

**CALIDAD NUTRITIVA DE LÁMINAS DE GRAMÍNEAS MEGATÉRMICAS DE
DIFERENTE HÁBITO DE CRECIMIENTO EN RELACIÓN AL ENVEJECIMIENTO Y
TAMAÑO FOLIAR**

Nenning, Fernando Ramón

Trabajo de tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al grado de
MAGÍSTER SCIENTIAE EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Mar del Plata

Estación Experimental Agropecuaria Balcarce – INTA

Balcarce, Argentina

Agosto de 2009

**CALIDAD NUTRITIVA DE LÁMINAS DE GRAMÍNEAS MEGATÉRMICAS DE
DIFERENTE HÁBITO DE CRECIMIENTO EN RELACIÓN AL ENVEJECIMIENTO Y
TAMAÑO FOLIAR**

Nenning, Fernando Ramón

Comité Consejero:

Agnusdei, Mónica G. Ing. Agr., Dra.

Directora de Tesis

Di Marco, Oscar. Ing. Agr., Ph. D.

Co – Director

Aello, Mario. Ing. Agr.

Asesor

**CALIDAD NUTRITIVA DE LÁMINAS DE GRAMÍNEAS MEGATÉRMICAS DE
DIFERENTE HÁBITO DE CRECIMIENTO EN RELACIÓN AL ENVEJECIMIENTO Y
TAMAÑO FOLIAR**

Nenning, Fernando Ramón

Aprobada por

Agnusdei, Mónica G. Ing. Agr., Dra.

Directora de Tesis

Arelovich, Hugo M. Ing. Agr. Ph. D.

Evaluador Externo

DEDICATORIA

A mi señora “Liliana” y mis hijas “Angie y Lara”, por su amor, compañía y brindarme una inmensa fortaleza durante estos años; a mi madre “Elsa”, por su sacrificio, apoyo y continua inyección de amor y tranquilidad durante la maestría; a mis hermanos y sobrinos por su apoyo constante; y finalmente a mi padre que siempre me esta guiando desde el cielo.

AGRADECIMIENTOS

A “Mónica” por su confianza, consejos y por guiarme durante todo este desafío.

Al “Cachi y Marito”, por su amistad, por los inolvidables mates y reuniones de la mañana, por sus sugerencias y enseñanzas en la docencia y por estar siempre dispuestos a colaborar en la escritura de la tesis.

A mis grandes amigos “Leandro, Felipe, Nicolás, Mariano y Pancho”, por su enorme apoyo, aliento e inolvidables conversaciones y reuniones que quedarán en nuestros recuerdos.

Al Cangí, por su amistad, consejos, y por abrirnos las puertas de su casa para compartir esas inolvidables cenas entre amigos.

A Fernando Lattanzi y Germán Berone, por su amistad y estar siempre dispuesto a discutir y corregir mis adelantos.

A Marita, por su amistad, colaboración, su infaltable llegada y escala a la oficina Mega Solution, por sus sahumeros que intoxicaban la mañana y sus continuos avisos para aprovechar las ofertas de buenos vinos.

A Gloria Monterrubianesi, por su voluntad y colaboración en los análisis estadísticos.

A Julia, Luciana y Verónica, por estar siempre dispuestas a ayudar en el experimento.

A todo el Grupo de Producción y Utilización de Pasturas, Alejandra, Jorge, Marta y Silvia, por brindar su apoyo y sugerencias al ensayo. A Oscar, el Viejo, Martín Josesito, Lalo, Miriam, Tito y Quico, por su amistad, ayuda, los mates y conversaciones de las mañanas y las inolvidables peñas de los viernes.

A Adriana Cano, por estar siempre dispuesta a atender nuestras interminables consultas sobre SAS.

A Gustavo y Delfina, por su amistad y apoyo de siempre.

A la familia Marchena, por brindarme su amistad y formar parte de mi familia Balcarceña.

A los chicos del Chinchorro: Lili, Roma, Pato Z., Mechi, Pablo B., Cazón, El Tio Vittone, El Niño Vaccaro, Agustina, Juliana, Jorgelina, Marquitos, Pato Ricci, Gabi, Lore, Ingrid, Joaquín D., Arantxi, Jorge Lucero, Pomelo, Francisco, José G., Carlos Maglietti, Demián, Carlitos Garro, Adriana y Roxana.

A los chicos del Casino: Anita, Laura, Romina, Florencia, Mariel, la Flaca, Marcelo, Mike, Martín, Ernesto, Ramón y Sebastián, por el apoyo y compañía durante los días casineros.

Al finalizar esta Tesis, la vida ya se había llevado a una de las grandes personas que me regalo este Posgrado, gracias "Feli" por dejarme ser tu amigo y gracias vida por permitir conocerlo. Tu ejemplo de vida perdurará entre nosotros.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis.....	2
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Características generales de las especies.....	4
2.2. Características del crecimiento y desarrollo en hojas de gramíneas	5
2.2.1. Sitio de crecimiento	5
2.2.2. Formación de la hoja.....	6
2.2.3. Factores que afectan el crecimiento foliar.....	7
2.3. Morfogénesis de las hojas.....	8
2.3.1. Vida media foliar.....	8
2.3.2. Largo foliar final	9
2.4. Características anatómicas de las hojas de gramíneas	11
2.4.1. Pared Celular.	11

2.4.2. Tejidos	12
2.5. Calidad nutritiva de las gramíneas forrajeras	14
2.5.1. Concepto	14
2.5.2. Digestibilidad del forraje	14
2.5.3. Aspectos que determinan la digestibilidad de la FDN	16
2.5.3.1. Cambios químicos de la pared	16
2.5.3.2. Cambios físicos de la pared	17
2.6. Parámetros predictivos de calidad forrajera	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Sitio y período experimental	20
3.2. Condiciones climáticas	20
3.3. Experimento	21
3.3.1. Muestreos no destructivos	21
3.3.2. Muestreos destructivos	23
3.4. Procesamientos de las muestras	25
3.5. Análisis de FDN y Digestibilidad	26
3.6. Diseño experimental	27
3.7. Análisis estadísticos	27
4. RESULTADOS	28
4.1. Vida media y largo foliar final promedio	28
4.2. Ontogenia y fibra	28
4.2.1. Variaciones del contenido de FDN y FDNi	28
4.2.2. Variaciones del contenido de FDN y FDNi en las distintas fases de la ontogenia foliar	31
4.2.2.1. Fase de elongación foliar	32
4.2.2.2. Contenido de FDN y FDNi al momento de alcanzar el LFF	36
4.2.2.3. Efecto de la madurez foliar en el contenido de FDN y FDNi	38

4.3 Relación entre parámetros de calidad.....	40
4.3.1 Contenido de FDN y digestibilidad de la FDN.....	40
4.3.2 Relación entre digestibilidad de la FDN con la DVMS y la DegMS.....	42
5. DISCUSIÓN	41
6. CONCLUSIONES.....	51
7. BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Contenido promedio de tejidos como porcentaje (%) total del área seccionada, en láminas y tallos de gramíneas C3 y C4. Adaptado de Wilson (1990)..15	15
Cuadro 2: Parámetros de la función exponencial ajustada a las 3 generaciones de Pangola y Grama. El análisis fue hecho con FDN y FDNi (%) respecto del tiempo térmico (GDC), desde emergencia hasta el inicio de la senescencia de la primera generación.....31	31
Cuadro 3: Componentes de la regresión entre FDN y GDC o longitud acumulada visible en las 3 generaciones de láminas de Pangola y Grama en la fase de elongación foliar.....34	34
Cuadro 4: Componentes de la regresión entre FDNi y GDC o longitud acumulada visible en las 3 generaciones de láminas de Pangola y Grama en la fase de elongación foliar.....36	36
Cuadro 5: Concentración promedio de FDN y FDNi (%) al momento de alcanzar el LFF en generaciones sucesivas (G) de Grama y Pangola.....37	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Temperatura media diaria en el invernáculo (♦) y en la estación meteorológica (○) durante el período de muestreo.....	21
Figura 2: Estado ontogénico de las hojas según generación y número de cosecha en ambas especies: (♦) hoja recién aparecida, (■) hoja en crecimiento, (▲) hoja expandida, (●) hoja adulta, (□) hoja adulta a punto de senescer y (×) hoja senesciendo. (*) Generaciones descartadas.	25
Figura 3: Longitud acumulada visible (cm) de las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) de Pangola (líneas punteadas) y Grama (líneas continuas), en función del tiempo térmico, expresado en grados días de crecimiento acumulados (GDC). Temperatura base utilizada (T _b) 8 °C y 12 °C para Pangola y Grama respectivamente. Los símbolos llenos indican aparición de lígula.....	28
Figura 4: Curvas de concentración promedio de FDN con el tiempo térmico (GDC) para las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las curvas se presentan en el Cuadro 2.....	29
Figura 5: Curvas de concentración promedio de FDNi con el tiempo térmico (GDC) para las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las curvas se presentan en el Cuadro 2.....	30

Figura 6: Concentración promedio de FDN en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 3.....33

Figura 7: Concentración promedio de FDN en relación a la longitud foliar durante la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola (símbolos grises) y b) Grama (símbolos vacíos). Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 3.....33

Figura 8: Concentración promedio de FDNi en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 4..... 35

Figura 9: Concentración promedio de FDNi en relación a la longitud foliar en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola (símbolos grises) y b) Grama (símbolos vacíos). Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 4.....35

Figura 10: Concentración de FDNi en las generaciones foliares 1 (◆), 2 (■) y 3 (▲) al momento de aparición de lígula en a) Pangola y b) Grama. Ecuación de a): $y = 2,32x + 19,21$ (ns) $R^2 = 0,22$ y de b): $y = 7,18x + 26,27$ (*) $R^2 = 0,88$. (ns) no significativo ($p > 0,05$); (*) significativo ($p < 0,05$).....37

Figura 11: Concentración promedio de FDN con el tiempo térmico (GDC) en la fase madurez de las láminas, para las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Ecuación de a): $y = -0,004x + 48$ (ns) y de b): $y = 0,008x + 54$ (ns). Temperatura base= 8 °C Pangola y 12 °C grama. Los símbolos llenos indican aparición de lígula, (ns) no significativo ($p > 0,05$).....38

Figura 12: Concentración promedio de FDNi en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de madurez de las láminas para las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Temperatura base= 8 °C Pangola y 12 °C grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Ecuación general de a): $y = 0,019x + 20,72$ (ns) $R^2 = 0,26$ y de b) (◇): $y = 0,036x + 28,2$ (*) $R^2 = 0,81$; (□): $y = 0,031x + 34,6$ (*) $R^2 = 0,60$. (*) significativo ($p < 0,05$); (ns) no significativo ($p > 0,05$). Nota: En la generación 3 (Δ) de ambas especies se dispone sólo de 2 puntos, por lo que la misma se dejó fuera del análisis de regresión.....39

Figura 13: Contenido de FDNi y largo foliar final (LFF) durante la fase de madurez foliar de las generaciones foliares 1 (◆), 2 (■) y 3 (▲) de a) (Pangola) y b) (Grama). Ecuación de a): $y = 3,29x + 4,92$ (ns) $R^2 = 0,10$ y b): $y = 1,06x - 6,58$ (*) $R^2 = 0,60$. (*) significativo ($p < 0,05$); (ns) no significativo ($p > 0,05$).....40

Figura 14: Relación entre la DFDN y la FDN para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) de a) Pangola y b) Grama. Ecuación de b): $DFDN = -1,70 x + 146,40$, $R^2 = 0,73$40

Figura 15: Relación entre la Digestibilidad verdadera de la MS (DVMS) (llenos) y la Degradabilidad de la MS (DegMS) (vacíos) en función de la Digestibilidad de la FDN (DFDN), durante la ontogenia de las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) de a) Pangola y b) Grama. Ecuaciones de a): $DVMS=0,47x+53,01$ $R^2=0,77$, $DegMS=0,18x+43,35$ $R^2=0,12$ y de b): $DVMS=0,64x+40,96$ $R^2=0,93$, $DegMS=0,57x+21,14$ $R^2=0,85$41

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue (i) estudiar la evolución del contenido de FDN y FDN indigestible (FDNi) en función de la edad y tamaño foliar en láminas sucesivas de dos gramíneas tropicales de diferente hábito de crecimiento y largo foliar potencial; y (ii) analizar las relaciones entre estos parámetros con la Digestibilidad Verdadera de la MS (DVMS) y con la degradabilidad in vitro de la MS (DegMS). Las especies estudiadas fueron Pasto Pangola (*Digitaria decumbens*) y Grama rhodes (*Chloris gayana*), en adelante denominadas Pangola y Grama, respectivamente. El ensayo se condujo en un invernáculo bajo condiciones naturales de radiación y disponibilidad no limitante de agua, P y N. Plantas adultas divididas en forma agámica fueron ubicadas en dos bateas de 1 m de ancho, 3,60 m de largo y 1m de profundidad, las cuales fueron cortadas regularmente durante la fase pre-experimental hasta que conformaron micro pasturas densas. El 06/10/06 se inició la etapa experimental mediante un corte general a 5 cm del suelo para homogenizar y sincronizar el crecimiento foliar. A partir de la emergencia de la primer lámina posterior al corte se iniciaron las mediciones de longitud de lámina verde y pseudotallo, aparición de hojas y número de hojas vivas por macollo, de lo cual se estimó la vida media foliar (VMF) y el largo foliar final (LFF). La primera cosecha de material, correspondiente a las láminas recientemente emergidas de la primera generación de hojas, se realizó luego del segundo corte (28/11/06). Este procedimiento continuó hasta realizar un total de 6 cosechas a lo largo de la VMF de 3 generaciones sucesivas de láminas. En las muestras molidas a 1mm se determinó el contenido de FDN y se incubaron in vitro por 24 h (equipo Daisy, ANKOM Tech.) para calcular la FDN indigestible (FDNi, o su complemento la digestibilidad de la FDN, DFDN), la digestibilidad verdadera de la MS (DVMS) y la degradabilidad in vitro de la MS (DegMS). Se ajustaron funciones exponenciales negativas (procedimiento NLIN de SAS) entre el contenido de FDN y de FDNi con los grados días de crecimiento (GDC)

a lo largo de toda la vida foliar. Adicionalmente, se realizaron ajustes lineales (procedimiento REG de SAS) para analizar la evolución de ambas variables en cada una de las fases de desarrollo foliar (elongación, aparición de lígula y madurez) y la relación entre las variables de calidad. Los parámetros se analizaron a través del procedimiento MIXED de SAS y la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para la comparación de medias. La longitud promedio de las láminas de Grama fue mayor que las de Pangola (458 ± 17 vs 68 ± 13 mm). El LFF de Grama aumentó entre generaciones de hojas sucesivas, no variando en Pangola. En ambas especies la acumulación de FDN y FDNi en función de los GDC fue descrita por una curva de saturación exponencial negativa. En Pangola el rango de las asíntotas para ambas variables, para un intervalo de confianza del 95% (IC95), fue de 46-48% y 22-36%, respectivamente. En Grama, la FDN se incrementó entre generaciones de hojas, con rangos para un IC95 de 45-47%, 49-52% y 54-57% para G1, G2 y G3, respectivamente. Igualmente, los rangos respectivos para la FDNi fueron 37-43%, 39-49% y 45-52%. La FDN permaneció estable en ambas especies durante la fase de madurez de las hojas. En cambio, mientras en Pangola no se observaron cambios significativos en la FDNi durante toda la vida foliar, las láminas de Grama continuaron acumulando FDNi aún en su madurez, o sea, una vez alcanzado el LFF. La FDN y FDNi presentaron una relación general positiva con la longitud de las láminas. En Grama ambas variables estuvieron positivamente asociadas entre ellas y negativamente con la DVMS, DegMS y DFDN. Se concluye que entre especies de hoja larga y corta hubo diferencias en el contenido de FDNi de las hojas adultas; que dicho parámetro, o su contraparte la DFDN, estuvo altamente asociada a las variaciones en la longitud de lámina, dentro y entre especies, y altamente asociada a la DVMS y la DegMS. El estudio de una especie C4 de tamaño foliar intermedio aportará información adicional sobre la eventual generalidad de este tipo de relaciones.

Palabras clave: digestibilidad de la FDN, envejecimiento foliar, grama rhodes, pasto pangola, tamaño foliar.

ABSTRACT

The study evaluated the pattern of NDF and indigestible NDF (NDFi) variation with age and leaf size of two tropical grasses with contrasting growth habit and potential leaf length. The relationship between these parameters with DM true digestibility (IVDMD) and in vitro DM degradability (DMDeg) was also evaluated. The studied species were Pangola grass (*Digitaria decumbens*) and Rhodes grass (*Chloris gayana*). The experiment was carried out in a greenhouse, with natural radiation and without of water, phosphorus and nitrogen restrictions. Individual adult plants were subdivided and planted in rafts of 1m wide, 3.6 m long and 1m height, and regularly clipped during the pre-experimental phase until dense micro-swards were obtained. The experimental phase started on 06/10/06 with a general cut at 5 cm from the soil level made in order to homogenize and synchronize leaf growth. Leaf appearance, leaf blade and sheath length, and number of living leaves were measured once the first leaf tips appeared after the initial cut. These data were used to estimate the leaf life span (LLS) and the final leaf length (FLL). The first harvest, corresponding to recently emerged leaf blades, was performed after the 28/11/06, once an appropriate amount of material was available. The procedure was repeated six times along the LLS of three successive leaf generations. The material was dried and analyzed for NDF and incubated *in vitro* for 24 h (Daisy, ANKOM tech.) to estimate the NDFi, NDF digestibility (NDFD), DMTIVD and DMDeg. Exponential negative functions were fitted (NLIN procedure of SAS) between FDN and FDNi content with GDC along LLS. Further, lineal functions (REG procedure of SAS) were used to analyze the pattern of both variables in each phase of leaf development (elongation, ligulae appearance and maturity) as well as the association between the quality variables. Parameters were analyzed with the MIXED procedure of SAS and Tukey test ($p < 0.05$) for mean comparisons was used. The average leaf blade length was 458 ± 17 in Grama and 68 ± 13 mm in Pangola. The FLL of the former

increased between successive leaf generations while not varying in the latter. In both species the accumulation of NDF and FDNi with the accumulated growing degree days (GDC) was described by a negative exponential saturation curve. In Pangola the asymptotes values for both variables were in a range of 46-48% and 22-36%, respectively, considering a confidence interval of 95% (CI95). In Grama grass, the NDF varied in ranges of (IC95) 45-47%, 49-52% y 54-57% for G1, G2 y G3, respectively. Respective ranges for NDFi were 37-43%, 39-49% y 45-52%. The NDF remained unchanged in both species after ligulae appearance (phase of leaf maturation). However, while in Pangola the NDFi did not change during the LLS, it increased in leaf blades of Grama grass during leaf maturity, even when the FLL was achieved. In Grama grass both variables were positively associated between them, and negatively related with NDFD, DMTIVD and DMDEg. It is concluded that adult leaf blades of long and short tropical grass species differed in NDFi; and that such parameter, or the DNDF, was highly dependent on variations in leaf length, within and between species, and it was highly associated with DMIVD and DMDEg. This kind of study with tropical species of medium leaf size will yield additional information to elucidate about the generality of these associations.

