



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN VEGETAL

TESIS

**PREFERENCIA DEL VACUNO POR GRAMÍNEAS FORRAJERAS DE
CICLO ESTIVAL Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS MORFO-
ANATÓMICAS DE LA PASTURA**

Tesista: Ing. Agr. Elio L. Di Lorenzo

Director: Ing. Agr. (M.S., Ph.D.) Carlos A. Acuña

Co-director: Ing. Agr. (Dra.) Myriam C. Peichoto

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ABREVIATURAS	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
CAPÍTULO I	
1 – INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Gramíneas.....	10
1.2 Vacuno.....	11
1.3 Preferencia, Morfología y Anatomía.....	12
2 – HIPÓTESIS.....	15
3 – OBJETIVO GENERAL.....	15
4 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
CAPITULO II – MATERIALES Y METODOS.....	16
1. Material Vegetal.....	16
2. Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	18
3. Ubicación del Ensayo.....	19
4. Suelo	19
5. Clima	20
6. Siembra y Establecimiento de las pasturas.....	20
7. Toma de datos Producción, Consumo, Morfológicos y Anatómicos.....	21
CAPITULO III – RESULTADOS	25
1. Producción de forraje.....	25
2. Preferencia del vacuno	27
3. Morfología	30
4. Anatomía Foliar	32
5. Proporción de tejidos foliares	39
6. Prueba de correlación	47
CAPITULO IV – DISCUSIÓN y CONCLUSIÓN.....	48
REVISION BIBLIOGRAFIA.....	52
ANEXO.....	61

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que, en mayor o en menor medida, han colaborado con el presente trabajo y que me han acompañado y apoyado.

A mi Director de Tesis Ing. Agr. (M.S., Ph.D.) Carlos A. Acuña y Co-director: Ing. Agr. (Dra.) Myriam C. Peichoto, por su paciencia, son quienes me han estimulado y acompañado en forma permanente para llegar al objetivo de concluir con esta investigación y mi formación profesional. Quiero agradecer a la Ingeniera Agrónoma (M.S., Dra.) Florencia Marcón, por su colaboración y acompañamiento. Además, mi agradecimiento a la Dra. Natalia María A. Aguilar de la EEA – INTA Cnia. Benítez Chaco.

En lo institucional, al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, por brindarme una beca de formación, financiar mis estudios y ofrecer un espacio físico y personal de apoyo para desarrollar parte del trabajo de tesis. A la Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias – Maestría en Producción Vegetal, donde pude desarrollar en un marco de excelencia académica mi formación de grado y postgrado. Al personal del Instituto de Botánica del Nordeste – CONICET y al Servicio de Microscopía Electrónica de la UNNE.

En lo personal a mis hijas Lena, Mora y Azul, a mi señora Pamela. A mis padres Elio y Monica, a mi hermana Virginia.

Y a todos ellos, mis amigos, familiares y profesionales que dieron su apoyo, mi agradecimiento.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especie, identificación y origen de los biotipos y especies en estudio. P.16

Tabla 2. Características morfológicas de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, del cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú medidas durante cuatro períodos de crecimiento. P.31

Tabla 3. Proporción de tejido epidérmico (epidermis+células buliformes) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes. P.41

Tabla 4. Proporción de tejido parenquimático (parénquima incoloro + clorénquima) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes. P.42

Tabla 5. Proporción de tejido lignificado (xilema + esclerénquima) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes. P.43

Tabla 6. Proporción de vaina parenquimática de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes. P.44

Tabla 7. Número de haces vasculares de primer orden (HV1), de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.) y de la vena media (V.M.), durante cuatro fechas diferentes. P.45

Tabla 8. Distancia entre haces vasculares de primer orden (HV1) de la región de la hemilámina (Med.), durante cuatro fechas diferentes. P.46

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Valores del análisis de suelo de la Serie Tragadero. P.19
2. Temperatura (°C) y precipitaciones (mm) durante el periodo de estudio. P.20
3. Precipitaciones (mm) acumuladas al momento de cada muestreo/corte. P.22
4. Imágenes capturadas durante la medición de áreas de tejidos foliares. P.24
5. Producción de forraje por épocas de crecimiento. P.25
6. Resultados variable producción (g m²) de biotipos en las diferentes épocas de corte. P.26
7. Resultados variable producción (g m²) de biotipos en las diferentes épocas de corte. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de biotipos. P.26
8. Resultados variable consumo (%), entre biotipos y épocas de corte. P.27
9. Resultados de consumo diciembre 2016. P.28
10. Resultados de consumo marzo 2017. P.28
11. Resultados de consumo mayo 2017. P.29
12. Resultados de consumo diciembre 2017. P.29
13. Fotografías con MEB de la sección transversal de la lámina foliar. P.35
14. Sección transversal de la lámina foliar con coloración diferencial e histoquímica. P.36
15. Sección transversal de la lámina foliar con coloración. P.37
16. Vista de la epidermis de la lámina foliar con MEB. P.38
17. Coeficiente de correlación. P.47

ABREVIATURAS

AB	Superficie Abaxial
AD	Superficie Adaxial
ANAVA	Análisis de la Varianza
B. b.	<i>Brachiaria brizantha</i> o <i>Urochloa brizantha</i> (Marandú)
°C	Grados Celsius
Ch. g	<i>Chloris gayana</i> (Callide)
Cf	Climas Templados Húmedos
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de Carbono
C3	Ciclo del carbono de Calvin
C4	Ciclo del carbono vía de Hatch-Slack
CV	Coefficiente de variación
DFDN	Digestibilidad In vitro de Fibra Detergente Neutra
Dic.	Diciembre
Dist.	Distancia
EEA	Estación Experimental Agropecuaria
Ed./ Eds.	Editor/es
et al.	Et alii, expresión latina que significa 'y otros'
etc.	Etcétera
FAA	Formol, Alcohol, Ácido Acético
FCA	Facultad de Ciencias Agrarias
Fig.	Figura
g.	Gramos
H ² O	Agua
Ha	Hectárea
hm	Área del transcorte medido en la imagen
hs.	Hora
HV1	Haces vasculares de primer orden
HV2	Haces vasculares de segundo orden
HV3	
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Kg	Kilo
Kg.ha ⁻¹	Kilogramos por hectárea
Km ²	Kilómetro cuadrado
Lat.	Latitud
Long	Longitud
LSD	Prueba Fisher
M	Metro
Mar.	Marzo
Marg.	Región del margen foliar del corte transversal de la lámina
May.	Mayo
m ²	Metro cuadrado
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
Med.	Región de la hemilámina del corte transversal de la lámina
Mm	Milímetros
MS	Materia Seca
MSD	Diferencias mínimas significativas
msnm	Metros sobre nivel del mar
µm	Micrómetro
NEA	Nordeste Argentino
%	Porcentaje
%.m ²	Porcentaje por metro cuadrado
%Tm	Porcentaje tejido medido
p-val.	Valor de probabilidad
pH	Concentración de iones de hidrógeno
prod.	Producción
Tm	Tejido medido
UNNE	Universidad Nacional del Nordeste
V.M.	Región vena media del corte transversal de la lámina

RESUMEN

Las gramíneas son uno de los recursos forrajeros más importantes de la región y su interacción con el vacuno juega un papel preponderante para la producción de carne. El objetivo de este estudio fue evaluar la preferencia del vacuno, las características morfológicas y anatómicas de las hojas y sus relaciones durante cuatro estaciones de crecimiento. Se utilizaron cinco accesiones nuevas de *Paspalum atratum*, biotipos U39, U42, U44, N153, N164, el cultivar Cambá, *Brachiaria brizantha* cv. Marandú y *Chloris gayana* cv. Callide. La unidad experimental fue una parcela de 4 m². Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones. La preferencia del vacuno se determinó mediante la diferencia entre la disponibilidad de forraje al inicio y final del pastoreo, en diciembre 2016, marzo 2017, mayo 2017 y diciembre 2017. Se utilizaron 6 vaquillas que pastorearon las parcelas durante 2 a 3 hs. Se evaluaron variables morfológicas como, altura de planta, longitud y ancho de hoja, y variables anatómicas de la lámina foliar en tres regiones (vena media, hemilámina y margen foliar): proporción de tejidos, número y distancia de haces vasculares de primer orden (durante los cuatro períodos de crecimiento). Se observaron interacciones significativas entre gramíneas y épocas para las variables, producción de forraje ($p=0,0013$) y preferencia del vacuno ($p<0,0001$). A su vez, se detectaron diferencias significativas entre las estaciones de crecimiento para las variables, producción de forraje y preferencia del vacuno. Durante la primavera 2016, Callide, Marandú y U44 fueron las gramíneas más preferidas, con el 40%, 38%, y 19% consumido, respectivamente. En primavera 2017, Marandú, U44 y Callide fueron las más consumidas, con el 59%, 50% y 42% respectivamente; siendo Cambá la menos preferida en ambas épocas (0%). En el verano 2017, U44 fue la gramínea más consumida con el 54%. Durante el otoño 2017, las gramíneas más consumidas fueron U39, Cambá, U42 y Callide con consumos promedios entre 72% y 85%; mientras que N164 y U44 estuvieron entre las menos consumidas, 40% y 51% respectivamente. La proporción de tejido lignificado (xilema + esclerénquima) para Callide y Marandú fue mayor en las cuatro estaciones para las regiones de la vena media (9-21%) y del margen foliar (15-37%). La preferencia del vacuno se correlacionó positivamente con la vaina parenquimática de las regiones margen y hemilámina; y con el tejido epidérmico para la porción de la vena media. Con las variables altura de planta, largo de hoja y número de haces vasculares de primer orden en la región vena media, el consumo se correlacionó negativamente. En la temporada de otoño, hay menor crecimiento (menor altura de planta, menor largo y ancho de hoja) relacionándose esto con menor cantidad de tejido de sostén lignificado, favoreciendo de esta manera el consumo. Estos resultados indican que la preferencia del vacuno por biotipos se ve afectada por las características morfológicas y anatómicas de la hoja, principalmente aquellas asociadas a los tejidos lignificados y su relación con la estructura foliar.

Palabras clave: anatomía foliar, consumo animal, gramíneas de ciclo estival, preferencia forrajera.

ABSTRACT

Grasses are one of the most important forage resources in the region and their interaction with cattle plays a major role in beef production. The objective of this study was to evaluate cattle preference, morphological and anatomical characteristics of leaves and their relationships during four growing seasons. Five new accessions of *Paspalum atratum*, biotypes U39, U42, U44, N153, N164, cultivar Cambá, *Brachiaria brizantha* cv. Marandú and *Chloris gayana* cv. Callide were used. The experimental unit was a 4 m² plot. A randomised complete block design with 4 replications was used. Cattle preference was determined by the difference between forage availability at the beginning and end of grazing, in December 2016, March 2017, May 2017 and December 2017. Six heifers were used and grazed the plots for 2 to 3 hr. Morphological variables such as plant height, leaf length and width, and anatomical variables of the leaf lamina in three regions (midvein, hemilamina and leaf margin) were evaluated: proportion of tissues, number and distance of primary bundles (during the four growth periods). Significant interactions between grasses and seasons were observed for the variables, forage production ($p=0.0013$) and cattle preference ($p<0.0001$). Significant differences were also detected between growing seasons for the variables forage production and cattle preference. During spring 2016, Callide, Marandú and U44 were the most preferred grasses, with 40%, 38%, and 19% consumed, respectively. In spring 2017, Marandú, U44 and Callide were the most consumed, with 59%, 50% and 42% respectively; Cambá being the least preferred in both seasons (0%). In summer 2017, U44 was the most consumed grass with 54%. During autumn 2017, the most consumed grasses were U39, Cambá, U42 and Callide with average intakes between 72% and 85%; while N164 and U44 were among the least consumed, 40% and 51% respectively. The proportion of lignified tissues (xylem + sclerenchyma) for Callide and Marandú was highest in all four seasons for the midvein (9-21%) and leaf margin (15-37%) regions. Cow preference was positively correlated with parenchyma sheath for the margin and hemilamina regions; and with epidermal tissue for the midvein portion. With the variables plant height, leaf length and number of primary vascular bundles in midvein, consumption was negatively correlated. In the autumn season, there is less growth (less plant height, less leaf length and width) and this is related to less lignified supporting tissue, thus favouring consumption. These results indicate that cattle preference in the species is affected by the morphological and anatomical characteristics of the leaf, mainly those associated with lignified tissues and their relationship with leaf structure.

Key words: leaf blade anatomy, animal consumption, summer grasses, forage preference.

CAPITULO I

1 – INTRODUCCION

La producción ganadera tropical y subtropical se basa principalmente en pastos de estación cálida (Sollenberger et al., 2020), que constituyen alrededor del 85% del suministro de alimentos para la producción de carne y leche (Coleman et al., 2004). En América del Sur la producción de ganado vacuno, en la zona subtropical se utiliza como principal fuente de alimentación el forraje de campo natural y pasturas. La ganadería argentina evidencia una doble presión, por un lado, la expansión agrícola y por otro la necesidad de mejorar los índices productivos para poder ser más competitiva (Chiossone, 2006). Los sistemas de producción de carne en la Región Oriental de Chaco y Formosa se caracterizan por la falta de forraje durante el periodo invernal y principio de primavera. Esta realidad de la producción de los pastizales naturales hace ineficiente el sistema (Bernardis, 2003).

Las gramíneas son el componente principal de los campos naturales del Nordeste de Argentina (NEA), presentando una distribución del crecimiento con máximos en los meses de noviembre a marzo y mínimos de junio a agosto. La digestibilidad y el contenido de proteína bruta siguen la misma tendencia, son superiores en primavera, caen en verano, otoño y son mínimos en invierno. En primavera y verano el valor nutritivo del forraje es muy variable, depende de las características del campo natural, del manejo y de las condiciones climáticas, particularmente las precipitaciones en primavera y verano (Sampedro, 2018). Sin embargo, el NEA presenta un gran potencial para mejorar sus actuales índices de producción. La ganadería de esta región tuvo un crecimiento sostenido durante la última década. De acuerdo con informes técnicos (INTA Colonia Benítez –Chaco), Formosa pasó de 1,4 a 1,6 millones de cabezas entre 2003 y 2008, mientras que Chaco pasó de casi 2,2 a 2,6 millones de cabezas en el mismo período (Balbuena, 2019). El análisis del panorama productivo revela una apuesta a la adopción de tecnología como estrategia de crecimiento para los productores. La elección de pasturas adaptadas y la ejecución de buenas prácticas de manejo para aumentar la producción de pasturas y mejorar los índices de preñez son aspectos fundamentales para lograr explotaciones más productivas y sustentables. Por lo cual es de importancia llevar a cabo ciertos procedimientos o prácticas para enriquecer el pastizal, principal alimento de la hacienda (Balbuena, 2019).

La incorporación de gramíneas mejoradas es uno de los factores que dinamizó la producción ganadera en las provincias de Chaco y Formosa. Los rendimientos comparativos en términos de producción secundaria con el campo natural son sin duda amplios y evidentes (Balbuena et al., 2019). Existen numerosos ensayos realizados en campos de productores, Estaciones Experimentales de INTA y Universidades, con especies subtropicales en el noreste argentino. Como resultado de dichos ensayos se ha obtenido información que ordena geográficamente por ambiente a las especies (Chiossone, 2006). En esta región, los altos niveles pluviométricos y la heterogeneidad fisonómica y topográfica presentan esquemas complejos de incorporación de especies, ya que cada ambiente suele estar asociado a una especie que se adapta a éste (Balbuena et al., 2019). Estas especies subtropicales se convierten en un recurso forrajero estratégico en la medida que se obtienen ganancias de peso vivo que pueden variar de 120 kg/cabeza/año a 170 kg/cabeza/año (Delssín et al., 1997; Chaparro et al., 1998; Pizzio, 2001; Chiossone y Airaldo, 2001; Balbuena y Kucseva, 2002; Pueyo et al., 2005). Las tierras cultivadas se siembran con gramíneas subtropicales, las cuales realizan su fotosíntesis mediante la vía fotosintética de Hatch-Slack, también conocida como C4. Este mecanismo fotosintético se asocia con una alta tasa de crecimiento, pero

con un valor nutritivo relativamente bajo en comparación con las gramíneas que utilizan la vía fotosintética de Calvin o también conocida como C3 (Volenec y Nelson, 2020).

Los géneros *Cynodon*, *Chloris*, *Digitaria*, *Megathyrsus*, *Paspalum*, *Setaria* y *Brachiaria* se encuentran entre las gramíneas forrajeras perennes de estación cálida más importantes para la producción ganadera subtropical (Moser et al., 2004). Con frecuencia, entre las especies adaptadas a un nicho productivo particular no se observan diferencias marcadas en el rendimiento de forraje ni en el valor nutritivo, mientras que sí difieren en la producción de carne (kg/ha/año de ganancia de peso vivo). Por ejemplo, Andrade et al. (2013) observaron diferencias significativas en la producción animal de un grupo de vaquillas en pastoreo entre dos accesiones de pasto guinea [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon y S. W. L. Jacobs] y el cultivar de pasto guinea "Tanzania". Los animales que pastorearon una de las accesiones mostraron mayor rendimiento animal que Tanzania y la otra accesión de pasto guinea. Sin embargo, los tres biotipos anteriormente nombrados, mostraron similar aporte de forraje (kg de materia seca/kg de peso vivo). Mislevy y Dunavin (1993) reportaron una situación similar para *Cynodon*; observaron que *C. nlemfuensis* cv. Florico y Florona, produjeron diferente ganancia diaria promedio de novillos a pesar de pertenecer a la misma especie y exhibir similar rendimiento de forraje y valor nutritivo. Estas diferencias podrían estar asociadas a otras características de las plantas forrajeras que llevan a los animales a seleccionar unos forrajes sobre otros (Marten, 1978). Las diferencias morfo/anatómicas en los vegetales, atribuyen cambios a las estructuras físicas, con la finalidad de disminuir o evitar su consumo, mediante estrategias como reducción de la calidad nutritiva y de la palatabilidad (Azorín, 2008).

1.1 Gramíneas:

Las gramíneas son el componente más importante en pastizales, pajonales, y pasturas implantadas, constituyéndose en el principal elemento de la dieta de los vacunos. Estos vegetales tienen diferentes mecanismos de asimilación de CO₂. Estos mecanismos de fijación del CO₂ presentan distintos tipos de estructuras anatómicas que a la vez le otorgan características de rápido crecimiento por un mejor aprovechamiento de los recursos (Ellis et al., 1976). Teniendo una gran importancia desde el manejo agropecuario (Melo et al., 1993), condicionando el consumo y la digestión por parte del animal. La proporción relativa de los distintos tejidos foliares (anatomía cuantitativa) está directamente relacionada con la digestibilidad y, consecuentemente, con la calidad forrajera de la especie (Heinzen et al., 2002).

El proceso de acumulación de forraje en gramíneas implica un recambio continuo de hojas (Lemaire et al., 2009) y un aumento en la proporción de tejidos estructurales necesarios para sostener y posicionar las hojas en las capas superiores del dosel para favorecer la intercepción de la luz (Gastal y Lemaire, 2002). Las gramíneas tropicales tienen los tejidos vasculares y esclerénquima de paredes más gruesas, mayor contenido de lignina o enlaces más complejos de precursores de lignina con carbohidratos de la pared celular (Wilson, 1976; Wilson y Hattersley, 1989). Los tejidos estructurales están compuestos por conjuntos complejos de paredes celulares que limitan en grado variable el ataque de los microbios ruminales y, en consecuencia, la digestibilidad de las paredes celulares (Buxton y Fales, 1994; Wilson, 1994).

En la región NEA están ampliamente difundidas como forrajeras especies de los géneros *Panicum*, *Paspalum*, *Brachiaria* y *Chloris*. Abarcando su cultivo una importante superficie, siendo de gran aceptación y uso por los productores pecuarios dada la adaptación de estas especies a los ambientes y sistemas productivos de la zona.

1.2 Ganado vacuno:

Se los encuentra actualmente distribuidos, en casi todas las regiones geográficas del planeta, en distintos tipos de ambientes, principalmente en pastizales y en menor medida sobre pasturas cultivadas (Álvarez Romero, 2005). Su dieta puede incluir pastos, también hojas y ramas de algunas herbáceas. Son animales sociales y forman manadas. Estudiar el comportamiento de animales en pastoreo es una estrategia que permite conocer sus actividades tales como, cantidad de forraje consumido, la duración en pastoreo, el patrón de pastar, la actividad de rumia y tiempo de descanso (Hodgson, 1990). Entre los hábitos y actividades que el vacuno realiza durante el día, podríamos nombrar como más importantes, el pastoreo, la rumia y el descanso (Álvarez Romero, 2005).

El período de pastoreo, generalmente es de 4 a 5 períodos en el día, y el tiempo del mismo es modificado por factores relacionados con la planta y comunidades vegetales (Palacio, 2002). Exceptuando los factores intrínsecos fisiológicos del animal, podemos tomar dos factores que influyen en el hábito de alimentación, los factores sociales que afectan el consumo y la selectividad del forraje por cada individuo que está en relación con el tiempo de pastoreo que dispone el vacuno. El comportamiento aprendido, la densidad, jerarquía animal y comportamiento social de consumo, influyen de manera directa (Palacio, 2002). El manejo de los animales y su ingreso al lote, tienen estrecha relación con lo aprendido por el animal, como son las relaciones entre animales del grupo, la persona que los guía (sus características), horario de ingreso, manejo previo de los animales (condiciones en que estuvieron, disponibilidad de agua).

También factores de hábitat afectan el consumo y la selectividad de forraje. La estructura de la pastura, su densidad y facilidad de acceso al forraje, características de la estructura anatómica de las plantas, composición nutricional, los metabolitos secundarios y la estacionalidad de la producción de forraje. (Tarazona et al., 2012). Debido a todos estos factores que influyen en el comportamiento animal y de manera directa en el consumo, ya sea en cantidad o selección, es que, en cada instancia de ingreso al lote en los diferentes momentos de toma de datos, se tiene en cuenta para mantener o tratar de mantener las condiciones de los animales, su grupo y entorno espacio temporal (Palacio, 2002).

