



Leguminosas nativas con potencial forrajero: *Adesmia bicolor*

Sara Basconsuelo; Mónica Grosso; Teresa Kraus; César Bianco;
Luciana Bianco; Darío Vileta y Rosana Malpasi

e-book

UniRío
editora

ISBN: 978-987-688-038-1

Leguminosas nativas con potencial forrajero : adesmia bicolor /
Sara Basconsuelo ... [et.al.]. - 1a ed. - Río Cuarto : UniRío Editora, 2013.
E-Book.

ISBN 978-987-688-038-1

1. Leguminosas. 2. Cultivos Forrajeros. I. Basconsuelo, Sara
CDD 633.3

Fecha de catalogación: 22/04/2013

Leguminosas nativas con potencial forrajero. Adesmia bicolor
Sara Basconsuelo, Mónica Grosso, Teresa Kraus, César Bianco, Luciana Bianco, Darío Vileta y Rosana Malpassi

2013 © UniRío editora. Universidad Nacional de Río Cuarto
Ruta Nacional 36 km 601 - (X5804) Río Cuarto - Argentina
Tel.: 54 (358) 467 6309 - Fax.: 54 (358) 468 0280
editorial@rec.unrc.edu.ar - www.unrc.edu.ar/unrc/comunicacion/editorial/

ISBN 978-987-688-038-1

Primera Edición: *Abril de 2013*



Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 2.5 Argentina.

http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR



Consejo Editorial

Facultad de Agronomía y Veterinaria
Prof. Laura Ugnia y Prof. Mercedes Ibañez

Facultad de Ciencias Económicas
Prof. Florencia Granato y Prof. Mónica Ré

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y
Naturales
Prof. Sandra Miskoski y Prof. Julio Barros

Facultad de Ciencias Humanas
Prof. Silvina Barroso

Facultad de Ingeniería
Prof. Marcelo Gioda y Prof. Jorge Vicario

Biblioteca Central Juan Filloy
Lic. Irma Milanesio y Bibl. Claudia Rodríguez

Secretaría Académica
Prof. Claudio Asaad y Prof. M. Elena Berruti

Equipo Editorial

Secretario Académico: *Claudio Asaad*
Directora: *Elena Berruti*
Equipo: *José Luis Ammann, Daila Prado,
Maximiliano Brito y Daniel Ferniot*

LEGUMINOSAS NATIVAS CON POTENCIAL FORRAJERO: *ADESMIA BICOLOR*

Basconsuelo, S.¹; M. Grosso¹; T.A. Kraus¹; C. Bianco²; L. Bianco¹; D. Vileta³ & R. Malpassi¹

¹ Morfología Vegetal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. (5800) Río Cuarto. Córdoba. Argentina.

E-mails: sbasconsuelo@ayv.unrc.edu.ar, mgrosso@ayv.unrc.edu.ar, tkraus@ayv.unrc.edu.ar, lbianco@ayv.unrc.edu.ar, rmalpassi@ayv.unrc.edu.ar

² Botánica Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. (5800) Río Cuarto. Córdoba. Argentina. E-mail: cbianco@ayv.unrc.edu.ar

³ Nutrición Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. (5800) Río Cuarto. Córdoba. Argentina. E-mail: dvileta@ayv.unrc.edu.ar

Índice

INTRODUCCIÓN	5
ESTUDIOS REALIZADOS EN <i>ADESMIA BICOLOR</i>	8
I. Distribución	8
II. Crecimiento vegetativo	9
III. Características del fruto y la semilla	10
IV. Embriología de <i>Adesmia bicolor</i>	12
V. Evaluación de calidad forrajera y degradabilidad	13
VI. Fijación biológica de nitrógeno	15
CONCLUSIONES	19
BIBLIOGRAFÍA	20

INTRODUCCIÓN

En diversas partes del mundo se están realizando estudios con la intención de introducir especies de leguminosas nativas como forrajeras para lograr sistemas agropecuarios que sean sustentables (Fig. 1). La introducción de estas especies permitiría: 1) resguardar el germoplasma de las especies nativas, 2) mejorar la cobertura vegetal, evitando la erosión del suelo, 3) mejorar la calidad y cantidad de forraje para el ganado y regular la disponibilidad del mismo, 4) reponer el nitrógeno al suelo a través de la fijación biológica del nitrógeno, la cual involucra una compleja relación simbiótica planta-bacteria, 5) asociar las especies con otro cultivo (intercrops), favoreciendo el menor uso de pesticidas y fertilizantes, y mejorando la utilización de recursos locales (Speroni & Izaguirre, 2003; Hauggaard-Nielsen & Jensen, 2005; Scheffer-Basso *et al.*, 2005; Veneciano *et al.*, 2005; Rebuffo *et al.*, 2006; Suriyagoda *et al.*, 2010; Zabala *et al.* 2010).

En la Fig. 1 se observa que, en general, las especies más estudiadas en este momento con fines forrajeros, pertenecen a los géneros *Trifolium*, *Adesmia*, *Desmodium*, *Lotus*, *Centrosema* y *Desmanthus*. Los países que más investigan en este tema son: Brasil, Uruguay, Argentina y Estados Unidos.

La introducción de leguminosas nativas con potencial forrajero requiere numerosas actividades, entre ellas:

- Localizar variabilidad genética de cada especie, lo que implica definir sitios de recolección e información sobre los distintos ambientes, tratando de lograr la mayor diversidad posible para cada especie.
- Almacenar y conservar el germoplasma preservando materiales viables con sus características genéticas originales. La conservación puede ser en su ambiente natural (áreas protegidas), fuera de su ambiente (*ex situ*) o en parcelas (colecciones a campo).

Las semillas se pueden conservar durante diferentes períodos, largo, mediano y corto plazo. En las leguminosas es posible obtener un aumento de la longevidad de los materiales conservados, disminuyendo la temperatura y humedad relativa en el almacenaje. Estas semillas son denominadas “*ortodoxas*” (Robert, 1973; Iriondo Alegría, 2001). En la Estación Experimental Agropecuaria INTA Anguil por ejemplo, trabajan con cámaras de germoplasma entre 4 a 8°C y 40% de humedad (Traverso *et al.*, 2005).

- Caracterizar las accesiones que componen la colección utilizando descriptores, aspectos morfológicos y fisiológicos tanto cualitativos como cuantitativos. Realizar una evaluación agronómica preliminar teniendo en cuenta sobrevivencia, persistencia, curvas de crecimiento, relación hoja/tallo, cobertura, productividad de materia seca, productividad de semilla y calidad forrajera (Toledo & Schultze, 1982; Beck *et al.*, 2007; Vileta *et al.*, 2011). Los estudios de evaluación forrajera podrán hacerse sin el efecto del pastoreo, para definir el potencial de producción bajo condiciones favorables o con el efecto del pastoreo, introduciendo el efecto de pisoteo, reciclaje de nutrientes y consumo selectivo del animal.

- Cuantificar la fijación biológica de nitrógeno en áreas ecológicamente diferentes y determinar el efecto de factores abióticos (suelo, clima y agua) y bióticos (variedad y rizobios) (Racca, *et al.*, 2001; Lea *et al.*, 2007; Lea & Miflin, 2011).
- Determinar formas de utilización de la pastura (sistemas de pastoreos) y la producción y tecnología de semillas (manejo del cultivo, momento de cosecha, determinación de productividad y calidad de las semillas, recolección, trilla y producción industrial del inoculante).

La secuencia de estas actividades es orientativa y depende de las especies a introducir, disponibilidad de materiales y recursos humanos (Veneciano *et al.*, 2005). Para evaluar el comportamiento preliminar de un alto número de entradas se deben realizar ensayos regionales en puntos altamente representativos de ecosistemas mayores, lo que implica adoptar un diseño, tener en cuenta el tamaño de las parcelas, repeticiones, duración, mantenimiento y evaluación del ensayo (Toledo & Schultze-Kraft, 1982).

Para poder constatar si una especie, como por ejemplo *Adesmia bicolor*, es una buena forrajera se debe considerar la relación entre la producción de biomasa y la calidad del forraje, asociadas con una buena persistencia. En lo referente a calidad de forraje, no sólo se debe considerar el contenido de proteína, sino también otros parámetros como la relación de hoja/tallo, porcentaje de fibras, lignina y digestibilidad, entre otros.

Además, el estudio de los estadios fenológicos se debe realizar en función de la productividad y calidad, ya que conocer la relación de estos parámetros permite determinar el momento óptimo de su consumo. Los parámetros de calidad como también los que definen la persistencia están íntimamente relacionados con los estadios fenológicos.

