



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SUR

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGÍSTER EN CIENCIAS AGRARIAS**

**Leguminosas herbáceas nativas: una alternativa para la restauración
de pastizales y suelos degradados en el sudoeste bonaerense**

LIC. CLARA MILANO

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2018

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de *Magíster en Ciencias Agrarias* de la Universidad Nacional del Sur (UNS) y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta u otra universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía de la UNS y el Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), dependiente del CONICET, durante el período comprendido entre abril de 2015 y diciembre de 2016, bajo la dirección del Dr. Daniel V. Peláez (Departamento de Agronomía-UNS, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, CERZOS-CONICET) y la codirección del Dr. Rodrigo Tizón (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria).

.....
Lic. Clara Milano



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el.../.../....., mereciendo la calificación de....., (.....).

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá y mi papá, por acercarme a la naturaleza y disfrutarla conmigo. Por enseñarme a amar la vida y la inocencia. Por el apoyo y la libertad incondicionales, que son uno de sus mayores actos de amor.

A mi hermano, por jugar, pelear, crecer juntos. Por ser una excelente persona, siempre ocupada en mejorarse. Por darme la oportunidad de seguir compartiendo tiempo con él y disfrutando esta etapa nueva de menos juegos pero más miradas compinches, de menos peleas y más charlas y cervezas.

A mis abuelos Elsa y Hugo, por su presencia constante, siempre buena onda, por sus chistes, sus juegos y su amor de abuelos. Al abuelo Reinaldo, por su amor al campo y al trabajo, por dejarme acompañarlo y aprender de él.

A Ale, por ayudarme a crecer y a ser mejor, por tantas charlas y abrazos que nos construyen. Por tu amor. Por la huerta, el mate, el silencio, las caminatas, el campo, las risas, el sol, las miradas, el fuego, el trabajo juntos. Por acompañarme en cada una de las etapas y decisiones de este trabajo: es muy tuyo también!

A la madri, por su ejemplo de trabajo incansable y por estar presente a pesar de la distancia, siempre apoyando y sabiendo por dónde andan nuestros pasos y pensamientos.

A mis amigos, que hacen que la vida sea de colores y risas, en especial a aquellos que me ayudaron en las muchísimas tareas que derivaron de esta tesis y las disfrutaron conmigo. Leo, Justi, Tuti, Valdo, Mante, Fa, Lu, Pai, Aylu, Fio, Fer, Agus, Juli, Fabi, Ale, Kate: GRACIAS!! Los quiero entrañablemente!

A la Universidad Nacional del Sur por aportar la beca de estudios de posgrado, el lugar de trabajo y parte de los fondos que permitieron la concreción de esta tesis. Al INTA, por aportar parte del financiamiento y sus instalaciones para algunas etapas del trabajo. Al Dr. James Muir y su equipo de *Texas A&M University*, por recibirme cálidamente y aportar el espacio y materiales para el análisis de parte de las muestras de este estudio. A mis directores Rodrigo Tizón y Daniel Peláez, por dejarme hacer y guiarme en este proceso de aprendizaje.

Al sistema de universidades nacionales argentinas, por dar la posibilidad de acceder a educación gratuita de excelente calidad a muchísimos jóvenes de este y otros países.

A la naturaleza, que es para mí una fuente de alegría, disfrute y admiración inagotable.

RESUMEN

El hombre maneja la mayor parte de la superficie terrestre y una gran proporción está dedicada a actividades agropecuarias. El modelo de producción agropecuaria vigente, fuertemente influenciado por la *Revolución Verde*, tiene problemas ambientales y sociales severos que ponen en duda su sustentabilidad. La agroecología y la restauración productiva son enfoques alternativos, que consideran las dimensiones ecológicas, económicas y sociales de los sistemas agroalimentarios. El sudoeste bonaerense tiene características marginales para la agricultura y aptitud principalmente ganadera. La restauración productiva de los pastizales naturales de esta región mediante la reincorporación de especies vegetales claves del ecosistema original para generar agroecosistemas más resilientes y sustentables es una prioridad que debe ser atendida. El objetivo de esta tesis fue aumentar el conocimiento sobre algunas especies de leguminosas herbáceas nativas de la región con potencial para fijar nitrógeno, mejorar la oferta forrajera y enriquecer los pastizales naturales degradados. En primer lugar se realizó una búsqueda bibliográfica para detectar y caracterizar las especies de leguminosas herbáceas nativas reportadas para el área de estudio; luego se localizaron y georreferenciaron sus poblaciones. Posteriormente se estudió la germinación, capacidad de fijación biológica de nitrógeno (FBN) y calidad nutritiva de algunas especies. Se detectaron 30 especies correspondientes a 10 géneros, 19 de ellas potencialmente útiles en agroecosistemas y 16 encontradas en alguno de los 43 sitios visitados, siendo *Adesmia*, *Lathyrus* y *Vicia* los géneros con más especies y *A. incana* y *Rhynchosia senna* las más frecuentemente halladas. Se estudió la germinación en laboratorio de las especies más promisorias de las que se colectó semilla: *Adesmia filipes* (Af), *A. incana* (Ai), *A. muricata* (Am), *Lathyrus nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) y *R. senna* (Rs), evaluando el porcentaje de germinación (PG) y la respuesta a tratamientos pregerminativos aplicados para romper la dormición seminal. Las respuestas fueron variables según las especies; todas presentan un 45% o más de semillas dormantes y para la mayoría se lograron PG mayores al 50%. Los tratamientos más efectivos fueron los de escarificación física; la escarificación térmica por inmersión en agua caliente fue efectiva para Lp, Rd y Rs. Paralelamente, se aislaron cepas de rizobio nodulantes de Ai y Lp, y se evaluó la FBN en esta última utilizando inoculante propio y comercial. Lp solo estableció simbiosis efectivas con rizobios nativos y tuvo una eficiencia de fijación del 50%, sin diferencias en el contenido de nitrógeno entre tratamientos con nitrógeno mineral o simbiótico, pero con mayor producción de biomasa en el primero. Por último, se analizaron algunos parámetros de calidad nutritiva de las especies Ai, Ln, Lp, *L. subulatus*, Rd y Rs. En estado vegetativo, todas mostraron contenidos de proteína bruta semejantes a los de leguminosas cultivadas y algunas un contenido mayor, y buena digestibilidad. Solo se detectaron taninos precipitantes de proteínas en Rd, Rs y Ai en estado reproductivo, siendo de moderados a altos solo en Rd. Por las características evaluadas en este trabajo y las reportadas en la bibliografía, muchas de estas especies merecen ser consideradas para la restauración productiva de pastizales semiáridos y subhúmedos del centro de Argentina; nuevos estudios orientados a analizar diferentes modos de obtener semillas para cultivo a mediana y gran escala contribuirían a concretar su utilización.

ABSTRACT

Human manages and handles most of the land surface and a large proportion of it is dedicated to agricultural activities. The current model of agricultural production, strongly influenced by the Green Revolution, has severe environmental and social problems that call into question its sustainability. Agroecology and productive restoration are alternative approaches, which consider the ecological, economic and social dimensions of agri-food systems. The southwest of Buenos Aires province has marginal characteristics for agriculture and its aptitude is mostly for cattle grazing. Productive restoration of natural grasslands of this area through reincorporation of key plant species from the original ecosystem to generate more resilient and sustainable agroecosystems is a priority that must be addressed. The aim of this thesis was to increase the knowledge on some species of herbaceous legumes native to the region with the potential to fix nitrogen, improve forage supply and enrich degraded natural grasslands. First, a bibliographic search was carried out to detect and characterize the native herbaceous legume species reported for the study area; then their populations were located and georeferenced. Subsequently, germination, biological nitrogen fixation capacity (BNF) and nutritional quality of some species were studied. 30 species were detected corresponding to 10 genera, 19 of them potentially useful in agroecosystems and 16 found in at least one of the 43 sites visited, with *Adesmia*, *Lathyrus* and *Vicia* being the genera with more species and *A. incana* and *Rhynchosia senna* the most frequently found. Germination in lab conditions of the most promising species from which seeds were collected was studied: *Adesmia filipes* (Af), *A. incana* (Ai), *A. muricata* (Am), *Lathyrus nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) and *R. senna* (Rs), evaluating the germination percentage (GP) and the response to pregerminative treatments applied to break seed dormancy. Responses were variable according to the species; all present 45% or more dormant seeds and for most of the species a GP greater than 50% was achieved. The most effective treatments were physical scarification; thermal scarification by immersion in hot water was effective for Lp, Rd and Rs. Simultaneously, nodulant rhizobium strains of Ai and Lp were isolated, and BNF was evaluated in Lp using commercial and self-produced inoculant. Lp only established effective symbiosis with native rhizobia and had a fixing efficiency of 50%, without differences in nitrogen content between treatments with mineral or symbiotic nitrogen, but with higher biomass production in the former. Finally, some parameters of nutritional quality of the species Ai, Ln, Lp, *L. subulatus*, Rd and Rs were analyzed. In vegetative state all of them showed crude protein contents similar to those of cultivated legumes and some of them a higher content, and good digestibility. Protein precipitating tannins were detected only in Rd, Rs and Ai in reproductive status, being moderate to high only in Rd. For the characteristics evaluated in this work and those reported in the literature, many of these species deserve consideration for productive restoration of semi-arid and sub-humid grasslands of central Argentina; new studies focused on analyzing different ways to obtain seeds for medium and large-scale cultivation would help to make their use possible.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.

.....

Firma del director

Índice

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Conservación de la biodiversidad en los agroecosistemas.....	1
Problemas de sustentabilidad de la agricultura convencional.....	3
Hacia una producción agropecuaria sustentable en el Sudoeste Bonaerense	8
Sitio de estudio.....	9
CAPÍTULO 1: Identificación de las leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense	12
Marco teórico	12
Objetivos específicos	15
Materiales y métodos	15
Resultados	16
Listado y caracterización	
Localización de poblaciones	
Discusión	23
Conclusión	26
CAPÍTULO 2: Germinación de leguminosas herbáceas nativas	28
Marco teórico	28
Objetivos específicos	31
Hipótesis	31
Materiales y métodos	32
Resultados	37
Discusión	44
Conclusión	48
CAPÍTULO 3: Fijación biológica de nitrógeno en <i>Lathyrus pubescens</i>	50
Marco teórico	50
Objetivos específicos	54
Hipótesis	54
Materiales y métodos	55
Obtención de cepas nativas de rizobios	
Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno	
Resultados	59
Obtención de cepas nativas de rizobios	
Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno	
- Nodulación	
- Producción de biomasa aérea y de raíces	
- Contenido de nitrógeno total	
Discusión	63
Conclusión	67

CAPÍTULO 4: Calidad nutritiva de leguminosas herbáceas nativas	67
Marco teórico.....	67
Parámetros de la calidad nutritiva del forraje	
Modificadores de la calidad nutritiva: estado fenológico y pastoreo	
Contenido de taninos y efectos de su consumo	
Objetivos específicos	73
Hipótesis.....	73
Materiales y métodos	74
Resultados	76
Comparación de la calidad nutritiva entre especies	
Comparación dentro de cada especie: influencia del estado fenológico	
Comparación de especies dentro de cada estado fenológico	
Estado vegetativo, floración y fructificación	
Corte y pastoreo	
Contenido de taninos precipitantes de proteínas	
Discusión	82
Comparación con especies cultivadas típicas	
Contenido de taninos y factores antinutritivos	
Conclusión.....	87
CONSIDERACIONES FINALES	89
BIBLIOGRAFÍA.....	92
ANEXO 1. Imágenes de las especies estudiadas.....	111
ANEXO 2. Caracterización de las leguminosas nativas del Sudoeste Bonaerense potencialmente útiles para la restauración productiva.....	120
ANEXO 3. Gráficos de dispersión de datos para las variables de calidad nutritiva	154
ANEXO 4. Detalle de la calidad nutritiva de cada especie según su estado fenológico.....	159