Keywords: Rhodes grass, Pangola grass, NDF digestibility, DM digestibility, DM degradability, leaf aging, leaf size.

1. INTRODUCCIÓN

Las estructuras indigestibles de los forrajes, como las de otras plantas, son parte de un complejo soporte funcional necesario para captar luz (Wilson, 1993), transportar agua (West, Brown y Enquist, 1999) y resistir las acciones del viento y otros factores ambientales (Niklas, 1988). Estas estructuras están conformadas por las paredes celulares de los distintos tejidos que forman la fracción fibrosa del forraje, la cual se hace cada vez más indigestible otorgando mayor rigidez a la planta. La fracción mencionada se estudia, desde el punto de vista nutricional, como fibra en detergente neutro (FDN; Van Soest, 1967; Wilson y Mertens, 1995).

La razón por la cual las plantas aumentan su capacidad de sostén y, por ende, la FDN se vuelve menos digestible (o indigestible, FDNi), es escasamente conocida (Van Soest, 1993; Mertens, 1993). No obstante, las evidencias indican que se forman progresivamente barreras químicas y físicas que afectan la penetración de los microbios ruminales (Engel 1989; Chesson, 1993; Wilson y Mertens, 1995). Por lo tanto, este proceso de formación de estructuras de sostén y organización interna de la pared celular, el cual conduce a la acumulación de FDNi, juega un rol central en la calidad del forraje (Mertens, 1993; Wilson y Mertens, 1995). Ello ocurre en las láminas, vainas y tallos de todas las especies forrajeras, como una respuesta física para evitar el colapso estructural de la pastura durante la acumulación de biomasa.

El efecto de la acumulación de estructuras indigestibles en la calidad nutritiva de láminas foliares de distintas especies está escasamente investigado. Su estudio es importante porque las láminas conforman la fracción de la biomasa forrajera de mayor digestibilidad (Hacker y Minson, 1981) cuya importancia en la selección y consumo voluntario de animales en pastoreo es bien reconocida. (Laredo y Minson, 1973; Chacon y Stobbs, 1976). Es escasa la información sobre la relación entre la longitud de esta fracción y su calidad nutritiva dentro del mismo estado vegetativo y de las

diferencias entre láminas de plantas de distinto hábito de crecimiento. Los pocos trabajos existentes indican que la digestibilidad de la FDN (DFDN) disminuye progresivamente desde la emergencia fuera del tubo de vainas o pseudotallos (Groot y Neuteboon, 1997), que la digestibilidad de la MS (DMS) disminuye desde la base hacia la punta de la lámina (Hirata, 1999) y que la DFDN y DMS disminuye con el aumento de tamaño de la vaina (Groot y Neuteboon, 1997; Duru y Ducrocq, 2002). Con respecto a este último punto Wilson (1993) plantea que las plantas más bajas producirían forraje de mayor calidad que las altas, pero esto no ha sido demostrado.

Lo expuesto precedentemente lleva a suponer que el porte o tamaño potencial de un genotipo definiría, en alto grado, la proporción de “tejido estructural” (FDN y FDNi). Esta dimensión arquitectural vincula el proceso de crecimiento y la arquitectura de las plantas con la calidad nutritiva del forraje, ofreciendo un marco conceptual interesante para desarrollar estudios orientados a predecir la evolución de la calidad nutritiva del forraje en gramíneas.

HIPÓTESIS

- El contenido de FDN y FDNi será mayor en las láminas de una especie de tamaño foliar potencial largo respecto de otra de hojas cortas.
- La acumulación de FDN y FDNi con el incremento de la edad foliar seguirá un mismo patrón en Grama y Pangola, pero Grama tendrá un techo más alto.
- Las generaciones sucesivas de láminas tendrán mayor contenido de FDN y FDNi en ambas especies.
- El contenido de FDN estará asociado a la edad y a la longitud foliar.
- El incremento de FDN se relacionará negativamente con la digestibilidad de la FDN, digestibilidad de la materia seca y degradabilidad de la materia seca.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el patrón de acumulación de FDN y FDNi en función de la edad y el tamaño foliar en generaciones sucesivas de hojas de gramíneas tropicales con diferente largo foliar potencial, y establecer la relación entre los parámetros mencionados y la calidad nutritiva de las láminas.

Para cumplir con este objetivo las especies elegidas fueron *Digitaria decumbens*, especie de hojas cortas, y *Chloris gayana*, especie de hojas largas (en adelante denominadas Pangola y Grama).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir variables morfogénicas y estructurales conjuntamente con la FDN, FDNi, digestibilidad y degradabilidad de la materia seca a lo largo de la vida foliar de tres generaciones sucesivas de hojas de ambas gramíneas C₄ de distinto tamaño potencial.
- Establecer la relación entre el contenido de FDN y FDNi con la edad térmica y largo foliar de las láminas de ambas especies.
- Analizar la relación entre el contenido de FDN/FDNi con la DFDN, DMS y DegMS.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS ESPECIES

El Pasto pangola (*Digitaria decumbens*), es nativo de la región tropical de África. El material vegetativo fue introducido en América a través de Hawai y Florida en 1935, y a partir de ahí distribuido en muchas regiones tropicales y subtropicales del continente (Fukumoto y Lee, 2003). Es una de las forrajeras más difundida en la región subtropical Argentina (Censo agropecuario, 2002). Se caracteriza por ser una especie rústica y adaptarse a condiciones climáticas adversas (sequías estivales y períodos de anegamiento), la producción de forraje es alta durante casi todo el año, con poca actividad durante el invierno por efecto de las bajas temperaturas.

Es una forrajera perenne, de crecimiento estival, de estructura estolonífera o rastrera, con “*hojas cortas*”, suspendidas en largos estolones que crecen sobre la superficie del suelo, los cuales poseen capacidad de generar raíces en los nudos que van desarrollando. Está adaptado a una amplia gama de suelos, pero con mejor desempeño en suelos pesados o arcillosos. Posee una floración que produce normalmente pocas semillas viables, cuya principal propagación es por medio agámico a través de los estolones (Humphreys y Partridge, 1995).

Gramma rhodes (*Chloris gayana*) es originaria de África y fue introducida en Estados Unidos en 1902 y, subsecuentemente, en muchos otros países de América. Es una gramínea perenne, de crecimiento estival, de estructura erecta o vertical con “*hojas largas*” (Bogdan, 1969). Adaptado a un amplio rango de suelos, destacado y conocida por su alta tolerancia a la salinidad (Pérez et al, 1999). Produce aproximadamente entre 8000 a 12000 kg MS/ha/año; su producción disminuye durante el invierno a pesar de su resistencia a las heladas, rebrotando rápidamente en los primeros días de la primavera (Humphreys y Partridge, 1995). Florece en el año de implantación y

produce gran cantidad de semillas; estas últimas, más la capacidad de generar estolones, favorecen la formación de una pastura (Bogdan, 1969).

2.2. CARACTERÍSTICAS DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE HOJAS DE GRAMÍNEAS

2.2.1. Sitio de crecimiento

En las gramíneas la elongación de las hojas esta restringida a la región basal, que está encerrada dentro de las vainas de hojas maduras, denominada “*zona de crecimiento*” (Kemp, 1980; Volenec y Nelson, 1981). El crecimiento de la hoja es ampliamente unidireccional, con un meristema basal produciendo paralelamente filas de células (MacAdam, Volenec y Nelson, 1989). Las células dentro de la fila son desplazadas, como resultado de la continua producción y elongación de nuevas células dentro de la misma fila. Simultáneamente, en su desplazamiento estas células van creciendo y diferenciándose (Schnyder et al., 1990). Los cambios que experimentan las células dentro de la zona de crecimiento, divide a la misma en tres regiones: la primera, que está confinada a la base, se llama “*zona de división*” y se destaca por las sucesivas divisiones celulares que dan origen a las mismas (MacAdam et al., 1989; Skinner y Nelson, 1994b). Continúa la “*zona de elongación*”, donde las células dejan de dividirse y aumentan de tamaño; aquí las células consiguen un alto consumo de agua (Schnyder y Nelson, 1987). La última, posterior a la cesación de la elongación de las células, se denomina “*zona de maduración*”, y está caracterizada por la deposición de pared secundaria (MacAdam y Nelson, 1987) y la formación del aparato fotosintético (Gastal y Nelson, 1994).

La zona de elongación es el principal sitio de deposición de agua, carbohidratos y nutrientes, aquí se acumula el 78% del total de materia seca (MS) depositada en la hoja. El 22% restante es depositado en la zona de maduración (Allard y Nelson, 1991). De esta MS depositada, la mitad es material estructural y la otra mitad forma parte de

los carbohidratos solubles (Schnyder y Nelson, 1987). Los carbohidratos almacenados como fructanos en la zona de elongación son la principal fuente de carbono para la formación de pared celular secundaria y lignina en la zona de maduración (Allard y Nelson, 1991; Nelson, 1992).

Algunos autores afirman que la deposición de MS finaliza en la zona de crecimiento (Skinner y Nelson, 1995), sin embargo otros autores sostienen que este proceso continua como consecuencia de engrosamiento de la pared secundaria (Engels y Schuurmans, 1992; Maurice, Gastal y Durand, 1997) y el almacenaje de asimilados en las partes de la hoja expuesta a la luz (Maurice et al., 1997).

2.2.2. Formación de la hoja

La regulación del crecimiento de una hoja de gramínea es un proceso complejo en el que interactúan factores intrínsecos de la planta con factores extrínsecos del ambiente. A partir del inicio del crecimiento de una nueva hoja, la lámina es la parte que primero se desarrolla dentro del tubo de vainas (Schnyder et al., 1990; Skinner y Nelson, 1994a).

La lígula es la transición entre lámina y vaina. La pequeña protuberancia que dará origen a la lígula se observa cuando la lámina alcanza el 20% de su tamaño final. Esto ocurre poco tiempo después que la punta de la lámina emerge sobre el tubo de vainas (Skinner y Nelson, 1994b), siendo la luz el mecanismo por el cual la longitud del tubo regula la longitud de la lámina (Skinner y Nelson, 1995). Se considera que este cambio espacial en el crecimiento de la hoja está regulado por el cambio en la calidad de la radiación incidente en los fotorreceptores de la hoja (Deregibus, Sánchez y Casal, 1983).

Seguida a la iniciación de la lígula, la vaina empieza a elongar lentamente llegando al 4% de su longitud final. Es este momento la lámina crece rápidamente alcanzando el 75% de su tamaño final. Durante la última fase de crecimiento elongan

simultáneamente la lámina y la vaina. Poco tiempo después la lámina deja de crecer y lo hace solamente la vaina, en este momento la lígula es desplazada de la zona de división. La longitud de la zona de división comienza a disminuir y la vaina elonga rápidamente hasta el 86% de su tamaño final, iniciándose la cesación de la división celular (Skinner y Nelson, 1994b).

Una importante conclusión a partir de lo expuesto, es que a mayor longitud de vaina de la hoja anterior, mayor será la longitud que tendrá la lámina de la hoja que está expandiendo (Wilson y Laidlaw, 1985; Duru y Ducrocq, 2002). Esto explica el tamaño pequeño de las primeras hojas después de la defoliación de las vainas más jóvenes existentes. En gramíneas de clima templado, el crecimiento de la vaina continúa hasta cuando la siguiente hoja empieza a desarrollarse. Este control intrínseco parece ser evidente en gramíneas forrajeras tropicales.

2.2.3. Factores que afectan el crecimiento foliar

En la regulación ambiental de la tasa de elongación de la lámina y vaina de la hoja intervienen múltiples factores, entre ellos: la temperatura (Duru y Ducrocq, 2000), la concentración de nitrógeno (Gastal y Nelson, 1994), y la cantidad de agua en el suelo (Schnyder y Nelson, 1987). El incremento de la temperatura aumenta la tasa de elongación (Lattanzi, Schnyder y Thornton, 2004) existiendo un rango óptimo para cada especie. El incremento del nitrógeno en la zona de elongación aumenta la tasa de elongación foliar (TEF) y por consecuencia el largo foliar. El nitrógeno depositado en la zona de elongación, es máximo en la zona de división (Gastal y Nelson, 1994), lo cual hace que las variaciones en contenido de nitrógeno afecten la TEF a través de la tasa de producción de células (MacAdam et al., 1989). La zona de elongación es el sitio de masivo influjo de agua a la elongación celular, por lo que las deficiencias hídricas disminuyen la TEF, principalmente por una disminución en su tamaño celular (Schnyder y Nelson, 1987).

2.3 MORFOGÉNESIS DE LAS HOJAS

2.3.1. Vida media foliar

La vida media foliar (VMF) se define como el período de tiempo durante el cual el nuevo tejido foliar aparecido permanece verde (Lemaire y Agnusdei, 2000). La senescencia del tejido foliar está genéticamente programada (Thomas y Stoddart, 1980), y una vez desencadenado el proceso, primero se dismantelan los cloroplastos mientras que estomas y floema permanecen activos hasta las últimas etapas (Feller y Fischer, 1994). La VMF, y por consecuencia la senescencia foliar, es influenciada por la temperatura de igual forma que la TEF. Al respecto, hojas que crecen a altas temperaturas pierden su capacidad fotosintética más rápidamente (Woledge y Jewiss, 1969), mientras que mayores longevidades se han observado a bajas temperaturas (Robson, 1972). De esta forma, cuando un macollo consigue su número máximo de hojas vivas, pasa a tener un equilibrio entre la tasa de aparición foliar (TAF) y la senescencia de las hojas que alcanzaron su vida media.

El número máximo de hojas vivas por macollo es una constante genotípica bastante estable (Davies, 1988); puede ser calculado como una VMF, expresado en número de intervalos de aparición de hojas. De este modo, *Lolium perenne*, que tiene un filocrono de 110 grados días acumulados o de crecimiento (GDC) y un máximo de 3 hojas vivas, presenta una VMF de alrededor de los 330 GDC (Lemaire, 1988). En pasto tanzania (*Panicum maximun*), Oliveira et al. (1999) observaron una vida media foliar de 380 GDC. Asimismo Vilela et al. (2005) en *Cynodon dactylon* cv. coastcross observaron 9.3 hojas vivas, para un filocrono de 50 GDC, representando una VMF de 465 GDC. En gramíneas, esta característica puede variar ampliamente de una especie a otra.

Si bien algunos autores (Calvière y Duru, 1995; Duru y Ducrocq, 2000) encontraron en *Dactylis glomerata* que la VMF se incrementó con el transcurso de la estación de crecimiento, en general, y en concordancia con lo observado para filocrono, se acepta

que el valor de VMF, expresado como tiempo térmico, es relativamente constante bajo un amplio rango de condiciones ambientales y de manejo (Lemaire y Chapman, 1996).

La deficiencia de N reduce apenas ligeramente la VMF (Gastal y Lemaire, 1988). A pesar de esto, la tasa de senescencia aumenta debido al pronunciado efecto del nitrógeno sobre la TEF y el tamaño de las hojas (Mazzanti y Lemaire, 1994). Aún así, el efecto del nitrógeno sobre la VMF es variable, dicha respuesta puede estar asociada a la especie, al estado de desarrollo del cultivo y a la época del año considerada (Davies, 1979; Pearse y Wilman, 1984). Asimismo, un aumento de la dosis de nitrógeno aplicado, necesita un adecuado ajuste del manejo del pastoreo, evitando llevar a un aumento de la senescencia o a un acumulo de material muerto en la pastura.

El conocimiento de la VMF es fundamental para el manejo del pastoreo. Por un lado indica el techo potencial de rendimiento de la especie (máxima cantidad de material vivo por área) y, por otro lado, es un indicador fundamental para la determinación de la intensidad de pastoreo en sistema continuos, o de la frecuencia de pastoreo en sistemas rotativos, que permitan mantener Índices de área foliar próximos a la mayor eficiencia de interceptación y máximas tasas de crecimiento (Hodgson, 1990; Mazzanti y Lemaire, 1994).

No se encontró en la bibliografía información sobre vida media de las especies en estudio; por tal motivo las especies *Panicum maximun* y *Cynodon dactylon* fueron utilizadas como referencia, dado la similar arquitectura y tamaño foliar con respecto a Grama y Pangola respectivamente.

2.3.2. Largo foliar final

Los factores determinantes del tamaño de la hoja (en adelante largo foliar final, LFF), según el esquema propuesto por Lemaire y Chapman (1996), son la TEF y la

TAF. La TAF está directamente correlacionada con el LFF, hojas de menor tamaño son asociadas a mayor tasa de aparición foliar. Lemaire y Agnusdei (2000) sostienen que el LFF es consecuencia del producto entre la duración de la elongación (DEF) y la TEF. Si se tiene en cuenta que la DEF es una fracción del filocrono (FIL) (Skinner y Nelson, 1994a), se puede decir que el LFF resulta del producto del FIL x TEF x a , donde el parámetro (a) indica el número de hojas que crecen simultáneamente en un macollo (Lemaire y Agnusdei, 2000).

