N ha⁻¹ for the PS0 and PSH treatments, respectively. In 2007, the failure of maize caused the absence of N uptake in this growing season (Table 5).

With reference to triticale, average N uptake in the six-year trial was affected by the PS fertilization rate and the growing season, but no interaction was detected between these two variables. Average N uptake ranged from 57 to 152 kg N ha⁻¹ for the PS0 and PSH treatments, respectively. Total average N uptake of all treatments was similar for triticale and maize (107 and 110 kg N ha⁻¹, respectively) (Table 5).

Table 4. Significant effects on yield, N uptake, initial soil NO₃⁻-N content, apparent N recovery fraction (ANRF), agronomic N efficiency (ANE) and unrecovered N for all study years.

Crop	Yield (Mg DM ha ⁻¹)	N uptake (kg ha ⁻¹)	Initial soil NO ₃ ⁻ -N (kg ha ⁻¹)	ANRF (%)	ANE (kg kg ⁻¹)	Unrecovered N (kg ha ⁻¹)
Maize						
Treat	*	**	**	NS	NS	NS
Growing season	***	***	***	**	***	**
Treat x Growing season	NS	*	***	NS	NS	NS
PS0 vs PSL, PSM, PSH ^b	-	***	**	-	-	-
PSL vs PSM, PSH	-	*	**	-	-	-
PSM vs PSH	-	*	**	-	-	-
Triticale						
Treat	***	***	**	*	*	*
Growing season	***	***	***	**	***	*
Treat x Growing season	***	NS	**	NS	NS	NS
PS0 vs PSL, PSM, PSH	***	-	**	-	-	-
PSL vs PSM, PSH	***	-	*	-	-	-
PSM vs PSH	NS	-	*	-	-	-
Maize + Triticale ^a						
Treat	***	***	-	NS	NS	**
Growing season	***	***	-	***	***	**
Treat x Growing season	***	*	-	NS	NS	*
PS0 vs PSL, PSM, PSH	***	***	-	-	-	-
PSL vs PSM, PSH	***	***	-	-	-	**
PSM vs PSH	**	***	-	-	-	**

PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

Treat= treatment of PS fertilization.

^a If the interaction treat*growing season was not significant, no special contrasts were done.

NS: not significant, *, ** and *** significant at 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively.

^b Significant effects on total soil NO₃⁻-N (maize + triticale) were not analysed.

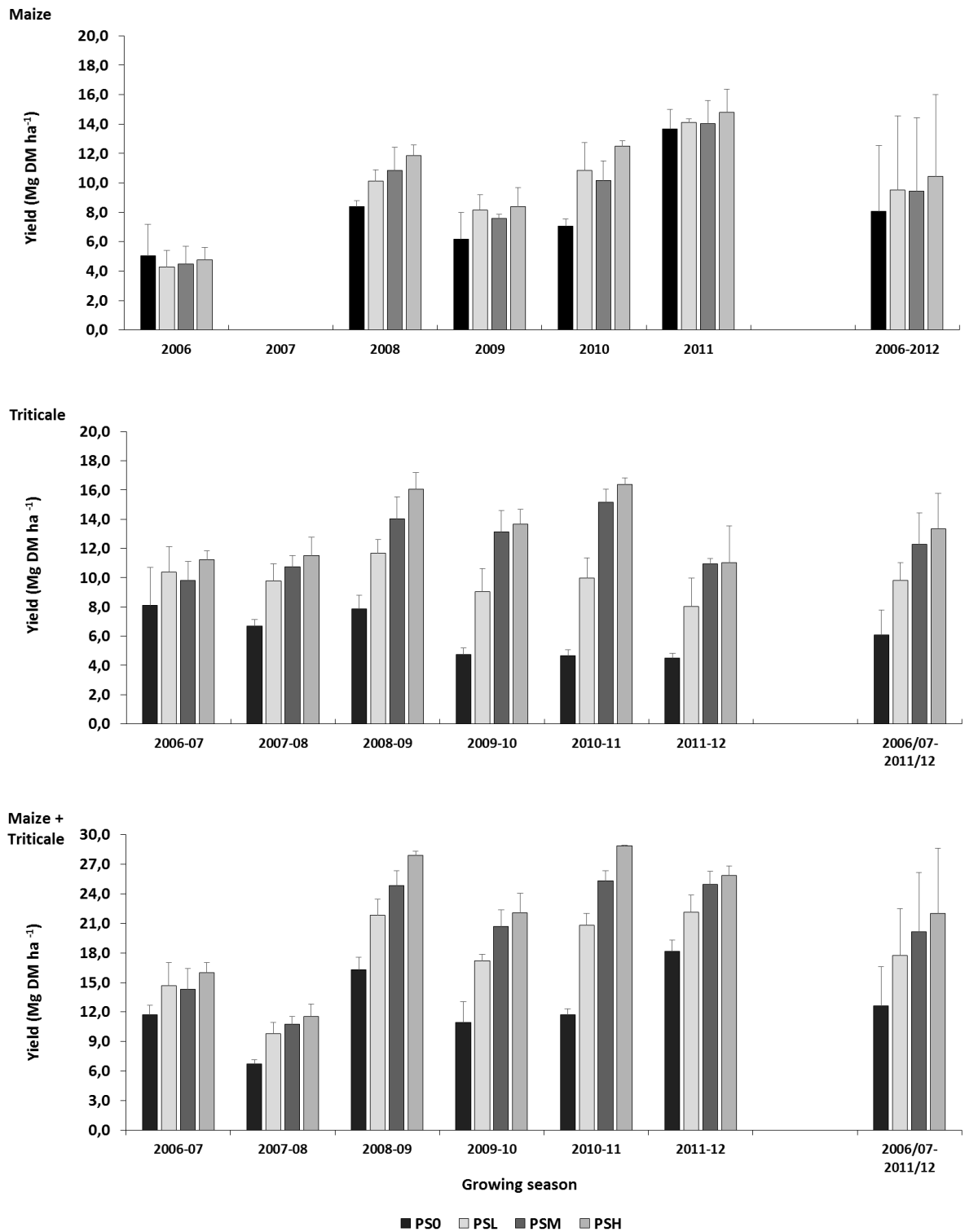


Fig. 1. Yield during the experiment and the average values from 2006 to 2012 for different PS fertilization rates. PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively. In 2007, maize crop failed due to shortage of rainfall during the summer. Error bars indicate standard deviation of the mean.

Table 5. N uptake during the experiment and the average values from 2006 to 2012.

Crop	Treat	Rate (kg N ha ⁻¹)	N uptake (kg ha ⁻¹)						
			2006	2007 ^a	2008	2009	2010	2011	2006-2012
Maize	PS0	0	76	-	97	66	72	102	83
	PSL	170	66	-	118	97	130	150	112
	PSM	170	69	-	129	100	130	150	115
	PSH	250	72	-	144	111	158	167	130
	Mean		70	-	122	93	122	142	110
			2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2006-2012
Triticale	PS0	0	96	73	68	35	35	35	57
	PSL	0	125	123	120	72	80	58	96
	PSM	80	130	145	131	113	130	89	123
	PSH	80	164	175	183	126	169	100	152
	Mean		129	129	125	87	103	71	107
			2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2006-2012
Maize + Triticale	PS0	0	136	73	166	101	107	137	119
	PSL	170	190	123	238	169	209	208	190
	PSM	250	198	145	260	213	260	239	219
	PSH	330	236	175	327	237	326	267	261
	Mean		195	129	248	180	226	213	198

PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

Treat= treatment of PS fertilization.

^aMaize crop failed in this growing season due to shortage of rainfall during the summer.

3.4 Soil NO₃⁻-N content

Six-year average soil NO₃⁻-N content after maize and triticale harvest, respectively, were affected significantly by the PS fertilization rate and the growing season and its interaction (Table 4). Average soil NO₃⁻-N levels in October, after the maize harvest, were almost three times higher than those for June, after the triticale harvest (149 and 55 kg NO₃⁻-N ha⁻¹, respectively) (Table 6).

For both the October and June sampling dates, PS fertilization increased significantly the soil NO₃⁻-N content compared to a PS0 treatments (Tables 4 and 6). Either in the October or in June sampling dates, average soil NO₃⁻-N contents in PSL was significantly lower than in the remaining fertilized treatments. Moreover, significant differences were

found between the PSM and PSH treatments after the maize and triticale harvest, respectively (Table 4 and 6).

Considerable variation in residual soil NO_3^- -N content was observed throughout the growing seasons according to the amount of PS applied to the previous crop. In 2007, maize was not harvested. Consequently, no N was removed from the plant-soil system resulting in a very high soil NO_3^- -N content in October 2007 (Fig. 2). The soil NO_3^- -N levels were considerably higher in October than in June for each growing season and for each PS rates. On unfertilized plots and those receiving little fertilization, there was evident soil NO_3^- -N depletion over time. This reduction was less noticeable with medium and highly PS fertilized treatments (Fig. 2).

Relationships between the different variables measured during the six-year study and the sum of initial soil NO_3^- -N content + N applied by PS fertilization, are presented in Fig. 3. Regression analysis showed that the relationships between variables and soil NO_3^- -N content + N applied were less marked in maize than in triticale. In maize, yield was not affected significantly by soil NO_3^- -N content + N applied (Fig. 3A). Conversely, maize N uptake and unrecovered N varied significantly according this parameter (Fig. 3C and E). In triticale, a high significance was observed in the relationships between the different variables and soil NO_3^- -N content + N applied (Fig. 3B, D and F).

Table 6. Average soil nitrate NO_3^- -N content (kg NO_3^- -N ha^{-1}) from 2006 to 2012, after triticale harvest (June) and after maize harvest (October). Depth 0-90 cm.

Treatment	June	October
PS0	36	65
PSL	43	139
PSM	55	158
PSH	88	234
Means	55	149

PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

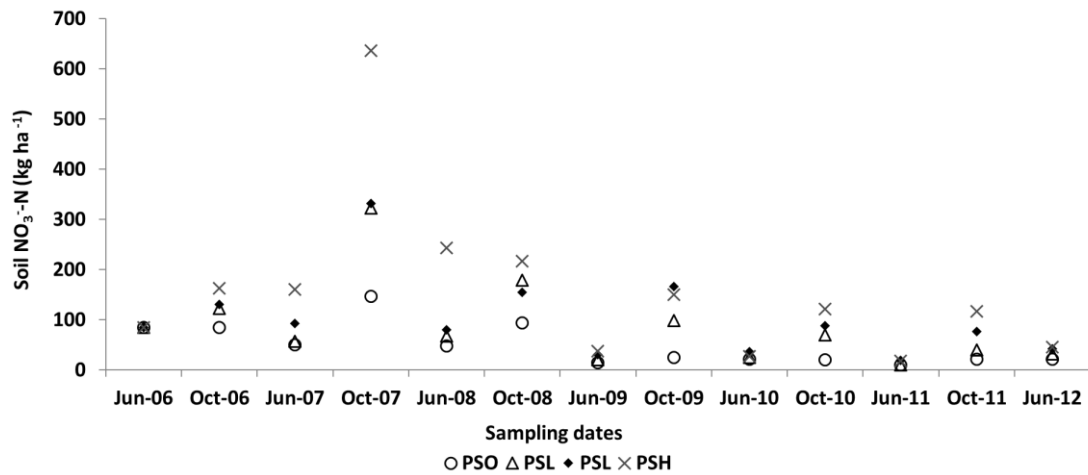


Fig. 2. Soil NO₃⁻-N content (0–0.9 m) in different treatments over the period of six years. PSO, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

3.5 Unrecovered N

Across the experiment and according to the sum of both maize and triticale, differences were found in average unrecovered N due to the PS fertilization rate and the growing season. Besides, interaction was found between both factors PS treatment and growing season. Unrecovered N for the PSL, PSM and PSH treatments showed significant differences, with respective values of 91, 144, and 222 kg N ha⁻¹ (Tables 4 and 7).

Individually, in maize, average unrecovered N was not significantly different among PS treatments. Despite the lack of significance, average unrecovered N in the PSH treatment (107 kg N ha⁻¹) was approximately twice as high as in the PSM and PSL treatments (52 and 61 kg N ha⁻¹, respectively) (Tables 4 and 7). In contrast, in triticale, average unrecovered N was dependent on the PS treatment and the growing season. However, no interaction was detected between these two variables. The average triticale unrecovered N for PSH was about 26% higher than in PSM (115 and 91 kg N ha⁻¹, respectively). Considering that PSL was not applied on triticale, average unrecovered N in this PS treatment was 31 kg N ha⁻¹ (Table 7).

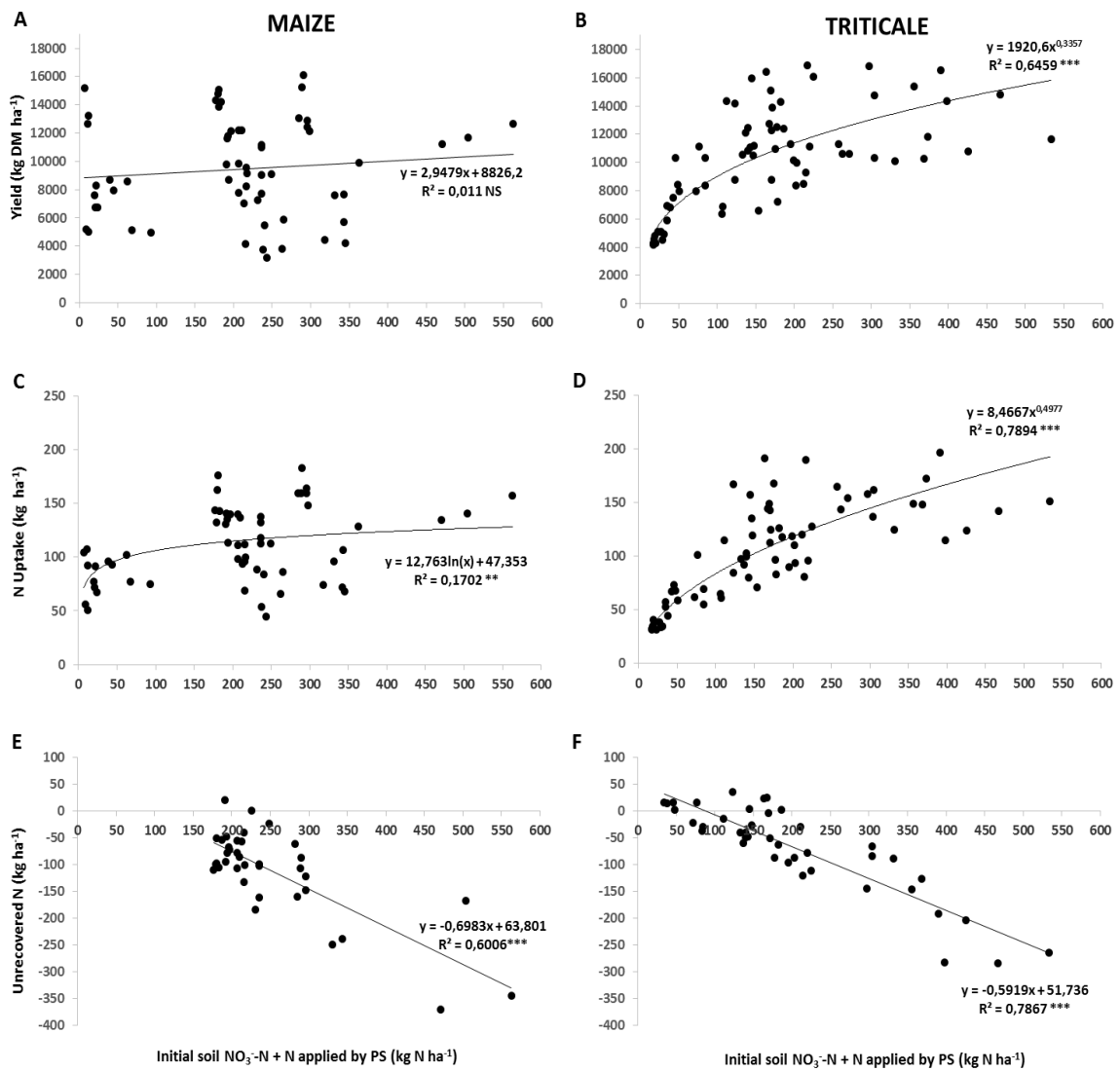


Fig. 3. Relationships between yield, N uptake, unrecovered N and initial soil NO₃⁻-N + N applied by PS fertilization for each crop in the six-year study. NS: not significant, ** and *** significant at 0.01 and 0.001 levels, respectively.

Table 7. Estimated unrecovered N during the experiment and the average values from 2007 to 2012.

Crop	Treatment	Rate (kg ha ⁻¹)	Unrecovered N (kg ha ⁻¹)					
			2007	2008	2009	2010	2011	2007-2012
Maize	PS0 ^a	0	96	142	77	71	114	92
	PSL	170	27	-65	-97	-66	-104	-61
	PSM	170	-1	-90	-36	-59	-76	-52
	PSH	250	125	-294	-161	-88	-118	-107
			2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007-2012
Triticale	PS0 ^a	0	-25	-11	32	25	35	20
	PSL	0	-107	-27	-34	-4	15	-31
	PSM	80	-152	-69	-131	-44	-62	-91
	PSH	80	-264	-73	-111	-39	-86	-115
			2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007-2012
Maize	PS0 ^a	0	71	132	109	95	149	112
	+	PSL	170	-81	-92	-123	-70	-90
Triticale	PSM	250	-153	-160	-166	-103	-138	-144
	PSH	330	-139	-367	-273	-128	-204	-222

PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

In 2006, no unrecovered N was calculated because the initial level of soil nitrate NO₃⁻ content was the same in each treatment, corresponding to initial soil analysis at the beginning the experiment.

^aPS0 corresponds to estimated N mineralization in control plots, necessary to calculate unrecovered N in the other treatments.

3.6 N efficiency

After six consecutive years of PS application, when considering maize and triticale together, either average ANRF or ANE did not differ among the different PS treatments (Tables 4).

In maize, overall average ANRF and ANE throughout the trial were 23.3% and 11.2 kg DM kg⁻¹, respectively. PS treatments did not affect either average ANRF or ANE with very similar values observed in all treatments (Table 8).

In triticale, overall average ANRF and ANE throughout the experiment were 109.2% and 94.9 kg DM kg⁻¹, respectively. Both average ANRF and ANE varied significantly with the PS rates and the growing season, but no interaction between them were observed (Table 8).

Table 8. Average apparent N recovery fraction (ANRF) and apparent N efficiency (ANE) during the experiment and the average values from 2006 to 2012.

Crop	Treat	Rate (kg ha ⁻¹)	ANRF (%)						ANE (kg kg ⁻¹)					
			2007	2008	2009	2010	2011	2007- 2011	2007	2008	2009	2010	2011	2007-2011
Maize	PSL	170		14,0	15,7	33,8	28,3	23,0		11,4	10,2	22,5	2,6	11,7
	PSM	170		21,0	17,4	33,8	28,3	25,1		16,0	7,3	18,3	2,0	10,9
	PSH	270		17,4	14,4	31,5	24,4	21,9		12,7	7,2	20,1	4,2	11,1
	Means			17,5	15,8	33,1	27,0	23,3		13,4	8,3	20,3	2,9	11,2
			2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007/08- 2011/12	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007/08- 2011/12
Triticale	PSL ^a	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PSM	80	103,4	71,8	94,4	119,1	67,2	91,2	57,6	70,8	102,0	131,3	84,2	89,2
	PSH	80	146,1	131,6	111,2	167,1	80,4	127,3	68,8	94,3	108,5	146,7	85,0	100,7
	Means		124,7	101,7	102,8	143,1	73,8	109,2	63,2	82,6	105,2	139,0	84,6	94,9
			2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007/08- 2011/12	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2007/08- 2011/12
Maize	PSL	170	35,0	47,8	34,8	60,0	43,1	44,1	21,6	36,5	32,4	53,6	24,9	33,8
	+	PSM	250	34,0	39,5	40,3	61,1	41,6	43,3	18,9	36,0	35,5	54,5	28,3
Triticale	PSH	330	31,5	45,2	34,8	62,5	37,8	42,4	14,8	32,6	28,5	49,1	22,7	29,5
	Means		33,5	44,2	36,6	61,2	40,8	43,3	18,5	35,0	32,1	52,4	25,3	32,7

PS0, PSL, PSM and PSH correspond to zero, low, medium and high dose of treatments of pig slurry, respectively.

Treat= treatment of PS fertilization.

^aPSL: no PS fertilization was applied at this time.

4. Discussion

4.1 Crop yield and N uptake

In the present study, there was no response to PS applications in 2006, and maize yields and N uptake were similar in all treatments. These results are in agreement with previous researches in nearby areas (Berenguer et al., 2009; Yagüe and Quílez, 2010b). This type of response can be explained by the fact that the total amount of initial soil N available to maize in the PS0 treatment was adequate to obtain yields similar to those obtained with PS fertilized treatments. Soil NO_3^- -N content at the beginning of the trial was similar for all treatments, due to PS had been applied before the experiment at the same dose. In this way, this previous PS fertilization might have induced high N mineralization in control plots. Nevertheless, throughout the six-year study, there was not a clear relationship between maize DM yields and initial soil NO_3^- -N content + N applied by PS fertilization (Fig. 3A). Maize DM yield was influenced mainly by weather conditions during the experiment. Due to major variations in rainfall during its growth, maize DM yields and N uptake varied greatly throughout the six-year experiment (Table 5, Fig. 1). These differences can be partially explained as the result of very low precipitation during June and July in some years. Temperatures are also normally high in these summer months and a combination of these two factors can lead to a decrease in DM yield. In fact, this situation was clearly observed in 2007, when low precipitation during the growing season (237.5 mm) was insufficient for crop growth.

In general, our maize DM yields and N uptakes can be considered very low compared to those of other areas under irrigation, such as the Po Valley in Northern Italy (Grignani et al., 2007; Borrelli et al., 2014) or other areas of Spain (Yagüe and Quílez, 2010b; Cela et al., 2011a). However, in the area considered in the present study, maize is normally

grown in rainfed conditions although, as we have seen, in some years the crop fails owing to low rainfall during the growing season (mainly June and July). This fact, as well as the much lower maize DM yields compared to triticale, suggests that other crops, such as forage sorghum, should be considered in the rotation.

In triticale, similarly to maize, DM yields in PS0 were high at the beginning of the six-year experiment. The N mineralized arising from long term PS application previous to the experiment, could have led to supply N deficiency in control plots (PS0) in the first two growing seasons of the trial. After 2009, there was a depletion of soil NO_3^- -N content, and consequently triticale DM yields decreased throughout the time on unfertilized plots.

Triticale DM yields and N uptake were also affected by rainfall during the growing season, although less than in maize DM yields. Winter cereal growth can be influenced by many factors, including the response to N fertilization and particularly soil water content during the growing season (Pardo et al., 2009; López-Bellido et al., 2001b) and initial soil NO_3^- -N content. In our study, triticale yields and N uptake were both clearly influenced by initial soil NO_3^- -N and PS fertilization rates (Fig. 3B and D). This suggests that PS fertilization should be based on initial soil NO_3^- -N levels and could be considered a good tool for improving N fertilization recommendations.

The highest average total N uptake in the six-year trial was obtained when PSH was applied (261 kg N ha^{-1}). Moreover, maize N uptake never exceeded 167 kg N ha^{-1} in the growing seasons of the study considered wet. This suggests that over-fertilization in maize could have occurred in the PS fertilized treatment for most growing seasons. In contrast, during triticale growing seasons, N uptakes were considerably higher than the 80 kg N ha^{-1} applied before triticale sowing in the PSH and PSM treatments. Consequently, these results suggest that the dose of N fertilization in the form of PS should be adjusted for both crops of the rotation. This fact could avoid over-fertilization

in maize and incomplete fertilization in triticale, and consequently, increase the efficiency of crop N uptake and reducing the risk of NO_3^- -N lixiviation.

The highest DM yields, when taking maize + triticale into account on the average the six-year trial, were achieved when PS rates above $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ of organic fertilizer allowed by Nitrates Directive 91/676, (EEC, 1991) were applied. This finding is in agreement with Yagüe et al. (2013a) who observed in a maize-barley double-cropping experiment that applying the maximum dose of organic fertilizer allowed by Nitrates Directive 91/676, (EEC, 1991) could only cover the N needs of the barley. Similarly, Perramon et al. (2016) concluded that in high N-demanding double-cropping systems, it is possible to increase the amount of N applied in organic form up to 250 kg N ha^{-1} . Such limitations on organic fertilizer applications should take into account that N needs, in double-cropping systems, are higher than when only one crop per year is grown.

4.2 Soil NO_3^- -N content

Soil nitrate accumulation observed in October, in the PSH and PSM treatments, particularly in growing seasons, such as 2007, could increase the risk of N leaching during autumn and winter in periods of heavy rain (Liu et al., 2003; Nevens and Reheul, 2005; Brye et al., 2003).

Average soil NO_3^- -N content was considerably higher in October than in June (Table 6), possibly because of the higher PS applications and N mineralization in late summer-early autumn. This process may be affected by soil moisture and temperature (Qiu et al., 2012). More favourable conditions (moisture and temperature) during the maize crop season than during the winter cereal crop cycle, could increase N mineralization rates (Yagüe and Quílez, 2015).

Several authors (Beauchamp, 1986; Schröder, 2005a; Qiu et al., 2012) have reported that in contrast to the soil mineral N content which is immediately available to plants and may be easily quantified, the release from organic forms is dependent on the mineralization process. Therefore, any immobilized N would potentially be available for mineralization in subsequent crops and years in double-cropping systems. In these cropping systems, the residual soil NO_3^- -N from previous crops could potentially be taken up by the next crop partially avoiding N leaching of nitrates. Average triticale DM yield, despite PSH and PSM plots being fertilized with only 80 kg ha^{-1} and PSL plots not being fertilized in this crop, was higher than average maize DM yield throughout the experiment. This fact could be attributed principally to high residual levels of soil NO_3^- -N observed after the maize harvest. Consequently, the total annual N fertilization applied before maize sowing in the PSH, PSM and PSL treatments had an important residual effect on the subsequent triticale DM yield.

These results are in agreement with those of Grignani et al. (2007) who observed that in a double-annual crop rotation of maize and Italian ryegrass, the lower N uptake of late-sown maize was compensated by the ryegrass, which exploited residual N as a catch crop. Therefore, to reduce nitrate loading and improve N use efficiency, the N mineralized from previous PS applications should be taken into account in a fertilization plan (Nicholson et al., 1999). Krueger et al. (2012) also reported that a rye-maize double crop prevented the build-up of soil NO_3^- -N, thereby reducing the risk of off-site N transport. Yagüe and Quílez (2013b) suggested that double-cropping also promotes higher efficiency in the use of residual N of the slurry during the year following the application.

4.3 Unrecovered N and N efficiency

Total unrecovered N (maize + triticale) was greater in plots fertilized with maximum PS rates than in plots fertilized with medium and low PS doses (Table 7). However, these

trends could be misinterpreted according to several authors (Scherer and Weimar, 1994; Daudén and Quílez, 2004; Berenguer et al., 2008) because the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ can be fixed in the interlayer of the clay minerals when PS is applied as fertilizer. A large part of the mineral N applied with PS can be immobilized by microorganisms. This immobilization and/or fixation of N could be key in the N budget, especially in double-cropping systems due to part of the immobilized N can be mineralized in subsequent years.

Yagüe and Quílez (2015) suggested that soil organic matter mineralization (74 kg N ha⁻¹) probably contributed to the fertilizer replacement value of PS treatments because of the residual effect of PS. Similarly, Hartmann et al. (2014) reported that the quantification of organic N mineralization from slurry may be an important step to improve N use efficiency and to reduce N lost to the environment. Additionally, Sieling et al. (2014) reported a mineralization rate of 35-50% of organically bound slurry N. In this experiment, there was an important supply of N from the soil due to N mineralization (considered from 0 to 90 cm), as could be observed in average N uptake and N mineralization in PS0 (119 and 112 kg N ha⁻¹, respectively) (Table 5 and 7). On the other hand, it is remarkable that, either ANRF or ANE, were very low in maize. Whereas, in triticale, ANRF, was considerably great compared to 41% (López-Bellido et al., 2006) and 24% (Bosch-Serra et al., 2015) achieved in other rainfed conditions areas. This high N efficiency in triticale, could be due to high residual soil $\text{NO}_3^-\text{-N}$, which may have supplemented partially the N requirements of the crop. Therefore, N mineralization and residual effects from PS should be taken into account when recommending corresponding PS fertilization in double-cropping systems (Kayser et al., 2010).

In this six-year trial, the residual effect of PS could have resulted in an important increase in soil $\text{NO}_3^-\text{-N}$ levels in the October sampling dates corresponding to initial soil $\text{NO}_3^-\text{-N}$ in triticale. These high levels of soil $\text{NO}_3^-\text{-N}$ content could lead to increase

unrecovered N (possibly by lixiviation) during the triticale season. This triticale residual effect resulted in a 26% increase in unrecovered N in the PSH treatment compared to the PSM treatment, although triticale in both treatments was fertilized with the same dose of PS (80 kg N ha⁻¹).