Por otro lado, la introducción de una leguminosa forrajera a un sistema productivo, además de aportar nitrógeno, mejora la productividad de las especies asociadas a ella. La práctica de asociar dos o más especies simultáneamente en una misma área, ya es común y ofrece varias ventajas. Las leguminosas más usadas son: *Vigna unguiculata*, *Trifolium* spp., *Desmanthus* spp., *Phaseolus vulgaris*, *Cajanus cajori* y *Pisum sativum* (Hauggaard & Jensen, 2005).



Fig. 1. Principales países que estudian leguminosas con potencial forrajero.

ESTUDIOS REALIZADOS EN *ADESMIA BICOLOR*

I. Distribución

La tribu sudamericana *Adesmieae* (Benth.) Hutch. comprende solamente el género *Adesmia* DC., con aproximadamente 240 especies herbáceas o arbustivas que crecen en zonas montañosas y semi-desérticas, muchas de ellas con potencial forrajero. Su distribución abarca desde el norte del Perú hasta Tierra del Fuego (Fig. 2), comprendiendo Bolivia Occidental, Chile, Argentina, Sur de Brasil y Uruguay. En Argentina viven aproximadamente 100 especies y 14 variedades, de las cuales 53 son endémicas (Burkart, 1967; Ulibarri & Burkart, 2000; Bianco, 2002).

Adesmia bicolor se encuentra en las siguientes Provincias Biogeográficas de Argentina: Pampeana (Buenos Aires y Entre Ríos), Espinal (Corrientes y Santa Fe), Chaqueña (Córdoba, Tucumán y San Luis) y Monte (Río Negro). Crece además en la región central de Chile, Sur de Brasil y Uruguay (Burkart, 1967; Ulibarri & Burkart, 2000).

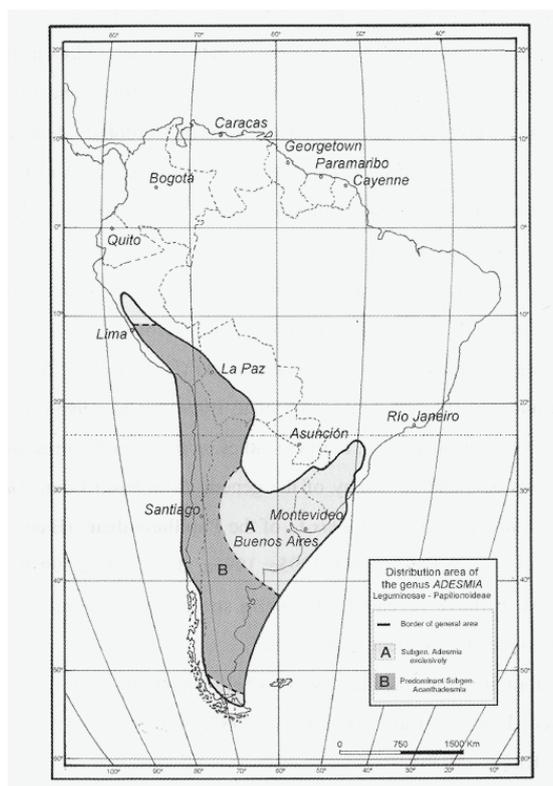


Fig. 2. Mapa de distribución del género *Adesmia* (extraído de Bianco, 2002).

Es una especie perenne, herbácea, nativa, de ciclo invernal, que se adapta a las siguientes condiciones: bajas temperaturas durante el invierno, presencia de una estación extremadamente seca, bajo contenido de N en los suelos (Vileta *et al.*, 2010) y además tolerante a bajos niveles de P (Dodd & Orr, 1995). Estos atributos indican la importancia de introducirla para ser utilizada en las regiones sub-húmeda seca y semiárida del centro de Argentina, donde faltan especies que se adapten a las condiciones predominantes.

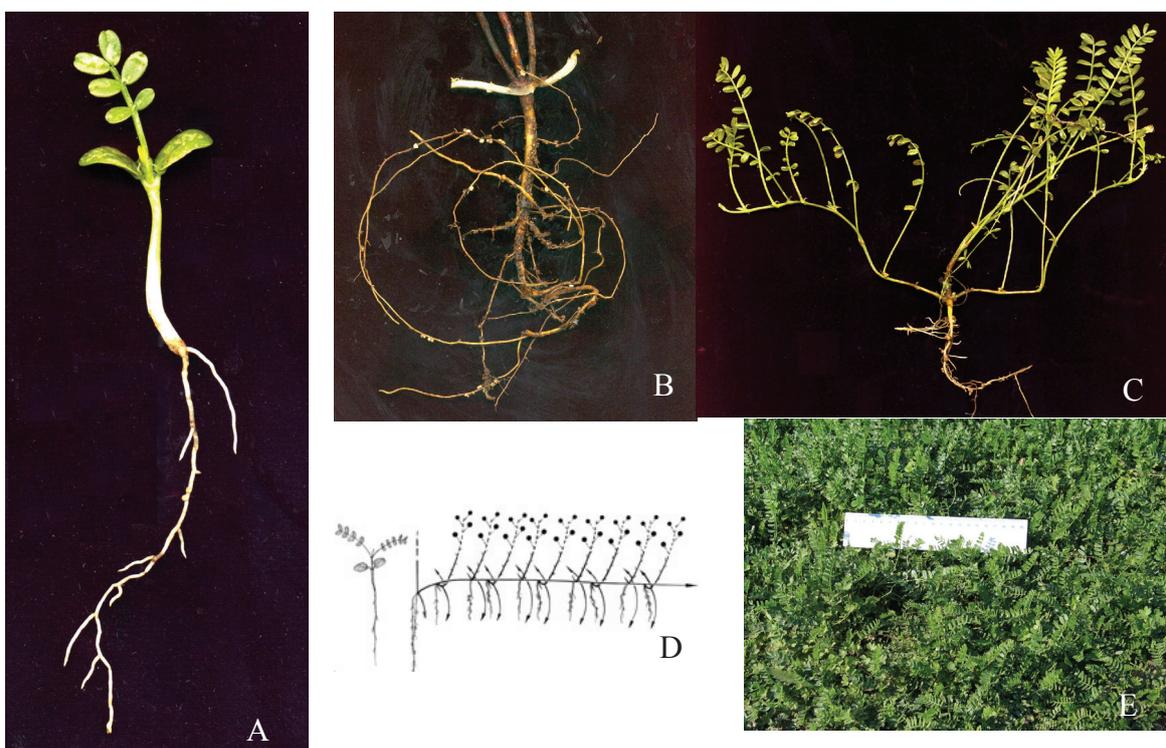
Muchos investigadores destacan la importancia de estudiar especies invernales, que presenten alta calidad nutricional, y se adapten a condiciones extremas locales de clima y suelo (Tedesco *et al.*, 2000; Scheffer-Basso *et al.*, 2001; Speroni & Izaguirre, 2003; Barreto Dias *et al.*, 2004).

En campos naturales de Uruguay, Coll & Zarza (1992) observaron que esta especie es preferida por el ganado ovino. Veneciano *et al.* (2005), al recorrer la provincia de Córdoba y San Luis, reportaron que es una de las pocas especies que se encuentra en estadio vegetativo durante el invierno, simultáneamente con *Trifolium repens* y *Medicago lupulina*, y que los animales la aprovechan como recurso forrajero.

Los principales datos registrados en *A. bicolor* son referentes a: **crecimiento vegetativo, características de la semilla, embriología, evaluación de degradabilidad, calidad forrajera y fijación biológica de nitrógeno.**

II. Crecimiento vegetativo

La plántula de *A. bicolor* es de tipo faneroepígea (Duke & Polhill, 1981), los cotiledones son foliares, están expandidos y se comportan como órganos fotosintéticos persistiendo hasta el desarrollo de las hojas siguientes (Fig. 3A). Los caracteres morfológicos más importantes que inciden en las variantes de ramificación de las especies del género *Adesmia* son: el desarrollo del eje o tallo primario y la dirección de crecimiento de los vástagos. El eje primario en *A. bicolor* crece en una primera fase perpendicular a la superficie del suelo y alcanza aproximadamente 3-5 cm. En la axila de los cotiledones se destacan dos yemas que originan dos vástagos plagiótropos de crecimiento muy rápido (Fig. 3B-C). Cada una de estas ramas desarrolla yemas profilares, de tal manera que en el transcurso de un año, la planta cubre gran parte del suelo (Fig. 3E). Todas las ramas que son plagiótropas desarrollan raíces adventicias en los nudos (Fig. 3D, F, G), manifestando un típico crecimiento clonal.