Índice de tablas y figuras

Tablas

Tabla 1. Listado completo de las especies de leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense. Las especies subrayadas son tóxicas para el ganado, no palatables o endémicas de zonas restringidas, han sido reportadas anecdóticamente para la zona o están en peligro de extinción; no se incluyeron en la caracterización ni el trabajo posterior.	17
Tabla 2. Listado de algunas especies de leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense y sus características biológicas, ecológicas, forrajeras y agronómicas, que permiten evaluarlas en términos de su utilidad potencial para la restauración productiva de agroecosistemas de la zona. Abreviaturas: AN: anual. PER: perenne. O: otoño. I: invierno. P: primavera. V: verano. F: suelos francos. Ar: suelos arcillosos. AR: suelos arenosos. ROC: suelos rocosos. SAL: suelos salinos. PED: pedregosos.....	18
Tabla 3. Nombre y coordenadas de los sitios visitados y leguminosas herbáceas nativas encontradas en cada uno.....	21
Tabla 4. Lotes de semillas de <i>Lathyrus pubescens</i> utilizados para el cuarto ensayo de germinación (VVE I 19, VVE I 12, SUA I, SAA I, RSG, PAI y LVE) y categorías de madurez y rugosidad y de color evaluadas para cada uno. En la primera fila figura la procedencia y/o fecha de colecta del lote (ver Tabla 3 para detalle de las coordenadas).....	36
Tabla 5. Porcentaje de semillas no embebidas (dormantes) en el control (semillas no tratadas) de los ensayos de germinación, para cada especie y ensayo. Los lotes de semillas utilizados en el segundo y tercer ensayo son iguales para todas las especies.....	38
Tabla 6. Contenido de nitrógeno total (en porcentaje) para la parte aérea y las raíces de <i>Lathyrus pubescens</i> según el tratamiento aplicado, determinado mediante dos técnicas diferentes (SMK: método semi-micro Kjeldahl y MCS: método de combustión seca). CN: plantas con nitrógeno mineral. IP: plantas sin nitrógeno mineral y con inoculante propio. IC: plantas sin nitrógeno mineral y con inoculante comercial. SN: plantas sin nitrógeno mineral ni simbiótico.....	63
Tabla 7. Sitios de colecta y número de muestras tomadas para análisis de calidad nutritiva, por estado fenológico y especie. Para detalle de la ubicación y coordenadas de cada sitio, ver Tabla 3.....	75

Figuras

- Figura 1.** Mapa con los sitios del SO bonaerense recorridos para localizar especies de leguminosas herbáceas nativas potencialmente útiles para la restauración productiva de agroecosistemas de la zona. **NOTA:** no todos los sitios recorridos y detallados en la Tabla 3 son visibles en este mapa porque hay muchos puntos cercanos entre sí que, por la escala de mapa escogida para incluir los sitios más alejados, se superponen y no son visibles. 20
- Figura 2.** Semillas de *Lathyrus pubescens* utilizadas para el cuarto ensayo de germinación. LM: lisas maduras, AM: arrugadas maduras, LV: lisas verdes, AV: arrugadas verdes..... 36
- Figura 3.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia filipes* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 38
- Figura 4.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia incana* expuestas diferentes tratamientos pregerminativos: control del primer ensayo (C1), escarificación física manual (EMan), escarificación química (EQca) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (INM Tc). Columnas con letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 39
- Figura 5.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia incana* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 39
- Figura 6.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia muricata* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).. 40
- Figura 7.** Porcentajes de germinación (barras azules, sin diferencias significativas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Lathyrus nervosus* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control (C), escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 40

- Figura 8.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Lathyrus pubescens* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos en el segundo (A) y tercer (B) ensayos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 41
- Figura 9.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia diversifolia* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).. 42
- Figura 10.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia senna* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del primer ensayo (C1), escarificación física manual (EMan), escarificación química (EQca) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (INM Tc). Columnas con letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 43
- Figura 11.** Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia senna* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos en el segundo (A) y tercer (B) ensayos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 43
- Figura 12.** Porcentajes de germinación de las semillas de *Lathyrus pubescens* de distinta rugosidad y estado de madurez, en lotes de distinta procedencia o fecha de colecta. VVE I 12: Villa Ventana, partido de Tornquist, colectadas el 12/12/2015; VVE I 19: Villa Ventana, partido de Tornquist, colectadas el 19/12/2015; SAA I: campo cercano a la localidad de Dufaur, partido de Saavedra; SUA I: ruta provincial N° 76, partido de Suárez; RSG: Reserva Natural Sierras Grandes, partido de Tornquist. Para detalle de las coordenadas de cada sitio de colecta, ver Tabla 3..... 44
- Figura 13.** Obtención de rizobios por medio de la técnica de aislamiento por estrías. A) Colonias típicas aisladas, traslúcidas, brillantes y semejantes a gotas de agua. B) Repique de colonias a tubos de ensayo con medio de cultivo LMA inclinado para conservación de los aislamientos..... 55
- Figura 14.** Vasos de Leonard modificados, utilizados para el ensayo de cuantificación de FBN. Se pueden ver los recipientes A) vacíos, con el sistema de conducción de la solución nutritiva a la vista y B) con vermiculita en el compartimento superior y solución nutritiva en el inferior..... 57

- Figura 15.** Pruebas de nodulación. **A)** Tubos empleados para la prueba, con plántulas creciendo en medio de cultivo líquido e inoculadas con cepas aisladas a partir de nódulos de la misma especie. **B)** Raíces de *Lathyrus pubescens* con nódulos producidos por una de las cepas de rizobios obtenidas..... 59
- Figura 16.** Raíces noduladas de *Lathyrus pubescens* pertenecientes a distintos tratamientos del ensayo de cuantificación de FBN. **A)** Nódulos activos de plantas inoculadas con cepas de aislamiento propio (nótese la coloración rosada de los nódulos). **B)** Nódulos no funcionales provocados por el inóculo comercial correspondiente a *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae* (nótese la cantidad mayor de nódulos, el tamaño menor de cada uno y la coloración negruzca)..... 60
- Figura 17.** Biomasa **A)** aérea y **B)** de raíces producida por *Lathyrus pubescens* bajo los tratamientos **SN:** sin nitrógeno mineral ni simbiótico, **CN:** con nitrógeno mineral, **IP:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio y **IC:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante comercial de *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 61
- Figura 18.** Plantas de *Lathyrus pubescens* producidas por los tratamientos **A)** sin nitrógeno mineral ni simbiótico (**SN**) y **B)** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio (**IP**), al momento de la primera cosecha..... 62
- Figura 19.** Contenido de nitrógeno total de la parte aérea y de las raíces de *Lathyrus pubescens* bajo los tratamientos **SN:** sin nitrógeno mineral ni simbiótico, **CN:** con nitrógeno mineral, **IP:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio y **IC:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante comercial de *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae*. Muestras analizadas por **A)** el método semi-micro Kjeldahl (SMK) y **B)** el método de combustión seca (MCS)..... 62
- Figura 20.** Contenido porcentual de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina (LDA) de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 77
- Figura 21.** Contenido de **A)** carbono y **B)** fósforo de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia* y Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 77
- Figura 22.** **A)** Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y **B)** contenido de proteína bruta (PB) de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... 78

Figura 23. Comparación entre especies, según el estado fenológico, de **A)** contenido de fibra detergente neutra (**FDN**), **B)** contenido de fibra detergente ácida (**FDA**), **C)** contenido de lignina detergente ácida (**LDA**), **D)** contenido de fósforo, **E)** la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (**DIVMS**) y **F)** el contenido de proteína bruta (**PB**). Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies dentro del mismo estado fenológico..... **80**

Figura 24. Contenido de taninos precipitantes de proteínas (PPP, en mg de taninos precipitantes de proteína por gramo de materia seca) según el estado fenológico para *Adesmia incana* (Ai), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) y *R. senna* (Rs). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)..... **82**

INTRODUCCIÓN GENERAL

Conservación de la biodiversidad en los agroecosistemas

El hombre maneja y utiliza, con distinto nivel de intensidad, entre el 75% (Martin *et al.*, 2012) y el 90% (Perfecto y Vandermeer, 2008) de la superficie terrestre, lo cual comprende a la gran mayoría de los ecosistemas del mundo. Como consecuencia del tipo de manejo predominante, la condición ecológica de los sistemas naturales a nivel global se ha degradado, poniendo en riesgo su capacidad para proporcionar bienes y servicios a la sociedad humana y a otras especies (Foley *et al.*, 2005). Uno de los problemas principales asociados a la degradación de los ecosistemas es la pérdida de biodiversidad, cuyos efectos intrínsecos han sido reconocidos científicamente hace poco tiempo (Tilman *et al.*, 2014). Las consecuencias ecosistémicas de la extinción local de especies, por ejemplo, son tan significativas como muchos de los fenómenos de cambio o disturbio que generan más preocupación, como el aumento del CO₂ atmosférico, el deterioro de los suelos, los incendios, el sobrepastoreo o la variación en la disponibilidad de agua (Hopper *et al.*, 2012; Tilman *et al.*, 2012).

Para mitigar los impactos negativos de la acción humana sobre los ecosistemas, es necesario desarrollar formas más sustentables de uso de la tierra y elaborar estrategias de conservación. Hasta ahora, la estrategia más utilizada fue la de separar las áreas dedicadas a la conservación de la biodiversidad de aquellas destinadas a la producción de bienes para la subsistencia humana, mediante la creación de áreas protegidas. Éstas, sin embargo, ocupan sólo el 13% de la superficie terrestre (Martin *et al.*, 2012), lo cual resulta insuficiente para conservar la diversidad biológica (Rodrigues *et al.*, 2004). Además, a pesar de que la superficie de áreas protegidas declaradas ha aumentado notablemente, la biodiversidad sigue disminuyendo (Rodrigues *et al.*, 2004; Butchart *et al.*, 2010). Por dicha razón, esta estrategia ha sido discutida en los últimos años en la literatura científica en lo que se conoce como el debate entre las posturas de separación o integración de la agricultura y la conservación de la biodiversidad (en inglés, *land-sparing* y *land-sharing*, Green *et al.*, 2005).

La mencionada estrategia de separación propone implementar sistemas de producción agropecuaria industriales, comúnmente conocidos como “convencionales”, de alto rendimiento por unidad de superficie y baja biodiversidad, y de esa forma reducir la superficie destinada a producción, aumentando las áreas de protección estricta (Green *et al.*, 2005; Phalan *et al.*, 2011). La estrategia

de integración, en cambio, propone que la conservación de la biodiversidad ocurra, además de en áreas protegidas, en agroecosistemas manejados y habitados por personas, que se ocupen de producir y conservar al mismo tiempo, resignando para esto cierto grado de productividad. Actualmente este debate está superado y la estrategia que aparece como más apropiada es la implementación de sistemas productivos biodiversos, que a la vez tengan alta productividad y rentabilidad, lo cual es posible aplicando formas de producción agroecológicas, intensivas en conocimiento, ambientalmente apropiadas y socialmente justas (Perfecto y Vandermeer, 2012; Fischer *et al.*, 2014; Sarandón y Flores 2014; Kremen, 2015).

Este cambio en el abordaje de la problemática es superador en varios aspectos respecto del debate entre separación e integración. En primer lugar, este debate pone énfasis en la producción de una cantidad suficiente de alimentos pero omite cuestiones de acceso y distribución de los mismos. Éstas son las causas que verdaderamente restringen el acceso al alimento de una parte de la población (Kremen, 2015), dado que la cantidad de alimento producida en la actualidad es suficiente para alimentar adecuadamente a toda la población humana (Ramírez y Milano, 2007; Tomlinson, 2013). Tampoco considera el valor social de una u otra forma de producción, lo que puede definir cuál es social, cultural y moralmente más apropiada, además de suficiente (Fischer *et al.*, 2014).