Unrecovered N (mainly probably due to N leaching) were influenced by PS fertilization rates and by initial soil NO₃⁻-N content (Fig. 3E and F). In the growing seasons with a high initial soil NO₃⁻-N content, unrecovered N were also very elevated suggesting, an over fertilization in high PS fertilized treatments. We observed low N uptake and consequently low DM yield in maize due mainly to the large variations in rainfall during its growth. This fact may contribute to high residual soil NO₃⁻-N after maize harvesting, increasing the risk of NO₃⁻-N lixiviation. The levels of N mineralization observed in maize could also have increased these nitrate levels. A decrease in the dose of N fertilization in the PS treatments in the summer crop may, therefore be worth considering. Furthermore, under rainfed Mediterranean conditions, the fact that the greatest probability of high rainfall is from October to January, as well as the very low crop water absorption during autumn, could significantly increase the risk of N losses by leaching. Due to a lower plant N recovery, a higher negative impact on the environment (via N leaching or denitrification) can be expected after slurry application, especially in autumn applications (Bergström and Kirchmann, 2006; Bhogal et al., 2000; Giola et al., 2012). In our cropping conditions, in order to avoid part of these N losses, instead of PS application before the crop is sown in October, PS fertilization could be applied as side dressing at triticale tillering. In agreement with Sieling et al. (2014), slurry should be applied in early spring in order to reduce any negative environmental impact. This is also in line with other studies, such as those by Petersen (1996) and Jackson and Smith (1997)

who reported higher N use efficiency in cereals when the slurry is applied in spring instead in autumn.

5. Conclusions

In our six-year study of a triticale-maize double-annual cropping system, the optimal rate of PS fertilization to maize DM yields, varied greatly from year to year depending especially on weather conditions during the experiment. In triticale, DM yields were clearly influenced by initial soil NO_3^- -N and rates PS fertilizer application.

Unrecovered N was affected by PS fertilization rate and initial soil NO_3^- -N content. The PS fertilization treatments with 170 and 250 kg N ha⁻¹ applied before maize sowing had an important effect on DM yield of the subsequent triticale crop due to a residual effect which increased soil NO_3^- -N levels. A high initial soil NO_3^- -N content may lead to over fertilization in high PS fertilized treatments and consequently to an increase in N losses by lixiviation.

In our cropping conditions, to avoid part of these N losses, it is suggested a reduction in the dose of N fertilization in the PS treatments in the summer crop. Furthermore, instead of PS application before the crop is sown in October, PS fertilization could be applied as side dressing at triticale tillering.

The application of N, in the form of PS, at rates higher than the legally permitted by the Nitrates Directive 91/676 (EEC, 1991) in NVZs, may result in better yields. However, may originate in significantly lower N use efficiency and a higher potential environmental impact.

In view of these results, PS fertilization recommendations should never be made using fixed rate of N applications based on yield goals. Further studies are necessary to establish optimum PS fertilization rates, taking into account the potential N residual

effects and N mineralization/immobilization, and also with a view to achieving higher efficiencies of the N applied in slurry.

6. References

- Abad, A., Lloveras, J., Michelena, A., 2004. Nitrogen fertilization and foliar urea effects on durum wheat yield and quality and on residual nitrate in irrigated Mediterranean conditions. *Field Crops Res.* 87, 257–269.
- Angás, P., Lampurlanés, J., Cantero-Martínez, C., 2006. Tillage and N fertilization: effects on N dynamics and barley yield under semiarid Mediterranean conditions. *Soil Till. Res.* 87, 59–71.
- Beauchamp, E.G., 1986. Availability of nitrogen from three manures to corn in the field. *Can. J. Soil Sci.* 66, 713–720.
- Berenguer, P., Santiveri, F., Boixadera, J., Lloveras, J., 2008. Fertilisation of irrigated maize with pig slurry combined with mineral nitrogen. *Eur. J. Agron.* 28, 635–645.
- Berenguer, P., Santiveri, F., Boixadera, J., Lloveras, J., 2009. Nitrogen analysis of irrigated maize under Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 30, 163–171.
- Bergström, L., Kirchmann, H., 2006. Leaching and crop uptake of nitrogen and phosphorus from pig slurry as affected by different application rates. *J. Environ. Qual.* 35, 1803–1811.
- Bhokal, A., Rochford, A.D., Sylvester-Bradley, R., 2000. Net changes in soil and crop nitrogen in relation to the performance of winter wheat given wide-ranging annual nitrogen applications at Ropsley, UK. *J. Agric. Sci.* 135, 139–149.
- Biau, A., Santiveri, F., Mijangos, I., Lloveras, J., 2012. The impact of organic and mineral fertilizers on soil quality parameters and the productivity of irrigated maize crops in semiarid regions. *Eur. J. Soil Biol.* 53, 56–61.

- Borrelli, L., Castelli, F., Ceotto, E., Cabassi, G., Tomasoni, C., 2014. Maize grain and silage yield and yield stability in a long-term cropping system experiment in Northern Italy. *Eur. J. Agron.* 55, 12–19.
- Bosch-Serra, A.D., Ortiz, C., Yagüe, M.R., Boixadera, J., 2015. Strategies to optimize nitrogen efficiency when fertilizing with pig slurries in dryland agricultural systems. *Eur. J. Agron.* 67, 27–36.
- Brye, K.R., Norman, J.M., Gower, S.T., Bundy, L.G., 2003. Methodological limitations and N-budget differences among a restored tallgrass prairie and maize agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 97, 181–198.
- Cavalli, D., Cabassi, G., Borrelli, L., Geromel, G., Bechini, L., Degano, L., Marino Gallina, P., 2016. Nitrogen fertilizer replacement value of undigested liquid cattle manure and digestates. *Eur. J. Agron.* 73, 34–41.
- Cela, S., Santiveri, F., Lloveras, J., 2011a. Residual effects of pig slurry and mineral Nitrogen fertilizer on irrigated wheat. *Eur. J. Agron.* 34, 257–262.
- Cela, S., Santiveri, F., Lloveras, J., 2011b. Optimum nitrogen fertilization rates for second-year corn succeeding alfalfa under irrigation. *Field Crops Res.* 123, 109–116.
- Chantigny, M.H., Angers, A.D., Masse, D., Morvan, T., Pomar, C., 2004. Dynamics of pig slurry nitrogen in soil and plant as determined with ¹⁵N. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 637–643.
- Dauden, A., Quilez, D., Martinez, C., 2004. Residual effects of pig slurry on yield and N uptake of a subsequent wheat crop. *Soil Use Manage.* 20, 156–162.
- Demurtas, C.E., Seddaiu, G., Ledda, L., Cappai, C., Doro, L., Carletti, A., Roggero, P.P., 2016. Replacing organic with mineral N fertilization does not reduce nitrate leaching

- in double crop forage systems under Mediterranean conditions. *Agric. Ecosyst. Environ.* 44, 78–86.
- EEC, 1991. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. *Off. J. Eur. Commun.*, 91/676/EEC.
- Eurostat. 2013. Number of pigs. European Commission, Luxembourg. <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home/>
- Giola, P., Basso, B., Pruneddu, G., Giunta, F., Jones, J.W., 2012. Impact of manure and slurry applications on soil nitrate in a maize–triticale rotation: field study and long term simulation analysis. *Eur. J. Agron.* 38, 43–53.
- Gollany, H.T., Molina, J.E., Clapp, C.E., Allmaras, R.R., Layese, M.F., Baker, J.M., Cheng, H.H., 2004. Nitrogen leaching and denitrification in continuous corn as related to residue management and nitrogen fertilization. *Environ. Manage.* 33, 289–298.
- Grignani, C., Zavattaro, L., Sacco, D., Monaco, S., 2007. Production, nitrogen and carbon balance of maize-based forage systems. *Eur. J. Agron.* 26, 442–453.
- Guo, R., Li, X., Christie, P., Chen, Q., Zhang, F., 2008. Seasonal temperatures have more influence than nitrogen fertilizer rates on cucumber yield and nitrogen uptake in a double cropping system. *Environ. Pollut.* 151, 443–451.
- Hanway, J.J., Ritchie, S.W., 1984. How a corn plant develops: special report. 48, Iowa State University.
- Hartmann, T.E., Yue, S., Schulz, R., Chen, X., Zhang, F., Müller, T., 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize – wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Res.* 160, 22–30.

- Hernández, D., Polo, A., Plaza, C., 2013. Long-term effects of pig slurry on barley yield and N use efficiency under semiarid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 44, 78–86.
- Jackson, D.R., Smith, K.A., 1997. Animal manure slurries as a source of nitrogen for cereals; effect of application time on efficiency. *Soil Use Manage.* 13, 75–81.
- Jensen, L.S., Pedersen, I.S., Hansen, T.B., Nielsen, N.E., 2000. Turnover and fate of N-15-labelled cattle slurry ammonium-N applied in the autumn to winter wheat. *Eur. J. Agron.* 12, 23–35.
- Kayser, M., Muller, J., Isselstein, J., 2010. Nitrogen management in organic farming: comparison of crop rotation residual effects on yields, N leaching and soil conditions. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 87, 21–31.
- Kempers, A. J., 1974. Determination of sub- microquantities of ammonium and nitrates in soils with fenol, sodium nitroprusside and hypochlorite. *Geoderma* 12, 201–206.
- Krueger, E.S., Ochsner, T.E., Baker, J.M., Porter, P.M., Reicosky, D.C., 2012. Rye–corn silage double-cropping reduces corn yield but improves environmental impacts. *Agron. J.* 104, 888–896.
- Liu, X., Ju, X., Zhang, F., Pan, J., Christie, P., 2003. Nitrogen dynamics and budgets in a winter wheat–maize cropping system in the North China Plain. *Field Crops Res.* 83, 111–124.
- López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., 2001a. Efficiency of nitrogen in wheat under Mediterranean conditions: effect of tillage, crop rotation and N fertilization. *Field Crops Res.* 71, 31–46.
- López-Bellido, L., López-Bellido, R.J., Castillo, J.E., López-Bellido, F.J. 2001b. Effects of long-term tillage, crop rotation and nitrogen fertilization on bread-making quality of hard red spring wheat. *Field Crops Res.* 72, 197–210.

- López-Bellido, L., López-Bellido, R.J., López-Bellido, F.J., 2006. Fertilizer nitrogen efficiency in durum wheat under rainfed mediterranean conditions: effect of split application. *Agron. J.* 98, 55–62.
- Lloveras, J., 1987. Traditional cropping systems in Northwestern Spain (Galicia). *Agric. Syst.* 23, 259–275.
- MAGRAMA. 2012. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivo Resultados 2012 (ESYRCE). Gobierno de España, Madrid. www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/Boletin2012web_tc_m7-283312.pdf.
- Monaco, S., Hatch, D.J., Sacco, D., Bertora, C., Grignani, C., 2008. Changes in chemical and biochemical soil properties induced by 11-yr repeated additions of different organic materials in maize-based forage systems. *Soil Biol. Biochem.* 40, 608–615.
- Morvan, T., Leterme, P., Arsense, G.G., Mary, B., 1997. Nitrogen transformation after the spreading of pig slurry on bare soil and ryegrass using ¹⁵N-labelled ammonium. *Eur. J. Agron.* 7, 181–188.
- Nevens, F., Reheul, D., 2005. Agronomical and environmental evaluation of a long-term experiment with cattle slurry and supplemental inorganic N applications in silage maize. *Eur. J. Agron.* 22, 349–361.
- Nicholson, F.A., Chambers, B.J., Smith, K.A., Harrison, R., 1999. Spring applied organic manures as a source of nitrogen for cereal crops: experiments using field scale equipment. *J. Agric. Sci.* 133, 353–363.
- Pardo, G., Caverro, J., Aibar, J., Zaragoza, C., 2009. Nutrient evolution in soil and cereal yield under different fertilization type in dryland. *Nutr. Cycling Agroecosyst* 84, 267–279.

- Perego, A., Giussani, A., Fumagalli, M., Sanna, M., Chiodini, M., Carozzi, M., Alfieri, L., Brenna, S., Acutis, M., 2013. Crop rotation, fertilizer types and application timing affecting nitrogen leaching in nitrate vulnerable zones in Po Valley. *Ital. J. Agrometeorol.* 18, 39–50.
- Perramon, B., Bosch-Serra, A.D., Domingo, F., Boixadera, J., 2016. Organic and mineral fertilization management improvements to a double-annual cropping system under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 76, 28–40.
- Petersen, J., 1996. Fertilization of spring barley by combination of pig slurry and mineral nitrogen fertilizer. *J. Agric. Sci.* 127, 151–159.
- Qiu, S., Ju, X., Lu, X., Li, L., Ingwersen, J., Streck, T., Christie, P., Zhang, F., 2012. Improved nitrogen management for an intensive winter wheat/summer maize double-cropping system. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76, 286–297.
- Ramos, C., Agut, A., Lidon, A.L., 2002. Nitrate leaching in important crops of the Valencian Community region (Spain). *Environ. Pollut.* 118, 215–223.
- Scherer, H.W., Weimar, S., 1994. Fixation and release of ammonium by clay minerals after slurry application. *Eur. J. Agron.* 3, 23–28.
- Schröder, J. 2005a. Revisiting the agronomic benefits of manure: a correct assessment and exploitation of its fertilizer value spares the environment. *Bioresour. Technol.* 96, 253–261.
- Schröder, J.J., Jansen, A.G., Hilhorst, G.J., 2005b. Long-term nitrogen supply from cattle slurry. *Soil Use and Manage.* 21, 196–204.
- Sexton, B. T., Moncrief, J.F., Rosen, C.J., Gupta, S.C., Cheng, H.H., 1996. Optimizing nitrogen and irrigation inputs for corn based on nitrate leaching and yield on a coarse-textured soil. *J. Environ. Qual.* 25, 982–992.

- Shang, Q., Gao, C., Yang, X., Wu, P., Ling, N., Shen, Q., Guo, S., 2014. Ammonia volatilization in Chinese double rice-cropping systems: a 3-year field measurement in long-term fertilizer experiments. *Biol. Fertil. Soils* 50, 715–725.
- Sieling, K., Ni, K., Kage, H., 2014. Application of pig slurry-First year and residual effects on yield and N balance. *Eur. J. Agron.* 59, 13–21.
- Sørensen, S.G., Jensen, E.S., 1995. Mineralization–immobilization and plant uptake of nitrogen as influenced by the spatial distribution of cattle slurry in soils of different texture. *Plant Soil* 173, 283–291.
- Sørensen, P., Amato, M., 2002. Remineralisation and residual effects of N after application of pig slurry to soil. *Eur. J. Agron.* 16, 81–95.
- Tomasoni, C., Borrelli, L., Ceotto, E., 2011. Effect of integrated forage rotation and manure management on yield, nutrient balance and soil organic matter. *Ital. J. Agron.* 6, 55–60.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2001. Nitrogen mineralization in sandy loam soils under an intensive double-cropping forage system with dairy-cattle slurry applications. *Eur. J. Agron.* 15, 281–293.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2009. Effects of different rates and timing of application of nitrogen as slurry and mineral fertilizer on yield of herbage and nitrate-leaching potential of a maize/Italian ryegrass cropping system in north-west Portugal. *Grass Forage Sci.* 64, 2–11.
- Villar-Mir, J. M., Villar-Mir, P., Stockle, C.O., Ferrer, F., Aran, M., 2002. On-farm monitoring of soil nitrate-nitrogen in irrigated cornfields in the Ebro Valley (northeast Spain). *Agron. J.* 94, 373–380.
- Wachendorf, M., Büchter, M., Volkers, K.C., Bobe, J., Loges, R., Taube, F., 2006. Performance and environmental effects of forage production on sandy soils. IV.

- Impact of grass under-storey, slurry application and mineral N fertilizer on nitrate leaching under maize for silage. *Grass Forage Sci.* 61, 243–252.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2010a. Response of maize yield, nitrate leaching, and soil nitrogen to pig slurry combined with mineral nitrogen. *J. Environ. Qual.* 39, 686–696.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2010b. Cumulative and residual effects of swine slurry and mineral nitrogen in irrigated maize. *Agron. J.* 102, 1682–1691.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2010c. Direct and residual response of wheat to swine slurry application method. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 86, 161–174.
- Yagüe, M.R., Iguácel, F., Orús, F., 2013a. Fertilización con purín: resultados agronómicos en doble cultivo anual de cebada-maíz y efecto residual en cebada (2006-2012). *Informaciones técnicas Gobierno de Aragón* 213.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2013b. Residual effects of fertilization with pig slurry: double cropping and soil. *Agron. J.* 105, 70–78.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2015. Pig slurry residual effects on maize yields and nitrate leaching: a study in lysimeters. *Agron. J.* 107, 278–286.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14, 415–421.
- Zebarth, B.J., Paul, J.V., Schmidt, O., McDougall, R., 1996. Influence of the time and rate of liquid-manure application on yield and nitrogen utilization of silage corn in south coastal British Columbia. *Can. J. Soil Sci.* 76, 153–164.

CAPÍTULO 2

*EFFECTS OF PIG SLURRY FERTILIZATION ON FORAGE YIELD
AND QUALITY IN A DOUBLE CROPPING SYSTEM*

CAPÍTULO 2

EFFECTS OF PIG SLURRY FERTILIZATION ON FORAGE YIELD AND QUALITY IN A DOUBLE CROPPING SYSTEM

Keywords: Pig slurry, nitrogen, double cropping, forage, quality, crude protein.

Abbreviations:

DM: dry matter

PS: pig slurry

NVZs: nitrate vulnerable zones

CP: crude protein

DP: digestible protein

CF: crude fibre

ADF: acid detergent fibre

NDF: neutral detergent fibre

ADL: acid detergent lignin

NEL: net energy lactation

NUE: nitrogen use efficiency

RESUMEN

El purín de cerdo se aplica ampliamente como fertilizante en sistemas de cultivo forrajero en zonas vulnerables a la contaminación por nitratos del NE de España. Se llevó a cabo un ensayo de seis años con una rotación de doble cultivo anual de maíz y triticale en un área mediterránea subhúmeda de secano. Se aplicaron cuatro dosis diferentes de N (0, 170, 250 y 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹) para evaluar su efecto sobre el rendimiento de materia seca, la calidad de los forrajes y la concentración de elementos minerales en los cultivos. Para la fibra bruta, la fibra ácida detergente, la fibra neutra detergente, la lignina ácida detergente y la energía neta de lactación, no hubo diferencias significativas entre los

tratamientos de fertilización. Sin embargo, el contenido en proteína bruta y proteína digestible dependió de la dosis de fertilizante aplicado. El contenido total medio de proteína bruta (maíz + triticale) con la dosis de 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹ (139,9 g kg⁻¹ de MS) fue significativamente superior que cuando se aplicaron 250 y 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ (130,7 y 124,6 g kg⁻¹ de materia seca, respectivamente). P, K, Ca y Mg no fueron afectados por la dosis de fertilización aplicado ni en el maíz ni en el triticale. La eficiencia del uso del nitrógeno (maíz + triticale) con las dosis de 330 y 250 kg N ha⁻¹ año⁻¹ fue de aproximadamente un 43 y 25%, respectivamente, inferior a la obtenida cuando fueron aplicados 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Los resultados sugieren que, las dosis de fertilización superiores a las legalmente permitidas por la Directiva de nitratos en zonas vulnerables a la contaminación por nitratos, pueden resultar en mejores rendimientos y contenidos de CP, sin embargo, con la aplicación de estas dosis altas de N, disminuyó la NUE en sistemas de doble cultivo, en condiciones subhúmedas mediterráneas.

ABSTRACT

Pig slurry (PS) is widely applied as fertilizer in forage cropping systems in nitrate vulnerable zones (NVZs) of the NE of Spain. A six-year trial was conducted in a maize-triticale double cropping forage rotation in a rainfed sub-humid Mediterranean area. Four different N rates, in the form of PS, were applied (0, 170, 250 and 330 kg N ha⁻¹ year⁻¹), to evaluate their effect on DM yield, forage quality and mineral element concentrations of the crops in the rotation. The corresponding PS rates were defined as zero (PS 0), low (PSL) medium (PSM) and high (PSH). The average annual dry matter (DM) yields (maize + triticale) for the different annual PS fertilization treatments (PS0, PSL, PSM and PSH) were statistically different respective values of 12.6, 17.7, 20.2 and 22.0 Mg DM ha⁻¹. For crude fibre (CF), acid detergent fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF), acid detergent lignin (ADL) and net energy lactation (NEL), there were no significant differences among

PS treatments. However, crude protein (CP) and digestible protein (DP) concentration depended on the PS rate applied. Total average CP content (maize + triticale) in the PSH treatment (139.9 g kg⁻¹ of DM) was significantly higher than in the other PSM and PSL treatments (130.7, 124.6 and g kg⁻¹ of DM, respectively). P, K, Ca y Mg plant concentration were not affected by PS fertilization rate in both maize and triticale. Total nitrogen use efficiency NUE (maize + triticale) in the PSH and PSM treatments were approximately 43 and 25%, respectively lower than those to the PSL treatments. The results suggest that the application of N, in the form of PS, at rates higher than the legally permitted by the Nitrates Directive in NVZs, may result in better yields and CP contents, however they decreased the NUE in double-cropping systems, practiced in rainfed sub-humid Mediterranean conditions.

1. Introduction

Intensive pig farming has developed significantly in many areas of Europe in the most recent decades. In particular, in Mediterranean areas this animal production has an important economic impact. At the same time, the resulting pig slurry (PS) is a valuable source of nitrogen (N) for crops (Daudén et al., 2004), and also P, K and micronutrients. These nutrients can potentially be used as a source of fertilizer and might be important by-products of livestock production when they are effectively managed and used for crop production (Ul-Allah et al., 2014). If they are used appropriately, PS can fully or partially replace significant amounts of mineral fertilizers depending on the crop, the soil type and the climate (Berenguer et al., 2008; Jensen et al., 2000; Yagüe and Quílez, 2010). In many European areas PS is a commonly used as fertilizers in the agricultural land being the cheapest solution for their disposal. An effort to adequately manage PS must be done to avoid environmental and health hazards (Hernández et al., 2013), which is one of the main issues affecting N over fertilization in Europe. For this reason, in the European

Union (EU) farming practices are restricted by limiting to a maximum of 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹ the application of N arising from livestock manures and slurries in nitrate vulnerable zones (NVZs) (EEC, 1991).

A double-cropping forage system (summer crop - winter crop) is widely followed in rainfed areas with an intensive agricultural management system. In NE Spain it is normally associated with intensification of dairy farming systems where animals are fed with the forages produced in the farm. In fact, in order to maximize the amount of feed energy produced per unit area, and to reduce forage and manure transportation, farmers tend to cultivate double-cropping for forages in the areas surrounding the dairy cattle sheds (Tomasoni et al., 2011; Borrelli et al., 2014). This practice also has economic advantages, because mineral N fertilizer alone is seldom applied due to the high amounts of PS available in these regions.

Amount of N fertilizer application to maximize both yield and nutritive value of crop silage are also not unequivocal in the literature. Cox and Cherney (2001) found that N fertilizer consistently increases N content of maize forage but its effect on fiber were less consistent. Significant effects of nitrogen fertilizer on forage qualities of oat (Iqbal et al., 2013; Collins et al., 1990), sorghum (Restelatto et al., 2014), switchgrass (Lemus et al., 2008) and forage corn (Keskin et al., 2005) have been reported. In Mediterranean areas, several authors have analysed N fertilizer effects on production and forage quality mainly in maize (Carpici et al., 2010), and rangeland (Balabanli et al., 2010), being the information scarce in the literature in the case of double cropping systems (Tomasoni et al., 2011).

However, inconsistent results have been reported on the effects of fertilization on crude protein (CP), neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF) concentrations. Min et al. (2002) reported that application at high rates of N increased CP

concentration compared with the control treatment, but ADF and NDF were not affected. Others authors also reported that NDF concentration of grasses decreased when increasing N fertilization rate (Johnson et al., 2001; Adeli et al., 2005). However, Belanger and McQueen (1998) observed that an increase in NDF concentration with increasing N fertilization. Other researchers reported that the increased of N fertilization had almost no effect on NDF concentrations (Anderson et al., 1993; Rogers et al., 1996; Cuomo and Anderson, 1996).

On the other hand, forage and animal scientists are also aware of the importance of the mineral concentrations of forages, mainly of Ca, Mg and K (Kidambi et al. 1989). Nevertheless, research is limited on how PS fertilization rate affects mineral element (Mut et al., 2006; Kering et al., 2011; Albayrak and Turk, 2011).

The objective of this study was to evaluate and compare the effects of PS fertilizers on the forage quality indicators and mineral element concentrations of a six-year double cropping system under rainfed sub-humid conditions of the Mediterranean area.

2. Material and methods

2.1 Experimental site and crop management

A field plot trial was conducted in Torelló, Spain (42° 02' 01" N, 02° 15' 12" E; altitude 485 m a.s.l.) over six seasons from 2006-2007 to 2011–2012. The double cropping annual forage rotation was the common one used in the area with maize (*Zea mays* L.) and triticale (*Triticosecale* Withmack) as crops.

The site is characterized by a sub-humid Mediterranean climate with an average annual rainfall of 651 mm (1985-2006) and an average annual temperature of 13.1°C. The climate is characterized by significant dry periods in winter and summer and two main rainy periods, in spring and autumn. Crops are usually grown under rainfed

conditions. In this experiment, plots were not irrigated. An automated weather station close to the experimental field (Meteorological Observatory of Torelló) registered daily maximum and minimum temperatures, precipitation and air humidity. Monthly mean temperatures and monthly precipitation during the experiment are shown in Fig. 1.

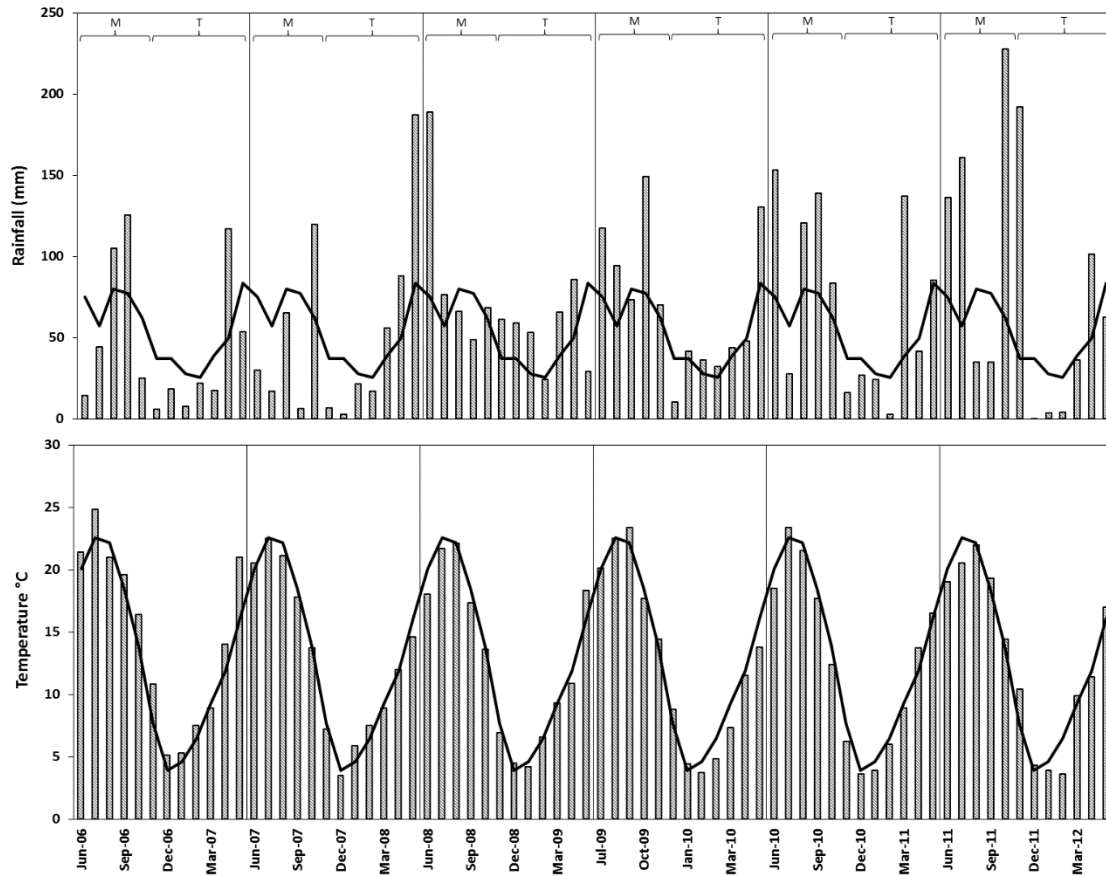


Fig. 1. Mean air temperature and total monthly precipitation, for the experimental period (2006–2012). Historical periods (1985–2006) are shown as solid lines. (M: maize; T: triticale).

Total precipitation recorded during the trial period was highly variable between the six experimental seasons taking into account the sum of rainfall of both summer (June–October) and winter crops (November–May) with a maximum of 994 mm in 2011/12 and a minimum of 555 mm in 2006/07. For the period 2006–12, the annual average temperature was 13.2°C, with a maximum of 14.0 °C in 2006/07 and a minimum of 12.6 °C in 2009/10 (Fig.1). The soil is a well-drained loam, calcareous and moderately-alkaline pH. The main soil properties of the field site are presented in Table 1.

Table 1. Selected soil properties for the different depths at the beginning of the experiment (2006).

	Depth		
	0-30 cm	30-60 cm	60-90 cm
pH	8.3	8.3	8.3
EC 1:5 (dS m ⁻¹)	0.22	0.15	0.17
Organic matter (%)	1.75	1.23	0.88
Nitric Nitrogen (mg NO ₃ ⁻ -N kg ⁻¹)	6.46	4.76	7.70
N (%)	0.13	0.10	0.06
C:N ratio	7.45	6.70	5.70
P (mg kg ⁻¹)	34	22	11
K (mg kg ⁻¹)	197	79	62
Sand (%)	31.7	32.1	34.6
Silt (%)	47.2	44.9	44.9
Clay (%)	21.1	23	20.5

Maize and triticale rotation was managed according to the common farming practices normal in the area. Summer cereal (maize) is normally seeded in June after the harvest of the winter cereal (triticale, wheat or barley), which is usually seeded in October-November after harvesting the maize (Table 2). Additional details of the cropping practices are given in Ovejero et al. (2016) (Capítulo 1).