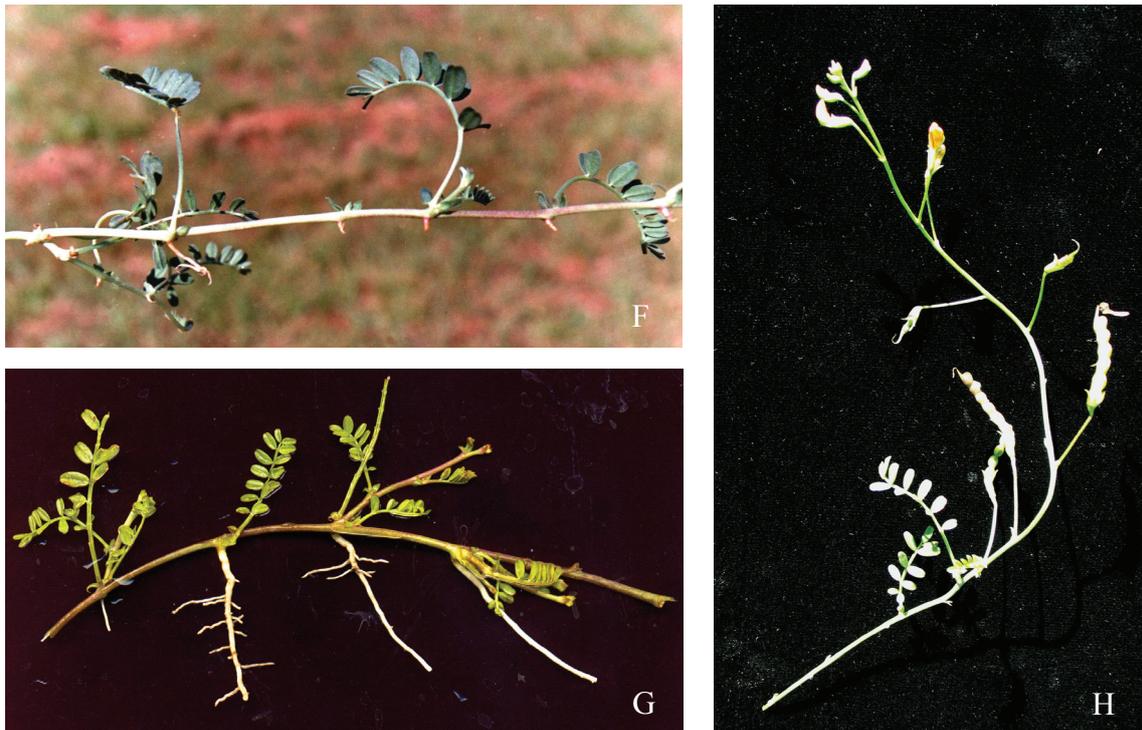


Fig. 3. *Adesmia bicolor*. A. Plántula. B. Detalle del comienzo de formación de las ramas cotiledonares. C. Planta joven con ramas cotiledonares plagiótropas desarrolladas. D. Esquema del sistema de ramificación. E. Planta adulta cubriendo todo el área. F. Rama perteneciente a un individuo de la población de Villa Rumipal (Córdoba). G. Rama perteneciente a un individuo de la población de Pampa de la Invernada (San Luis). H. Rama reproductiva.

Este tipo de crecimiento le confiere ventajas en el flujo de fotoasimilados, agua y nutrientes entre los distintos ejes a través de conexiones fisiológicas (estolones), característica que podría ser un factor clave para asegurar la persistencia bajo pastoreo intensivo (Dodd & Orr, 1995; Veneciano *et al.*, 2005). La planta adulta está constituida por numerosos módulos conectados fisiológicamente pero potencialmente independientes (Fig. 3D). Esta estructura modular incide en la habilidad para mover y orientar los vástagos hacia los sitios vecinos mostrando una respuesta flexible a los cambios locales del ambiente (Bianco, 2002; Weberling *et al.*, 2002; Veneciano *et al.*, 2005). Durante el segundo año se desarrollan racimos constituidos cada uno de ellos por 10 a 20 flores (Fig. 3H). La mayoría de las yemas incluidas las profilares desarrollan vástagos vigorosos y de esta manera cubren grandes extensiones del terreno. Se encontraron diferencias en las dimensiones de tallos y hojas en distintas poblaciones (Fig. 3F-G).

III. Características del fruto y la semilla

El fruto es un lomento curvado de aproximadamente 2 cm de longitud (Fig. 4A), desarticulándose a la madurez en fragmentos transversales monospermos separados unos de otros por ceñiduras visibles externamente. El endocarpo no está adherido al tegumento de la semilla.

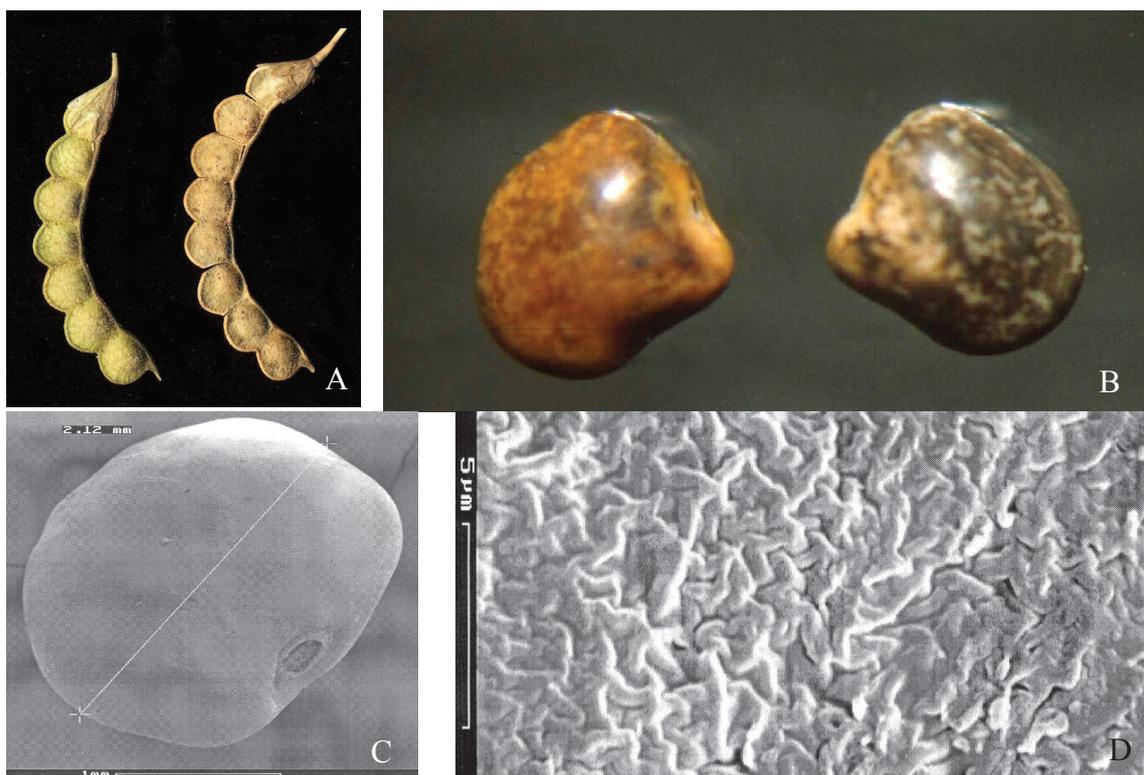
La semilla es levemente circular de aproximadamente 2,12 mm, la superficie externa es dicrómica y presenta un moteado característico (Fig. 4B-C). Los estudios de espermodermis con microscopio electrónico de barrido (MEB) han revelado distintos modelos y constituyen

una herramienta de valor sistemático, en *A. bicolor* se observa un reticulado característico (Fig. 4D). En la región hilar se encuentra el micrópilo, una protuberancia denominada lente y el anillo hilar (Fig. 4E) (Bianco & Kraus, 2005).

A la madurez, al desarticularse el lomento polispermo, permanece cubierta por parte del pericarpo, lo cual no representa ningún problema por la falta de adherencia entre ambas partes.

La semilla está constituida por un embrión con dos cotiledones rectos, un eje embrionario con una radícula bien definida y un hipo-epicótilo poco desarrollado. El endosperma es muy delgado, cubriendo el embrión y adnato a la testa o tegumento seminal. Estos tegumentos representan algo más que una cubierta protectora. En muchos taxones, y fundamentalmente en las leguminosas, la condición de dormición de la semilla está impuesta por la "dureza" de los tegumentos como consecuencia de que éstos o algunas de sus capas son impermeables al agua y a los gases.