Diversos trabajos en los que se evaluó niveles de nutrición nitrogenada (Marino, 1996; Lattanzi, 1998) y radiación incidente (Bahmani *et al.*, 2000), muestran que la variación encontrada en LFF es explicada mayormente por cambios en la TEF, mientras que el valor del filocrono permanece relativamente constante.

La altura de vaina es otro factor importante a ser observado (Wilson y Laidlaw, 1985), pues cuanto mayor sea este, mayor será la fase de multiplicación celular (más tiempo de la hoja que está en expansión será protegida por la vaina de la luz directa (Davies y Thomas, 1983) y, consecuentemente, mayor será el tamaño de la lámina (Duru y Ducrocq, 2000). Según trabajos de Pontes (2001), mayores alturas de pastoreo en raigrás propiciaron mayor longitud del tubo de vainas y, por consecuencia, también mayor tamaño de lámina foliar. Un comportamiento con esas características (tamaño de hojas) es un buen ejemplo de la relación existente entre características morfogénéticas y estructurales de la pastura, ya que las hojas de esas especies se presentarán más cortas a menores alturas por la reducción de la TAF, asociada al filocrono constante.

La longitud de la lámina foliar es una característica vegetal plástica a la intensidad de defoliación, siendo considerada una estrategia morfológica de escape de la planta al pastoreo (Lemaire y Chapman, 1996); por lo tanto, debido a este mecanismo, ocurre una disminución de la longitud del tubo de láminas en pastoreo sujetas a mayor intensidad de defoliación, conforme a lo observado por Egger (1999).

Debido a la respuesta lineal de la TAF a la temperatura, el tamaño de las hojas (relación TEF/TAF) aumenta con el incremento de la temperatura del ambiente y, a temperaturas similares, las hojas son mayores en la fase reproductiva que en la fase vegetativa (Nabinger y Pontes, 2001).

En base a lo anterior, puede especularse que el largo foliar es influenciado por los factores ambientales de la misma manera que dichos factores modifican a las variables morfogénicas que lo determinan, y también por las interrelaciones existentes entre dichas variables (Skinner y Nelson, 1995).

2.4. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE LAS HOJAS DE GRAMÍNEAS

2.4.1. Pared celular

La pared celular (PC) contribuye a la mayor rigidez de la célula. Dicha rigidez puede variar dependiendo de su espesor, composición química y distribución espacial de la misma dentro del tejido. Esta formada por dos partes, una es la “pared primaria” (PP), la primera que se forma, que está compuesta mayormente de microfibrillas de celulosa y hemicelulosa. Algunos tipos celulares (mesófilo, parénquima, etc.) desarrollan sólo este tipo de pared. La PP de células contiguas está separada por una laminilla media (LM) constituida de un material amorfo. Los tejidos que desarrollan sólo este tipo de PP (con el plus de LM) no experimentan lignificación. Consecuentemente este tipo de células provee poco problema para la ruptura o digestión del tejido (Wilson, 1993). La segunda parte en formarse es la “pared secundaria” (PS), la cual se deposita después de la completa expansión celular, debajo de la PP hacia el lumen de la célula (Jung y Allen, 1995). La misma se compone de tres capas S1, S2 y S3 (desde afuera hacia adentro), que se distinguen ultra-estructuralmente por su diferente orientación de microfibrillas de celulosa. La pared de las células con engrosamiento secundario proporciona mayor rigidez estructural, a través del incremento de la resistencia a las fuerzas de tensión y compresión a que se exponen sus tejidos. La

lignificación varía según el tipo de tejido que forman las células: es muy fuerte en los elementos del meta xilema y débil en las células de la vaina parenquimática en hojas de gramíneas. La lignificación se inicia en la zona de maduración dentro de la LM y PP. El envejecimiento celular lleva a que ésta se difunda a todas partes de la PS haciendo cada vez más indigestible al tejido al cual forman (Akin, 1982). La concentración de lignina es mayor en el complejo LM – PP que en la pared secundaria, pero debido al engrosamiento esta última contiene la mayor cantidad de lignina presente en la planta (Jung y Allen, 1995). El complejo LM – PP es completamente indigestible mientras que la pared secundaria depende del grado de complejización (cambios químicos y físicos) que experimenta con la edad.

2.4.2. Tejidos

Los tejidos se forman de grupos celulares uniformes los cuales desarrollan un tipo complejo de pared celular, esto contribuye a su funcionalidad en la planta y ejerce una influencia específica en la digestión. Así, la fina pared celular de la epidermis es normalmente rápida y completamente digestible (Akin, Wilson y Windham, 1983) en especies C3, mientras que en especies C4 su desaparición no es tan evidente (Wilson y Hattersley 1989).

La fina pared de las células clorenquimáticas (mesófilo) forma el principal volumen de tejido de todas las hojas. En láminas de gramíneas templadas, las células del mesófilo están más libremente arregladas que en las gramíneas C4 tropicales. El porcentaje de espacios de aire intercelular en gramíneas C3 (10-35%) es mucho mayor que en gramíneas C4 (3-12%). Esta estructura tiene severas consecuencias en la digestión de las láminas de ambos grupos. Primeramente mejora y permite una rápida penetración de las bacterias dentro de la hoja, y desde ahí una rápida digestión de la misma. Segundo, la pequeña superficie de contacto de células contiguas permite una fácil disrupción física por medio de la masticación (Wilson, 1993). La pared celular

del mesófilo no sufre lignificación y es considerado el tipo celular más rápidamente digerido (Akin, 1988), necesitando esencialmente menos de 12 horas para completar su digestión (Chesson et al., 1986).

Las células del parénquima son un componente insignificante en la lámina de la hoja, estando presente en la nervadura central de las gramíneas. Su fina pared es rápida y parcialmente digestible. En tallos y vainas, las células del parénquima contribuyen significativamente a los problemas de digestión, debidas principalmente al volumen que ocupan y a la capacidad de desarrollar engrosamiento secundario (Wilson y Hattersley, 1989).

La vaina parenquimática (VP) está formada por un grupo altamente especializado de células que contienen cloroplastos. Representan más del 50% del área total del tejido vascular en gramíneas C4 y mucho menos del 50% en gramíneas C3 (Akin y Burdick, 1975). Se ubican alrededor del tejido vascular y la diferencia entre C3 y C4 radica que en la primera la pared celular es fina y fácilmente digestible. Las células del PBS, en contraste con las del mesófilo, son más rígidas y sus paredes muestran con el tiempo engrosamiento secundario (hasta cinco veces el ancho de la pared del mesófilo) y una débil lignificación (Akin et al., 1983). Por eso necesitan mayor permanencia dentro del rumen (48 a 72 hs) por su lenta digestión, llegando en algún momento a ser incompleta (Akin y Burdick 1975).

Las fibras de esclerénquima se localizan normalmente por arriba y abajo del tejido vascular y al margen de la hoja. Sus células desarrollan engrosamiento secundario que se lignifica con la edad del tejido, siendo casi completamente indigestible (Engels, 1989). Representa un importante aporte al mecanismo de rigidez necesaria para la estructura de sostén del tallo y hoja, constituyendo un importante rol en la prevención de la disrupción física del tejido. Su presencia en la hoja implica que la reducción de partículas en el rumen sea más lenta y el consumo por parte del animal más bajo (Wilson, Deinum y Engels, 1991). El tejido vascular (TV) está formado por el floema y

los elementos traqueales del xilema. El floema representa entre 1 y 2% del volumen total de tejido de la hoja (Wilson, 1993), sus finas paredes no lignifican y son rápidamente digeridas (Akin y Chesson, 1989). Las paredes de las células del xilema están engrosadas y fuertemente lignificadas, y son altamente indigestibles (Akin, 1988). Tienen una importante función de conducción y es el mayor contribuyente a la indigestibilidad de la pared celular de todos los órganos de la planta, afectando significativamente la ruptura de partículas. La mayor parte de la actividad de rumiación esta dirigida a la destrucción del TV, y la mayoría de las partículas que aparecen en heces son parte de su estructura (Wilson, 1993).

2.5. CALIDAD NUTRITIVA DE LAS GRAMÍNEAS FORRAJERAS

2.5.1. Concepto

Un análisis de calidad de forraje comprende la cuantificación de fracciones específicas que conforman la materia seca del forraje, siendo las más comunes la FDN (fibra en detergente neutro), FDA (fibra en detergente ácido), lignina y proteína bruta (PB). En otros casos se miden estos parámetros conjuntamente con la digestibilidad *in vitro* de la MS, o se estima la misma a partir de la FDN o FDA. Es común encontrar en la bibliografía distintos términos para referirse a este punto, como calidad forrajera, valor nutritivo o calidad nutritiva, que se usan indistintamente a criterio del autor. También hay autores que definen la calidad del forraje en función de la respuesta animal (Pirela, 2005).

2.5.3. Digestibilidad del forraje

La digestibilidad del forraje depende del contenido celular (CC), pared celular (PC) o FDN y de su digestibilidad. El contenido celular, estimado a través de la fracción soluble en detergente neutro, consiste mayormente en azúcares solubles, proteínas, lípidos y ácidos orgánicos, los cuales se asume son total y rápidamente digestibles

(Van Soest, 1993). El contenido de PC se estima a través de la FDN (Van Soest, 1967) y es de digestibilidad variable, según los arreglos químicos y físicos de la PC (Wilson, 1994).

Los órganos de la planta difieren en contenido y digestibilidad de la FDN. Comparadas a igual estado de madurez, las hojas adultas de las gramíneas C3 tienen más de 50% de FDN en hojas y 70% en tallos, mientras que las de las gramíneas C4 tienen hasta 75% de FDN en hojas y 85% en tallos. Las vainas son usualmente intermedias en la concentración de fibra en ambas plantas (Buxton y Redfearn, 1997). La proporción y distribución de los tejidos (Cuadro 1) son los principales factores que diferencian la digestibilidad de la FDN entre órganos y plantas. Sin embargo las diferencias entre gramíneas está mayormente en las hojas que en los demás órganos (Wilson, 1994).

Cuadro 1: Contenido promedio de tejidos como porcentaje (%) total del área seccionada, en láminas y tallos de gramíneas C3 y C4. Adaptado de Wilson 1990.

Hoja	Epidermis	Mesófilo	Esclerénquima	Vascular	Vaina parenquimática
C4	29	39	3	9	21
C3	22	60	2	6	9
Tallo					
C4	*	*	16	12	*
C3	*	*	16	13	*

Nota: (*) La proporción de estos tejidos no fueron presentados.

La proporción de los diferentes órganos dentro de la planta, la composición y digestibilidad varían considerablemente, dependiendo del estado de desarrollo, la edad y factores ambientales (radiación y temperatura) y de manejo.

2.5.4. Aspectos que determinan la digestibilidad de la FDN

2.5.4.1. Cambios químicos de la pared celular

La digestibilidad de la PC declina con la madurez debido principalmente al entrecruzamiento de sus polímeros (Chesson, 1993). Por un lado la celulosa forma básicamente la estructura de la PC mientras que la hemicelulosa establece los puentes de unión entre los polímeros celulósicos y no celulósicos (Keegstra et al., 1973 citado por Chesson, 1993). Por otro lado, las pectinas aportan uniones y soporte estructural a la PC (Fry, 1986), en tanto las proteínas pueden tener funciones estructurales (extensinas) o enzimáticas (Goodwin y Mercer, 1983).

En el transcurso de la maduración celular, ácidos fenólicos y lignina son depositados en estructuras específicas de la PC, en un estricto desarrollo secuencial (Jung y Allen, 1995). Son estos agentes no celulósicos los principales compuestos con los cuales se establecen las uniones químicas.

La lignina en los forrajes esta compuesta principalmente por unidades poli-alcohólicas de p-hydroxyphenil (H), guaiacyl (G) y syringyl (S). En los estadios temprano de la lignificación, el alcohol coniferyl, con pequeñas cantidades de alcohol p-cumaryl, son copolimerizados dentro de la PC primaria formando lignina G y H. Durante el desarrollo de la PC secundaria, el alcohol coniferyl y el incremento de las cantidades del alcohol sinapyl son copolimerizados para formar una mezcla de lignina G y S (Grabber, 2005). Con lo expuesto se evidencia que la composición de la lignina también cambia con la madurez. La relación S:G monolignol aumenta con el tiempo depositándose en mayor cantidad una lignina rica en S. La pared del tejido vascular es el sitio predominante donde se da esta proliferación (Jung y Engels, 2002). Estos tipos de ligninas acarrear un fuerte comportamiento hidrofóbico, exacerbando las uniones de las enzimas que degradan la PC con la lignina, restringiendo la hidratación y penetración de estas enzimas dentro de la PC (Sewalt et al., 1997 citado por Grabber, 2005).

La lignina es un elemento clave en la restricción de la digestibilidad de la PC, pero el complejo sistema de unión con los polisacáridos de la pared a través del ácido ferúlico puede ser un prerrequisito para que la lignina ejerza su acción (Jung y Allen, 1995). El ácido p-cumárico es otro compuesto fenólico, consistentemente asociado a la menor digestibilidad del forraje o partes del mismo (Jung, Morrison y Buxton, 1998), sin embargo se desconoce si este ácido ejerce un efecto directo o si simplemente acompaña la lignificación. Los compuestos fenólicos son los mayores inhibidores de la digestibilidad de la PC, la cantidad de lignina presente es usualmente el mayor influyente, pero el tipo fenolico y el sitio dentro de la planta pueden predominar en el tiempo (Akin y Chesson, 1989).

A nivel tisular la lignina desempeña un rol vital en el crecimiento y desarrollo de la planta, mejorando la conducción de agua por los elementos traqueales del xilema, otorgando rigidez al tejido fibroso, y limitando la entrada de gérmenes patógenos al tejido de la planta. La degradabilidad enzimática de la PC en gramíneas C4, declina con la maduración debido a la acumulación, y progresiva lignificación, de la pared primaria y secundaria del tejido vascular y esclerenquimático (Grabber, 2005). No obstante, cuando las plantas llegan a la madurez fisiológica, la indigestibilidad aumenta debido a la lignificación de la pared primaria del tejido parénquimático y epidérmico (Wilson y Hatfield, 1997).

2.5.4.2. Cambios físicos de la pared celular

Las importantes limitaciones físicas del material ingerido afectan su digestibilidad y la reducción del tamaño de la fibra. Estas limitaciones de la PC indigestible, formadas principalmente por el complejo pared primaria – laminilla media (Engels, 1989), forman una barrera a la digestión del CC y de la PC potencialmente digestible que ellos encierran (Wilson y Hatfield, 1997). Otra de las consecuencias de este factor físico, es el lento movimiento de las bacterias y hongos a través de la estructura celular (Wilson

y Mertens, 1995), además de la limitada posibilidad para el ataque microbiano. Sin embargo la mayoría de estas limitaciones físicas se atenúan cuando el material es molido (1 mm) para la medición de su digestibilidad *in vitro*, como en el experimento presentado en esta tesis.

2.6 PARÁMETROS PREDICTIVOS DE CALIDAD FORRAJERA

Los primeros modelos de calidad del forraje han enfocado su análisis de predicción en el estado de crecimiento del forraje al tiempo de su cosecha o pastoreo (Fick, Wilkens y Cherney, 1994). Los principales parámetros tenidos en cuenta en estos modelos fueron la edad, el estado de madurez, el follaje y los factores ambientales. Reid et al. (1959, citado por Fick et al., 1994) encontraron una fuerte correlación entre la edad cronológica del forraje y la digestibilidad, la cual luego se relacionaba con el contenido de proteína cruda y extracto etéreo. Con el estado de madurez tuvieron similares resultados, ya que el incremento del mismo reducía la digestibilidad de la materia orgánica del forraje (Deinum, Van Es y Van Soest, 1968). En adición a estos dos parámetros, la fracción foliar de la planta es conocida por su incidencia sobre la calidad forrajera. El análisis sistémico de los efectos ambientales (Deinum, et al. 1968) fue hecho con la temperatura, intensidad de luz y fertilización. De ellos el aumento de la temperatura se correlacionó negativamente con la digestibilidad. La fertilización aumentó el follaje producido pero no se detectó efectos claros sobre la digestibilidad. El incremento de la intensidad de luz aumentó la tasa de crecimiento y disminuyó más rápidamente la digestibilidad. Sin embargo, en el mismo estado de desarrollo, la digestibilidad del forraje fue mayor.

En la actualidad, los modelos predictivos de la calidad sintetizaron sus estudios en una única unidad que representa la "lámina foliar", ya que esta fracción es la de mayor interés desde el punto de vista nutricional. Groot y Neuteboom (1997) centraron sus trabajos en la composición y digestibilidad durante el "envejecimiento foliar" de láminas

sucesivas de *Raigrás perenne*. La variable utilizada para estimar o modelar la calidad nutritiva del forraje, fue la concentración de FDN indigestible (FDNi) en el período desde la emergencia de la hoja sobre el tubo de vainas hasta la senescencia de la misma. Sus resultados concluyeron en un único modelo de pérdida de calidad de la FDN para hojas consecutivas. En estas, la concentración de FDNi aumentó con la edad, alcanzando su máximo valor poco después de aparición de la lígula. Si bien en este trabajo se presentaron las variaciones intrínsecas (largo, ancho, área, etc.) de láminas consecutivas, las mismas no se tuvieron en cuenta en sus posibles efectos sobre la calidad de la FDN.

Hirata (1999) investigó la dinámica de la digestibilidad en segmentos foliares de *Paspalum notatum*. Dicho trabajo describe la dinámica de la digestibilidad de la materia seca (DMS) en segmentos foliares de 2 cm de longitud, desde la emergencia de la hoja y a través de su envejecimiento. Los resultados exponen una leve pérdida de la DMS desde la base de la lámina hacia la punta. Este modelo presenta un posible camino para predecir la calidad del forraje a nivel de bocado del animal en pastoreo.

