



TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

MODALIDAD PASANTÍA

Cosecha, procesamiento y manejo inicial de líneas genéticas de *Stylosanthes guianensis*

Alumno: Ocampo Leonardo Darío

Asesor: Ing. Agr. (Dra.) Elsa A. Brugnoli.

Año: 2023

Introducción

A los argentinos hay muchas características que nos distinguen, pero son muy pocas las que nos ponen en un lugar privilegiado y selecto, una de ellas es la carne vacuna, la cual ha sido a lo largo de nuestra historia un estandarte del trabajo, un símbolo cultural, pero sobre todo, un elemento fundamental en el ensamblado productivo de nuestro querido país. Es motivo de unión, de celebración, de familia, de amigos, trasciende a cada uno de nosotros a pesar de que comprendan o no la complejidad que conlleva producir esa maravillosa proteína animal que forma parte de la mesa de millones de argentinos y argentinas.

Es nuestro deber como profesionales empatizar con los distintos sujetos que forman parte de esta enorme cadena Agro-alimentaria, buscar los medios para que productores, comerciantes y consumidores continúen motivados en seguir potenciando e innovando en el sector. Somos nosotros quienes dejaremos la base para que futuras generaciones tengan las herramientas para continuar desarrollando de manera sustentable la producción ganadera. Y por esto, ahondar en la autonomía de recursos, es un objetivo clave para sortear gran parte de los obstáculos que se presentan en este mundo tan cambiante e impredecible.

Es así, que la producción forrajera cumple un rol preponderante en esta historia, y no es tarea sencilla disponer de manera continua de éste elemento esencial, sobre todo si tenemos en cuenta, por un lado, el factor calidad, entendiendo su importancia (desde el punto de vista nutricional) y por otro lado asumiendo las limitantes de nuestros ambientes, tanto por características edáficas, como por condiciones climáticas desfavorables principalmente durante estaciones invernales.

El sistema productivo ganadero del NEA se caracteriza por llevarse a cabo principalmente sobre campo natural y estos ambientes poseen mayor producción de forrajes durante verano, otoño y primavera con preponderancia de gramíneas de baja digestibilidad. Por ende, la incorporación de leguminosas a los sistemas pastoriles es de gran importancia para mejorar la dieta animal y a su vez, mejorar los niveles de nitrógeno del suelo, mediante la fijación biológica del mismo.

A su vez, otro inconveniente que surge es la limitada oferta de semillas de leguminosas que se adapten al subtrópico, ya que principalmente en el mercado

encontramos especies templadas, éste es un punto fundamental sobre el que la investigación y el trabajo a campo deben ser prioridad dentro de este ámbito, enfocándose en optimizar procesos a mediana escala para estandarizar la obtención de semillas con alto potencial productivo.

El género *Stylosanthes*, se encuentra naturalmente distribuido en regiones tropicales y subtropicales de América principalmente, siendo su centro de variación Brasil y Paraguay (Vanni, 2017). En Argentina, se encontró gran diversidad entre poblaciones naturales del norte de Corrientes y en Misiones (Silvestri et al., 2020). Este género es, dentro de las leguminosas forrajeras tropicales, el que presenta mayor proporción de superficie productiva en el mundo, se calcula que la superficie sembrada con *Stylosanthes* es de 1 millón de hectáreas, siendo Australia y China los que tienen mayor superficie en cultivo (600.000 y 100.000 respectivamente) (E.M. Ciotti 1999) y esto podría deberse a su gran adaptación a condiciones de baja fertilidad de suelo y de condición ácida y altos contenidos de aluminio (M.A. Ayarza, 1992).