En un corte transversal de una semilla madura se observa una capa externa de macroesclereidas y por debajo de ella, la presencia de osteosclereidas (Fig. 4F) que le dan el carácter de "semillas duras", típico del género *Adesmia* y de la familia Leguminosae (Gunn, 1981; Peretti, 1994; Bianco & Kraus, 2005). Cuando se registra un elevado porcentaje de semillas duras, se requiere algún tratamiento especial para asegurar una germinación rápida y uniforme.



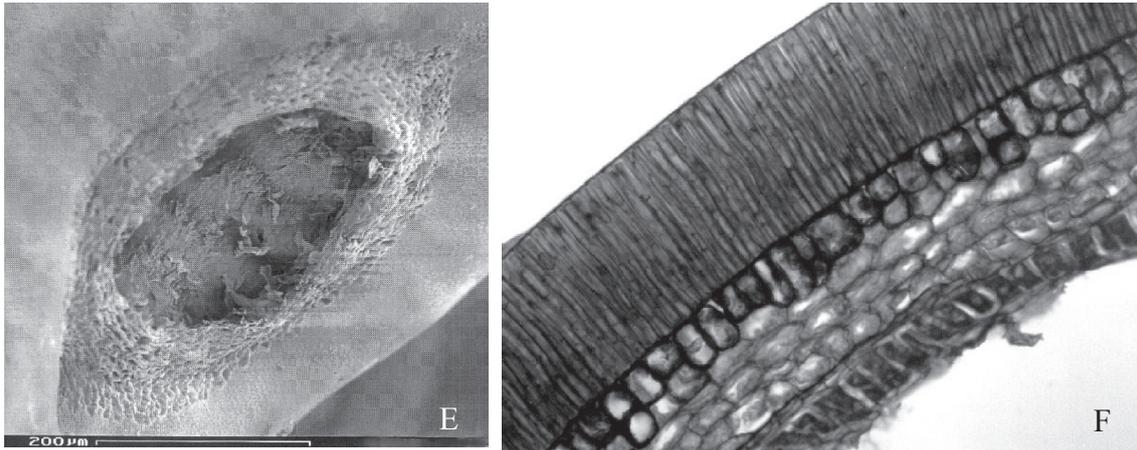


Fig. 4. *Adesmia bicolor*. A. Fruto. B. Semillas (microscopio estereoscópico). C. Semilla (microscopio electrónico de barrido). D. Tegumento seminal (microscopio electrónico de barrido). E. Detalle de la zona hilar (microscopio electrónico de barrido). F. Corte transversal del tegumento seminal (microscopio óptico).

En general, en las investigaciones realizadas en especies del género *Adesmia* (Medeiros & Nabinger, 1996; Montardo *et al.*, 2000; Tedesco *et al.*, 2001; Dias Suñé *et al.*, 2002; Parera & Ruiz, 2003), los pretratamientos más eficaces son la escarificación con lija, ácido sulfúrico y térmica, encontrándose variantes según la especie estudiada. Tedesco *et al.* (2001) plantean en *Adesmia bicolor*, la escarificación mecánica como un método fácil, rápido y eficaz, logrando un porcentaje de germinación del 83%.

Grosso & Basconsuelo (2006) consideran que no sólo es importante encontrar el pretratamiento más adecuado para lograr la germinación de *Adesmia bicolor*, sino establecer cómo se comporta el mismo frente a diversos sustratos y poder de esta manera realizar una elección más detallada de los métodos a utilizar para lograr una óptima germinación.

IV. Embriología de *Adesmia bicolor*

El conocimiento del modo de reproducción de cada especie es esencial para la implementación de programas de mejoramiento. Es necesario conocer las características reproductivas de especies nativas, potenciales forrajeras, para asegurar en un futuro su posible implantación como alternativa y/o complemento en regiones donde predominan las sequías y las heladas en invierno (Johri *et al.*, 1992; Moço & Mariath, 2003).

Si bien son extensos los estudios realizados en embriología de leguminosas, las investigaciones en la tribu Adesmiae son escasas (Prakash, 1987). En *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. han sido descritas la organogénesis floral y ovular, la ontogenia del saco embrionario y la formación de la semilla (Moço & Mariath, 2003, 2004; Rodríguez-Pontes, 2008).

El óvulo maduro de *Adesmia bicolor* es anacampilótropo, bitégmico y crasinucelado (Fig. 5D). La secuencia de formación de los tegumentos del óvulo es variable, en algunos taxa el primero en desarrollar es el interno, mientras que en otros es el externo (Johri *et al.*, 1992). En la especie analizada, el interno es el primero en comenzar a desarrollarse aunque el externo crece más rápido y lo envuelve. En la nucela, la arquéspora, célula madre de las megásporas (Fig. 5A), se origina en una etapa temprana de la ontogenia del óvulo en la zona micropilar y por meiosis origina una tétrade lineal de megásporas (Fig. 5B). De estas, tres degeneran mientras que la megáspora calazal desarrolla un megagametófito del tipo *Polygonum*. En

esta estructura se pueden apreciar las sinérgidas y la oósfera en el extremo micropilar (Fig. 5E), en el centro del saco embrionario, la célula media con los núcleos polares que se fusionan tardíamente y, en el extremo calazal, las antípodas que se disponen en hilera y son efímeras (Fig. 5F). Se destaca la presencia de un endotelio (Fig. 5D-F).

En la antera de *Adesmia bicolor* se observan los cuatro sacos polínicos con tapete y estratos parietales consumidos y las tétrades tetraédricas en su interior (Fig. 5G) (Kraus *et al.*, 2006; Malpassi *et al.*, 2006; 2011).

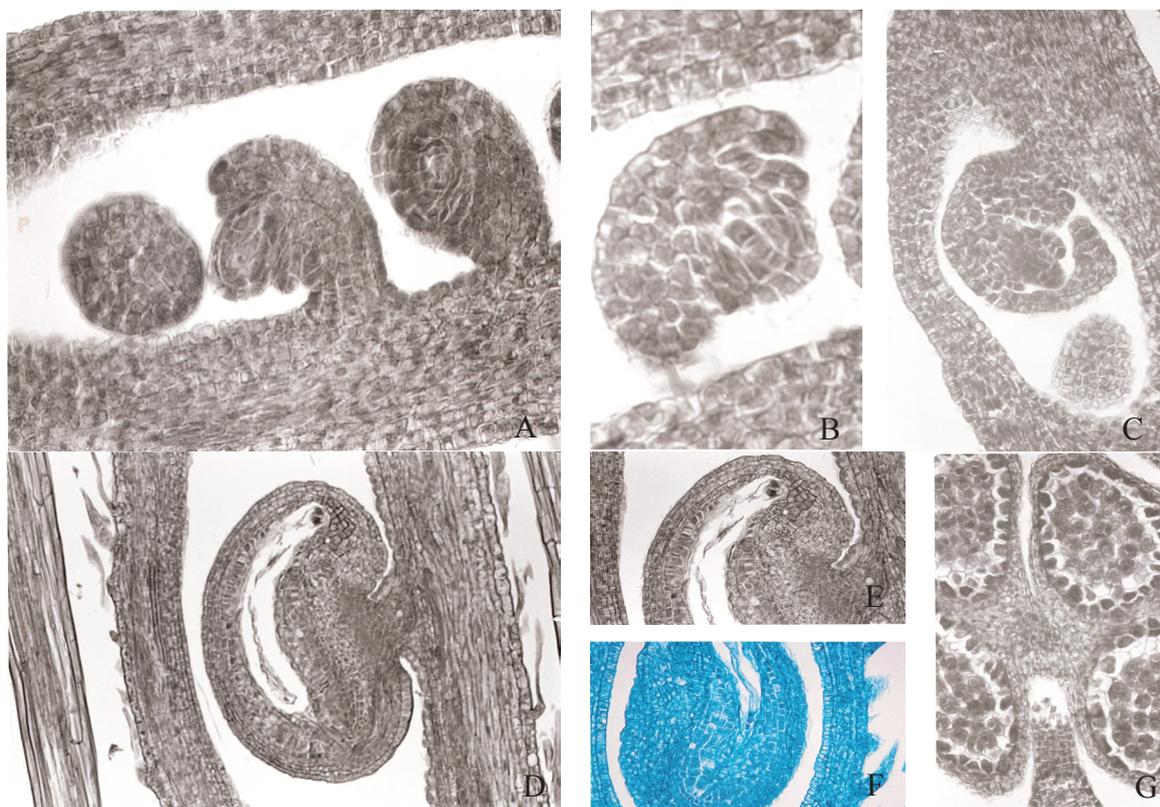


Fig. 5. *Adesmia bicolor*. Óvulo, saco embrionario y anteras. A) Arquéspora 20x; B) Tétrade lineal de megásporas 63x; C) Tegumento externo del óvulo de mayor desarrollo que el interno 20x; D) Óvulo anacampilótropo 10x; E) Oósfera y sinérgidas 20x; F) Antípodas 20x; G) Corte transversal de antera con cuatro sacos polínicos, en los que se puede observar tétrades tetraédricas (20x).