Table 2. Sowing and harvest dates for the study period (2006–2012).

Growing season	Maize		Triticale	
	Sowing	Harvest	Sowing	Harvest
2006-2007	06/02/06	10/11/06	11/10/06	05/25/07
2007-2008	06/11/07	^a	10/27/07	05/30/08
2008-2009	06/30/08	10/27/08	11/16/08	06/10/09
2009-2010	06/25/09	10/29/09	11/05/09	06/03/10
2010-2011	06/18/10	10/19/10	10/30/10	05/28/11
2011-2012	06/22/11	10/10/11	10/26/11	06/04/12

^a Maize crop failed in this growing season due to shortage of rainfall during the summer.

2.2 Experimental design

The experimental design was a randomized block with four PS treatments and three replications. The plot surface was 480 m², to allow common commercial farm machines to be used. Before the experiment started, the field was conventionally fertilized with PS for a period of more than 15 years. The fertilizer applications were randomized in the first year and applied to the same plots thereafter. The four levels of N in the form of PS were: zero (PS0), low (PSL): 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹, medium (PSM): 250 kg N ha⁻¹ year⁻¹ and high (PSH): 330 kg N ha⁻¹ year⁻¹. The PS was applied twice a year in the PSH and PSM treatments and once a year in PSL, just before the sowing of the crops (Table 3). In control plots (PS0), only 80 kg K₂O ha⁻¹ year⁻¹ were applied entirely before sowing maize, in order to avoid deficits in K. No fertilization with phosphorus was applied throughout the experiment in the PS0 treatment, as the levels of this element in the soil were sufficient for the correct development of both crops (Table 1).

The pig slurry was collected every year from a pig-fattening farm close to the experimental site. The slurry in the storage pit was stirred the day of application and pumped to a tanker equipped with a splash plate. The PS was applied by surface spreading and incorporated several hours after, by a pass of a cultivator into the top 15 cm of soil. During application, the tank of the spreader was calibrated to apply the target PS rates by measuring the electrical conductivity and density of PS in order to adjust the speed of the tractor.

Table 3. Description of the target fertilization treatments. PS fertilizers were applied at sowing in winter and summer crops according to the double-annual cropping system (maize-triticale).

Treatment	Description	Maize at sowing (kg N ha ⁻¹)	Triticale at sowing (kg N ha ⁻¹)	Total PS (kg N ha ⁻¹)
PS0	Control	0	0	0
PSL	Pig slurry low rate	170	0	170
PSM	Pig slurry medium rate	170	80	250
PSH	Pig slurry high rate	250	80	330

2.3 Slurry, soil and plant analysis.

A composite slurry sample was taken in the field from each tank before application, and the samples were frozen and stored at -20°C until they were analysed in a reference laboratory. The following analytical methods were used: pH by potentiometry (1:5; slurry: distilled water), electrical conductimetry at 25°C, gravimetric dry matter content at 105 °C, organic matter by calcination at 550°C, organic nitrogen by the Kjeldahl method, and ammonium nitrogen by distillation and titration according to methods 4500-NH₃ B-C from APHA (2012). Total phosphorus and potassium were analysed by acid digestion (wet) and further determined using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (USEPA, 1992). The real amount of N applied and taken into account for calculations in this paper, was established according to the physiochemical characteristics of the PS (Table 4).

Table 4. Average physicochemical characteristics of pig slurry applied from 2006 to 2012 in the experimental field.

Parameter	Average from 2006 to 2012
pH	8,4 ± 0,2
Electrical conductivity (dSm ⁻¹)	21,6 ± 3,5
Dry matter (kg DM Mg ⁻¹)	69 ± 20
Organic matter (kg OM Mg ⁻¹)	50,9 ± 16,4
Ammonium-N (kg N m ⁻³)	3,4 ± 0,8
Organic N (kg N m ⁻³)	1,7 ± 1,0
Total N (kg N m ⁻³)	5,1 ± 1,4
P (kg m ⁻³)	1,5 ± 0,5
K(kg m ⁻³)	2,8 ± 0,8

Soil NO₃⁻-N content was determined in each growing season just before PS fertilization at sowing of each crop (October and June). For each plot, a mixture of two soil cores at 0.30-m intervals to a depth of 0.90m were mixed to obtain a composite soil sample. Three composite samples were thus analysed per plot for each sampling time. Soil nitrate were analysed in a certified laboratory by colorimetric method (Kempers, 1974).

Total fresh crops yield was obtained directly in the field by harvesting a central row of the maize and triticale (32m x 4, 2m and 30, 4m x 2, 25 m, respectively) of each plot with a commercial reaping-chopping machine. For the dry matter (DM) determination, a crop subsample per plot was collected and stored at 4°C for a maximum of 48 h before analysing DM contents, forage quality parameters and mineral element concentrations. The DM was determined by drying the wet forage at 60°C for 48 hours. N, digestible protein (DP), crude fibre (CF), acid detergent fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF), acid detergent lignin (ADL) and net energy lactation (NEL) contents were determined with near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), previously calibrated. P, Ca, Mg and K contents of samples were determined using inductively coupled plasma atomic

emission spectroscopy (ICP-AES) (USEPA, 1992). Crude protein (CP) content was calculated by multiplying total N by 6.25 constant (AOAC, 1980). In the 2006 maize growing season, only was measured the N content and consequently the CP content. However, in 2007 maize growing seasons, none of the parameters indicated previously were measured because of the maize failed to grow. The nitrogen use efficiency (NUE: Kg kg^{-1}) was calculated, for each crop, as kg DM per kg of N applied (Islam and García, 2012).

2.4 Statistical analysis

Statistical analyses of the data were performed using the IBM SPSS statistical software for Windows, version 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). A mixed-design analysis of variance model (ANOVA), taking into account the growing seasons as repeated measures, was carried out to evaluate the response of the variables measured to PS fertilization. In the mixed-design ANOVA model, the PS treatment was a between-subjects variable (a fixed effects factor) and the growing season was a within-subjects variable (a random effects factor). DM yield analysis was done separately for each crop and year (one-way ANOVA) in order to detect differences associated with fertilization treatment. If Anova test resulted in statistically significant differences, Duncan`s test was performed in pairwise comparisons. A confidence level of 95% was selected for all statistical comparisons. CP data for maize and triticale were plotted against initial soil NO_3^- -N content + N applied. Linear, quadratic, power, and logarithmic equations were tested for their suitability to describe the relationship between CP response and initial soil NO_3^- -N content + N applied. The equation with the highest coefficient of determination (r^2) value was judged the most appropriate. In these regression equations, CP was the dependent variable (y) and the initial soil NO_3^- -N content + N applied the independent

variable (x). The relationship between variables was established with a regression analysis ($p < 0.05$).

3. Results

3.1 DM yield

Total average DM yield (maize + triticale) was affected by PS fertilizer rate, growing season and its interaction (Table 5). In this rainfed system, the yield response to PS treatments varied between years due to the climatic factors, mainly rainfall and its distribution (Fig.1). The overall mean DM yields differed significantly across cropping systems.

Average maize DM yield varied greatly with the growing season, ranging from 4.6 to 14.2 Mg ha⁻¹ in the 2006/07 and the 2011/12 growing seasons, respectively (Table 6). No maize was harvested in 2007 because it failed to grow due to a shortage of rainfall during that summer.

Triticale DM yields were affected significantly by the PS fertilization rate and the growing season and its interaction (Table 5). Average triticale DM yield for the six-year trial in the PSH and PSM treatments was 13.3 and 12.3 Mg ha⁻¹, respectively, whereas in maize these PS treatments yielded 10.5 and 9.4 Mg ha⁻¹, respectively. However, when no PS was applied, as it happened in PS0, the average DM yield in maize (8.1 Mg ha⁻¹) was 32% higher than in triticale (6.1 Mg ha⁻¹) (Table 6). In the 2007/08 triticale growing season the only significant differences were observed between control plots (PS0) and the remaining treatments. In addition, in the 2011/12 growing season the only significant differences were found between PS0 and the PSL and PSM treatments. In contrast, in the 2006/07 growing season, triticale DM yield did not respond to applied PS (Table 6).

Six-year average total annual DM yields (maize + triticale) for the different PS fertilization rates were statistically different among the PS0, PSL, PSM and PSH treatments (Table 5). In 2007/08 maize crop failed and the total yield in this growing season only corresponds to triticale (Table 6). In the 2007/08 and 2011/12 growing seasons, the only significant differences were observed between control plots (PS0) and the remaining treatments. In contrast, in 2006/07, which it was the driest growing season, total DM yield did not respond to applied PS (Table 6).

Table 5. Average of DM yield (Mg ha⁻¹), crude protein (CP), digestible protein (DP), crude fibre (CF), acid detergent fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF), acid detergent lignin (ADL), net energy lactation (NEL) during the experimental period (2006-2012). All of them (g kg⁻¹ DM), except NEL (Mcal kg⁻¹).

Crop	Treat ^a	DM Yield	CP	DP	CF	ADF	NDF	ADL	NEL
Maize	PS0	8,1b	69,0b	43,7b	188,6	208,1	419,6	17,9	1,7
	PSL	9,5a	77,0 a	50,7a	186	210,2	417,8	19,8	1,69
	PSM	9,4a	80,1a	53,7a	178,7	204,2	411	19,5	1,71
	PSH	10,5a	80,7a	54,5a	178	202,7	409,4	19,8	1,71
Mean		9,4	76,7	50,7	182, 8	206,3	414,5	19,1	1,7
ANOVA									
Treat		*	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Growing season		***	***	**	***	***	***	***	***
Treat*Growing season		NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
Triticale	PS0	6,1c	55,7c	33,7c	295,4	344,8	597,9	43,8	1,26
	PSL	9,8b	60,5bc	35,2bc	295,1	343,3	595,9	42,8	1,26
	PSM	12,3a	63,9b	38,1b	302	350,9	607	45,1	1,24
	PSH	13,3a	72,6a	43,6a	298,8	349,3	603,4	43,5	1,24
Mean		10,4	63,2	38	297,8	347,1	601,1	43,8	1,25
ANOVA									
Treat		***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Growing season		***	***	***	***	***	***	***	***
Treat*Growing season		***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Maize + Triticale	PS0	12,6d	113,2c	62,8d	421,1	483,5	877,7	55,7	2,39
	PSL	17,7c	124,6b	68,3c	419,1	483,4	874,4	56	2,39
	PSM	20,2b	130,7b	73,9b	421,2	487,1	881	58,1	2,38
	PSH	22,0a	139,9a	79,9a	417,4	484,5	876,3	56,3	2,38
Mean		18,2	127,1	71,2	419,7	484,6	877,4	56,5	2,39
ANOVA									
Treat		***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS
Growing season		***	***	***	***	***	***	***	***
Treat*Growing season		***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

^aAcronyms of treat (treatments) are described in Table 3.

NS: not significant. *, ** and *** significant at 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively.

Within columns, different letters indicate significant differences between treatments according to Duncan's multiple range test (p < 0.05).

Table 6. Yield during the experiment and the average values from 2006 to 2012.

Crop	Treatment ^a	Yield (Mg DM ha ⁻¹)					
		2006	2007 ^a	2008	2009	2010	2011
Maize	PS0	5.1	-	8.4b	6.2	7.0c	13.7
	PSL	4.3	-	10.1ab	8.1	10.9b	14.1
	PSM	4.5	-	10.8a	7.6	10.2b	14.0
	PSH	4.8	-	11.8a	8.4	12.5a	14.8
	Mean	4.6	-	10.3	7.6	10.1	14.2
	Significance Treat	NS	-	*	NS	**	NS
Triticale	PS0	8.1	6.7c	7.9c	4.8c	4.7c	4.5b
	PSL	10.4	9.8b	11.7b	9.1b	10.0b	8.0ab
	PSM	9.8	10.7b	14.0a	13.1a	15.2a	11.0a
	PSH	11.2	11.5a	16.1a	13.7a	16.4a	11.0a
	Mean	9.9	9.7	12.4	10.2	11.5	8.6
	Significance Treat	NS	***	***	***	***	*
Maize + Triticale	PS0	11.7	6.7b	16.3d	10.9c	11.7d	18.2b
	PSL	14.7	9.8a	21.8c	17.2b	20.8c	22.1a
	PSM	14.3	10.7a	24.9b	20.7a	25.3b	25.0a
	PSH	16.0	11.5a	27.9a	22.1a	28.9a	25.8a
	Mean	14.2	9.7	22.7	17.7	21.7	22.8
	Significance Treat	NS	***	***	***	***	**

^aAcronyms of treatments are described in Table 3.

NS: not significant. *, ** and *** significant at 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively.

^a Maize crop failed in this growing season due to shortage of rainfall during the summer.

Within columns, different letters indicate significant differences between treatments according to Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

3.2 Forage quality parameters

Table 5 summarizes the effect of the different PS treatments on the forage quality parameters evaluated tested in the field trials. For most of the parameters, there were no significant differences ($p < 0.05$) due to the application of the among the PS fertilization treatments. Moreover, no clear trend was observed in most of the forage quality over six-year study according to the PS treatment applied, the exceptions being the crude protein (CP) and digestible protein (DP) content for both maize and triticale.

Total average CP and DP concentration (maize + triticale) were influenced by the PS fertilization rate and the growing season. However, no interaction was detected between these two variables neither in CP nor in DP. Total average CP content in the PSH treatment was significantly higher than in the other PSM, PSL and PS0 treatments. Average DP contents (maize + triticale) throughout the experiment for the different PS fertilization rates were statistically different among the PS0, PSL, PSM and PSH treatments (Table 5).

CP and DP contents were affected by the PS fertilizer rate and the growing season either in maize or triticale. The forage CP contents of the treatments varied greatly, increasing significantly when PS was applied. Average maize CP and DP content throughout the trial was higher than in triticale (Table 5). Regarding maize CP content, only were found significant differences between PS0 and the other PS treatments (Table 5), similar maize CP content was observed among the PSH, PSM and PSL treatments. In triticale, when taking into account the six-year average, CP content and DP in PSH were significantly higher than the remaining treatments (Table 5).

3.3 Mineral element concentrations

The average (six year) content of the mineral element are presented in Table 7. There were no significant differences between PS treatments in the content of the macronutrients either in maize or in triticale.

In general, the macronutrients content by the maize was slightly higher than in triticale crop (Table 7). Only in K concentration content by triticale there was an interesting trend during the study. Average K content in triticale in the PSH and PSM treatments was about 22% higher than in the PSL and PS0 treatments (Table 7).

Table 7. Analysis of variance and average of mineral element concentrations (% on DM) during the experimental period.

Crop	Treatment^a	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Maize	PS0	0,21	1,00	0,31	0,16
	PSL	0,19	0,91	0,3	0,16
	PSM	0,21	0,98	0,32	0,17
	PSH	0,21	1,02	0,31	0,16
ANOVA					
Block		NS	NS	NS	NS
Treat		NS	NS	NS	NS
Growing season		***	***	***	***
Treat*Growing season		NS	NS	*	*
Triticale	PS0	0,17	0,75	0,26	0,07
	PSL	0,15	0,78	0,28	0,07
	PSM	0,16	0,93	0,27	0,08
	PSH	0,17	0,94	0,28	0,08
ANOVA					
Block		NS	NS	NS	NS
Treat		NS	NS	NS	NS
Growing season		***	***	***	***
Treat*Growing season		NS	NS	*	*

^aAcronyms of treatments are described in Table 3.

NS: not significant. *, *** significant at 0.05, and 0.001 levels, respectively.

3.4 Soil NO₃⁻-N content

The evolution of soil NO₃⁻-N content during the experiment is presented in Table 8. A great variation in soil NO₃⁻-N content was observed throughout the growing seasons according to the amount of PS applied to the previous crop. The highest levels of soil NO₃⁻-N content were observed in October 2007 after maize, as N uptake during the growing season was negligible in that year due to the failure of maize. The soil NO₃⁻-N levels were considerably higher after maize (October) than after triticale (June) in each growing season for the different PS rates. After 2009, a general decline in soil NO₃⁻-N content was observed each year, which was more notable in June than in October (Table 8).

Relationships between the sum of initial soil NO₃⁻-N content + N applied by PS fertilization (sometimes called available N) and the CP during the six-year study for each crop are presented in Fig. 2. Regression analysis showed significant relationship between CP and soil NO₃⁻-N content + N applied in each crop being less marked in maize than in triticale.

Table 8. Evolution of soil NO₃⁻ content (kg NO₃⁻-N ha⁻¹) during the experiment and the average values from 2006 to 2012, after triticale harvest (June) and after maize harvest (October). Depth 0-90 cm.

Treatment ^a	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012
	June ^a	Oct	June	Oct	June	Oct	June	Oct	June	Oct	June	Oct	June
PS0	85	84	50	146	48	93	14	25	22	20	10	22	22
PSL	85	123	57	323	68	178	21	99	25	70	10	40	32
PSM	85	131	93	332	80	154	31	166	36	89	19	77	42
PSH	85	162	160	637	243	217	38	151	27	122	18	116	46
Means	85	125	90	359	110	161	26	110	27	75	14	64	35

^aAcronyms of treatments are described in Table 3.

^a Same initial level in each treatment corresponds to initial soil analysis.

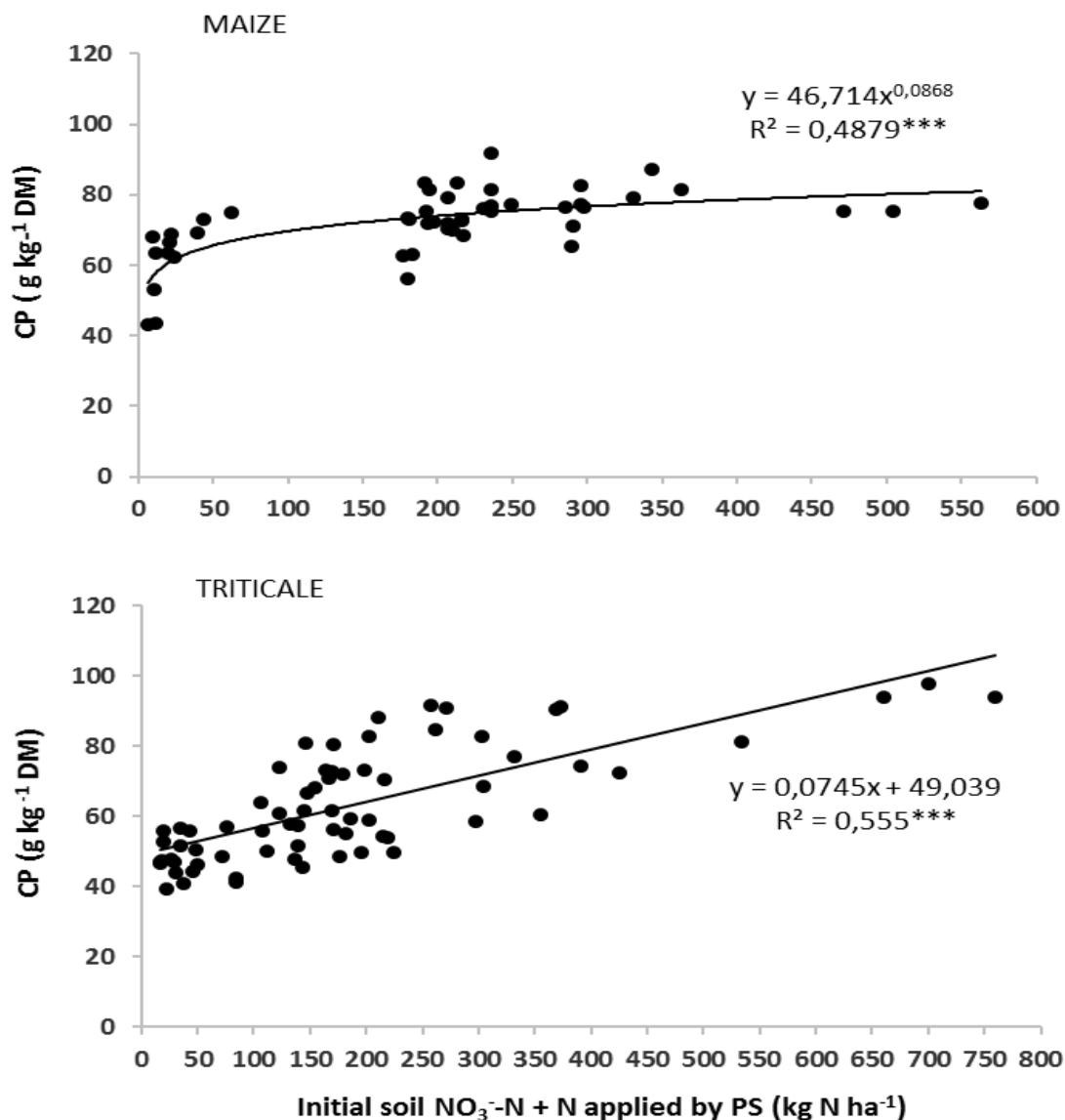


Fig. 2. Relationships between CP and initial soil NO₃⁻-N + N applied by PS fertilization for each crop in the six-year study. *** Significant at 0.001 levels.

3.5 Nitrogen use efficiency

Across the experiment and according to the sum of both maize and triticale forage yields, differences were found in NUE due to the PS fertilization rate and the growing season and its interaction (Table 9). When increasing the N rates, in the form of PS, from PSL to PSM to maize+ triticale, NUE decreased significantly from 109.4 to 82.2 kg per kg of N applied, respectively. Similarly, total average NUE for the PSM treatment were approximately 32% higher than in the PSH treatment (62.2 kg kg⁻¹) (Table 9).

With reference to maize, average NUE was not significantly different between PS treatments. In contrast, in triticale, NUE depended on the PS fertilization rate and the growing season, but no interaction was detected. Average triticale NUE in the PSH treatment (38.2 kg kg⁻¹) was about 50% lower than in the PSM and PSL treatments (56.8 and 57.1 kg kg⁻¹, respectively). In general, average triticale NUE was over three times higher than this for maize (158.5 and 50.7 kg kg⁻¹, respectively) (Table 9).

Table 9. Analysis of variance and average of nitrogen use efficiency (NUE: kg kg⁻¹) during the experimental period.

Treatment ^a	Maize	Triticale	Maize + Triticale
PSL	57,1a	a	109,4a
PSM	56,8a	152,4	82,2b
PSH	38,2b	164,7	62,2c
Mean	50,7	158,5	84,6
ANOVA			
Treat	**	NS	***
Growing season	***	***	***
Treat*Growing season	NS	NS	**

^aAcronyms of treatments are described in Table 3.

^aPSL: no PS fertilization was applied at this time in triticale

NS: not significant, ** and *** significant at 0.01 and 0.001 levels, respectively.

Within columns, different letters indicate significant differences between treatments according to Duncan's multiple range test (0.05).

4. Discussion

4.1 DM yield and N use efficiency

In Ovejero et al. (2016), we discussed the DM yield, but in this paper is important to consider it in order to understand better the forage quality.

Due to major variations in rainfall during its growth, maize DM yields varied greatly throughout the six-year experiment. The yield variability could be due to the irregular annual rainfall distribution (Fig. 1) which is usual in the rainfed systems, as reported by other authors (Trindade et al., 2009). A combination of very low precipitation and high

temperatures in some years during June and July, can lead to a decrease in maize DM yield. In maize, it is known that drought during the reproductive stage affects grain production (Di Paolo and Rinaldi, 2008). In 2007, the low precipitation during the growing season (June- October: 237.5 mm) was insufficient for crop growth (Fig.1). This fact, suggests that other more drought -tolerant crops such as forage sorghum should be further considered in the crop rotation.

In general, our maize DM yields, in double cropping can be considered very low compared to those of other areas under irrigation, such as the Po Valley in Northern Italy (Grignani et al., 2007; Borrelli et al., 2014) or other rainfed areas (Lloveras, 1987; Trindade et al., 2009; Perramon et al., 2016). The six-year average DM in triticale was higher than in maize. The highest triticale DM yields obtained in the PSH treatments (13.3 Mg ha⁻¹), were close to maximum values found in other areas under similar environmental conditions of 16.3 in Delogu et al. (2002), 14.78 in Mut et al. (2006) and 16.3 Mg ha⁻¹ in Bilgili et al. (2009). Our triticale DM yields were even higher than the productions obtained in other similar systems of 10.7 in Lithourgidis et al. (2006) and 12.5 Mg ha⁻¹ in Budakli et al. (2014), respectively. Increase in DM yields due to N fertilization is well documented by many authors (Power, 1986; Hall et al., 2003; Scarbrough et al., 2004).

Taking into account the average the six-year trial, when applying 330 kg N ha⁻¹ year⁻¹ the largest total DM yields (maize + triticale) were achieved. These results are in agreement with Trindade et al. (2009) who reported that in some double cropping systems, located in NVZs, may result efficient the utilization of greater amounts of slurry-N. Similarly, Perramon et al. (2016) concluded that manure rate with 250 kg N ha⁻¹ year⁻¹ should be considered in the framework of the legislation concerning fertilization in NVZs to be applied in high N-demanding double- cropping systems.

Nitrogen-use efficiency (NUE) considerations are also important owing to the high amounts of N required by forage crops to achieve its potential high biomass yield. Double annual cropping systems compared with a monoculture allow better N use efficiency (Zavattaro et al., 2012) and yield increments, as described for maize by Borrelli et al. (2014). In triticale, NUE, was considerably great compared to maize. This high N efficiency in triticale, could be due to use of residual soil NO_3^- -N from the preceding crop, which includes organic matter mineralization from the PS applied to it (Yagüe and Quílez, 2013). Improved prediction of the rate of mineralization is required in order that this N can be used effectively (Trindade et al., 2001). Therefore, recommendations for fertilisation should not be based on fixed rates of N applications in the form of PS. Testing initial soil NO_3^- -N previous PS fertilization could help to produce more accurate N fertiliser recommendations. According to our results, fertilization rates above the legally permitted by the Nitrates Directive 91/676 (EEC, 1991) in NVZs decreased the NUE. Total NUE (maize + triticale) in the PSH and PSM treatments were approximately 43 and 25%, respectively lower than those to the PSL treatments. Further experiments are needed for improving the N-efficiency, including band spreaders to the detriment of the broadcast spreaders for slurry application in order to decrease ammonia volatilization.

4.2 Forage quality parameters

Precipitation was highly variable between growing season for the two crops (Fig.1). Despite variability in weather, PS fertilization consistently had a positive impact on CP content. CP content of forage is one of the most important criteria for DM forage quality evaluation (Caballero et al., 1995; Assefa and Ledin, 2001). An increase in CP content due to N fertilization has also been reported in numerous studies (Rubio et al., 1996; Gillen and Berg, 1998; Guevara et al., 1997; Marsalis et al., 2010; Rostamza et al., 2011; Restelatto et al., 2014). The highest average CP contents in maize were obtained when

PSH and PSM were applied. In addition, the CP content in PSH and PSM, respectively were about 4% higher than in PSL, being this small difference significant.

The triticale CP content in PSH throughout the six-year trial was approximately 13 and 20 % higher than in PSM and PSL, respectively. The CP contents of triticale used in the present study were similar to those reported by several researchers in Mediterranean-type climates (Buyukburc and Karadag, 2002; Lithourgidis et al., 2006; Bilgili et al., 2009). Delogu et al. (2002) reported higher CP contents (108 g kg⁻¹ of DM) in the mean of nine triticale varieties in the Po Valley (Northern Italy).

PSL represented the amount of N provided by organic materials that the EU Nitrates Directive allows to be applied in nitrate vulnerable zones (170 kg N ha⁻¹ year⁻¹) (EEC, 1991). The highest total CP contents (maize + triticale) could not be achieved whether only 170 kg N ha⁻¹ year⁻¹ are applied taking it into account this normative. This limit seems reasonable if only one crop is cultivated annually, but in double cropping, there is a considerable increase in N demand, and this limit may prevent appropriate nutrient supply (Perramon et al., 2016). Indeed, the EU has allowed derogations of the Directive concerning this specific aspect (Van der Straeten et al., 2012), and in some regions or countries it allows the application of higher N amounts of organic origin, up to a maximum of 250 kg N ha⁻¹ year⁻¹ (EEC 2005, 2006, 2007a,b, 2008, 2011). On the other hand, maize and triticale CP content were both clearly influenced by initial soil NO₃⁻-N and PS fertilization rates (Fig. 2). This suggests that PS fertilization should be based on initial soil NO₃⁻-N levels and could be considered a good tool for improving N fertilization recommendations.

Possible modifications of the present cropping system that should be studied in order to improve the CP content include: (i) use of other maize and triticale varieties; (ii) timing of slurry application, avoiding the spreading of slurry at the sowing of the winter crop

and delaying the application to this crop till late winter; and (iii) changes of the rate of PS taking into account the crop N requirements.

Other important quality characteristics for forages are the concentrations of fibres (NDF and ADF) (Haferkamp et al., 1987; Karn et al., 2006). Contrarily to CP, these parameters are expected to be present in low levels to a better forage quality. In present study, NDF was not affected by PS rates either maize or triticale. Others authors also reported that increased N fertilization had almost no effect on NDF concentrations (Anderson et al., 1993; Rogers et al., 1996; Cuomo and Anderson, 1996; Min et al., 2002). In contrast to these results, Johnson et al. (2001) and Adeli et al. (2005) reported that NDF concentration decreased with increasing N fertilization rate. On the other hand, Belanger and McQueen (1998) observed that, an increase in NDF concentration with increasing N fertilization.