Duru y Ducrocq (2002) estudiaron la dinámica de la digestibilidad en láminas de *Dactylis glomerata* bajo los efectos del nitrógeno y la defoliación. Sus resultados concluyeron que el nitrógeno tuvo un efecto positivo en el tamaño de las vainas y un leve efecto en la mayor digestibilidad de sus láminas, con una amplia variación entre años. Sin embargo, la tasa de pérdida de la digestibilidad a nivel de la canopia se incrementó; similares resultados se obtuvieron con el aumento de la temperatura. En la defoliación, las láminas del tratamiento severo fueron siempre de mayor digestibilidad que las del tratamiento leve, tanto con o sin el agregado de nitrógeno.

En esta tesis, la cual vincula los efectos del tamaño y envejecimiento en láminas sucesivas de dos gramíneas de diferente tamaño foliar y hábito de crecimiento, se utilizó la acumulación de FDN y FDNi como variable predictora de la calidad forrajera, y se relacionaron estos parámetros con la digestibilidad y degradabilidad de la MS.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 SITIO Y PERÍODO EXPERIMENTAL

El ensayo se llevó a cabo en un invernáculo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Balcarce (37° 45` LS, 58° 17` LO y 130 m SNM). Las especies utilizadas fueron Grama rhodes cv. Fine cut (*Chloris gayana*) y Pasto pangola (*Digitaria decumbens*). Las plantas fueron traídas en cajas térmicas desde la EEA INTA Leales y El Colorado y trasplantadas en dos bateas con tierra (de 1 m de ancho por 3.60 m de largo por 1m de profundidad), el día 06/08/06. Ambas especies recibieron una fertilización a razón de 150 kg de nitrógeno y 60 kg de superfosfato triple por ha y un riego a capacidad de campo en forma diaria. Una vez implantadas las especies recibieron dos cortes de enrasamiento a unos 5 cm de altura desde el suelo; el primero el 06/10/06 y el segundo el 28/11/06. En forma preparatoria durante este período de cortes, se marcaron 15 macollos de ambas especies, sobre los cuales se tomaron las mediciones morfogenéticas preliminares. El período de crecimiento analizado fue desde el 28/11/06 al 22/12/06.

3.2 CONDICIONES CLIMÁTICAS

Las temperaturas fueron registradas en forma diaria a través de un termómetro de máxima y mínima dentro del invernáculo. Las mismas fueron comparadas con las temperaturas registradas en la Estación Meteorológica de la EEA INTA Balcarce, a fin de detectar posibles errores de medición. En la Figura 1 se presentan las temperaturas medias diarias para el período de muestreo.

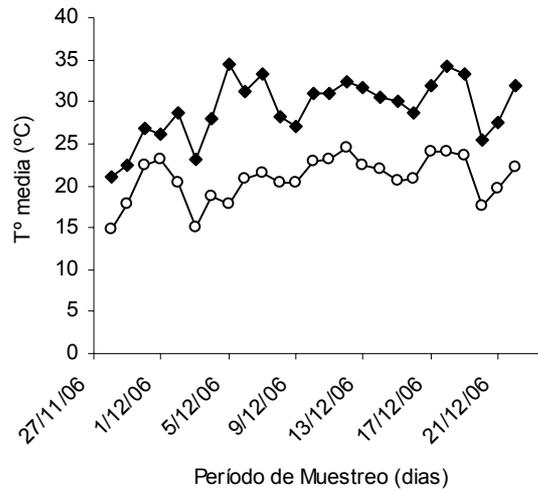


Figura 1: Temperatura media diaria en el invernáculo (◆) y en la estación meteorológica (○) durante el período de muestreo.

Con los registros de temperaturas medias (TM) se calculó la vida media foliar o grados días de crecimiento (GDC). El cálculo se realizó restando a las TM la temperatura base de crecimiento de cada especie, (8 °C para Pangola y 12 °C para Grama, Humphreys y Partridge, 1995).

3.3 EXPERIMENTO

El experimento se realizó con especies C4 de hábito de crecimiento y tamaño foliar contrastantes. El muestreo abarcó sólo las etapas vegetativas de las plantas a fin de evitar comportamientos fisiológicos que alteren la composición estructural de la lámina foliar. El período experimental comprendió muestreos destructivos y no destructivos.

3.3.1 MUESTREOS NO DESTRUCTIVOS

Se registraron *in situ* las siguientes variables en 15 macollos por especie, con una frecuencia aproximada de una a dos veces por semana:

- Longitud de lámina verde (mm de lámina): En las hojas expandidas se midió desde su lígula hasta el extremo distal. En hojas en crecimiento se midió desde la lígula

de la última hoja completamente expandida hasta el extremo distal de la lámina en crecimiento, a lo que se denominará en adelante longitud acumulada visible.

- Longitud del pseudotallo (mm de pseudotallo): medida desde la base hasta la lígula de la última hoja expandida.
- Aparición de hojas: se considero como hoja nueva a toda hoja desplegada o emergiendo del cuello del pseudotallo, que resultaba visible por primera vez desde el recuento anterior.

A partir de las mediciones mencionadas, se estimaron las siguientes variables:

- Vida media foliar (VMF): se considero al intervalo de tiempo térmico entre la fecha de aparición foliar y la fecha en la que comenzó la senescencia. Se calculó en unidades de GDC, restando a la temperatura media diaria la temperatura base de crecimiento correspondiente a cada especie.
- Tasa de elongación foliar (TEF): la elongación se calculó como variaciones positivas en el largo de las hojas individuales en crecimiento. A partir de las diferencias positivas en longitud foliar entre mediciones sucesivas sobre el tiempo transcurrido, se estimó la tasa de elongación por día (mm/d) o por grados días de crecimiento (mm/GDC).
- Duración de la elongación foliar (DEF): se obtuvo como el período (en GDC) comprendido entre la aparición de una hoja y la aparición de lígula de la misma hoja.
- Largo foliar final (LFF): se obtuvo del producto entre la duración de la DEF y la TEF, correspondiendo la longitud desde la punta de la lámina hasta la lígula de la misma lámina (de hojas no defoliadas ni enfermas).

3.3.2 MUESTREOS DESTRUCTIVOS

Con el objetivo de vincular parámetros de calidad con la ontogenia (período de vida de una lámina desde que es visible hasta su senescencia) de la lámina foliar, se diseñó un muestreo de tal forma que fuesen representados estos parámetros en los diferentes estados que atraviesa la misma. Los muestreos destructivos comprendieron 21 días y consistieron en cosechar a intervalos programados, macollos con láminas de igual longitud y estado ontogénico: (i) recién aparecida, (ii) en crecimiento, (iii) recién expandida, (iv) y tres categorías de hojas adultas previo a la senescencia (Figura 2). Las cosechas contemplaron dichos estados en 3 láminas (generaciones) sucesivas en el macollo, comenzando días después al segundo corte de enrasamiento (28/11/06).

1º Cosecha: A los tres días del corte (28/11/06 con 49 y 65 GDC para Grama y Pangola, respectivamente), las láminas (i) de los macollos, reunían el tamaño adecuado para su separación. Se cosecharon 800 macollos de ambas especies para la separación posterior de sus láminas, las cuales corresponderían en la simulación al primer estado de crecimiento de la generación 1. Inmediatamente después de su cosecha el material fue colocado en bolsas de polietileno e introducidas en un recipiente conteniendo nitrógeno líquido, luego las muestras congeladas fueron identificadas y mantenidas en una caja térmica hasta su traslado al laboratorio. Las cosechas siguientes se realizaron con el mismo procedimiento.

2º Cosecha: Transcurridos 50 y 60 GDC (para Grama y Pangola respectivamente) del primer muestreo, se realizó la segunda cosecha de 800 macollos, los cuales presentaban en esta oportunidad una lámina "i" (primer estado de crecimiento de la generación 2) y una lámina "ii" correspondiente al segundo estado de crecimiento de la generación 1.

3º Cosecha: Se realizó después de 79 y 95 GDC (para Grama y Pangola respectivamente) del segundo muestreo. En este momento los macollos presentaban una lámina "i" proporcionándonos el primer estado de crecimiento de la generación 3,

una lámina “ii” correspondiente al segundo estado de crecimiento de la generación 2 y una lámina “iii” con lígula visible que simulaban el tercer estado de crecimiento de la generación 1.

4º Cosecha: Se llevo a cabo acumulando 53 y 65 GDC para Grama y Pangola respectivamente de la anterior cosecha, los macollos presentaban una lámina “i” la cual luego se descartó, una lámina “ii” que correspondió al segundo estado de crecimiento de la generación 3, una lámina “iii” perteneciendo al tercer estado de crecimiento de la generación 2 y una lámina “iv” representando el cuarto estado de la generación 1.

5º Cosecha: Transcurridos 58 y 70 GDC para Grama y Pangola respectivamente se realizó la 5º cosecha, en esta oportunidad los macollos presentaban una lámina “i”, una lámina “ii” (ambas se descartaron durante la separación), una “iii” representó el tercer estado de crecimiento de la generación 3, una lámina “iv” correspondiente al cuarto estado de la generación 2 y una lámina “v” perteneciente al quinto estado de la generación 1.

6º Cosecha: En la última cosecha la primer generación simulada acumuló 350 y 520 GDC para Grama y Pangola respectivamente, los macollos tenían una lámina “i”, otra “ii”, una “iii” (las tres se descartaron en la separación), dos adultas, la primera (iv) cuarto estado de la generación 3 y la segunda (v) quinto estado de la generación 2 y una ultima hoja “vi” correspondiente al sexto estado de la generación 1.

Esquemáticamente el muestreo siguió el siguiente orden:

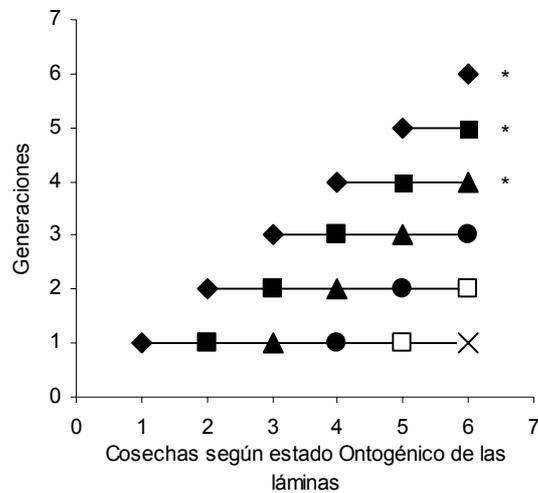


Figura 2: Estado ontogénico de las hojas según generación y número de cosecha en ambas especies: (◆) hoja recién aparecida, (■) hoja en crecimiento, (▲) hoja expandida, (●) hoja adulta, (□) hoja adulta a punto de senescer y (×) hoja senesciendo. (*) Generaciones descartadas.

3.4 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Separación de láminas: Los macollos cosechados y congelados fueron mantenidos en un freezer hasta su total procesamiento. De dichos macollos se separaron las láminas según cosecha y generación a la que pertenecían. Por un lado, para las láminas recientemente aparecidas y en crecimiento, el criterio de corte fue a nivel de lígula de la hoja expandida anterior. Por otro lado, para los estados siguientes (expandidas, adultas, a punto de senescer y senesciendo), el corte se hizo a nivel de su lígula. Todas estas láminas fueron mantenidas (en grupo de igual estado ontogénico) sobre una bandeja con hielo durante toda la separación.

Secado: Las láminas previo a su secado fueron colocadas en sobres microporizados, para luego liofilizarse hasta peso constante (Liofilizador Modelo Chriss 336).

Molienda: Las láminas secas fueron molidas a un 1 mm de diámetro a través de un Molino Cyclotec Sample Mill 1093, reacondicionándolas posteriormente en frascos de 3 g para su análisis químico.

3.5 ANÁLISIS DE FDN Y DIGESTIBILIDAD

El contenido de FDN se determinó en el analizador de fibra ANKOM200/220 siguiendo el procedimiento de Van Soest, Robertson y Lewis (1991).

La degradabilidad de la MS (DegMS), digestibilidad *in vitro* de la FDN y la digestibilidad aparente *in vitro* de la MS se determinaron en el incubador Daisy^{II} ANKOM (ANKOM Corp., Fairport, NY, EEUU). Los análisis se realizaron en el laboratorio de Nutrición del INTA Balcarce para un tiempo de incubación de 24 horas, con el objetivo de focalizar el ataque microbiano en la digestión de la FDN de mayor importancia nutricional (Wilson y Mertens, 1995). Para ello las muestras (250 mg MS) se colocaron en bolsas filtros F57 (ANKOM Technology) y se incubaron con una la solución buffer y licor ruminal. En cada frasco de incubación con capacidad para 24 bolsas se introdujeron 2 blancos, bolsas sin muestra, para corregir el peso del residuo con el material que contamina las bolsas. Al completar el período de incubación se removió el fluido y las bolsas fueron lavadas con agua fría hasta lograr un fluido claro. Posteriormente, las bolsas se secaron y pesaron para medir la MS residual. Posteriormente en el residuo de MS se determinó la FDN en el analizador de fibra ANKOM200/220 (Van Soest et al., 1991), de lo cual se estimó el peso de la FDN residual. Los parámetros se calcularon de la siguiente manera:

- Degradabilidad (DegMS): $(MS \text{ incubada} - MS \text{ residual})/MS \text{ incubada}$
- Digestibilidad *in vitro* de la FDN (DFDN): $(FDN \text{ incubada} - FDN \text{ residual})/FDN \text{ incubada}$.
- Digestibilidad *in vitro* verdadera de la MS (DVMS): $(MS \text{ incubada} - FDN \text{ residual})/MS \text{ incubada}$.
- FDN indigestible (FDNi): $FDN \text{ residual}/FDN \text{ incubada}$.

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Las especies se dispusieron en 2 grupos de 11 líneas cada uno, de 1 m de largo separadas a 15 cm. Dentro de cada grupo se identificaron al azar, en forma permanente, 15 macollos individuales de distintas plantas para las mediciones posteriores. Las cosechas de macollos se realizaron en forma aleatoria en cada grupo, quedando definido un diseño completamente aleatorizado con 2 repeticiones por especie.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se ajustaron funciones exponenciales entre el contenido de FDN y FDNi con los GDC mediante el procedimiento NLIN (SAS, 2001). La función utilizada fue la propuesta por Groot y Neutboom (1997):

$$y = a (1 - \exp^{-b(x-c)})$$

donde a indica la asíntota, b es una tasa constante (por GDC), x son los GDC y c es la intersección de la curva en el eje x. Los parámetros resultantes (a y b) se analizaron como un ANOVA a través del procedimiento MIXED (SAS, 2001), utilizando la prueba de Tukey ($p < 0.05$) en la comparación de medias.

Se realizaron ajustes lineales para la FDN y FDNi con los GDC y la longitud acumulada visible durante las fases de elongación y maduración foliar, utilizando el procedimiento REG (SAS, 2001). Los parámetros de esta función (intercepto y pendiente) se analizaron con el mismo criterio de la función anterior.

La estimación de las variables morfogénicas y estructurales (TEF, VMF, número de hojas vivas, etc.) se realizó mediante un programa desarrollado en SAS en INTA Balcarce.

4. RESULTADOS

4.1 VIDA MEDIA FOLIAR Y LARGO FOLIAR FINAL

En la Figura 3 se presenta la evolución de la longitud foliar visible a lo largo de la vida de cada una de las generaciones evaluadas. Si bien en Grama se observó una tendencia creciente en el LFF alcanzado por las sucesivas generaciones, no se detectó interacción significativa generación x especie.

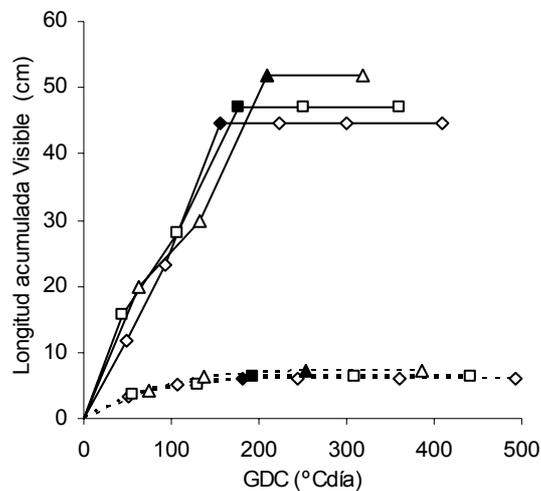


Figura 3: Longitud acumulada visible (cm) de las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (Δ) de Pangola (líneas punteadas) y Grama (líneas continuas), en función del tiempo térmico, expresado en grados días de crecimiento (GDC). Temperatura base (T_b) utilizada 8°C y 12°C para Pangola y Grama respectivamente. Los símbolos llenos indican aparición de lígula.

En promedio el LFF de Grama fue alrededor de 7 veces mayor que el de Pangola (458 ± 17 mm y 68 ± 13 mm respectivamente). En cambio, la VMF de Pangola fue 1.6 veces mayor que Grama (500 ± 14 GDC y 320 ± 13 GDC, respectivamente).

4.2 ONTOGENIA Y FIBRA

4.2.1 Variaciones del contenido de FDN y FDNi

Fibra detergente neutro

El patrón de acumulación de FDN se ajustó a una función exponencial en ambas especies, siendo significativo en Grama y no en Pangola (Figura 4). En Pangola el

intervalo de confianza de las pendientes del modelo exponencial ajustado incluyeron al valor 0, lo cual indica que no hubo incremento significativo de la FDN con el incremento de los GDC (Cuadro 2). El intervalo de confianza de las asíntotas de las 3 generaciones fueron diferentes de 0, por lo cual los valores se aceptan como estimadores adecuados de la FDN. En Grama los intervalos de confianza de las pendientes y de la asíntota no incluyeron al valor 0, indicando que hubo un incremento significativo de FDN de la generación 1 a la 3 y que los valores de la asíntota serían estimadores adecuados de la FDN (Cuadro 2).