Stylosanthes guianensis es una especie diploide de reproducción sexual por autogamia. Esta especie es reconocida dentro del género por su aptitud forrajera. Es una planta perenne, de ciclo de vida largo, cuya floración puede acelerarse con el uso apropiado de tratamiento fotoperiodico (J.W. Miles 1983)

Numerosos estudios de su comportamiento como forrajera en el NEA han demostrado su buena producción de biomasa en suelos rojos, poco fértiles, o con poca disponibilidad de fósforo (Tomei et al., 1997; Ciotti et al., 1999). Además, se ha observado gran tolerancia a la sequía y buena nodulación en condiciones de anegamiento temporario (Ciotti et al., 2003; Ciotti et al., 2006). Sin embargo, en regiones tropicales húmedas, la especie tiene baja persistencia debido la enfermedad conocida como antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* que afecta a todos los cultivares en mayor o menor medida (Miles and Lenné, 1984; Chakraborty et al., 1996; Grof et al., 2001). En regiones subtropicales húmedas, además de la antracnosis se suman las bajas temperaturas ocurridas en el invierno, las cuales inciden en la persistencia de la especie. Aunque se ha mostrado que *S. guianensis* podría producir buena cantidad de forraje durante tres años en Corrientes (Ciotti et al., 1999), esta condición varía en los diferentes ambientes del NEA, observándose en muchos casos que no perduran más de un año.

El programa de mejoramiento del área de genética y mejoramiento genético del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE), Facultad de Ciencias Agrarias (FCA),

Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), tiene como objetivo la obtención de un cultivar de *Stylosanthes guianensis* que sea resistente a antracnosis y tolerante al frío. Para lograr con este objetivo se realizaron cruzamientos controlados entre los cultivares Cook, Endeavour y Graham, la línea CIAT 184 altamente tolerante a antracnosis (Ciotti et al., 1999b), y una línea pura Q 4306, de muy buen comportamiento, recolectada por el Ing. Camilo Quarin en la localidad de Santa Ana de los Guácaras, Corrientes, Argentina, con la finalidad de aumentar la diversidad contenida en el germoplasma disponible. A partir de allí, el programa evaluó las progenies F1, F2, F3 y F4. Observándose, líneas con alta tolerancia a la antracnosis y tolerancia a las bajas temperaturas (Silva Reis et al., 2021). Por este motivo, actualmente el programa se encuentra en fases de aumentar la cantidad de semillas de cada línea con la finalidad de evaluación con animales y en diferentes ambientes.

La floración de *Stylosanthes* en general, es estimulada por días cortos. En el Norte de Corrientes la floración se extiende desde de marzo a mayo y la fructificación abarca de junio a agosto, dependiendo de las especies y cultivares. Sin embargo, al ser de floración y semillazón escalonadas, se producen pérdidas durante la cosecha (Yepes, 1974, González y Mendoza, 1999). Otro inconveniente en la región, es la falta de maquinaria para la cosecha y procesamiento de las semillas en grandes cantidades. También se puede observar un detenimiento en la maduración por la ocurrencia de heladas tempranas. Sin embargo, con inviernos benignos, el periodo de cosecha puede llegar hasta 28 días desde el inicio de maduración, lo cual permite rendimientos de semillas de 100 -200 kg. Además, según datos de diferentes localidades del norte de Corrientes, se pudo observar que el cultivo de *Stylosanthes guianensis* constituye una alternativa económica para los pequeños productores permitiendo obtener beneficios económicos por la venta de las semillas y agronómicos por aporte materia orgánica y cobertura al suelo (Ciotti et al., 1999a)

Objetivo

Adquirir conocimiento y práctica profesional acerca de la cosecha, evaluación de caracteres de calidad de semillas e instalación de una forrajera leguminosa de gran interés para el NEA.

Lugar de trabajo

Campo Didáctico Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE y la Cátedra de Forrajicultura, FCA-UNNE (Figura 1).



Figura 1 Detalle de la ubicación del lote utilizado para este trabajo en el Campo Experimental FCA UNNE.

Descripción de las tareas desarrolladas

Material vegetal

Las actividades se desarrollaron sobre dos lotes de *Stylosanthes* que se encontraban establecidos desde noviembre 2019, en el Campo Experimental Didáctico de la FCA-UNNE.