V. Evaluación de calidad forrajera y degradabilidad

La calidad del forraje es el producto de la digestibilidad y la ingestión a partir de la dieta. El valor del forraje (composición química, digestibilidad y naturaleza de los productos digeridos) más el forraje consumido (aceptabilidad, tasa de pasaje y disponibilidad) definen su calidad, en función principalmente de la proteína cruda y energía metabolizable (Mott & Moore, 1969; Beck *et al.*, 2007; Foster *et al.*, 2007). La madurez de la planta es uno de los factores que determina la calidad del forraje. La disminución de la relación hoja/tallo y la calidad de los componentes del tallo resultan en la pérdida de la calidad a medida que aumenta la edad de la planta (Ugherughe, 1986; Buxton, 1996; Yu *et al.*, 2004; Dumont *et al.*, 2006, Nordheim-Viken & Volden, 2009). Sin embargo, en las leguminosas, en general la relación hoja/tallo es alta y la digestibilidad de las hojas disminuye muy poco con la madurez (Hides *et al.*, 1983; Nordkvist & Aman, 1986).

Vileta *et al.* (2009) determinaron la degradabilidad del forraje producido por *Adesmia bicolor* y *Medicago sativa*, incubando las muestras por 6, 12, 24, 48, 72 y 96 hs en el rumen de un novillo Shorthorn con fístula ruminal en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Los valores de degradabilidad encontrados durante el estadio vegetativo de *A. bicolor* fueron significativamente mayores que en *M. sativa* ($p < 0.05$) en todos los tiempos de incubación (Tabla 1). Gonzales Ronquillo *et al.* (1997) y Nogueira Filho *et al.* (2000) plantean que la digestibilidad de los forrajes está fuertemente influenciada por el avance de la madurez, es decir que a medida que la proporción de tallos aumenta, la digestibilidad disminuye. En *A. bicolor* se observó la mayor degradabilidad durante el estadio de floración. A diferencia de lo ocurrido en *A. bicolor*, en otras especies del género, como *A. punctata* y *A. latifolia*, la degradabilidad *in vitro* disminuye levemente o se mantiene constante (Scheffer-Basso *et al.*, 2001). En este trabajo, además, se determinó que la digestibilidad de *A. punctata* en estadio vegetativo fue de 72,5% y al inicio de la floración presentó 68%, para *A. latifolia* el porcentaje de digestibilidad en estadio vegetativo fue de 71%, al inicio de floración de 72% y en floración plena de 71%. A partir de las 48 hs, la degradabilidad se mantuvo constante.

Tabla 1. Porcentaje de desaparición de la materia seca (% MS) *in situ* de *Adesmia bicolor* en diferentes estados fenológicos comparado con *Medicago sativa* (vegetativo).

Desaparición MS	6 hs	12 hs	24 hs	48 hs	72 hs	96 hs
<i>Adesmia bicolor</i>-Estadio vegetativo	53,46±0,90c	73,14±0,13b	83,59±0,29b	85,53±0,12b	85,71±1,43c	86,38±0,24c
<i>Adesmia bicolor</i>-Floración	46,95±1,18b	80,28±3,63b	85,78±0,19c	88,45±0,11c	88,53±0,96c	88,34±0,14d
<i>Adesmia bicolor</i>-Fructificación	39,56±0,45a	60,37±0,31a	71,70±0,94a	78,32±0,56a	81,12±1,20b	81,68±0,24b
<i>Medicago sativa</i>-Estadio vegetativo	45,91±3,03b	57,67±5,07a	70,89±0,83a	78,08±0,18a	77,66±1,43a	74,34±0,54a

* Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre fases fenológicas ($\alpha < 0,05$) según test LSD Fisher

La Tabla 2 muestra la composición química-nutricional en estadio vegetativo de acuerdo a las técnicas descritas en la AOAC (2000) para la determinación de proteína bruta (PB), cenizas, materia seca y materia orgánica. Fibra detergente ácido (FDA: celulosa y lignina), fibra detergente neutra (FDN: hemicelulosa, celulosa y lignina) y lignina detergente ácido (LDA) se determinaron de acuerdo a Van Soest *et al.* (1991).

Tabla 2. Composición química de *Adesmia bicolor*, *Adesmia macrostachya* y *Medicago sativa*.

Especie	PB%	FDN%	FDA%	LDA%
<i>Adesmia bicolor</i> Planta entera	18,46±0,73d	25,55±1,42a	20,56±1,09a	6,24±0,43a
<i>Adesmia macrostachya</i> Planta entera	11,31±0,47b	40,25±2,41c	28,89±3,28b	8,09±0,59b
<i>Adesmia macrostachya</i> hoja	12,75±0,56c	33,51±3,32b	23,58±4,49ab	5,86±0,85a
<i>Adesmia macrostachya</i> tallo	8,28±0,36a	53,99±0,76d	40,00±1,05c	12,72±0,14c
<i>Medicago sativa</i> Planta entera	19,56±0,00e	36,86±0,58bc	29,64±0,87b	6,19±0,12a

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre muestras ($\alpha < 0,05$) según test LSD Fisher.

Comparando *A. bicolor* con *M. sativa* se observó que la primera especie presenta mayor degradabilidad, menor FDN y FDA, valores similares de LDA y un menor porcentaje de PB, de lo cual se desprende que *A. bicolor* presenta una calidad superior a las otras especies analizadas (Vileta *et al.*, 2011)

VI. Fijación biológica de nitrógeno

La familia leguminosas presenta la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con diversos grupos de bacterias (Sprent, 2001). Las bacterias inducen la formación de nódulos en las raíces de la planta produciendo, dentro de ellos, la fijación biológica de nitrógeno (Adjei *et al.*, 2006). La nodulación es un proceso complejo que consiste en una serie de etapas en las que se requiere la expresión coordinada de los genes de la planta tanto como los de la bacteria. En el interior del nódulo, la bacteria es capaz de fijar el nitrógeno atmosférico y transportarlo luego a las células de la raíz de su hospedero, en donde se asimila en forma de aminoácidos (Lea *et al.*, 2007; Lea & Mifflin, 2011).

La nodulación está determinada por la planta hospedera y refleja, en parte, las adaptaciones a diferentes condiciones ambientales. La disponibilidad de agua, el pH del suelo, los nutrientes, como por ejemplo el fósforo, y otros minerales tienen una fuerte influencia en el proceso de nodulación y la fijación biológica de nitrógeno (Sprent, 2001; Guinel., 2009). Los nódulos se forman en sitios específicos, preferencialmente opuestos a los polos de protoxilema, y pueden presentar diferentes formas y tamaños.

La capacidad para nodular predomina en dos subfamilias: mimosoideas y papilionoideas, y es menos frecuente en miembros de la subfamilia primitiva cesalpinoideas, en la cual solo el 21% de las especies han sido reportadas como nodulantes (Sprent, 2001).

Los nódulos maduros de *Adesmia bicolor* son usualmente pequeños, achatados y presentan crecimiento de tipo determinado (Fig. 6A-B) (Vileta *et al.*, 2010; Bianco *et al.*, 2012). Se los encuentra asociados a raicillas finas y usualmente se distribuyen de a pares. En corte

transversal se puede observar que la parte central está ocupada por células infectadas con escasas células no infectadas entre ellas. Los nódulos que presentan estas características son clasificados como de tipo *aeschynomenoide*.