En segundo lugar, este debate incurre en una omisión importante porque no considera los impactos ambientales severos que tiene la agricultura industrial fuera de la superficie productiva en sí misma. Las externalidades ambientales de este tipo de agricultura atentan contra la biodiversidad y la salud ecosistémica de las áreas supuestamente destinadas a la conservación de la naturaleza, reduciendo además la provisión de servicios ecosistémicos. En tercer lugar, no hay evidencia de que al aumentar la productividad por hectárea la superficie dedicada a la agricultura se contraiga y sí hay varios ejemplos de lo contrario. Esto se debe a que la expansión o retracción de la actividad agropecuaria no está regida por la necesidad de producir alimentos sino por la rentabilidad, que depende de los precios que el mercado internacional establece para los *commodities* producidos (Fischer *et al.*, 2014; Kremen, 2015).

Por último, el debate separación-integración parte del supuesto, tácito o explícito, de que los sistemas agrarios convencionales producen más alimento, maderas y fibras que aquellos más complejos y biodiversos (Green *et al.*, 2005). Aunque esta es una idea muy difundida, existen varias revisiones que comparan el rendimiento de sistemas convencionales intensificados y otros

orgánicos más diversos a nivel mundial, que muestran que la brecha de rendimiento es pequeña o inexistente (Stanhill, 1990; Badgley *et al.*, 2007; De Ponti *et al.*, 2012; Seufert *et al.*, 2012; Ponisio *et al.*, 2015). Considerando la inversión significativamente mayor que se ha realizado en investigación para mejorar los sistemas convencionales de producción, esta brecha es previsible (Carlisle y Miles, 2013). Una inversión apropiada en investigación en sistemas diversos y complejos que reduzca la “brecha de conocimiento” podría reducir significativamente la brecha de rendimiento e incluso eliminarla para algunos cultivos y regiones (Vanloqueren y Baret, 2009).

A pesar de todo lo expuesto, a nivel mundial y durante las últimas décadas, los sistemas agropecuarios que se han expandido y han sido adoptados en superficies muy extensas son los convencionales. Parece haber, entonces, una dicotomía entre los agroecosistemas complejos, diversos, típicos de los medianos y pequeños productores y los sistemas agropecuarios industriales, intensivos y simplificados, en expansión en las últimas décadas. Para comprender la necesidad de volcarse a una forma de producción más compleja y biodiversa, es necesario discutir el modelo productivo surgido en la denominada “Revolución Verde” y sus problemáticas asociadas.

Problemas de sustentabilidad de la agricultura convencional

La agricultura en el mundo se vio fuertemente influenciada, en los últimos 50 años, por los avances tecnológicos en agronomía, conocidos como “Revolución Verde” (Evenson y Gollin, 2003). A través del desarrollo de variedades e híbridos de alto potencial de rendimiento y de un paquete tecnológico destinado a optimizar las condiciones para el crecimiento de estas variedades, se alcanzaron aumentos importantes en la productividad por hectárea. Sin embargo, el interés de los desarrolladores de esta tecnología, focalizado en los rendimientos y el retorno económico a corto plazo únicamente, transformaron a los factores ambientales y sociales en externalidades. Paralelamente, las políticas públicas no consideraron las consecuencias ambientales ni sociales de un desarrollo rural unidimensional, basado en una agricultura enfocada exclusivamente en cuestiones productivas y económicas (Wezel *et al.*, 2009). Como consecuencia, este modelo de producción trajo aparejados problemas ambientales y sociales severos, que ponen en duda la sustentabilidad del sistema en el mediano y largo plazo (Sarandón y Flores, 2014).

La dependencia de insumos, generada por la aplicación del paquete tecnológico desarrollado en la *Revolución Verde*, no es sustentable desde el punto de vista ambiental por varias razones. En primer

lugar, porque involucra la utilización masiva de pesticidas, muchos de los cuales contienen contaminantes orgánicos persistentes que resisten la degradación, permaneciendo en el ambiente durante años, e incluso bioacumulándose y concentrándose (Kim *et al.*, 2017). Estos pesticidas, además, no han sido testeados en estudios científicos de largo plazo para determinar el alcance de su impacto en el ambiente y en la salud. Según Elver (2017), su utilización pone en riesgo al sistema ecológico del que depende la producción de alimentos por contaminar el suelo y el agua, afectar la biodiversidad y destruir la biota benéfica de los agroecosistemas, a la vez que reduce el valor nutricional de la comida. Se han confirmado los efectos adversos de los pesticidas sobre la salud humana y ecosistémica, demostrando un vínculo definitivo entre la exposición a estos productos y enfermedades como cáncer, Alzheimer, Parkinson, alteraciones hormonales, asma, alergias, hipersensibilidad, trastornos del desarrollo, esterilidad y numerosos efectos neurológicos como pérdida de memoria, de coordinación, disminución de la capacidad visual y de las habilidades motoras (Larramendy *et al.*, 2010; Van Maele-Fabry *et al.*, 2012; Van Maele-Fabry *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2017; Elver, 2017). Basar la producción de alimentos en productos nocivos como los pesticidas es una solución de corto plazo que atenta contra el derecho a una alimentación y salud adecuadas para las generaciones presentes y futuras (Elver, 2017).

En segundo lugar, el mantenimiento de la fertilidad en los sistemas bajo agricultura convencional depende completamente del agregado de fertilizantes de síntesis química o provenientes de la actividad minera, cuya producción depende de recursos no renovables e insume grandes cantidades de energía fósil tanto para su producción como para su aplicación (Graham y Vance, 2003). La fertilización, además, genera un desequilibrio ecológico a favor de las malezas y de los insectos plaga. Las malezas son especies oportunistas con la capacidad de aprovechar rápidamente los recursos disponibles. El ingreso al sistema de grandes cantidades de nutrientes promueve el crecimiento de estas especies no deseadas, que aparecen en pulsos, utilizan el recurso y aumentan su representatividad en el banco de semillas (Sarandón y Flores, 2014). Por otro lado, la fertilización puede tener efectos indirectos en la resistencia de las plantas a los insectos plaga, al cambiar la composición de nutrientes en el cultivo (Altieri y Nicholls, 2003). El nitrógeno total ha sido considerado un factor nutricional crítico que modifica la abundancia y el comportamiento de los insectos, produciéndose incrementos drásticos en el número de áfidos, ácaros y otros insectos herbívoros en respuesta al aumento de las tasas de fertilización nitrogenada (Scriber, 1984 *fide* Altieri y Nicholls, 2007). La fertilización también trae aparejados desequilibrios en la microflora del suelo: dependiendo de la forma del nutriente que se agregue, el grupo funcional de los

microorganismos que intervienen en la mineralización del nitrógeno o de otras transformaciones en diversos compuestos, se ven desfavorecidos y van desapareciendo (Sarandón y Flores, 2014).

Finalmente, el uso de fertilizantes trae aparejado serios problemas de contaminación que afectan a la salud ecosistémica y pública. Parte del nitrógeno y el fósforo agregados, por ejemplo, se lixivia hacia las napas freáticas o se escurre, contaminando aguas superficiales y subterráneas y generando procesos de eutrofización en ríos, lagos y océanos (Krüger *et al.*, 2013). Este problema es de tal magnitud que los nitratos son actualmente la principal fuente de contaminación difusa de las aguas superficiales y subterráneas (Álvarez *et al.*, 2000) y generan problemas de salud ya que los valores hallados suelen superar el límite normativo establecido para evaluar la calidad del agua para consumo humano (Othax *et al.*, 2014). Los fertilizantes nitrogenados han sido identificados además como el principal contribuyente a las emisiones de gases de efecto invernadero dentro de la actividad agrícola industrial, favoreciendo el cambio climático y el calentamiento global (Snyder *et al.*, 2009a).

La dependencia de insumos en la producción agropecuaria tampoco es sostenible desde el punto de vista social. La tecnología incorporada es intensiva en capital y funciona como una economía de escala, en la cual los costos unitarios disminuyen a medida que se aumenta la superficie bajo producción (Carrasco *et al.*, 2012). Para los pequeños productores, que representan la mayoría de los productores agropecuarios y producen más del 50% de los alimentos consumidos en el mundo, los insumos químicos, genéticos y energéticos utilizados en la agricultura convencional no son accesibles (Tittonell, 2013). El paquete tecnológico completo tiene un costo económico demasiado alto para su escala de producción y adquirirlo reduciría sus márgenes de ganancia hasta un punto económicamente insostenible. Por otro lado, se ven obligados a entrar en los sistemas de comercialización impuestos por las empresas proveedoras de insumos, que idean y promueven mecanismos tendientes a generar un endeudamiento y dependencia cada vez mayores (Gras, 2013). La consecuencia de este proceso es que muchos pequeños productores han tenido que dejar la actividad, abandonando, vendiendo o arrendando sus tierras (López Castro, 2014). Esto lleva a su vez a la concentración de la tierra y de la riqueza, y a la expulsión de una parte importante de la población rural hacia los centros urbanos, con la consecuente generación de altos índices de desocupación y pobreza (Carrasco *et al.*, 2012).

Por último, el sistema agropecuario convencional está progresivamente comprometido en términos económicos. La reducción del stock de nutrientes del suelo y la resistencia de plagas y malezas a los

pesticidas hacen que la cantidad de insumos necesaria para mantener el sistema en funcionamiento crezca a un ritmo acelerado, aumentando el costo de producción a un ritmo mucho mayor que el aumento del ingreso (Sarandón y Flores, 2014). Por otro lado, algunos insumos claves para este sistema como son los combustibles fósiles y los fertilizantes nitrogenados, han aumentado su precio a una tasa mayor que la de los productos generados (Humphreys *et al.*, 2012). Esta combinación de aumento de precio por unidad de insumo y aumento de la cantidad de insumos requeridos para producir la misma cantidad de producto hace que el margen bruto del productor se vea reducido (Phelan *et al.*, 2015). Dependiendo de la condición del productor y de sus márgenes de ganancia, esta situación puede tornar económicamente inviables a muchos establecimientos productivos (Sarandón y Flores, 2014), incluso de medianos y grandes productores.

Argentina, así como otros países de la región, no está exenta del panorama mundial descrito (Baldi y Paruelo, 2008; Oesterheld, 2008; Volante *et al.*, 2015). En el país, el avance de la frontera agropecuaria ha tomado impulso desde la aparición del paquete tecnológico que incluye la siembra directa y los agroquímicos asociados. Hasta mediados de la década de 1990 la superficie cultivada oscilaba entre 20 y 25 millones de hectáreas. A partir de la incorporación de las tecnologías mencionadas, la expansión ha sido progresiva y continua hasta llegar a 35 millones de hectáreas en los últimos años. A su vez, el consumo de fertilizantes y plaguicidas se ha triplicado (Neme, 2017). Este fenómeno es traccionado por la producción de cultivos como práctica extractiva y por la aparición y aumento de malezas resistentes a herbicidas que este sistema retroalimenta (15 especies documentadas y una gran cantidad en estudio; SENASA, 2017).

Frente a la situación descrita, surge la necesidad de encontrar una alternativa que permita producir alimentos en cantidad y calidad suficientes de forma sustentable, conservando la biodiversidad y la salud de los ecosistemas. La agroecología, que es a la vez una ciencia emergente, una práctica y un movimiento sociocultural (Wezel *et al.*, 2009), se presenta hasta el momento como la única forma alternativa y sustentable de producción agropecuaria, considerando las dimensiones ecológicas, económicas y sociales del sistema agroalimentario mundial (Elver, 2017).