Lote 1: formado por 4 bloques de 12 líneas diferentes de *S. guianensis*, los cuales provienen de cruzamientos entre cultivares de la especie y un ecotipo nativo. Los mismos ya pasaron por 4 ciclos de selección con respecto a la tolerancia a enfermedades y tolerancia al frío. La unidad experimental corresponde a 1m lineal de cada línea mejorada y un distanciamiento de 2 m entre líneas.

Lote 2: Corresponde a un ensayo de comparación del Cultivar de *Stylosanthe* Campo grande (mezcla física de *S. macrocephala* y *S. capitata*) y una población mejorada de

Stylosanthes guianensis también proveniente del programa de mejoramiento de FCA-UNNE. Cada unidad experimental corresponde a una parcela de 4 m² con distanciamiento de 2 m entre parcelas.

Cosecha de semillas

La cosecha se comenzó a partir de mayo 2021. La elección del momento propicio se eligió a partir del estudio realizado para *Stylosanthes guianensis* en Corrientes (Ciotti et al., 2000). El cual determinó que 15 días posteriores al observar que al golpear las inflorescencias contra la mano caen 2 semillas en el 5 % de las inflorescencias, lo cual ocurre alrededor de 60 días después de inicio de floración (Figura 2).

La cosecha se realizó de manera escalonada debido a que se trataban de diferentes líneas con diferentes momentos de maduración. Se realizaron 6 cosechas durante mayo y agosto 2021.

Los cortes se llevaron a cabo de manera manual con tijeras, cosechándose porciones de tallos con inflorescencias maduras de unos 15 cm aproximadamente, las cuales se recolectaban en bolsas de tela limpias y debidamente rotuladas (Figura 2).



Figura 2: Cosecha de semillas de *Stylosanthes*. A: detalle de las flores y frutos; B: detalle de bolsas y tijeras para cosecha.

Secado en estufa

Un factor de gran importancia para el correcto y eficiente trillado de semillas es que el material a procesar posea bajos niveles de humedad. Para ello se utilizó estufa de la Catedra de Forrajicultura, que permitía el secado simultaneo de unas 9 bolsas, donde permanecían entre 24 a 72 hs a una temperatura de 30°C a 35°C, siempre rotándolas y controlando que el material pierda humedad de manera pareja (Figura 3).



Figura 3. Detalle de estufa de secado de semillas de *Stylosanthes* previo a la trilla.

Proceso de trilla

Durante esta etapa se procedió a separar las semillas de los restos vegetales cosechados, para lo cual se utilizaron dos metodologías diferentes dependiendo del volumen y cantidad de material a procesar.

Para la trilla del lote 1 utilicé un mecanismo trillador de pequeña escala totalmente manual y para el lote 2 el trabajo se realizó de manera mecanizada mediante una máquina trilladora provista por la Catedra de Forrajicultura.

Trilla manual: esta metodología permite una separación muy limpia y de calidad, ya que consiste en ir trabajando con 3 a 5 puñados de material vegetal seco y friccionarlos, ejerciendo la presión necesaria para que la semilla se vaya desprendiendo de los restos de la infrutescencia. Posteriormente se deposita este producto en los tamices, donde se produce la eficiente separación de la semilla y el material grosero de descarte (Figura 4). Como ventaja de esta metodología se puede destacar que en el proceso no se pierden

semillas, sin embargo, como desventaja se puede decir que el trabajo es muy laborioso y lleva mucho tiempo.



Figura 4: Detalles de separación manual de semillas de *Stylosanthes*.

Trilla mecanizada: esta metodología permitía trabajar con mayores volúmenes de material y en menor tiempo, ya que mediante un mecanismo giratorio propulsado por un motor eléctrico las infrutescencias eran friccionadas por “dientes” metálicos que separaban las semillas, y posteriormente se procedía a un tamizado grosero utilizando el protector de un ventilador de pie. Esta técnica se utilizó con el material que provenía del lote 2. Debido a que era una superficie más grande y de menor cantidad de materiales, a diferencia del lote 1 que correspondía a una superficie menor y de 12 líneas distintas, lo cual es preferible trabajarlo de a poco para no mezclar semillas de distintas líneas.