Su dieta está constituida predominantemente de diversas especies de pastos, aunque algunas razas son capaces de consumir una gran variedad de hierbas y follajes de arbustos en zonas desérticas y semidesérticas (Nowak, 1991; Hernández et al., 1999). La disponibilidad de forraje, por lo tanto, condiciona el comportamiento del consumo y el consumo diario total de forrajes (Andrés y Rivas, 2012). El sitio de pastoreo está influenciado por diversos factores, como el clima, la topografía, el suelo, el tipo de vegetación y la composición de la comunidad, la ubicación del agua para consumo, la dirección del viento, etc. El animal antes de elegir la zona donde pastar, recorre el sitio consumiendo pequeños bocados de pasto con el fin de obtener información del valor alimenticio. Es conocido que los animales prefieren hojas a tallos, leguminosas a gramíneas y material verde a material muerto (Scarlato et al., 2012). Mediante el empleo de la memoria espacial los rumiantes establecen sitios de preferencia de alimentación, maximizando el consumo, minimizando el esfuerzo de desplazamiento y manteniendo el balance térmico (Scarlato et al., 2012). El consumo de materia seca es regulado por la cantidad de forraje disponible y el tiempo de pastoreo (Holmes, 1989). Los vacunos, cuando no tienen restricciones, pueden pastorear de 9 a 11 hs diarias (Beretta et al., 2013; Gregorini 2007, 2009). El tiempo de pastoreo en los animales puede variar, en función de la época del año y las condiciones climáticas, estrés por calor, presentan una

combinación de cambios en la conducta y patrón de pastoreo. En primer lugar, ajustes en la actividad diurna (actividad de rumia y descanso) y nocturna (Stobbs, 1977; Valtorta et al., 2003), y en segundo término un incremento en la tasa de consumo de forraje (Allden y Whittaker, 1970).

La rumia es un proceso digestivo en el ganado, el cual contribuye a degradar el tamaño del alimento consumido. Los animales rumian generalmente echados hasta 65-85% del tiempo total de ésta (Beauchemin et al., 1990).

1.3 Preferencia, morfología y anatomía vegetal:

El vacuno se caracteriza por ser muy selectivo en relación a las especies y a las partes de las plantas que consume. Se ha demostrado que el animal consume preferentemente algunas especies forrajeras cuando tiene la opción de elegir entre dos o más (Stobbs, 1977). Tal comportamiento es observado frecuentemente cuando se utilizan mezclas de forrajeras. Los rumiantes poseen un grado de conocimiento nutricional, generalmente seleccionan alimentos que satisfacen sus necesidades nutricionales y evitan los que causan toxicosis (Provenza, 1995). La preferencia describe la respuesta animal como una medida del consumo relativo de forrajes alternativos o partes del forraje, donde el acceso al mismo no está restringido y los animales tienen la posibilidad de elegir entre los forrajes o sus partes (Allen et al., 2011). La preferencia, está directamente relacionada con el consumo y posterior producción secundaria (Greenhalgh y Reid, 1967).

Se espera que todos los factores estructurales y químicos del vegetal puedan tener un efecto en el sabor y la textura de los mismos (Greenhalgh y Reid, 1967), sin embargo, se conoce muy poco al respecto. Entre los factores propios de la planta que afectan la selectividad se citan la disponibilidad relativa, la relación hoja/tallo, la arquitectura de la planta, la digestibilidad, la presencia de espinas y/o pilosidad en hojas, tallos y la presencia de ciertos metabolitos secundarios, tales como nitratos, taninos y otros polifenoles (Hoyos y Lascano, 1988; Ramos et al., 1998, Hutchings y Gordon, 2001; Makkar, 2006).

Morfológicamente, se pudo comprobar que la variación de la longitud de las hojas, a medida que avanza el momento de rebrote, influye en la digestibilidad de los tejidos lignificados (Agnusdei et al., 2009). Por otro lado, las características morfológicas de la hoja podrían jugar un papel importante en la preferencia del ganado por su relación con rasgos anatómicos. Wilson et al. (1989) observaron que en *Cenchrus ciliaris* las hojas más largas estaban relacionadas con tejidos de paredes gruesas. La baja preferencia por especies forrajeras en rumiantes puede estar asociada al desarrollo morfológico y estructural de las plantas (Burns et al., 2001). En *Megathyrsus maximus*, se reportó una fuerte correlación entre el ancho de la hoja y la proporción de mesófilo (Batistoti et al., 2012). Esto significa que las características morfológicas de la hoja podrían ser útiles para identificar las especies con mayor preferencia forrajera. El rumiante consume preferentemente ciertas partes de las plantas indicando que la morfología también es determinante para el consumo.

Se ha observado que el rumiante también posee la capacidad de seleccionar entre variantes genéticas de una misma especie (Marcón et al., 2022). Estos autores observaron diferencias marcadas en preferencia entre líneas genéticas de *Paspalum atratum* cuando animales ingresaron a un sector experimental con parcelas bajo corte, a pesar de no haber encontrado diferencias en producción primaria o valor nutritivo. Estos resultados dejan de manifiesto la necesidad de estudiar otras variables que

puedan explicar las diferencias en preferencia por parte del bovino. En *Lolium perenne* y *Festuca arundinacea* se ha demostrado que la firmeza de las láminas foliares se encuentra negativamente relacionada a la preferencia (Rae et al., 1964; MacAdam y Myland, 2003). Esta variabilidad en la resistencia a la ruptura de las láminas foliares resulta de la presencia de variabilidad para las fracciones de los tejidos que constituyen las hojas. Por otra parte, a mayor proporción de compuestos como la lignina en tejidos estructurales se espera que sea mayor la dificultad de masticar y digerir un forraje, y que esto resulte en una menor aceptación por parte del animal (Moore y Jung, 2001).

Según Lempp y Morais (2005), el estudio anatómico, principalmente de láminas foliares, complementa la información sobre la calidad del forraje; dado que el análisis químico y la digestibilidad no siempre explican todas las variaciones en el consumo de forrajes. El valor nutricional y la calidad de las gramíneas forrajeras, están relacionados directamente con la estructura anatómica, influenciada además por factores físicos y químicos. Esta relación que existe entre los tejidos y los órganos de la anatomía de la planta ha sido estudiada, siendo de importancia para indicar el valor cualitativo de los forrajes en relación a los tejidos rápidamente digestibles e indigestibles (Batistoti et al., 2012).

Anatómicamente, la lámina de la hoja está compuesta por tejidos vasculares, de relleno o sostén y de asimilación (García et al., 2021). Los tejidos vasculares están representados por xilema y floema, mientras que los tejidos de relleno o sostén están representados por el parénquima y el esclerénquima, respectivamente, que se asocian comúnmente con los tejidos vasculares de las gramíneas. El tejido de asimilación es el clorénquima que compone el mesófilo de la hoja. Estos tejidos están protegidos por la epidermis en ambas superficies (abaxial y adaxial) de la lámina, y sus células están cubiertas externamente por la cutícula (Metcalf, 1960; Ellis, 1976, 1979). El xilema y esclerénquima tienen células de paredes gruesas y frecuentemente lignificadas, mientras que el floema, el parénquima y clorénquima tienen paredes delgadas (Wilson 1993). En el caso de la epidermis, las paredes tangenciales exteriores están engrosadas y a veces lignificadas.

La proporción de tejidos foliares, principalmente aquellos de paredes gruesas y lignificados, imparten la mayor resistencia a la descomposición por parte del ganado, lo que podría afectar el consumo de forraje (Akin, 1989). Evans (1967) estudió la fuerza de la hoja (fuerza de rotura) de un grupo de gramíneas forrajeras ya que esta característica de la hoja afecta la preferencia de los animales. El autor encontró una alta correlación positiva entre la resistencia a la rotura de la hoja y la proporción de esclerénquima en la misma. También, MacAdam y Mayland (2003) observaron que aquellas especies forrajeras con una proporción alta de fibras (esclerénquima) exhibieron una mayor fuerza en las hojas, lo que afectaría negativamente la preferencia de los animales. El análisis de las proporciones de tejido foliar en la lámina, principalmente de aquellos de paredes gruesas y lignificadas, ayudaría a comprender por qué algunas gramíneas forrajeras son consumidas preferentemente (Evans, 1967; MacAdam y Mayland, 2003). Todos estos resultados indican que el uso conjunto de estudios tanto anatómicos como morfológicos puede ser útil para comprender el pastoreo selectivo de algunas gramíneas de estación cálida que generalmente no difieren en valor nutritivo.

La capacidad de consumo de los rumiantes está asociada al forraje proporcionado a los animales. En este caso, el consumo puede disminuir a medida que aumenta la madurez de la planta, debido a la reducción de la calidad nutricional de sus tejidos. La digestibilidad de las gramíneas tiende a disminuir en la medida en que avanza

el estado de madurez debido a alteraciones en la anatomía y en la composición de los tejidos (Mitchell et al., 2001). Paciullo et al. (2001) en la evaluación de láminas foliares y segmentos del tallo de algunas gramíneas forrajeras (*Brachiaria decumbens*, *Melinis minutiflora* e *Cynodon sP.*), determinó que la edad tuvo una incidencia notable en la reducción del valor nutricional de las hojas y los segmentos del tallo, a través de aumentos en los componentes estructurales, FDN, FDA y lignina.

La calidad del forraje es medida por su valor nutritivo, teniendo en cuenta su composición química, la digestibilidad de sus componentes, su consumo voluntario por parte de los animales y su posterior desarrollo saludable, proporcionando los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento y mantenimiento del ganado (Crampton et al., 1960; Van Soest, 1994). El consumo y la digestibilidad se ven influenciadas directamente por los tejidos constituyentes y la anatomía de los órganos de las plantas. (Slanac et al., 2022). Múltiples estudios han demostrado asociaciones entre las características anatómicas y la composición química de las plantas forrajeras y su calidad nutricional (Alves de Brito et al., 1999; Paciullo et al., 2001; Paciullo, 2002), como así también la influencia de sus estructuras anatómicas y composición química en la digestibilidad (Wilson y Brown 1991; Queiroz et al. 2000). La complejidad de los estudios de digestibilidad, en los que intervienen factores como la edad de la planta, la posición de los brotes, tipos de tejidos implicados y variables climáticas, han sido destacado por varios autores (Queiroz et al., 2000; Paciullo et al., 2001; Paciullo 2002).

El pastoreo diferencial de cultivares y algunas accesiones de *Paspalum atratum* podría estar relacionado con diferentes características anatómicas de las hojas ya que el análisis de la anatomía foliar realizado en otras especies de *Paspalum sP.* mostró notables diferencias. Oliveira (2004) estudio la anatomía de la hoja de *P. cerradoense*, *P. cromyrorhizon* y *P. ionanthum*, y observó al menos 30 diferencias anatómicas entre las tres especies. Aliscioni (2000) también encontró que las diferencias anatómicas estaban asociadas con estrategias adaptativas. Por su parte, Cortez de Lucena et al. (2017) evaluaron comparativamente las proporciones de los tejidos foliares en ocho especies de *Paspalum*, incluido *P. atratum* cv. Pojuca, donde encontraron importantes diferencias entre las especies y biotipos en relación a la proporción y composición de los tejidos. Sin embargo, este estudio se limitó a una sola accesión de *P. atratum* y una temporada de crecimiento.

La asociación entre anatomía y digestibilidad del forraje ha sido estudiada desde hace tiempo, en trabajos clásicos como el de Akin y Burdick (1975, 1981) y Akin (1989). Algunos otros estudios han confirmado la existencia de una asociación entre la anatomía y la calidad del forraje (Alves de Brito et al., 1999; Martuscello, 2004; Tivano et al., 1996). El tejido vascular lignificado es el más resistente a la degradación microbiana del rumen, esto pudo ser observado gracias a la microscopia electrónica de barrido, donde se vio como las bacterias ruminales digieren los tejidos (Alves de Brito et al., 1999). En el mismo estudio, los autores describen que la degradación tisular obedece al siguiente orden descendente: tejido parenquimático > floema > epidermis > vaina del parénquima > xilema y esclerénquima. Esta secuencia también se observó en otro estudio más reciente (Alves de Brito et al., 2004).

Los estudios anatómicos de las hojas de las gramíneas forrajeras han ayudado a comprender las diferencias cualitativas en los valores nutritivos de las plantas que pueden no ser fácilmente detectables mediante análisis químicos. Los análisis anatómicos de las forrajeras se realizan más rápidamente y a menor costo que los análisis bromatológicos, lo que permite evaluar un mayor número de muestras en menor

tiempo, generando información que puede utilizarse en fitomejoramiento (Santos et al. 2014).

Actualmente, la anatomía vegetal cuantitativa se ha convertido en una interesante herramienta complementaria para los estudios de evaluación de calidad de forrajes (Paciullo, 2002). Los indicadores generados por la técnica permiten tanto la comparación de especies o cultivares, como el seguimiento de los tejidos con la madurez de la planta. Con la tecnología existente de imágenes y programas utilizados para determinar áreas, han transformado el uso de la anatomía cuantitativa, convirtiéndose esta en una herramienta valiosa para estudiar la calidad de las pasturas. Permitiendo comparar especies, biotipos, en distintos momentos de corte o muestreo priorizando su calidad forrajera (Batistoti et al., 2006; Mauri et al., 2015; Mauri et al., 2019; Nunes Lista et al., 2020). Asimismo, Slanac et al. (2022) abordaron el análisis de la degradación de tejidos foliares en pasto horqueta, *Paspalum notatum*. En dicho trabajo se analizó la degradación de tejidos foliares en pasto horqueta, importante recurso de los campos naturales de la región centro y noreste de Argentina; observando que ocurre una degradación preferencial en relación con la estructura y composición anatómica.

Considerando estos antecedentes, en el presente trabajo de tesis se evaluaron cultivares de *Brachiaria brizantha*, *Chloris gayana* y cinco biotipos de *Paspalum atratum*, para analizar la relación entre el crecimiento o momentos de muestreo y las variables morfológicas de la planta y anatómicas de la lámina foliar que podrían estar vinculadas a la preferencia por el animal.

2 – HIPOTESIS

Diferencias de preferencia entre gramíneas de ciclo estival perennes, por parte de animales vacunos, se relacionan con los componentes morfológicos y anatómicos.

3 – OBJETIVO GENERAL

Evaluar la relación entre preferencia, morfología y anatomía foliar en biotipos y especies de gramíneas de ciclo estival.

4 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Cuantificar las diferencias en preferencia entre diferentes biotipos y especies de gramíneas de ciclo estival perennes.
- 2) Analizar la morfología y la anatomía foliar del germoplasma en estudio, teniendo en consideración las proporciones de los distintos tipos de tejidos.
- 3) Analizar la relación entre, preferencia, morfología y anatomía foliar.

CAPITULO II – MATERIALES Y METODOS

1. Material vegetal:

Se utilizaron cinco biotipos pertenecientes a *Paspalum atratum* Swallen y el cv. Cambá y dos cultivares de especies de gran difusión en la región NEA, *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf cv. Marandú y *Chloris gayana* Kunth cv. Callide. El material vegetal que se utilizó en la tesis se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Especie, identificación y origen de los biotipos y especies en estudio.

Especie	Identificación	Origen
<i>Paspalum atratum</i>	U39	Miranda, MS, Brasil
<i>P. atratum</i>	U42	Aquidauana, MS, Brasil
<i>P. atratum</i>	U44	Cáceres, MT, Brasil
<i>P. atratum</i>	N153	Guayaibí, Dpto. Caa Guazú, Paraguay
<i>P. atratum</i>	N164	Bella Vista, Arroyo Alegre and Ruta 3 Dpto. Amambay, Paraguay
<i>P. atratum</i>	Cambá FCA	Campo Grande, MS, Brasil liberado en Argentina en 1997.
<i>Brachiaria brizantha</i>	Marandú	Zimbabue, liberado en Brasil en 1984
<i>Chloris gayana</i>	Callide	Tanzania, liberado en Australia en 1963

El género *Paspalum* alcanza numerosas especies nativas de Sudamérica, algunas con valor forrajero (Zuloaga y Morrone, 2005). Alrededor de 330 especies perennes, raramente anuales.

Paspalum atratum (Poaceae, Panicoideae)

Plantas perennes, con rizomas de entrenudos cortos; cañas de 1-1,5 m de alto, erectas, simples o ramificadas en los nudos basales o medios; entrenudos de 8-15 cm de largo, 0,8-1 cm de diámetro, longitudinalmente surcados, rígidos, glabros, pajosos o con tintes purpúreos, huecos; nudos glabros o cortamente pilosos. Vainas de 7-25 cm de largo, usualmente más largas que los entrenudos, lateralmente, superpuestas a lo largo de las cañas, más densamente hacia la porción basal, glabras o cortamente pilosas, los márgenes membranáceos, glabros o ciliados hacia la porción distal; lígulas membranáceas castañas, glabras, pseudolígula ausente; cuello distinguible, con una línea triangular castaña a ambos lados del nervio medio; laminas linear-lanceoladas, 30-50 x 0,8-2 cm, planas, glabras en ambas caras a esparcidamente pilosas hacia la porción basal de la superficie adaxial, de base subredondeada y ápice acuminada, los márgenes usualmente con tintes violáceos, pestañosos hacia la base, luego glabros. Inflorescencias terminales, de 9-20 cm de largo, 6-13 cm de ancho; pedúnculos exertos a subincluidos, hasta de 30 cm de largo, comprimidos, glabros; racimos (8-) 10-22 divergentes, ascendentes, alternos a subopuestos; terminando en una espiguilla desarrollada; pedicelos en pares, desiguales, espiguillas en pares, imbricadas dispuestas en 4 series. Espiguillas anchamente elipsoides, castañas, glabras a cortamente pilosas (Zuloaga y Morrone, 2005). El fruto es un cariopsis marrón rojizo, brillante, minuciosamente estriado (Evers y Burson, 2004).

Paspalum atratum se establece fácilmente a partir de semillas y se puede pastorear dentro de los 75 días posteriores a la siembra (Kalmbacher et al., 1997). Cuando se adapta, permanece vegetativo durante toda la temporada de crecimiento y no inicia la floración (o la emergencia de las inflorescencias) hasta el otoño (Evers y Burson, 2004).

Su modo de reproducción es apomítico y por lo tanto está garantizada la estabilidad genotípica (Quarín et al., 1997). El peso de las 1000 semillas varía entre 4 gr y 2,2 gr (Pizarro, 2000; Evers y Burson, 2004; Marcón, 2018).

Para su cultivo requiere suelos ácidos, infértiles, húmedos estacionalmente que alguna vez fueron arrozales. Se adapta a suelos con niveles de drenaje desde bueno a imperfecto (Hare et al., 1999). Las especies del género *Paspalum* usualmente crecen en zonas de clima cálido, tropical o subtropical (Evers y Burson, 2004). Quarín et al. (1997) señala que *Paspalum atratum* tiene gran potencial para la producción de forraje, con buena palatabilidad y producción de semillas.

Brachiaria brizantha (Poaceae, Panicoideae)

[actualmente *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R.D. Webster] cv. Marandú (Poaceae, Panicoideae).

Plantas perennes de 1-2 m de alto, con rizomas cortos, glabras a esparcidamente pilosas; cañas erectas, raramente geniculadas, simples, a veces ramificadas, cilíndricas, huecas, multinodos, entrenudos de 9-20 cm de largo, estriados, glabros a pilosos hacia el ápice; nudos glabros, comprimidos, castaños; vainas de 7-15 cm de largo, generalmente más cortas que los entrenudos, estriadas, glabras a hispidas entre los nervios, de bordes membranáceos; lígula de base cortamente membranácea, luego largamente pestañosas, de 1-2 mm de largo, arqueadas, láminas linear-lanceoladas, de 9-40 cm x 0,8-0,15 cm, de base ambas caras, los márgenes cartilaginosa, escabrosos, involutos. Inflorescencias bilaterales, exertas, de 8-18 cm de largo, terminales; eje principal con 1-7 ramificaciones de primer orden racemosas, dístico alternas, ascendentes, divergentes del eje principal, arqueadas; raquis 1 mm, márgenes con pelos de base tuberculada, pestañosos, escabrosos, terminado en una espiguilla desarrollada; pedicelos ca. 0,6 mm de largo, angulosos, finamente escabrosos en los ángulos; espiguillas dispuestas unilateralmente en una serie, ocasionalmente en 2 series hacia la base de las ramificaciones, solitarias, imbricadas. Espiguillas ovoides a elipsoides, de 4,2-5,4 x 1,8-2,1 mm, de ápice obtuso, con un breve estípite 0,5 mm de largo, pajizas o con tintes purpúreos, glabras a pilosas hacia el ápice (Zuloaga et al, 2012).

Su modo de reproducción es apomítico, pudiéndose encontrar especies o tipos dentro de la especie, de reproducción sexual. Se establecen muy rápidamente de forma vegetativa o por semilla (Roche et al., 1990).

Para su cultivo requiere de suelos de fertilidad media, francos o arcillosos, con un rango amplio de pH y textura, que no se inunden por largos períodos. Requiere clima cálido, tropical o subtropical de precipitaciones entre 1000 y 3500 mm al año (Roche et al., 1990).

Chloris gayana cv. "Callide" (Poaceae, Chloridoideae).

Plantas perennes de 80-120(-300) cm de alto, estolonífera; cañas robustas, ramificadas, plurinodos, nudos oscuros, glabros; vainas glabras o escabrosas, a menudo ciliadas apicalmente; lígulas de 0,3-0,5 mm de largo, formadas por un arco de

pelos; laminas hasta de 20-45 cm x 0,3-1,5 cm, conduplicadas, escabrosas. Inflorescencias formadas por 6-30 racimos, de 5,5-15 cm de largo, erguidos o poco flexuosas, pajizo-violáceos, verticilados apicalmente sobre las cañas, raquis escabroso. Espiguillas 2-6 floras, imbricadas; glumas 2, persistentes sobre raquis, lanceoladas, glabras o escabrosas en el dorso, nervio medio escabroso, aguda o aristulada en el ápice (Zuloaga et al., 2012).

Su modo de reproducción es sexual con polinización cruzada, puede florecer todo el año. Se establece rápidamente por semilla y vegetativamente (enraizamiento de sus estolones), ocupando nuevos espacios. El fruto es un cariopsis de 1-8 mm de longitud, elipsoidal (Toll Vera, 2016).

Se adapta a diferentes tipos de suelos, excepto en los muy ácidos y en los de mal drenaje, es uno de los cultivares que presenta alta plasticidad. Tolerancia un rango de pH de 6 a 8,5 es resistente a la salinidad. Se adecua a regiones tropicales y subtropicales, con precipitación de 800 a 1500 mm, tolerando altas y bajas temperaturas, aunque su óptimo está alrededor de 35°C. Soporta periodos prolongados de sequía, inundación y niveles freáticos superficiales. Crece en altitudes entre 600 y 2000 msnm (Oprandi et al., 2009; Toll Vera, 2016).

2. Diseño Experimental y análisis estadístico:

El diseño experimental que se utilizó fue un Diseño Completo al Azar, dado que el lugar y las unidades experimentales fueron uniformes. La superficie del ensayo fue pequeña, no presentó diferencias de calidad de suelo ni de relieve. Para cada material en estudio se utilizaron 4 repeticiones.