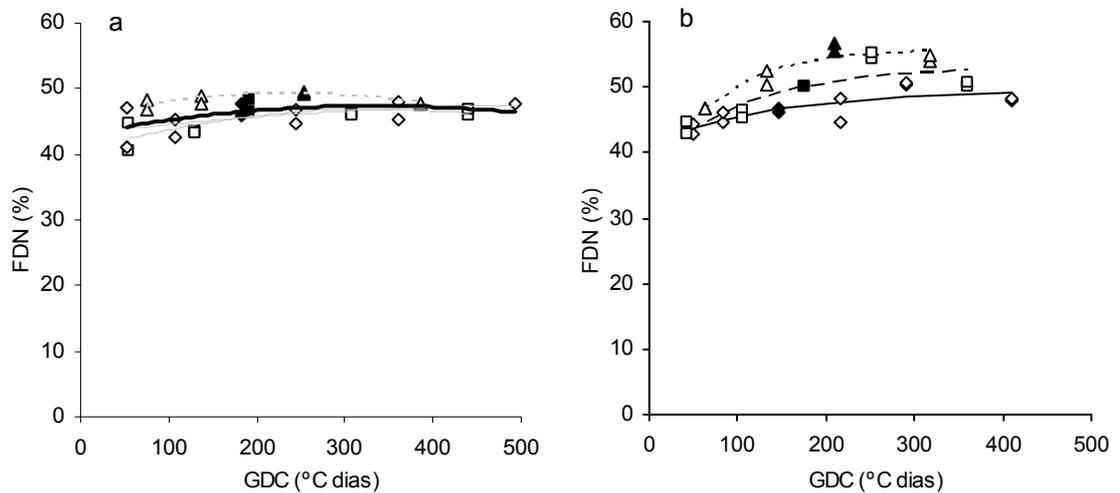


Figura 4: Curvas de concentración promedio de FDN con el tiempo térmico (GDC) para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las curvas se presentan en el Cuadro 2.

Fibra detergente neutro indigestible

A igual que la FDN, la evolución de la FDNi con los GDC se ajustó a una función exponencial de saturación (Figura 5).

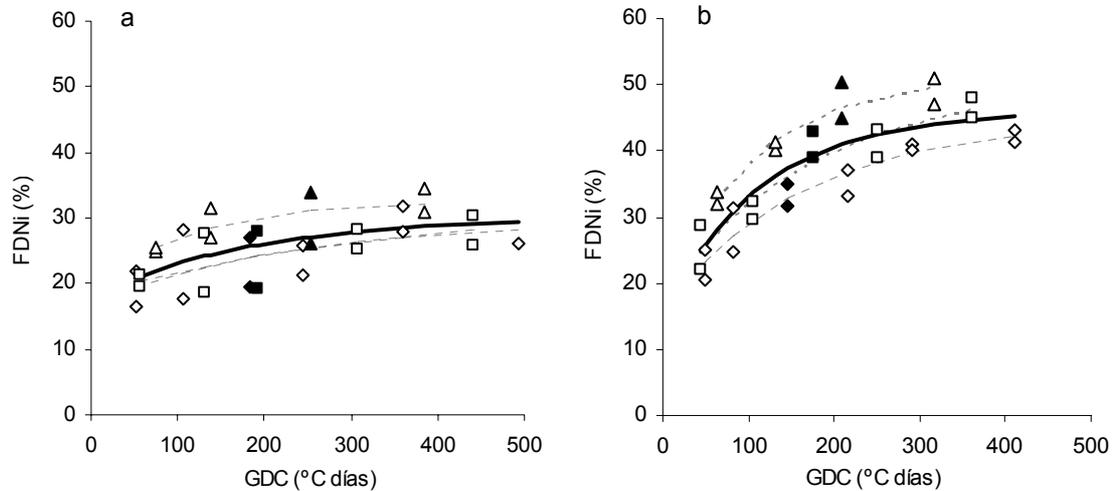


Figura 5: Curvas de concentración promedio de FDNi con el tiempo térmico (GDC) para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las curvas se presentan en el Cuadro 2.

En Pangola el intervalo de confianza de las pendientes estimadas por el modelo exponencial ajustado incluyeron al valor 0 en las tres generaciones de hojas. Ello indica que no se detectó incremento significativo de la FDNi con el incremento de los GDC (Cuadro 2). El intervalo de confianza de las asíntotas de las 3 generaciones fueron diferentes de 0, por lo cual se aceptan como estimadores adecuados de la FDNi promedio de cada generación de hojas. En Grama los intervalos de confianza de la asíntota y de la pendiente no incluyeron al valor 0 (Cuadro 2). Si bien la pendiente no difirió entre generaciones sucesivas de hojas, las asíntotas de las G1 y G3 difirieron 10 unidades de FDNi, que equivalen a una diferencia del 18%.

Cuadro 2: Parámetros de la función exponencial ajustada a las 3 generaciones de Pangola y Grama. El análisis fue hecho con FDN y FDNi respecto del tiempo térmico (GDC), desde emergencia hasta el inicio de la senescencia de la primera generación.

FDN		Parámetros			
Especie	Generación de hojas	Asíntota (%)	I de C (95%)	Pendiente (%)	I de C (95%)
Pangola	1	46	44 a 47	0,059	-0,024 a 0,093
	2	46	44 a 47	0,046	-0,028 a 0,064
	3	48	47 a 49	0,051	-0,026 a 0,077
	Promedio (1)	47	46 a 48	0,050	-0,037 a 0,064
Grama	1	46c	45 a 47	0,048	0,033 a 0,063
	2	50b	49 a 52	0,044	0,026 a 0,061
	3	56a	54 a 57	0,029	0,023 a 0,036

FDNi		Parámetros			
Especie	Generación de hojas	Asíntota (%)	I de C (95%)	Pendiente (%)	I de C (95%)
Pangola	1	29	22 a 33	0,004	-0,014 a 0,023
	2	31	22 a 34	0,003	-0,015 a 0,021
	3	32	28 a 36	0,008	-0,025 a 0,042
	Promedio ⁽²⁾	30	22 a 36	0,005	-0,006 a 0,017
Grama	1	40b	37 a 43	0,015	0,010 a 0,019
	2	44ab	39 a 49	0,015	0,008 a 0,021
	3	49a	45 a 52	0,016	0,011 a 0,021

(a,b,c.) Letras minúsculas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). ⁽¹⁾, ⁽²⁾ parámetro de la ecuación general mostrada en las Figuras 4 y 5 respectivamente. I de C: intervalo de confianza. Nota: Si bien no fue significativo el ajuste en Pangola, se indican los parámetros de cada generación para observar la tendencia en el incremento de las asíntotas para la FDNi.

4.2.2. Variaciones del contenido de FDN y FDNi en las distintas fases de la ontogenia foliar

En las 3 generaciones de Grama se observó claramente dos fases de incremento en el contenido de FDN y FDNi. La primera fase, denominada “fase de elongación foliar”, corresponde al período de rápido aumento que va desde la emergencia de la punta de la hoja fuera del tubo de vainas hasta que la lígula se hace visible. En esta fase coexisten dos procesos: crecimiento, o sea aumento de tamaño, y envejecimiento de tejidos, éste último asociado al paso del tiempo. La segunda fase, denominada “fase de maduración foliar”, corresponde al período comprendido entre el momento en que la lígula se hace visible fuera del tubo de vainas hasta el inicio de la fase de senescencia foliar. En Pangola si bien no se detectaron estas fases de incremento de

FDN y FDNi, también se consideraron los mismos períodos para observar la tendencia marcada en las generaciones foliares y para facilitar la comparación entre especies.

4.2.2.1. Fase de elongación foliar

Fibra detergente neutro

A los efectos de caracterizar el comportamiento de la FDN se establecieron relaciones con el tiempo térmico (Figura 6), a partir de lo cual se estimó la tasa de incremento de FDN por aumento unitario en temperatura, como también con la longitud foliar acumulada visible (Figura 7), estimándose la tasa de incremento de FDN por incremento unitario en longitud. En Pangola la concentración de FDN tendió a incrementarse con los GDC (Figura 6a) siendo los ajustes lineales significativos para las generaciones 2 y 3, sin diferencias entre las pendientes de ambas generaciones (Cuadro 3). Grama también presentó incrementos en la FDN con el tiempo térmico (Figura 6b), siendo los ajustes lineales significativos en las tres generaciones de hojas. La tasa de concentración de FDN por unidad de temperatura se incrementó entre generaciones sucesivas, siendo significativas las diferencias entre las generaciones 1 y 3 (Cuadro 3). La ordenada al origen no se diferenció dentro ni entre especies (Cuadro 3).

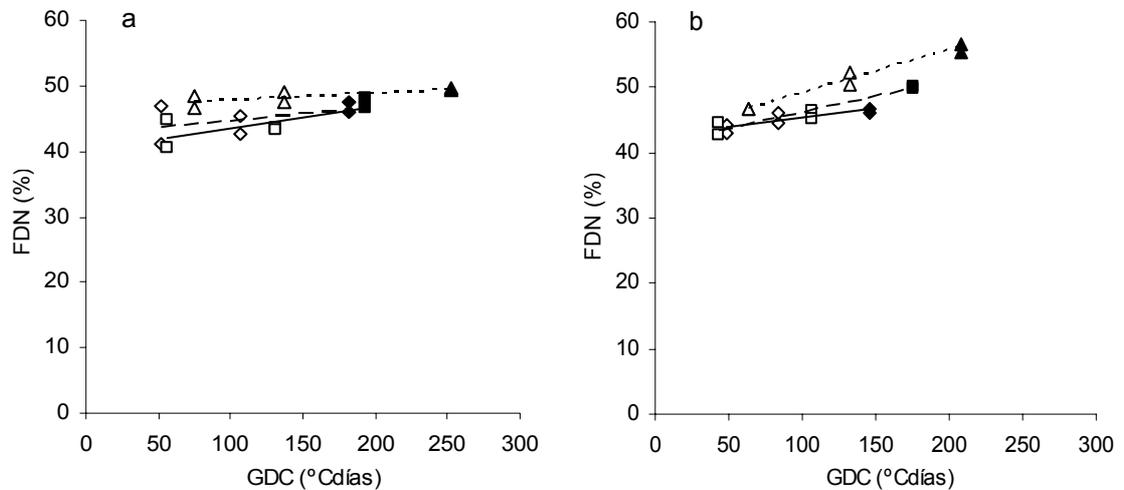


Figura 6: Concentración promedio de FDN en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 3.

Debido al poco aumento de la longitud foliar visible en Pangola, se decidió analizar esta variable en forma conjunta con las generaciones de Grama, de tal forma de aumentar el rango de longitud foliar estudiada.

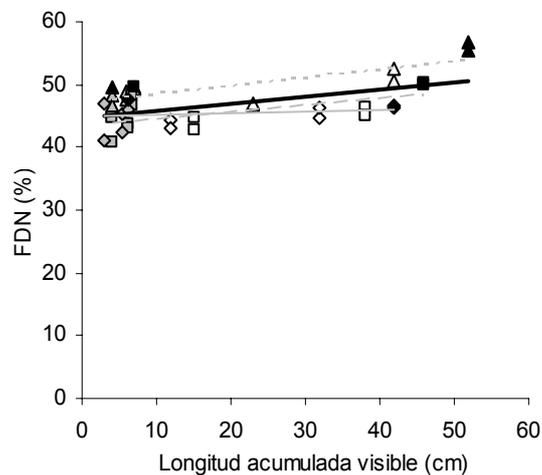


Figura 7: Concentración promedio de FDN en relación a la longitud foliar durante la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en Pangola (símbolos grises) y Grama (símbolos vacíos). Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 3.

El incremento de la longitud foliar visible en ambas especies se asoció con aumentos en la concentración de FDN (Figura 7), siendo estadísticamente

significativas en las generaciones 2 y 3, sin diferencias entre las pendientes de ambas generaciones. La ordenada al origen no se diferenci6 entre generaciones (Cuadro 3).

Cuadro 3: Componentes de la regresi6n entre FDN y GDC o longitud acumulada visible en las 3 generaciones de l6minas de Pangola y Grama en la fase de elongaci6n foliar.

GDC		Par6metros			
Especie	Generaci6n de hojas	Intercepto (%)	Pendiente (%)	R ²	Significancia del modelo (#)
Pangola	1	45	0,006	0,25	ns
	2	41	0,022	0,66	*
	3	47	0,013	0,64	*
Grama	1	43	0,022b	0,73	*
	2	41	0,052ab	0,93	*
	3	43	0,074a	0,97	*
Longitud Acumulada Visible		Par6metros			
Ambas especies	Generaci6n de hojas	Intercepto (%)	Pendiente (%)	R ²	Significancia del modelo (#)
	1	44	0,021	0,26	ns
	2	43	0,110	0,43	*
	3	47	0,127	0,64	*
	Promedio ⁽³⁾	44	0,118	0,33	*

(a,b,c.) Letras min6sculas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

(#): * $p \leq 0,05$; ns $p > 0,05$.

⁽³⁾ par6metros de la ecuaci6n general mostrada en la Figura 7.

Fibra en detergente neutro indigestible

En Pangola los ajustes lineales realizados entre el contenido de FDNi con los GDC (Figura 8a) no resultaron significativos, observ6ndose sin embargo una tendencia general creciente en este par6metro durante la fase de expansi6n, en las tres generaciones de hojas evaluadas (Cuadro 4). Grama tambi6n present6 incrementos en la FDNi con la acumulaci6n t6rmica (Figura 8b), siendo los ajustes lineales significativos en todas las generaciones. La tasa de acumulaci6n de FDNi por unidad de temperatura no difiri6 entre generaciones. No se detect6 diferencias en la ordenada al origen de las funciones lineales ajustadas a los datos (Cuadro 4).

Al igual que con la FDN, el incremento de la longitud foliar, de todas las generaciones foliares de ambas especies, se relacion6 positivamente con el contenido

de FDNi (Figura 9). La pendiente fue diferente entre la generaciones 1 y 3 y no se detectaron diferencias en el valor de la ordenada al origen entre generaciones (Cuadro 4).

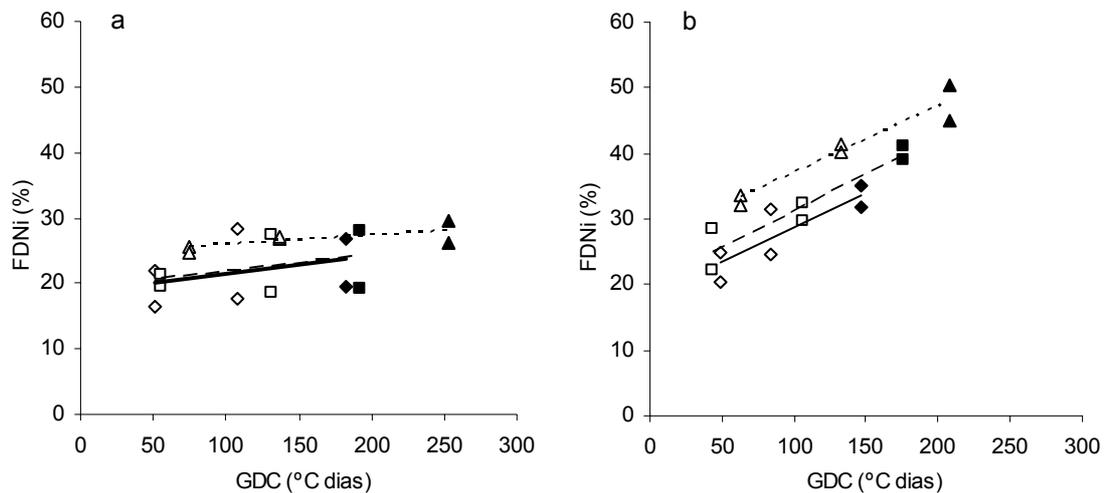


Figura 8: Concentración promedio de FDNi en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 4.

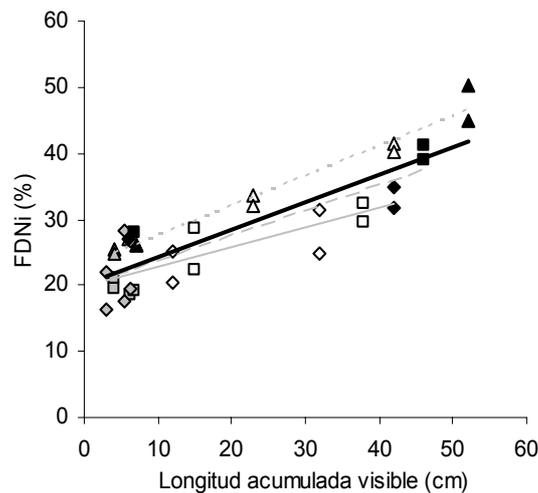


Figura 9: Concentración promedio de FDNi en relación a la longitud foliar en la fase de elongación de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en Pangola (símbolos grises) y Grama (símbolos vacíos). Los símbolos negros indican aparición de lígula. Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C Grama. Los parámetros de las regresiones lineales se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4: Componentes de la regresión entre FDNi y GDC o longitud acumulada visible en las 3 generaciones de láminas de Pangola y Grama en la fase de elongación foliar.

GDC		Parámetros			
Especie	Generación de hojas	Intercepto (%)	Pendiente (%)	R ²	Significancia del modelo (#)
Pangola	1	18	0,025	0,12	ns
	2	19	0,021	0,11	ns
	3	24	0,031	0,32	ns
Grama	1	17	0,105	0,75	*
	2	20	0,111	0,88	*
	3	26	0,101	0,92	*

Longitud Acumulada Visible		Parámetros			
Ambas especies	Generación de hojas	Intercepto (%)	Pendiente (%)	R ²	Significancia del modelo (#)
	1	20	0,295b	0,60	*
	2	20	0,381ab	0,76	*
	3	24	0,433a	0,88	*
Promedio ⁽⁴⁾		21	0,402	0,72	*

(a,b,c.) Letras minúsculas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

(#): * $p \leq 0,05$; ns $p > 0,05$.