In the case of ADF, similar to maize, analysis of variance revealed no effect of PS fertilization on the concentration of this component. This lack of significant differences agrees with other studies (Castro et al., 2000; Cazzato et al., 2013). However, other studies contradict these results and the ADL was influenced significantly by N fertilization, being the highest ADL values obtained from plots without N (Balabanli et al., 2010; Albayrak and Turk, 2011).

4.3 Mineral element concentrations

In our six-year trial N supply by slurry did not affect mineral element concentrations in both maize and triticale. However, Albairak and Turk (2011) reported that nitrogen treatments significantly increased P and K concentration while they decreased Ca and Mg content. In this way, Kering et al. (2011) found that, except for forage K concentration,

N application significantly increased forage P, Mg, and Ca concentrations in bermudagrass in the southern of United States.

5. Conclusions

In our six-year study of a triticale-maize double-annual cropping system, the best overall (maize + triticale), N rate in the form of PS, necessary to achieve the highest DM yields, was when applying 330 kg N ha⁻¹ year⁻¹. The most of the forage quality parameters analysed was not affected by PS fertilization rates. However, CP and DP concentration depended on the PS fertilizer rate, increasing significantly when 330 kg N ha⁻¹ year⁻¹ were applied. Both the CP contents and NUE were influenced by initial soil NO₃⁻-N content. This suggests that PS fertilization should not be based on fixed rates of N applications in the form of PS. Initial soil NO₃⁻-N analysis previous PS fertilization could help to adjust N fertiliser recommendations. After six consecutive years of biannual applications of PS, mineral element concentrations were not influenced by N supply in both maize and triticale and no were found significant differences between PS treatments. In our cropping conditions, the application of N, in the form of PS, at rates higher than the legally permitted by the Nitrates Directive 91/676 (EEC, 1991) in NVZs, decreased the N use efficiency. Taking into account these results, further works are needed to improve N efficiency establishing N management strategies that take into consideration improved fertilizer along with soil and crop management practices.

6. References

Adeli, A., Varco, J.J., Sistani, K.R., Rowe, D.E., 2005. Effects of swine lagoon effluent relative to commercial fertilizer applications on warm-season forage nutritive value. *Agron. J.* 97, 408-417.

- Albayrak, S., Turk, M., 2011. Effects of fertilization on forage yield and quality of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L. Gaertn.). *Bulg. J. Agric. Sci.* 17, 642-648.
- Anderson, M.A., McKenna, J.R., Martens, D.C., Donohue, S.J., 1993. Nitrogen recovery by timothy from surface application on dairy slurry. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 24, 1139-1151.
- APHA, 2012. Nitrogen (ammonia): 4500-NH₃ B, preliminary distillation step and 4500-NH₃ C, titrimetric method. In: Rice, E.W., Bridgewater, L. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, second ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C, pp. 110-111.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1980. *Official Methods of Analysis*, 11th ed. AOAC, Washington, DC, p. 125.
- Assefa, G., Ledin, I., 2001. Effect of variety, soil type and fertilizer on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 92, 95-111.
- Balabanli, C., Albayark, S., Yuksel, O., 2010. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium fertilization on the quality and yield of native rangeland. *Turk. J. of Field Crops* 15, 164-168.
- Belanger, G., McQueen, R.E., 1998. Analysis of the nutritive value of timothy grown with varying N nutrition. *Grass Forage Sci.* 53, 109-119.
- Berenguer, P., Santiveri, F., Boixadera, J., Lloveras, J., 2008. Fertilisation of irrigated maize with pig slurry combined with mineral nitrogen. *Eur. J. Agron.* 28, 635–645.
- Bilgili, U., Cifci, E.A., Hanoglu, H., Yagdi, K., Açıkgoz, E. 2009. Yield and quality of triticale forage. *J. Food Agric. Environ.* 7, 556-560.

- Borrelli, L., Castelli, F., Ceotto, E., Cabassi, G., Tomasoni, C., 2014. Maize grain and silage yield and yield stability in a long-term cropping system experiment in Northern Italy. *Eur. J. Agron.* 55, 12-19.
- Budakli Carpici, E., Celik, N., 2014. Forage yield and quality of common vetch mixtures with triticale and annual ryegrass. *Turk J. Field Crops* 19(1), 66-69.
- Buyukburc, U., Karadag, Y., 2002. The amount of $\text{NO}_3^- \text{N}$ transferred to soil by legumes, forage and seed yield, and the forage quality of annual legume + triticale mixtures. *Turk. J. Agric. For.* 26, 281-288.
- Caballero, R., Goicoechea, E.L., Hernaiz, P.J., 1995. Forage yields and quality of common vetch and oat sown at varying seeding ratios and seeding rates of common vetch. *Field Crops Res.* 41, 135-140.
- Carpici, E.B., Celik, N., Bayram, G., 2010. Yield and quality of forage maize as influenced by plant density and nitrogen rate. *Turk. J. Field Crop* 15, 128-132.
- Castro, M.P., Pineiro, J., Sau, F., 2000. Effect of seeding rates of oats, wheat and common vetch on the yield, botanic composition and nutritive value of the mixture. In: Legumes for Mediterranean forage crops, pastures and alternative uses (Ed. Sulas L). CIHEAM-IAMZ, Zaragoza, pp. 207-211.
- Cazzato E., Tufarelli V., Laudadio V., Stellacci A. M., Selvaggi M., Leoni B., Troccoli C., 2013. Forage yield and quality of emmer (*Triticum dicoccum* Schübler) and spelt (*Triticum spelta* L.) as affected by harvest period and nitrogen fertilization. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B: Soil Plant Sci.* 63 (7), 571-578
- Collins, M., Brinkman, M., Salman, A., 1990. Forage yield and quality of oat cultivars with increasing rates of nitrogen fertilization. *Agron. J.* 82, 724-728.
- Cox, W.J., Cherney, D.J.R., 2001. Row Spacing, Plant Density and Nitrogen Effects on Corn Silage. *Agron. J.* 93, 597-602.

- Cuomo, G.J., Anderson, B.E., 1996. Nitrogen fertilization and burning effects on rumen protein degradation and nutritive value of native grasses. *Agron. J.* 88, 439-442.
- Daudén, A., Quilez, D., Martinez, C., 2004. Residual effects of pig slurry on yield and N uptake of a subsequent wheat crop. *Soil Use Manage.* 20, 156-162.
- Delogu, G., Faccini, N., Faccioli, P., Reggiani, F., Lendini, M., Berardo, N., Odoardi, M., 2002. Dry matter yield and quality evaluation at two phenological stages of forage triticale grown in the Po Valley and Sardinia Italy. *Field Crops Res.* 74, 207-215.
- Di Paolo, E., Rinaldi, M., 2008. Yield response of corn to irrigation and nitrogen fertilization in a Mediterranean environment. *Field Crops Res.* 105, 202-210.
- EEC, 1991. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. *Off. J. Eur. Commun.*, 91/676/EEC.
- EEC, 2005. Commission Decision 2005/880/EC, of 8 December 2005, granting a derogation requested by the Netherlands pursuant to Council Directive 91 /676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, *Off. J. Eur. Communities*, L324.
- EEC, 2006. Commission Decision 2006/1013/EC, of 22 December 2006, granting a derogation requested by Germany pursuant to Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, *Off. J. Eur. Communities*, L382.
- EEC, 2007a. Commission Decision 2007/697/EC, of 22 October 2007, granting a derogation requested by Ireland pursuant to Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, *Off. J. Eur. Communities*, L284.

- EEC, 2007b. Commission Decision 2007/863/EC, of 14 December 2007, granting a derogation requested by the United Kingdom with regard to Northern Ireland pursuant to Council Directive 91 /676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, Off. J. Eur. Communities, L337.
- EEC, 2008. Commission Decision 2008/64/EC, of 21 December 2007, granting a derogation requested by Belgium with regard to the region of Flanders pursuant to Council Directive 91 /676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, Off. J. Eur. Communities, L16.
- EEC, 2011. Commission Implementing Decision 2011/721/EU, of 3 November 2011, granting a derogation requested by Italy with regard to the Regions of Emilia Romagna, Lombardia, Piemonte and Veneto pursuant to Council Directive 91 /676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, Off. J. Eur. Communities, L287.
- Gillen, R.L., Berg, W.A., 1998. Nitrogen fertilization of a native grass planting in Western Oklahoma. *J. Range Manage.* 51, 436-441.
- Grignani, C., Zavattaro, L., Sacco, D., Monaco, S., 2007. Production, nitrogen and carbon balance of maize-based forage systems. *Eur. J. Agron.* 26, 442-453.
- Guevara, J.C., Cavagnaro, J.B., Estevez, O.R., Le Houérou, H.N., Stasi, C.R., 1997. Productivity, management and development problems in the arid rangelands of the central Mendoza plains (Argentina). *J. Arid Environ.* 35, 575-600.
- Haferkamp, M. R., Miller, F.R., Sneva, F.A., 1987. Mefluidide effects on forage quality of crested wheatgrass. *Agron. J.* 79, 637-641.
- Hall, M. H., Beegle, D.B., Bowersox, R.S., Stout, R.C., 2003. Optimum nitrogen fertilization of cool-season grasses in the northeast USA. *Agron. J.* 95, 1023-1027.

- Hernández, D., Polo, A., Plaza, C., 2013. Long-term effects of pig slurry on barley yield and N use efficiency under semiarid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 44, 78-86.
- Iqbal, M., Iqbal, Z., Farooq, M., Ali, L., Fiaz, M., 2013. Impact nitrogenous fertilizer on yield and quality of oat. *Pak. J. Sci.* 65, 1-4.
- Islam, M.R., Garcia, S.C., 2012. Effects of sowing date and nitrogen fertilizer on forage yield, nitrogen- and water-use efficiency and nutritive value of an annual triple-crop complementary forage rotation. *Grass Forage Sci.* 67, 96–110.
- Jensen, L.S., Pedersen, I.S., Hansen, T.B., Nielsen, N.E., 2000. Turnover and fate of N-15-labelled cattle slurry ammonium-N applied in the autumn to winter wheat. *Eur. J. Agron.* 12, 23–35.
- Johnson, R.C., Reiling, B.A., Mislevy, P., Hall, M.B., 2001. Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. *J. Anim. Sci.* 79, 2439-2448.
- Karn, J. F., Berdahl, J.D., Frank, A.B., 2006. Nutritive quality of four perennial grasses as affected by species, cultivar, maturity, and plant tissue. *Agron. J.* 98, 1400-1409.
- Kempers, A. J., 1974. Determination of sub- microquantities of ammonium and nitrates in soils with fenol, sodium nitroprusside and hypochlorite. *Geoderma* 12, 201–206.
- Kering, M.K., Guretzky, J., Funderburg, E., Mosali, J., 2011. Effect of nitrogen fertilizer rate and harvest season on forage yield, quality, and macronutrient concentrations in midland Bermuda grass. *Commun. Soil Sci. Plan.* 42, 1958-1971.
- Keskin, B., Akdeniz, H., Yilmaz, I.H., Turan, M., 2005. Yield and quality of forage corn (*Zea mays* L.) as influenced by cultivar and nitrogen rate. *J. Agron.* 4, 138-141.

- Kidambi, S.P., Matches, A.G., Griggs, T.C., 1989. Variability for Ca, Mg, K, Cu, Zn and K/(Ca+Mg) ratio among 3 wheat grasses and sainfoin on the southern high plains. *J. Range Manag.* 42, 316-322.
- Lemus, R., Brummer, E.C., Burras, C.L., Moore, K.J., Barker, M.F., Molstad, N.E., 2008. Effects of N fertilization on biomass yield and quality in large fields of established switchgrass in Southern Iowa, USA. *Biomass Bioenergy* 32, 1187-1194.
- Lithourgidis, A.S., Vasilakoglou, I.B., Dhima, K.V., Dordas, C.A., Yiakoulaki, M.D., 2006. Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. *Field Crop Res.* 99, 106-113.
- Lloveras, J., 1987. Traditional cropping systems in Northwestern Spain (Galicia). *Agric. Syst.* 23, 259-275.
- Marsalis, M., Angadi, S., Contreras-Govea, F., 2010. Dry matter yield and nutritive value of corn, forage sorghum, and BMR forage sorghum at different plant populations and nitrogen rates. *Field Crop Res.* 116, 52-57.
- Min, D.H., Vough, L.R., Reeves, J.B., 2002. Dairy slurry effects on forage quality of orchardgrass, reed canarygrass, and alfalfa-grass mixtures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95, 143-157.
- Mut, Z., Ayan, I., Mut, H., 2006. Evaluation of forage yield and quality at two phenological stages of triticale genotypes and other cereals grown under rainfed conditions. *Bangladesh J. Bot.* 35, 45-53.
- Ovejero, J., Ortiz, C., Boixadera, J., Serra, X., Ponsá, S., Lloveras, J., Casas, C., 2016. Pig slurry fertilization in a double-annual cropping forage system under sub-humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 81, 138-149.

- Perramon, B., Bosch-Serra, A.D., Domingo, F., Boixadera, J., 2016. Organic and mineral fertilization management improvements to a double-annual cropping system under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 76, 28-40.
- Power, J. F., 1986. Nitrogen cycling in seven cool-season perennial grass species. *Agron. J.* 78, 681-687.
- Restelatto, R., Pavinato, P.S., Sartor, L.R., Paixão, S.J., 2014. Production and nutritional value of sorghum and black oat forages under nitrogen fertilization. *Grass Forage Sci.* 68, 1-12.
- Rogers, J.R., Harvey, R.W., Poore, M.H., Mueller, J.P., Barker, J.C., 1996. Application of nitrogen from swine lagoon effluent to bermudagrass pastures: seasonal changes in forage nitrogenous constituents and effects of energy and escape protein supplementation on beef cattle performance. *J. Anim. Sci.* 74, 1126-1133.
- Rostamza, M., Chaichi, M.R., Jahansouz, M.R., Alimadadi, A., 2011. Forage quality, water use and nitrogen utilization efficiencies of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) grown under different soil moisture and nitrogen levels. *Agric. Water Manage.* 98, 1607-1614.
- Rubio, H.O., Wood, M.K., Gomez, A., Reyes, G., 1996. Native forage quality, quantity, and profitability as affected by fertilization in Northern Mexico. *Range Manag.* 49, 315-319.
- Scarborough, D. A., Coblenz, W.K., Coffey, K.P., Harrison, K.F., Smith, T.F., Hubbell, D.S., Humphry III, J.B., Johnson, Z.B., Turner, J.E., 2004. Effects of nitrogen fertilization rate, stockpiling initiation date, and harvest date on canopy height and dry matter yield of autumn stockpiled bermudagrass. *Agron. J.* 96, 538-546.

- Tomasoni, C., Borrelli, L., Ceotto, E., 2011. Effect of integrated forage rotation and manure management on yield, nutrient balance and soil organic matter. *Ital. J. Agron.* 6, 55-60.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2001. Nitrogen mineralization in sandy loam soils under an intensive double-cropping forage system with dairy-cattle slurry applications. *Eur. J. Agron.* 15, 281–293.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2009. Effects of different rates and timing of application of nitrogen as slurry and mineral fertilizer on yield of herbage and nitrate-leaching potential of a maize/Italian ryegrass cropping system in north-west Portugal. *Grass Forage Sci.* 64, 2-11.
- Ul-Allah, S., Khan, A.A., Fricke, T., Buerkert, A., Wachendorf, M., 2014. Fertilizer and irrigation effects on forage protein and energy production under semi-arid conditions of Pakistan. *Field Crops Res.* 159, 62-69.
- USEPA, 1992. United States Environmental Protection Agency. Method 6010A. Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. Kovar. J.K. Chapter 6. methods of determination of P, K, Ca, Mg and others trace elements. In: Peters, J. (Ed.), *Recommended Methods of Manure Analysis*. Publ. A3769. Univ. of Wisconsin-Extension, Madison, WI.
- Van der Straeten, B., Buysse, J., Nolte, S., Lauwers, L., Claeys, D., Van Huylenbroeck, G., 2012. The effect of EU derogation strategies on the compliance costs of the nitrate directive. *Sci. Total Environ.* 421–422, 94–101
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2010. Response of maize yield, nitrate leaching, and soil nitrogen to pig slurry combined with mineral nitrogen. *J. Environ. Qual.* 39, 686–696.

Yagië, M.R., Quílez, D., 2013. Residual effects of fertilization with pig slurry: double cropping and soil. *Agron. J.* 105, 70–78.

Zavattaro, L., Monaco, S., Sacco, D., Grignani, C., 2012. Options to reduce N loss from maize in intensive cropping systems in Northern Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 147, 24–35.

CAPÍTULO 3

*EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN CON PURÍN DE CERDO EN UN
DOBLE CULTIVO ANUAL DE CEBADA Y SORGO EN
CONDICIONES SUBHÚMEDAS MEDITERRÁNEAS*

CAPÍTULO 3

EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN CON PURÍN DE CERDO EN UN DOBLE CULTIVO ANUAL DE CEBADA Y SORGO EN CONDICIONES SUBHÚMEDAS MEDITERRÁNEAS

Palabras clave: Doble cultivo, fertilización nitrogenada, sorgo, cebada, nitrógeno mineral en suelo, purín de cerdo, calidad forrajera.

Abreviaturas:

MS: materia seca

ZVN: zonas vulnerables a la contaminación por nitratos

NAR: nitrógeno aparente recuperado

EAN: eficiencia agronómica del nitrógeno

RESUMEN

La alta concentración de explotaciones porcinas en el NE de España permite que la utilización de purines sea una estrategia de fertilización atractiva para reducir los costes de producción. Sin embargo, una inadecuada gestión de la fertilización con purín de cerdo puede generar un problema medioambiental. En este contexto, un ensayo de campo de tres años de duración fue llevado a cabo en una rotación de doble cultivo anual con cebada y sorgo bajo condiciones mediterráneas subhúmedas de secano. Se aplicaron cuatro tratamientos de fertilización con purín de cerdo (0, 170, 250 y 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹) con el objetivo de evaluar su efecto en la producción, la extracción del N, las pérdidas de N, el contenido en NO₃⁻-N del suelo y en la calidad forrajera de los diferentes cultivos de cada rotación. En el sorgo, el rendimiento de materia seca (MS) fue similar en todos los tratamientos de fertilización con un máximo de 11.4 Mg MS ha⁻¹ en la media de los tres años del ensayo. Sin embargo, en la cebada, el rendimiento de MS cuando se aplicaron 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹ (9.8 Mg MS ha⁻¹) fue un 23 y un 39%, más alto que cuando se aplicaron 250 (7.5 Mg MS ha⁻¹) y 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ (6.0 Mg MS ha⁻¹), respectivamente.

La aplicación de N, en forma de purín de cerdo, a dosis superiores a los 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ de fertilizante orgánico permitidos por la Directiva de nitratos en zonas vulnerables a la contaminación por nitratos (ZVN), mejoró tanto el rendimiento de MS como la calidad del forraje obtenido, en cuanto a proteína bruta (PB) y proteína digestible (PD). Sin embargo, la aplicación de estas dosis originó mayores pérdidas de N, bien por lixiviación de nitratos y/o volatilización o bien por inmovilización del N de la materia orgánica del purín aplicado.

1. Introducción

El censo mundial de ganado porcino es de aproximadamente 960 millones de cabezas de las cuales, alrededor del 60% se ubican en Asia, el 20% en Europa, y el 16 % en América (FAOSTAT, 2013). A nivel nacional, en 2015, se alcanzó un censo de 28,3 millones de cabezas, lo que sitúa a España, por primera vez, como el país con mayor censo de la UE-28 por delante de Alemania (27,5 millones) (EUROSTAT, 2015). Como líder en la cabaña de ganado porcino en España, se encuentra Cataluña, con un 28% del censo, seguida por Aragón con un 23%, representando entre ambas más del 50% del censo total español (MAGRAMA, 2015).

En estas zonas se genera gran cantidad de deyecciones ganaderas que pueden ser utilizadas directamente como fertilizante orgánico para los cultivos (Yagüe and Quílez, 2010). Sin embargo, una inadecuada gestión de los purines puede generar un problema medioambiental. La pérdida de nitrógeno a la atmósfera debido a un incorrecto almacenamiento y aplicación del purín, puede conducir a efectos adversos tales como la deposición atmosférica que produce la acidificación o la eutrofización de las aguas superficiales, y un aumento de gases de efecto invernadero, especialmente óxido nitroso (N₂O) (Mosier et al., 1998; Amon et al., 2006; Petersen y Miller, 2006; Sakamoto et al.,

2006; Ndegwa et al., 2008). Por otro lado, un exceso de fertilización nitrogenada lleva asociado un riesgo de contaminación de las aguas freáticas por la lixiviación de nitratos (Isidoro et al., 2006; Salmerón et al., 2010).

Conscientes de esta problemática la Comunidad Europea (CEE) desarrolló e implementó la Directiva de nitratos (EEC, 1991). Según esta normativa, cada Estado miembro debe identificar en su territorio zonas vulnerables a la contaminación por nitratos (ZVN) donde no se permite que la cantidad de deyecciones animales aplicadas al suelo supere los 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹.

Por otra parte, en algunas explotaciones del NE de España, es habitual la práctica del doble cultivo anual, combinando un cereal de invierno y un cereal de verano, donde ambos cultivos se destinan como alimento para el ganado de las explotaciones de la zona. La elevada disponibilidad de purín en esta zona, conlleva a que su uso como fertilizante orgánico sea rentable económicamente, lo que provoca que la fertilización mineral sea muy poco utilizada. Los cereales de invierno más frecuentes son la cebada, el trigo y el triticale. Como cultivo de verano, tradicionalmente se ha utilizado el maíz. Sin embargo, en los últimos años debido a que en condiciones mediterráneas las precipitaciones durante el verano suelen ser escasas e irregulares, el sorgo es cada más utilizado por su resistencia a la sequía (Ejeta y Knoll, 2007; Ramazanzadeh y Asgharipour, 2011; Reddy et al., 2008). Sin embargo, a pesar de su tolerancia a la sequía, es sensible a déficits de agua en ciertos estados fenológicos (Tuinstra et al., 1997; Reddy et al., 2009).

Los estudios publicados sobre los efectos de la fertilización del N en los sistemas de doble cultivo se han realizado, principalmente, utilizando fertilizantes minerales (Guo et al., 2008; Shang et al., 2014). Son menos numerosos los estudios que hayan analizado el efecto de la fertilización orgánica en sistemas de doble cultivo en condiciones mediterráneas. En esta línea, recientemente se han publicado artículos en Italia en

condiciones mediterráneas de regadío con maíz y otros cultivos (Tomasoni et al., 2011; Giola et al., 2012; Cavalli et al., 2016; Demurtas et al., 2016). Los trabajos son más escasos cuando se utiliza el sorgo como uno de los cultivos de la rotación. En un secano húmedo del NE de España se utilizó el sorgo como doble cultivo con avena (Perramon et al., 2016). González García et al. (2016), analizaron un doble cultivo de cebada y sorgo en la comarca de Osona.

Este estudio se enmarca dentro del ensayo de fertilización de larga duración iniciado en 2006, descrito en el Capítulo 1 de esta memoria de tesis. El objetivo específico fue evaluar el efecto de diferentes dosis de purín de cerdo en el rendimiento, la extracción de N del cultivo, el contenido de NO_3^- -N en el suelo y las pérdidas de N, en una rotación forrajera de doble cultivo con cebada y sorgo.

2. Material y métodos

2.1 Localización del experimento

El estudio se llevó a cabo durante 3 años en un campo experimental situado en el municipio de Torelló en la comarca de Osona (Cataluña). En este ensayo se evaluó una rotación de doble cultivo anual de cebada (*Hordeum vulgare L.*) y sorgo (*Sorghum bicolor L.*) desde 2012 hasta 2015, en condiciones de secano, destinándose ambos cultivos a forraje.

El clima es submediterráneo húmedo de tendencia continental, de transición entre el clima mediterráneo y el de la Europa Central. La temperatura media anual oscila en torno a 12 y 13 °C, con una precipitación anual entre 650 y 750 mm. Los datos de pluviometría y temperatura fueron registrados por la estación meteorológica automática de Torelló cercana al campo experimental. Las principales características del suelo del campo se detallan en el Capítulo 1 de la presente memoria de tesis.

2.2 Diseño experimental

En este ensayo se combinó la siembra en octubre de cebada con la siembra en junio de sorgo. El diseño experimental es el mismo que el de la rotación de maíz y triticale descrita en el Capítulo 1. Consta de bloques completamente aleatorizados con 3 repeticiones, incluyendo cada uno 4 tratamientos de fertilización con purín de cerdo (0, 170, 250 y 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹). El tamaño de las parcelas utilizadas fue de 12m x 40m para permitir la utilización de maquinaria convencional. Las dosis de N totales aplicadas en este ensayo fueron las mismas que en la anterior rotación (2006-2012) con maíz y triticale. La aplicación de cada una de las dosis de fertilizante se realizó en las mismas parcelas experimentales cada año. En la Tabla 1 se detallan las dosis de nitrógeno teóricas que se han aplicado en cada tratamiento a lo largo del ensayo (2012-2015).

Se utilizó como fertilizante orgánico el purín de cerdo de engorde, procedente de una granja situada cerca del campo de ensayo. A diferencia de la rotación anterior (Capítulo 1), la fertilización de la cebada se realizó en cobertera, cuando el cultivo se encontraba en la fase de ahijamiento, en febrero. La aplicación del purín en el sorgo se realizó en fondo antes de la siembra (junio), sobre suelo desnudo. La fecha de ambas aplicaciones puede variar de un año a otro, entre 10 y 20 días, en función de las condiciones meteorológicas, principalmente de la pluviometría de la época (Tabla 2). Para la aplicación del purín se utilizó una cuba de mangueras o tubos colgantes. El contenido de N del purín de cerdo fue determinado *in situ* a partir de la conductividad eléctrica y la densidad del purín de la cuba. Posteriormente, se ajustó la velocidad del tractor para aplicar los kg de N que corresponden a cada tratamiento. En las parcelas control sólo se fertilizó manualmente con cloruro potásico al 60%, antes de la siembra del sorgo. La dosis de la aplicación se realizó basándose en las extracciones del cultivo, para compensar las necesidades de potasio.

Tabla 1. Distribución de las dosis teóricas de N (kg N ha^{-1}), aportadas en forma de purín de cerdo, para cada tratamiento en cada cultivo de la rotación en el periodo experimental 2012-2015.

Tratamiento	Acrónimo del tratamiento	Cobertera (Cebada)	Fondo (Sorgo)	Total anual
Control	T0	0	0	0
Dosis baja	T1	0	170	170
Dosis media	T2	80	170	250
Dosis alta	T3	80	250	330

Unas horas después de cada aplicación de fondo, se realizó un pase con un cultivador Chisel a unos 15 cm de profundidad para incorporar el purín, con el objetivo de minimizar las pérdidas de nitrógeno por volatilización. En el caso de la aplicación de cobertera, el purín no pudo ser enterrado al efectuarse la aplicación en el periodo de ahijamiento del cereal de invierno.

2.3 Manejo del cultivo

Tanto la cebada como el sorgo fueron manejados según las prácticas habituales de la zona de estudio, llevándose a cabo en ambos cultivos el mismo trabajo de fondo. Después de la cosecha de cada cultivo se realizó un pase con cultivador Chisel a 15 cm de profundidad.

La siembra de cada cultivo, se realizó mediante una sembradora neumática. Esta sembradora dispone de un rodillo para facilitar el contacto de la semilla con la tierra y asegurarse una correcta germinación. La cebada se sembró en noviembre con una separación de 12 cm entre las filas y se cosechó a principios de junio en fase de grano pastoso temprano, correspondiente al número 83 de la escala de Zadoks et al. (1974). El sorgo se sembró normalmente en junio (dependiendo de las condiciones climáticas la siembra podría retrasarse) con una separación de 75 cm entre las filas y unos 18 cm entre

las semillas y se cosechó en octubre aproximadamente en fase de grano pastoso, correspondiente al número 8 de la escala de Vanderlip (1993) (Tabla 2).

Tabla 2. Cultivos, variedades, fechas de siembra y de cosecha durante el ensayo (periodo 2012-2015).

Campana	Cultivo	Variedad (Ciclo)	Fecha de siembra	Fecha de cosecha
2012-2013	Cebada	Cometa	23/11/2012	04/06/2013
	Sorgo	Superdolce 10	28/06/2013	08/10/2013
2013-2014	Cebada	Ketos	06/11/2013	02/06/2014
	Sorgo	Grass II	20/06/2014	27/10/2014
2014-2015	Cebada	Cometa	19/11/2014	05/06/2015
	Sorgo	Grass II	03/08/2015	26/10/2015

Para la cosecha de la cebada, se utilizó una segadora de 6 discos de 2,25 m de anchura. Primero se realizó un pase por los extremos superior e inferior de cada parcela para excluir los márgenes del muestreo y a continuación se segó la parte central de la parcela. La superficie segada fue de 68,4 m² (30,4 m de largo x 2,25 m de ancho). En el caso del sorgo, se segó la mitad de la parcela utilizando una segadora-picadora convencional de 5 m de anchura junto con un remolque autopesante (con balanza incorporada). La superficie segada fue de unos 200 m² (40 m de largo x 5 m de ancho). En ambos cultivos la biomasa obtenida se destinó como forraje para la alimentación del ganado.