El análisis de las variables producción y consumo, se realizó empleando el Análisis de Varianza (ANOVA); las variables con diferencia significativa fueron sometidas a la comparación de medias empleando el test LSD Fisher a un nivel de significación del 0,05.

El modelo utilizado fue:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_k + \gamma_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} observación (consumo/producción); con $j=1\dots n$.

μ media general de las observaciones;

α_i efecto biotipo; con $i=1\dots 8$.

β_k efecto muestreo/corte; con $k=1\dots 4$.

γ_{ik} efecto interacción; con $i=1\dots 8$; $k=1\dots 4$.

ε_{ijk} error observación; con $j=1\dots n$.

Para conocer la magnitud de la asociación entre la preferencia del vacuno y los rasgos anatómicos y morfológicos de las hojas, y el rendimiento, se procedió a realizar un análisis de correlación de Pearson. Este coeficiente mide la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales. Asume valores en el intervalo [-1;1] y el signo indica la dirección de la asociación.

Se utilizó el programa estadístico InfoStat versión estudiantil 2018. (Di Rienzo et al., 2018).

3. Ubicación del Ensayo:

El ensayo se ubicó en la Estación Experimental Agropecuaria INTA – Colonia Benítez, en un sector del jardín de introducción de pasturas, Lat. 27°19'25" S y Long. 58°57'20" O.

4. Suelo:

El suelo sobre el que se cultivó, está clasificado como Argiudol Óxico y corresponde a la Serie Tragadero (Ledezma y Zurita, 1995).

INTA-EEA SAENZ PEÑA- AREA DE INVESTIGACIÓN DE ECOLOGIA Y MANEJO RESULTADOS ANALITICOS DE LOS LABORATORIOS DE FISICA Y QUIMICA - SUELOS

Cuadro 3. Datos de un perfil representativo de la Serie Tragadero

Perfil N° RR 18	A1	A2	Bt	C		
N° Laboratorio	811	812	813	814		
Profundidad (cm)	0-17	17-28	28-44	44-120		
Factor de humedad	1.03	1.02	1.03	1.03		
Mat. C (%)	2.18	1.11	0.64	0.08		
Org. N (%)	0.288	0.139	0.075			
C/N	8	8	8			
T Arcilla (<2 micrón)	20.5	22.0	26.3	28.5		
E Limo (2-20 micrón)	24.3	23.2	21.6	24.3		
X Limo (2-50 micrón)	63.0	58.0	52.7	59.4		
N Arena m. fina 1(50-74 micrón)	10.4	13.2	14.0	7.8		
T Arena m. fina 2(74-100 micrón)	4.4	5.0	5.1	2.6		
U % Arena fina (100-250 micrón)	1.4	1.6	1.7	0.7		
R Arena media (250-500 micrón)	0.3	0.2	0.2	1.0		
A Arena gruesa (500-1000 micrón)						
Arena m gruesa (1000-2000 micrón)	16.5	20.0	21.0	12.1		
Gravilla (>2 mm)						
P (ppm)	28.8	58	20.2	37.5		
CaCO ₃ (%) V				1.3		
Equivalente de humedad (%)	23.2	19.7	20.9	37.5		
Resistencia de la pasta (Ohms/cm)						
PH en pasta	5.3	5.6	5.9	7.6		
PH en H ₂ O (1: 2.5)	5.5	5.8	5.9	7.6		
PH en 1N KCl (1:2.5)	5.1	5.1	5.0	6.4		
Conductividad (mmhos/cm)	2.38	8.95	0.54	0.69		
Cat. de Cambio. (m.e./100 g)						
Ca ⁺⁺	12.5	10.1	12.5	29.9		
Mg ⁺⁺	3.2	2.5	3.2	4.1		
Na ⁺	0.4	0.4	0.5	0.4		
K ⁺	0.8	0.7	0.6	0.6		
% Na ⁺ en cambio de v.T	2	3	3	2		
% Agua de saturación	52	45	44	46		
Valor S (m.e./100 g) NH ₄ ⁺ o Na ⁺	16.9	13.7	16.8	35.0		
H cambio (m.e./100g)	3.6	2.72.6				
Valor T (m.e./100g) NH ₄ ⁺ o Na ⁺	19.2	15.2	17.9	18.7		
% de saturación de T	88	98	94	100		
% de saturación de S+H	82	84	87			

OBSERVACIONES: Alto contenido en fosforo.

Figura 1: Valores del análisis de suelo de la Serie Tragadero.

5. Clima:

La zona del ensayo, se caracteriza por presentar clima subhúmedo–húmedo, templado (Subtropical), con inviernos moderados y relativamente secos (Ledesma y Zurita, 1995). La precipitación media anual es de 1.233,2 mm (años 1925 a 2010), exhibiendo una temperatura media de 21,5 °C, con un periodo medio libre de heladas de 331 días (Jover, 2010). Según la Clasificación Climática de Köppen el sector oriental de la provincia es clasificado climáticamente como (Cf) Climas Templados Húmedos (De Fina y Ravelo, 1985; Strahler y Strahler, 1997), y según Bruniard (2000), se lo caracteriza como un clima de Bosque abierto y Parque semidecidual subtropical. En la Figura 2, se presenta el gráfico correspondiente a la variación de la temperatura media y la precipitación mensual durante el periodo del ensayo.

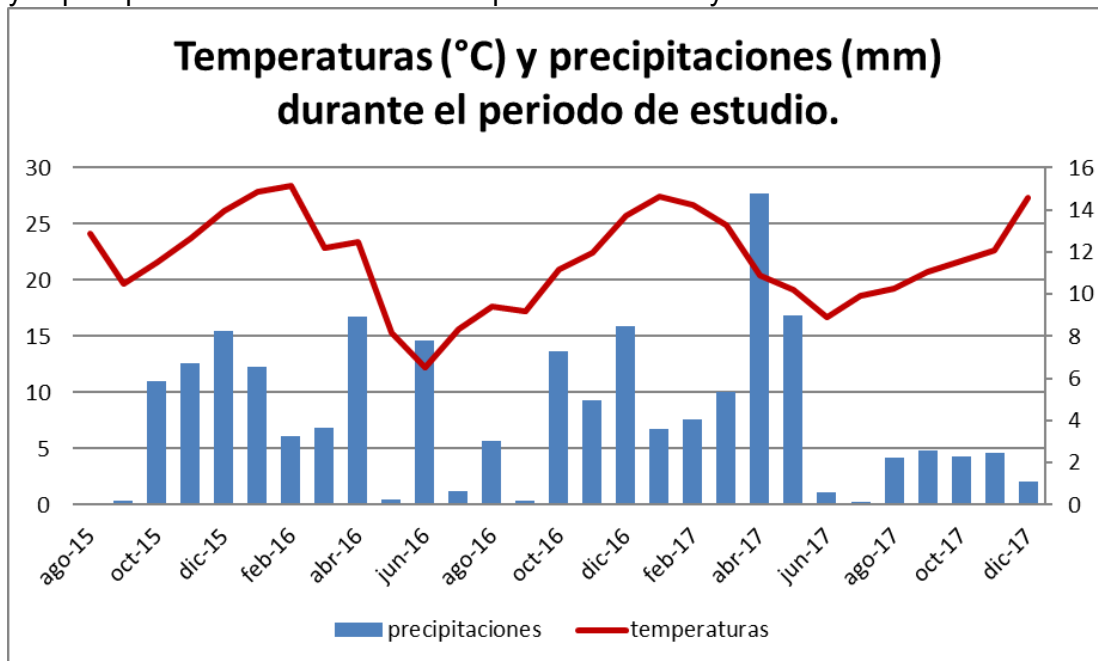


Figura 2: Temperatura (°C) y precipitaciones (mm) durante el periodo de estudio.

6. Siembra y establecimiento de las pasturas:

Los trabajos de siembra se realizaron en el invernáculo de la cátedra de Genética Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE; las semillas de cada biotipo fueron proporcionadas por el grupo de Genética y mejoramiento de forrajeras del Instituto de Botánica del Nordeste. La siembra se realizó en bandejas de 50 cm x 40 cm x 5 cm, utilizando sustrato esterilizado como medio de soporte, se efectuó en líneas, el día 28 de agosto de 2015. Luego de la emergencia de las plantas se realizaron trasplantes a bandejas speedling el día 19 de septiembre del 2015, cuando las plantas presentaban tres hojas verdaderas (Anexo Fig. A. 1). En dicho trasplante se efectuaron cortes de raíces y hojas para que no sufrieran stress hídrico. Posteriormente fueron colocadas en bandejas que contenían agua para mantener la humedad.

Pasado un tiempo, se procedió a realizar cuatro cortes del área foliar en diferentes momentos, con la finalidad de rustificar las plantas y de esta manera evitar posibles muertes. Los cortes de rustificación se realizaron los días: 21-29 de octubre, y 5-20 de noviembre de 2015. Cuando las plantas adquirieron porte y macollaron se realizó el trasplante definitivo a campo.

Previo al establecimiento de las parcelas de las gramíneas, se ejecutaron trabajos de preparación, acondicionamiento y diagramación. El lote se preparó mediante labranza convencional (Anexo Fig. A. 2). La preparación del suelo comenzó el 21 de octubre del 2015, con la remoción de tierra utilizando una rastra pesada de tiro excéntrico y doble acción, luego a los 7 días se repitieron 4 pasadas de rastra liviana. El 5 de noviembre se diagramaron las parcelas y pintaron los respectivos carteles. Posteriormente se aplicó herbicida total sistémico (glifosato), tres días antes del trasplante el día 23 de noviembre.

El 25 de noviembre se encuadró el lote, marcaron las parcelas y se efectuó el trasplante. Con una soga, que previamente fue marcada con pintura, se estableció la distancia a la cual estarían ubicadas las plantas a trasplantar.

Se utilizó una hoyadora manual, para realizar los orificios donde irían los plantines de las gramíneas. Las plantas fueron trasplantadas en cada parcela con una distancia de 30 cm entre las mismas y un total por parcela de 36 plantas, en la primavera 2015 (Anexo Fig. A. 3). Se establecieron parcelas cuadradas de 4 m² (2m x 2m) y distanciadas cada parcela por una calle de 1 m.

Se practicaron riegos frecuentes hasta el establecimiento de las gramíneas. Para emparejar las parcelas se efectuó un corte con moto guadaña el día 21 de enero del 2016 (Anexo Fig. A. 4). Además, se aplicó con mochila pulverizadora insecticida (cipermetrina), por la presencia de orugas.

7. Toma de datos de Producción, Consumo, Morfología y Anatomía foliar:

El método de muestreo para la toma de datos de producción y biomasa consumida (preferencia) que se utilizó, fue de tipo manual y destructivo, al azar, en todas las gramíneas y sus repeticiones. Este procedimiento se realizó con un marco metálico de 0,25 m² y una hoz. El material cosechado se cortó a 20 cm de altura del suelo, se pesó para obtener el peso fresco total, luego se tomó una submuestra que se pesó nuevamente en fresco, y se registró. El material de la submuestra fue colocado en una bolsa de papel Kraft debidamente identificada, nombre de la gramínea, y fecha del muestreo, posteriormente fue secado en estufa de aire forzado a 55 °C hasta peso constante, para obtener los valores de materia seca producida. De la misma manera, y luego del ingreso de los animales para su pastoreo, se tomó una muestra, con el fin de obtener por diferencia lo consumido, reflejando la variabilidad de la biomasa consumida (preferencia) por las distintas gramíneas.

Luego de cada muestreo estacional de disponibilidad de forraje, ingresaron al experimento seis (6) animales de la raza Braford (vaquillas) de 350 kg de peso promedio, en una superficie de 128 m², durante un tiempo de dos (2) a tres (3) horas, ya que la disponibilidad de materia seca (MS) del lote donde estaban las gramíneas en estudio puede suministrar la cantidad de forraje necesario evitando problemas de competencia (Anexo Fig. A 5.). Los animales que ingresaron en cada evento fueron siempre del mismo biotipo animal, tuvieron una historia previa similar antes del ingreso al lote del experimento, entendiéndose con esto que los animales estuvieron en un mismo lote con agua y encerrados en el mismo horario antes de ser llevados al lote de estudio. Esta evaluación se realizó al final de primavera, verano y otoño del primer período de crecimiento y en primavera del segundo período de crecimiento.

Durante el transcurso del experimento se midieron variables morfológicas (altura de planta, largo de hoja y ancho de la lámina foliar), productivas (g.m-2), biomasa consumida (preferencia) de las gramíneas por parte de los animales, y variables anatómicas de la lámina foliar, las que se describen más adelante.

Los momentos en que se realizaron los muestreos/cortes fueron: 1^{er} muestreo primavera 2016, 2^{do} muestreo verano 2016/2017, 3^{er} muestreo otoño 2017 y 4^{to} muestreo primavera 2017. Estas gramíneas tienen crecimiento primavera-estivo otoñal, por lo cual, los trabajos de muestreos y toma de datos, se realizaron en el último mes de cada estación de crecimiento (Anexo Fig. A. 6). Luego de los trabajos se realizaron cortes de emparejamiento a todas las parcelas.

Dentro de las variables morfológicas se evaluó: altura de planta (cm) en cuatro puntos de la parcela a cuatro plantas, desde el suelo hasta la parte superior del canopeo, largo de hoja (cm) de la segunda hoja totalmente expandida desde la lígula hasta el ápice de la lámina foliar, y ancho de lámina (mm), considerando la porción media del largo de la lámina foliar de la segunda hoja totalmente expandida. En estas dos últimas variables se midió en cuatro macollos por parcela

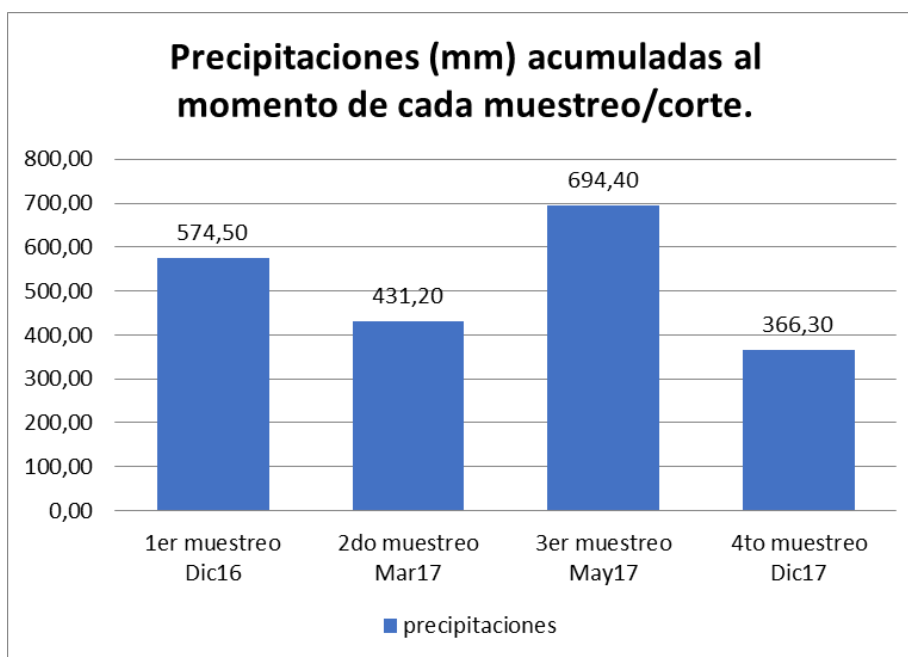


Figura 3: Precipitaciones (mm) acumuladas al momento de cada muestreo/corte

Se evaluaron las siguientes variables anatómicas de la lámina foliar: áreas y proporciones de los tejidos epidérmico, parenquimático, lignificado y vaina parenquimática, de las regiones: margen, vena media y hemilámina; número de haces vasculares primarios (HV1) en la vena media y hemilámina, y distancia entre los HV1 en la hemilámina. Para la evaluación de las variables anatómicas se utilizaron láminas foliares extraídas de muestras obtenidas antes de cada pastoreo (cuatro momentos de muestreo). Se recolectaron dos láminas foliares (la segunda hoja más joven con lígula expuesta totalmente expandida) de macollos vegetativos de las plantas centrales de la parcela, tres repeticiones de cada biotipo o cultivar. Se analizaron los cuatro momentos de muestreo.

Las muestras foliares se dispusieron en frascos donde se agregó inmediatamente líquido fijador compuesto por Formol, Ácido Acético y Alcohol (FAA) durante 72 hs (Anexo Fig. A. 7). En esta tarea se tuvo la precaución que la lámina quede cubierta por el líquido fijador y los frascos fueron rotulados con los siguientes datos: fecha, biotipo, número de repetición. Posteriormente se conservaron en etanol al 70% hasta su procesamiento.

En laboratorio, se realizaron cortes transversales de la porción media de la lámina foliar por medio de hojas de acero (Anexo Fig. A. 8). Para la observación microscópica se obtuvieron secciones muy delgadas con la ayuda de una lupa estereocópica Leica MZ6 con cámara digital. Las secciones se aclararon en hipoclorito de sodio al 50%, se lavaron con agua destilada y posteriormente fueron coloreados mediante la tinción safranina-astra blue (Luque et al., 1996), donde las paredes celulares primarias se tiñen de azul y de rojo las paredes celulares secundarias (Zarlavsky, 2014) (Anexo Fig. A. 9).

Las determinaciones histoquímicas como taninos y elementos lignificados se realizaron en cortes histológicos transversales sin decolorar. La presencia de taninos se determinó utilizando 10% de sulfato férrico más 2% de carbonato de sodio (Zarlavsky, 2014), donde las células que contienen taninos adquirieron un color azul oscuro o negro. La presencia de lignina en la pared celular, se probó usando la reacción de floroglucinol y ácido clorhídrico (Zarlavsky, 2014) donde la misma se tiñe de rojo brillante, y con otra técnica se utilizando solución de azul de toluidina, cuya reacción proporciona una tinción azul verde, azul verdoso (Ruzin, 1999). Las imágenes de la sección transversal de la hoja fueron obtenidas utilizando un microscopio compuesto Leica DM LB2 (Leica, Wetzlar, Alemania) equipado con cámara digital.

Los estudios anatómicos se complementaron con el análisis de secciones transversales utilizando Microscopio electrónico de Barrido (MEB). Los transcortes fueron deshidratados en series crecientes de acetona, para ser luego secados a punto crítico, utilizando CO₂; posteriormente las muestras fueron metalizadas con oro-paladio. Las observaciones se realizaron con el equipo Jeol LV 5800 perteneciente al Servicio de Microscopía Electrónica de la UNNE. Se obtuvieron imágenes del corte transversal en las regiones de la vena media, hemilámina y margen foliar de todos los biotipos.

A través de las imágenes obtenidas se inició el registro de las áreas ocupadas por los distintos tejidos: epidermis, células buliformes (epidermis adaxial), clorénquima, parénquima incoloro, esclerénquima (extensiones de la vaina y vaina de fibras perifloemática), xilema, floema, vaina parenquimática del haz vascular, mediante el programa ImageJ (Schneider et al., 2012) (Fig. 4).

Las proporciones de tejido se calcularon como $\%Tm = (Tm / AHm) * 100$, donde: %Tm = porcentaje de tejido medido, Tm = área del tejido medido y AHm = área del transcorte medido en la imagen (Mauri et al., 2019). En la Figura 4, se observan imágenes de la medición de áreas de tejidos foliares en las tres regiones analizadas del corte transversal de lámina foliar. También se registró el número de HV1 en la hemilámina y en la zona de la vena media y la distancia entre HV1 en la hemilámina. Para los análisis estadísticos comparativos entre biotipos o cultivar se consideraron sumatorias de proporciones de tejidos de acuerdo a las características de las células que los conforman, considerando tejido epidérmico (cels. epidérmicas + cels. buliformes), tejido parenquimático (clorénquima + parénquima incoloro), tejido lignificado (esclerénquima: cordones de fibras y vaina perifloemática + vasos y fibras del xilema), floema y vaina parenquimática del haz vascular. Se elaboró la descripción

anatómica de los materiales analizados de acuerdo a la terminología establecida por Ellis (1976; 1979).

Para todas las variables se obtuvieron las medidas promedio y el coeficiente de variación (CV) y diferencia mínima significativa (DMS por la prueba LSD).

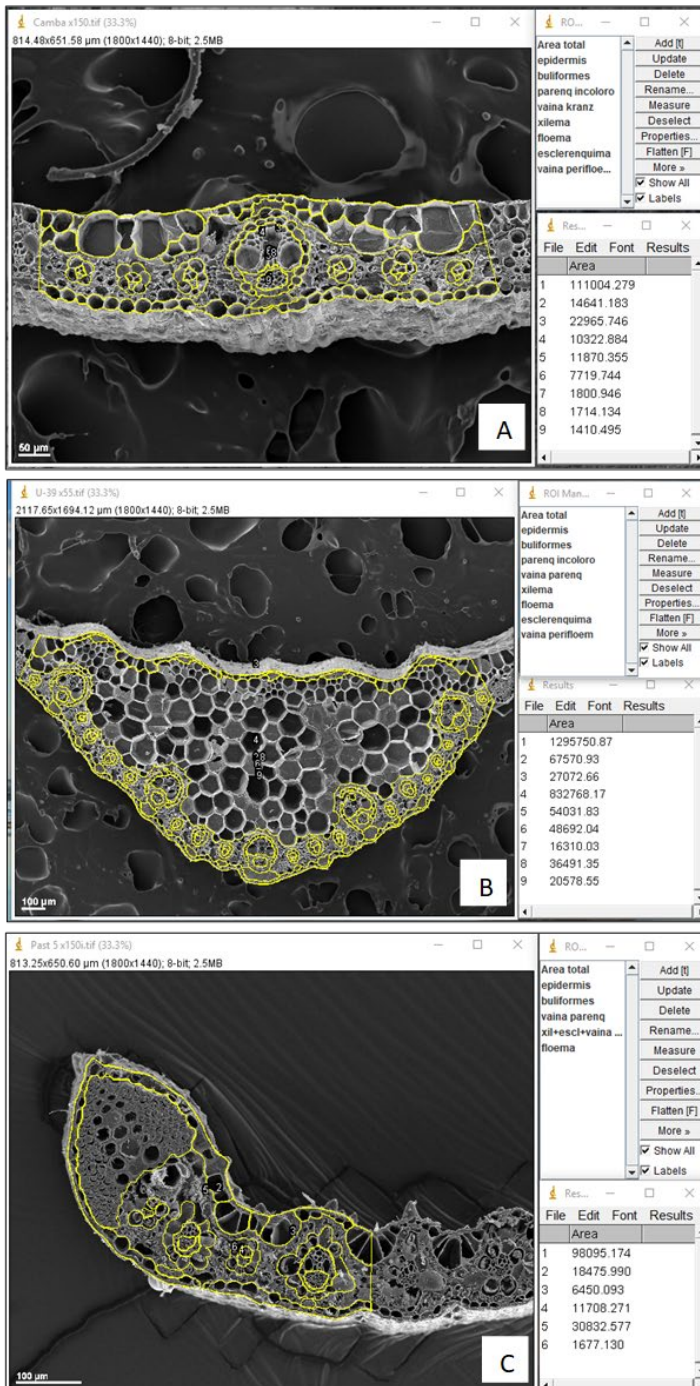


Figura 4. Imágenes de MEB, donde se realizaron las mediciones de áreas de tejidos foliares mediante el programa Image J. A. Porción de la hemilamina (*P. atratum* cv. Camba). B. Zona de la vena media (quilla) (*P. atratum* U39). C. Zona del margen foliar (*Brachiaria brizantha* cv. Marandú).