La agroecología es la aplicación de la ciencia ecológica al estudio, diseño y gestión de agroecosistemas sostenibles (Altieri, 1995). Surge como nuevo paradigma y ciencia pluriepistemológica, capaz de validar y generar conocimientos para la evaluación, diseño y manejo de este tipo de agroecosistemas (Paleologos *et al.*, 2017). Se basa en la aplicación de principios ecológicos para favorecer procesos naturales e interacciones biológicas de modo que la

agrobiodiversidad sea capaz de subsidiar por sí misma los procesos claves de la producción agropecuaria tales como la acumulación de materia orgánica, la fertilidad del suelo, los mecanismos de regulación biótica de plagas y la productividad de los cultivos (Gliessman, 1998). Este enfoque, busca reunir, aplicar y sintetizar conocimientos de la agronomía, la ecología, la sociología, la etnobotánica, y otras ciencias afines, con una óptica holística y sistémica y un fuerte componente ético, para generar conocimientos y validar y aplicar estrategias adecuadas desde el punto de vista económico, productivo, ecológico y social (Sarandón y Flores 2014).

Diversos estudios del desempeño de esta práctica, principalmente en las fincas y chacras de pequeños productores, han demostrado que la agroecología aumenta la productividad sobre el terreno, mejora la adaptabilidad y resiliencia frente a un clima cambiante, contribuye a mejorar la nutrición y aumenta el empleo en las zonas rurales; mientras que reduce la pobreza y la dependencia de subsidios e insumos externos (De Schutter, 2010; Altieri *et al.*, 2012; Altieri y Nicholls, 2012). Recientemente ha sido reconocida por instituciones internacionales vinculadas a temas afines, siendo promovida, por ejemplo, por la Comisión de Derechos Humanos de la ONU, que en su Informe Especial sobre el Derecho a la Alimentación establece que “como parte de su obligación de dar efectividad gradualmente al derecho a la alimentación, los Estados deben poner en marcha políticas públicas de apoyo a la adopción de prácticas agroecológicas” (De Schutter, 2010).

Complementariamente, la restauración productiva se refiere a la recuperación de algunos elementos de la estructura y función de los ecosistemas originales de una región, junto con la promoción de la productividad de la tierra de manera sustentable, utilizando técnicas agroforestales y agroecológicas con el objetivo de ofrecer productos que generen bienes económicos a la población local (Ceccon, 2013). Como un fuerte exponente de la restauración productiva, la ganadería sobre pastizales naturales ofrece una alternativa de sumo interés y sus beneficios comienzan a ser estudiados, contrapuestos al modelo intensivo tradicional (Jacobo *et al.*, 2017). Este enfoque utilitario se refiere al uso de especies nativas con características ventajosas tanto para el ecosistema como para la población local. Además del valor funcional o ecológico de una especie, se busca que posea un valor productivo, comercial y socio-cultural (Ceccon, 2013).

Hacia una producción agropecuaria sustentable en el Sudoeste Bonaerense

Dadas las características productivas marginales del sudoeste bonaerense para la agricultura y su aptitud principalmente ganadera, la recuperación de los recursos forrajeros y la protección del ecosistema para producir sustentablemente, son prioridades que deben ser atendidas. Para esto es necesario, como parte del diseño de un sistema agroecológico, restaurar los pastizales naturales, que en esta zona han sufrido un proceso de degradación severa. Estos pastizales, base de la actividad ganadera de la región (Peláez, 2012), promueven no sólo la producción de alimentos sino también la resiliencia ecológica y la conservación de la biodiversidad local.

En nuestro país, su degradación comenzó a finales del siglo XIX, con la intensificación de la actividad ganadera resultante del asentamiento de inmigrantes europeos, que se instalaron con sus rodeos bovinos y ovinos (Fernández, 2003). El manejo más utilizado desde ese momento es el mantenimiento de cargas animales altas, fijas y continuas, a pesar de que la oferta forrajera es muy variable por la sucesión de ciclos húmedos y secos (Peláez, 2012). Esta forma de pastoreo y el mal uso de los pastizales ha llevado al reemplazo de las especies más palatables, antes dominantes, por gramíneas no palatables o arbustos, bajando la capacidad de carga del ambiente y repercutiendo en la economía de los productores y en el estado de conservación del ecosistema (Loydi y Distel, 2010; Distel, 2016).

La vuelta a un sistema similar al original, diverso en gramíneas y leguminosas forrajeras y con dominancia de especies palatables, requiere de intervenciones activas de restauración. Para que las especies deseadas vuelvan a establecerse, además de bajar la presión de herbivoría y practicar un manejo adaptativo con cargas variables y rotativas, son necesarios el control mecánico de arbustos y las quemadas controladas (Distel, 2016). Sin embargo, dependiendo del estado del banco de semillas del pastizal, estas prácticas pueden resultar insuficientes. Si durante varios ciclos se ha afectado la reproducción de las especies forrajeras y por ende la reposición de propágulos, la disponibilidad de semillas puede ser menos que la necesaria para reestablecer las especies deseadas, llevando a un estado de degradación más severo, con reducción permanente de la diversidad florística (Fernández, 2003). Esta es la situación actual de muchos de los pastizales del sudoeste bonaerense. El grupo de las leguminosas en particular, por tener alta calidad nutricional y palatabilidad pero no ser dominantes en la comunidad, reciben una presión de pastoreo proporcionalmente mayor bajo el sistema de pastoreo continuo. Para recuperarlas, una de las alternativas posible es la reposición de semillas, seleccionadas y multiplicadas para tal fin.

La reincorporación de leguminosas herbáceas nativas amplía la diversidad florística de los pastizales promoviendo la conservación de estas especies y de otras asociadas en áreas productivas, aumenta su capacidad de carga para la producción ganadera y mejora la fertilidad del suelo mediante la fijación biológica de nitrógeno (Izaguirre, 2005). Sin embargo, para que esta reintroducción sea posible es necesario ampliar el conocimiento sobre estas especies, desarrollando investigaciones acerca de su biología, ecología y características de interés agronómico, que incluyen, entre otras, la reproducción, siembra, calidad forrajera y aptitud como fijadoras de nitrógeno.

Atendiendo el escenario descrito, el objetivo general de esta tesis fue aumentar el conocimiento sobre algunas especies de leguminosas herbáceas nativas de las regiones semiárida y subhúmeda del sudoeste bonaerense con potencial para fijar nitrógeno biológicamente, mejorar la oferta forrajera y enriquecer los pastizales naturales degradados, aportando así a la conservación de la biodiversidad local y la producción sustentable de alimentos.

Sitio de estudio

El área de estudio de este trabajo está ubicada en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires y abarca el área de influencia de la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Bordenave: partidos de Bahía Blanca, Coronel Rosales, Coronel Dorrego, Coronel Pringles, Coronel Suárez, Guaminí, Puán, Saavedra y Tornquist.

A diferencia del resto del territorio provincial, que pertenece a la pampa húmeda, el sudoeste bonaerense forma parte de la región subhúmeda y semiárida, con características climáticas y edáficas que la diferencian en cuanto a sus potencialidades y limitantes productivas primarias (PDSB, 2007). La región tiene una temperatura media anual de 14°C y un período de lluvias concentrado en otoño y primavera, con déficit en invierno y erraticidad en verano (Campo de Ferreras *et al.*, 2004). En función de las precipitaciones, se divide en dos ambientes agroclimáticos delimitados por las Sierras de la Ventana, con promedios de 700 a 800 mm al este (transición húmeda/sub-húmeda) y de 500 a 600 mm el suroeste (transición semiárida/árida) (Scian, 2009).

Los suelos dominantes en la región son los Molisoles (75%), formados predominantemente a partir de loess (Campo *et al.*, 2012). Luego siguen los Entisoles, que comprenden suelos de textura

franco-arenosa muy escasamente desarrollados, y finalmente los Aridisoles, caracterizados por períodos prolongados de déficit hídrico y un horizonte superficial pobre en materia orgánica (Silenzi *et al.*, 2011). En general, los suelos presentan dos tipos de limitaciones a la producción, que son la presencia de tosca a poca profundidad en el perfil y el exceso de agua asociado a la tosca y/o a la alcalinidad en profundidad.

En cuanto a la fitogeografía, esta región abarca parte de la Provincia del Espinal (partido de Bahía Blanca) y de la Provincia Pampeana (Cabrera, 1971). El tipo de vegetación predominante en el Espinal es el bosque xerófilo intercalado con estepas gramíneas y matorrales de arbustos. La vegetación dominante en la Provincia Pampeana es la estepa de gramíneas, existiendo también praderas, estepas psammófilas, estepas halófilas, bosques marginales y diversos tipos de vegetación hidrófila (Cabrera, 1971).

La comunidad típica de la Provincia del Espinal en esta zona es el bosque de caldén (*Prosopis caldenia*) y en el estrato herbáceo predominan gramíneas perennes tales como *Nassella tenuis*, *N. tenuissima*, *N. clarazii*, *Piptochaetium napostaense*, *Poa ligularis*, *Pappostipa speciosa*, *Jarava ichu* y *Stipa ambigua*. La Provincia Pampeana se caracteriza por la predominancia de gramíneas cespitosas, especialmente los géneros *Nassella*, *Piptochaetium*, *Aristida*, *Melica*, *Briza*, *Bromus*, *Eragrostis* y *Poa* (Cabrera, 1971). En la actualidad, quedan pocos sitios donde se puede encontrar la vegetación típica de estas dos provincias fitogeográficas (Campo *et al.*, 2012), ya que las actividades antrópicas han eliminado o modificado gran parte de la cobertura vegetal original de la zona. Desde el inicio de la actividad ganadera en la región, las gramíneas perennes preferidas por el ganado que dominaban los pastizales, principalmente *Nassella clarazii*, *N. tenuis*, *Piptochaetium napostaense* y *Poa ligularis*, disminuyeron su abundancia gradualmente y fueron reemplazadas por especies no preferidas como *Nassella gynerioides*, *N. tenuissima*, *N. brachychaeta* y *Stipa ambigua* (Fernández, 2003).

El sudoeste bonaerense ocupa el 25% del territorio de la provincia (PDSB, 2007) y, según el último censo nacional (2010), alberga al 3,7% de la población provincial. Según el último censo nacional agropecuario válido (CNA 2002), en los partidos incluidos en este estudio se contabilizan alrededor de 5000 establecimientos agropecuarios (EAPs), de los cuales alrededor del 60% presentan superficies entre 0 y 500 hectáreas, representando el 20% de la superficie correspondiente a EAPs. La mayoría de las tierras son privadas (99%), con aproximadamente 70% bajo régimen de propiedad y 25% cedida en arrendamiento (CNA 2002).

La principal actividad económica de la zona es la agropecuaria, especialmente la ganadería vacuna basada en la utilización de pasturas y pastizales naturales, en particular de gramíneas forrajeras perennes nativas (Peláez, 2012). El stock ganadero se compone de aproximadamente un 15% de ovinos y un 85% de bovinos, que representan alrededor del 15% del rodeo bovino de la provincia. En cuanto al tamaño de los rodeos, en el 50% de las EAPs son menores a 200 animales y en el 75%, menores a 500 animales (CNA 2002).

Las rotaciones agrícola-ganaderas y las de cultivos se dan en más del 40% de las EAPs del sudoeste bonaerense; aproximadamente la mitad de la superficie presenta algún tipo de cultivo, pastura o forestación y la otra mitad no está sembrada. La superficie sembrada sostiene cultivos de cosecha anuales (60%), pasturas perennes para forrajes (20%) y pasturas anuales (20%). Por otro lado, la superficie no implantada corresponde en su gran mayoría a pastizales (80%) (CNA 2002). La tecnología de siembra utilizada predominantemente es la convencional y, aunque muchas EAPs realizan análisis de semillas y de suelos, la mayoría no aplican buenas prácticas, tales como el manejo de envases de plaguicidas vacíos, el respeto de tiempos de carencia, el uso de protección en la aplicación de plaguicidas y las terrazas en curvas de nivel. Tampoco se realizan tareas tendientes a disminuir o eficientizar el uso de insumos, tales como el monitoreo de plagas, el control integrado o biológico de plagas y la agricultura de precisión (CNA, 2002).