2.4 Análisis de purín, suelo y planta

De cada cisterna de purín que se aplicó en el campo experimental se cogió una muestra, que, debidamente identificada se congeló a -20 °C hasta su llegada al laboratorio de análisis Applus (Sidamon. Lleida), donde se procedió a su análisis. La cantidad real de N aplicado y tenido en cuenta para los cálculos en este trabajo, se estableció de acuerdo con las características fisicoquímicas del purín (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos medios, unidades y métodos de análisis del purín de cerdo aplicado de 2012 a 2015 en el campo experimental.

Parámetro	Método de análisis	Unidades	Valores
pH	Potenciometría. Dilución 1:5		8,4 ± 0,2
Conductividad eléctrica	Conductimetría a 25 °C, dilución 1:5	dS m ⁻¹	23,2 ± 2,6
Materia seca	Gravimetría, a 105°C	kg MS Mg ⁻¹)	46 ± 12
Materia orgánica	Gravimetría indirecta, calcinación a 550°C	kg MO Mg ⁻¹)	29,8 ± 8,7
Nitrógeno Total	Método Kjeldahl.	(kg N m ⁻³)	3,4 ± 1,1
Nitrógeno amoniacal	Destilación y tritación método 4500-NH ₃ B-C (APHA, 2012)	(kg N m ⁻³)	2,8 ± 0,2
Nitrógeno orgánico	Método Kjeldahl. Digestión ácida de la muestra seca a 105°C	(kg N m ⁻³)	1,1 ± 0,5
Fósforo	Espectroscopia de emisión atómica (ICP-AES)(USEPA, 1992)	(kg P ₂ O ₅ m ⁻³)	0,7 ± 0,2
Potasio	Espectroscopia de emisión atómica (ICP-AES)(USEPA, 1992)	(kg K ₂ O m ⁻³)	2,2 ± 0,1

Durante todo el ensayo se llevó a cabo un seguimiento periódico del contenido en NO₃⁻-N del suelo. El muestreo se realizó después de la cosecha del sorgo (octubre) y de la cebada (junio). Además, al realizar una fertilización de cobertera durante el ahijamiento de la cebada, se llevó a cabo otro muestreo de NO₃⁻-N del suelo en febrero. Las muestras de suelo se extrajeron de 2 puntos escogidos al azar en cada parcela, y a 3 profundidades: 0-30, 30-60 y 60-90 cm. En cada parcela se obtuvo una sola muestra compuesta para cada profundidad. El análisis de NO₃⁻-N se realizó en el laboratorio de análisis Applus (Sidamon. Lleida) a partir de un extracto de la muestra fresca en agua desionizada, por colorimetría (Kempers, 1974) en un autoanizador de flujo continuo. El contenido de N-NO₃⁻, en los análisis efectuadas a lo largo del estudio, se expresó en kg N-NO₃⁻ ha⁻¹, teniendo en cuenta la suma del contenido de N-NO₃⁻ en el perfil del suelo de 0 a 90 cm.

Para la determinación de la biomasa total en fresco, tanto del sorgo como de la cebada, se pesó el forraje en el campo en el momento de la cosecha y se tomó una submuestra. Posteriormente, se determinó en el laboratorio la materia seca (MS), secando

la submuestra en una estufa de aire forzado a 60 °C durante 48 horas. En ambos cultivos, el resultado final se expresó en kg MS ha⁻¹.

Se determinó la calidad forrajera de cada uno de los cultivos a partir de los análisis bromatológicos de la muestra seca realizados en el Laboratorio Agroalimentario del IRTA en Cabriels. Los parámetros que se determinaron son: humedad, MS, nitrógeno (N), proteína bruta (PB), proteína digestible (PD), fibra bruta (FB), fibra ácido detergente (FAD), fibra neutro detergente (FND), lignina ácida detergente (LAD) y energía neta de lactación (ENL). Los análisis de estos parámetros de la calidad forrajera se han realizado mediante el método de espectrometría de infrarrojo cercano (NIR) previamente calibrado. Para aquellas muestras que en determinados parámetros los valores obtenidos no quedaron incluidos en la recta de calibración de NIR se realizó la determinación mediante el método convencional (método Kjeldahl para las proteínas y gravimétrico para las fibras y ligninas). El contenido de PB se calculó multiplicando el contenido de N por la constante 6.25 (AOAC, 1980). Los parámetros de calidad forrajera fueron expresados en g kg⁻¹ MS. La extracción de N por el cultivo se calculó multiplicando el contenido de N en planta por el contenido de MS de la cosecha.

2.5 Pérdidas de N

Tal y como se ha descrito en el Capítulo 1, se calculó un balance de N en cada parcela, separadamente por cada campaña y cultivo. Se estimó la mineralización de la materia orgánica del suelo en las parcelas control, suponiendo que la lixiviación de nitratos, las pérdidas de amoníaco y el N del agua de lluvia fueron insignificantes en parcelas no fertilizadas, de acuerdo con la ecuación (Sexton et al., 1996):

$$- N_{\min} = N_f + N_p - N_i \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

N_{\min} : N mineralizado en el tratamiento control (kg N ha^{-1})

N_f : Contenido de N-NO_3^- en el perfil del suelo (0-90 cm) después de la cosecha ($\text{kg NO}_3^- \text{-N ha}^{-1}$)

N_p : N extraído por el cultivo en la cosecha (kg N ha^{-1})

N_i : Contenido de $\text{NO}_3^- \text{-N}$ en el perfil del suelo (0-90 cm) antes de la siembra ($\text{kg NO}_3^- \text{-N ha}^{-1}$)

Las pérdidas de Nitrógeno se estimaron a partir del balance de N en las parcelas fertilizadas (Berenguer et al., 2009; Cela et al., 2011) según la ecuación:

$$- \text{ Pérdidas de N} = N_f + N_p - N_i - N_{\min} - N_{\text{fer}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

N_{fer} : N aplicado en la fertilización (kg N ha^{-1})

Un valor negativo de las pérdidas de N se interpretó como la suma de $\text{NO}_3^- \text{-N}$ lixiviado, N perdido por volatilización del amoníaco y desnitrificación, N orgánico aplicado, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ inmovilizado y fijado en las arcillas. Mientras que un valor positivo se interpretó como aportes de N no contabilizados.

2.6 Eficiencia en el uso del nitrógeno

Se calcularon los siguientes parámetros relacionados con la eficiencia del nitrógeno (López-Bellido y López-Bellido, 2001) para cada tratamiento de fertilización en ambos cultivos:

- % de N aparentemente recuperado (NAR):

$$\% \text{ NAR} = [(N_{\text{pf}} - N_{\text{p0}}) / N_{\text{fer}}] * 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

N_{pf} : N extraído por el cultivo en el tratamiento de fertilización (kg N ha^{-1})

N_{p0} : N extraído por el cultivo en el tratamiento control (kg N ha^{-1})

N_{fer} : N aplicado en el tratamiento de fertilización (kg N ha^{-1})

- Eficiencia agronómica de N (EAN) (kg kg^{-1})

$$\text{EAN} = (R_f - R_0) / N_{\text{fer}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

R_f : Rendimiento en el tratamiento de fertilización (kg MS ha^{-1})

R_0 : Rendimiento en el tratamiento control (kg MS ha^{-1})

N_{fer} : N aplicado en el tratamiento de fertilización (kg N ha^{-1})

2.7 Análisis estadístico

Se realizó un modelo de análisis de varianza (ANOVA) de diseño mixto teniendo en cuenta las campañas de cada cultivo como medidas repetidas, para evaluar la respuesta de las diferentes variables a la fertilización. Si la interacción entre las campañas y el tratamiento fue significativa, se realizaron análisis por separado de cada campaña (ANOVA de un factor). Cuando fueron detectadas diferencias significativas entre tratamientos, se realizó una separación de medias según el test de Duncan con un intervalo de confianza del 95%. Los análisis estadísticos de los resultados se realizaron utilizando el software IBM SPSS para Windows, versión 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.)

3. Resultados

3.1 Condiciones climáticas durante el periodo experimental

La precipitación total y la temperatura media registradas durante el periodo experimental se presentan en la Figura 1. La precipitación total (suma de las precipitaciones de la campaña del cultivo de la cebada y del sorgo) fue muy variable entre los tres años del experimento. La precipitación en las campañas 2012/13 con 774,9 mm

y la 2013/14 con 997,4 mm fue superior a la precipitación media anual en el período 1985-2006 (651 mm). Sin embargo, la precipitación durante la campaña 2014/15 fue más baja (609,9 mm). Cabe destacar que en la campaña 2013/14 la mayoría de las precipitaciones ocurrieron durante el crecimiento del sorgo (de junio a octubre: 752,4 mm), con una diferencia de 400 mm respecto a la media de los meses del ciclo de cultivo del sorgo en el periodo 1985-2006 (351,9 mm).

La diferencia en la temperatura media entre las campañas de cultivo analizadas fue relativamente pequeña, variando de 13,1 °C en 2012/13 a 13,7 °C en 2013/14. La temperatura media anual durante todo el período experimental fue 13,5 °C.

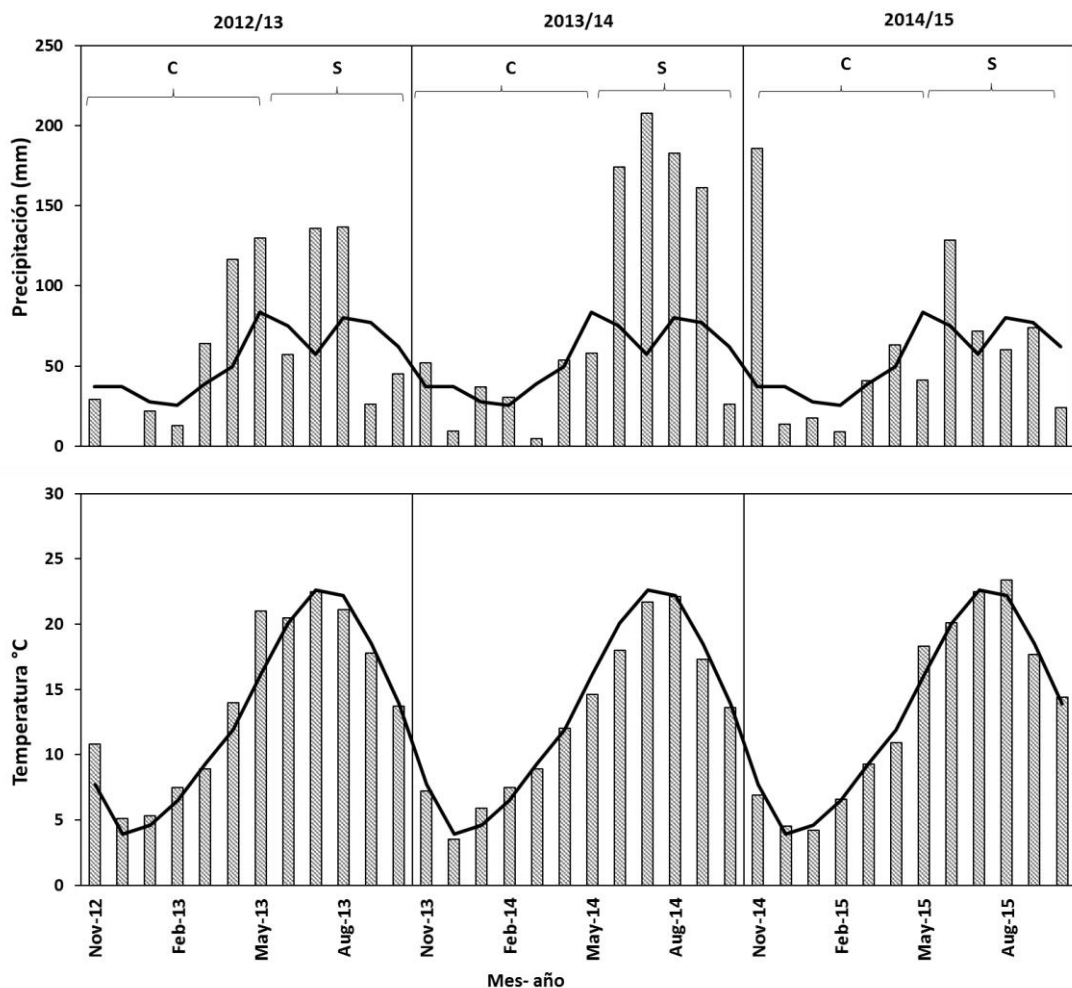


Figura 1. Temperatura media del aire y precipitación mensual total, para el período experimental (2012-2015). Los períodos históricos (1985-2006) se muestran como líneas sólidas. (C: cebada, S: sorgo).

3.2 Rendimiento de los cultivos

En el global del experimento, la producción de MS (cebada + sorgo) fue significativamente afectada por el tratamiento de fertilización y la campaña del cultivo, pero no por su interacción (Tabla 4). El rendimiento medio de los tres años experimentales en las parcelas control ($9.8 \text{ Mg MS ha}^{-1}$) fue significativamente inferior al del resto de tratamientos de fertilización. A su vez, el rendimiento en el tratamiento T3 ($20.9 \text{ Mg MS ha}^{-1}$) fue significativamente superior al de los tratamientos T2 y T1 (18.9 y $17.5 \text{ Mg MS ha}^{-1}$, respectivamente) (Tabla 4).

En referencia a la cebada, en los tres años de estudio, los rendimientos de MS fueron influenciados por el tratamiento de fertilización, la campaña y por la interacción entre estos dos factores. El rendimiento de la cebada aumentó significativamente al aumentar la dosis de fertilización. En el análisis llevado a cabo para cada año, se observó que el rendimiento de cada tratamiento en la campaña 2012/13 fue considerablemente superior al de las campañas 2013/14 y 2014/15. En cada una de estas campañas se detectaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de fertilización (Figura 2), aumentando el rendimiento al incrementar la dosis de fertilización.

En cuanto al sorgo, el tratamiento de fertilización afectó significativamente al rendimiento de MS en la media de los tres años. Sin embargo, únicamente se observaron diferencias significativas entre T0 ($7.0 \text{ Mg MS ha}^{-1}$) y el resto de tratamientos de fertilización T1, T2 y T3 (11.5 , 11.4 y $11.1 \text{ Mg MS ha}^{-1}$, respectivamente) (Tabla 4). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas ni en la campaña de cultivo ni en su interacción con el tratamiento, debido a que el rendimiento de cada tratamiento fue similar en cada uno de los años analizados (Figura 2).

Tabla 4. Efecto de la dosis de fertilización nitrogenada con purín de cerdo en el rendimiento, la extracción de N, las pérdidas de N, el % de N aparentemente recuperado (NAR) y la eficiencia agronómica del N (EAN) para cada cultivo y la suma de ambos en el conjunto de los tres años del periodo experimental (2012-2015).

Cultivo	Tratamiento ^a	Rendimiento MS (Mg/ha)	Extracción N (kg ha ⁻¹)	Pérdidas N (kg ha ⁻¹)	NAR (%)	EAN (kg kg ⁻¹)
Cebada	T0	2,8d	25d	^β 26	-	-
	T1	6,0c	57c	-37c	-	-
	T2	7,5b	78b	-101b	63,6	55,8
	T3	9,8a	114a	-172a	106,0	80,7
Media		6,5	69	-78	84,8	68,3
ANOVA						
Tratamiento (T)		***	***	**	*	*
Campaña (C)		***	***	**	***	***
T x C		**	***	NS	NS	NS
Sorgo	T0	7,0b	59b	^β 65	-	-
	T1	11,5a	130a	-47	45,1	30,0a
	T2	11,4a	132a	-40	48,3	29,6b
	T3	11,1a	148a	-85	38,7	18,3b
Media		10,2	117	-43	44,0	26,0
ANOVA						
Tratamiento (T)		***	***	NS	NS	*
Campaña (C)		NS	***	NS	NS	NS
T x C		NS	NS	NS	NS	NS
Cebada + Sorgo	T0	9,8c	84c	^β 91	-	-
	T1	17,5b	187b	-84b	66,8	51,3a
	T2	18,9b	210b	-141b	54,0	39,1b
	T3	20,9a	262a	-257a	55,6	34,8b
Media		16,8	186	-161	58,8	41,8
ANOVA						
Tratamiento (T)		***	***	**	NS	**
Campaña (C)		***	***	*	**	**
T x C		NS	**	NS	NS	NS

^a Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1.

^β El valor corresponde a la mineralización estimada en T0 necesaria para calcular las pérdidas de N en los otros tratamientos de fertilización.

Ausencia de valor (-) indica que no hubo fertilización en ese periodo.

NS: no significativo. *, ** y *** significativo para P<0.05, P<0.01 y P<0.001, respectivamente.

Dentro de cada variable y para cada cultivo, las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización según el test de Duncan para P<0.05.

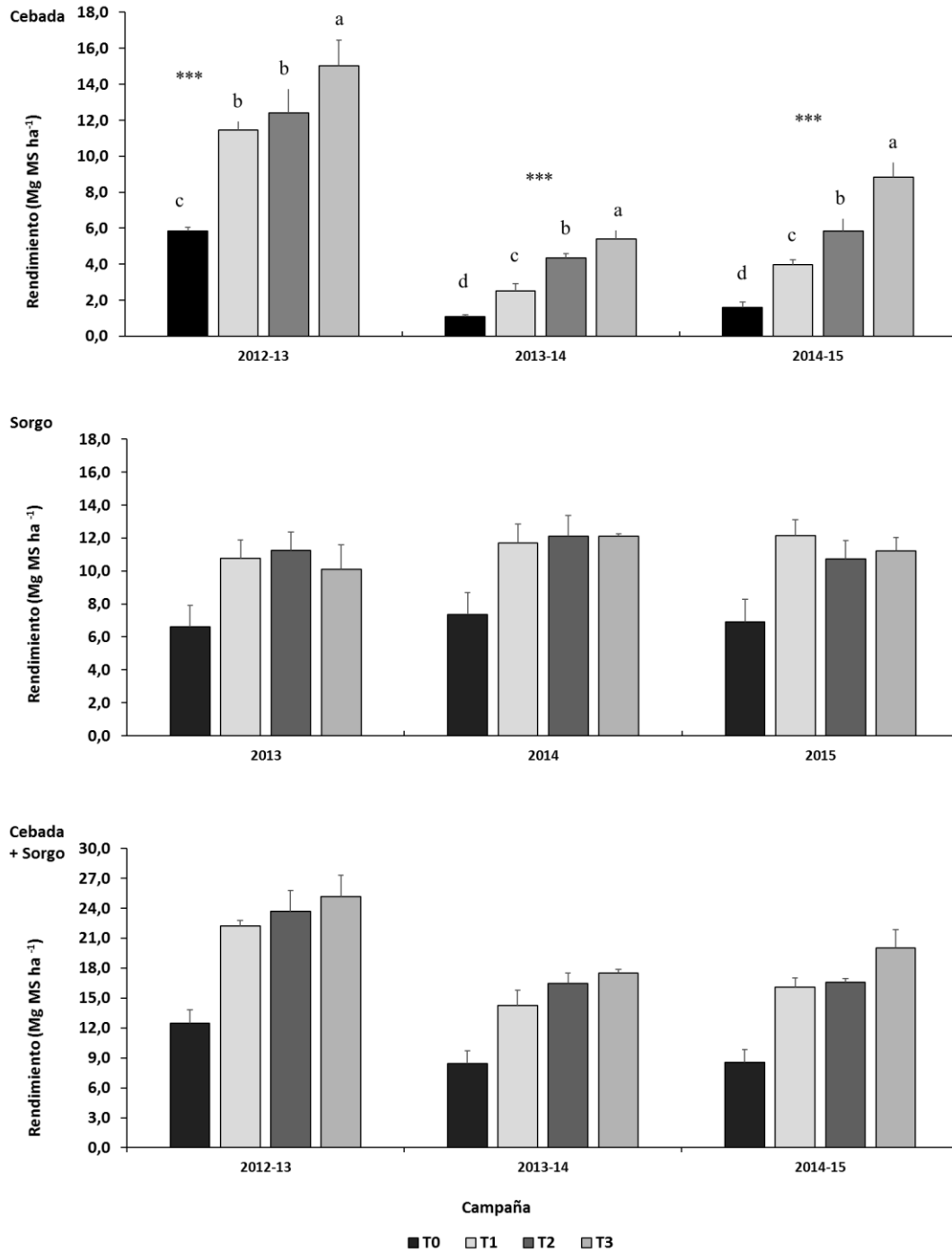


Figura 2. Rendimiento de los cultivos para cada una de las campañas del periodo experimental en función de la dosis de fertilización nitrogenada. Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1. Barras de error verticales indican la desviación estándar. *** significativo para $P < 0.001$. Dentro de cada año y para cada cultivo, las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización según el test de Duncan para $P < 0.05$.

3.3 Extracción de N por los cultivos

La extracción del N total, teniendo en cuenta la suma de los dos cultivos (cebada + sorgo) en el global del experimento, respondió positivamente a la dosis de fertilización aplicada, variando significativamente con la campaña y la interacción entre ambos factores (Tabla 4). El patrón de significación entre tratamientos fue similar al comentado para el rendimiento de MS total de ambos cultivos. En este sentido, la extracción de N en T3 (262 kg N ha⁻¹) fue significativamente superior al resto de tratamientos (Tabla 4). En cada una de las campañas analizadas se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de fertilización (Tabla 5).

En el caso de la cebada, la media de la extracción de N de los tres años experimentales fue afectada por el tratamiento de fertilización y la campaña, así como por su interacción (Tabla 4). La extracción de N varió significativamente entre los diferentes tratamientos, con un aumento gradual desde el control (T0) hasta la dosis alta (T3) (Tabla 4). Estas diferencias significativas entre los tratamientos se observan en todas las campañas (Tabla 5). Cabe destacar que la media de la extracción de N de todos los tratamientos fue considerablemente superior en la campaña 2012/13 respecto de las campañas 2013/14 y 2014/15 (Tabla 5).

En el sorgo, en el global del experimento, el tratamiento de fertilización afectó significativamente a la extracción de N (Tabla 4). La extracción de N en el control (T0) (59 kg N ha⁻¹) fue significativamente inferior comparada con el resto de tratamientos de fertilización T1, T2 y T3 (130, 132 y 148 kg N ha⁻¹, respectivamente) entre los cuales no hay diferencias significativas (Tabla 4).

Tabla 5. Extracción de N por los cultivos para cada una de las campañas del periodo experimental en función de la dosis de fertilización nitrogenada.

Cultivo	Tratamiento ^a	Extracción N (kg ha ⁻¹)		
		2012/13	2013/14	2014/15
Cebada	T0	49c	9b	18c
	T1	111b	20b	39b
	T2	136b	41a	57b
	T3	202a	53a	88a
	Media	124	31	51
	Significación	***	**	**
Sorgo	T0	96	73	68
	T1	125	123	120
	T2	130	145	131
	T3	164	175	183
	Media	129	129	125
	Significación	***	***	***
Cebada + Sorgo	T0	90c	58c	104c
	T1	201b	123b	236b
	T2	237b	171a	223b
	T3	326a	180a	281a
	Media	213	133	211
	Significación	***	***	***

^a Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1.

NS: no significativo. ** y *** significativo para $P < 0.01$ y $P < 0.001$, respectivamente.

Dentro de cada campaña y para cada cultivo, las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización según el test de Duncan para $P < 0.05$.

3.4 Contenido de NO_3^- -N en el suelo.

Se observó una variación en el contenido de NO_3^- -N en el suelo a lo largo del periodo experimental según la cantidad de purín aplicado. Los niveles más altos de NO_3^- -N en el suelo se observaron en octubre de 2012 en T3 (487 kg NO_3^- -N ha⁻¹) (Figura 3). Sin embargo, exceptuando el citado muestreo de octubre de 2012, los niveles de NO_3^- -N del suelo se podrían considerar bajos durante todo el periodo (Figura 3). Desde febrero hasta octubre de 2013 el contenido de NO_3^- -N fue superior en T3 comparado con los otros tratamientos, además se observó un ligero incremento de los niveles en cada uno de ellos. A partir de octubre de 2013, el contenido de NO_3^- -N disminuyó de manera notoria en

los diferentes muestreos, siendo similar en cada tratamiento y por debajo de 60 kg $\text{NO}_3^- \text{-N ha}^{-1}$. En el último muestreo efectuado en octubre de 2015, el contenido en $\text{NO}_3^- \text{-N}$ se incrementó ligeramente, observándose de manera más evidente en los tratamientos en los que se aplicó el fertilizante (Figura 3).

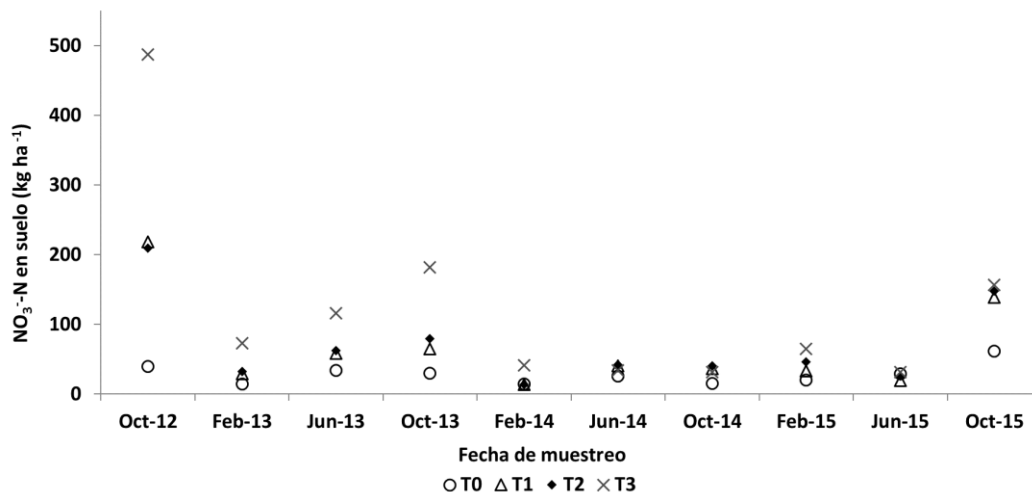


Figura 3. Contenido de $\text{NO}_3^- \text{-N}$ en suelo (0-90 cm) en las fechas de muestreo bajo los diferentes tratamientos durante los 3 años del periodo experimental. Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1.

3.5 Pérdidas de N

Teniendo en cuenta la suma de cebada y sorgo en el promedio de los tres años del ensayo, se encontraron diferencias significativas en las pérdidas de N debido al tratamiento de fertilización y la campaña de cultivo (Tabla 4). Las pérdidas de N en T3 (257 kg N ha^{-1}) fueron significativamente superiores a las de T2 y T1 (141 y 84 kg N ha^{-1} , respectivamente (Tabla 4).

En la cebada, las pérdidas de N dependieron del tratamiento de fertilización y de la campaña, sin embargo, no se detectó interacción entre estas dos variables. Las pérdidas de N en T3 fueron significativamente más altas que en T2 y T1 (Tabla 4).

En referencia al sorgo, aunque el promedio de las pérdidas de N no fue significativamente diferente entre los tratamientos de fertilización, las pérdidas de N en

T3 (85 kg N ha^{-1}) fueron aproximadamente el doble que en T2 y T1 (40 y 47 kg N ha^{-1} , respectivamente) (Tabla 4). En general, la media de las pérdidas de N a lo largo del ensayo de todos los tratamientos analizados, fueron casi el doble en cebada (78 kg N ha^{-1}) comparado con el sorgo (43 kg N ha^{-1}), aunque se aplicaron dosis más elevadas de N en el sorgo respecto a la cebada (Tabla 1 y 4).

3.6 Eficiencia en el uso del N

Considerando conjuntamente la cebada y el sorgo, el promedio del nitrógeno aparentemente recuperado (NAR) no varió significativamente entre los diferentes tratamientos de fertilización (Tabla 4). De igual forma, en el sorgo, el NAR no se vio afectado por el tratamiento de fertilización, sin embargo, en la cebada, tanto el tratamiento de fertilización como la campaña influyeron significativamente en el NAR (Tabla 4).

En el global del experimento, la eficiencia agronómica del nitrógeno (EAN) fue afectada por el tratamiento de fertilización y la campaña, tanto en la suma de cebada y sorgo, como en la cebada analizada individualmente. En el caso del sorgo la EAN solo se vio influenciada por el tratamiento de fertilización (Tabla 4).

3.7 Calidad forrajera

La Tabla 6 resume el efecto de los diferentes tratamientos de fertilización con purín de cerdo sobre los parámetros de calidad forrajera analizados durante el ensayo. Ni en las fibras (FB, FAD, FND) ni en la energía neta de lactación (ENL), se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos de fertilización. Además, no se observó una tendencia clara durante todo el estudio de acuerdo con el tratamiento de purín de cerdo aplicado. En la lignina ácido detergente (LAD) se observó un efecto significativo del tratamiento y de la campaña de cultivo, cuando se analizó la suma de la cebada y el sorgo,

así como el sorgo individualmente. Mientras que, en la cebada, la LAD sólo fue significativamente diferente según el tratamiento de fertilización aplicado.

La concentración media total de PB y PD (cebada + sorgo) fue influenciada por el tratamiento de fertilización, la campaña y su interacción. El contenido total de PB en T3 (151.6 g kg⁻¹ de MS) fue significativamente superior que en T2, T1 y T0 (136.4, 127.1 y 111.0 g kg⁻¹ de MS, respectivamente) (Tabla 6). En el análisis estadístico efectuado por campañas, la PB y la PD variaron significativamente dependiendo del tratamiento de fertilización aplicado en las campañas 2012/13 y 2013/14 (Tabla 7).

Tabla 6. Efecto de la dosis de fertilización nitrogenada con purín de cerdo en los parámetros de calidad forrajera para cada cultivo y suma de ambos en el conjunto de los tres años del periodo experimental (2012-2015).