CAPITULO III - RESULTADOS

1. Producción de forraje:

Como primer resultado y sin distinguir entre biotipos, el verano (marzo 2017) fue la época con mayor producción de forraje, 980,31 g m², seguido de la primavera (diciembre 2016 y diciembre 2017) y el otoño (mayo 2017) con una producción de forraje medio de 296,56 g m² (Fig. 5).

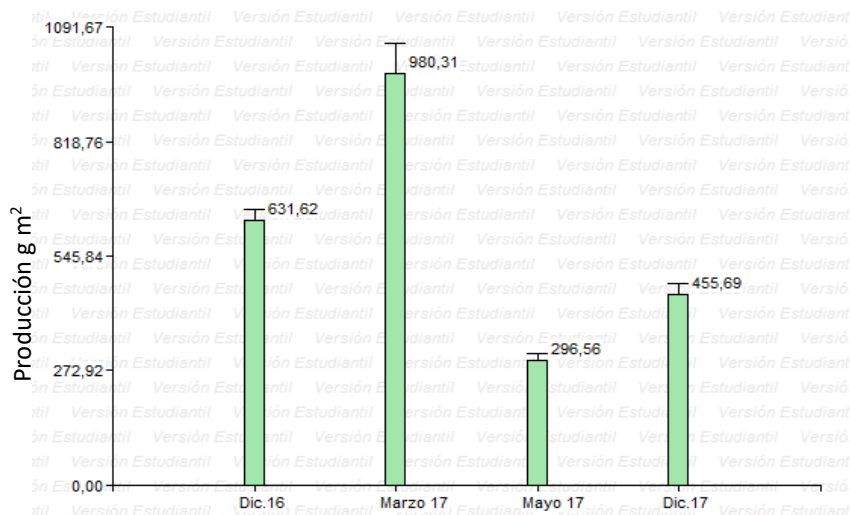


Figura 5. Producción de forraje por épocas de crecimiento.

Luego empleando el modelo de análisis para la variable producción de forraje, se observó una interacción significativa entre biotipos y épocas ($p=0,0013$). A su vez, se detectaron diferencias significativas entre épocas de crecimiento ($p<0,0001$).

En promedio, las producciones de forraje más bajas se dieron durante las épocas de crecimiento de mayo 2017 y diciembre 2017, variando entre 220 g m² y 575 g m². El biotipo Cambá registro el valor más bajo en promedio de producción, 223,64 g m², durante mayo 2017. Por el contrario, la mayor producción de forraje se dio durante marzo 2017, y el biotipo N153 registró el valor máximo de producción de forraje entre todos los biotipos, 1910 g m². En esta época, se destacaron los biotipos N164, N153 y Cambá; con valores de producción promedio de 1286 g m², 1264 g m² y 1244 g m² respectivamente. Si bien no se registraron diferencias significativas entre estos biotipos, si lo hicieron respecto a Callide (ch. g) y Marandú (B.b).

Las diferencias significativas entre los biotipos para la variable producción de forraje, se describe gráficamente y se presentan los resultados en conjunto, biotipos y épocas de crecimiento (Fig. 6); e individualmente por épocas de muestreo (Fig. 7), mediante gráficos de barras (variable: producción g m²).

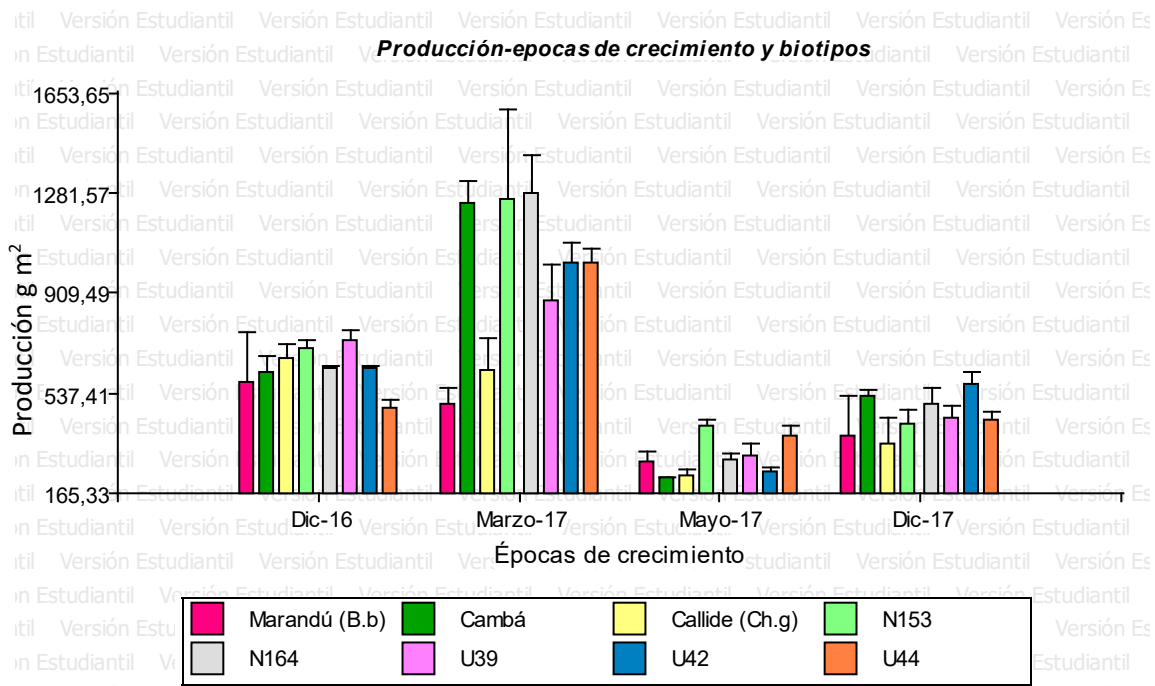


Figura 6. Resultados variable producción (g m²) de biotipos en las diferentes épocas de corte.

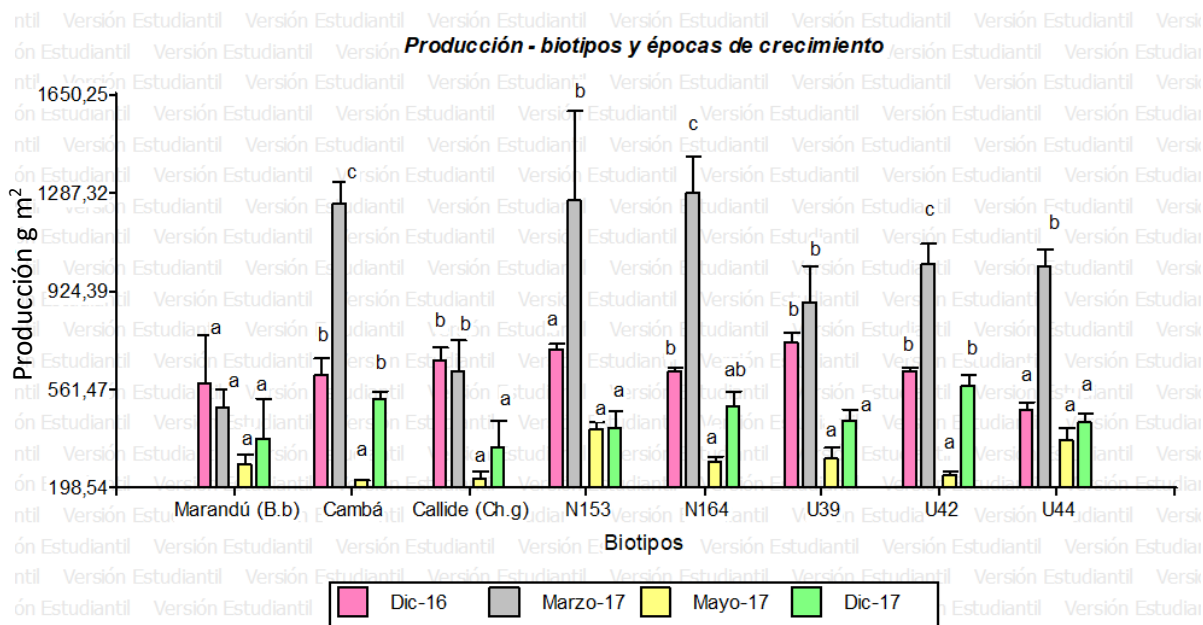


Figura 7. Resultados variable producción (g m²) de biotipos en las diferentes épocas de corte. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) dentro de biotipos.

2. Preferencia del vacuno (biomasa consumida):

Durante la primavera 2016, los porcentajes de consumo registraron un mínimo de 7% y un máximo de 40%. En la primavera siguiente (diciembre 2017) los consumos registraron un mínimo de 1% y un máximo de 59%. En el muestreo de verano (marzo 2017) se registró un mínimo de 2% y un máximo de 54%. Los mayores porcentajes de consumo se dieron en otoño (mayo 2017), con un mínimo de 41% y un máximo de 85%. Los biotipos Callide (Ch.g), Marandú (B.b) y *P. atratum* (U44), resultaron ser las más consumidas en tres de los cuatro muestreos; primavera 2016, Callide 40%, Marandú 38% y U44, 19%; en verano 2017, U44 54%, Callide 40% y Marandú 31%; en primavera 2017, Marandú 59%, U44, 49% y Callide 42%. Los biotipos menos consumidos fueron: en primavera 2016, N153 9% y U42 7%; por su parte, Cambá y N164 no registraron consumos durante este muestreo; en verano 2017, U39 8%, Cambá 4%, U42 2% y N164 no registró consumo. En primavera 2017, U39 9%, y U42 1%; Cambá y N153 no registraron consumos. Durante el muestreo de otoño, los biotipos más consumidos fueron U39, 85%, Callide 78% y Cambá 72% (Fig. 8).

En general, y considerando los 4 diferentes momentos de evaluación, se observó que el cultivar Cambá y el biotipo N164 fueron los menos consumidos en promedio. Asimismo, se observó que los mayores consumos se dieron entre los biotipos Marandú, Callide, U44 y U39 (Fig. 8).

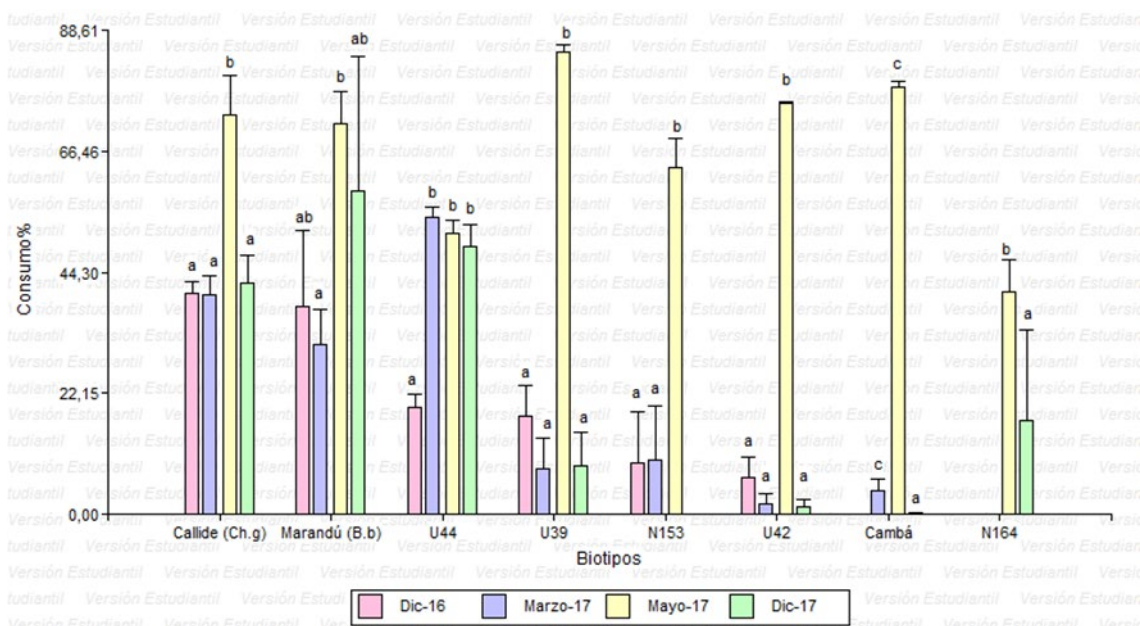


Figura 8. Resultados variable consumo (%), entre biotipos y épocas de corte. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de biotipos.

Las diferencias significativas entre los biotipos para la variable preferencia del vacuno, se describen y se muestran a continuación. Se presentan los resultados por épocas de muestreo, mediante gráficos de barras. Se observó, una interacción significativa entre biotipos y épocas para la preferencia del vacuno ($p < 0,0001$).

Para el momento de muestreo diciembre 2016, los biotipos más consumidos fueron Callide y Marandú, aunque la diferencia no fue significativa (Fig. 9).

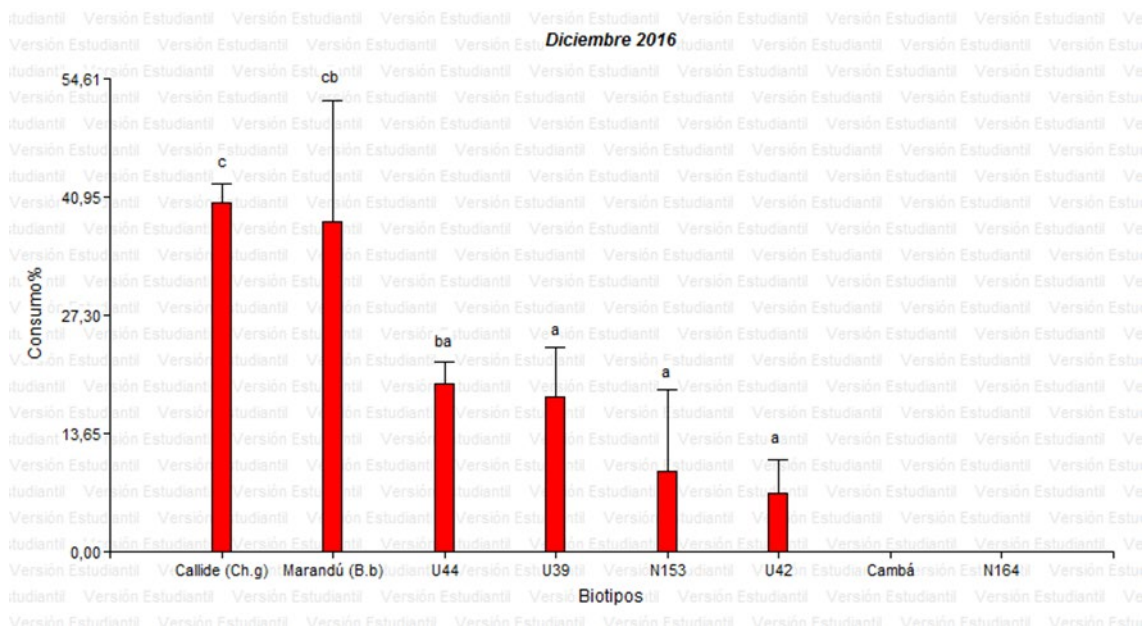


Figura 9. Resultados variable consumo (%) en diciembre 2016. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), p -val: 0,0017.

Para el momento de corte marzo 2017, los biotipos U44, Callide y Marandú, se destacaron del resto con porcentajes por encima del 31%. Del análisis resultó, que entre U44 y Callide, y entre Callide y Marandú no hubo diferencias significativas (Fig. 10).

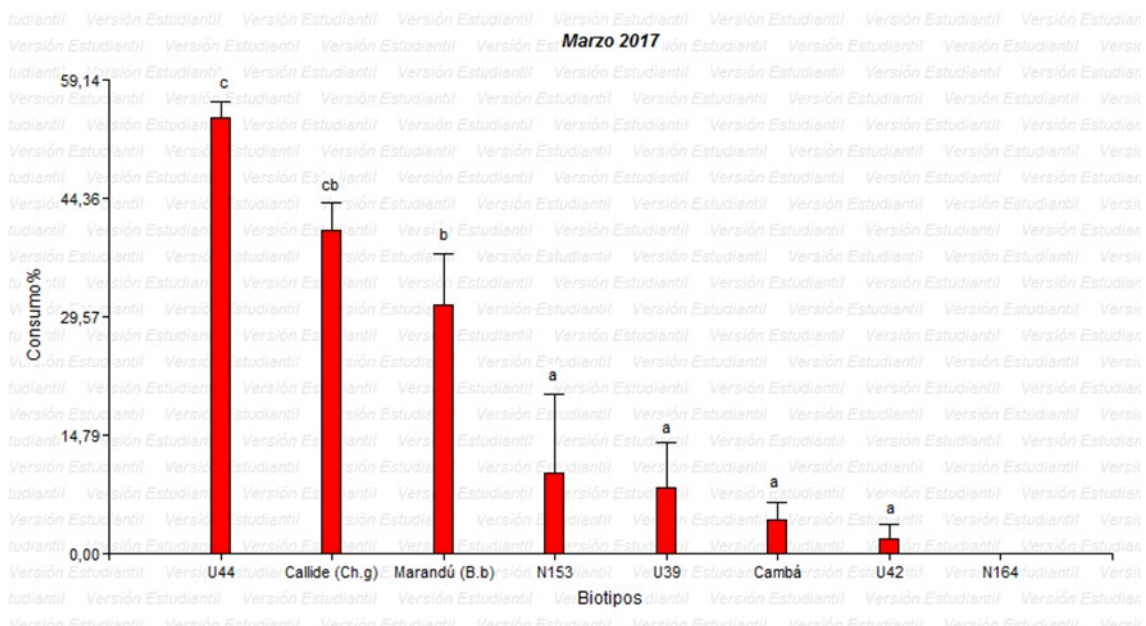


Figura 10. Resultados variable consumo (%) en marzo 2017. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) p -val: 0,0001.

Los mayores porcentajes de consumo se dieron para el momento de corte mayo 2017, los biotipos U39, Cambá, U42, Callide y Marandú no presentaron diferencias significativas para la variable consumo (Fig. 11).

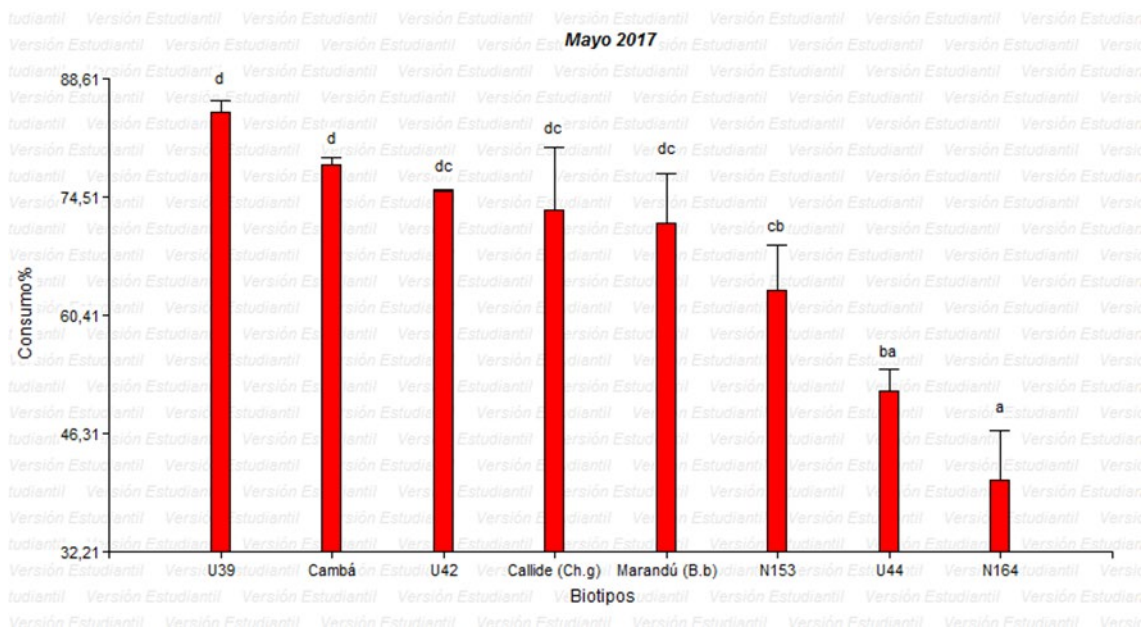


Figura 11. Resultados variable consumo (%) en mayo 2017. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) p -val: 0,0001.

Para el momento de corte diciembre 2017, los biotipos destacados con consumos por encima del 42% fueron, Marandú, U44 y Callide; y en el análisis conjunto entre estos, no mostraron diferencias significativas (Fig. 12).