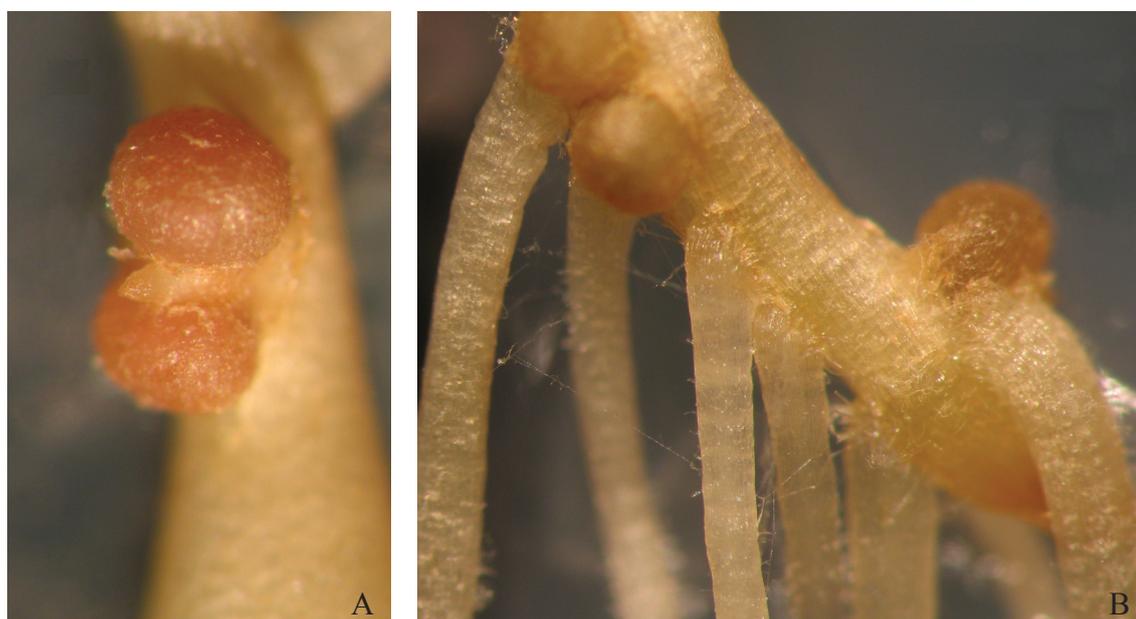


Fig. 6. Nódulos de *Adesmia bicolor*. A. Nódulos de a pares. B. Nódulos solitarios.

En general, los nódulos de este tipo derivan de las células más externas de la corteza de la raíz y son viables por corto tiempo (Rolfe & Gresshoff, 1988). El nitrógeno reducido determina la forma globular o esférica del nódulo. El amonio es asimilado como asparragina y glutamina en el citosol celular, compuestos que luego se convierten en ureídos en las células no infectadas contiguas a las células infectadas. La diferenciación de las células ocurre de manera sincronizada seguida por senescencia. Las primeras divisiones celulares ocurren en las células sub-epidérmicas frente al polo del xilema. Cuando los nódulos viejos mueren, se forman nódulos nuevos en partes recién desarrolladas de la raíz de la planta. Estos nódulos contienen una población homogénea de bacteroides en forma de bastón fijadores de nitrógeno, con alta viabilidad y son múltiples en cada simbiosoma (Newcomb *et al.*, 1979; Wopereis *et al.*, 2000; Ferguson *et al.*, 2010).

Tanto en secciones longitudinales como transversales del nódulo de *A. bicolor* se pueden observar dos regiones: corteza y zona central (Fig. 7A-B) (Bianco, 2007; Vileta *et al.*, 2010). La primera puede ser subdividida en parénquima cortical, haces vasculares y vaina parenquimática (Fig. 7C). La corteza está constituida por diez capas de células, de las cuales las cuatro o cinco más externas presentan células con forma isodiamétrica, paredes finas y núcleos no visibles. Estas se descaman durante el crecimiento. Las cinco o seis capas más internas, además de mostrar las mismas características, también contienen abundante cantidad de almidón. Los haces vasculares se encuentran inmersos en la corteza interna. La zona central del nódulo de *A. bicolor* es esférica y no se encuentra dividida (Fig. 7D). Está formada por parénquima, con células isodiamétricas y núcleos usualmente visibles y situados en el centro. Más del 90% de estas células están infectadas con bacteroides. Las células no infectadas son isodiamétricas con paredes finas, no presentan núcleos visibles y contienen abundante cantidad de gránulos de almidón.

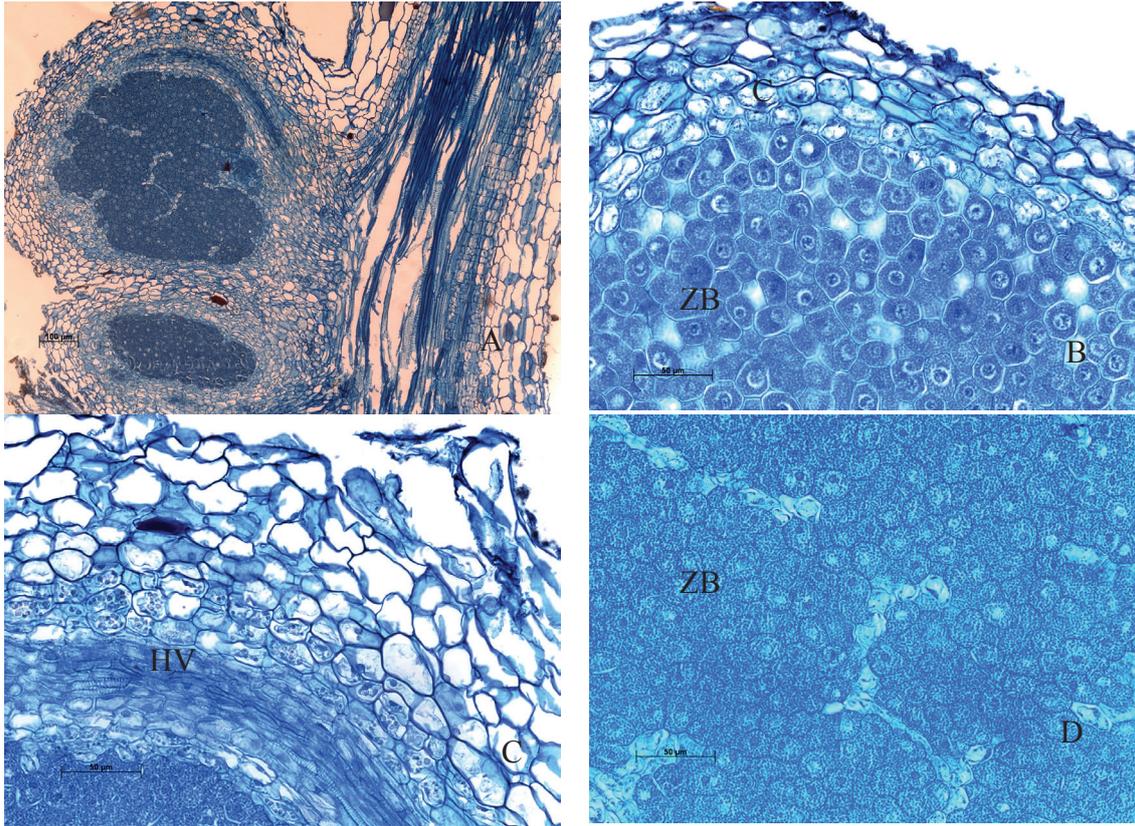


Fig. 7. Caracteres anatómicos del nódulo de *Adesmia bicolor*. A) Corte longitudinal del nódulo; B) Corte transversal de un nódulo mostrando la corteza y zona bacteriana; C) Corte transversal con detalle de la descamación de la corteza en toda la superficie del nódulo; D) Corte transversal de la zona bacteriana con células infectadas por el microorganismo simbiote.

Abreviaturas: C: corteza, HV: hacesillo vascular, ZB: zona bacteriana.

En los primeros estadios de crecimiento de *Adesmia bicolor*, la mayor parte de los nódulos se desarrolla en la raíz principal, luego comienza la formación en raíces laterales y algunos en raíces adventicias (Fig. 8A-C) (Bianco, 2007; Bianco *et al.*, 2007; Vileta *et al.*, 2010).



Fig. 8. Patrón de nodulación de *A bicolor* durante el desarrollo de la planta. A. 150 días con posterioridad a la germinación. B. 270 días con posterioridad a la germinación. C. 360 días con posterioridad a la germinación.

Bianco (2007) y Vileta *et al.* (2010) observaron que a los 150 días con posterioridad a la germinación la media total de nódulos es 13, encontrándose una media de 10 sobre la raíz principal y de 3 sobre las raíces laterales. A los 270 días, la media total fue de 292 nódulos, de los cuales 167 se desarrollan sobre la raíz principal, 101 en raíces laterales y 72 en raíces adventicias. Luego de un año con posterioridad a la germinación, el número de nódulos continúa incrementándose, siendo la media total de 659, de los cuales 260 se desarrollan en raíz principal, 354 en raíces laterales y 67 en raíces adventicias (Fig. 9).