⁽⁴⁾ parámetros de la ecuación general mostrada en la Figura 9.

4.2.2.2 Contenido de FDN y FDNi al momento de alcanzar el LFF

El contenido de FDN y FDNi de las tres generaciones de láminas de ambas especies se compararon cuando aparecieron las lígulas (Cuadro 5). Es en este momento ontogénico en que la longitud total de cada generación de hojas es completamente visible. A diferencia de las estimaciones en la fase de elongación foliar, las estimaciones en este punto integran la heterogeneidad estructural, que caracteriza a las hojas de gramíneas desde la punta hasta la base (Maurice et al., 1997).

Se observó interacción significativa entre generación y especie para FDN. Grama mostró un incremento en el contenido de FDN en las sucesivas generaciones, mientras que en Pangola no se detectó dicho aumento. A su vez, la diferencia entre especies se observó en la generación 3 en donde Grama tuvo mayor contenido de FDN que Pangola. Por otra parte, el contenido de FDN de las tres generaciones de

hojas de Pangola fue similar al valor estimado para las primeras dos generaciones de Grama.

Cuadro 5: Concentración promedio de FDN y FDNi (%) al momento de alcanzar el LFF en generaciones sucesivas (G) de Grama y Pangola.

		FDN				FDNi					
		Pangola		Grama		Pangola		Grama			
		G1	G2	G3	ESM	G1	G2	G3	ESM		
		47	48	48	± 0,54	23	24	29	±3,21		
G1	46c	ns	ns	ns	±0,77	G1	33b	ns	ns	±4,24	
G2	50b	ns	ns	ns	±0,77	G2	41ab	*	*	ns	±4,24
G3	56a	*	*	*	±0,77	G3	48a	*	*	*	±4,24
ESM	± 0,54	±0,77	±0,77	±0,77		ESM	± 3,21	±4,24	±4,24	±4,24	

(a,b,c.) Letras minúsculas distintas dentro de especies difieren ($p \leq 0,05$). Entre especies (*) difieren con un $p \leq 0,05$ y (ns) no significativo con un $p > 0,05$. ESM: Error estándar de la media.

La FDNi mostró interacción significativa generación x especie. Si bien en ambas especies hubo un incremento de la FDNi entre generaciones sucesivas (Figura 10), dicho incremento fue significativo y de mayor magnitud en Grama respecto de Pangola. Los valores de FDNi de las generaciones 2 y 3 fueron mayores en Grama respecto de Pangola, siendo el incremento promedio entre la generación 1 y la 3 para cada una de las especies del orden del 45 y 26%, respectivamente (Cuadro 5).

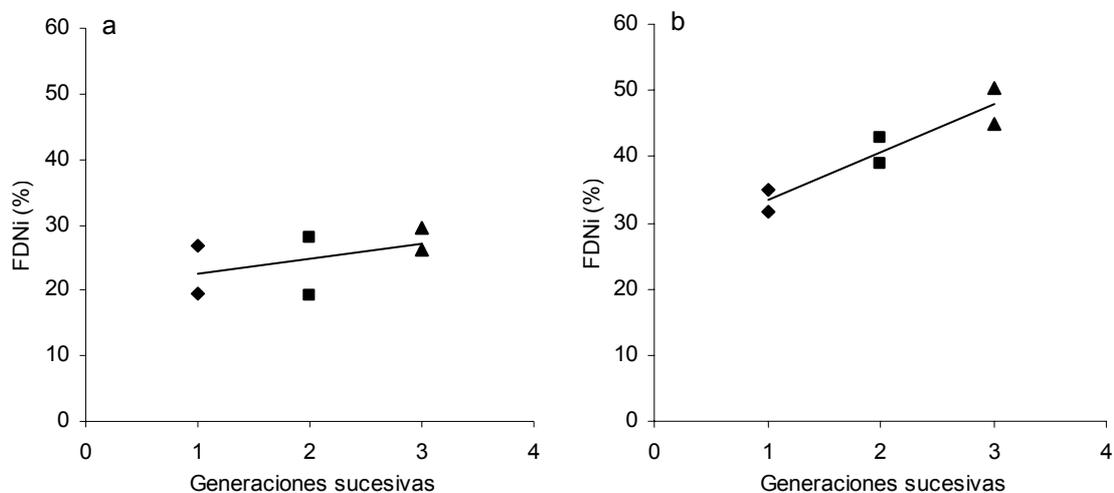


Figura 10: Concentración de la FDNi en las generaciones foliares 1 (◆), 2 (■) y 3 (▲) al momento de aparición de lígula en a) Pangola y b) Grama. Ecuación de a): $y = 2,32x + 19,21$ (ns) $R^2 = 0,22$ y de b): $y = 7,18x + 26,27$ (*) $R^2 = 0,88$. (ns) no significativo ($p > 0,05$); (*) significativo ($p < 0,05$).

4.2.2.3 Efecto de la madurez foliar en el contenido de FDN y FDNi

Fibra detergente neutro

El patrón respuesta de la FDN durante la fase de madurez foliar fue similar en ambas especies (Figura 11). Durante dicho período no se produjeron cambios significativos en los valores de FDN en ninguna de las tres generaciones de las especies evaluadas.

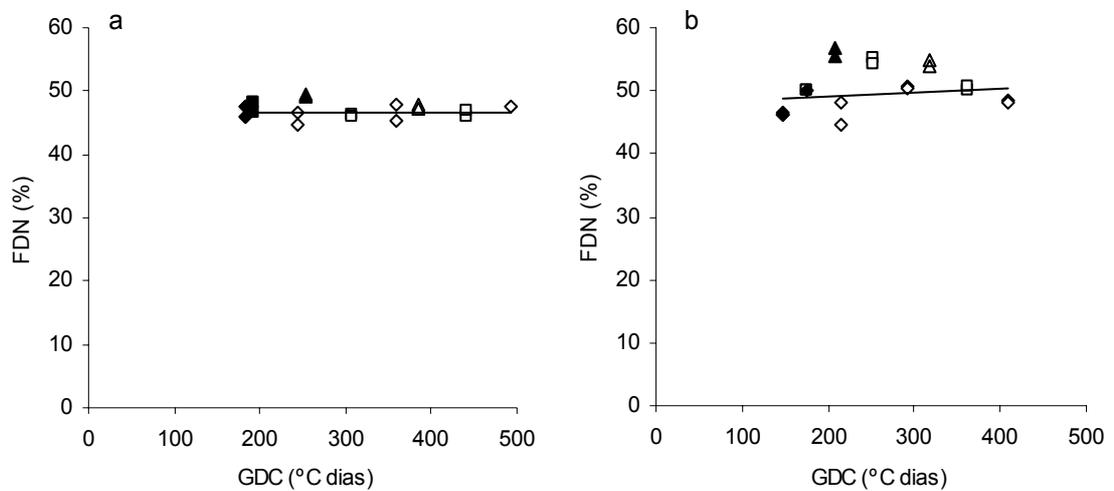


Figura 11: Concentración promedio de FDN en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase madurez de las láminas, para las generaciones foliares 1 (◇), 2 (□) y 3 (△) en a) Pangola y b) Grama. Ecuación de a): $y = -0.004x + 48$ (ns) y de b): $y = 0.008x + 54$ (ns). Temperatura base = 8 °C Pangola y 12 °C grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula, (ns) no significativo ($p > 0,05$).

Fibra detergente neutro indigestible

En Pangola, ninguna de las generaciones manifestó cambios significativos de FDNi en la fase de maduración foliar (Figura 12a). En cambio, en Grama (Figura 12b), las generaciones presentaron un incremento de FDNi, no detectándose diferencias en la tasa de incremento, estimada entre generaciones sucesivas.

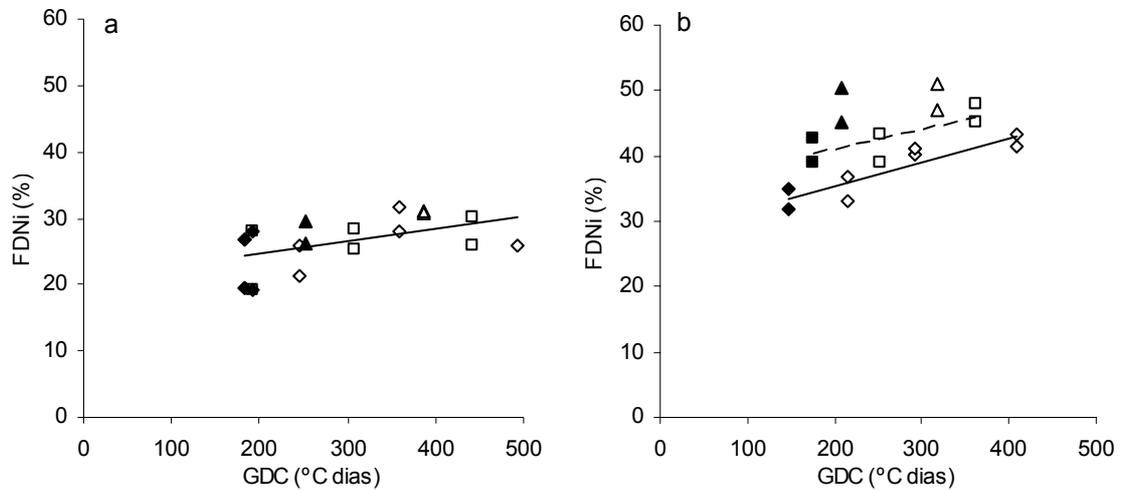


Figura 12: Concentración promedio de FDNi en relación al tiempo térmico (GDC) en la fase de madurez de las láminas, para las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) en a) Pangola y b) Grama. Temperatura base= 8 °C Pangola y 12 °C grama. Los símbolos negros indican aparición de lígula. Ecuación general de a): $y=0,019x+20,72$ (ns) $R^2=0,26$ y de b) (\diamond): $y= 0,036x+28,2$ (*) $R^2=0,81$; (\square): $y= 0,031x+34,6$ (*) $R^2=0,60$. (*) significativo ($p<0,05$); (ns) no significativo ($p>0,05$). Nota: En la generación 3 (Δ) de ambas especies se dispone sólo de 2 puntos, por lo que la misma se dejó fuera del análisis de regresión.

Cuando la comparación se realizó considerando la longitud alcanzada durante esta fase las especies respondieron en forma diferente. En Pangola, tanto el incremento de FDNi como el promedio alcanzado entre generaciones no se diferenciaron durante dicha fase (Figura 13a). En cambio en Grama, el cese de incremento en longitud de las láminas no impidió su aumento en FDNi, siendo significativo este incremento en las generaciones 1 y 2; a su vez el promedio alcanzado se incrementó en generaciones sucesivas, siendo significativamente menor las generación 1 de la 3 (Figura 13b).

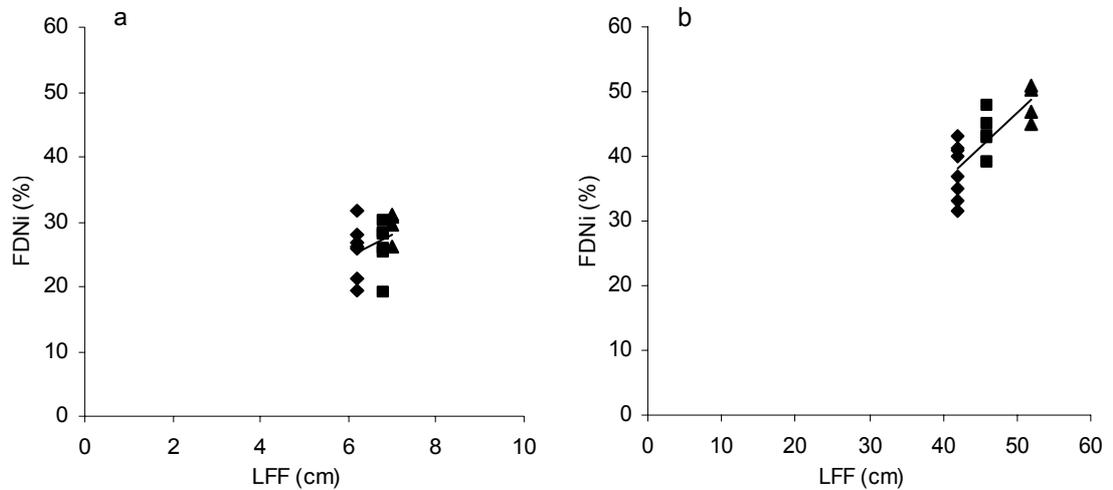


Figura 13: Concentración de FDNi y largo foliar final (LFF) durante la fase de madurez foliar de las generaciones foliares 1 (◆), 2 (■) y 3 (▲) de a (Pangola) y b (Grama). Ecuación de a): $y = 3,29x + 4,92$ (ns) $R^2 = 0,10$ y b): $y = 1,06x - 6,58$ (*) $R^2 = 0,60$. (*) significativo ($p < 0,05$); (ns) no significativo ($p > 0,05$).

4.3 RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS DE CALIDAD

4.3.1. Contenido de FDN y digestibilidad de la FDN

En Pangola el incremento en el contenido de FDN no fue acompañado de una disminución de la DFDN, en cambio en Grama la DFDN mostró una caída lineal con el incremento de FDN.

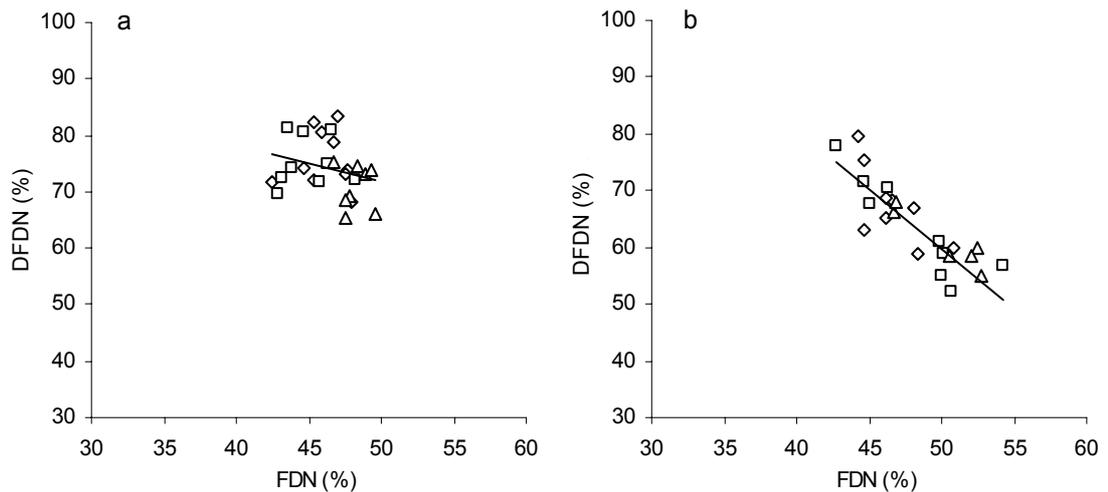


Figura 14: Relación entre la DFDN y la FDN para las generaciones foliares 1 (◆), 2 (□) y 3 (Δ) de a) Pangola y b) Grama. Ecuación de b): $DFDN = -1,70 x + 146,40$, $R^2 = 0,73$.

4.3.2 Relación entre digestibilidad de la FDN con la DVMS y la DegMS.

El incremento de la DFDN estuvo positivamente asociada con la DVMS en ambas especies ($R^2= 0,77$ y $0,90$ para Pangola y Grama, respectivamente). Con respecto a la relación entre DFDN y DegMS hubo diferencias entre especies (Figura 16). En Grama hubo una asociación positiva ($R^2= 0,85$) pero en Pangola ambos parámetros no estuvieron relacionados ($R^2= 0,12$).

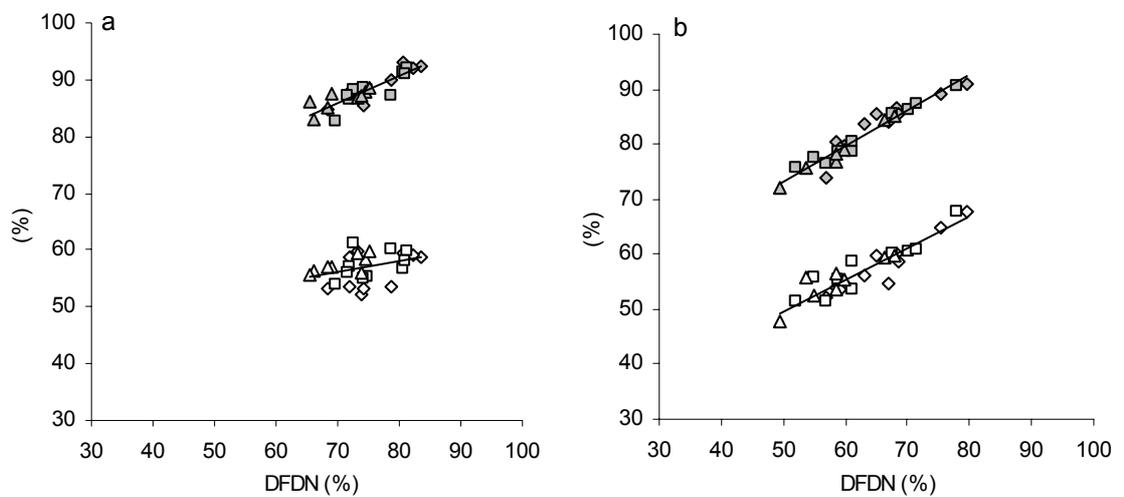


Figura 15: Relación entre la Digestibilidad verdadera de la MS (DVMS) (símbolos llenos) y la Degradabilidad de la MS (DegMS) (símbolos vacíos) en función de la Digestibilidad de la FDN (DFDN), durante la ontogenia de las generaciones foliares 1 (\diamond), 2 (\square) y 3 (Δ) de a) Pangola y b) Grama. Ecuaciones de a): $DVMS=0,47x+53,01$ $R^2=0,77$, $DegMS=0,18x+43,35$ $R^2=0,12$ y de b): $DVMS=0,64x+40,96$ $R^2=0,93$, $DegMS=0,57x+21,14$ $R^2=0,85$.