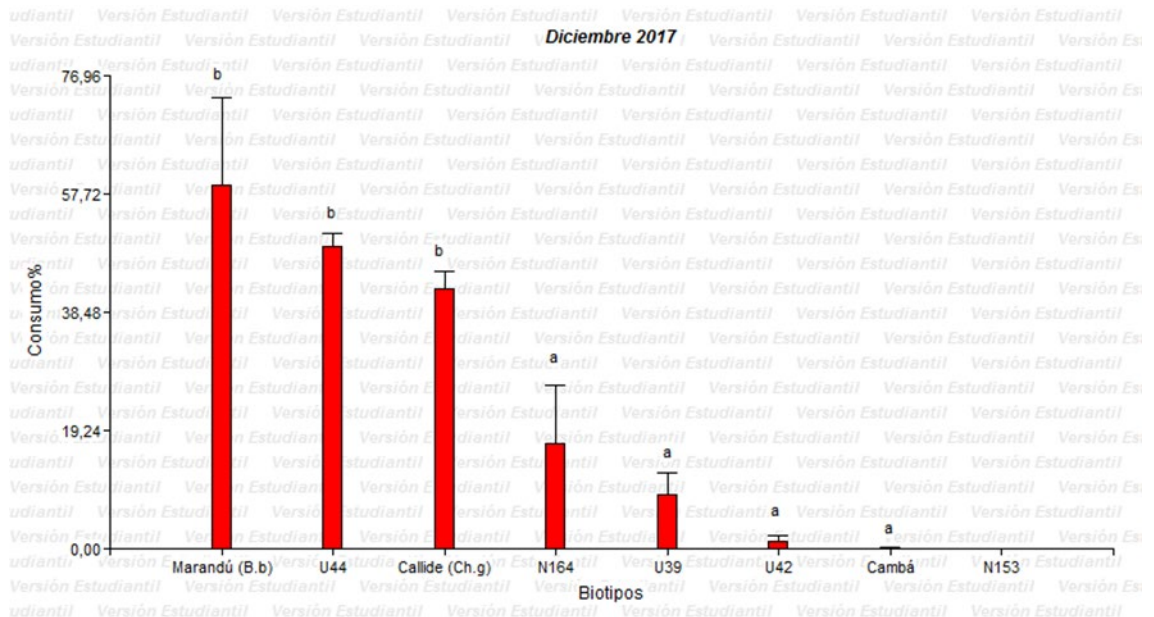


Figura 12. Resultados variable consumo (%) en diciembre 2017. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) p -val: 0,0001.

3. Morfología:

Se detectaron interacciones significativas entre biotipos y épocas para la altura de planta y la longitud de hoja ($p < 0,001$). Durante el verano la altura media de las plantas de todos los biotipos fue mayor que en las otras estaciones. *Paspalum* U44, Marandú y Callide, en general presentaron los valores más bajos en altura de planta en las tres estaciones de crecimiento evaluadas. Marandú presentó la menor altura de planta en tres de los cuatro períodos evaluados (Tabla 2) y *Paspalum atratum* biotipo U44 presentó el menor valor de altura de todos los biotipos (mayo 2017). Las hojas más largas se observaron durante la primavera y el verano. Los biotipos U42 y U39 presentaron las hojas más largas, mientras que Marandú las más cortas, seguida de U44. Marandú y Callide, que mantuvieron un largo de hoja relativamente uniforme en las tres estaciones (Tabla 2). En cuanto al ancho de la lámina foliar, se observó una interacción no significativa entre los biotipos y la época; sin embargo, se detectaron diferencias significativas entre biotipos por épocas. Los biotipos U42, U39 y Marandú tuvieron las hojas más anchas mientras que Callide, presentó las más angostas (Tabla 2).

En general para la variable altura de planta, el biotipo U44 de *Paspalum atratum* y Marandú presentaron los menores valores.

Para la variable largo de hoja, ocurrió algo similar a lo registrado para altura de planta, el biotipo U44 y Marandú, mostraron los valores más bajos.

Con respecto a la variable ancho de hoja, en todos los muestreos Callide presentó los menores valores. Entre los biotipos de *P. atratum*, el cv. Camba frecuentemente exhibió el mayor ancho.

Tabla 2. Características morfológicas de cinco accesiones de *Paspalum atratum* (U39, U42, U44, N153, N164) y cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide (Ch.g) y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú (B.b) medidas durante cuatro períodos de crecimiento.

Biot.	Altura de planta (cm)				Largo de la hoja (cm)				Ancho de la hoja (mm)			
	Dic 2016	Mar 2017	May 2017	Dic 2017	Dic 2016	Mar 2017	May 2017	Dic 2017	Dic 2016	Mar 2017	May 2017	Dic 2017
U39	105,50de	116,92bc	62,33bc	86,33d	72,17de	59,74bcd	44,00	67,00cd	15,25c	14,67abc	17,00d	17,67e
U42	107,17e	136,67cde	68,67c	85,67d	73,48e	77,33d	47,67	63,67c	15,50c	21,67c	14,67cd	16,67e
U44	75,83ab	118,33bcd	37,00a	48,33a	50,79b	67,67bcd	36,33	26,33a	14,33c	17,00bc	12,67bc	10,00b
N153	94,50cd	125,00bcde	69,33c	83,33cd	69,33cde	63,67bcd	32,33	73,33d	10,58b	15,00abc	11,33b	11,33bc
N164	98,17de	140,00e	62,00bc	80,00cd	62,75cd	49,67b	36,67	60,33c	8,92b	11,33ab	10,00b	10,67b
Cambá	94,67cd	137,67de	64,00bc	74,00bc	60,31bc	69,67cd	48,33	48,67b	14,42c	19,67bc	14,67cd	13,67cd
B.b.	68,66a	85,58a	59,91b	47,41a	32,90a	35,66a	37,25	30,00a	15,50c	17,66bc	13,16bc	15,33de
Ch. g.	84,83bc	112,91b	66,25bc	68,16b	40,10a	54,33abc	44,66	41,67b	4,91a	7,08a	6,33a	5,83a
CV	7,50	9,60	7,85	7,71	10,00	18,75	20,65	8,46	12,00	31,28	15,39	12,80
P-val	<0,000	0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,009	0,237	<0,000	<0,000	0,044	0,000	<0,000

Abreviaturas: Biotipo (Biot.), Diciembre (Dic.), Marzo (Mar.), Mayo (May.), coeficiente de variación (CV), y diferencias mínimas significativas (DMS) letras diferentes” dentro de cada columna indican diferencias significativas para cada variable y cada período, por la prueba LSD

4. Anatomía Foliar:

A partir del análisis de los transcortes de la lámina foliar (Figs. 13-15) se presentan las descripciones histofoliarias de cada una de las especies analizadas y los apéndices epidérmicos; así como también el análisis comparativo de las proporciones de los tejidos vegetales, calculados en cada época de muestreo.

Paspalum atratum

Caracteres histofoliarios en corte transversal:

Contorno: Lámina foliar en forma de "V", formando las hemiláminas un ángulo de más de 90°. **Vena media (quilla):** desarrollada en la región de la nervadura central, con haces vasculares de primer orden ubicados abaxialmente y otros más pequeños con cordones o trabas de esclerénquima (Fig. 13 A, B y Fig. 15 B, C). El número de haces vasculares de primer orden es variable entre 2 y 10. **Superficie de la lámina:** con surcos adaxiales de poca profundidad en relación al grosor de la hoja, costillas obtusas, abiertas sobre haces vasculares de 1° y 2° orden, y superficie abaxial lisa o con pocas ondulaciones no asociada a los haces vasculares (Fig. 13 C). **Haces vasculares:** de primer orden rodeados por una vaina de parénquima única incompleta debido a la amplia interrupción abaxial de cordones de esclerénquima bien desarrollados (forma trapezoidal), y hacia la superficie adaxial en contacto con una extensión notoria de la vaina del haz compuesta por 2-4 células incoloras y cordones biseriados de esclerénquima (Fig. 13 C, D y Fig. 15 D). **La vaina del haz:** (externa) compuesta por células lignificadas con gradación de tamaño, las células de mayor tamaño generalmente se encuentran en el centro de cada lado. **Vaina de fibras** (interna) del haz ausente. En los haces de primer orden el floema completamente rodeado de fibras con paredes gruesas y el xilema presenta laguna protoxilemática y los miembros de vasos del metaxilema son amplios en relación a las células parenquimáticas de la vaina (Fig. 13 D y 14 A-B). **Esclerénquima marginal:** dispuesto en forma de capa relativamente pequeña en los biotipos N164 y N153; en forma de capa aguda en los biotipos U42, U44 y Camba, similar en el genotipo U39 (Fig. 13 E) pero algo extendido hacia la superficie adaxial y abaxial. **Células buliformes:** presentes en grupos en la epidermis adaxial, extendidas sobre uno o varios haces vasculares y asociadas a células parenquimáticas incoloras (Fig. 14 C); ambas capas conspicuas en Camba (Fig. 14 D). **Células epidérmicas** típicas con paredes tangenciales externas engrosadas y recubiertas por una cutícula gruesa continua; contenidos tánicos presentes en las células de la epidermis adaxial y frecuentemente en las células de la epidermis abaxial (Fig. 14 E, F).

Apéndices epidérmicos en vista superficial:

Aguijones localizados frecuentemente en zonas costales (opuestas a los haces vasculares), frecuentemente en la epidermis abaxial; cv. Camba presenta pequeños aguijones en ambas superficies. **Ganchos** pequeños generalmente se observan en áreas intercostales (entre los haces vasculares). **Micropelos** bicelulares con células basales más cortas que la célula distal comúnmente distribuidos en áreas intercostales. **Macropelos** presentes en los biotipos U39 y U44 en ambas superficies, más abundantes en la epidermis abaxial. **Papilas** se aprecian únicamente en U44, con la pared tangencial externa de las células epidérmicas convexa o inflada, muy evaginada (Fig. 16 C).

Brachiaria brizantha cv. Marandú

Caracteres histofoliare en corte transversal:

Contorno: Lámina foliar en forma de “V”, las hemiláminas forman un ángulo mayor de 90°. **Vena media (quilla):** desarrollada, con un haz vascular de primer orden y unos más pequeños (de segundo y de tercer orden de acuerdo al tamaño) con cordones o trabas de esclerénquima (Fig. 13 F). **Superficie de la lámina:** adaxial con surcos de poca profundidad, angostos; superficie abaxial con surcos entre los haces vasculares, costillas obtusas, a menudo poco profundas, sobre ellos; costillas opuestas a todos los haces vasculares y del mismo tamaño que las costillas adaxiales, es decir, la sección es moniliforme (Fig. 13 G, H). **Haces vasculares:** de primer orden con vaina externa parenquimática casi completa o incompleta rodeando el haz debido a la amplia interrupción de las trabas de esclerénquima hacia la epidermis abaxial (Fig. 14 H) y en contacto con un pequeño cordón de esclerénquima, a veces bien desarrollado hacia la epidermis adaxial. **La vaina del haz** comprende células de diferentes formas, frecuentemente dos de mayor diámetro (a veces alargadas) hacia el lado adaxial; las células presentan paredes no lignificadas (Fig. 14 H). En los haces de primer orden, la vaina interna del haz con lumen reducido y paredes lignificadas, el floema rodeado por fibras con paredes gruesas y el xilema con laguna protoxilemática y vasos presentes (Fig. 13 H y 14 H). La vaina de los haces vasculares de otro orden, compuesta por células de diferentes tamaños y un cordón muy pequeño de esclerénquima puede estar en contacto con la vaina del haz hacia ambas superficies, adaxial y abaxial. **Esclerénquima marginal:** dispuesto en forma de capa aguda bien desarrollada en el margen, más ancha que el haz vascular final, y células de mayor tamaño (parénquima) con paredes engrosadas en la parte media (Fig. 14 I). **Células buliformes:** ubicadas en la epidermis adaxial en grupos, con forma de abanico, en correspondencia con la zona de surcos superficiales y muy escasas células incoloras asociadas. **Células epidérmicas** típicas con paredes tangenciales externas engrosadas y cubiertas por una cutícula gruesa continua sin contenido tánico.

Apéndices epidérmicos en vista superficial:

Aguijones presentes en ambas epidermis, generalmente ubicados en correspondencia a los haces vasculares (en los márgenes de las zonas costales). **Ganchos** pequeños presentes en la epidermis abaxial, en áreas intercostales. **Micropelos** bicelulares, células basales más cortas que la célula distal distribuidas en áreas intercostales. **Macropelos** rara vez presentes en la epidermis abaxial. **Papilas** ausentes.

Chloris gayana cv Callide

Caracteres histofoliare en corte transversal:

Contorno: en forma de V, muy abierta, casi 180°. **Vena media (quilla)** desarrollada prominente, con forma de "V" (Fig. 15 A); 1 a 3 haces vasculares de 1er orden y otros de menor orden, la mayoría con cordones abaxiales de esclerénquima (Fig. 13 I). **Superficie de la lámina:** adaxial con surcos muy amplios de poca profundidad; costillas obtusas presentes sobre haces vasculares de 1° y otro orden, y superficie abaxial con ligera ondulación asociada a los haces vasculares (Fig. 13 J). **Haces vasculares:** de primer orden con vaina externa parenquimática compuesta por células no lignificadas, incompleta debido a una amplia interrupción abaxial de trabas esclerenquimáticas bien desarrolladas de forma trapezoidal (Fig. 14 J); hacia la superficie adaxial la vaina presenta células conspicuas, alargadas verticalmente y en contacto con un cordón esclerenquimático conspicuo, tan ancho o más ancho que el haz vascular. En haces vasculares de 1er orden vaina interna del haz compuesta por elementos de lumen reducido y paredes lignificadas; el floema rodeado por fibras con paredes gruesas y el xilema con laguna protoxilemática y miembros de vasos (Fig. 14 J). **Esclerénquima marginal:** dispuesto en forma de capa relativamente pequeña; se extiende brevemente hacia el lado abaxial y adaxial. Traba adaxial bien desarrollada sobre haces vasculares ubicados cerca del margen (Fig. 14 K). **Células buliformes:** en grupos, presentes en la epidermis adaxial y asociadas a células incoloras del parénquima formando una zona de células incoloras que comprende menos de la mitad del espesor de la lámina. **Células epidérmicas** con paredes tangenciales externas engrosadas y cubiertas por una gruesa cutícula continua sobre las mismas, sin contenido de tánico.

Apéndices epidérmicos en vista superficial:

Aguijones presentes en ambas epidermis, generalmente ubicados opuestos a los haces vasculares. **Ganchos** pequeños se observaron en áreas intercostales de la superficie adaxial cerca del margen. **Macropelos** y micropelos ausentes. **Papilas** circulares o redondeadas, pequeñas (diámetro de las papilas inferior a la mitad del ancho de las células largas), frecuentemente una papila por cada célula.

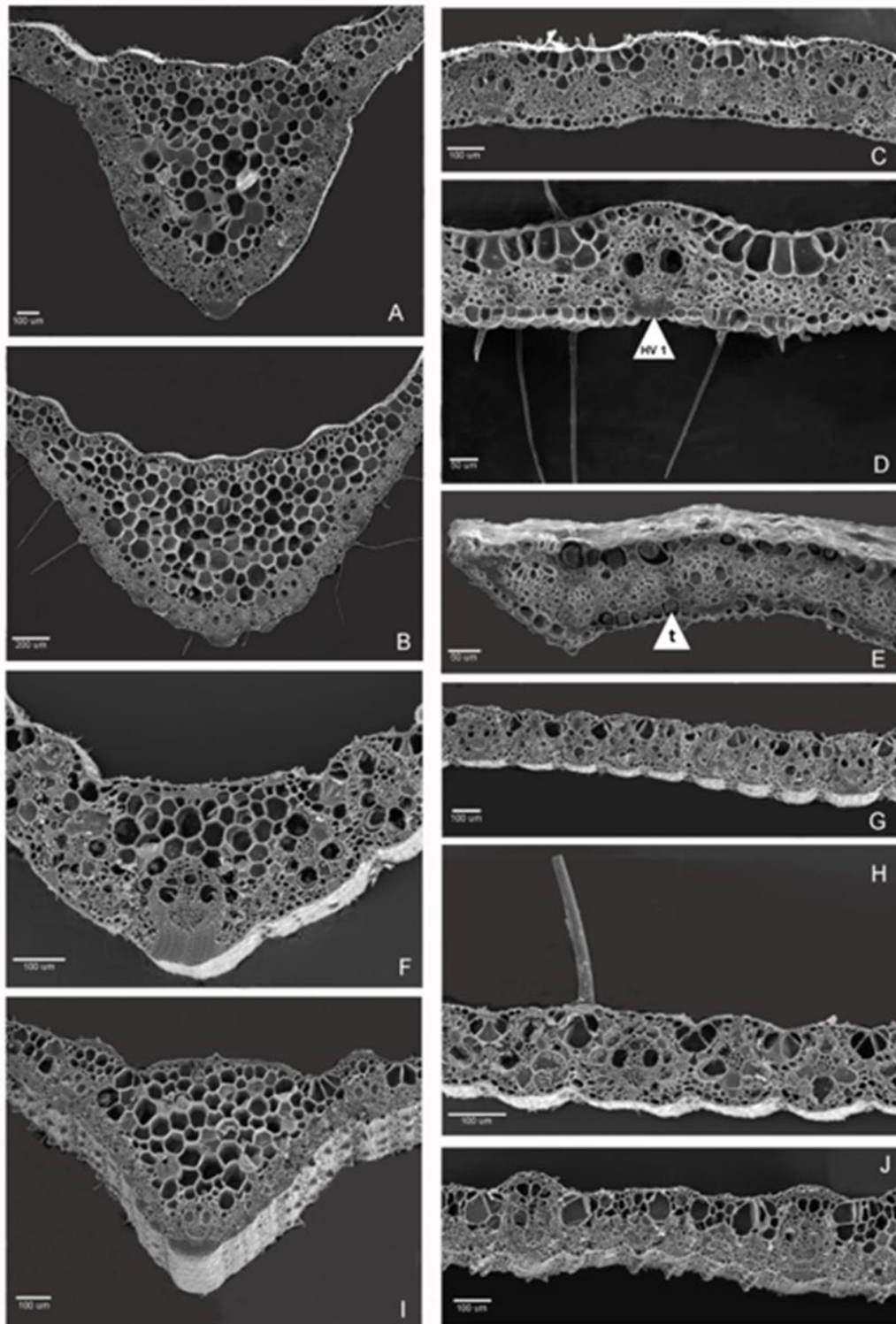


Figura 13. Fotografías con MEB de la lámina foliar en sección transversal. A-E: biotipos de *Paspalum atratum*, A-C: genotipo N164. B-D: genotipo U44. E: genotipo U39. F-H: *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. I-J: *Chloris gayana* cv. Callide. A, B, F e I: región de vena media (quilla). C, D, G, H, J: diferentes porciones de la región de la hemilamina. E: región marginal de la lámina. Referencias: HV1: haz vascular de primer orden; t: taninos

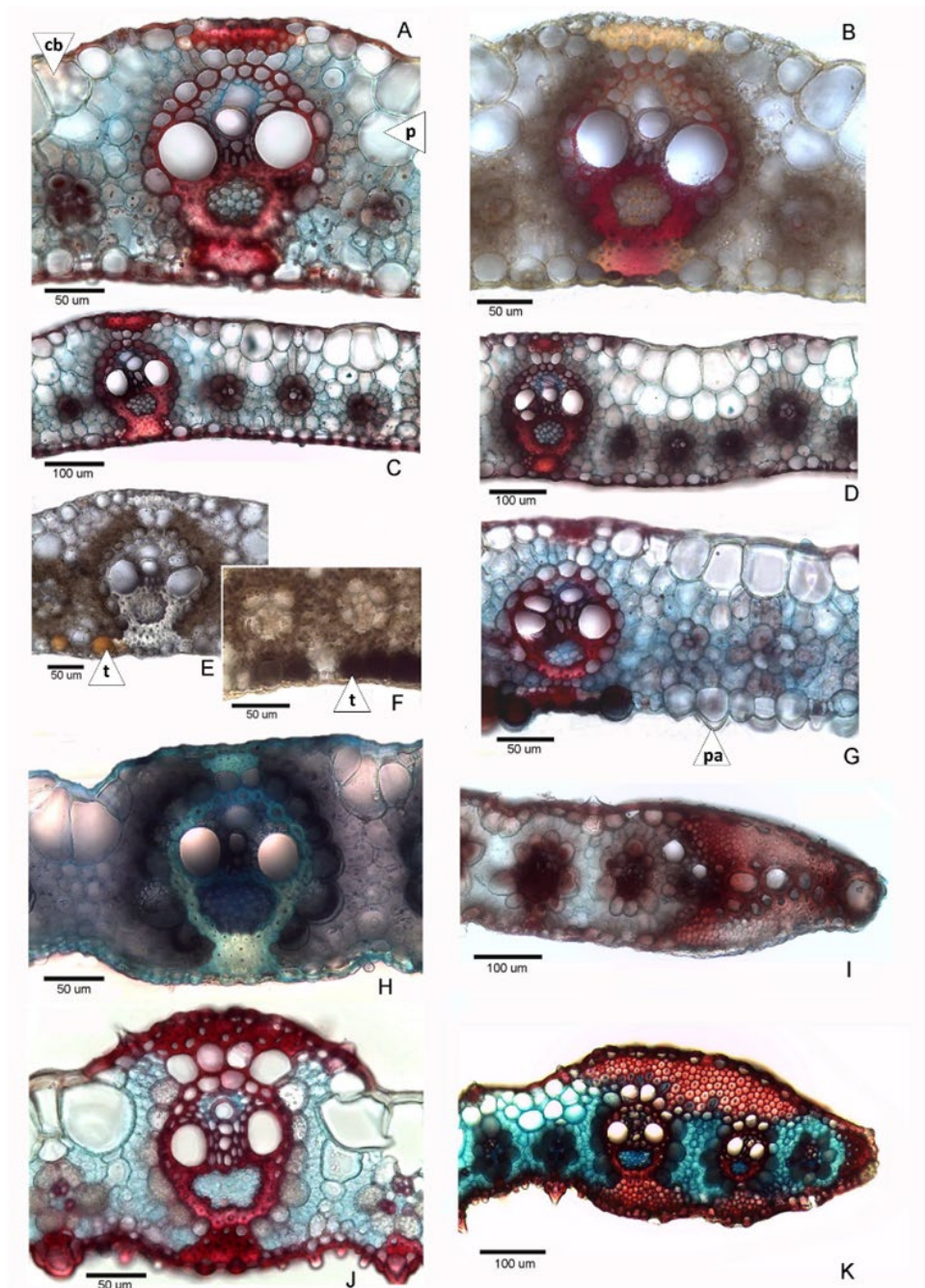


Figura 14. Sección transversal de la lámina foliar con coloración diferencial e histoquímica. A-G: biotipos *Paspalum atratum*, H-I: *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, J-K: *Chloris gayana* cv. Callide. A-B: genotipo U39. A: sección del haz vascular de primer orden con tinción safranina-astra blue. B: similar sección con la reacción de floroglucina y ácido clorhídrico. C-D: porción de la hemilamina. C: genotipo U42. D: cv. Camba. E-F: genotipo N153. E: transección sin coloración. F: transección con la prueba del sulfato férrico para identificación de taninos. G: transección del haz vascular de primer orden y adyacentes en genotipo U44 con papilas en la epidermis abaxial. H: transección del haz vascular de primer orden con tinción de azul de toluidina. I: región marginal de la lámina foliar. J: haz vascular de primer orden con tinción safranina-astra blue. K: región marginal de la lámina foliar con tinción safranina-astra blue. Referencias: cb: célula buliforme; p: parénquima incoloro; pa: papila; t: tanino.