Figura 5: Detalle de trilla mecánica de semillas de *Stylosanthes*.

Soplado o limpieza fina: Teniendo en cuenta que el sistema de tamizado dejaba un exceso de material inerte, principalmente polvo y restos de brácteas, se procedió a realizar una separación más eficiente por soplado artificial.

Por otro lado, el material trillado de mayor magnitud proveniente del lote 2 se procedió a realizar el soplado mediante el uso de un secador de pelo. Se colocaba todo lo recolectado de cada sobre en bandejas, y mediante el aire generado por el secador de cabello, se separan las semillas de manera muy eficiente del resto del material (Figura 7).



Figura 7. Detalle de separación mediante corriente de aire generada por secador de cabellos. En las fotos de la derecha se puede observar antes y después de aplicar el soplado en semillas de *Stylosanthes*.

Para ello también se procedió de dos maneras. Para el material proveniente del lote 1 se realizó el soplado a través de un soplador de semillas experimental. El mismo funciona mediante una columna de aire permitió llevar a cabo esta separación y limpieza final, por diferencia de peso entre la semilla y el polvo o restos de brácteas (Figura 6).



Figura 6: Detalle de soparador de semillas experimental. En las fotos de la derecha se puede distinguir las semillas de *Stylosanthes* al finalizar el soplado.

Estimación del rendimiento de semillas

Luego de la trilla y separado fino del material, se procedió al pesaje de las semillas obtenidas, de manera tal de poder diferenciar la producción de semillas para cada uno de los lotes en estudio, lo cual se llevó a cabo mediante una balanza de precisión.

Se pudo observar que las líneas mejoradas tuvieron un rendimiento de 374 kg.ha⁻¹ en el lote 1 y 214 kg.ha⁻¹ en el lote 2 (Tabla 1). Esta diferencia se podría atribuir a la menor pérdida que hubo por el tipo de trilla, explicado más arriba para cada caso. Por otro lado, es importante destacar que en ambas situaciones se observó una producción de semillas superior en las líneas mejoradas que en los cultivares comerciales.

Si comparamos la producción obtenidas en nuestro ensayo con lo publicado en el folleto del cultivar Campo Grande (300 a 700 kg.ha⁻¹) fue menor. Sin embargo, hay que destacar que las precipitaciones de ese año en el campo experimental fueron de 1022 mm, con respecto al promedio anual de 1568 mm. Por otro lado, *Stylosanthes guianensis* en otros países puede llegar a producir 94 kg.ha⁻¹ (Colombia) a 437 kg.ha⁻¹ (Paraguay) (Glatzle, 1993; CIAT, 1989). Además, un estudio realizado por Ciotti et al., 1999 mostró producción de *S. guianensis* cv Graham de 150 a 200 kg.ha⁻¹ en diferentes años.

Tabla 1: Producción de semillas de *Stylosanthes* en dos lotes ubicados en el Campo Experimental Didáctico de FCA-UNNE.

Lote	Identificación	Peso promedio kg/ha
1	Líneas mejoradas	374
	<i>S. guianensis</i> cv Graham	268
2	Línea mejorada	214
	<i>Stylosanthes</i> Cv. Campo Grande	117

Almacenamiento

Las semillas fueron almacenadas en cámara refrigerada en la cátedra de Forrajicultura, a 15 C° y con baja humedad relativa.

Para evaluar el almacenamiento, se realizaron pruebas de germinación en dos momentos distintos. La primera se realizó durante el mes de octubre 2021, aproximadamente tres meses posteriores a finalizar la cosecha. Y la segunda se realizó durante el mes de marzo 2022.

El análisis de poder germinativo se realizó con semillas escarificadas y semillas sin escarificar. El tratamiento de escarificado consistió en dejar en agua caliente (80°C) las semillas durante 10 minutos. Luego 100 semillas escarificadas y 100 semillas sin escarificar fueron puestas a germinar en caja de petri en cámara de germinación de la

cátedra de Forrajicultura. Se mantuvo la temperatura a 30°C y las cajas con humedad durante 15 días. Se pudo observar que el 85% de las semillas escarificadas, germinaron. Sin embargo, el tratamiento sin escarificar, solo se observó un 12% de semillas germinadas (Figura 8).