5. DISCUSIÓN

En este trabajo se estudió la calidad nutritiva del forraje en relación al proceso de crecimiento y el tamaño foliar. Para ello se determinó el contenido de FDN, FDNi y DegMS. A partir de la FDNi se calculó la DFDN y la DVMS durante la VMF de dos gramíneas C4 de diferente tamaño de hoja, en estado vegetativo. Las especies se diferenciaron ampliamente en el largo foliar y en VMF. La longitud de la lámina de Grama (458 ± 17 mm) fue 6,7 veces mayor que la de Pangola (68 ± 13 mm) y su VMF (320°GDC) un 36% menor que la de Pangola (500°GDC). A su vez, las hojas sucesivas de Grama aumentaron de tamaño y las de Pangola permanecieron en la misma longitud.

Las hojas de Pangola son muy cortas y crecen a partir de un estolón rastrero que tiene la capacidad de generar raíces en los nudos que van desarrollando. Por lo tanto no tienen necesidad de generar tejidos de sostén de gran resistencia. Es así que sus láminas no acusaron aumentos del contenido de FDN y FDNi durante su vida foliar. En Grama el contenido de FDN de la primera generación de hojas tampoco aumentó, si bien su longitud fue aproximadamente seis veces la de Pangola. Ello sugiere que existiría un nivel base de contenido de FDN en las hojas de estas gramíneas C4 de aproximadamente 45%, independiente del largo foliar. En otras palabras los resultados indican que, dentro de especies pertenecientes al mismo grupo fotosintético, el contenido de pared celular sería un rasgo poco variable para un rango relativamente amplio de tamaño de láminas y, por ende, de plantas (Figura 3). No obstante, la FDN resultó relativamente sensible al incremento de tamaño de las generaciones sucesivas de la especie de alto porte como Grama. Es decir, Grama mostró niveles de FDN más elevados que Pangola en la segunda y tercer generación de hojas (Cuadro 2).

Contrariamente a lo observado con el contenido de FDN, la FDNi (Cuadro 2) se diferenció marcadamente entre especies. En Grama el contenido promedio de FDNi para las tres generaciones de hojas fue aproximadamente 60% más alto que en Pangola. Este resultado concuerda con los datos presentados por Wilson (1993) y por Masaoka, Wilson y Hacker (1991), quienes comparando especies de alto y bajo porte como *Panicum maximum* y Pangola, respectivamente, encontraron que la menor digestibilidad de la primera estuvo asociada a mayor proporción de tejido estructural (esclerenquima, tejido vascular y vaina parenquimática). Adicionalmente, el mayor contraste que muestran los resultados de contenido de FDNi respecto de FDN entre ambas especies, sugiere que las mismas presentarían diferencias ya sea en la composición y/o en la estructura de la pared celular, así como también en la conformación de los tejidos de las láminas. Por último, los valores promedio registrados en Pangola son comparables a los niveles máximos de contenido de FDNi observado por Groot y Neuteboom (1997) en láminas de raigrás anual (C3). Esto parece indicar que las diferencias en hábito de crecimiento de las plantas, y más particularmente el tamaño foliar, podrían jugar un rol importante en contrarrestar, al menos en cierto grado, las diferencias en calidad del forraje que generalmente se encuentran entre especies C3 y C4 (Wilson y Hacker 1986; Wilson, 1993).

El patrón de incremento de FDNi con los GDC (Figura 5) se ajustó razonablemente a funciones exponenciales negativas en Grama y Pangola, concordando con Groot y Neuteboom, 1997. No obstante, hay que destacar que en Pangola no fue posible obtener láminas recientemente aparecidas por ser éstas extremadamente pequeñas. Por lo tanto el rango de datos de FDNi, mostrados en la Figura 3, correspondió en Pangola a los niveles máximos o techo de la curva. En Grama, en cambio, por ser una especie de mayor tamaño foliar, los resultados abarcaron también los estadios iniciales de crecimiento de las hojas, o sea, la fase donde la FDNi se incrementó a tasas máximas. Así, el cociente entre el largo promedio de las láminas muestreadas

antes de la aparición visible de la lígula (previo alcanzar el largo final o máximo), y largo máximo promedio osciló entre 0,50 y 0,90 en Pangola y entre 0,28 y 0,70 en Grama. Puede suponerse que, de haber sido factible abarcar el mismo rango relativo de tamaños de lámina en ambas especies, también se hubiera observado la fase incremental de la función ajustada a los datos de Pangola.

Los aumentos de FDN y FDNi durante la fase de expansión foliar (Figuras 6, 7, 8 y 9) son el resultado de dos procesos simultáneos: (i) la aparición progresiva de fracciones morfológicas de diferente composición tisular o anatómica (Wilson y Hacker, 1986; Wilson, 1993) y, (ii) los cambios en la composición química de la fibra que reducen la digestibilidad de la pared celular, conocidos como “envejecimiento” (Akin y Chesson, 1989; Engels y Schuurmans, 1992; Wilson, 1994; Grabber, 2005). En este contexto, el envejecimiento involucra los cambios que ocurren en la composición de la fibra a lo largo de la vida foliar, o sea, previo a la etapa de senescencia de los tejidos. El primer proceso mencionado previamente es consecuencia de una variación longitudinal marcada en la anatomía de la lámina, dada principalmente por un incremento desde la punta a la base de la cantidad y tamaño de los haces vasculares (Maurice et al., 1997) y, asociada a ello, de la banda parenquimática y del esclerénquima (Wilson 1993). Esta variación anatómica determina que la secuencia de fracciones de lámina que aparecen por el tubo de vainas durante la fase de expansión visible sean progresivamente más ricas en tejido estructural, hecho que explica en parte el incremento en FDN y FDNi que se observa en dicha fase de la ontogenia foliar (Figuras 6 y 8, respectivamente). Este fenómeno es coherente con la asociación positiva encontrada entre FDN y FDNi con la longitud de las láminas durante su expansión (Figuras 7 y 9, Cuadros 3 y 4).

La distribución de los datos de FDN y FDNi en función de la longitud foliar (Figuras 7 y 9) presentó una importante dispersión respecto de la línea de regresión general (media de las tres generaciones). Ello se debió a que el contenido de fibra por unidad

de longitud, y más particularmente el de FDNi, tendió a incrementarse desde la generación 1 a la 3 (Cuadros 3 y 4). La variación no capturada por la regresión general es consistente con el aumento progresivo de la longitud de las láminas ocurrido entre generaciones sucesivas de hojas (Figura 3). Diversos autores señalaron que el incremento del tamaño entre hojas sucesivas, cuando la cubierta crece progresivamente en altura y en el largo del tubo de vainas, se asocia a una caída de la digestibilidad de las láminas foliares (Wilson, 1976; Duru y Ducrocq, 2002). Dicha caída ha sido básicamente atribuida al progresivo retardo en la emergencia de las fracciones foliares con el incremento de la longitud de las vainas y, por ende, al mayor grado de envejecimiento al momento de dicha emergencia (Wilson y Laidlaw, 1985).

Para verificar en que medida el retraso en la emergencia de hojas sucesivas, debido al alargamiento del tubo de vainas, explicaría el incremento de FDNi entre generaciones de hojas sucesivas de Grama (Figura 10), se estimó la diferencia en tiempo térmico requerido por las mismas para emerger fuera del tubo, según la siguiente ecuación:

$$T = (LV_{g_i(t_i)} - LV_{g_1(t_1)})$$

Donde T indica los GDC de diferencia entre la aparición visible de la lígula de la primer generación de hojas (g_1) y las sucesivas generaciones (g_i), LV el largo del tubo de vainas, t_1 y t_i el momento en GDC de la aparición visible de las lígulas de las generaciones de hojas 1 y subsiguientes, respectivamente. El tiempo estimado de retraso entre las generaciones 3 y 1 fue del orden de 48 GDC, el cual es insuficiente para explicar el incremento de FDNi entre las distintas generaciones de hojas (Figura 5).

El planteo previo sugiere que el aumento de tamaño foliar entre generaciones sucesivas de hojas juega *per se* un rol directo, más allá del mayor grado de envejecimiento, en la explicación de las variaciones en calidad nutritiva del forraje durante el crecimiento de las plantas. El alargamiento de las vainas constituye una

respuesta fotomorfogenética de las plantas para competir en la captación lumínica dentro de cubiertas densas (Deregibus, Sanchez y Casal, 1983). Esta respuesta conlleva un aumento concomitante de la longitud de vainas (Wilson y Laidlaw, 1985) y de la zona de crecimiento foliar (Skinner y Nelson, 1995) como respuesta plástica para la generación de hojas de mayor longitud. Este cambio de forma de las plantas en respuesta al ambiente lumínico implica mayor proporción de tejido de sostén para soportar una estructura de mayor magnitud (Lemaire y Gastal, 1997) y, por ende, con más fibra. En las gramíneas la fibra con función de sostén se ubica en el tejido vascular, principalmente en aquel conformado por el xilema, la vaina parenquimática y el esclerénquima. O sea que éste tejido cumple con una doble función: conferir soporte estructural y, a la vez, conducción de la solución del suelo. Al respecto West, Brown y Enquist (1999) propusieron un modelo que permite explicar la hidrodinámica de las plantas vasculares en respuesta al aumento de altura que ocurre en forma generalizada frente a la competencia lumínica. El flujo de agua constante de las plantas, a pesar del aumento en tamaño, es explicada por el modelo a través del concomitante afinamiento y ramificación de los haces vasculares como vía de optimización biomecánica, para compensar el incremento de la distancia total de transporte por el xilema. Dicho cambio conlleva un aumento en la superficie del tejido vascular y, necesariamente, un mayor contenido de estructuras indigestibles (FDNi). La respuesta estructural previamente discutida, la cual debería verificarse en las gramíneas forrajeras, daría un sustento biomecánico para explicar, al menos en parte, los incrementos concordantes observados en Grama entre el contenido de FDN y de FDNi y el tamaño de las láminas entre generaciones sucesivas de hojas.

La discusión previa indica que las diferencias en concentración de FDN y de FDNi a lo largo de la fase de expansión foliar (Figuras 6, 7, 8 y 9 y Cuadros 3 y 4), estarían en alto grado asociadas al tamaño de las hojas. Vale resaltar que durante dicha fase ontogénica las láminas de Grama presentaron tasas de concentración de FDNi por

unidad térmica que casi duplicaron a las de FDN (en promedio $0,10 \pm 0,02\%$ FDNi $^{\circ}\text{C}^{-1}$ y $0,05 \pm 0,01\%$ FDN $^{\circ}\text{C}^{-1}$, respectivamente). Sin embargo la FDN tuvo una tasa de incremento mucho más marcada entre generaciones sucesivas (Cuadros 3 y 4) que la tasa de acumulación de FDNi (3 y 1,2 veces, respectivamente). Esto indicaría que el proceso básico que caracterizó el incremento del tamaño foliar entre generaciones de hojas sucesivas fue la magnitud de la deposición de pared celular. Dicho proceso ocurre tempranamente durante la ontogenia, específicamente en la etapa de maduración de las células de los tejidos foliares dentro de la zona de crecimiento o meristema intercalar (Mac Adam y Nelson 1987).

Tal como es esperable, la concentración de FDN permaneció estable después de la aparición de la lígula en ambas especies (Figuras 11). En cambio, la FDNi aumentó en dicho período en Grama pero no en Pangola (Figura 12). En Grama la FDNi continuó aumentando hasta alcanzar techos de 40, 44 y 49% para las generaciones 1, 2 y 3, respectivamente (Figura 5, Cuadro 2). Este patrón, el cual es coincidente con lo observado por Groot y Neuteboom (1997) en raigrás anual, indicaría que la pared celular continuó sufriendo cambios importantes durante la fase de maduración foliar, que pueden ser atribuidos a la continua lignificación de las paredes primaria y secundaria de los tejidos de conducción (Engels y Schuunmans, 1992; MacAdam et al. 1996; Jung y Engels, 2002). La tasa de incremento de la FDNi por unidad de longitud foliar en esta fase ontogénica ($0,9$ unidades porcentuales/cm; Figura 9) fue menor que la estimada en el momento de aparición de la lígula ($1,4$ unidades porcentuales/cm; Figura 10). Ello sugiere que la tasa de envejecimiento de la pared celular en la fase de madurez foliar tendería a contrabalancear la pérdida de calidad de la fibra asociadas al aumento del tamaño entre generaciones sucesivas de láminas. Estas últimas no explicarían más del 50% de las variaciones en contenido de FDNi alcanzado durante esta fase ontogénica.

La implicancia nutricional de todo lo expuesto radica en que la acumulación de FDN y FDNi afectan la calidad nutritiva. Al respecto Mertens (1993) postuló que el incremento de FDN debería ir acompañado de una pérdida de su digestibilidad. Esta es una hipótesis general para la FDN, sin considerar su función y complejidad en distintos tejidos de forrajeras de hojas de distinto tamaño y morfología foliar. Los resultados en Grama confirman la hipótesis mencionada, e indican que el aumento de 15 unidades porcentuales de FDN en las láminas, implicó una pérdida de DFDN de 0.9 unidades por unidad de incremento de FDN (Figura 15). Sin embargo, en Pangola esto no ocurrió, como previamente se mostró en la figura 15 a, c y e, lo cual puede deberse a que las láminas tuvieron un rango estrecho de tamaño. Por lo tanto los resultados del presente experimento sugieren que la hipótesis mencionada tiene asidero cuando hay gran variación en el tamaño de las hojas. En este caso el aumento de la concentración de FDN, que ocurre con el transcurso del tiempo y con el alargamiento de las láminas de generaciones sucesivas, conlleva al incremento de FDNi lo que implica una disminución de la DFDN. Cabe aclarar que en este trabajo la digestibilidad/indigestibilidad de la FDN se midió a 24 h de incubación *in vitro* por las razones que se detallan a continuación. Primero, corresponde al período en que se degradan los tejidos de mayor importancia nutricional para el animal (Wilson y Mertens, 1995 Wilson, 1994; Akin, Wilson y Windham, 1983. Segundo, las hojas y tallos de rebrotes de *Digitaria decumbens* y *Chloris gayana* permanecen en el rumen entre 16-20 h (Poppi, Minson y Ternouth, 1980). Tercero, Oba y Allen (2005) sugieren disminuir el tiempo de incubación para determinar la digestibilidad de la fibra de 48 h a no más de 30 h.

Como era de esperar, la pérdida de DFDN estuvo asociada a la disminución de la DVMS y DegMS. La DFDN es importante por su efecto en el consumo y producción. Al respecto Oba y Allen (2005) demostraron que la DFDN es el parámetro más relacionado con el consumo de MS y la producción de leche, independientemente de

la digestibilidad *in vivo* de la MS o del contenido de FDN de la dieta. Ello se atribuye al menor efecto de llenado físico del rumen, dado por la mayor fragilidad de la FDN que permite aumentar el consumo y posiblemente la eficiencia microbiana. Por lo tanto en la actualidad la DFDN es considerada como el principal parámetro que define la calidad nutritiva del forraje, independientemente del contenido de FDN y de la digestibilidad de la MS (Oba y Allen, 2005).

En síntesis, los aspectos más relevantes, entre especies, del efecto diferencial del crecimiento en la calidad nutritiva, y de la relación entre las características de la FDN y la calidad nutritiva, son:

- 1) La FDNi presentó mayores variaciones que la FDN con el envejecimiento y tamaño foliar. En Grama, especie de mayor longitud foliar (458 ± 17 mm) que Pangola (68 ± 13 mm), la FDNi aumentó durante la vida foliar hasta llegar a un máximo 60% mayor que en Pangola. Este parámetro aumentó considerablemente aún después que las láminas alcanzaron su tamaño foliar máximo, cuando las láminas ya no acumulaban FDN.
- 2) Al emerger del pseudotallo las hojas de Grama y Pangola fueron de similar calidad, pero con el avance del tiempo la pérdida de calidad se diferenció entre especies. En las de hojas cortas de Pangola el cambio fue muy leve y en las largas de Grama fue muy pronunciado (3 veces mayor).
- 3) El efecto del incremento de FDN en la calidad nutritiva fue diferente entre especies y en concordancia con su diferencia de tamaño. En Pangola, que tuvo hojas muy cortas, dicho incremento no fue acompañado de una disminución de la DFDN. En cambio en Grama cuyas hojas presentaron un gran incremento de tamaño, el aumento de FDN estuvo asociado a una pérdida de su digestibilidad.
- 4) La DFDN estuvo positivamente asociada con la DVMS en ambas especies ($R^2= 0,77$ y $0,90$ para Pangola y Grama, respectivamente). Pero hubo diferencias entre especies entre la relación de este parámetro con la DegMS. En Grama hubo una

asociación positiva ($R^2= 0,85$) pero, en Pangola ambos parámetros no estuvieron relacionados ($R^2= 0,12$).

6. CONCLUSIONES

El contenido de FDN fue un parámetro poco variable entre especies contrastantes en tamaño foliar como Grama y Pangola. En cambio el contenido de FDNi varió entre especies. En Pangola, especie de hoja corta, no hubo cambios con la edad foliar pero en Grama, que tuvo un largo foliar 6,7 veces mayor, el contenido de FDNi aumentó durante toda la vida foliar hasta alcanzar un máximo 60% mayor que en Pangola. Se corroboró que la FDNi continuó aumentado después que las láminas alcanzaron su tamaño foliar máximo, momento a partir del cual no hubo incrementos en la FDN. Las hojas sucesivas de Grama aumentaron de tamaño y acumularon más FDNi. El incremento de FDN y FDNi, ocasionado por el envejecimiento y/o tamaño foliar, estuvo asociado a una disminución de la digestibilidad de la FDN, la cuál estuvo altamente asociada a la digestibilidad verdadera y degradabilidad de la MS. Estos resultados confirman la hipótesis planteada respecto a que el tamaño foliar define en gran parte la calidad nutritiva. Queda por establecer si dichas relaciones se mantienen en una especie de tamaño foliar intermedio, o en una especie de alto porte cuyo tamaño potencial se reduce por defoliación.