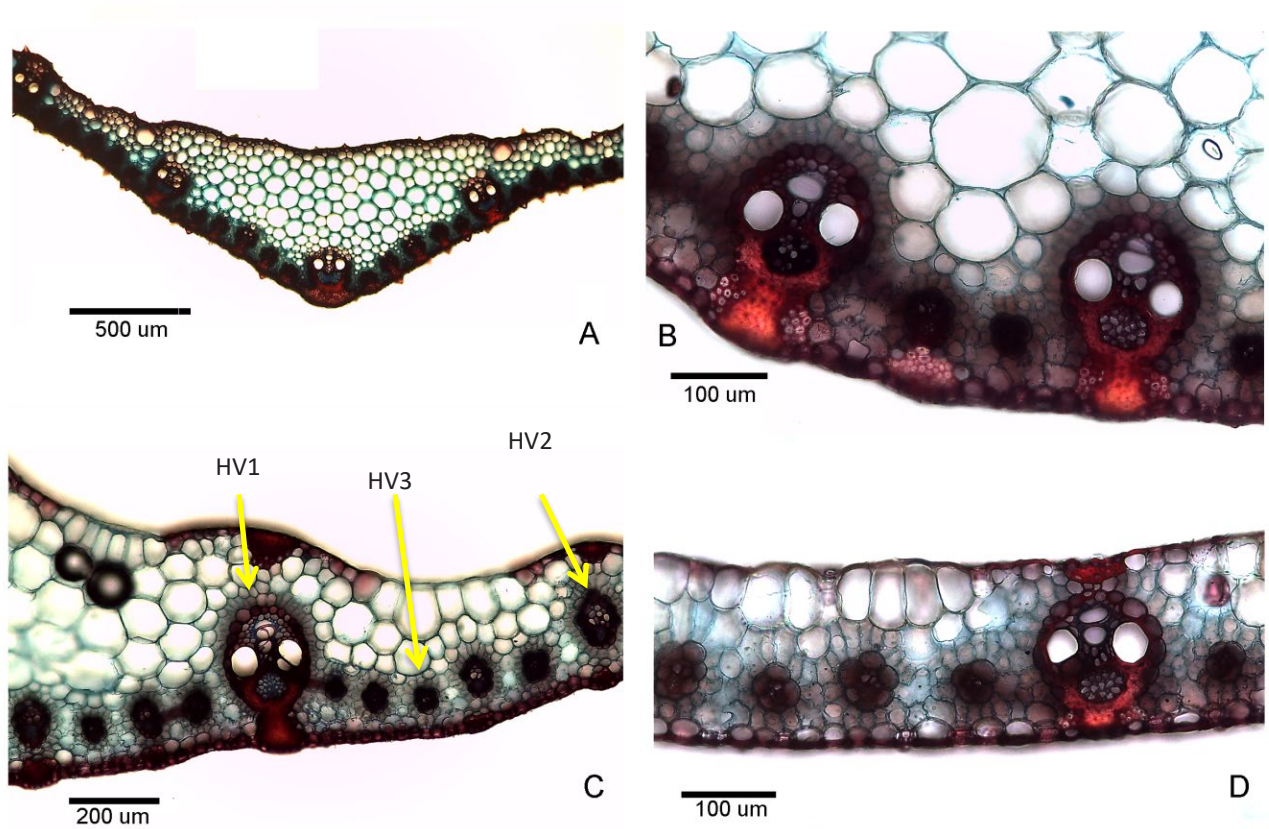


Figura 15. Fotografías de distintos sectores del transcorte foliar, coloración safranina-azul. A: zona de la vena media (quilla) *Chloris gayana* cv. Callide. B: detalle de los haces vasculares en la zona de la vena media (quilla) *P. atratum* U42. C: disposición de haces vasculares cerca de la vena media (quilla) *P. atratum* cv. Cambá. D: haces vasculares de primer orden y haces menores en hemilámina *P. atratum* U42. Referencias: HV1: haz vascular de primer orden; HV2: haz vascular de segundo orden; HV3: haz vascular de tercer orden.

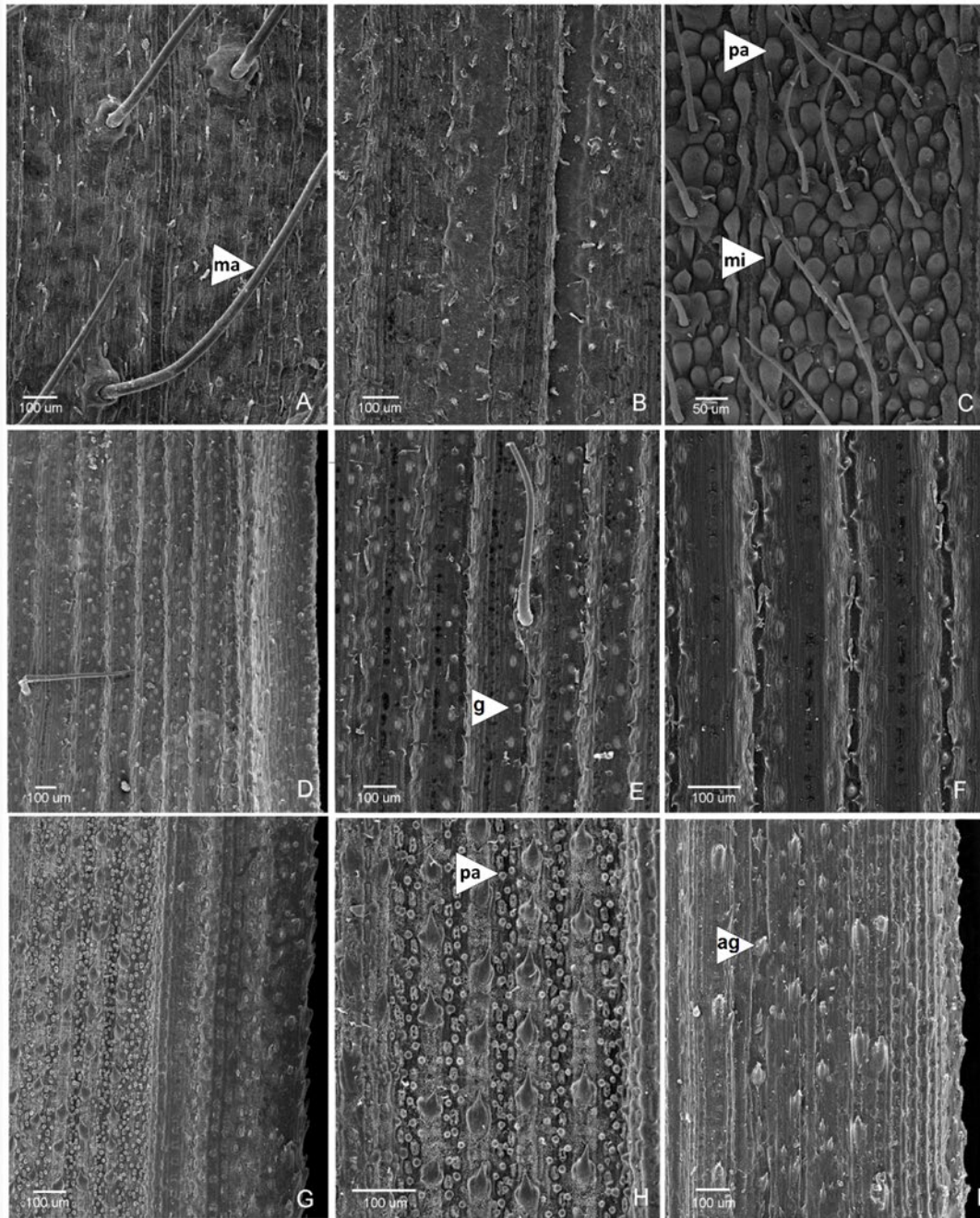


Figura 16. Fotografías con MEB de la epidermis de la lámina foliar. A-C: epidermis abaxial de genotipos de *Paspalum atratum*. A: genotipo U39. B: genotipo N164. C: genotipo U44. D-F: *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. D-E: epidermis abaxial. F: epidermis adaxial. G-I: *Chloris gayana* cv. Callide, G-H: epidermis abaxial. I: epidermis adaxial. Referencias: ag: agujones; g: ganchos; ma: macropelo; mi: micropelo; pa: papila.

5. Proporción de tejidos foliares

En las tablas 3-6 se presentan los caracteres anatómicos evaluados de los biotipos analizados respecto al porcentaje promedio de las áreas de los tejidos. El número de HV1 en la hemilámina se expone en la tabla 7 y la distancia entre los HV1 en la tabla 8.

El análisis de las proporciones de los tejidos foliares se efectuó en tres áreas del transcorte foliar, considerando que cada una tiene su particularidad en relación a los tejidos mayoritarios que la componen. De este modo la región de la vena media se caracteriza por presentar una mayor proporción característica de parénquima incoloro y la región de la hemilámina hay una prevalencia de tejido parenquimático, principalmente del tipo de clorénquima. Igualmente, en la región del margen foliar presenta mayoritariamente clorénquima, junto con epidermis, con presencia de algunas células buliformes como en los biotipos y cultivar de *Paspalum atratum*, o esclerénquima para el caso de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú y *Chloris gayana* cv. Callide.

Se observó una interacción significativa entre biotipos y épocas de crecimiento para las proporciones de tejidos epidérmicos, parenquimáticos, lignificados y vaina del haz, en las tres regiones de la hoja analizadas ($p < 0,05$). El floema mostró valores similares entre los biotipos y en las distintas épocas de muestreo.

La proporción de tejidos epidérmicos en la región de la vena media fue mayor para U44 en la primavera (Dic. 2017), en la región del margen fue mayor durante el verano (May. 2017) para N164 y en la región de la hemilámina fue mayor para U44 en primavera (Dic. 2017) (Tabla 3). El parénquima en las tres regiones foliares analizadas, fue el tejido que más contribuyó al área total foliar, siendo mayor durante la primavera y el verano (Dic. 2016 y 2017 y Mar. 2017) con valores máximos entre 83 y 85% (Tabla 4). Los menores valores observados de tejido lignificado en la región de vena media, fueron en otoño (May. 2017), para todos los biotipos; y complementariamente presentan el menor número de haces vasculares de primer orden (Tabla 5). Mientras que la proporción de vaina del haz en las tres regiones foliares fue mayor durante el otoño (Tabla 6).

Para las cuatro estaciones analizadas, en la región de la vena media, Marandú, presentó los mayores valores en los tejidos: epidérmico (12-20%), lignificado (13- 21%) y vaina parenquimática (17- 30%). Mientras que, para la misma región el tejido parenquimático (30- 57%), presentó el menor de todos los valores para las cuatro estaciones.

En cuanto al tejido epidérmico, en las cuatro estaciones analizadas, Callide presentó, en el tejido epidérmico, los menores valores en la región del margen foliar (14- 21%), mientras que los valores más altos los exhibieron U39, U42 y U44 durante primavera y verano (35- 42%) y N164 durante otoño (53%). Además, se observaron diferencias significativas entre biotipos (Tabla 3).

En la región del margen foliar el tejido parenquimático de Callide presentó el menor porcentaje (21- 30%) en las cuatro estaciones.

En cuanto al análisis de la vaina parenquimática, los biotipos Callide y Marandú, exhibieron los mayores valores en las cuatro estaciones, para las tres regiones de la hoja, vena media (5- 30%), hemilámina (17- 31%), margen foliar (13- 24%) (Tabla 6).

La proporción de tejidos lignificados para Callide y Marandú fue mayor en las cuatro estaciones, para las regiones de la vena media (9- 21%) y margen foliar (15- 37%). Durante la época otoño 2017, Callide presentó los mayores valores en región de la hemilámina y el margen foliar (19,48% y 33,01% respectivamente); mientras U39 los menores valores (8,48 y 10,59% respectivamente) (Tabla 5).

En cuanto al número de haces vasculares de primer orden y la distancia entre los mismos, se observó una interacción significativa entre biotipos y épocas de crecimiento ($p < 0,0001$).

El número de haces vasculares primarios fue mayor en general, durante la primavera y el verano en la región de la hemilámina. También, se observaron diferencias entre los biotipos en cuanto al número de haces vasculares de primer orden en la vena media durante la primavera y el verano. El menor número de haces vasculares en la región de la vena media se presentó en los muestreos de otoño (Tabla 7). Para las cuatro estaciones, Marandú exhibió los mayores valores de distancia, al igual que presentó el menor número de haces vasculares de primer orden en la vena media. Las menores distancias de haces vasculares en la región analizada se produjeron en la primavera, el biotipo N153 mostró la menor distancia entre haces vasculares de primer orden, reflejándose esto en un mayor número de haces vasculares en las regiones estudiadas (Tabla 8).

Tabla 3. Proporción de tejido epidérmico (células epidérmicas + células buliformes) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide (Ch.g.) y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú (B.b.), en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Tejido epidérmico											
	Diciembre 2016			Marzo 2017			Mayo 2017			Diciembre 2017		
	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.
	-----%-----											
U39	31,8 d	5,7 a	38,5 de	28,7	6,1 ab	41,2 d	26,7 ab	8,5 a	31,4 c	28,6 b	4,0 a	35,8 c
U42	29,5 cd	4,8 a	40,6 e	31,7	8,0 c	40,5 cd	25,7 ab	6,3 a	40,4 d	28,7 b	5,4 a	34,3 c
U44	31,1 d	6,8 a	39,0 e	26,5	5,2 a	34,1 b	28,8 b	7,5 a	29,3 c	33,4 b	9,8 b	35,4 c
N153	24,1 ab	5,6 a	29,2 bc	25,6	6,2 ab	34,0 b	28,5 b	8,2 a	31,7 c	21,7 a	5,7 a	30,0 b
N164	21,0 a	4,2 a	30,4 c	24,9	7,4 bc	34,1 b	25,3 a	7,3 a	53,2 e	20,6 a	4,1 a	27,8 b
Cambá	27,7 bcd	6,1 a	34,7 d	32,3	5,6 a	36,0 bc	33,1 c	8,9 a	17,2 a	30,3 b	5,5 a	34,0 c
B.b.	25,92abc	16,03 c	25,83 b	23,78	12,00 d	21,17 a	26,22ab	12,72b	24,44 b	18,27a	20,11 c	23,76 a
Ch.g.	32,03 d	9,86 b	18,79 a	29,01	5,95 ab	17,60 a	28,63 b	8,68 a	14,40 a	32,40b	9,92 b	21,08 a
CV	10,41	22,08	6,96	12,43	11,63	8,32	8,38	32,81	6,06	14,05	23,74	7,01
P-val	0,002	<0,000	<0,000	0,063	<0,000	<0,000	0,001	0,046	<0,000	0,000	<0,000	<0,000

Abreviaturas: Biot., Biotipo; CV, coeficiente de variación; y LSD test, P-val.

Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

Tabla 4. Proporción de tejido parenquimático (parénquima incoloro + clorénquima) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Tejido parenquimático											
	Diciembre 2016			Marzo 2017			Mayo 2017			Diciembre 2017		
	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.
	-----%-----											
U39	40,64bc	81,33 c	36,46 c	40,27b	80,39d	33,05 a	43,85cd	76,11c	40,56d	44,65b	84,18ef	39,96bc
U42	44,86 c	82,98 c	36,26 c	41,41b	75,63b	34,36ab	46,64de	81,27d	36,21b	47,93b	82,05de	42,92 c
U44	42,70bc	81,21 c	38,97cd	44,47b	84,22f	42,46 c	42,07bc	81,50d	41,80cd	45,95b	76,80 c	43,27 c
N153	47,49cd	79,37 c	44,10 e	43,09b	80,34d	39,59bc	40,29 b	76,05c	39,46bc	40,24b	81,78de	42,75 c
N164	53,22 d	83,57 c	42,44de	42,82b	79,62d	45,09 c	48,19 e	80,81cd	41,91cd	44,48b	85,42 f	44,01 c
Cambá	46,56cd	80,53 c	43,25 e	42,54b	82,34e	39,93bc	47,06cde	80,27cd	41,91cd	41,95b	79,41cd	40,87 c
B.b.	28,53 a	37,37 a	29,29 b	32,21a	44,13a	32,33 a	31,06 a	56,97a	30,31a	39,46b	30,12 a	35,19 b
Ch.g.	35,88ab	72,03 b	21,21 a	27,99a	77,75c	28,70 a	29,48 a	69,50b	29,81a	24,93a	67,45 b	26,51 a
CV	10,23	4,76	6,51	8,75	1,35	9,97	4,84	3,42	5,46	12,00	2,17	7,85
P-val	0,000	<0,000	<0,000	0,000	<0,000	0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,001	<0,000	<0,000

Abreviaturas: Biot., Biotipo; CV, coeficiente de variación; y LSD test, P-val.

Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

Tabla 5. Proporción de tejido lignificado (xilema + esclerénquima (fibras)) de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Tejido lignificado											
	Diciembre 2016			Marzo 2017			Mayo 2017			Diciembre 2017		
	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.
-----%-----												
U39	14,54	7,59 a	13,34 b	17,42b	7,94bcd	15,34 b	8,48 a	7,44 b	10,59 a	14,53d	7,42 ab	11,37 a
U42	14,39	6,95 a	13,49 b	15,63ab	8,76cd	12,67ab	13,88cd	6,48ab	12,77 a	10,1bc	7,55 ab	11,63ab
U44	13,61	7,59 a	10,01 a	13,81a	5,93 a	11,99 a	15,06 d	5,67 a	13,20 a	8,51 a	7,56 ab	9,10 a
N153	15,64	9,61 a	13,56 b	16,88ab	7,07ab	12,07 a	14,20 d	7,27 b	11,62 a	22,68g	8,01abc	12,86ab
N164	15,31	8,41 a	13,98 b	13,83ab	6,75ab	11,96 a	14,81 d	5,88 a	10,82 a	20,58f	6,45 a	15,76 b
Cambá	12,95	8,55 a	10,46 a	14,65ab	7,24abc	11,66 a	9,81 ab	5,76 a	10,74 a	12,53c	8,97 bc	12,33ab
B.b.	18,56	21,31 b	29,64 c	13,42a	16,35 e	31,31 c	11,74bc	13,01d	23,88 b	9,00ab	16,84 d	15,76 b
Ch.g.	13,15	9,25 a	36,77 d	21,19 c	8,97 d	34,91 d	19,48 e	8,83 c	33,01 c	16,96e	9,59 c	30,30 c
CV	26,75	15,60	6,62	13,12	10,82	9,93	12,57	10,60	15,82	7,58	12,54	16,85
P-val	0,726	0,000	<0,000	0,004	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000

Abreviaturas: Biot., Biotipo; CV, coeficiente de variación; y LSD test, P-val.).

Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

Tabla 6. Proporción de vaina parenquimática de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.), de la vena media (V.M.) y del margen (Marg.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Vaina parenquimática											
	Diciembre 2016			Marzo 2017			Mayo 2017			Diciembre 2017		
	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.	Med.	V.M.	Marg.
	-----%-----											
U39	10,75 a	3,80 a	8,99 a	10,11a	4,20ab	8,78 a	12,01abc	3,14 a	11,38ab	9,67 b	3,01 a	10,43ab
U42	8,95 a	3,53 a	9,22 ab	10,70a	5,95 d	10,18ab	10,93 a	4,66 b	9,39 a	10,54bc	3,56 a	9,38 a
U44	10,72 a	3,66 a	9,96 ab	10,64a	3,49 a	10,31ab	11,35ab	3,90ab	13,44 b	10,36bc	4,59 a	10,25ab
N153	10,19 a	4,29 a	10,68 b	11,64a	4,87bc	12,03bc	14,32 d	6,30 c	12,56 b	12,46 c	3,1 a	11,89 b
N164	9,94 a	3,32 a	10,73 b	10,72a	4,92bc	9,70 ab	13,31cd	5,36bc	13,43 b	11,78bc	2,93 a	10,45ab
Cambá	10,57 a	3,97 a	10,40ab	10,50a	3,64 a	9,37 a	12,59bc	4,87 b	12,82 b	4,44 a	4,44 a	10,56ab
B.b.	25,44 c	24,53 c	15,29 c	27,61c	24,61 e	13,59cd	29,54 f	17,83e	19,05 c	31,35 e	30,36 c	23,69 d
Ch.g.	17,07 b	7,52 b	20,51 d	19,27b	5,42cd	15,94 d	21,44 e	9,63 d	19,46 c	22,53 d	11,66 b	19,72 c
CV	12,02	16,96	7,51	8,27	7,99	12,51	9,45	11,44	9,65	11,02	13,17	10,10
P-val	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000

Abreviaturas: Biot., Biotipo; CV, coeficiente de variación; y LSD test, P-val.

Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

Tabla 7. Número de haces vasculares de primer orden (HV1), de cinco accesiones de *Paspalum atratum*, el cultivar Cambá, *Chloris gayana* cv. Callide y *Brachiaria brizantha* cv. Marandú, en las regiones de la hemilámina (Med.) y de la vena media (V.M.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Número de HV1							
	Diciembre 2016		Marzo 2017		Mayo 2017		Diciembre 2017	
	Med.	V.M.	Med.	V.M.	Med.	V.M.	Med.	V.M.
U39	6,33bc	5,00bc	8,67d	5,00d	5,67b	3,00b	7,67d	6,67d
U42	9,67d	5,67c	8,67d	3,67c	7,67d	5,00c	8,33e	6,67d
U44	6,00bc	5,00bc	6,00b	5,00d	6,67bcd	3,00b	4,00a	3,00b
N153	7,00c	7,00d	7,67c	3,00bc	6,33bc	3,00b	9,00f	8,33e
N164	7,00c	5,00bc	7,33c	2,33b	7,00cdd	3,00b	6,00c	6,67d
Cambá	9,33d	4,33b	9,67e	5,00d	7,67d	3,00b	7,67d	5,33c
B.b.	5,67b	1,00a	6,00b	1,00a	6,00bc	1,00a	4,67b	1,00a
Ch.g.	3,00a	1,00a	3,00a	3,00bc	4,00a	1,00a	4,00a	3,00b
CV	9,56	13,58	6,41	16,50	11,98	6,43	6,36	11,36
<i>P</i> -val.	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,000	<0,000	<0,000	<0,000

Abreviaturas: Biot., Biotipo; CV, coeficiente de variación; y LSD test, *P*-val.

Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

Tabla 8. Distancia entre haces vasculares de primer orden (HV1) de la región de la hemilámina (Med.), durante cuatro fechas diferentes.