Los cultivos de cosecha anuales son cereales para grano (principalmente trigo, en un 80%, y secundariamente cebada cervecera) o especies oleaginosas (alrededor del 60% es girasol, 35% es soja y el resto, colza, lino y maní). La superficie sembrada que no se cosecha está destinada a la producción de pasturas para la cría de ganado. La especie forrajera anual principal es la avena (75%), con porcentajes de 5 a 10% de sorgo forrajero u otras especies consociadas; el resto de cultivos está dividido entre caupí, vicia, cebada forrajera, centeno, maíz, melilotus, mijo, moha, raigrás anual, sorgo granífero y triticale. Las forrajeras perennes ocupan una superficie semejante a las anuales, cubierta principalmente por alfalfa consociada (50%), pasto llorón (15%) y agropiro (10%) (CNA, 2002).

El presente trabajo se desarrolló en este contexto productivo y ambiental, constituyendo un primer paso en la búsqueda y conocimiento de leguminosas herbáceas nativas que pueden utilizarse para la restauración productiva de los pastizales naturales del sudoeste bonaerense, mejorando a la vez la oferta forrajera de estos pastizales actualmente degradados y la salud ecosistémica del entorno.

CAPÍTULO 1

Identificación de las leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense

MARCO TEÓRICO

Las plantas de la familia Fabaceae, tradicionalmente conocidas como leguminosas, son uno de los grupos más abundantes del reino vegetal, con 650 géneros y alrededor de 18.000 especies distribuidas alrededor del mundo (Ulibarri, 1997). En Argentina hay 101 géneros nativos, 14 adventicios y aproximadamente 580 especies, repartidas en todas las regiones fitogeográficas del país (Burkart, 1943; Ulibarri, 1997). Están divididas en tres subfamilias, de las cuales las Mimosoideae y Caesalpinioideae son megatérmicas, habitando zonas ecuatoriales y subtropicales, mientras que las Papilionoideae son las más abundantes en zonas templadas, aunque tienen algunos representantes tropicales (Burkart, 1943).

Están definidas a grandes rasgos por su estructura floral, por tener una legumbre como fruto y por la habilidad que presentan el 88% de las especies examinadas hasta ahora de establecer simbiosis con microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico, los rizobios (Graham y Vance, 2003). Se ha reconocido que de las 12.000 especies de leguminosas con capacidad fijadora de nitrógeno que existen, un 80 a 90% son papilionoideas, un 25% mimosoideas y sólo unas pocas son cesalpinoideas (Postgate, 1987). En términos relativos al número de especies de cada familia, más del 90 % de las mimosoideas y papilionoideas y un 30 % de las cesalpinoideas son nodulantes (Vincent, 1982). La presencia y ausencia de especies nodulantes dentro de las tres subfamilias indica que la nodulación surgió varias veces en la filogenia de las leguminosas y se ha perdido en algunos linajes (Lloret y Martínez-Romero, 2005).

Secundan a las gramíneas en su importancia para la especie humana; su importancia económica se debe a que de ellas se obtienen cultivos para alimento humano, forraje y madera principalmente, y también combustibles, sustancias medicinales y plantas ornamentales, entre otros bienes y servicios (Burkart, 1943). Las leguminosas para forraje y grano en conjunto ocupan al menos el 15% de la superficie terrestre y los granos aportan más del 30% del nitrógeno en la dieta humana en general y hasta el 60% para comunidades en condiciones de subsistencia (Graham y Vance, 2003). La importancia ecológica de este grupo radica en su vasta diversidad y en su capacidad para incorporar nitrógeno al ecosistema fijándolo desde el aire a través de la mencionada simbiosis (De Faria *et al.*,

1989). Esta última característica, reconocida formalmente en 1888 en un trabajo publicado por Hellriegel y Willfarth, es la que ha hecho que las leguminosas hayan sido intensamente estudiadas por décadas. En este trabajo se reconoció por primera vez que las leguminosas tienen una fuente adicional de nitrógeno distinto al stock mineral del suelo, que esa fuente es el nitrógeno atmosférico y que la capacidad de fijarlo no es inherente a este grupo de plantas, sino que pertenece a microorganismos del suelo que, alojados en los nódulos radiculares de las leguminosas, pueden transformarlo a formas asimilables por otros seres vivos (Burkart, 1943). El uso de las leguminosas para forraje y para mejorar la fertilidad del suelo, en cambio, es mucho más antiguo y se remonta a los Romanos, con Varro (37 ac, *fide* Fred *et al.*, 1932) que registraba que “las leguminosas deben ser plantadas en suelos livianos, no tanto como cultivos en sí mismas sino por el bien que hacen a los cultivos subsiguientes” (Graham y Vance, 2003). Aunque se conocen y utilizan varias especies de esta familia desde épocas remotas, las especies más difundidas globalmente son unas pocas y el conocimiento sobre las características biológicas, ecológicas y utilitarias de las leguminosas nativas de nuestro país es prácticamente nulo, a pesar de su potencial productivo.

Las leguminosas estudiadas en esta investigación, por su característica de nativas, poseen una serie de ventajas comparativas frente a las especies introducidas cuando se incorporan a sistemas agropecuarios de bajos insumos. En primer lugar, como ya se ha mencionado, promueven la conservación de la biodiversidad en superficies agropecuarias productivas porque albergan organismos asociados a ellas y al ambiente que crean. Al mismo tiempo generan matrices más amigables para la biodiversidad local, facilitando el flujo entre reservas y áreas bien conservadas (Perfecto y Vandermeer, 2008). En segundo lugar, están adaptadas a las condiciones climáticas, edafológicas y ecológicas de la región, como la competencia con otras plantas y la existencia de herbívoros y patógenos con los que han coevolucionado (Dias *et al.*, 2004a; Ramírez Lozano, 2009; Muir *et al.*, 2011). Esto se traduce en un mejor ajuste al ambiente y a los ciclos ecológicos de la región y, por ende, en un requerimiento menor de insumos.

Por otro lado, las especies nativas tienen un bajo riesgo de invasión biológica, mientras que los cultivos exóticos y las malezas que pueden venir accidentalmente en los lotes de semillas importados pueden transformarse en especies exóticas invasoras (Muir *et al.*, 2014). Uno de los mecanismos de invasión aceptados es el escape de los enemigos naturales, que postula que las especies invasoras experimentan, tras su introducción en una región fuera de su rango natural, una liberación de la regulación que ejercían sus enemigos naturales (depredadores, herbívoros, parásitos o patógenos), lo que propicia el aumento de sus abundancias y la expansión descontrolada

(Santamaría *et al.*, 2009). Dado que las especies nativas permanecen en contacto con sus enemigos naturales, el riesgo de que se conviertan en invasoras es prácticamente nulo. Asimismo, las especies nativas pueden mejorar la provisión de forraje en épocas en que la producción de las especies convencionales declina. Muchos investigadores destacan la importancia de estudiar especies invernales que presenten alta calidad nutricional y se adapten a condiciones extremas locales de clima y suelo (Puignau; 1990; Tedesco *et al.*, 2000; Scheffer-Basso *et al.*, 2001a; Speroni y Izaguirre, 2003; Dias *et al.*, 2004a; Phelan *et al.*, 2015). Por último, es necesario destacar que las características productivas y nutricionales de las especies nativas pueden ser equivalentes a las de especies introducidas una vez que pasen por un proceso de mejoramiento o selección de ecotipos, por lo que su utilización no implica un perjuicio para los sistemas productivos en los que se empleen (Bell *et al.*, 2010).

A pesar de las ventajas enumeradas, las leguminosas nativas de nuestro país, con la excepción de unas pocas especies, han sido estudiadas someramente. La mayoría de la información disponible se refiere a cuestiones sistemáticas y morfológicas, con algunas pocas alusiones a características biológicas o ecológicas, pero los datos sobre la utilización y cultivo de estos recursos fitogenéticos son escasos. En los últimos años, sin embargo, se ve una tendencia a revertir esta situación, evidenciada por el desarrollo de algunas líneas de investigación que tienen por objetivo realizar prospecciones en el germoplasma de leguminosas nativas de sus zonas para desarrollar nuevos cultivos o pasturas en países como Brasil (Coelho, 1997; Franke y Baseggio, 1998; Montardo *et al.*, 2000; Scheffer-Basso *et al.*, 2000; Scheffer-Basso *et al.*, 2001a; Dias *et al.*, 2004a), Uruguay (Coll y Zarza, 1992; Izaguirre, 2005; Bemhaja y Pittaluga, 2006; Rebuffo *et al.*, 2006; Zabaleta, 2013), Australia (Bell *et al.*, 2010), Argentina (Fernández *et al.*, 1983; Bianco y Kraus, 1996; Vileta *et al.*, 2010; Basconsuelo *et al.*, 2013; Bianco *et al.*, 2013; Vileta *et al.*, 2014; Toniutti *et al.*, 2017) y Estados Unidos (Muir *et al.*, 2005; Muir *et al.*, 2009; Dittus y Muir, 2010; Noah *et al.*, 2012).

En estos trabajos se abordan cuestiones tales como la calidad nutritiva, la tolerancia a condiciones de cultivo estresantes (sequía, sombra, suelos ácidos, niveles bajos de fósforo), la capacidad de fijar biológicamente nitrógeno (FBN) y la producción de biomasa. Todas estas cuestiones aportan al conocimiento agronómico de las especies y, por lo tanto, a la posibilidad de utilizarlas. Por ello, continuar con la colecta y evaluación de germoplasma y sistematizar la información disponible es fundamental para detectar y aprovechar especies nativas no convencionales (Graham y Vance, 2003).

Para que el aprovechamiento de recursos fitogenéticos nativos y su integración a sistemas agroecológicos sea factible, es necesario conocer la flora a través de inventarios florísticos y de la caracterización de las especies en función de los atributos que definen su posible uso agropecuario, industrial, medicinal o paisajístico (Alonso *et al.*, 2009). Los objetivos de la primera etapa de este trabajo fueron identificar y caracterizar a través de información preexistente las especies de leguminosas herbáceas nativas del sudoeste de la provincia de Buenos Aires y localizar sus poblaciones en el territorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar un listado de las especies de leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense.
2. Caracterizar estas especies a través de una revisión de la bibliografía específica y determinar cuáles de ellas presentan potencial productivo como forrajeras o como fijadoras biológicas de nitrógeno para ser utilizadas en agroecosistemas de la región.
3. Localizar y georreferenciar poblaciones de las especies seleccionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una primera instancia se elaboró un listado de todas las especies de leguminosas herbáceas nativas reportadas para el sudoeste bonaerense. Para esto se consultó bibliografía general sobre la flora de la zona y listados preexistentes elaborados para áreas específicas dentro de esta región, así como ejemplares colectados en el área de estudio y depositados en el Herbario BBB (Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur). Los listados preexistentes incluyeron el inventario florístico de las dicotiledóneas del partido de Saavedra (Tizón, 2003) y del Parque Provincial E. Tornquist (Long y Grassini, 1997). Entre el material que se revisó para detectar otras especies que podrían hallarse dentro del área de estudio están la parte III de la Flora de la Provincia de Buenos Aires (Cabrera, 1967), una sinopsis de las leguminosas de La Pampa (Steibel, 2000), el libro de Cano (1988) que describe las especies más importantes de los pastizales naturales de La Pampa y el de leguminosas autóctonas y naturalizadas de las Sierras de Azul (Orfila y Farina, 2002). También se consultó a los doctores Carlos Villamil y Andrea Long, especialistas en la flora de la región.