Figura 8: Cajas de Petri con semillas de *Stylosanthes guianensis*, a la izquierda semillas escarificadas y a la derecha semillas sin escarificar.

Para el ensayo de germinación realizado en el mes de marzo se incluyó un tratamiento más. Para este ensayo se utilizó semillas que se habían escarificado en septiembre 2021, semillas escarificadas en marzo 2022 y semillas sin escarificar. Cabe aclarar que todas las semillas estuvieron almacenadas en cámara refrigerada desde la cosecha hasta el ensayo de germinación. Los resultados mostraron nuevamente que las semillas escarificadas tuvieron mayor porcentaje de germinación. El tratamiento con escarificado en septiembre fue de 79% el de escarificado en marzo de 72% y el sin escarificar 15%. Estos resultados muestran la importancia de tratar el tegumento duro común de las semillas de leguminosas antes de su siembra. Además, los resultados son un indicio de que no hay pérdidas de viabilidad de semillas cuando son tratadas con agua caliente, secadas y acondicionadas nuevamente.

Siembra e instalación de un nuevo lote de *Stylosanthes*

A partir de datos recolectados por el grupo de mejoramiento de FCA-UNNE (Silva Reis et al., 2021, Quintana Valor, 2021) se decidió instalar un lote exclusivo para cosecha de semillas de una de las líneas más destacadas.

Para ello, en agosto 2022 se comenzaron con las prácticas de preparación de suelo. Se realizaron dos pasadas de disco y posterior aplicación de glifosato (3 l.ha^{-1}) en octubre y otra aplicación dos días previos a la siembra. Durante noviembre se realizó la siembra de *Stylosanthes* con semillas escarificadas con agua caliente, cómo se explicó más arriba. La siembra se realizó en líneas a razón de 3 kg.ha^{-1} , según lo sugerido por Ciotti et al 2000. Cómo se puede ver en la figura 9 se utilizó una sembradora de preparación casera, hecha con una bicicleta, creada por técnico y docente de ERAGIA. La misma nos permitió sembrar un lote de $15 \times 30 \text{ m}$ en dos horas aproximadamente. El mantenimiento del lote fue con azadas cerca del línea y con motoguadaña entre líneas. Sería de gran interés para la instalación de lotes más grandes, contar con información de herbicidas postemergentes en el género.



Figura 9: Siembra de línea selecta de *Stylosanthes guianensis* en Campo Experimental Didáctico de FCA-UNNE.

Comentarios finales

El trabajo de pasantía fue muy importante para mi formación como futuro profesional. Durante el período de realización de la pasantía, pude generar práctica en cosecha, trilla, limpieza, almacenamiento e instalación de una leguminosa de gran importancia para el subtrópico húmedo.

Además, esta experiencia me permitió adquirir conocimientos, no solo desde lo práctico y teórico, sino también desde lo humano, ya que el compartir, debatir e intercambiar opiniones con profesionales, me permitió incorporar habilidades que serán imprescindibles para cualquier entorno profesional al que me introduzca.

Por otro lado, considero de gran importancia generar información acerca del paquete tecnológico para la implantación de la especie, ya que es de suma importancia para los sistemas ganaderos del NEA contar con cultivares de leguminosas que se adapten a suelos poco fértiles.

Opinión del asesor

El alumno Leonardo Darío Ocampo ha llevado a cabo de manera independiente y responsable tareas de cosecha, trilla e implantación de líneas mejoradas de *Stylosanthes guianensis*. Su trabajo tuvo un gran impacto para alcanzar objetivos en el programa de mejoramiento de forrajeras de FCA-UNNE. Además, durante el período de su pasantía puedo destacar su compromiso con el trabajo y capacidad para trabajar en equipo.