Biot.	Distancia entre HV1 (μm)			
	Diciembre 2016	Marzo 2017	Mayo 2017	Diciembre 2017
U39	816,32 ab	977,67ab	916,65b	598,1bc
U42	908,67 abc	991,8 ab	629,96a	706,66cd
U44	1023,95 bc	1035,52ab	978,07b	766,29d
N153	705,82 a	812,36 a	874,6ab	179,22a
N164	705,8 a	939,59 a	909,54b	498,41b
Cambá	1144,82 c	1178,72bc	1093,59b	585,27bc
B.b.	1498,53 d	1387,99 c	1445,47c	1096,82e
Ch.g.	670,52 a	1041,79ab	882,61ab	674,7c
CV	16,15	13,02	19,94	15,98
P-val.	0,000	0,004	0,006	<0,000

Nota: Las medias dentro de cada momento, que no comparten una letra minúscula común, indican diferencias significativas entre biotipos, a $p < 0,05$, según la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

6. Prueba de correlación:

Se observaron correlaciones positivas y negativas entre la preferencia del vacuno y los rasgos anatómicos y morfológicos de las hojas. De un total de diecinueve variables analizadas, once de ellas se correlacionaron negativamente con el consumo, siendo las variables morfológicas altura de planta y largo de hoja las de mayor grado de correlación (Fig. 17).

En particular, la preferencia del vacuno se correlacionó positivamente con la proporción de vaina parenquimática del margen (0,47), media (0,45), y con el tejido epidérmico de la vena media (0,44). Sin embargo, el consumo se correlacionó negativamente con las variables altura de planta (-0,59), largo de hoja (-0,59) y número de haces vasculares primarios en las regiones de la vena media (-0,54) y en la hemilámina (-0,5).

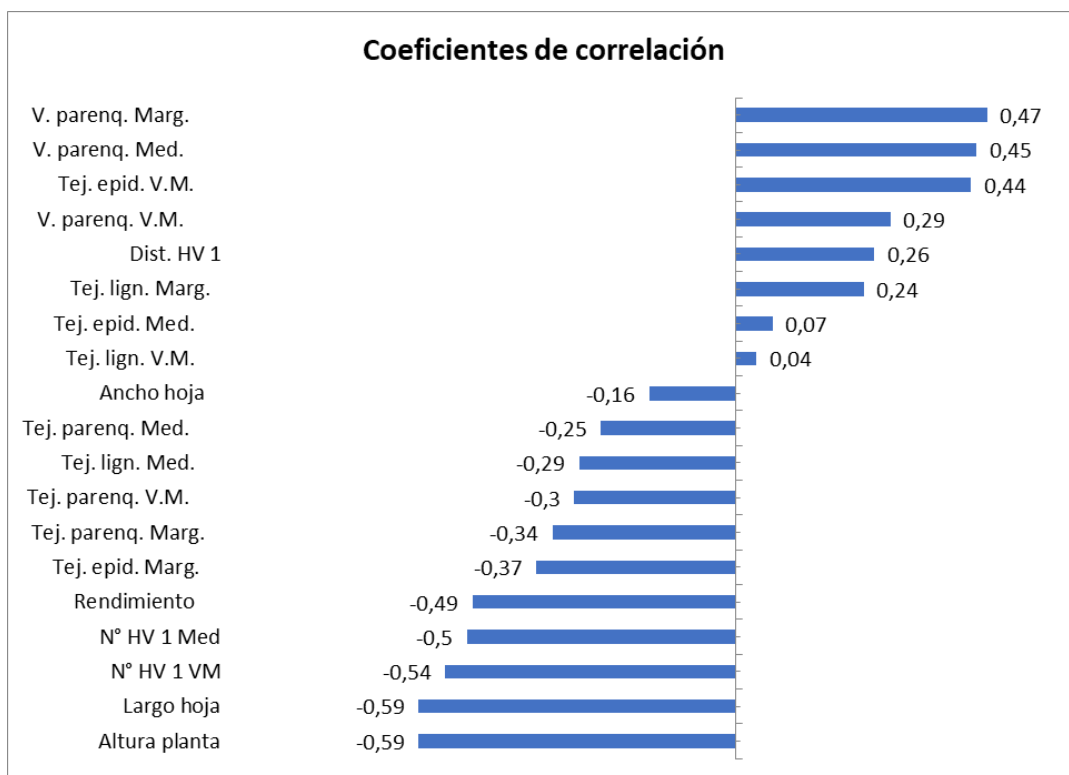


Figura 17. Coeficiente de correlación, de la variable rendimiento, y de las variables morfológicas y anatómicas, con respecto al consumo.

CAPITULO IV - DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se registró que el otoño fue la temporada con menor desarrollo en términos de altura de planta y longitud de hoja para todos los biotipos, excepto dos (B.b.-U44), y en menor medida, el ancho de hoja. La cantidad de forraje consumido difería entre las épocas de crecimiento, siendo el otoño la de mayor consumo. Se observaron dos grupos que contrastaban en sus preferencias de consumo según las fechas. Un grupo (U39-U42-Cambá-N153-N164) mostró diferencias de consumo entre estaciones cálidas o de mayor crecimiento y estaciones de menor crecimiento, como el otoño. Contrariamente, el grupo (Ch.g.-B.b.-U44) mantuvo un consumo más uniforme a lo largo de las distintas estaciones de crecimiento.

Las características morfológicas podrían estar involucradas con la preferencia del vacuno, como la altura de la planta, el largo y ancho de hoja. En el grupo integrado por Ch.g.-B.b.-U44, en general se presentaron los valores más bajos en altura de planta en las tres estaciones de crecimiento evaluadas. Con respecto al largo de hoja, en otoño se dieron los valores más bajos respecto a primavera y verano; a excepción de Marandú y Callide que mantienen un largo de hoja en las tres estaciones. El grupo formado por U39-U42-Cambá-N153-N164 presentó diferencias de consumo entre estaciones de mayor y de menor crecimiento, manifestaron tener las hojas más largas en primavera (Dic. 2016 y Dic. 2017). Un estudio en *Chloris gayana* destacó la dinámica entre la acumulación de fibra estructural y la digestibilidad a lo largo de la vida de una hoja, mostrando cómo tanto la edad como el crecimiento físico afectan estos parámetros. Esta publicación evidenció que un aumento de la longitud del limbo durante el periodo de expansión foliar, así como la mayor longitud final las láminas, fue acompañada por una disminución de la calidad del forraje (Agustusdei et al., 2011).

Los factores ambientales influyen en los procesos bioquímicos y metabólicos de las pasturas, variando tanto la producción como la calidad nutricional de las mismas. El incremento de la temperatura promueve que los fotosintatos se conviertan rápidamente en componentes de la pared celular (Van Soest et al., 1978). Una mayor actividad metabólica incrementa los procesos enzimáticos asociados con la biosíntesis de lignina y eleva la lignificación de la pared celular (Ludlow y Wilson, 1971). Las estaciones cálidas y con mayor precipitación fueron las de máxima producción de forraje. El verano (Mar. 2017) fue la época con mayor producción de forraje, seguido de la primavera (Dic. 2016 y Dic. 2017), y la menor producción se registró en otoño (May. 2017). Existe una relación positiva entre la producción de forraje y las temperaturas y precipitaciones recibidas. Sin embargo, esta mayor producción de forraje no se relaciona positivamente con un mayor consumo o preferencia por parte del ganado. El otoño, con menor producción, altura de planta, el largo y ancho de hoja, fue la estación con mayor porcentaje de consumo o preferencia.

La intensa lignificación de la pared celular y la disminución de la digestibilidad del forraje, son resultados de los cambios climáticos estacionales y el avance del desarrollo; y no se debería atribuir a la proporción de tejidos foliares (Basso, et al. 2023). Esto podría estar asociado con la estación de crecimiento ya que estas gramíneas presentan su mayor crecimiento durante la estación cálida y también con las características morfológicas de la hoja como lo observaron Wilson et al. (1989). Los autores observaron que las hojas más largas estaban asociadas con una mayor proporción de tejidos de paredes gruesas.

Distintos factores como la madurez fisiológica, el nivel de inserción de la hoja, diferentes partes de la planta (tallos y hojas), las estaciones de crecimiento y la

composición química influyen en la asociación entre la anatomía y la digestibilidad (Queiroz et al., 2000; Paciullo et al., 2001; Paciullo, 2002; Batistoti et al., 2012). En *Cenchrus ciliaris*, las hojas más largas se asociaron con una mayor proporción de tejidos de paredes gruesas (Wilson et al., 1989), mientras que en *Megathyrsus maximus* las hojas más anchas se asociaron con una mayor proporción de mesófilo (Batistoti et al., 2012). El mesófilo constituido por parénquima clorofiliano, es el tejido que se degrada más rápidamente, ya que las células de este tejido no tienen pared celular secundaria, permitiendo ser digeridas fácilmente por los microorganismos del rumen (Akin, 1989). Las hojas más largas en el caso de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés están asociadas con una mayor proporción de tejidos de paredes gruesas como el esclerénquima (Basso et al., 2023).

Las láminas foliares presentan diferentes apéndices epidérmicos en ambas caras en los biotipos analizados: U39-N164-U44, Marandú y Callide. Estos apéndices podrían afectar la preferencia del vacuno lo que podría tener un impacto en el sentido del tacto de los animales y afectar la selección de forraje. En mijo perla (*Pennisetum americanum*), se observó que el vacuno prefirió aquellos biotipos con tricomas (Hanna et al., 2004), mientras que, en sorgo forrajero, las líneas más preferidas fueron aquellas con mayor número y tamaño de plaquetas epicuticulares de cera (Pendleton et al., 2007). Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar las características de los apéndices y su efecto en la preferencia del vacuno.

Asimismo, la morfología de las hojas se encuentra en estrecha relación con la estructura anatómica. Desde 1970 se han desarrollado estudios que evalúan la influencia de la anatomía de las gramíneas forrajeras sobre el valor nutritivo de las mismas (Akin y Burdick, 1975; Wilson et al., 1989; 1991; Queiroz et al., 2000). Estos estudios han establecido diferencias en el potencial de digestión de los distintos tejidos, permitiendo la asociación entre la proporción de tejidos de las especies forrajeras y su valor nutritivo (Paciullo, 2002). La degradabilidad de la lámina foliar puede estar influenciada directa o indirectamente por el esclerénquima (Sanchês et al., 2018). Influyendo directamente con relación a la proporción presente en la sección transversal de la lámina foliar; e indirectamente porque el esclerénquima puede establecer una estructura de trabas esclerenquimáticas (“girders”) en forma de “I” o de “T” asociados a los HV1 (haces vasculares de primer orden) (Bauer et al. 2008). En el caso de la estructura en forma “I”, conecta la vaina de los HV1 con las dos epidermis, mientras que en el caso de “T”, solo conecta la vaina con una de las epidermis. Estas trabas esclerenquimáticas dificultan mecánicamente el acceso de los microorganismos ruminales al mesófilo y parénquima, y por este motivo afecta la degradabilidad (Basso et al., 2023). Se espera que cuanto mayor sea el número de HV1 y cuanto menor sea la distancia entre ellos, más difícil será la ruptura de estas fracciones al ser consumidas por el ganado (Alves de Brito et al., 2004). En este estudio, se observaron diferencias en el número de HV1 entre especies y biotipos, y se evidenció una correlación negativa entre el número de HV1 y el consumo.

En la lámina foliar de las gramíneas analizadas, la región de la vena media expuso los menores valores de tejidos lignificados para todos los biotipos en otoño (May. 2017), y complementariamente mostró el menor número de HV1 en algunos biotipos o el mismo número, a excepción de dos biotipos (U42-N164). El menor número de HV1 en la vena media se observó en los muestreos de verano y otoño. Las menores distancias entre HV1 en la región de la hemilámina se observaron mayoritariamente en la primavera de 2017, exceptuando el biotipo U42, que ocurrió en otoño (May. 2017). La separación entre HV1 y la cantidad, influyen significativamente en la digestibilidad del

forraje por parte del ganado. La correlación negativa entre el número de HV1 y el consumo destaca la importancia de seleccionar biotipos con características morfológicas que optimicen la digestión. Además, las variaciones estacionales y las diferencias entre biotipos refuerzan la necesidad de considerar el estado fenológico y la temporada de crecimiento en las estrategias de manejo de pasturas para maximizar la eficiencia alimenticia y la salud del ganado.

Las plantas más altas y hojas más largas durante la estación cálida, de los biotipos analizados, se relacionan con una mayor proporción de tejidos lignificados compuestos por esclerénquima y xilema. Estas características podrían ofrecer algunas dificultades a la aprehensión de los animales debido a que este tipo de células, están asociadas con otras que tienen paredes gruesas tangenciales (Burns, 1978; Akin, 1989, Wilson, 1993).

Por otro lado, todos los biotipos difirieron en sus proporciones de tejido foliar. Algunos de ellos mostraron una alta proporción de tejido parenquimático en las tres regiones foliares durante los cuatro períodos de crecimiento estudiados. Se observó una alta proporción de tejido parenquimático en la región de la vena media en otoño para Cambá, N164 y N153. En general en la zona de la hemilámina fue alta la proporción de tejido parenquimático en otoño. La proporción de tejido lignificado para la región de vena media fue baja para todos los biotipos en los periodos analizados. Otros se caracterizaron por una baja proporción de tejido lignificado en la región de la hemilámina y el margen durante otoño, como Cambá. En primavera y verano Callide y U44, con valores altos de tejido lignificado en la región de hemilámina y margen. Además, se observaron diferencias en el número de haces vasculares primarios entre gramíneas. Esto indica que los biotipos difieren en la proporción de tejido y número de haces vasculares de la hoja con la temporada de crecimiento. Los tejidos constituyentes, su organización y distribución anatómica estructural, incidiendo en el consumo, también influyen en la digestibilidad de la pared celular, proporcionando mayor o menor acceso de los microorganismos (Slanac et al., 2022). Debido a eso, se podría suponer que la preferencia del vacuno está influenciada negativamente por los tejidos lignificados. Los tejidos lignificados y el haz vascular están relacionados con células de paredes gruesas, las cuales imparten fuerza mecánica a las plantas y podrían conferir resistencia a la aprehensión de la hoja por parte del ganado como se observó en *Paspalum dilatatum* (Zhang et al., 2004). Otros estudios también han demostrado que la resistencia a la rotura de la hoja está proporcionada por el tejido esclerenquimático (Li et al., 2020) y, este hecho puede interferir en la cosecha por parte del animal, debido a su preferencia por hojas más tiernas.

En la actualidad, las mezclas de especies forrajeras son muy usadas (Chaparro, 2005). En los últimos años, ha existido una tendencia creciente en el uso de forrajeras cultivadas como herramientas válidas para mejorar la producción y productividad de la empresa (Altuve y Bendersky, 2003). Por lo tanto, las diferencias en preferencia muy probablemente impacten en la composición del tapiz a través del tiempo. Generalmente aquellas especies o biotipos más preferidos tienden a decrecer y aquellos menos preferidos tienden a aumentar en el tapiz (De León, 2003) dependiendo en primer lugar de la asignación de la carga animal (en relación a la oferta forrajera) y del sistema de pastoreo en segundo lugar. Los aspectos morfológicos y anatómicos influyen en la preferencia, es por eso que una de las estrategias al momento de confeccionar una mezcla de forrajeras, es identificar y relacionar estas características para conseguir el objetivo de incrementar la producción primaria de forrajeras más aceptables por parte del ganado y de esta manera incrementar la producción secundaria gracias al mayor

consumo del recurso. La preferencia del bovino por el forraje y la variación en la digestión de tejidos como el xilema, esclerénquima y la vaina del haz están influenciadas por el momento de muestreo o consumo, el cual coincide con una estación de crecimiento y un estado fenológico temprano, donde los tejidos son más fácilmente atacados o digeridos por los microorganismos del rumen (Slanac. et al., 2022). Los biotipos estudiados, podrían ser evaluados en otras situaciones, como ser en mezclas con otras gramíneas o leguminosas y también como enriquecimiento de campos naturales. Donde se podría evaluar su comportamiento, ya que las condiciones serían distintas, pudiendo verse el potencial productivo que presentan ante estas situaciones, ya que los resultados del ensayo de esta tesis indican que existen marcadas diferencias entre los materiales evaluados y los mismos deberían ser tenidos en cuenta al momento de su inclusión en mezclas.

En conclusión, en esta tesis se determinó la preferencia mediante la diferencia de consumo y su relación con la morfo-anatomía, durante la etapa de crecimiento vegetativo y como la preferencia se ve afectada por los cambios estacionales, principalmente aquellos asociados a tejidos lignificados y su relación con la estructura de las hojas. El estudio de la morfología de la planta y análisis de la anatomía foliar resultan efectivos para predecir y orientar la investigación de biotipos para su posterior desarrollo como forrajeras de uso comercial. Los biotipos difirieron en la elección del vacuno, en la morfología y anatomía de la hoja. A su vez, exhibieron un rendimiento de forraje similar, pero variaron especialmente en la altura de la planta, la longitud de la lámina foliar y la proporción de tejidos compuestos principalmente por células de paredes gruesas y lignificadas.

Las preferencias del vacuno se dieron entre los biotipos Marandú, Callide, U44 y U39; dependiendo de la temporada de crecimiento, la morfología y anatomía de las hojas. Esta preferencia se correlacionó positivamente con la proporción de vaina parenquimática en el margen y en la hemilámina, el tejido epidérmico en la vena media y negativamente con las variables altura de planta, largo de hoja y número de haces vasculares de primer orden en vena media y media; en menor grado con el rendimiento, tejidos epidérmicos del margen y tejido parenquimático del margen y vena media, seguido de los tejidos lignificados. La morfología de la planta y los tejidos constituyentes de la lámina foliar están relacionadas con la época de crecimiento, ya que en las temporadas más cálidas los biotipos tienen mayor altura y hojas más largas, generalmente relacionados con mayor proporción de tejidos de sostén. El aumento o disminución de la cantidad de tejidos lignificados varían en los distintos momentos de crecimiento e influyen directamente sobre la selección y preferencia del vacuno. Los biotipos Marandú, Callide, U44 y U39 fueron los más consumidos, exhibieron menor proporción de tejidos lignificados como el xilema y esclerénquima, menos haces vasculares primarios, plantas y hojas más cortas. Además, la presencia de apéndices en la superficie de la epidermis podría influir y estar involucrada en la preferencia del vacuno, y el potencial de cada biotipo, sin embargo, se requieren más estudios.

Por lo tanto, existe una estrecha relación entre la estación de crecimiento, producción, morfología, anatomía y la preferencia del vacuno, siendo seleccionados por el vacuno aquellos biotipos con menor altura de planta, menor largo de hoja y menor proporción de tejido de sostén. Esto podría contribuir a fundamentar y ordenar los estudios de selección y mejoramiento del recurso forrajero, como también proporcionar alternativas de manejo de las pasturas para lograr que estas crezcan con menores proporciones de tejidos de sostén, con el objetivo de aumentar la producción secundaria y optimizar el uso del recurso forrajero.

Referencia Bibliográfica

- Agnusdei, M. G., Nanning, F. R., Di Marco, O. N., y Aello, M. S. (2009). Variaciones de calidad nutritiva durante el crecimiento vegetativo de gramíneas megatérmicas de diferente porte y longitud foliar (*Chloris gayana* y *Digitaria decumbens*). *Revista Argentina de Producción Animal*, 1, 13-25.
- Agnusdei, M. G., Di Marco, O. N., Nanning, F. R., y Aello, M. S. (2011). Leaf blade nutritional quality of rhodes grass (*Chloris gayana*) as affected by leaf age and length. *Crop and Pasture Science*, 62, 1098-1105.
- Akin, D. E., y Burdick, D. (1975). Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. *Crop Science*, 15, 661-668.
- Akin, D. E., y Burdick, D. (1981). Relationships of different histochemical types of lignified cell walls to forage digestibility. *Crop Science*, 21, 577-581.
- Akin, D. E., y Chesson, A. (1989). Lignification as the major factor limiting forage feeding value especially in warm conditions. In *Proceedings of the International Grassland Congress*, 16. Nice (pP. 1753-1760). Association Française pour la Production Fourragère.
- Aliscioni, S. S. (2000). Anatomía ecológica de algunas especies del género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Darwiniana*, 38(3-4), 187-207.
- Altuve, S. M., y Bendersky, D. (2003). Pasturas y Verdeos en Corrientes, Establecimiento y Producción. E.E.A. INTA Mercedes, *Noticias y Comentarios*, 37.
- Allden, W. G., y Whittaker, I. A. (1970). The determinants of herbage intake by grazing sheep: The interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Australian Journal of Agricultural Research*, 21, 755-766.
- Allen, V. G., Batello, C., Berretta, E. J., Hodgson, J., Kothmann, M., Li, X. J., Mclvor, J., Milne, J., Morris, C., Peeters, A., y Sanderson, M. (2011). An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*, 66, 2-28.
- Álvarez Romero, J., y Medellín, R. A. (2005). *Bos taurus*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020. México, D.F.
- Alves de Brito, C. J. F., Rodella, R. A., Deschamps, F. C., y Alquini, Y. (1999). Anatomia Quantitativa e Degradação in vitro de Tecidos em Cultivares de Capim Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 28(2), 223-229.
- Alves de Brito, C. J. F., Rodella, R. A., y Deschamps, F. C. (2004). Anatomia Quantitativa da Folha e do Colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(3), 519-528.
- Andrade, C. M. S., Farinatti, L. H. E., do Nascimento, H. L. B., Abreu, A. Q., Jank, L., y Assis, G. M. L. (2013). Animal production from new *Panicum maximum*

genotypes in the Amazon Biome, Brazil. In *Proceedings of the 22nd International Grassland Congress*, Sydney, Australia.