Una vez elaborado el listado más completo posible con la bibliografía existente, se excluyeron aquellas especies en peligro de extinción, endémicas de zonas restringidas o de presencia accidental en el área. Se decidió no trabajar con estas especies por no ser representativas de la región en estudio, en el caso de las endémicas o las de presencia accidental y, en el caso de las especies vulnerables o en peligro, para no generar un impacto negativo en las poblaciones existentes al juntar material vegetativo y, especialmente, semillas. También se excluyeron las especies no palatables o sospechosas de ser tóxicas para el ganado.

Posteriormente, se caracterizaron las especies incluidas en este segundo listado con el fin de seleccionar las más promisorias para ser utilizadas en agroecosistemas. Los criterios utilizados para la caracterización fueron la capacidad para repoblar zonas disturbadas, la tolerancia a condiciones de aridez y a suelos de escasa calidad (arenosos, salinos, pedregosos), la aptitud forrajera (cantidad y calidad de forraje, facilidad de resiembra, tolerancia al pastoreo) y la capacidad como fijadora de nitrógeno. Para muchas especies la información disponible es limitada y se desconocen algunos de los atributos necesarios para la caracterización.

Luego de seleccionar las especies que podrían tener aplicaciones productivas, se realizaron salidas de campo por la región de estudio para localizar sus poblaciones, priorizando sitios con buen estado de conservación donde es más probable encontrarlas. Durante el año 2015, la primavera del 2016 y el verano 2016/2017 se realizaron recorridos para localizar poblaciones de las especies previamente seleccionadas. Según la época y los estudios en marcha, se recolectaron muestras de forraje o semillas o sólo se georreferenciaron las poblaciones para realizar colectas posteriores en caso de ser necesario.

RESULTADOS

Listado y caracterización

Mediante la revisión bibliográfica se detectaron 30 especies de leguminosas herbáceas nativas del sudoeste bonaerense correspondientes a 10 géneros distintos, siendo *Adesmia*, *Lathyrus* y *Vicia* los géneros con un mayor número de especies (Tabla 1). A fin de considerar solamente especies potencialmente útiles en sistemas productivos de esta región, se descartaron las especies *Astragalus bergii*, *Galactia marginalis* y *Glycyrrhiza astragalina*, por ser no palatables o sospechosas de ser tóxicas para el ganado (Hoehne, 1939 y Ragonese, 1956 *vide* Orfila y Farina, 2002). También se

descartaron 8 especies que son endémicas de zonas restringidas, han sido reportadas anecdóticamente para la zona o están en peligro de extinción.

Tabla 1. Listado completo de las especies de leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense. Las especies subrayadas son tóxicas para el ganado, no palatables o endémicas de zonas restringidas, han sido reportadas anecdóticamente para la zona o están en peligro de extinción; no se incluyeron en la caracterización ni el trabajo posterior.

ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE
1 <i>Adesmia bicolor</i>	11 <u><i>Astragalus bergii</i></u>	21 <i>Lathyrus tomentosus</i>
2 <i>Adesmia corymbosa</i>	12 <u><i>Galactia marginalis</i></u>	22 <u><i>Lupinus aureonitens</i></u>
3 <i>Adesmia filipes</i>	13 <u><i>Glycyrrhiza astragalina</i></u>	23 <i>Rhynchosia diversifolia</i>
4 <i>Adesmia incana</i>	14 <i>Hoffmannseggia glauca</i>	24 <i>Rhynchosia senna</i>
5 <i>Adesmia muricata</i>	15 <i>Hoffmannseggia trifoliata</i>	25 <i>Trifolium polymorphum</i>
6 <u><i>Adesmia pampeana</i></u>	16 <i>Lathyrus crassipes</i>	26 <i>Vicia linearifolia</i>
7 <u><i>Adesmia pseudogrisea</i></u>	17 <u><i>Lathyrus hookeri</i></u>	27 <i>Vicia nana</i>
8 <i>Adesmia punctata</i>	18 <i>Lathyrus nervosus</i>	28 <i>Vicia pampicola</i>
9 <u><i>Adesmia smithiae</i></u>	19 <i>Lathyrus pubescens</i>	29 <u><i>Vicia platensis</i></u>
10 <u><i>Astragalus argentinus</i></u>	20 <i>Lathyrus subulatus</i>	30 <u><i>Vicia setifolia</i></u>

En la Tabla 2 se indican las 19 especies restantes, que son *Adesmia bicolor* (Ab), *A. corymbosa* (Ac), *A. filipes* (Af), *A. incana* (Ai), *A. muricata* (Am), *A. punctata* (Ap), *Hoffmannseggia glauca* (Hg), *H. trifoliata* (Ht), *Lathyrus crassipes* (Lc), *L. nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *L. subulatus* (Ls), *L. tomentosus* (Lt), *Rhynchosia diversifolia* (Rd), *R. senna* (Rs), *Trifolium polymorphum* (Tp), *Vicia linearifolia* (Vi), *V. nana* (Vn) y *V. pampicola* (Vp). Figura también la caracterización realizada para cada una de estas 19 especies a fin de evaluar su utilidad potencial para la restauración productiva. Para esta caracterización se puso énfasis en el ciclo de vida, la fenología, ecología y las características forrajeras y agronómicas (una descripción pormenorizada de estas especies se presenta en el Anexo 2).

Tabla 2. Listado de algunas especies de leguminosas herbáceas nativas del SO bonaerense y sus características biológicas, ecológicas, forrajeras y agronómicas, que permiten evaluarlas en términos de su utilidad para la restauración productiva de agroecosistemas de la zona. **Abreviaturas:** AN: anual. PER: perenne. O: otoño. I: invierno. P: primavera. V: verano. F: suelos francos. Ar: suelos arcillosos. AR: suelos arenosos. ROC: suelos rocosos. SAL: suelos salinos. PED: pedregosos.

SP	AN/PER (Período de crecimiento)	Floración (fructificación)	Pionera	Tolera sequía	Suelos	Melífera	Aptitud como forrajera (1.Cantidad-2.Calidad- 3. Tolerancia al pastoreo- 4. Habilidad competitiva- 5. Rusticidad- 6. FBN
Ab	PER (I-P, h/ V con buena disponibilidad de agua)	P-V (P-V, ppios O)	Sí, para fijación de médanos	Sí	F, Ar, fértiles	Sí	1. Moderado (rastrera con tallos radicantes de h/ 2 m). 2. Muy buena. 4. Compite bien con pastos agresivos. 6. Alta capacidad de FBN, noduladas por <i>Rhizobium</i> spp. de crecimiento rápido.
Ac	PER	P		Sí	AR, ROC	Sí	1. Escaso , sin referencias de su aptitud forrajera. 5. Soporta temperaturas bajas y vientos fuertes.
Af	AN (P: oct-dic)	P (V: ene-feb)	Sí, para fijación de médanos	Sí	AR, ROC	Sí	1. Escaso individualmente , pero forma manchones moderadamente abundantes, en suelos donde no crece casi nada más. 2. Buena. 6. Nódulos activos observados.
Ai	PER (P-V)	P-V (V, ppios O)	Sí, para fijación médanos	Sí	AR, Ar	Sí	1. Moderado (rastrera con tallos radicantes de h/ 2 m). 2. Buena. 6. Nódulos activos observados.
Am	AN o 2-3-anual (I-P)	P-V: oct-ene (V: dic-feb)	Sí	Sí	AR	Sí	1. Moderado , en manchones abundantes. 2. Muy buena y palatable. 3. Decreciente con pastoreo. 5. Se resiembra sola y fácilmente. 6. Nódulos activos observados.
Ap	PER (I-P)	P-V	Sí	Sí	AR, ROC	-	1. Moderado (rastrera con tallos radicantes). 2. Buena. 4. Lento desarrollo inicial e implantación, responde a fertilización con fósforo. 5. Buena producción de semillas, tolerante a bajas temperaturas.
Hg	PER (P)	P-V: oct-feb (V)	Sí	Sí	AR, ROC, SAL	Sí	1. Muy escaso , forma manchones abundantes. 2. Buena.

Tabla 2. Continuación.

SP	AN/PER (Período de crecimiento)	Floración (fructificación)	Pionera	Tolera sequía	Suelos	Melífera	Aptitud como forrajera (1.Cantidad-2.Calidad- 3. Tolerancia al pastoreo- 4. Habilidad competitiva- 5. Rusticidad- 6. FBN
Ht	PER (P)	P-V (V)	Sí	Sí	AR, ROC, SAL	-	1. Muy escaso , forma manchones abundantes (rizomatosa). 2. Buena y muy palatable . 3. Creciente con pastoreo.
Lc	AN (O-I-P)	I-P (P-V)	Sí	No	AR, F- AR	-	1. Escaso . 2. Buena y muy palatable . 3. Decreciente con pastoreo (poco resistente al pisoteo). 5. Rara donde está labrado. 6. Nodulada por rizobios del grupo de los guisantes.
Ln	PER (I-P)	I-P (P)	No	Sí	AR, PED, fértil	-	1. Abundante (rizomatosa). 2. Buena . 6. Fijadora de N.
Lp	PER (I-P)	P: sep-dic (P-V: dic)	No	Sí	AR, ROC, PED, fértil	-	1. Muy abundante (rizomatosa). 2. Muy buena . 3. Decreciente con pastoreo, susceptible a pisoteo. 4. Lento desarrollo inicial. 6. Observada con muchos nódulos activos.
Ls	PER (I-P)	I-P-V (P-V)	No	Sí	ROC, PED	-	1. Escaso , pero forma manchones abundantes (rizomatosa), mezclados con pastizales. 2. Buena .
Lt	PER (P)	P (P-V)	Sí, para fijación médanos	Sí	AR, ROC	-	1. Moderado (rizomatosa).
Rd	PER (P)	P-V (P-V)	No	Sí	ROC, fértil	Sí	1. Moderado a abundante (tallos no radicantes) pero permanente. 2. Buena . 5. Buena producción de semillas, resistente al ataque de insectos.
Rs	PER (P-V)	V: dic-mar (V: dic-abr)	Sí, útil para restauración	Sí	F-AR, ROC, Ar, calcáreos	Sí	1. Moderado , pero forma manchones abundantes. 2. Buena . 3. Decreciente con pastoreo.
Tp	PER (I-P)	P: oct-nov (P: nov)	No	No	AR, PED, Ar, SAL, húmedos	-	1. Escaso , pero estolonífera y de reproducción anficárpica. 2. Buena y muy palatable . 3. Tolerante. 4. Responde a la fertilización con P. 5. Rara donde está labrado. 6. Nodula y es fijadora de N.

Tabla 2. Continuación.

SP	AN/PER (Período de crecimiento)	Floración (fructificación)	Pionera	Tolera sequía	Suelos	Melífera	Aptitud como forrajera (1.Cantidad-2.Calidad- 3. Tolerancia al pastoreo- 4. Habilidad competitiva- 5. Rusticidad- 6. FBN)
VI	AN		No	Sí	AR	-	1. Escaso. 2. Buena.
Vn	AN (P)		No	Sí	AR	-	1. Escaso. 2. Buena.
Vp	AN (P)		No	Sí	AR	-	1. Escaso individualmente, pero forma manchones abundantes. 2. Buena. 3. Decreciente con pastoreo. 5. Se resiembra fácilmente.

Localización de poblaciones

Luego de identificar las especies de leguminosas herbáceas nativas reportadas para el área de estudio, se realizaron salidas para localizar sus poblaciones, encontrando 16 especies de las 30 reportadas para la zona. En la Figura 1 se muestran los 43 sitios visitados al menos una vez en el transcurso del estudio. Cabe destacar el hallazgo, en el Partido de Saavedra, de una pequeña población de *Stylosanthes montevidensis*, una especie que no había sido reportada para el área de estudio hasta el momento.