Cultivo	Tratamiento ^a	PB (g kg ⁻¹ MS)	PD (g kg ⁻¹ MS)	FB (g kg ⁻¹ MS)	FAD (g kg ⁻¹ MS)	FND (g kg ⁻¹ MS)	LAD (g kg ⁻¹ MS)	ENL (Mcal kg ⁻¹)
Cebada	T0	57,9b	39,2	220,9	258,7	520,2	30,4b	1,55
	T1	57,5b	38,3	230,9	265,7	530,1	33,4ab	1,53
	T2	62,8ab	41,9	227,2	263,8	517,0	34,5a	1,54
	T3	68,9a	44,9	240,9	282,8	540,3	36,5a	1,48
Media		61,8	41,1	230,0	267,7	526,9	33,7	1,52
ANOVA								
Tratamiento (T)		*	NS	NS	NS	NS	*	NS
Campaña (C)		**	*	***	**	NS	NS	**
T x C		**	*	NS	NS	NS	NS	NS
Sorgo	T0	53,1c	29,1b	324,8	396,1	675,3a	42,9b	1,15
	T1	69,6b	40,9a	302,4	371,2	627,9b	45,8b	1,22
	T2	73,7ab	42,8a	317,6	381,3	635,3b	49,0ab	1,19
	T3	82,7a	47,8a	312,8	382,8	630,1b	56,1a	1,19
Media		69,8	40,2	314,4	382,9	642,2	48,5	1,19
ANOVA								
Tratamiento (T)		**	**	NS	NS	*	*	NS
Campaña (C)		***	***	**	*	*	**	*
T x C		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Cebada + Sorgo	T0	111,0c	68,4c	545,7	654,8	1195,6	73,3c	2,70
	T1	127,1b	79,2bc	533,3	636,9	1158,0	79,2bc	2,75
	T2	136,4b	84,7ab	544,8	645,1	1152,3	83,4ab	2,73
	T3	151,6a	92,7a	553,7	665,6	1170,4	92,6a	2,66
Media		131,6	81,2	544,4,7	650,6	1169,1	82,1	2,71
ANOVA								
Tratamiento (T)		**	**	NS	NS	NS	**	NS
Campaña (C)		***	***	*	NS	NS	*	NS
T x C		**	**	NS	NS	NS	NS	NS

^a Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1.

NS: no significativo. *, ** y *** significativo para $P < 0.05$, $P < 0.01$ y $P < 0.001$, respectivamente. Dentro de cada variable y para cada cultivo, las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización según el test de Duncan para $P < 0.05$.

Tabla 7. Contenido de proteína bruta (PB) y digestible (PD) del forraje de los cultivos para cada una de las campañas del periodo experimental en función de la dosis de fertilización nitrogenada.

Cultivo	Tratamiento ^a	PB (g kg ⁻¹ DM)			PD (g kg ⁻¹ DM)		
		2012/13	2013/14	2014/15	2012/13	2013/14	2014/15
Cebada	T0	51,9c	52,1	69,8	34,2c	34,9	48,6
	T1	60,8bc	49,6	62,1	39,4bc	33,4	42,0
	T2	68,1b	59,7	60,4	43,6b	41,1	40,9
	T3	84,0a	60,5	62,3	51,6a	41,4	41,6
	Media	66,2	55,5	63,6	42,2	37,7	43,3
	Significancia	***	NS	NS	**	NS	NS
Sorgo	T0	96	96	73	68	73	68
	T1	125	125	123	120	123	120
	T2	130	130	145	131	145	131
	T3	164	164	175	183	175	183
	Media	129	129	129	125	129	125
	Significancia	***	*	NS	**	*	NS
Cebada + Sorgo	T0	91,2c	94,0b	147,8	53,4c	60,3b	91,4
	T1	113,3b	104,4b	163,7	70,9b	67,7b	99,0
	T2	125,1b	127,1a	157,1	77,7b	80,7a	95,7
	T3	158,9a	126,3a	169,6	97,7a	81,1a	99,4
	Media	122,1	113,0	159,6	74,9	72,4	96,4
	Significancia	***	*	NS	**	*	NS

^a Los acrónimos de los tratamientos se describen en la Tabla 1.

NS: no significativo. *, ** y *** significativo para P<0.05, P<0.01 y P<0.001, respectivamente. Dentro de cada campaña y para cada cultivo, las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización según el test de Duncan para P<0.05.

4. Discusión

4.1 Rendimiento y extracción de N del cultivo

Debido a que las precipitaciones durante el ciclo del sorgo fueron superiores a la media del periodo histórico 1985-2016 (351 mm) para el mismo periodo, el rendimiento medio del sorgo a lo largo del experimento fue similar en cada una de las campañas. Por otro lado, se observó que, tanto el rendimiento de MS como la extracción de N en el sorgo fueron similares en todos los tratamientos de fertilización. Esto podría ser debido a que las elevadas precipitaciones durante el ciclo del sorgo, unido a las altas temperaturas registradas durante los meses de verano, podrían haber inducido un incremento de la tasa de mineralización. Este incremento pudo ocasionar que el rendimiento en los tratamientos

que habían recibido menos dosis de fertilizante se igualara o incluso superara al obtenido en el tratamiento T3. El rendimiento máximo de MS en la media de los 3 años experimentales de nuestro estudio de 11.4 Mg MS ha⁻¹, fue superior al obtenido por Perramón et al. (2016) (8.2 Mg MS ha⁻¹) en el sorgo de un doble cultivo con avena en condiciones húmedas situado en una comarca limítrofe a la del presente estudio. Sin embargo, González García et al. (2016), en un estudio realizado en la comarca de Osona, publicaron para el sorgo forrajero en doble cultivo, rendimientos de 12.7 Mg MS ha⁻¹.

A diferencia del sorgo, el rendimiento de MS y la extracción de N en la cebada varió considerablemente a lo largo de los 3 años experimentales. Las escasas precipitaciones durante el periodo de crecimiento del cultivo (marzo-mayo), concretamente en las campañas 2013/14 y 2014/15 limitaron su crecimiento (Figura 1), provocando una gran variación en el rendimiento de MS obtenido respecto al alcanzado en la campaña 2012/13 (Figura 2). Aparte del contenido de agua en el suelo durante el cultivo, los cereales de invierno pueden ser influenciados por diferentes factores, entre los que se incluyen la respuesta a la fertilización nitrogenada y el contenido inicial de NO₃⁻-N en el suelo (Pardo et al., 2009; López-Bellido et al., 2001b). En este estudio, los rendimientos de MS y la extracción del N de la cebada fueron claramente afectados por la dosis de fertilización nitrogenada. El rendimiento de MS en T3 fue un 23 y un 39%, más alto que en T2 y T1, respectivamente.

En el global de la rotación, teniendo en cuenta la suma de cebada y sorgo en los tres años de estudio, los rendimientos de MS (20.9 Mg MS ha⁻¹) y las extracciones de N (262 kg N ha⁻¹) más altos se alcanzaron cuando se aplicaron 330 kg N ha⁻¹ año⁻¹ (T3). Esta dosis de fertilización es superior a los 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ de fertilizante orgánico permitidos por la Directiva de nitratos en ZVN (EEC, 1991). Estos resultados son similares a los obtenidos por Trindade et al. (2009) que observó que en algunos sistemas

de doble cultivo podría resultar eficiente la aplicación de grandes cantidades de purín. En este sentido, Perramon et al. (2016) concluyeron que en sistemas de doble cultivo podría ser factible la aplicación de dosis superiores a las permitidos por la Directiva de nitratos.

4.2 Contenido de NO_3^- -N en el suelo, pérdidas de N y eficiencia en el uso del N

La acumulación de NO_3^- -N en el suelo observada en octubre de 2012, podría incrementar el riesgo de lixiviación del N durante el otoño y el invierno siguientes, si ocurrieran fuertes episodios de precipitación (Liu et al., 2003; Nevens and Reheul, 2005; Brye et al., 2003). Los niveles de NO_3^- -N en el suelo fueron más altos en este muestreo debido a que no hubo extracciones de N del maíz anterior. La escasez de precipitaciones durante su periodo de cultivo no permitió una correcta naseencia, derivando en una ausencia de cultivo en esta campaña. De manera general el contenido de NO_3^- -N en el suelo fue más alto en octubre que en junio o en febrero. Esto fue probablemente debido a que las dosis de fertilización aplicadas al cultivo de verano son más altas y tal vez también por un incremento de la mineralización de la materia orgánica a final del verano-principios de otoño. En este periodo se dan condiciones más favorables en cuanto a humedad y temperatura que podrían afectar a la tasa de mineralización neta (Qiu et al., 2012; Yagüe and Quílez, 2015). Por otro lado, a partir de octubre de 2013 el contenido en NO_3^- -N fue similar para todos los tratamientos. Por lo tanto, las diferencias significativas observadas entre T3 y T2 en el rendimiento de MS de la cebada en la campaña 2014/15, podrían ser atribuidas al efecto residual del purín aplicado en el sorgo anterior, dado que en estos tratamientos la dosis de fertilización fue la misma. Este comentario valdría para T0 y T1 ya que en el cultivo de la cebada no fueron fertilizados, sin embargo, se observó una diferencia entre ellos de $3.2 \text{ Mg MS ha}^{-1}$. Este efecto residual del purín en sistemas de doble cultivo también fue observado por Grignani et al. (2007).

La eficiencia en el uso del N es también importante en sistemas de doble cultivo debido a las altas cantidades de N requeridas por los cultivos forrajeros en estos sistemas. Los dobles cultivos mejoran la eficiencia en el uso del N comparado con un sistema de un cultivo anual (Zavattaro et al., 2012) y permiten incrementar la producción (Borrelli et al., 2014). En este estudio, la eficiencia en el uso del N fue mayor en la cebada que en el sorgo. Esta alta eficiencia en el uso del N en la cebada puede ser debido al uso del NO_3^- -N residual del cultivo precedente, que incluye la mineralización de la materia orgánica del purín aplicado en dicho cultivo (Yagüe and Quílez, 2013; Hartmann et al., 2014). La alta eficiencia en el uso del N podría haberse visto favorecida por el hecho de que se efectuara la aplicación del fertilizante en cobertera, que evita en parte las pérdidas de lixiviación respecto si se aplica en fondo sobre suelo desnudo (Sieling et al., 2014). Esta aplicación, se llevó a cabo mediante una cuba de mangueras colgantes, además, tuvo lugar en un periodo de bajas temperaturas (febrero), por lo que ambas situaciones habrían ayudado a disminuir las pérdidas por volatilización.

Las pérdidas de N totales (cebada + sorgo) en el global del experimento fueron significativamente afectadas por la dosis de fertilización, siendo más altas en T3 que en el resto de tratamientos. En este estudio de tres años de duración, el efecto residual del purín aplicado en el sorgo, podría haber resultado en un aumento del contenido de NO_3^- -N inicial en la cebada. Este contenido de NO_3^- -N en el suelo, podrían conllevar un incremento de las pérdidas de N, probablemente por lixiviación durante el cultivo de la cebada. Esto podría explicar en parte que las pérdidas de N fueran más elevadas en la campaña de cultivo de la cebada respecto a la del sorgo, pese haber recibido dosis más bajas de N. El efecto residual del purín incrementó las pérdidas en un 70% en T3 comparado con T2 en el global de las tres campañas de la cebada, aunque en ambos tratamientos se aplicó la misma dosis de fertilizante en este periodo.

Estos resultados indican que la aplicación de dosis de N por encima del máximo legal permitido por la Directiva de nitratos en ZVN (EEC, 1991), incrementa las pérdidas de N respecto a cuándo se aplican sólo 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹. Si estas pérdidas son atribuidas a la lixiviación de NO₃⁻-N a las aguas subterráneas o bien por volatilización de amoníaco se incrementaría el riesgo de contaminación medioambiental. Sin embargo, si estas pérdidas de N son debido al NH₄⁺-N inmovilizado y fijado en las arcillas, este N podría estar disponible para el siguiente cultivo de la rotación en sistemas de doble cultivo en condiciones subhúmedas mediterráneas (Schröder, 2005).

4.3 Calidad forrajera

El tratamiento de fertilización tuvo un efecto positivo en el contenido en PB y PD. El contenido en proteína es uno de los criterios más importantes para la evaluación de la calidad forrajera de la MS (Assefa and Ledin, 2001). El incremento del contenido en PB con la fertilización nitrogenada ha sido publicado en numerosos estudios (Gillen and Berg, 1998; Guevara et al., 1997; Rostamza et al., 2011). Los niveles más altos de PB, tanto en cebada como en sorgo se alcanzaron en el tratamiento T3 (330 kg N ha⁻¹ año⁻¹). En cebada, en los tres años de experimento, el contenido de PB en T3 fue aproximadamente un 11 y un 17% superiores a los obtenidos en T2 y T1, respectivamente. El contenido de PB obtenido en el presente estudio fue más bajo que el publicado por González García et al. (2016) (125 g kg⁻¹ MS). De manera similar, en el sorgo, la media total de PB obtenida durante los tres años experimentales en T3 fue aproximadamente un 11 y 16% más alta que la alcanzada en T2 y T1, respectivamente. En el sorgo los niveles máximos de PB alcanzados (82.7 g kg⁻¹ MS) fueron más altos que los obtenidos por Marsalis et al. (2010) (72 g kg⁻¹ MS). Sin embargo, fueron considerablemente más bajos que los alcanzados por Restelatto et al. (2014) (158 g kg⁻¹ MS).

En el global del experimento, teniendo en cuenta la suma de cebada y sorgo, los niveles de PB más altos obtenidos durante los tres años del experimento fueron alcanzados en el tratamiento T3. Por lo tanto, si únicamente se aplican las dosis permitidas por la Directiva de nitratos de $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, podría no alcanzarse el % de PB que se lograría si se aplicaran dosis más altas, teniendo en cuenta que en los sistemas de doble cultivo los requerimientos de N son más elevados que cuando sólo se siembra un cultivo por año.

5. Conclusiones

En este experimento de tres años de duración, de un sistema de doble cultivo anual con cebada y sorgo, el rendimiento de MS en la cebada fue muy variable dependiendo de las condiciones climáticas durante su ciclo de cultivo. Además, varió significativamente entre tratamientos dependiendo de la dosis de fertilizante aplicado. Contrariamente, en el sorgo, las producciones fueron similares a lo largo del experimento, y el rendimiento no varió significativamente entre los tratamientos que recibieron N en forma de purín de cerdo.

Las pérdidas de N fueron afectadas significativamente por la dosis de fertilización. El efecto residual del purín aplicado en el sorgo, provocó un incremento del 70% de las pérdidas de N en la cebada.

La mayoría de los parámetros de calidad forrajera analizados no fueron afectados por la dosis de fertilización nitrogenada. Sin embargo, el contenido de PB y la PD dependió de la dosis de fertilización, incrementándose significativamente cuando se aplicaron $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$.

La aplicación de N, en forma de purín de cerdo, a dosis superiores a las legalmente permitidas por la Directiva de nitratos, mejoró tanto el rendimiento de MS como la calidad

del forraje obtenido, en cuanto a PB y PD. Sin embargo, la aplicación de estas dosis más altas originó mayores pérdidas de N, bien por lixiviación de nitratos y volatilización o bien por inmovilización del N de la materia orgánica del purín aplicado.

6. Referencias

- Amon, B.V., Kryvoruchko, T., Amon, S., Zechmeister-Boltenstern, S., 2006. Methane, nitrous oxide and ammonia emissions during storage and after application of dairy cattle slurry. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112, 153-162.
- APHA, 2012. Nitrogen (ammonia): 4500-NH₃ B, preliminary distillation step and 4500-NH₃ C, titrimetric method. In: Rice, E.W., Bridgewater, L. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, second ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C, pp. 110-111.
- Assefa, G., Ledin, I., 2001. Effect of variety, soil type and fertilizer on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 92, 95-111.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1980. *Official Methods of Analysis*, 11th ed. AOAC, Washington, DC, p. 125.
- Berenguer, P., Santiveri, F., Boixadera, J., Lloveras, J., 2009. Nitrogen analysis of irrigated maize under Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 30, 163–171.
- Borrelli, L., Castelli, F., Ceotto, E., Cabassi, G., Tomasoni, C., 2014. Maize grain and silage yield and yield stability in a long-term cropping system experiment in Northern Italy. *Eur. J. Agron.* 55, 12-19.
- Brye, K.R., Norman, J.M., Gower, S.T., Bundy, L.G., 2003. Methodological limitations and N-budget differences among a restored tallgrass prairie and maize agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 97, 181–198.

- Cavalli, D., Cabassi, G., Borrelli, L., Geromel, G., Bechini, L., Degano, L., Marino Gallina, P., 2016. Nitrogen fertilizer replacement value of undigested liquid cattle manure and digestates. *Eur. J. Agron.* 73, 34–41.
- Cela, S., Santiveri, F., Lloveras, J., 2011. Optimum nitrogen fertilization rates for second-year corn succeeding alfalfa under irrigation. *Field Crops Res.* 123, 109-116.
- Demurtas, C.E., Seddaiu, G., Ledda, L., Cappai, C., Doro, L., Carletti, A., Roggero, P.P., 2016. Replacing organic with mineral N fertilization does not reduce nitrate leaching in double crop forage systems under Mediterranean conditions. *Agric. Ecosyst. Environ.* 44, 78–86.
- EEC, 1991. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. *Off. J. Eur. Commun.*, 91/676/EEC.
- Ejeta, G., Knoll, K.E., 2007. Marker-assisted selection in sorghum. R.K. Varshney, R. Tuberosa (Eds.), *Genomics-Assisted Crop Improvement*, Springer, Netherlands. 187–205.
- Eurostat. 2015. Number of pigs. European Commission, Luxembourg. http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Main_Page.
- Faostat. 2013. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. Dirección de estadística <http://faostat3.fao.org/download>.
- Gillen, R.L., Berg, W.A., 1998. Nitrogen fertilization of a native grass planting in Western Oklahoma. *J. Range Manage.* 51, 436-441.
- Giola, P., Basso, B., Pruneddu, G., Giunta, F., Jones, J.W., 2012. Impact of manure and slurry applications on soil nitrate in a maize–triticale rotation: field study and long term simulation analysis. *Eur. J. Agron.* 38, 43–53.

- González García, S. Baucells, F., Feijoo, G., Moreira, M.T., 2016. Environmental performance of sorghum, barley and oat silage production for livestock feed using life cycle assessment. *Resources, conservation, and recycling* 111, 28-41.
- Grignani, C., Zavattaro, L., Sacco, D., Monaco, S., 2007. Production, nitrogen and carbon balance of maize-based forage systems. *Eur. J. Agron.* 26, 442-453.
- Guevara, J.C., Cavagnaro, J.B., Estevez, O.R., Le Houérou, H.N., Stasi, C.R., 1997. Productivity, management and development problems in the arid rangelands of the central Mendoza plains (Argentina). *J. Arid Environ.* 35, 575-600.
- Guo, R., Li, X., Christie, P., Chen, Q., Zhang, F., 2008. Seasonal temperatures have more influence than nitrogen fertilizer rates on cucumber yield and nitrogen uptake in a double cropping system. *Environ. Pollut.* 151, 443–451.
- Hartmann, T.E., Yue, S., Schulz, R., Chen, X., Zhang, F., Müller, T., 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize – wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Res.* 160, 22–30.
- Isidoro, D., Quílez, D., Aragüés, R., 2006. Environmental impact of irrigation in La Violada District (Spain): II. Nitrogen fertilization and nitrate export patterns in drainage water. *J. Environ. Qual.* 35, 776-785.
- Kempers, A. J., 1974. Determination of sub- microquantities of ammonium and nitrates in soils with fenol, sodium nitroprusside and hypochlorite. *Geoderma* 12, 201–206.
- Liu, X., Ju, X., Zhang, F., Pan, J., Christie, P., 2003. Nitrogen dynamics and budgets in a winter wheat–maize cropping system in the North China Plain. *Field Crops Res.* 83, 111–124.
- López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., 2001. Efficiency of nitrogen in wheat under Mediterranean conditions: effect of illage, crop rotation and N fertilization. *Field Crops Res.* 71, 31-46.

- López-Bellido, L., López-Bellido, R.J., Castillo, J.E., López-Bellido, F.J. 2001b. Effects of long-term tillage, crop rotation and nitrogen fertilization on bread-making quality of hard red spring wheat. *Field Crops Res.* 72, 197–210.
- MAGRAMA, 2015. Anuario de estadística. Available at: <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/ganaderia/en-cuestas-ganaderas/#para4> (verified 11.10.16).
- Marsalis, M., Angadi, S., Contreras-Govea, F., 2010. Dry matter yield and nutritive value of corn, forage sorghum, and BMR forage sorghum at different plant populations and nitrogen rates. *Field Crop Res.* 116, 52-57.
- Mosier, A.R., Kroeze, C., Nevison, C., Oenema, O., Seitzinger, S., Van Cleemput, O., 1998. Closing the global N₂O budget: nitrous oxide emissions through the agricultural nitrogen cycle. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 52, 225-248.
- Ndegwa, P.M., Hristov, A.N., Arogo, J., Sheffield, R.E., 2008. A review of ammonia emission mitigation techniques for concentrated animal feeding operations. *Biosyst. Eng.* 100, 453-469.
- Nevens, F., Reheul, D., 2005. Agronomical and environmental evaluation of a long-term experiment with cattle slurry and supplemental inorganic N applications in silage maize. *Eur. J. Agron.* 22, 349–361.
- Pardo, G., Caverro, J., Aibar, J., Zaragoza, C., 2009. Nutrient evolution in soil and cereal yield under different fertilization type in dryland. *Nutr. Cycling Agroecosyst* 84, 267–279.
- Perramon, B., Bosch-Serra, A.D., Domingo, F., Boixadera, J., 2016. Organic and mineral fertilization management improvements to a double-annual cropping system under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 76, 28–40.

- Petersen, S.O., Miller, D.N., 2006. Perspective greenhouse gas mitigation by covers on livestock slurry tanks and lagoons. *J. Sci. Food Agric.* 86, 1407-1411.
- Qiu, S., Ju, X., Lu, X., Li, L., Ingwersen, J., Streck, T., Christie, P., Zhang, F., 2012. Improved nitrogen management for an intensive winter wheat/summer maize double-cropping system. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 76, 286–297.
- Ramazanzadeh, S., Asgharipour, M., 2011. Physiological growth responses of sorghum genotypes to impairment of plant photosynthesis using potassium iodide. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 5, 1884–1890.
- Reddy, B., Ashok, K.A., Sanjana, R.P., 2008. Genetic improvement of sorghum in the semi-arid tropics. *Sorghum Improvement in the New Millennium*. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics 105–123.
- Reddy, B.V., Ramesh, S., Reddy P.S., Kumar, A.A., 2009. 3 genetic enhancement for drought tolerance in sorghum. *Plant Breeding Reviews* 31, 189.
- Restelatto, R., Pavinato, P.S., Sartor, L.R., Paixão, S.J., 2014. Production and nutritional value of sorghum and black oat forages under nitrogen fertilization. *Grass Forage Sci.* 68, 1-12.
- Rostanza, M., Chaichi, M.R., Jahansouz, M.R., Alimadadi, A., 2011. Forage quality, water use and nitrogen utilization efficiencies of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) grown under different soil moisture and nitrogen levels. *Agric. Water Manage.* 98, 1607-1614.
- Sakamoto, N., Tani, M., Umetsu, K., 2006. Effect of novel covering digested dairy slurry store on ammonia and methane emissions during subsequent storage. *Int. Congr. Ser.* 1293, 319-322.

- Salmerón, M., Caveró, J., Quílez, D., Isla, R., 2010. Winter cover crops affect monoculture maize yield and nitrogen leaching under irrigated Mediterranean conditions. *Agronomy J.* 102, 1700-1709.
- Schröder, J. 2005. Revisiting the agronomic benefits of manure: a correct assessment and exploitation of its fertilizer value spares the environment. *Bioresour. Technol.* 96, 253–261.
- Sexton, B. T., Moncrief, J.F., Rosen, C.J., Gupta, S.C., Cheng, H.H., 1996. Optimizing nitrogen and irrigation inputs for corn based on nitrate leaching and yield on a coarse-textured soil. *J. Environ. Qual.* 25, 982–992.
- Shang, Q., Gao, C., Yang, X., Wu, P., Ling, N., Shen, Q., Guo, S., 2014. Ammonia volatilization in Chinese double rice-cropping systems: a 3-year field measurement in long-term fertilizer experiments. *Biol. Fertil. Soils* 50, 715–725.
- Sieling, K., Ni, K., Kage, H., 2014. Application of pig slurry-First year and residual effects on yield and N balance. *Eur. J. Agron.* 59, 13–21.
- Tomasoni, C., Borrelli, L., Ceotto, E., 2011. Effect of integrated forage rotation and manure management on yield, nutrient balance and soil organic matter. *Ital. J. Agron.* 6, 55–60.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2009. Effects of different rates and timing of application of nitrogen as slurry and mineral fertilizer on yield of herbage and nitrate-leaching potential of a maize/Italian ryegrass cropping system in north-west Portugal. *Grass Forage Sci.* 64, 2-11.
- Tuinstra, M., Grote, E., Goldsbrough, P., Ejeta, G., 1997. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in Sorghum bicolor (L.) Moench. *Mol. Breed* 3, 439–448.

- USEPA, 1992. United States Environmental Protection Agency. Method 6010A. Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. Kovar. J.K. Chapter 6. methods of determination of P, K, Ca, Mg and others trace elements. In: Peters, J. (Ed.), Recommended Methods of Manure Analysis. Publ. A3769. Univ. of Wisconsin-Extension, Madison, WI.
- Vanderlip, R. L., 1993. How a sorghum plant develops? Rev. version. Manhattan, KS. Cooperative Extensión Service, Kansas State University. 20 p.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2010. Response of maize yield, nitrate leaching, and soil nitrogen to pig slurry combined with mineral nitrogen. *J. Environ. Qual.* 39, 686–696.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2013. Residual effects of fertilization with pig slurry: double cropping and soil. *Agron. J.* 105, 70–78.
- Yagüe, M.R., Quílez, D., 2015. Pig slurry residual effects on maize yields and nitrate leaching: a study in lysimeters. *Agron. J.* 107, 278–286.
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14, 415–421.
- Zavattaro, L., Monaco, S., Sacco, D., Grignani, C., 2012. Options to reduce N loss from maize in intensive cropping systems in Northern Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 147, 24–35.

CAPÍTULO 4

*LA VOLATILIZACIÓN DE AMONIACO TRAS LA FERTILIZACIÓN
CON PURÍN DE CERDO EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS*

CAPÍTULO 4

LA VOLATILIZACIÓN DE AMONIACO TRAS LA FERTILIZACIÓN CON PURÍN DE CERDO EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS

Palabras clave: pérdidas de Nitrógeno, aplicación de purín, volatilización de amoniaco, cámaras abiertas semiestáticas.

Abreviaturas:

CIC: capacidad de intercambio catiónico

MS: materia seca

NH₃: amoniaco

NH₄⁺: amonio

NAT: nitrógeno amónico total

RESUMEN

El uso de purín de cerdo como fuente de nutrientes para el cultivo se está incrementando en áreas donde la densidad ganadera es alta, debido a su bajo coste. Sin embargo, la aplicación del purín puede causar pérdidas de amoníaco (NH₃), generando baja eficiencia en el uso del nitrógeno por los cultivos, así como impactos ambientales en el medio. El objetivo de este estudio de campo fue evaluar el efecto de diferentes estrategias de fertilización con purín sobre las pérdidas de N debidas a la volatilización del NH₃. Las mediciones se realizaron durante los cinco días posteriores a la aplicación de cobertera y fondo, respectivamente, durante una campaña de doble cultivo de cebada y sorgo. Se analizaron 3 dosis de N; 80 kg N ha⁻¹ en forma de purín, en la aplicación de cobertera y 170 y 250 kg N ha⁻¹ en la de fondo. Las pérdidas de NH₃-N acumuladas durante los días posteriores a la cobertera y fondo fueron del 38.2 y 51.3% de nitrógeno amónico total (NAT) aplicado, respectivamente. En la aplicación de fondo las pérdidas

acumuladas de $\text{NH}_3\text{-N}$ cuando se aplicaron 250 kg N ha^{-1} fueron un 37% mayores respecto a cuando sólo se aplicaron 170 kg N ha^{-1} . La época de aplicación del fertilizante afectó a la diferencia en la volatilización de cada periodo, ya que las pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ en la aplicación de fondo fueron aproximadamente un 34% superiores respecto a las emisiones durante la aplicación de cobertera. En ambas aplicaciones, la mayoría del $\text{NH}_3\text{-N}$ perdido por volatilización ocurrió en las primeras 24 horas. La incorporación del purín, efectuada tras las primeras 24 horas posteriores a la aplicación de fondo, podría no ser efectiva en su objetivo de reducir las emisiones de NH_3 .