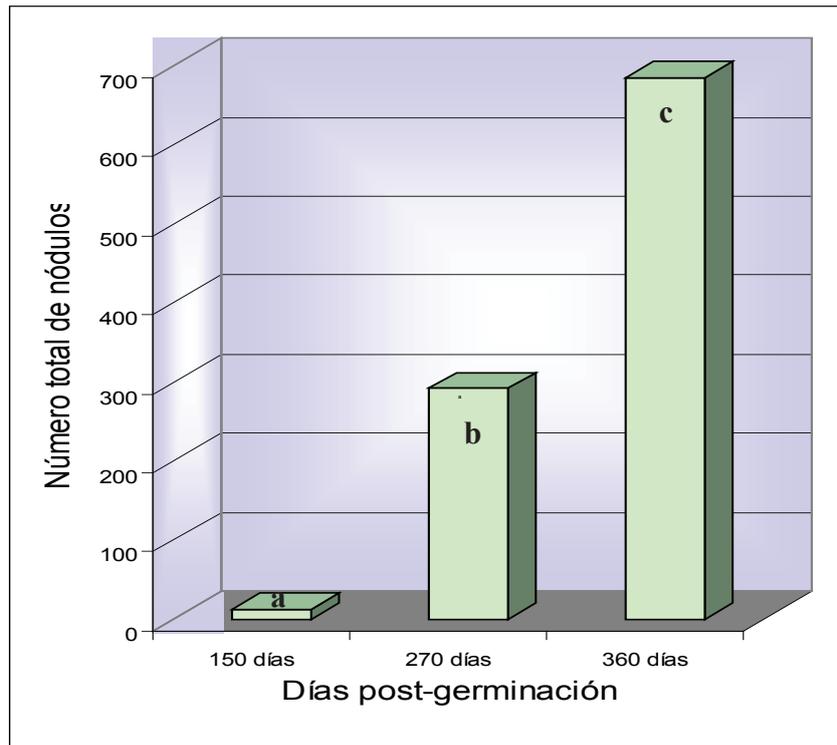


Fig. 9. Número total de nódulos de *Adesmia bicolor* en las distintas fases de crecimiento. Letras diferentes muestran diferencias significativas ($p=0,006$).

CONCLUSIONES

- » La estructura clonal de esta especie ofrece una forma de escape a condiciones locales adversas. Además, el hábito prostrado con estolones y presencia de raíces adventicias en los nudos, podría ser un factor clave para asegurar la persistencia bajo pastoreo intensivo.
- » La calidad nutricional en estadio vegetativo de *A. bicolor* es similar a *M. sativa*, especie forrajera referente en Argentina.
- » Los nódulos de esta especie son de tipo aeschynomenoide, se desarrollan sobre raíz principal y laterales en un primer momento, y posteriormente sobre raíces adventicias. Por la cantidad de nódulos se puede inferir que la fijación biológica de nitrógeno sería eficiente.
- » Los resultados obtenidos justificarían la continuación de la evaluación de esta leguminosa nativa como fuente de forraje en referencia a: niveles de producción, los rizobios que la nodulan y la eficiencia de fijación simbiótica de nitrógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- Adjei, M. B.; K. H. Quesenberry & C. G. Chambliss. 2006. Nitrogen fixation and inoculation of forage legumes. University of Florida. *IFAS Extension*: 1-5.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17 Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Horwitz, W. (Ed.). Arlington, VA, Estados Unidos.
- Barreto Dias, P. M.; M. Dall'Agnol & M. T. Schifino-Whittmann. 2004. Genetic diversity in the Brazilian species of *Adesmia* DC (Leguminosae) as assessed by RAPD. *Plant Genetics Research* 2: 43-50.
- Beck, P. A.; C. B. Stewart; J. M. Phillips; K. B. Watkins & S. A. Gunter. 2007. Effect of species of cool-season annual grass interseeded into bermudagrass sod on performance of growing calves. *Journal of Animal Science* 85: 536.
- Bianco, C. A. 2002. Growth forms, taxonomy, distribution, and uses of *Adesmia* species (Leguminosae) in Central Argentina. Ed. J. Kramer. Berlin. 157 p.
- Bianco, C. A & T. A. Kraus. 2005. Desarrollo y estructura de la semilla y el fruto de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. (Fabaceae). *Phyton*: 71-77.
- Bianco, L. 2007. Patrón de nodulación y fijación biológica de nitrógeno en *Adesmia bicolor* (Poir.) DC (Fabaceae). Tesina de grado para optar al título de Licenciada en Ciencias Biológicas. 42 p.
- Bianco, L.; D. Vileta; M. Grosso; R. Malpassi & E. Hampp. 2007. Patrón de nodulación y fijación biológica de nitrógeno en dos especies nativas de *Adesmia* (Fabaceae). VI Reunión Nacional Científico Técnica de Biología del Suelo-VI Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno. Río Cuarto, Córdoba.
- Bianco, L.; J. Angelini; A. Fabra & R. Malpassi. 2012. Diversity and symbiotic effectiveness of indigenous rhizobia nodulating *Adesmia bicolor* in soils of central Argentina. *Current Microbiology*. DOI 10.1007/s00284-012-0260-y.
- Burkart, A. 1967. Sinopsis del género sudamericano de Leguminosas *Adesmia* DC. *Darwiniana* 14: 463-586.
- Buxton, D. R. 1996. Quality-related characteristics of forage as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* 59: 37-49.
- Coll, J. & A. Zarza. 1992. Leguminosas nativas promisorias Trébol polimorfo y babosita. La Estanzuela Boletín de divulgación. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Montevideo, Uruguay 22: 5-19.
- Dias Suñé, A.; L. Brandao Franke & T. Gimenez Sampaio. 2002. Efeitos do condicionamento osmotico na qualidade fisiológica de sementes de *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. *Revista Brasileira de Sementes* 24(1): 18-23.
- Dodd, M. B. & S. J. Orr. 1995. Seasonal growth, phosphate response, and drought tolerance of 11 perennial legume species grown in a hill-country soil. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38: 7-20.
- Duke, J. & R. Polhill. 1981. Seedlings of Leguminosae. In: Advances in Legume Systematics. Polhill, R. M. and P. Raven (Eds). Royal Botanical Gardens. Kew, London. 941-949 p.
- Dumont, L. J. C.; G. René Anrique & C. Daniel Alomar. 2006. Efecto de dos sistemas de determinación de materia seca en la composición química y calidad del ensilaje directo de avena en diferentes estados fenológicos. *Agricultura Técnica* 65(5): 388-396.

- Ferguson, B. J.; A. Indrasumunar; S. Hayashi; M. H. Lin; Y. H. Lin; D. E. Reid & P. M. Gresshoff. 2010. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of Integrative Plant Biology* 52(1): 61-76.
- Foster, J.; J. Muir; B. Lambert & D. Pawelek. 2007. *In situ* and *in vitro* degradation of native Texas warm-season legumes and alfalfa in goats and steers fed a sorghum-sudan basal diet. *Animal Feed Science and Technology* 133: 228-239.
- González-Ronquillo, M.; M. U. Fondevila; A. Barrios & Y. Newman. 1997. *In vitro* gas production from buffer grass (*Cenchrus ciliaris* L.) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Animal Feed Science and Technology* 72: 19-32.
- Grosso, M & S. Basconsuelo. 2006. Ensayos de germinación en semillas de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC (Leguminosae). Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Guinel, F. C. 2009. Getting around the legume nodule: I. Molecular biology of its peripheral zone in four nodule types. *Botany* 87: 1117-1138.
- Gunn, C. R. 1981. Seeds of Leguminosae. In: *Advances in Legume Systematics*. Polhill, R. M. & P. H. Raven (Eds). 913-925 p.
- Hauggaard-Nielsen, H. & E. S. Jensen. 2005. Facilitative root interactions in intercrops. *Plant and Soil* 274: 237-250.
- Hides, D. H.; J. A. Lovatt & M. V. Hayward. 1983. Influence of stage of maturity on the nutritive value of Italian ryegrasses. *Grass Forage Science* 38: 33-38.
- Iriondo Alegría, J. M. 2001. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Investigación en Agronomía: Producción y Protección Vegetal* 16(1): 6-14.
- Johri, B. M.; K. B. Ambegaokar & P. S. Srivastava. 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Ed. Springer-Verlag. Berlin. 614 p.
- Kraus, T.; M. Grosso; C. Bianco; S. Basconsuelo & R. Malpassi. 2006. Caracteres reproductivos en *Adesmia bicolor* (Fabaceae). IX Congreso Latinoamericano de Botánica. Santo Domingo (República Dominicana).
- Lea, P. J.; L. Sodek; M. A. J. Parry; P. R. Shewry & N.G. Halford. 2007. Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology* 150: 1-26.
- Lea, P. J. & B. J. Mifflin. 2011. Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement. In: *Nitrogen metabolism in plants in the post-genomic era*. *Annual Plant Reviews* 42: 1-40.
- Malpassi, R.; M. Grosso; T. Kraus; S. Basconsuelo & C. Bianco. 2006. Megasporogénesis y megagametogénesis en *Adesmia bicolor* y *Adesmia muricata*. IX Reunión Argentina de Ciencias Naturales. Paraná (Entre Ríos).
- Malpassi, R.; M. Grosso; T. Kraus; S. Basconsuelo & C. Bianco. 2011. Megasporogénesis y megagametogénesis en *Adesmia*. V Jornada Científico Técnica de la Facultad de Agronomía y Veterinaria. Río Cuarto (Córdoba).
- Medeiros, R. B. & C. Nabinger. 1996. Superación da dormencia em sementes de leguminosas forrageiras. *Revista Brasileira de Sementes* 18(2): 193-199.
- Moço, M. A. & J. E. A. Mariath. 2003. Ovule ontogenesis and megasporogenesis in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 495-502.
- Moço, M. A. & J. E. A. Mariath. 2004. Female gametophyte development in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botânica* 27: 241-248.