Figura 1. Mapa con los sitios del SO bonaerense recorridos para localizar especies de leguminosas herbáceas nativas potencialmente útiles para la restauración productiva de agroecosistemas de la zona. **NOTA:** no todos los sitios recorridos y detallados en la Tabla 3 son visibles en este mapa porque hay muchos puntos cercanos entre sí que, por la escala de mapa escogida para incluir los sitios más alejados, se superponen y no son visibles.

Los sitios que tuvieron una mayor riqueza de especies de leguminosas herbáceas nativas (más de 5 especies), fueron los ubicados en el Sistema Serrano de Ventania, principalmente el Parque Provincial E. Tornquist (PPT I y PPT II), la Reserva Sierras Grandes (RSG), el campo del Sr. Milano, que incluye una porción importante de sierras (SAA I), un tramo de la Ruta Provincial 76 que intersecta un cerro y tiene roquedales a ambos lados en la banquina (SUA I) y el Arroyo de las Piedras en Villa Ventana (VVE III). En la **Tabla 3** figuran las coordenadas de todos los sitios visitados y las especies encontradas en cada uno. Abreviatura de las especies: *A. filipes* (Af), *A. incana* (Ai), *A. muricata* (Am), *A. pampeana* (Ap), *Galactia marginalis* (Gm), *Glycyrrhiza astragalina* (Ga), *Hoffmannseggia glauca* (Hg); *H. trifoliata* (Ht), *Lathyrus crassipes* (Lc), *L. nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *L. subulatus* (Ls), *L. tomentosus* (Lt), *Rhynchosia diversifolia* (Rd), *R. senna* (Rs), *Stylosanthes montevidensis* (Sm), *V. pampicola* (Vp).

Tabla 3. Nombre y coordenadas de los sitios visitados y leguminosas herbáceas nativas encontradas en cada uno.

Sitio	Abrev	Latitud	Longitud	Especies presentes
BAHÍA BLANCA				
Campus de Palihue	PAL	38°41'39.41"S	62°15'4.60"O	Ai, Rs
Av. Cabrera	CAB	38°41'50.84"S	62°14'34.17"O	Ai, Rs
CCT-Bahía Blanca	CCT	38°40'1.87"S	62°14'1.36"O	Ai
Cueva de los Leones	LEO	38°38'22.73"S	62°17'17.69"O	Ai, Hg, Ht, Rs
Camino la Carrindanga I	CAR I	38°35'28.49"S	62° 5'13.37"O	Ai, Rs
Camino la Carrindanga II	CAR II	38°33'21.69"S	62° 3'31.42"O	Ai
Camino la Carrindanga III	CAR III	38°29'35.61"S	62° 2'18.01"O	Ai
Ruta Nacional 35 I	RN35 I	38°35'42.64"S	62°28'58.35"O	Ai
Ruta Nacional 35 II	RN35 II	38°24'16.43"S	62°49'3.94"O	Ai
Ruta Nacional 35 III	RN35 III	38°22'18.01"S	62°52'40.89"O	Ai, Rs
CNEL. ROSALES				
Pehuen Co I	PCO I	39° 0'9.65"S	61°34'13.73"O	Af, Am, Ga
Pehuen Co II	PCO II	38°59'49.87"S	61°31'54.50"O	Af, Am
Pehuen Co III (RP 113)	PCO III	38°55'36.79"S	61°33'11.17"O	Ai

Tabla 3. Continuación.

Sitio	Abrev	Latitud	Longitud	Especies presentes
CNEL. SUÁREZ				
Suárez I (RP 76, SV-Sua)	SUA I	37°59'28.41"S	61°52'15.65"O	Ai, Ap, Lp, Ls, Rd, Rs
Suárez II (RP 67)	SUA II	37°31'52.72"S	62°11'15.40"O	Ai
GRAL. PUEYRREDÓN				
Reserva Paititi	PAI	37°55'14.62"S	57°48'45.63"O	Ai, Lp, Lt
GUAMINÍ				
Guaminí I	GUA I	37° 2'40.99"S	62°25'6.30"O	Rs
Guaminí II	GUA II	37° 2'18.66"S	62°26'25.68"O	Rs
PUÁN				
Puán I (Cerro de la Paz)	PUA I	37°34'45.19"S	62°45'53.24"O	Ai, Gm, Ls, Rd, Rs
Puán II (RP 67, Puán-Pigüé)	PUA II	37°33'5.63"S	62°38'14.80"O	Ai, Rs
Pigüé I (Co. Cantera vieja)	PIG I	37°36'47.66"S	62°28'0.79"O	Ai, Ls, Rd, Rs
Pigüé II (cerca RN 33)	PIG II	37°38'19.18"S	62°26'17.89"O	Ai
Pigüé III (RN 33)	PIG III	37°38'4.97"S	62°25'56.33"O	Ai
Las Piedras (Pigüé)	PIE	37°41'22.77"S	62°15'21.02"O	Ai, Ls, Rd, Rs
Azopardo	AZO	37°42'5.30"S	62°54'15.59"O	Rs
Tres Cuervos	3CU	37°42'47.37"S	63° 3'55.97"O	Rs
Puán III	PUA III	38° 9'32.69"S	63° 9'58.24"O	Ai
SAAVEDRA				
Saavedra I (campo Milano)	SAA I	37°54'23.86"S	62° 9'49.76"O	Ai, Ap, Gm, La, Ln, Lp, Ls, Lt, Rd, Rs, Sm
Saavedra II (RN 33)	SAA II	37°47'48.72"S	62°23'52.43"O	Ai
Sitio	Abrev	Latitud	Longitud	
TANDIL				
Tandil	TAN	37°19'1.43"S	59° 4'12.95"O	Rs

Tabla 3. Continuación.

Sitio	Abrev	Latitud	Longitud	Especies presentes
TORNQUIST				
Tornquist I	TOR I	38°20'36.06"S	62°17'2.86"O	Ai
Tornquist II	TOR II	38°10'13.68"S	62°15'54.17"O	Ai
Tornquist III (Co. Colorado)	TOR III	38° 3'40.77"S	62°28'23.97"O	Ai, La, Rs, Rd
PP Tornquist (PPT I)	PPT I	38° 3'48.35"S	61°58'18.42"O	Ai, Lp, Rd, Rs
PP Tornquist (PPT II)	PPT II	38° 4'20.36"S	62° 0'27.81"O	Ai, Ap, Lp, Ln, Ls, Lt, Rd
Reserva Sierras Grandes	RSG	38°10'16.15"S	61°54'2.04"O	Ai, Ap, La, Ln, Lp, Ls, Lt, Rd, Rs
Estancia Las Vertientes	LVE	38° 5'4.34"S	61°57'57.73"O	Ai, La, Lp
Villa Ventana I	VVE I	38° 3'55.86"S	61°53'19.96"O	Lp, Rd, Rs
Villa Ventana II	VVE II	38° 4'11.79"S	61°55'42.24"O	Ai
Villa Ventana III	VVE III	38° 5'2.45"S	61°57'10.69"O	Ai, Ap, Gm, La, Lp, Ls, Rd, Rs
TRES ARROYOS				
Claromecó	CLA	38°51'23.05"S	60° 4'48.67"O	Ai
VILLARINO				
Laguna Chasicó	CHA	38°38'43.65"S	63° 6'31.59"O	Am, Ga, Lc, Vp
La Mascota	MAS	38°47'36.37"S	62°39'42.41"O	Hg

DISCUSIÓN

Las especies de *Adesmia* caracterizadas son, en términos generales, plantas pioneras (Weberling *et al.*, 2002), que brindan una cantidad de forraje moderado pero constante y que pueden formar tapices extensos, con tallos que alcanzan fácilmente los 2 m de longitud en especies como *A. bicolor* y *A. incana* (Coll y Zarza, 1992; Dodd y Orr, 1995; Veneciano *et al.*, 2005). En algunas especies, como *A. filipes* o *A. muricata*, la producción de forraje es escasa individualmente, pero suelen formar poblaciones numerosas en suelos muy arenosos donde pocas especies logran desarrollarse.

Las especies de este género son también buenas fijadoras de nitrógeno, algunas comprobadas porque se han encontrado abundantes nódulos activos en el campo (Vileta *et al.*, 2010; Basconsuelo *et al.*, 2013; Bianco *et al.*, 2013) y otras potenciales ya que crecen en suelos arenosos con muy baja fertilidad y deben tener esta capacidad para sobrevivir en ellos (Izaguirre, 2005). Las raíces adventicias en especies como *A. bicolor* y *A. incana* proporcionan una superficie considerable de raíces jóvenes que pueden ser noduladas. Además, estas dos especies son rastreras, lo cual hace que sean probablemente más resistentes al pastoreo porque las áreas meristemáticas tienen menor probabilidad de ser dañadas (Matches, 1992; Phelan *et al.*, 2015). La forma de crecimiento decumbente es uno de los mecanismos de evitación del pastoreo, ya que los animales tienen más dificultad para defoliar todos los brotes que cuando las plantas presentan crecimiento hacia arriba (Matches, 1992). El valor forrajero de las especies herbáceas de *Adesmia* ha sido mencionado en publicaciones de Argentina, Uruguay, Chile y Brasil (Dias *et al.*, 2004a).

De las 6 especies de *Adesmia* caracterizadas, salvo *A. corymbosa* (producción escasa de forraje, calidad nutritiva y capacidad de nodular desconocidas), todas parecen ser promisorias para la restauración productiva. Sin embargo, las especies *A. bicolor* y *A. punctata* no se encontraron en los sitios visitados. Por esta razón sólo se incluyeron en etapas posteriores del trabajo a *A. filipes*, *A. incana* y *A. muricata*.

Por su parte, *Hoffmannseggia glauca* y *H. trifoliata* son especies con muy escasa producción de forraje, pero que crecen en suelos sumamente pobres y en áreas áridas o desérticas (Kraus *et al.*, 2003). Podrían ser especies útiles para el enriquecimiento de pastizales, aunque no son una fuente de forraje importante. Es probable que no posean la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico porque pertenecen a la subfamilia Caesalpinoidea, cuyos miembros son en general no nodulantes y al género *Hoffmannseggia*, en el que hay al menos cuatro especies que han sido reportadas como no nodulantes (De Faria *et al.*, 1989). Estas especies no fueron frecuentemente encontradas durante las recorridas realizadas; es probable que esto se deba a que el área de estudio constituye su límite de distribución (sólo alcanzan el límite sur y oeste, siendo más típicas en las regiones patagónicas o de monte).

La especie *Rhynchosia senna* es muy variable en tamaño; creciendo en pastizales altos o en arbustales donde puede treparse a otras plantas; sus tallos llegan fácilmente a medir 1,5 m de altura y la producción de forraje es moderada (obs. pers.). También está presente en pasturas cultivadas (Azpiroz y Blake, 2016) y se ha reportado su resistencia al glifosato (Mas *et al.*, 2010), al igual que

R. diversifolia (Irigoyen *et al.*, 2009; Mas *et al.*, 2010; Gigón *et al.*, 2013). Es buena forrajera (Izaguirre, 2005) y crece en manchones con muchos individuos; es nodulante (obs. pers.) y apta para desarrollarse en áreas con suelos extremadamente secos y poco fértiles, incluso en barrancas de tosca, por lo que podría resultar útil en campos poco productivos (Weberling *et al.*, 2002). *R. diversifolia* crece en suelos más fértiles, aunque rocosos, en general serranos (Cabrera, 1967), desarrollándose bien en pastizales de mediana altura y generando una cantidad de forraje moderada, con una proporción hoja/tallo mayor que la especie anterior (obs. pers.).