Considero que ésta práctica será de gran valor para su carrera profesional en el ámbito de producción animal, o en cualquier otro ámbito donde deba trabajar en equipo o requiera manejarse de manera independiente.

Bibliografía

- Chakraborty, S., Cameron, D.F., Lupton, J. 1996. Management through improved understanding - a case history of *Stylosanthes* anthracnose in Australia, In Pasture and forage crop pathology pp 603-619 American Society of Agronomi Wisconsin
- Ciotti, M.E, Castelán, M.E. and Tomei, C.E. 1999a. Perspectivas de la producción de semilla de *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. en la Provincia de Corrientes (Argentina). Agrotecnia 5: 21-25.
- Ciotti EM, Tomei CE, Castelán ME. 1999b The adaptation and production of some *Stylosanthes* species in Corrientes northwest. Tropical Grasslands 28:165–169.
- Ciotti, E.M. Castelán, M., Tomei, C. and Soneira, D. Momento de cosecha de semillas de *Stylosanthes guianensis* CiaT 184. Agrotecnia, 6: 14-18.
- Ciotti, E.M., Castelán, M.E., Tomei, C.E., Mónaco, I.P., Benitez, J.A. 2003. Respuesta de *Stylosanthes guianensis* CIAT 184 a la fertilización con una baja dosis de fósforo. Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA), 32:137–145.
- Ciotti, E.M., Castelán, M.E. and Berg, C.H. 2006. Efecto del encharcamiento temporario sobre el rendimiento y la nodulación de *Stylosanthes guianensis* y *Arachis pintoí*. Pasturas Tropicales 28: 52– 56.
- Garcia, M., Vigna, B.B.Z., Sousa A.C.B., Jungmann, L. Cidade, F.W., Toledo-Silva, G., Francisco, P.M., Chiari, L., Carvalho, M.A. et al. 2013. Molecular genetic variability, population structure and mating system in tropical forages. XXII International Grassland Congress Proceedings.
- Gonzalez, Y. and Mendoza, F. 1995. Momento de cosecha de las semillas de *Stylosanthes guianensis* CIAT-184. Pastos y Forrajes, 3: 225-229.
- Grof, B., Fernandes, C.D. and Fernandes, A.T.F. 2001. New *Stylosanthes guianensis* for Tropical Grasslands. The XIX International Grassland Congress Proceeding
- Miles J.W. and Lenné, J.M. 1984. Genetic variation within a natural *Stylosanthes guianensis*, *Colletotrichum gloeosporioides* host-pathogen population. Australian Journal of Agriculture Research. 35:211–18.

- Quintana Valor, M. 2021. Evaluación de una nueva línea genética avanzada de *Stylosanthes guianensis*. Tesis de grado para optar el título de Ingeniera Agrónoma, FCA. UNNE.
- Silva Reis, A. y Acuña C.A. 2021. Caracterización Agronómica y Selección de líneas F4; de *Stylosanthes guianensis*. XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, UNNE.
- Silvestri, M.C., Acuña, C.A. Moreno, E.M.S., Garcia, A.V., Vanni, R.O. and Lavia, G.I. 2020. Patterns of genetic diversity and potential ecological niches of *Stylosanthes* species from northeastern Argentina. *Crop Science* 60:1436–1449
- Spain, J.M. and Ayarza, M.A. 1992. Tropical pastures target environments. In *Pastures for the Tropical Lowlands: CIAT's Contribution*, 1–8. Cali, Colombia: CIAT.
- Tomei C.E, Ciotti, E.M., Castelán, M.E. 1997. *Stylosanthes*, alfalfa tropical, In *Boletín N°7*, pp 7 Instituto Agrotécnico Fuentes Godo, Chaco.
- Yepes, S. 1974. Características botánicas de las principales leguminosas tropicales de pastoreo. *Ciencias Agropecuarias U. H. I. Ing. Agronómica* N° 15.
- Vanni, R. 2017. The genus *Stylosanthes* (Fabaceae, Papilionoideae, Dalbergieae) in South America. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52:549–585.