1. Introducción

La volatilización del amoníaco (NH_3) es una de las vías principales de la pérdida de N del fertilizante nitrogenado aplicado a los sistemas suelo-cultivo (Ma et al., 2010). Estas pérdidas pueden resultar en reducciones significativas de su valor como fuente de N y en escasa eficiencia de uso de nitrógeno por los cultivos (Bouwman et al., 2002; Rochette et al., 2008). Este NH_3 también actúa como un contaminante atmosférico que puede tener un efecto perjudicial sobre el medio ambiente, ya que la deposición de NH_3 atmosférico en ambientes sensibles al N puede conducir a la acidificación del suelo y a la eutrofización de las aguas superficiales (Schulze et al., 1989). La agricultura es el principal sector responsable de las emisiones de NH_3 a la atmósfera, que representaron un 94% del total de emisiones europeas en 2011 (EEA, 2013). La aplicación agrícola de purines ganaderos contribuye entre el 30% y el 50% de las emisiones totales en los países europeos para sistemas de estiércol líquido (Reidy et al., 2008), que representan más de la mitad de la producción de estiércol en la mayoría de los países de Europa Central (Menzi, 2002). En las zonas donde se producen altos

volúmenes de purín de cerdo, la solución más barata para su disposición es utilizarlo como fertilizante agrícola (Bosch-Serra et al., 2015). En estos purines, el N amoniacal es la forma predominante, representando el 65-70% del N total (Yagüe et al., 2012). En el NE de España, donde las densidades de ganado intensivo son altas y las aplicaciones de purín en los cultivos son frecuentes, existe una gran necesidad de reducir las emisiones de NH_3 .

La volatilización de NH_3 a partir del fertilizante nitrogenado aplicado en superficie es influida por muchas características del suelo que interactúan con factores climáticos y por lo tanto son de difícil predicción (McGinn y Janzen, 1998). Concretamente, la volatilización de NH_3 depende de las características del purín aplicado (pH, MS, concentración de amonio, etc.) de las condiciones atmosféricas (temperatura del aire, velocidad del viento, humedad, eventos de lluvia...), las características del cultivo (índice de área foliar, altura...) y de las características del suelo (pH, CIC, etc.) (Ferguson y Kissel, 1986; Clay et al., 1990; Sommer y Christensen, 1992; Sommer y Hutchings, 2001).

Se han empleado diferentes técnicas para medir la pérdida de NH_3 de fertilizantes nitrogenados aplicados en suelos agrícolas (Misselbrook et al., 2005a; McGinn y Janzen, 1998; Cabrera et al., 2001; Pacholski et al., 2006) y todas tienen alguna limitación (Sintermann et al., 2011). Las técnicas de medición pueden clasificarse según la escala de medida (laboratorio, parcelas pequeñas, escala de campo) o por el método utilizado (balance de N, cámara cerrada, cámara abierta, métodos micrometeorológicos) (Sanz et al., 2010). Los métodos micrometeorológico (directo) y de balance ^{15}N (indirecto) permiten estimaciones absolutas de la pérdida de N-NH_3 en el campo debido a que no perturban el entorno superficial (McGinn y Janzen, 1998; Misselbrook et al., 2005a). Hoy en día, los métodos micrometeorológicos y de túnel de viento son comúnmente utilizados y se consideran como los más precisos (Denmead, 1983; Sommer et al., 1995). Sin

embargo, al evaluar los efectos de la dosis de N sobre las emisiones de NH_3 en ensayos de campo con varios tratamientos y repeticiones, estos métodos micrometeorológicos no pueden ser utilizados satisfactoriamente. En estos casos, son más utilizadas las cámaras semiestáticas, ya que se adaptan fácilmente a las parcelas pequeñas, permiten monitorear tratamientos múltiples en la misma campaña de cultivo, tienen un bajo coste y requieren reactivos y materiales comúnmente disponibles (Grant et al., 1996). Sin embargo, las estimaciones absolutas de la pérdida de N-NH_3 pueden ser subestimadas (Pozzi et al., 2012) porque según Søgaard et al. (2002) la velocidad del viento aumenta, en un 4% por m/s, la volatilización total de NH_3 . Recientemente, Araujo et al. (2009) y Jantalia et al. (2012) han desarrollado una cámara abierta semiestática simple, con movimiento de aire libre en el interior.

En Cataluña (NE de España) hay una concentración de alrededor del 27% (7,7 millones de cerdos) de la cabaña porcina en España (MAGRAMA, 2015). En los cultivos de esta región, el purín de cerdo en fondo (antes de la siembra del cultivo de verano) se aplica generalmente mediante una cuba con plato esparcidor en abanico. En el cereal de invierno, la aplicación de cobertera en bandas, mediante una cuba de tubos colgantes, ha comenzado a utilizarse en España como una estrategia para reducir los costes de fertilización y como un intento de mejorar el manejo del purín a lo largo del año, dividiendo en dos periodos las dosis de aplicación (Bosch-Serra et al., 2014).

Existen algunos estudios relacionados con la evaluación del uso de purines de cerdo en cereales de invierno; Petersen (1996) y Sieling et al. (1998) estudiaron la eficiencia del uso del N, Sommer et al. (1997) y Meade et al. (2011) midieron las pérdidas de NH_3 en el ahijamiento bajo condiciones climáticas del norte de Europa. En las zonas mediterráneas, la información sobre las emisiones de amoníaco es escasa (Génermont y Cellier, 1997; Morvan et al., 1997; Sanz et al., 2010; Yagüe y Bosch-Serra, 2013). En

condiciones semiáridas mediterráneas, hay poca información sobre la volatilización de NH_3 después de la aplicación de diferentes estrategias de fertilización teniendo en cuenta la aplicación de fondo y cobertera (Ovejero et al., 2013, 2014; Bosch-Serra et al., 2014). No hay información disponible en la bibliografía referente a la volatilización de NH_3 en las zonas mediterráneas subhúmedas cuando se utilizan diferentes dosis de fertilizantes nitrogenados en sistemas de doble cultivo.

El objetivo de este estudio fue evaluar y cuantificar las pérdidas de volatilización de N-NH_3 después de la aplicación de diferentes dosis de fertilización con purín de cerdo en un sistema de doble cultivo anual en condiciones subhúmedas de secano.

2. Material and métodos

2.1 Localización del experimento

Este estudio se realizó en Torelló, en el norte de Cataluña, España (42 ° 02 '01 "N, 02 ° 15' 12" E, altitud 485 m) y se incluyó en el experimento de larga duración sobre dosis de fertilización con purín de cerdo, que se ha descrito en los capítulos anteriores. El suelo donde se ubicó el ensayo es un suelo franco-arcilloso bien drenado, pH básico (8,3 suelo: agua, 1: 2,5). La capa principal del suelo (0-0,30 m) tiene un contenido bajo de materia orgánica (<2%), no es salina (conductividad eléctrica, 1: 5 p / v, 0,22 dS/m), la CIC es baja (7,7 cmol/kg) y tiene un contenido de carbonato cálcico cercano al 25%. La región tiene un clima mediterráneo subhúmedo, con una temperatura media de 13.1 ° C y una precipitación de 651 mm/año (promedio para 1985-2006). Los datos de pluviometría y temperatura fueron registrados por la estación meteorológica automática de Torelló cercana al campo experimental.

2.2 Diseño experimental

El experimento se llevó a cabo durante la cobertera de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) de 2014/15 y durante la aplicación de fondo del cultivo del sorgo (*Sorghum bicolor* L.) de 2015. Para ello, a partir del diseño experimental descrito en los capítulos anteriores, se utilizaron las parcelas que recibían la dosis correspondiente según fuera fondo o cobertera. Las dosis y tratamientos de fertilización nitrogenada aplicados en forma de purín de cerdo (P), tanto en la aplicación de cobertera (80 kg N ha⁻¹) como en la de fondo (170 y 250 kg N ha⁻¹), se detallan en la Tabla 1. Las parcelas control fueron elegidas entre aquellas que no habían recibido purín de cerdo a lo largo del ensayo de larga duración comentado anteriormente. El tamaño de las parcelas fue de 480 m² (12 m de ancho y 40 m de largo). El purín se recogió de una granja de cerdos de engorde situada cerca del campo experimental y se aplicó en las parcelas en bandas mediante una cuba de tubos colgantes. El contenido de N del purín fue determinado a partir de la conductividad eléctrica del purín de la cuba. Después, se ajustó la velocidad del tractor para aplicar los kg de nitrógeno que corresponden a cada tratamiento. El purín se aplicó en otoño, antes de la siembra del sorgo, y fue incorporado en el suelo (15 cm) mediante un cultivador chisel a las 24 h después de la aplicación. En febrero, el purín se aplicó antes del ahijamineto de la cebada y no se enterró.

Tabla 1. Dosis de NH₄⁺-N y N total aplicado en cobertera y en fondo en los diferentes tratamientos de fertilización.

Tratamiento	Dosis teórica (kg N ha ⁻¹)	MS (%)	Cobertera 05/03/2015		Fondo 28/06/2015	
			NH ₄ ⁺ -N (kg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N (kg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)
P80	80	6,6	64,7	110,4		
P170	170	1,6			123,6	181,1
P250	250	1,4			153,4	225,5

2.3 Análisis de purín y humedad del suelo.

El contenido de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ y N total del purín se determinó en el laboratorio mediante el método Kjeldahl. La dosis efectiva de N aplicada, se calculó a partir del peso de las cubas antes y después de su aplicación sobre cada parcela.

Se obtuvieron muestras de suelo de dos puntos de la capa superficial (0-5 cm) en cada fecha de muestreo y en el momento de la aplicación. Las muestras se recogieron cerca de cada cámara de captación de amoníaco para analizar el cambio en la humedad. En cada parcela se obtuvo una sola muestra compuesta para cada tratamiento. El contenido de humedad volumétrica en el suelo se determinó mediante el método gravimétrico (Campbell and Mulla, 1990), después de secarse en una estufa de aire forzado a 105 °C a peso constante.

2.4 Estimación de la volatilización de NH_3

La cuantificación del N volatilizado se realizó utilizando el método de las cámaras semiestáticas abiertas diseñadas por Araújo et al. (2009). Con esta técnica, el NH_3 es capturado por una cámara que consiste en un recipiente de tereftalato de polietileno (PET) de 2 litros con el fondo cortado (Figura 1). La cámara tenía 25 cm de longitud y 10 cm de diámetro. El fondo cortado se colocó con alambres unos 2 cm por encima de la parte superior del recipiente para evitar la entrada del agua de lluvia. El interior de la cámara tenía libre circulación de aire y una banda de esponja de poliuretano de 2,5 cm de ancho por 25 cm de largo y 2 mm de espesor, suspendida verticalmente (Jantalia et al., 2012) (Figura 1). El extremo inferior de la esponja se introdujo en un recipiente de plástico que contenía 50 ml de una solución de ácido fosfórico al 10 % + glicerol al 4 % para mantener la esponja humedecida y así capturar el amoníaco emitido por la superficie del suelo (Figura 2). En cada parcela, se colocaron dos cámaras semiestáticas en la superficie del

suelo inmediatamente después de la aplicación del fertilizante y permanecieron en el mismo lugar durante todo el periodo experimental (5 días). Los muestreos se realizaron a las 5, 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la aplicación de fertilizante.

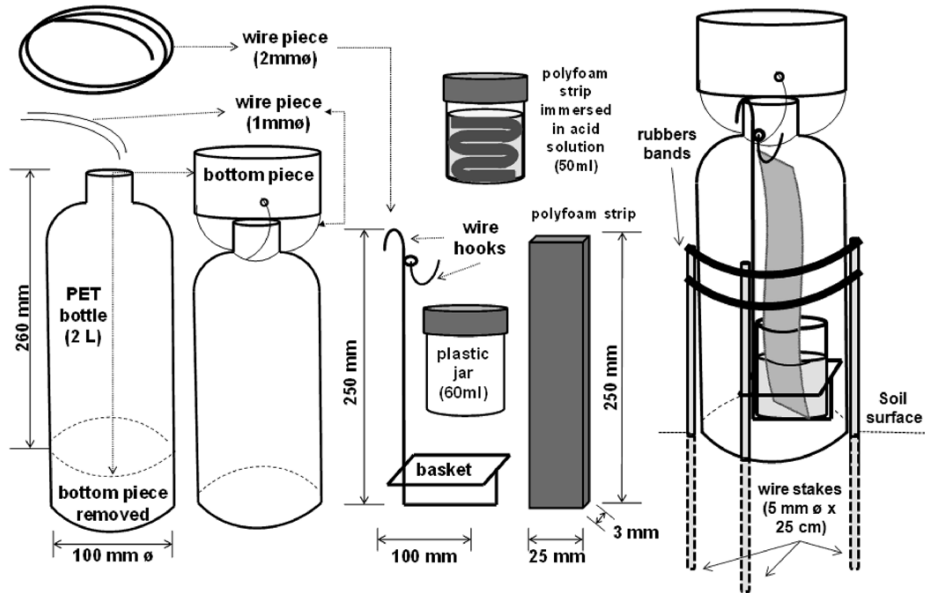


Figura 1. Representación esquemática de las partes de la cámara abierta utilizada para medir el NH_3 . Fuente Jantalia et al., 2012.



Figura 2. Cámara semiestática-abierta colocada en la parcela.

2.5 Muestreo y proceso de extracción del NH₃

En los muestreos, las esponjas de cada botella se introdujeron en un recipiente de plástico con 50 ml de cloruro potásico (KCl) 1M y a su vez fueron reemplazadas por una esponja nueva. Una vez en el laboratorio, cada muestra (esponja + KCl 1 M) se agitó durante 30 segundos, se filtró y se transfirió a unos recipientes de 150 ml. Los recipientes de plástico, con la esponja en su interior, se volvieron a agitar y a lavar con 50 ml de KCl 1M dos veces más, para extraer el amonio contenido en las esponjas. De cada muestra se determinó el contenido de N-NH₃ por colorimetría mediante un espectrofotómetro. La cantidad de N recuperada en la esponja y el recipiente se multiplicó por un factor de corrección de 1,74 para estimar la volatilización real de NH₃ de acuerdo con Alves et al. (1994). La concentración de amoníaco puede expresarse como un flujo de emisión y representada en el tiempo. El NH₃ volatilizado captado por las esponjas se expresó como pérdida acumulada de N-NH₃ con el tiempo (kg N- NH₃ ha⁻¹) y cómo % de nitrógeno amoniacal total (NAT) aplicado.

2.6 Análisis estadístico

Para determinar el efecto de la aplicación de purín de cerdo en las emisiones acumuladas de NH₃-N, así como en el porcentaje de NH₃-N volatilizado según el NH₄⁺-N aplicado se llevó a cabo un análisis ANOVA de un factor (P<0,05). Los análisis estadísticos de los resultados se realizaron utilizando el software estadístico IBM SPSS para Windows, versión 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.).

3. Resultados y discusión

En la Figuras 3 y 4 se presenta el contenido de humedad en el suelo y la temperatura media del aire, respectivamente, durante la fertilización de fondo y de cobertera. Durante el periodo que duró el experimento no hubo precipitaciones, sin embargo, durante el

periodo de aplicación del fertilizante de cobertera (marzo), hubo días con niebla principalmente al amanecer. Estos eventos de niebla no se consideraron relevantes en la emisión acumulada de $\text{NH}_3\text{-N}$. En cuanto a las temperaturas registradas durante los días de muestreo se destaca una gran amplitud térmica ($\sim 20\text{ }^\circ\text{C}$) en ambos muestreos, muy común en climas mediterráneos continentales. Durante la aplicación de cobertera, coincidiendo con el día de la aplicación, se registró una temperatura mínima por debajo de 0°C .

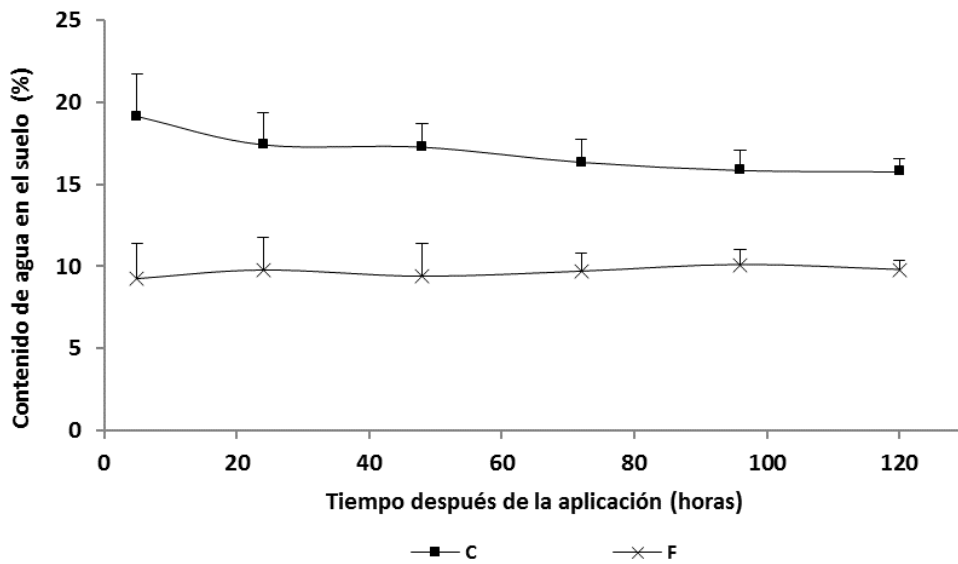


Figura 3. Contenido de agua en el suelo (0-5 cm) durante el periodo experimental en cobertera (C) y en fondo (F).

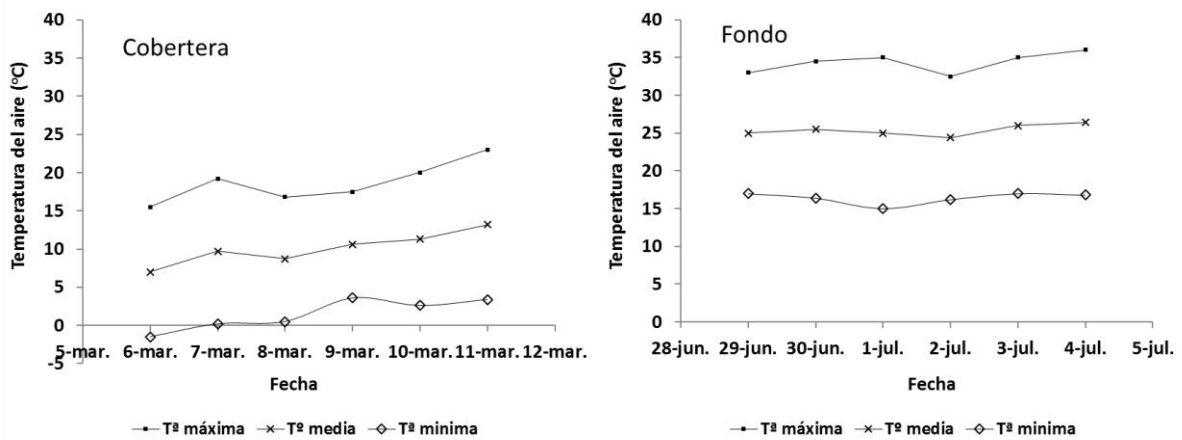


Figura 4. Temperatura del aire registrada durante el periodo experimental en cobertera y en fondo.

3.1 Efecto de la aplicación con purín de cerdo en cobertera en la volatilización de NH₃

En el ensayo de larga duración (expuesto en los capítulos anteriores) en el que fue incluido el presente estudio de volatilización, sólo se aplicó una dosis de purín de cerdo en el periodo de fertilización en cobertera. Por lo tanto, sólo se pudo comparar la diferencia en la emisión acumulada respecto del control, no realizándose comparaciones estadísticas.

Las pérdidas de NH₃-N acumuladas durante los días posteriores a la cobertera fueron del 38,2% de NAT aplicado (22,4% del N total aplicado con la fertilización) (Tabla 2). Este porcentaje es inferior al valor máximo (55,1% del NAT aplicado) obtenido por Bosch-Serra et al. (2014). En un estudio similar Yagüe y Bosch-Serra (2013) obtuvieron una volatilización en primavera, del 35% del NAT aplicado. Los valores obtenidos en nuestro ensayo también están por debajo de los de Thompson y Meisinger (2004) que, en una aplicación de primavera, obtuvieron unas pérdidas del 71% del NAT aplicado.

Tabla 2. Volatilización acumulada de amoníaco (kg NH₃-N ha⁻¹) y el porcentaje que representa del N amoniacal total aplicado (NAT) en los diferentes tratamientos de fertilización nitrogenada aplicados durante el periodo de estudio.

Periodo	Tratamiento	Dosis aplicada		Amoníaco volatilizado
		NH ₄ ⁺ -N (kg ha ⁻¹)	NH ₃ -N (kg ha ⁻¹)	% NAT aplicado
Cobertera	P80	65 (110)	24,7	38,2
Fondo	P170	124 (181)	57,3	46,4
	P250	153 (225)	78,7	51,3
	Significación		**	NS

NS: no significativo. ** significativo para P<0.01.

Valores entre paréntesis indican el N total aplicado en la fertilización.

Por otro lado, está bien documentado que la mayoría de las emisiones de NH₃-N en suelos agrícolas ocurre en unos pocos días después de la aplicación del fertilizante (De Ruijter et al., 2010; Turner et al., 2012; Tian et al., 2015). En nuestro caso, el 72,2 % de las pérdidas ocurrió en las primeras 24 horas (Figura 5). En este sentido en las primeras 5 horas ya se habían volatilizado el 40,3% de las pérdidas totales de NH₃-N en el periodo

de estudio (Figura 5). Estos resultados son similares a los publicados por (Mattila, 1998) que observó que, durante las primeras horas posteriores a la aplicación, la tasa de volatilización fue muy elevada. Según Sommer y Sherlock (1996) estas pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ son principalmente atribuidas tanto a la elevada concentración inicial de N amoniacal como al elevado pH de la superficie del suelo debido a la aplicación de purín. En un experimento llevado a cabo por Menéndez et al. (2006) observaron que, alrededor del 60% de las emisiones totales de $\text{NH}_3\text{-N}$ ocurrieron en las primeras 24 horas. Thompson et al. (1990) y Bussink et al. (1994) observaron que el 45 y 60%, respectivamente, de las emisiones totales de $\text{NH}_3\text{-N}$ sucedieron en las primeras 24 h después de la aplicación de purín de vaca.

3.2 Efecto de la aplicación con purín de cerdo en fondo en la volatilización de NH_3

Se encontraron diferencias significativas en la emisión acumulada de $\text{NH}_3\text{-N}$, entre las dos dosis aplicadas en la fertilización de fondo (Tabla 2). Sin embargo, los valores del % de NAT fueron similares en los dos tratamientos.

Las pérdidas acumuladas totales durante el periodo experimental en el tratamiento P250 fueron aproximadamente un 37% mayores respecto del tratamiento P170. El porcentaje del NAT aplicado en P250 fue aproximadamente un 10% mayor que en P170. Nuestros resultados indican que las mayores pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ fueron un 51,3 % de NAT aplicado (35% del N total aplicado con la fertilización). Este valor es superior al observado por Sanz et al. (2010) (22% del NAT aplicado) en un ensayo con métodos micrometeorológicos en la parte central de España. Sin embargo, es inferior al observado por Yagüe y Bosch-Serra (2013) en condiciones de secano semiárido del Valle del Ebro (61% del NAT aplicado) y al obtenido por Misselbrook et al. (2005). La elevada volatilización observada en estos estudios se puede atribuir a un alto contenido de la MS

en el purín, ya que según algunos autores (Sommer y Hutchings, 2001; Thompson y Meisinger, 2004), un alto contenido en la MS del purín favorece el incremento de las emisiones de amoníaco. Sin embargo, en nuestros resultados se puede observar que el contenido de MS, del purín aplicado durante la fertilización de fondo, fue muy bajo (Tabla 1). En este sentido, el contenido de MS de purín aplicado en cobertera fue más alto, sin embargo, las emisiones fueron inferiores a las observadas en la aplicación de fondo. En este caso, todo parece indicar que el factor de la temperatura resultó determinante en cuanto a las emisiones totales acumuladas, así como en las emisiones ocurridas en las primeras 24 horas (Thompson y Meisinger, 2004). La volatilización de NH_3 , desde la superficie del suelo a la que se ha aplicado el purín, incrementa al aumentar la temperatura (Sommer et al., 1991). La incidencia de este factor puede resultar muy importante en las aplicaciones de verano cuando las temperaturas superan fácilmente los $20\text{ }^\circ\text{C}$. En nuestro experimento, las altas temperaturas registradas durante la aplicación de fondo (en junio) podrían haber incrementado las pérdidas por volatilización de NH_3 , por contra, las bajas temperaturas durante la aplicación de cobertera (en marzo), podrían haber mitigado las emisiones. Las pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ en la aplicación de fondo fueron aproximadamente un 34% superiores respecto a las emisiones durante la aplicación de cobertera. Por lo tanto, la época de aplicación del fertilizante resulta crucial en las pérdidas por volatilización, ya que variables de gran relevancia sobre las emisiones como la temperatura y la humedad varían estacionalmente. En este sentido y en el caso de la fertilización orgánica las diferencias entre amoníaco volatilizado en invierno y primavera pueden llegar a ser un 50% mayores (Thompson y Meisinger, 2004).

Por otro lado, de manera similar a lo ocurrido durante la cobertera, las pérdidas por volatilización en las primeras 5 horas fueron aproximadamente el 53% de las emisiones totales durante el periodo de estudio. Además, si analizamos lo ocurrido en las

primeras 24 horas observamos que las pérdidas llegaron a ser del 94% del total emitido durante los 5 días posteriores a la aplicación del fertilizante (Figura 6). Estas elevadas emisiones durante este corto periodo de tiempo podrían ser explicadas en parte a que, pasadas las 24 h fue incorporado el purín en el suelo y las pérdidas ocurridas a partir de este momento pudieron ser consideradas insignificantes. A pesar de esto, nuestros resultados están en concordancia con los obtenidos por otros autores; Sanz et al. (2010) observó que la emisión dentro de las primeras 24 horas después de la aplicación del purín fue entre el 63 y el 75% del total del NH_3 volatilizado durante el periodo de medidas, considerándose esta situación normal cuando se aplican purines en la superficie del suelo (ej. Pain et al., 1989).

Dentro del marco legislativo del Decreto 136/09 (Generalitat de Catalunya, 2009) se permite hasta un máximo de 2 días para efectuar la incorporación del purín en el suelo en las aplicaciones acontecidas entre mayo y septiembre. Por lo tanto, coincidiendo con las conclusiones a las que llegaron Yagüe y Bosch-Serra (2013), la práctica común de los agricultores, amparada legalmente, de incorporar el purín trascurridas las primeras 24 horas y dentro de las 48 horas siguientes a la aplicación, podría no ser efectiva en la reducción de las emisiones, debido a que un elevado porcentaje de las pérdidas de NH_3 -N por volatilización podrían haber ocurrido ya trascurridas las primeras horas desde que se aplicó.

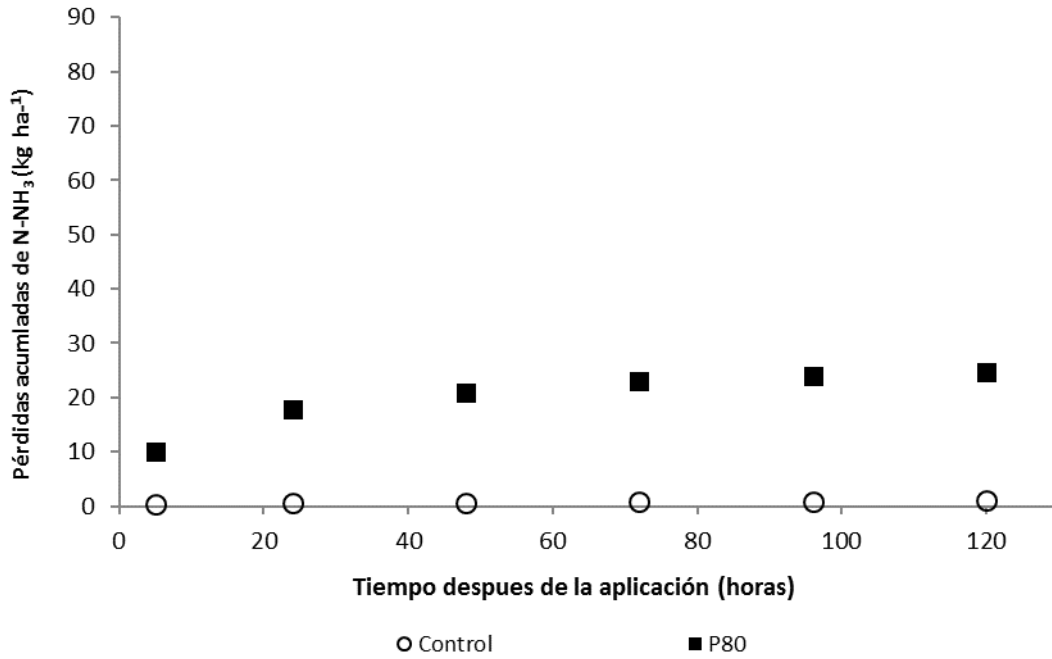


Figura 5. Volatilización acumulada de amoníaco (kg NH₃-N ha⁻¹) durante los 5 días posteriores a la aplicación en cobertera con purín de cerdo.