- Montardo, D. P.; F. P. Cruz; J. H. Silva; L. Egers; I. Boldrini & M. Dall'Agnol. 2000. Efeito de dois tratamentos na superação da dormência de cinco espécies de *Adesmia* DC. *Revista Científica Rural* 1(5): 1-7.
- Mott, G. O. & J. E. Moore. 1969. Forage evaluation techniques in perspective. In: Barnes, R. F.; D. C. Clanton; C. H. Gordon; T. J. Klopfenstein & D. R. Waldo (Eds.) Proceedings of the National Conference of Forage Quality Evaluation and Utilization, Nebraska Center Cont. Educ. Lincoln, NE, Estados Unidos. 1-7 p.
- Newcomb, W.; D. Sippel & R. L. Peterson. 1979. The early morphogenesis of *Glycine max* and *Pisum sativum* root nodules. *Canadian Journal of Botany* 57: 2603-2616.
- Nogueira Filho, J. C. M.; M. Fondevila; U. A. Barrios & M. González-Ronquillo. 2000. *In vitro* microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. *Animal Feed Science and Technology* 83: 145-157.
- Nordheim-Viken, H. & H. Volden. 2009. Effect of maturity stage, nitrogen fertilization and seasonal variation on ruminal degradation characteristics of neutral detergent fibre in timothy (*Phleum pratense* L.). *Animal Feed Science and Technology* 149: 30-59.
- Nordkvist, E. & P. Aman. 1986. Changes during growth in anatomical and chemical composition and *in vitro* degradability of lucerne. *Journal of the Science and Food Agriculture* 37: 1-7.
- Parera, C. & M. Ruiz. 2003. *Adesmia subterranea* Clos germination physiology and presowing treatments. *Journal of Range Management* 56: 273-276.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. 273 p.
- Prakash, N. 1987. Embryology of Leguminosae. In: Stirton, C. H. (Ed.). Advances in legume systematics, Vol. 3. Kew: Royal Botanical Gardens. 241-266 p.
- Racca, R.; D. Collino; J. Dardanelli; D. Basigalupo; N. González; E. Brenzoni; E. Hein & M. Balzarini. 2001. Contribución de la fijación biológica de nitrógeno a la nutrición nitrogenada de la alfalfa en la región pampeana. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 56 p.
- Rebuffo, M.; M. Bemhaja & D. Risso. 2006. Utilization of forage legumes in pastoral systems: state of art in Uruguay. *Lotus Newsletter* 36(1): 22-33.
- Robert, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- Rodríguez-Pontes, M. 2008. Seed formation in two species of *Adesmia* (Fabaceae): co-occurrence of micropylar and lateral endosperm haustoria in legumes and its taxonomic value. *Botanical Journal of the Linnean Society* 158: 602-612.
- Rolfe, B. G. & P. M. Gresshoff. 1988. Genetic analysis of legume nodule initiation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39: 297-319.
- Scheffer-Basso, S. M.; A. V. Avila Jacques; M. Dall'Agnol; J. Riboldi & S. M. Jesus Castro. 2001. Disponibilidade e valor nutritivo de forragem de Leguminosas nativas (*Adesmia* DC.) e exóticas (*Lotus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 30: 975-982.
- Scheffer-Basso, S. M.; M. C. Vendruscolo & D. Cecchetti. 2005. Desempenho de Leguminosas Nativas (*Adesmia*) e Exóticas (*Lotus*, *Trifolium*), em Função do Estádio Fenológico no Primeiro Corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(6): 1871-1880.
- Speroni, G. & P. Izaguirre. 2003. Características biológicas de la leguminosa nativa promisoría forrajera *Trifolium polymorphum* Poir. (Fabaceae, Faboideae). *Agrociencia* 7: 68-76.
- Sprent, J. 2001. Nodulation in Legumes. Kew Royal Botanical Gardens, Surrey, UK. 146p.

- Suriyagoda, L. D. B.; M. H. Ryan; M. Renton & H. Lambers. 2010. Multiple adaptive responses of Australian native perennial legumes with pasture potential to grow in phosphorus and moisture-limited environments. *Annals of Botany* 105: 755-767.
- Tedesco, S. B.; M. Dall'Agnol; M. T. Schifino-Wittmann & J. F. M. Valls. 2000. Mode of reproduction of Brazilian species of *Adesmia* (Leguminosae). *Genetics and Molecular Biology* 23: 475-478.
- Tedesco, S.; M. Stefanello; M. Schifino-Wittmann; A. Battistin & M. Dall'Agnol. 2001. Superação de dormência em sementes de espécies de *Adesmia* DC. (Leguminosae). *Revista Brasileira de Agrociência* 7(2): 89-92.
- Toledo, J. & R. Schultze-Kraft. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. In: Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales. CIAT: 91-110.
- Traverso, J.; H. Troiani & F. Babinec. 2005. Colección y conservación de las especies forrajeras nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Publicación Técnica N° 63. 18 p.
- Ugherughe, P. O. 1986. Relationship between digestibility of *Bromus inermis* plant parts. *Journal of Agronomy and Crop Science* 157: 136-143.
- Ulibarri, E. & A. Burkart. 2000. Sinopsis de las especies de *Adesmia* (Leguminosae, Adesmiae) de la Argentina. *Darwiniana* 38: 59-126.
- Van Soest, P. J.; J. B. Robertson & B. A. Lewis 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Veneciano, J. H.; C. A. Frasinelli; T. A. Kraus & C. A. Bianco. 2005. Domesticación de especies forrajeras. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina. 60 p.
- Vileta, D.; M. Ortiz; G. Alcantú & M. Grosso. 2009. Evaluación de la calidad forrajera y degradabilidad *in situ* de dos leguminosas nativas: *Adesmia bicolor* (Poir.) DC y *Adesmia macrostachya* Benth. 32 Congreso de Producción Animal. Malargüe Mendoza 29(1): 259-260.
- Vileta, D.; L. Bianco; M. Grosso & R. Malpassi. 2010. Biological nitrogen fixation by *Adesmia bicolor* and *A. macrostachya*, potential forage species for arid and semi-arid environments. *Interciencia* 35(2): 120-125.
- Vileta, D.; V. Aufrán & M. Grosso. 2011. Estudios histológicos de *Adesmia bicolor* y *Adesmia macrostachya* en estado vegetativo obtenidos después de la degradabilidad *in situ*. XXVIII Jornadas Científicas. Asociación de Biología de Tucumán.
- Weberling, F.; T. Kraus; C. Bianco & R. Malpassi. 2002. Variación y estrategias adaptativas de los sistemas de ramificación de Fabáceas herbáceas. *Feddes Repertorium* 113: 342-353.
- Wopereis, J.; E. Pajuelo; F. B. Dazzo; Q. Jiang; P. M. Gresshoff; F. J. De Bruijn; J. Stougaard & K. Szczyglowski. 2000. Shoot root mutant of *Lotus japonicus* with a dramatically altered symbiotic phenotype. *Plant Journal* 23: 97-114.
- Yu, P.; D. A. Christensen & J. J. McKinnon. 2004. *In situ* rumen degradation kinetics of timothy and alfalfa as affected by cultivar and stage of maturity. *Canadian Journal of Animal Science* 84: 255-263.
- Zabala, J. M.; J. Giavedoni; P. A. Tomas & E. A. Budín. 2010. Variabilidad en caracteres morfológicos relacionados con la implantación de *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. y *Desmanthus paspalaceus* (Lindm.) Burkart. *Agriscientia* 27(2): 97-105.