7. BIBLIOGRAFIA

- AKIN, D.E. 1982. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. *Crop Science* 22:444-446.
- AKIN, D.E.; WILSON, C.J., WINDHAM, W.R. 1983. Site and rate of tissues digestion in leaves of C3, C4 and C3/C4 intermediate *Panicum species*. *Crop Science* 23:147-155.
- AKIN, D.E. 1988. Biological structure of lignocellulose and its degradation in the rumen. *Animal Feed Science Technology*. 21:295-310.
- AKIN, D.E., CHESSON, A. 1989. Lignifications as the major factor limiting forage feeding value especially in warm conditions. In 16^o International Grassland Congress, Nice. France, 1989, ago 12-13. pp 1753-1759.
- ALLARD, G., NELSON, C. J. 1991. Photosynthate partitioning in basal zones of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology*. 95:663-668.
- BAHMANI, I.; HAZARD, L.; VARLET-GRANCHER, C.; BETIN, M.; LEMAIRE, G.; MATTHEW, C., THOM, E.R. 2000. Differences in tillering of long-and-short leaved perennial ryegrass genetic lines under full light and shade treatments. *Crop Science* 40:1095-1102.
- BOGDAN, A.V. 1969. Rhodes grass. *Herbage abstracts*. 39:1-13.
- BUXTON, D.R., REDFEARN, D.D. 1997. Plant limitations to fibre digestion and utilization. *Journal of Nutrition* 127:814s-818s.
- CALVIÈRE, I., DURU, M. 1995. Leaf appearance and senescence patterns of some pasture species. *Grass and Forage Science* 50:447-451.
- CENSO NACIONAL AGROPECUARIO, 2002. [en línea] Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <http://www.indec.gov.ar/agropecuaria/cna_principal.asp> [consulta: 10 marzo 2008].
- CHACON E., STOBBS F.H. 1976. Influence of progressive Defoliation of Grass Sward on the Eating Behaviour of Cattle. *Australian Journal Agricultural Research* 27:709-727.
- CHESSON, A.; STEWART, C.S.; DALGARNO, K., KING, T.P. 1986. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell wall in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. *Journal Applied Bacteriology* 60: 327-336.
- CHESSON, A. 1993. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In JUNG, H.G. *et al.* ed. *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 347-375.
- DAVIES, A., THOMAS, J. 1983. Rates of leaf and tiller production in young spaced perennial ryegrass plants in relation to soil temperature and solar radiation. *Annals of Botany* 57:591-597.

- DAVIES, A. 1988. The regrowth of the grass sward. In JONES M.B. and LAZENBY A. eds.: *The Grass Crop: The Physiological Basis of Production*. CHAPMAN and HALL, London. pp. 129-169.
- DAVIES, I. 1979. Developmental characteristics of grass varieties in relation to herbage production. 4. Effect of nitrogen on the length and longevity of leaf blades in primary growth of *Lolium perenne*, *Dactylis glomerata* and *Phleum pratense*. *Journal of Agricultural Science* 92:277-287.
- DEINUM, B.; VAN ES, A.J.H., VAN SOEST, P.J. 1968. Climate, nitrogen and grass. II. The influence of light intensity, temperature and nitrogen on vivo digestibility of grass and the perdition of these effects from some chemical procedures. *Netherlands Journal Agricultural Science* 16:217-223.
- DEREGIBUS, V.A.; SANCHEZ, R.A., CASAL, J.J. 1983. Effects of light quality on tiller production in *Lolium sp.* *Plant Physiology*. 72:900-912.
- DURU, M., DUCROCP, H. 2002. A model of lamina digestibility of *Orchardgrass* as influenced by nitrogen and Defoliation. *Crop Science* 42:214-223.
- DURU, M., DUCROCQ, H. 2000. Growth and senescence of the successive grass leaves on a tiller. Ontogenic development and effect of temperature. *Annals of Botany* 85:635-643.
- EGGER, L. 1999. Morfogenese e desfolhacao de *Paspalum notatum* FL. E. *coelorhachis selloana* (Hack.) camus em diferentes niveis de oferta de forragem. Tesis de Dr. UFRGS, Porto Alegre. 145 p.
- ENGELS, F. M. 1989. A cell wall layer limiting digestion in grasses. *Acta Botany Neerlandes*. 38:95-96.
- ENGELS, F. M., SCHUURMANS J. L. L. 1992. Relationship between structural development of cell wall and degradation of tissue en the maize item. *Journal Science food agricultural* 59:45-51.
- FELLER, U., FISCHER, A. 1994. Nitrogen metabolism in senescing leaves. *Critical Reviews in Plants Sciences* 13:241-273.
- FICK, G.W.; WILKENS P.W., CHERNEY, J.H. 1994. Modeling forage quality changes in the growing crop. In: FAHEY G.C. et al., eds. *Forage quality, evaluation and utilization*. WI: American Society of agronomy, Madison pp. 757-795.
- FRY, S.C. 1986. Cross linking of matrix polymers in the growing cell wall of angiosperms. *Annal Reviews Plant Physiology* 37:165-186.
- FUKUMOTO, G.K., LEE, CH. 2003. Pangolagrass for forage. *Livestock Management. Cooperative Extension Service [en línea]* University of Hawaii at Manoa. LM-4. <<http://www2.ctahr.hawaii.edu>> [consulta: 10 marzo 2008].

- GASTAL, F., LEMAIRE, G. 1988. Study of a tall fescue sward grown under nitrogen deficiency conditions. Proceeding of the 12^o meeting of the European Grassland Federations, (Dublin, 1988, set 6 - 9). Irish Grassland Association, Belclare, Ireland. pp.323-327.
- GASTAL, F., NELSON, C.J. 1994. Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. *Plant Physiology* 105:191-197.
- GOODWIN, T.W., MERCER, E. I. 1983. The plant cell wall. In *Introduction to plant biochemistry*, Pergamon, New York, pp 55-91.
- GRABBER, J.H. 2005. How do lignin composition, Structure, and Cross-linking affect Degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science* 45:820-831.
- GROOT, J.C.J., NEUTEBOOM, J. H. 1997. Compositions and digestibility during ageing of Italian Ryegrass leaves of consecutive insertion levels. *Journal Science food Agricultural* 75: 227-236.
- HACKER J. B., MINSON D.J. 1981. The digestibility of plant parts. *Herbage Abstracts*. 51:459-482.
- HIRATA, M. 1999. Modelling digestibility dynamics in leaf segments in a grass: a new approach to forage quality changes in a growing plant. *Agricultural System*. 60:169-174.
- HODGSON, J. 1990. *Grazing management. Science into practice*. Longman Handbooks in Agriculture. Longman Scientific and Technical, Gran Bretaña. 203 p.
- HUMPHREYS, L.R., PARTRIDGE, I.J. 1995. A guide to better pastures for the tropics and subtropics. In: *NSW Agriculture*. Australia pp. 31-35.
- JUNG, H.G., ALLEN, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forage by ruminants. *Journal Animal Science* 73:2774-2790.
- JUNG, H.G., ENGELS, F.M. 2002. Alfalfa stems tissues: Cell wall deposition, composition, and degradability. *Crop Science* 42:524-534.
- JUNG, H.G.; MORRISON, T.H., BUXTON, D.R. 1998. Degradability of cell wall polysaccharides in maize internodes during stalk development. *Crop Science* 38:1047-1051.
- KEMP, D.R. 1980. The location and size of the extension zone of emerging wheat leaves. *New Phytologist* 84: 729-737.
- LAREDO, M.A., MINSON D.J. 1973. The voluntary intake, digestibility, and retention time by sheep of leaf and stem fractions of five grasses. *Australian Journal Agricultural Research*. 24:875-898.
- LATTANZI, F. A.; SCHNYDER, H., THORNTON B. 2004. Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. *Plant, Cell and Environment* 27:347-356.

- LATTANZI, F. A. 1998. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento otoño-invernal y la morfogénesis de cultivares de festuca alta con diferentes patrones de crecimiento estacional. Tesis M. Sc, Universidad Nacional de Mar del Plata. 115 p.
- LEMAIRE, G. 1988. Sward dynamics under different management programmers. Proceedings of the 12° General Meeting of the European Grassland Federation. pp. 7-22.
- LEMAIRE, G., AGNUSDEI, M. 2000. Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilization. In LEMAIRES, G.; HODGSON, J.; MORAES, A.; CARVALHO F, P.C. y NABINGER, C. eds. Grassland ecophysiology and grazing ecology. CAB International. Brasil. pp. 265-287.
- LEMAIRE, G., CHAPMAN, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In: HODGSON, J. y ILLUS, A.W eds. The Ecology and Management of Grazing Systems. CAB International. pp. 3-36.
- LEMAIRE, G. and GASTAL, F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. LEMAIRES, G. ed. Diagnosis of the nitrogen status in crops INRA. Station d'Ecophysiologie de plants fourrageres. 1:3-41.
- MacADAM, J.W., NELSON C.J. 1987. Specific leaf weight in zones of cell division, elongation and maturation in tall fescue leaf blades. Annals of botany 59:369-376.
- MacADAM, J.W.; VOLENEC, J.J., NELSON, C.J. 1989. Effects of nitrogen on mesophyll cell division and epidermal cell elongation in tall fescue leaf blades. Plant Physiology 89:549-546.
- MacADAM, J. W.; KERLEY, M. S.; PIWONKA, E. J., SISSON, D. W. 1996. Tiller development influences seasonal change in cell wall digestibility of big bluestem (*Andropogon geraldii*). Journal Science food agricultural. 70:79-88.
- MARINO, M.A. 1996. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento invierno primaveral, la composición química y la calidad del forraje de *Avena sativa* y *Lolium multiflorum* Lam. Tesis M. Sc., Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias, Balcarce.104 p.
- MASAOKA, Y.; WILSON, J.R., HACKER, J.B. 1991. selecting for nutritive value in *Digitaria milanijiana* 3. Relation of chemical composition and morphological and anatomical characteristics to the deference in digestibility of divergently selected full sibs, and comparison with *D. eriantha* ssp. pentzii (pangola grass). Australian Journal of Experiment Agricultural. 31:631-638.
- MAURICE, I.; GASTAL, F., DURAND J.L. 1997. Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematic approach for Non-steady growth. Annals of Botany 80:673-683.
- MAZZANTI, A., LEMAIRES, G. 1994. Effect of nitrogen fertilization upon the herbage production of tall fescue swards continuously grazed with sheep. 2. Consumption and efficiency of herbage utilization. Grass and Forage Science 49:352-359.

- MERTENS, D.R. 1993. Importance of the detergent system of feed analyses for improving animal nutrition. Proceeding Cornell Nutrition Conference. NY. pp. 25-36.
- NABINGER, C., PONTES, L. 2001. Morfogenese de plantas forrageiras e estrutura do pasto. In: 38 Reuniao da sociedade brasileira de zootecnia. Piracicaba, 2001. Piracicaba: SBZ. pp. 755-771.
- NELSON, C.J. 1992. Physiology of leaf growth of grasses. In: Proc 14^o European grassland federation, Lahti, 1992, 8 – 11 June. Finland. pp. 175-179.
- NIKLAS, K. J. 1998. The mechanical roles of clasping leaf sheaths: evidence from *Arundinaria técta* (Poaceae) Shoots Subjected to bending and twisting forces. *Annals of Botany* 81:23 -34.
- OBA, M., ALLEN M. 2005. In vitro digestibility of forages. Proceeding Tri – State Dairy nutrition conference. US, 2005, 2 – 3 May. US. pp. 81-91.
- OLIVEIRA, M.A. 1999. Morfogenese, análise de crescimento e valor nutritivo do capim Tifton 85. (*Cynodom spp.*) em diferentes idades de rebrota. Viscosa: Brasil, 94p.
- PEARSE, P.J., WILMAN, D. 1984. Effects of applied nitrogen on grass leaf initiation, development and death in field swards. *Journal of Agricultural Science* 103: 405-413.
- PEREZ, H.; BRAVO, S.; ONGARO, V.; CASTAGNARO, A.; GARCIA SEFFINO, L., TALEISNIK, E. 1999. *Chloris gayana* cultivars: RAPD polymorphism and field performance under salinity. *Grass and Forage Science*, 54:289-296.
- PIRELA, M.F. 2005. Valor nutritivo de los pastos tropicales. En su: PIRELA, M.F. Manual de Ganadería de doble propósito. INIA. UY. 6:176-182.
- PONTES, L.S. 2001. Dinâmica de crescimento em pastagens de azevem anual (*Lolium multiflorum* Lam.) manejadas em diferentes alturas. UFRGS, Porto Alegre. Tesis de M. Sc. 102p.
- POPPI, D.P.; MINSON, D.J., TERNOUTH, J.H. 1980. Studies of cattle and sheep eating leaf and stem fractions of grasses. I. The voluntary intake, digestibility and retention time in the reticulo-rumen. *Australian Journal Agricultural Research* 32:99-108.
- ROBSON, M.J. 1972. The effect of temperature on the growth of S.170 tall fescue (*Festuca arundinacea*). I. Constant temperature. *Journal of Applied Ecology* 9:643-653.
- SAS. 2001. SAS/STAT® User's guide (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC. Programa computacional.
- SCHNYDER, H., NELSON, C.J. 1987. Growth rates and carbohydrate fluxes within the elongation Zone of tall fescue leaf blades. *Plant Physiology*. 85:548-553.

- SCHNYDER, H.; SEO, S.; RADEMACHER, I.F., KUHBAUCH, W. 1990. Spatial distribution of growth rates and of epidermal cell lengths in the elongation zone during leaf development in *Lolium perenne* L. *Plant* 181:423-431.
- SKINNER, R.H., NELSON, C.J. 1994a. Effect of tiller trimming on phyllochron and tillering regulation during tall fescue development. *Crop Science* 34:1267-1273.
- SKINNER, R.H., NELSON, C.J. 1994b. Epidermal cell division and the coordination of leaf and tiller development. *Annals of botany* 74:9-15.
- SKINNER, R.H., NELSON, C.J. 1995. Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. *Crop Science* 35:4-10.
- THOMAS, H., STODDART, J.L. 1980. Leaf senescence. *Annual Review of Plant Physiology* 31:83-111.
- VAN SOEST, P.J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. *Journal Animal Science* 26:119-128.
- VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J., LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*, 74: 3583 – 3597.
- VAN SOEST, P.J. 1993. Cell Wall matrix interactions and degradation – Session Synopsis In: JUNG, H.G. ed. *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, WI 53711, USA. pp 377-395.
- VAN SOEST, P. J. 1994b. Forage evaluation techniques. In: VAN SOEST, P. J. *Nutritional Ecology of the Ruminant* 2nd ed. Comstock Publishing Assoc., Ithaca, NY. pp. 108-121.
- VILELA D.; AGUIAR PAIVA, P.C.; APARECIDA, J., CARVALHO DE CARDOZO, R. 2005. Morfogênese e acúmulo de Forragem em Pastagem de *Cynodon dactylon* CV. *Coastcross* em Diferentes Estações de Crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34 (6) 1891-1896.
- VOLENEC, J.J., NELSON, C.J. 1981. Cell dynamics in leaf meristems of contrasting tall fescue genotypes. *Crop Science*. 21:381-385.
- WEST, G.B.; BROWN, J.H., ENQUIST, B. J. 1999. A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* 400:664-667.
- WILSON J.R. 1976. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I development rate, chemical and dry matter digestibility. *Australian Journal Agricultural Research* 27: 343-354.
- WILSON, R.E., LAIDLAW, A.S. 1985. The role of the Sheath tube in the development of expanding leaves in *perennial ryegrass*. *Annal Applied Biology* 106:385-391.
- WILSON, J.R., HACKER, J.B. 1986. Comparative digestibility and anatomy of some sympatric C₃ and C₄ arid zone grasses. *Australian Journal. Agricultural Research* 38: (2) 287-295.

- WILSON, J.R., HATTERSLEY, P.W. 1989. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass genera with C₃ and different types of C₄ photosynthetic pathway. *Australian Journal Agricultural Research*. 40:125-136.
- WILSON, J.R. 1990. Influence of plant anatomy on digestion and fibre breakdown. In: AKIN, D. E. et al. ed. *Microbial and plant opportunities to improve the utilization of lignocelluloses by ruminants*. Elsevier. New York. pp 88-117.
- WILSON J.R.; DEINUM, B., ENGELS, F.M. 1991 Temperature effects on anatomy and digestibility of leaf and stem of tropical and temperate forage species. *Netherlands Journal Agricultural Science*. 39:31-48.
- WILSON, J.R. 1993. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G. ed. *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI 53711, USA. pp. 1-32.
- WILSON, J.R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 122:173-182.
- WILSON, J.R., MERTENS, D.R. 1995. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Science* 35:251-259.
- WILSON, J.R. 1997. Structural and anatomical traits of forage influencing their nutritive value for ruminants. *Simposio internacional sobre producc on animal en pastoreo*. Viscosa, UNV. Brasil. pp 411-429.
- WILSON, J.R. 1997. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. *In: GOMIDE J.A. ed. Anais do simp osio internacional sobre producc on animal em pastejo*. Departamento de Zoot cnica. Universidad Federal de Viçosa. 4-6 november 1997. Brasil. pp. 173-208.
- WILSON, J.R., HATFIELD, R.D. 1997. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: Consequence for fibre degradation rumen micro flora. *Australian Journal Agricultural Research* 48:165-180.
- WOLEDGE, J., JEWISS, O.R. 1969. The effect of temperature during growth on the subsequent rate of photosynthesis in leaves of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Annals of Botany* 33:897-913.