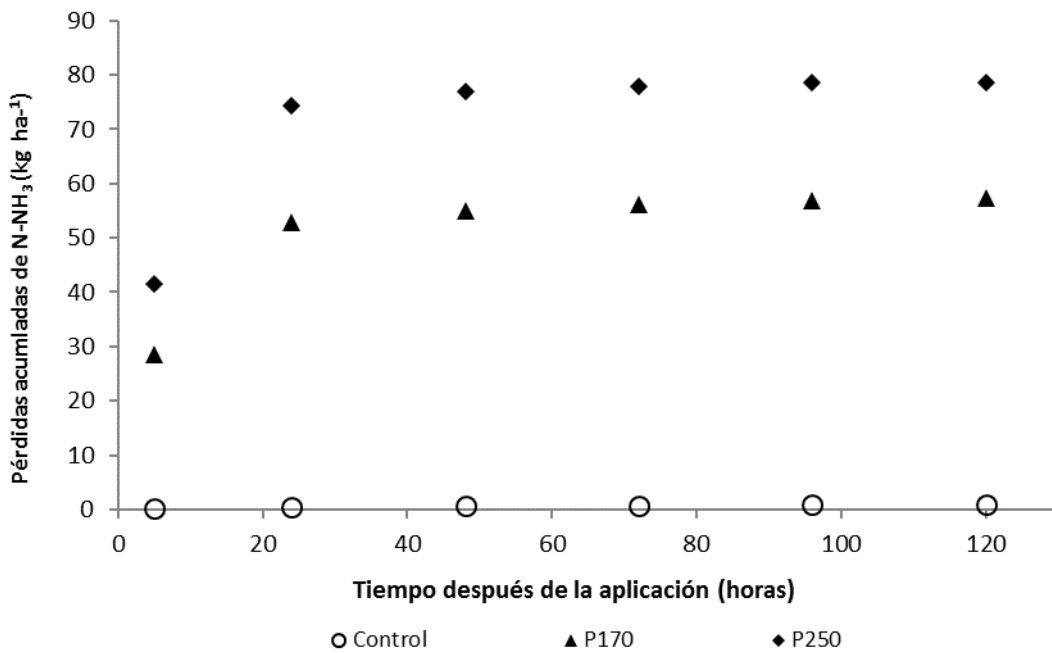


Figura 6. Volatilización acumulada de amoníaco (kg NH₃-N ha⁻¹) durante los 5 días posteriores a la aplicación de fondo con purín de cerdo.

4. Conclusiones

En las condiciones experimentales de nuestro ensayo, las pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ acumuladas durante los días posteriores a la cobertera fueron del 38,2% de NAT aplicado (22,4% del N total aplicado con la fertilización) y en la aplicación de fondo de un 51,3 % de NAT aplicado (35% del N total aplicado con la fertilización).

Las pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ en la aplicación de fondo fueron aproximadamente un 34% superiores respecto a las emisiones durante la aplicación de cobertera. La época de aplicación del fertilizante afectó a la diferencia en la volatilización de cada periodo, debido probablemente a cambios en la temperatura.

Tanto en la aplicación de cobertera como en la de fondo, la mayoría del $\text{NH}_3\text{-N}$ perdido por volatilización ocurrió en las primeras 24 horas, siendo estas pérdidas más acusadas en la aplicación de fondo durante el verano. Por lo tanto, en las aplicaciones de fondo, la incorporación del purín trascurrido ese tiempo, podría no ser efectiva en la reducción de las emisiones de NH_3 .

5. Referencias

- Alves, B.J.R., Santos, J.C.F., Boddey, R.M., Urquiaga, S., 1994. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In Hungria, M., et al. (eds.) Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Embrapa, Brasília, D.F., Brasil. p. 449-469.
- Araújo, E.S., Marsola, T., Miyazawa, M., Soares, L.H.B., Urquiaga, S., Boddey, R.M., Alves, B.J.R., 2009. Calibration of a semi-opened static chamber for the quantification of volatilized ammonia from soil. (In Portuguese, with English abstract.) *Pesqi. Agropecu. Bras.* 44, 769-776.

- Bosch-Serra, A.D., Yagüe, M.R., Teira-Esmatges, M.R., 2014. Ammonia emissions from different fertilizing strategies in Mediterranean rainfed winter cereals. *Atmos. Environ.* 84, 204–212.
- Bosch-Serra, A.D., Ortiz, C., Yagüe, M.R., Boixadera, J., 2015. Strategies to optimize nitrogen efficiency when fertilizing with pig slurries in dryland agricultural systems. *Eur. J. Agron.* 67, 27–36.
- Bouwman, A.F., Boumans, L.J.M., Batjes, N.H., 2002. Estimation of global NH₃ volatilization loss from synthetic fertilizers and animal manure applied to arable lands and grasslands. *Global Biogeochem. Cycl.* 16, 8–1, 8–13.
- Bussink, D.W., J.F. Huijsmans, and J.J.M.H. Ketelaars. 1994. Ammonia volatilization from nitric-acid-treated cattle slurry surface applied to grassland. *Neth. J. Agric. Sci.* 42, 293–309.
- Cabrera, M.L., Kissel, D.E., Davis, R.C., Qafoku, N.P., Segars, W.I., 2001. Design and ammonia-recovery evaluation of a wind speed-sensitive chamber system. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1302–1306.
- Campbell, G.S., Mulla, D.J., 1990. Measurement of soil water content and potential. In *Irrigation of Agricultural Crops*. 127–141.
- Clay, D.E., Malzer, G.L., Anderson, J.L., 1990. Ammonia volatilization from urea as influenced by soil temperature, soil water content, and nitrification and hydrolysis inhibitors. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 263–266.
- Denmead, O.T., 1983. Micrometeorological method for measuring gaseous losses of nitrogen in the field. In *Gaseous Losses of Nitrogen from Plant-Soil Systems*, 133–157.
- De Ruijter, F.J., Huijsmans, J.F.M., Rutgers, B., 2010. Ammonia volatilization from crop residues and frozen green manure crops. *Atmospheric Environment* 44, 3362–3368.

EEA (European Environment Agency), 2013. (European Environment Agency) 2014 Ammonia (NH₃) Emissions (APE 003) (Copenhagen) Assessment Published Jan 2014.

Ferguson, R.B., Kissel, D.E., 1986. Effects of soil drying on ammonia volatilization from surface-applied urea. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 485–490.

Generalitat de Catalunya, 2009. DECRET 136/2009, d'1 de setembre, d'aprovació del programa d'actuació aplicable a les zones vulnerables en relació amb la contaminació de nitrats que procedeixen de fonts agràries i de gestió de lesdejeccions ramaderes, DOGC 5457, 65858–65902.

Génermont, S., Cellier, P., 1997. A mechanistic model for estimating ammonia volatilization from slurry applied to bare soil. *Agric. For. Meteorol.* 88, 145-167.

Gericke, D., Pacholski, A., Kage, H., 2011. Measurement of ammonia emissions in multi-plot field experiments. *Biosyst. Eng.* 108, 164–173.

Gericke, D., Bornemann, L., Kage, H., Pacholski, A., 2012. Modelling ammonia losses after field application of biogas slurry in energy crop rotations. *Water Air Soil Poll.* 223, 29–47.

Grant, C.A., Jia, S., Brown, K.R., Bailey, L.D., 1996. Volatile losses of NH₃ from surface applied urea and urea ammonium nitrate with and without the urease inhibitors NBP or ammonium thiosulphate. *Can. J. Soil Sci.* 76, 417-419.

Jantalia, C.P., Halvorson, A.D., Follett, R.F., Alves, B.J.R., Polidoro, J.C., Urquiaga, S., 2012. Nitrogen source effects on ammonia volatilization as measured with semi-static chambers. *Agron. J.* 104, 1595–1603.

Ma, B.L., Wu, T.Y., Tremblay, N., Deen, W., McLaughlin, N.B., Morrison, M.J., Stewart, G., 2010. On-farm assessment of the amount and timing of nitrogen fertilizer on ammonia volatilization. *Agron. J.* 102, 134–144.

- MAGRAMA, 2015. Anuario de estadística. Available at: <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/ganaderia/en-cuestas-ganaderas/#para4> (verified 11.10.16).
- Mattila, P.K. 1998. Ammonia volatilization from cattle slurry applied to grassland as affected by slurry treatment and application technique-First year resorts. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 51, 47–50.
- McGinn, S.M., Janzen, H.H.. 1998. Ammonia sources in agriculture and their measurement. *Can. J. Soil Sci.* 78, 139–148.
- Meade, G., Pierce, K., O’Doherty, J.V., Mueller, C., Lanigan, G., Mc Cabe, T., 2011. Ammonia and nitrous oxide emissions following land application of high and low nitrogen pig manures to winter wheat at three growth stages. *Agric. Ecosyst. Environ.* 140, 208-217.
- Menéndez, S., Merino, P., Pinto, M., González-Mura, C., Estavillo, J.M., 2006. 4-Dimethylpyrazol phosphate effect on nitrous oxide, nitric oxide, ammonia, and carbon dioxide emissions from grasslands. *J. Environ. Qual.* 35, 973–98.
- Menzi, H., 2002. Manure management in Europe:results of a recent survey. In:Venkovský, J.(Ed.). Recycling of Agricultural, Municipal and Industrial Residues in Agriculture Ramiran 2002. University of Veterinary Medicine, Research Institute of Veterinary Medicine, Košice, pp.93–102.
- Misselbrook, T.H., Nicholson, F.A., Chambers, B.J., Johnson, R.A., 2005a. Measuring ammonia emissions from land applied manure: An intercomparison of commonly used samplers and techniques. *Environ. Pollut.* 135, 389–397.

- Misselbrook, T.H., Nicholson, F.A. & Chambers, F.B. 2005b. Predicting ammonia losses following the application of livestock manure to land. *Bioresource Technology* 96, 159–168.
- Morvan, T., Leterme, P., Arsen, G., Mary, B., 1997. Nitrogen transformations after the spreading of pig slurry on bare soil and ryegrass using ¹⁵N-labelled ammonium. *Eur. J. Agron.* 7, 181-188.
- Ni, K., Pacholski, A., Gericke, D., Kage, H., 2012. Analysis of ammonia losses after field application of biogas slurries by an empirical model. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 175, 253–264.
- Ovejero, J., Lampurlanés, J., Álvaro-Fuentes, J., Plaza-Bonilla, D., Cantero-Martínez, C., 2013. Tillage and organic amendments fertilization effects on ammonia volatilization in mediterranean dryland agroecosystems (in Spanish). *Tierras de Castilla y León.* 209, 48 - 52.
- Ovejero, J., Lampurlanés, J., Álvaro-Fuentes, J., Cantero-Martínez, C., 2014. Ammonia volatilization from different organic amendments and soils management in the Ebro Valley. (In Spanish). *Interempresas Agricultura y Ganadería.* 1067, 88 - 93.
- Pain, B.F., Phillips, V.R., Clarkson, C.R., Klarenbeek, J.V., 1989. Loss of nitrogen through ammonia volatilization during and following the application of pig or cattle slurry to grassland. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 47, 1–12.
- Pacholski, A., Cai, G., Nieder, R., Richter, J., Fan, X., Zhu, Z., Roelcke, M., 2006. Calibration of a simple method for determining ammonia volatilization in the field- Comparative measurements in Henan Province, China. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 74, 259–273.
- Petersen, J., 1996. Fertilization of spring barley by combination of pig slurry and mineral nitrogen fertilizer. *J. Agric. Sci.* 127, 151-159.

- Pozzi, C., Halvorson, A.D., Follett, R.F., Rodrigues, B.j., Poliodoro, J.C., Urquiaga, S., 2012. Nitrogen source effects on ammonia volatilization as measured with semi-static chambers. *Agron. J.* 104, 1595-1603.
- Reidy, B., Dämmgen, U., Döhler, H., Eurich-Menden, B., vanEvert, F.K., Hutchings, N.J., Luesink, H.H., Menzi, H., Misselbrook, T.H., Monteny, G.-J., Webb, J., 2008. Comparison of models used for national agricultural ammonia emission inventories in Europe: liquid manure systems. *Atmos. Environ.* 42(14),3452–3464.
- Rochette, P., Guilmette, D., Chantigny, M.H., Angers, D.A., MacDonald, J.D., Bertrand, N., Parent, L.É., Côté, D., Gasser, M.O., 2008. Ammonia volatilization following application of pig slurry increases with slurry interception by grass foliage. *Can. J. Soil Sci.* 88, 585–593.
- Sanz, A., Misselbrook, T., Sanz, M.J., Vallejo, A., 2010. Use of an inverse dispersion technique for estimating ammonia emission from surface-applied slurry. *Atmos. Environ.* 44, 999-1002.
- Schulze, E.D., de Vries, W., Hauhs, M., Rosen, K., Rasmussen, L., Tamm, C.O., Nilsson, J., 1989. Critical loads for nitrogen deposition on forest ecosystems. *Water, Air, and Soil Poll.* 48, 451–456.
- Sieling, K., Schröder, H., Hanus, H., 1998. Yield, N uptake, and apparent N-use efficiency of winter wheat and winter barley grown in different cropping systems. *J. Agric. Sci.* 131, 375-387.
- Sintermann, J., Neftel, A., Ammann, C., Häni, C., Hensen, A., Loubet, B., Flechard, C.R., 2011. Are ammonia emissions from field-applied slurry substantially overestimated in European emission inventories?. *Biogeosci. Discuss.* 8, 10069-10118.

- Søgaard, H.T., Sommer, S.G., Hutchings, N.J., Huijsmans, J.F.M., Bussink, D.W., Nicholson, F., 2002. Ammonia volatilization from field-applied animal slurry e the ALFAM model. *Atmos. Environ.* 36, 3309-3319.
- Sommer, S.G., J.E. Olesen, and B.T. Christensen. 1991. Effects of temperature, wind speed and air humidity on ammonia volatilization from surface applied cattle slurry. *J. Agric. Sci.* 117, 91–100.
- Sommer, S.G., Christensen, B.T., 1992. Ammonia volatilization after injection of anhydrous ammonia into arable soils of different moisture levels. *Plant Soil* 142, 143–146.
- Sommer, S.G., Mikkelsen, H., Mellqvist, J., 1995. Evaluation of meteorological techniques for measurement of ammonia loss from pig slurry. *Agric. Forest Meteorol.* 74, 169–179.
- Sommer, S.G., and R.R. Sherlock. 1996. pH and buffer component dynamics in the surface layers of animal slurries. *J. Agric. Sci.* 127, 109–116.
- Sommer, S.G., Friis, E., Bach, E., Schjorring, J.K., 1997. Ammonia volatilization from pig slurry applied with trail hoses or broadcast to winter wheat: effects of crop developmental stage, microclimate, and leaf ammonia absorption. *J. Environ. Qual.* 26, 1153-1160.
- Sommer, S.G., Hutchings, N.J., 2001. Ammonia emission from field applied manure and its reduction-invited paper. *Eur. J. Agron.* 15, 1–15.
- Thompson, R.B., B.F. Pain, and Y.J. Rees. 1990. Ammonia volatilization from cattle slurry following surface application to grassland. II. Influence of application rate, wind speed and applying slurry in narrows bands. *Plant Soil* 125, 119-128.

- Thompson, R.B., Meisinger, J.J., 2004. Gaseous nitrogen losses and ammonia volatilization measurement following land application of cattle slurry in the mid-Atlantic region of the USA. *Plant and soil* 266, 231-246.
- Tian, Z., Wang, J.J. , Liu, S., Zhang, Z., Dodla, S.K., Myers, G., 2015. Application effects of coated urea and urease and nitrification inhibitors on ammonia and greenhouse gas emissions from a subtropical cotton field of the Mississippi delta region. *Sci.Tot. Environ.* 533, 329-338.
- Turner, D.A., Edis, R.E., Chen, D., Freney, J.R., Denmead, O.T., 2012. Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers applied to cereals in two cropping areas of southern Australia *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 93, 113-126.
- Yagüe, M.R., Bosch-Serra, A.D., Boixadera, J., 2012. Measurement and estimation of the fertiliser value of pig slurry by physicochemical models: usefulness and constraints. *Biosyst. Eng.* 111, 206–216.
- Yagüe, M. R., Bosch-Serra, A. D., 2013. Slurry field management and ammonia emissions under Mediterranean conditions. *Soil Use Manage.* 29, 397–400.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

Bajo las condiciones subhúmedas mediterráneas de este estudio, la productividad en el sistema de doble cultivo analizada a lo largo de esta tesis doctoral, fue significativamente afectada por la dosis de fertilización nitrogenada en forma de purín de cerdo. A lo largo de los nueve años de estudio, las condiciones climatológicas, principalmente la cantidad de precipitaciones y su distribución en cada campaña de cultivo, determinaron en gran medida el rendimiento de MS de los cultivos forrajeros que conformaron las rotaciones utilizadas en el ensayo. La variabilidad en la producción debido a una irregular distribución de la precipitación a lo largo del ciclo de cultivo es muy común en sistemas de secano (Trindade et al., 2009). Este hecho pudo observarse claramente a lo largo de los seis años de cultivo de maíz de la primera rotación entre 2006 y 2012 (Figura 1, Capítulo 1). En 2007 y 2012 (esta última campaña del maíz no fue incluida en los análisis presentados en esta tesis) las bajas precipitaciones registradas en el verano, durante el ciclo del cultivo del maíz, provocaron una mala nascencia del cultivo que conllevó a que no hubiera cosecha en esos años. Por lo tanto, motivado por este hecho, en la segunda rotación llevada a cabo entre 2012-2015 y presentada en el Capítulo 3, se cambió el maíz por el sorgo debido a su mayor tolerancia a la sequía (Ejeta y Knoll, 2007; Ramazanzadeh y Asgharipour, 2011) y por tratarse de un cultivo de verano habitual en la zona de estudio. Este cambio de cultivo en la rotación tuvo un efecto positivo en cuanto a la productividad, ya que, el rendimiento medio de todos los tratamientos fue un 10% superior en el sorgo respecto del maíz. Sin embargo, el cambio realizado en los cultivos de invierno fue mucho menos efectivo, debido a que el rendimiento medio fue aproximadamente un 60 % mayor en el triticale que en la cebada. De manera general, teniendo en cuenta la suma de los rendimientos de cada cultivo de la rotación, se ha observado que el rendimiento medio obtenido en la rotación maíz-triticale ha sido

aproximadamente un 9% mayor respecto al de la rotación cebada-sorgo principalmente atribuido al elevado rendimiento obtenido en el triticale que fue incluso superior al del maíz.

El rendimiento de cada cultivo se vio, en mayor o en menor medida, afectado significativamente por la dosis de fertilización. Esta diferencia fue más notoria en la cebada a lo largo de los tres años de cultivo, y en menor medida en el sorgo, donde sólo hubo diferencias entre los tratamientos de fertilización y las parcelas control. A lo largo de los nueve años de ensayo, teniendo en cuenta la suma del cultivo de invierno y de verano, los rendimientos de MS más altos se alcanzaron cuando fueron aplicadas dosis superiores a los 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ de fertilizante orgánico permitidos por la Directiva de nitratos en ZVN (EEC, 1991). De manera similar a otros estudios (Trindade et al., 2009; Yagüe et al., 2013a; Perramon et al., 2016), en sistemas de doble cultivo podría ser factible la aplicación de dosis superiores a las permitidos por la Directiva de nitratos, teniendo en cuenta que en estos sistemas hay una demanda mayor de N, comparado a cuando sólo se siembra un cultivo por año.

Por otro lado, los sistemas de doble cultivo podrían mejorar la eficiencia en el uso del N, comparado con un sistema de un cultivo anual (Zavattaro et al., 2012), lo que podría conllevar a un incremento de la producción (Borrelli et al., 2014). En este estudio de 9 años de duración se observó, que la eficiencia en el uso del N fue mayor en el cultivo de invierno que en el de verano en las dos rotaciones estudiadas. Esta alta eficiencia en el uso del N en el cereal de invierno pudo ser debida al aprovechamiento del NO₃⁻-N residual del cereal de verano precedente, que incluye la mineralización de la materia orgánica del purín aplicado en dicho cultivo (Yagüe y Quílez, 2013b; Hartmann et al., 2014; Sieling et al., 2014). Similar

a lo observado por Grignani et al. (2007), el nitrato residual procedente del cereal de verano podría ser aprovechado por el cereal de invierno en estos sistemas de doble cultivo, lo que evitaría parcialmente el riesgo de lixiviación de nitratos. Sin embargo, este efecto residual del purín contribuyó a que se incrementara el contenido de NO_3^- -N del suelo en octubre después de la cosecha del cereal de verano principalmente en la rotación maíz-triticale. Esta acumulación de NO_3^- -N en suelo, particularmente en los años en los que la extracción de N por parte del maíz fue muy baja o incluso casi nula, junto con el aporte de la fertilización realizada en fondo antes de la siembra del triticale, incrementaría el riesgo de lixiviación de NO_3^- -N durante el otoño e invierno si suceden fuertes episodios de lluvia (Nevens y Reheul, 2005; Bergström y Kirchmann, 2006; Giola et al., 2012). Este hecho motivó que, en la rotación cebada-sorgo la aplicación del purín se hiciera en cobertera durante la época de ahijamineto del cultivo, en vez de la aplicación en fondo, con el doble objetivo de minimizar el riesgo de lixiviación de NO_3^- -N e incrementar la eficiencia en el uso del N (Petersen, 1996; Jackson y Smith, 1997). En este sentido se observó que, las pérdidas de N totales (calculadas a partir del balance de N, como N no recuperado), teniendo en cuenta el ciclo de los dos cultivos de cada rotación, fueron similares en las dos rotaciones analizadas en este estudio. Incluso, las pérdidas de N fueron superiores durante el cultivo de la cebada que en el cultivo del triticale, debido fundamentalmente a las elevadas extracciones de N del triticale y la menor extracción de N en la cebada causada por una producción baja de MS. Este hecho también podría indicar que, las pérdidas de N, inicialmente atribuidas en su mayor parte a la lixiviación de NO_3^- -N, podrían estar causadas también, en un gran porcentaje, por la volatilización de NH_3 durante las aplicaciones tanto de fondo como de cobertera, como pudimos observar en el Capítulo 4 de esta memoria de tesis. Las pérdidas de N total en el conjunto de las dos rotaciones, fueron significativamente afectadas por la dosis de fertilización, siendo más

elevadas cuando se aplican dosis superiores a los 170 kg N ha⁻¹ año⁻¹ de fertilizante orgánico permitidos por la Directiva de Nitratos en ZVN (EEC, 1991). Cuando estas pérdidas son atribuidas a la lixiviación de NO₃⁻-N a las aguas subterráneas o bien por volatilización de amoníaco se incrementa el riesgo de contaminación medioambiental. Sin embargo, si estas pérdidas de N son debido al NH₄⁺-N inmovilizado y fijado en las arcillas, este N podría estar disponible para el siguiente cultivo de la rotación en sistemas de doble cultivo (Sørensen y Amato, 2002; Chantigny et al., 2004; Schröder, 2005).

En referencia a la calidad forrajera, después de 9 años de aplicación continuada de purín, el tratamiento de fertilización sólo ha mostrado un efecto positivo en el contenido en PB y PD. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización aplicados, en el resto de los parámetros analizados. El incremento del contenido en PB con la fertilización nitrogenada ha sido publicado en numerosos estudios (Gillen and Berg, 1998; Rostamza et al., 2011). De manera similar a lo comentado para el rendimiento, en el global del experimento, teniendo en cuenta la suma del cultivo de invierno y verano en cada rotación, los niveles de proteína más altos se obtuvieron dosis de N superiores a la permitida por la Directiva de Nitratos en ZVN (EEC, 1991).

Referencias

- Bergström, L., Kirchmann, H., 2006. Leaching and crop uptake of nitrogen and phosphorus from pig slurry as affected by different application rates. *J. Environ. Qual.* 35, 1803–1811.
- Borrelli, L., Castelli, F., Ceotto, E., Cabassi, G., Tomasoni, C., 2014. Maize grain and silage yield and yield stability in a long-term cropping system experiment in Northern Italy. *Eur. J. Agron.* 55, 12–19.

- Chantigny, M.H., Angers, A.D., Masse, D., Morvan, T., Pomar, C., 2004. Dynamics of pig slurry nitrogen in soil and plant as determined with ^{15}N . *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 637–643.
- EEC, 1991. Council Directive of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. *Off. J. Eur. Commun.*, 91/676/EEC.
- Ejeta, G., Knoll, K.E., 2007. Marker-assisted selection in sorghum. R.K. Varshney, R. Tuberosa (Eds.), *Genomics-Assisted Crop Improvement*, Springer, Netherlands. 187–205.
- Gillen, R.L., Berg, W.A., 1998. Nitrogen fertilization of a native grass planting in Western Oklahoma. *J. Range Manage.* 51, 436–441.
- Giola, P., Basso, B., Pruneddu, G., Giunta, F., Jones, J.W., 2012. Impact of manure and slurry applications on soil nitrate in a maize–triticale rotation: field study and long term simulation analysis. *Eur. J. Agron.* 38, 43–53.
- Grignani, C., Zavattaro, L., Sacco, D., Monaco, S., 2007. Production, nitrogen and carbon balance of maize-based forage systems. *Eur. J. Agron.* 26, 442–453.
- Hartmann, T.E., Yue, S., Schulz, R., Chen, X., Zhang, F., Müller, T., 2014. Nitrogen dynamics, apparent mineralization and balance calculations in a maize – wheat double cropping system of the North China Plain. *Field Crops Res.* 160, 22–30.
- Jackson, D.R., Smith, K.A., 1997. Animal manure slurries as a source of nitrogen for cereals; effect of application time on efficiency. *Soil Use Manage.* 13, 75–81.
- Nevens, F., Reheul, D., 2005. Agronomical and environmental evaluation of a long-term experiment with cattle slurry and supplemental inorganic N applications in silage maize. *Eur. J. Agron.* 22, 349–361.

- Perramon, B., Bosch-Serra, A.D., Domingo, F., Boixadera, J., 2016. Organic and mineral fertilization management improvements to a double-annual cropping system under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 76, 28–40.
- Petersen, J., 1996. Fertilization of spring barley by combination of pig slurry and mineral nitrogen fertilizer. *J. Agric. Sci.* 127, 151–159.
- Ramazanzadeh, S., Asgharipour, M., 2011. Physiological growth responses of sorghum genotypes to impairment of plant photosynthesis using potassium iodide. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 5, 1884–1890.
- Rostamza, M., Chaichi, M.R., Jahansouz, M.R., Alimadadi, A., 2011. Forage quality, water use and nitrogen utilization efficiencies of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) grown under different soil moisture and nitrogen levels. *Agric. Water Manage.* 98, 1607-1614.
- Schröder, J. 2005. Revisiting the agronomic benefits of manure: a correct assessment and exploitation of its fertilizer value spares the environment. *Bioresour. Technol.* 96, 253–261.
- Sieling, K., Ni, K., Kage, H., 2014. Application of pig slurry-First year and residual effects on yield and N balance. *Eur. J. Agron.* 59, 13–21.
- Sørensen, P., Amato, M., 2002. Remineralisation and residual effects of N after application of pig slurry to soil. *Eur. J. Agron.* 16, 81–95.
- Trindade, H., Coutinho, J., Jarvis, S., Moreira, N., 2009. Effects of different rates and timing of application of nitrogen as slurry and mineral fertilizer on yield of herbage and nitrate-leaching potential of a maize/Italian ryegrass cropping system in north-west Portugal. *Grass Forage Sci.* 64, 2-11.

Yagüe, M.R., Iguácel, F., Orús, F., 2013a. Fertilización con purín: resultados agronómicos en doble cultivo anual de cebada-maíz y efecto residual en cebada (2006-2012). *Informaciones técnicas Gobierno de Aragón* 213.

Yagüe, M.R., Quílez, D., 2013b. Residual effects of fertilization with pig slurry: double cropping and soil. *Agron. J.* 105, 70–78.

Zavattaro, L., Monaco, S., Sacco, D., Grignani, C., 2012. Options to reduce N loss from maize in intensive cropping systems in Northern Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 147, 24–35.

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

1. En condiciones subhúmedas mediterráneas de secano, en un sistema de doble cultivo anual, la aplicación de N, en forma de purín de cerdo, con dosis superiores a los $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de fertilizante orgánico permitidos por la Directiva de nitratos en ZVN, mejoró significativamente la producción obtenida a lo largo de los nueve años de duración del estudio.
2. Las condiciones climatológicas, principalmente la pluviometría y su distribución en cada campaña de cultivo, determinaron, en gran medida, el rendimiento de MS de los cultivos forrajeros que conformaron las rotaciones utilizadas en el ensayo.
3. El rendimiento medio obtenido en la rotación maíz-triticale ($18.2 \text{ kg MS ha}^{-1}$) fue aproximadamente un 9% mayor respecto al de la rotación cebada-sorgo ($16.8 \text{ kg MS ha}^{-1}$), principalmente atribuido al elevado rendimiento obtenido en el triticale, que fue incluso superior al del maíz.
4. Los tratamientos de fertilización con 170 y 250 kg N ha^{-1} aplicados en fondo antes del cultivo de verano tuvieron un importante efecto en el rendimiento del cereal de invierno siguiente debido al efecto residual del purín que incrementó el contenido de $\text{NO}_3^- \text{-N}$ en el suelo.
5. La eficiencia en el uso del N fue mayor en el cultivo de invierno que en el de verano, principalmente debido al uso del $\text{NO}_3^- \text{-N}$ residual del cereal de verano precedente.
6. En el global del experimento, las pérdidas de N total en ambas rotaciones fueron significativamente afectadas por la dosis de fertilización, siendo más elevada cuando

fueron aplicadas dosis superiores a $170 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. La aplicación de estas dosis (250 y $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$) determinó mayores pérdidas de N, bien por lixiviación de nitratos y volatilización o bien por inmovilización del N de la materia orgánica del purín aplicado.

7. Después de 9 años de aplicación continuada de purín, sólo se observaron diferencias significativas en el contenido de PB y PD, incrementando significativamente cuando se aplicaron $330 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. En el resto de parámetros de calidad forrajera analizados no hubo diferencias significativas entre los tratamientos.
8. Las pérdidas de $\text{NH}_3\text{-N}$ en la aplicación de fondo y cobertera fueron un 35 y 22%, respectivamente del N total aplicado. La mayoría del $\text{NH}_3\text{-N}$ perdido por volatilización ocurrió en las primeras 24 horas, transcurrido ese tiempo, la incorporación del purín podría no ser efectiva en la reducción de las emisiones de NH_3 .