- Andrés, E., y Rivas, C. (2012). Consumo, selección de dieta y componentes del consumo del rumiante a pastoreo. *Mundo Pecuario*, 8(2), 107-120.
- Azorín A., J., y Gómez, D. (2008). Estrategias de las plantas frente al consumo de los herbívoros. En F. Fillat, R. García-González, D. Gómez, & R. Reiné (Eds.), *Pastos del Pirineo* (pP. 189-203). Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España.
- Balbuena, O., y Kucseva, C. D. (2002). En la región del NEA; Utilización de la Semilla de Algodón en la Alimentación de Bovinos para Carne. *IDIA*, 21(2).
- Balbuena, O., Miranda, F., Mónaco, I., Céspedes, F. F., Nanning, F., Roselló, J., Di Lorenzo, Pueyo, D. (2019). Reunión Grupo Ganadero Chaco – Formosa. Tema: Megatérmicas Grupo: Región Húmeda. Trabajo interno del CR CHAFOR.
- Basso, K. C., Galzerano, L., Da Silva, W. L., Ruggieri, A. C., y Reis, R. A. (2023). Anatomical, Morphogenic and Structural Characteristics of Xaraés Palisade Grass Under grazing. *Bioscience Journal*, 39, e39067. <https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-60937>
- Batistoti, C., Lempp, B., Jank, L., Morais, M. das G., Cubas, A. C., Gomes, R. A., y Ferreira, M. V. B. (2012). Correlations among anatomical, morphological, chemical and agronomic characteristics of leaf blades in *Panicum maximum* genotypes. *Animal Feed Science and Technology*, 171, 173-180.
- Bauer, M. O., Gomide, J. A., Monteiro da Silva, E. A., Regazzi, A. J., y Chichorro, J. F. (2008). Anatomical evaluation and nutritive value of four prevailing forage grasses in natural pasture of Viçosa-MG. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 9-17. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008000100002>
- Beauchemin, K., Kachanoski, R., Schaalje, G., y Buchanan-Smith, J. G. (1990). Characterizing rumination patterns of dairy cows using spectral analysis. *J. Animal Science*, 68, 3163-3170.
- Beretta, V., Simeone, A., y Bentancur, O. (2013). Manejo de la sombra asociado a la restricción del pastoreo: efecto sobre el comportamiento y performance estival de vacunos. *Agrociencia Uruguay*, 17(1), 131-140.
- Bernardis, A., Roig, C., Balbuena, O., y Fernández, J. (2003). Ganancia de peso vivo de novillos en pastura cultivada de *Hemarthria altissima*. *Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Resumen: A-068.
- Bruniard, E. D. (2000). Los regímenes climáticos y la vegetación natural. Aportes para un modelo fitoclimático mundial. *Academia Nacional de Geografía*. Buenos Aires, Argentina. *Publicación Especial*, 16, 79.
- Burns, J. C. (1978). Antiquality factors as related to forage quality. *Journal of Dairy Science*, 61, 1809–1820. <https://doi.org/10.3168/jds>
- Burns J. C., Fisher, D. S., Mayland, H. F. (2001). Preference by sheep and goats among hay of eight tall fescue cultivars. *Journal of Animal Science* 79(1), 213
- Buxton, D. R., y Fales, S. L. (1994). Plant environment and quality. In G. C. Fahey Jr. (Ed.), *Forage Quality, Evaluation and Utilization* (pP. 155-199). Madison, USA.

- Chaparro, C. J. (2005). Simposio del norte AAPRESID. Corrientes, 24-26 de agosto de 2005.
- Chaparro, C. J., Zamperetti, M., y Quintana, R. O. (1998). Recría a corral de terneros destetados precozmente. *Ganadería del NEA. Avances en Nutrición Animal*, INTA.
- Chiossone, G. (2006). Sistemas de Producción Ganaderos del Noreste Argentino; Situación actual y propuestas tecnológicas para manejar su productividad. X *Seminario de Pastos y Forrajes 2006*.
- Chiossone, G., y Airaldo, P. (2001). Un caso de aplicación de técnicas de Manejo de Pastizales Naturales: Establecimiento La Tabá, San Cristóbal. In *Proceedings of the 1° Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales*. INTA, San Cristóbal, Santa Fe.
- Coleman, S. W., Moore, J. E., y Wilson, J. R. (2004). Quality and utilization. In L. E. Moser, B. L. Burson, y L. E. Sollenberger (Eds.), *Warm-Season (C4) Grasses* (pP. 267-303). ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Cortez de Lucena, K., Catian, G., y Lempp, B. (2017). Características morfológicas e químicas de láminas foliares de *Paspalum* spP. *Revista de Biología Neotropical*, 14(1), 1-10.
- Crampton, E. W., Donefer, E., y Lloyd, E. L. (1960). Un índice de valor nutritivo para forrajes. *Journal of Animal Science*, 19(2), 538–544.
- De Fina, A. L., y Ravelo, A. C. (1985). *Climatología y fenología agrícola* (4ª Ed.). Editorial Universitaria de Buenos Aires. Argentina.
- De León, M. (2003). El Manejo de los Pastizales Naturales. *Boletín Técnico Producción Animal*, EEA Manfredi, Año I, Nº 2 y 3.
- Delssin, E., Luisoni, L., Castro, H., Zehnder, R., Correa Luna, M., Lacelli, G., Secanell, E., Rearte, D., Damen, D., Hein, N., Vottero, D., Andreo, N., Periche, S., y Germain, G. (1997). Diagnóstico de la ganadería de carne en la Pcia. de Santa Fe; Modelos de sistemas productivos actuales y mejorados. Centro Regional Santa Fe, EEA Reconquista, Rafaela y Oliveros.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. *InfoStat versión 2018*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>
- Ellis, R. P. (1976). A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae*. I. The leaf blade as viewed in transverse section. *Bothalia*, 12, 65-109.
- Ellis, R. P. (1979). A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae*. II. The epidermis as seen in surface view. *Bothalia*, 12, 641-671.
- Evans, P. S. (1967). Leaf strength studies of pasture grasses. II. Strength, cellulose content and sclerenchyma tissue proportions of eight grasses grown as single plants. *The Journal of Agricultural Science*, 69, 175-181. <https://doi.org/10.1017/S0021859600018566>
- Evers, G. W., y Burson, B. L. (2004). Dallisgrass and other *Paspalum* species. In L. E. Moser, B. L. Burson, y L. E. Sollenberger (Eds.), *Warm-season (C4) Grasses* (pP. 681-713). Madison.

- García, L. F., Portes Silva, G., Vera, G. E., Lima Goulart, L. B., Santos Días, C. T., y Carneiro da Silva, S. (2021). Central rib and the nutritive value of leaves in forage grasses. *Scientific Reports*, 11, 5440-5457.
- Gastal, F., y Lemaire, G. (2002). Absorción y distribución de N en cultivos: una perspectiva agronómica y ecofisiológica. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 789-799.
- Greenhalgh, J. F. D., y Reid, G. W. (1967). Separating the effects of digestibility and palatability on food intake in ruminant animals. *Nature*, 214, 744.
- Gregorini, P., Eirin, M., Wade, M. H., Refi, R., Ursino, M., Ansin, O. E., Masino, C., Agnelli, L., Wakita, K., y Gunter, S. A. (2007). The effects of a morning fasting on the evening grazing behavior and performance of strip-grazed beef heifers. *The Professional Animal Scientist*, 23, 642-648.
- Hanna, W., Chaparro, C. J., Mathews, B., Burns, J., Sollenberger, L., y Carpenter, J. R. (2004). Perennial *Pennisetums*. In *Warm-season (C4) Grasses* (pP. 503-535).
- Hare, M. D., Booncharern, P., Tatsapong, P., Wongpichet, K. C., Kaewkunya, y Thummasaeng, K. (1999). Performance of para grass (*Brachiaria mutica*) and Ubon *paspalum* (*Paspalum atratum*) on seasonally wet soils in Thailand. Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand. *Tropical Grasslands*, 33, 75-81.
- Hattersley, P. W., y Brown, R. H. (1989). Leaf Anatomy of C3-C4 Species as Related to Evolution of C4 Photosynthesis. *Plant Physiology*, 91, 1543-1550.
- Heinzen, F., Ramos, J., y Tivano, J. C. (2002). Anatomía Cuantitativa Comparada de Algunas Especies de Gramíneas de la Provincia de Santa Fe. *Revista FAVE - Morfología Vegetal*, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, 1(2), 57-63.
- Hernández, L., Barral, H., Halffter, G., y Sánchez-Colón, S. (1999). A note on the behavior of feral cattle in the Chihuahuan Desert of México. *Applied Animal Behaviour Science*, 63, 259-267.
- Hernández, I., Benavides, J. E., y Simón, L. (1999). Manejo de las defoliaciones de *Leucaena leucocephala* para la producción de forraje en el período seco en Cuba. 2. Efecto de podas únicas en el valor nutritivo. *Pastos y Forrajes*, 22(2).
- Hodgson, J. (1990). *Grazing management: Science into practice* (Ed. Whittmore, Simpson). New York, USA: Longman Scientific Technical.
- Holmes, W. (1989). Grazing management. In W. Holmes (Ed.), *Grass: its production and utilization* (pP. 130-172). Blackwell Scientific Publications, London, UK.
- Hoyos, P., y Lascano, C. (1988). Valor nutritivo y preferencia por especies forrajeras nativas en sabanas bien drenadas de los Llanos Orientales de Colombia. *Pasturas Tropicales*, 10, 2-7.
- Hutchings, N. J., y Gordon, I. J. (2001). A dynamic model of herbivore-plant interactions on grasslands. *Ecological Modelling*, 136(2-3), 209-222.
- INTAInforma. (2014). Recuperado de <https://intainforma.inta.gob.ar/con-casi-10-m-de-cabezas-el-nea-fortalece-a-la-ganaderia-argentina/>

- Kalmbacher, R. S., Brown, W. F., Colvin, D. L., Dunavin, L. S., Kretschmer Jr., A. E., Martin, F. G., Mullahey, J. J., y Rechcigl, J. E. (1997). Suerte atra *Paspalum*, its management and utilization. Circular S-397. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, FL, USA.
- Ledesma, L. L., y Zurita, J. J. (1995). Los Suelos de la E.E.A Colonia Benítez "Dr. Augusto G. Schulz" Provincia del Chaco. INTA. EEA Presidencia Roque Sáenz Peña (Chaco). Ediciones INTA.
- Lemaire, G., Da Silva, S. C., Agnusdei, M., Wade, M., y Hodgson, J. (2009). Interactions between leaf lifespan and defoliation frequency in temperate and tropical pastures: a review. *Grass and Forage Science*, 64, 341-353.
- Lempp, B., y Morais, M. G. (2005). Qualidade de Plantas Forrageiras. In *Anais do ZOOTEC: Produção Animal e Responsabilidade*, 24-27 de Maio, Campo Grande, MS, 19.
- Li, W., Wang, K., y Chern, M. (2020). Sclerenchyma cell thickening through enhanced lignification induced by *OsMYB30* prevents fungal penetration of rice leaves. *New Phytologist*, 226, 1850-1863. <https://doi.org/10.1111/nph.16505>
- Ludlow, M. M., y Wilson, G. L. (1971). Photosynthesis of tropical pasture plants. 2. Temperature and illuminance history. *Aust. J. Biology Science*, 24, 1065-1076.
- Luque, R., Sousa, H. C., y Kraus, J. E. (1996). Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado- e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra de alcão 8 GS ou 8 GX. *Acta Bot. Bras.*, 10, 199-212.
- MacAdam, J. W., y Myland, H. F. (2003). The relationship of leaf strength to cattle preference in tall fescue cultivars. *Agronomy Journal*, 95, 414-419.
- Makkar, H. P. S. (2006). Ensayos químicos y biológicos para la cuantificación de los principales metabolitos secundarios de las plantas. En *Herbívoros: evaluación de la ingesta, digestibilidad y funciones de los compuestos secundarios* (pP. 235-249). Nottingham University Press.
- Marcón, F., Urbani, M., Quarín, C., y Acuña, C. (2018). Caracterización agronómica de *Paspalum atratum* Swallen y *P. lenticulare* Kunth. *Tropical Grasslands-Forrajeras Tropicales*, 6(2), 70-81.
- Marten, G. C. (1978). The animal-plant complex in forage palatability phenomena. *Journal of Animal Science*, 46(5), 1470-1477. <https://doi.org/10.2527/jas1978.4651470x>
- Martuscello, J. A. (2004). Influência da Anatomia e da Morfologia na Qualidade de Gramíneas Forrageiras Tropicais. *Forragicultura e Pastagem*.
- Maur, J., Techio, V. H., Davide, L. C., y Pereira, D. L. (2015). Forage quality in cultivars of *Brachiaria* spP.: Association of lignin and fibers with anatomical characteristics. *Australian Journal of Crop Science*, 9(12), 1148-1153.
- Maur, J., Pereira, D. L., Silva, G. A., Davide, L. C., Techio, V. H., Sobrinho, F. S., y Pereira, F. J. (2019). Forage potential of *Urochloa* genotypes by using leaf anatomy. *Ciência Rural*, Santa Maria, 49(04), e20170266.

- Mislevy, P., y Dunavin, L. S. (1993). Management and utilization of bermudagrass and bahiagrass in South Florida. 42nd Annual Florida Beef Cattle short course Proc., Gainesville, Florida.
- Mitchell, R. F., y Ken, J. (2001). Predicting forage quality in switchgrass and big bluestem. *Agronomy Journal*, 93, 118-124.
- Moore, K. J., y Jung, H. G. (2001). Lignin and fiber digestion. *Journal of Range Management*, 54, 420-430.
- Moser, L. E., Burson, B. L., y Sollenberger, L. E. (2004). Warm-season (C4) grass overview (pP. 1-14). Madison, WI: ASA-CSSA-SSSA.
- Metcalfe, C. R. (1960). *Anatomy of the Monocotyledons*, Vol. 1, Gramineae. Clarendon Press, Oxford.
- Nowak, R. M. (1991). *Walker's mammals of the world*. The Johns Hopkins University Press. <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/index.html>
- Oliveira, R. C. (2004). O genero *Paspalum* L., grupo Plicatula (Poaceae) no Brasil. *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brazil.
- Oprandi, G., Colombo, F., y Parodi, M. (2009). Grama Rhodes, una alternativa productiva para los sistemas ganaderos del norte de Santa Fe, Argentina. *Revista Voces y Ecos*, 31, 26-27.
- Paciullo, D. S. C., Gomide, J. A., Queiroz, D. S., da Silva, E., y Monteiro, A. (2001). Composição Química e Digestibilidade In Vitro de Lâminas Foliares e Colmos de Gramíneas Forrageiras, em Função do Nível de Inserção no Perfilho, da Idade e da Estação de Crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia (Suplemento 1)*, 30(3), 964-974.
- Paciullo, D. S. C. (2002). Características Anatômicas Relacionadas ao Valor Nutritivo de Gramíneas Forrageiras. *Ciência Rural, Santa Maria*, 32(2), 357-364.
- Palacio Liesa, J. (2002). La relación hombre-animal en la especie vacuna. *Universidad de León. Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria*, Univ. de León, 103-107.
- Pizzio, R. M. (2001). Caracterización y uso de los pastizales de la provincia de Corrientes. En *1° Congreso Nacional sobre Manejo de Pastizales Naturales*, San Cristóbal, Santa Fe.
- Provenza, F. D. (1995). Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. *Journal of Range Management*, 48(1), 2-17.
- Pueyo, J., y Gómez, C. A. (2005). Provincia de Formosa; Sist. Producción Ganaderos, algunas propuestas de cambio. En *3° Congreso Nac. Sobre Manejo de Pastizales Naturales*, Paraná, Entre Ríos.
- Quarín, C. L., Valls, J. F. M., y Urbani, M. H. (1997). Cytological and reproductive behaviour of *Paspalum atratum*, a promising forage grass for the tropics. *Tropical Grasslands*, 31, 114-116.
- Queiroz, D. S., Gomide, J. A., y Maria, J. (2000). Avaliação da Folha e do Colmo de Topo e Base de Perfilhos de Três Gramíneas Forrageiras. 1. Digestibilidade in vitro e Composição Química. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 53-60.

- Rae, A. L., Brougham, R. W., y Barton, R. A. (1964). A note on liveweight gains of sheep grazing different ryegrass pastures. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 7, 491-495.
- Ramos, J. A., Mendoza, M. G. D., y Aranda, I. E. (1998). Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. *Animal Feed Science Technology*, 70, 249-256.
- Roche, R., Menéndez, J., y Hernández, J. E. (1990). Características morfológicas indispensables para la Clasificación de Especies del Género *Brachiaria*. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "indio Hatuey", Matanzas, Cuba. *Pastos y Forrajes*, 13(3), septiembre-diciembre.
- Ruzin, S. E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, New York.
- Sampedro, D. (2018). *Cría vacuna en el NEA*. Primera edición. Sitio Argentino de Producción Animal. Ediciones INTA.
- Sanchês, S. S. C., Araújo, R. A., Rodrigues, R. C., Costa, C. dos S., Santos, F. N., Silva, I. R. da, Jesus, A. P. R. de, y Lima, N. M. (2018). Quantitative anatomy and in situ ruminal degradation parameters of elephant grass under different defoliation frequencies. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 19, 166-177. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402018000200003>
- Scarlato, S., Carriquiry, M., Do Carmo, M., Faber, A., Genro, C., Laca, E., y Soca, P. (2012). Foraging behavior of beef cows grazing native grassland: Effect of herbage allowance on temporal and spatial grazing patterns. *Journal of Animal Science*, 90(3), 502.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675.
- Slanac, A. L., Balbuena, O., Peichoto, M. C., y Kucseva, C. D. (2022). Digestión de láminas foliares de *Paspalum notatum* sometidas a diferentes tiempos de incubación ruminal en bovinos. *Revista Veterinaria*, 33(2), 128-135.
- Sollenberger, L. E., Vendramini, J. M. B., Pedreira, C. G. S., y Rios, E. F. (2020). Warm-season grasses for humid areas. In K. J. Moore, M. Collins, C. J. Nelson, y D. D. Redfearn (Eds.), *Forages: The Science of Grassland Agriculture* (7th ed., Vol. II, pP. 331-346). Wiley, West Sussex.
- Stobbs, T. H. (1977). Seasonal changes in the preference by cattle for *Macroptilium atropurpureum* cv. Siratro. *Tropical Grasslands*, 11, 87-91.
- Strahler, A. N., y Strahler, A. H. (1997). *Geografía Física* (3rd ed.). Editorial Omega.
- Tarazona, A. M., Ceballos, M. C., Naranjo, J. F., y Cuartas, C. A. (2012). Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. Sitio Argentino de Producción Animal.
- Tivano, J. C., y Heinzen, F. A. (1996). Anatomía cuantitativa en 3 cultivares de *Dichanthium aristatum* (Poiret) C. E. Hubbard (Poaceae) para inferir su valor forrajero. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 101, 15-23.

- Toll Vera, J. R. (2016). *Grama Rhodes: Centenario de su liberación en Argentina 1916-2016*. Publicación Conmemorativa. Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Agronomía y Zootecnia.
- Valtorta, S. E., Comerón, E. A., Romero, L. A., Migliore, C., Estrada, M. de, Aronna, M. S., y Quaino, O. A. (2003). Comportamiento de vacas Holando, Jersey sus cruizas durante la época estival: 2, Efecto de las variables meteorológicas y el tiempo.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminants* (2nd ed.). Ithaca: Cornell University.
- Volenec, J. J., y Nelson, J. (2020). Carbon metabolism in forage plants. In K. J. Moore, M. Collins, C. J. Nelson, y D. D. Redfearn (Eds.), *Forages: The Science of Grassland Agriculture* (7th ed., Vol. II, pP. 65-84). Wiley, West Sussex.
- Wilson, J. R. (1976). Variación de las características de las hojas con el nivel de inserción en un macollo de pasto. III. Relaciones hídricas entre los tejidos. *Revista Australiana de Fisiología Vegetal*, 4(5), 733-743.
- Wilson, J. R. (1993). Organization of forage plant tissue. In H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield, y J. Ralph (Eds.), *Forage cell wall structure and digestibility* (pP. 1-27). ASA, CSSA, SSSA.
- Wilson, J. R. (1994). Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 122(2), 173-182.
- Wilson, J. R., y Brown, R. H. (1991). Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 39, 31-48.
- Wilson, J. R., y Hacker, J. B. (1987). Digestibilidad comparativa y anatomía de algunas gramíneas simpátricas C3 y C4 de zonas áridas. *Revista Australiana de Investigación Agrícola*, 38(2), 287-295. <https://doi.org/10.1071/AR9870287>
- Wilson, J. R., y Hatfield, R. D. (1997). Cambios estructurales y químicos de los tipos de pared celular durante el desarrollo del tallo: Consecuencias para la degradación de la fibra por la microflora del rumen. *Revista Australiana de Investigación Agrícola*, 48(2), 165-180. <https://doi.org/10.1071/A96051>
- Wilson, J. R., y Hattersley, P. W. (1989). Caracteres anatómicos y digestibilidad de hojas de *Panicum* y otros géneros de gramíneas con vía fotosintética de C3 y diferentes tipos de C4. *Revista Australiana de Investigación Agrícola*, 40(1), 125-136.
- Wilson, J. R., Anderson, K. L., y Hacker, J. B. (1989). Dry matter digestibility in vitro of leaf and stem of Buffel Grass (*Cenchrus ciliaris*) and related species and its relation to plant morphology and anatomy. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40, 281-291.
- Zhang, J. M., Hongo, A., y Akimoto, M. (2004). Fuerza física y su relación con las características anatómicas de las hojas de nueve gramíneas forrajeras. *Australian Journal of Botany*, 52, 799-804.
- Zuloaga, F. O., y Morrone, O. (2005). Revisión de las especies de *Paspalum* para América del Sur Austral (Argentina, Bolivia, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Missouri Botanical Garden Press*.

Zuloaga, F. O., Rúgolo de Agrasar, Z. E., y Anton, A. M. R. (2012). *Flora Argentina: Flora vascular de la República Argentina*. Gráficamente Ediciones, Córdoba, Argentina.

Anexo**Figura A. 1** Trasplante a bandejas.**Figura A. 2** Preparación del lote.**Figura A. 3** Trasplante a las parcelas.**Figura A. 4** Parcelas.



Figura A. 5 Animales comiendo en las parcelas.



Figura A. 6 Muestreo de las parcelas.



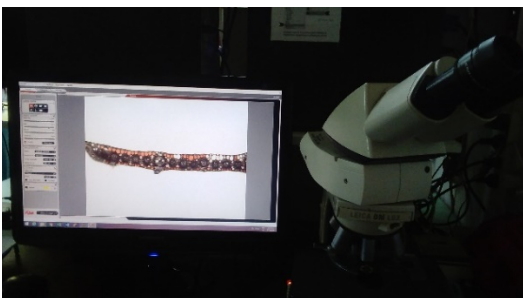
vegetal en frascos con líquido fijador.

Figura A. 7 Trabajo en laboratorio: Material



láminas foliares.

Figura A. 8 Trabajo en laboratorio: corte de



fotografías de cortes foliares.

Figura A. 9 Trabajo en laboratorio: Toma de

Distribución de las parcelas:

El ensayo se realizó dentro del jardín de pasturas de la Estación Experimental Agropecuaria Colonia Benítez.



Identificación por números:

- 1: *Paspalum atratum* cv. Cambá -FCA
- 2: *P. atratum* U39
- 3: *P. atratum* U42
- 4: *P. atratum* U44
- 5: *Brachiaria brizantha* cv. Marandú
- 6: *P. atratum* N153
- 7: *P. atratum* N164
- 8: *Chloris gayana* cv. Callide