Las especies de *Lathyrus* son en general excelentes forrajeras y algunas especies, como *L. pubescens* y *L. nervosus*, son las de mayor desarrollo vegetativo entre las 19 especies caracterizadas. Como forrajeras han sido muy utilizadas en el pasado, pero han ido desapareciendo, probablemente como resultado de un pastoreo excesivo. Holmberg (1884) escribe en su relato del recorrido por las sierras de Cura Malal, probablemente haciendo referencia a alguna de estas dos especies: “En el Valle de las Grutas que hemos visto, cerca del Abra del Hinojo, una grande extensión de campo, totalmente cubierta de altas alverjillas de grandes flores azuladas ...”. Otra de sus ventajas es su desarrollo invierno-primaveral, una característica poco usual en leguminosas (Phelan *et al.*, 2015). Tal como menciona Puignau (1990), en la región existe un problema de abastecimiento de forraje en la época invernal y las especies de este género podrían ayudar a solucionar el problema. *L. pubescens* es una especie con nodulación abundante, con una época de floración y fructificación muy concentrada y con legumbres numerosas, de varias semillas y expuestas, lo cual facilitaría las tareas de cosecha (obs. pers.). Con respecto a la localización de poblaciones en el territorio, las especies *L. crassipes* y *L. tomentosus* solo se encontraron en un sitio cada una, con una población muy pequeña. Estas dos últimas especies, además, son de menor producción de forraje; por estos dos motivos sólo se incluyeron en etapas del trabajo posteriores a *L. nervosus*, *L. pubescens* y *L. subulatus*.

Finalmente, las especies del género *Vicia* de la zona de estudio son en general pequeñas pero crecen en manchones abundantes, en suelos arenosos pobres donde no abundan otras leguminosas (Burkart, 1943) y son de muy buena calidad forrajera (Izaguirre, 2005). Sin embargo, al igual que *Trifolium polymorphum*, las tres especies de *Vicia* (*V. linearifolia*, *V. nana* y *V. pampicola*) estuvieron prácticamente ausentes de todos los sitios visitados, encontrándose solo una pequeña población de *V. pampicola* en uno de los sitios visitados. Por esta razón no se las incluyó en etapas posteriores del trabajo.

En resumen, se localizaron poblaciones de 16 especies, de las cuales 12 se encuentran incluidas dentro de las 19 potencialmente útiles y caracterizadas. Las otras 4 son endémicas de zonas restringidas (*Adesmia pampeana*), no palatables o tóxicas (*Galactia marginalis* y *Glycyrrhiza astragalina*) o no habían sido reportadas para el SO bonaerense (*Stylosanthes montevidensis*). Las especies más frecuentemente encontradas fueron *A. incana* (76% de los sitios visitados) y *R. senna* (49% de los sitios visitados), incluyendo algunos puntos en las banquinas tomados al azar. También se encontraron en potreros pastoreados, lo cual permite inferir que tienen alguna tolerancia al pastoreo y a los ambientes con cierto grado de disturbio. Para las demás especies, principalmente para el género *Lathyrus*, fue necesario visitar sitios en buen estado de conservación que además, por su historia o por su topografía, hayan tenido un pastoreo restringido (áreas protegidas, cerros, barrancas, clausuras, bordes de caminos). Las especies que se hallaron creciendo en estos lugares pueden ser muy buenas forrajeras, particularmente elegidas por los animales y por lo tanto actualmente escasas, o sensibles a disturbios, lo cual las haría poco adecuadas a los fines de este trabajo. Esto debería dilucidarse con estudios de tolerancia al pastoreo manejado adecuadamente.

CONCLUSIÓN

El análisis de algunas características biológicas, ecológicas, forrajeras y agronómicas de 19 leguminosas herbáceas nativas permitió definir que la mayoría de las especies caracterizadas tienen rasgos que las hacen promisorias para la restauración productiva de pastizales naturales del sudoeste bonaerense. Una excepción a esto podrían ser quizás las dos especies de *Hoffmannseggia* ya que probablemente no sean nodulantes y presentan muy poca producción de forraje comparando con otras especies de la zona en estudio, aunque para regiones más áridas podrían ser una opción. También podría descartarse, en una primera instancia, a *Adesmia corymbosa* por su escaso desarrollo.

Las restantes 16 especies merecerían considerarse para estudio pero, de éstas, sólo 11 fueron localizadas en el territorio, habiéndose hallado poblaciones de tres especies de *Adesmia* (*A. filipes*, *A. incana*, *A. muricata*), cinco de *Lathyrus* (*L. crassipes*, *L. nervosus*, *L. pubescens*, *L. subulatus*, *L. tomentosus*, aunque se hallaron muy pocos individuos de la primera y la última especie), dos de *Rhynchosia* (*R. diversifolia* y *R. senna*) y una de *Vicia pampicola* (una sola población con muy pocos individuos). Por su escasa representación en los sitios visitados, las especies *L. crassipes*, *L. tomentosus* y *V. pampicola* no se consideran una prioridad de investigación para la zona y no se

tuvieron en cuenta para el desarrollo del estudio. Las 8 especies utilizadas de aquí en más (*Adesmia filipes*, *A. incana*, *A. muricata*, *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens*, *L. subulatus*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna*) cumplen con la condición de haber sido encontradas efectivamente en el territorio y de que el análisis de sus características haya resultado promisorio para la restauración productiva de pastizales.

CAPÍTULO 2

Germinación de leguminosas herbáceas nativas

MARCO TEÓRICO

Las semillas silvestres presentan usualmente dormición seminal, lo que constituye uno de los obstáculos más importantes para su germinación inmediata en condiciones de cultivo. La dormición seminal es una estrategia de supervivencia de las plantas que consiste en la existencia de estados fisiológicos o morfológicos particulares que evitan la germinación prematura o en condiciones ambientales desfavorables de semillas viables (Fenner y Thompson, 2005; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Baskin y Baskin, 2008). En todas las zonas de vegetación, excepto las selvas tropicales y bosques lluviosos semiperennes, la mayoría de las especies tienen semillas que presentan dormición y la proporción de especies con dormición aumenta a medida que la temperatura y las precipitaciones disminuyen (Baskin y Baskin, 2008).

De acuerdo con revisiones recientes (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006) las clases de dormición seminal son cinco, aunque algunos autores, como Baskin y Baskin (2008), solo reconocen tres (fisiológica, física y morfofisiológica). Cada una de estas cinco clases contiene a su vez distintos niveles y tipos, siguiendo un orden jerárquico (Baskin y Baskin, 1998; Nikolaeva, 2004; Baskin y Baskin, 2004). Las clases principales incluyen la dormición fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física y combinada. La forma más frecuente de dormición es la fisiológica, presente en las semillas de gimnospermas, en todos los clados principales de angiospermas y en la mayoría de las especies de zonas templadas. Consiste en un impedimento mecánico para la salida del embrión que puede estar dado por estructuras del fruto o de la semilla. La dormición morfológica ocurre cuando el embrión está diferenciado, pero su desarrollo no está completo en términos de crecimiento porque aún es demasiado pequeño. La dormición morfofisiológica se da en embriones que tienen las características de los dos grupos anteriores, es decir que son subdesarrollados en términos de tamaño, pero además tienen un componente fisiológico que refuerza la dormición.

La dormición física se produce por el bloqueo de la entrada de agua a la semilla, lo cual hace que la fase inicial de la germinación, la imbibición, se vea impedida y no se desencadene este proceso. La impermeabilidad se debe a la existencia de capas hidrófobas constituidas por células en empalizada

que recubren el fruto o la semilla e impiden la penetración del agua (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Por último, la forma de dormición combinada se da cuando las semillas tienen cubiertas impermeables y además existe dormición fisiológica (Baskin y Baskin, 2004).

La familia de las leguminosas se caracteriza por presentar dormición seminal física, aunque no todas las especies la exhiben (Baskin y Baskin, 2014). Aun en aquellas especies que sí la presentan, el grado de dormición no es uniforme en todas las semillas, sino que varía según las condiciones ambientales (temperatura, disponibilidad de agua, nutrientes, fotoperiodo y calidad lumínica, entre otros) a las que estuvo sometida la planta madre durante el desarrollo de las semillas (Baskin y Baskin, 1998). Varía incluso dentro de una misma población y temporada, según el momento de su maduración (Fenner y Thompson, 2005); para un mismo lote de semillas suele haber una fracción mayoritaria que presenta dormición física y una minoría que no (Baskin y Baskin, 2004).

La ruptura de la dormición física se da típicamente porque las condiciones ambientales o los tratamientos aplicados a las semillas generan la disrupción o deslocalización de una estructura especializada, la lenticela, lo cual produce una abertura para la entrada de agua (Baskin, 2003). Sin embargo, se ha visto que, para algunas especies, tratamientos como el calentamiento seco también conducen a la interrupción de la dormición por ruptura de la capa impermeable en sitios distintos que la lenticela (Baskin y Baskin, 2000). En la naturaleza, los factores que inducen la interrupción de la dormición incluyen temperaturas altas o ampliamente fluctuantes, fuego, desecación, congelamiento y descongelamiento y paso por el tracto digestivo de animales (Baskin y Baskin, 1998).

Cuando se desea cultivar una especie, la dormición seminal debe interrumpirse para que la semilla pueda germinar en el momento deseado y esto se logra a través de la aplicación de tratamientos pregerminativos (Varela y Aparicio, 2011) o mediante un proceso de selección dirigida de mediano plazo. La segunda opción, sin embargo, presenta una desventaja para la planta, ya que pierde a la dormición seminal como estrategia de supervivencia. Después del primer año y una vez establecido el cultivo, especialmente si se trata de una pastura perenne, la dureza de la cubierta seminal es de extrema importancia para el mantenimiento de un banco de semillas activo, cuya estabilidad en el tiempo es mantenida por la resiembra natural (Medeiros y Nabinger, 1996 *vide* Dias *et al.*, 2004a). Los tratamientos pregerminativos más comunes y exitosos para romper la impermeabilidad de las semillas de leguminosas incluyen la escarificación mecánica, química o térmica por inmersión en agua caliente o exposición a aire caliente (Haferkamp *et al.*, 1984; Dittus y Muir, 2010). La

escarificación mecánica consiste en friccionar las semillas con superficies abrasivas o perforar la cubierta seminal sin dañar el embrión. Suele ser el tratamiento más efectivo para muchas especies, pero tiene la desventaja de que no es fácil de replicar con precisión ya que la intensidad de desgaste o ruptura aplicada a las semillas es difícil de medir (D. Pérez, com. pers.) y considerando que no es fácilmente aplicable a grandes cantidades de semillas (Dittus y Muir, 2010), a menos que se cuente con una escafificadora mecánica. La escafificación química, una vez determinados la concentración y los tiempos de exposición apropiados para cada especie, es de fácil aplicación, pero presenta riesgos operacionales para los trabajadores y para el ambiente asociados al uso de productos potencialmente peligrosos, por lo que de ser posible es preferible utilizar otro método de escafificación (Martins *et al.*, 1997).

A pesar de sus desventajas, tanto la escafificación mecánica como la química son útiles para corroborar que la ruptura de la dormición y la germinación posterior son posibles y brindan una referencia del porcentaje de germinación máximo que es plausible alcanzar. En este trabajo, aunque se aplicaron tratamientos de escafificación física manual y escafificación química para utilizarlos como referencia, se intentó encontrar tratamientos alternativos de escafificación térmica por exposición a agua o aire calientes. La escafificación térmica sería el tratamiento óptimo ya que, a diferencia de los tratamientos anteriores, es de bajo riesgo, fácil aplicación, replicable y eficiente en la ruptura de la dormición si se logran estimar los tiempos y temperaturas de exposición óptimos para cada especie.

Muchas especies de leguminosas nativas, por ser silvestres, tienen porcentajes altos de dormición seminal producida por cubiertas impermeables (Haferkamp *et al.*, 1984; Muir y Pitman, 1987; Dittus y Muir, 2010). Las estrategias múltiples o la intensidad variable de dormición que presentan las distintas especies hacen suponer que cada una amerita un estudio particular (Dittus y Muir, 2010; Varela y Aparicio, 2011) en el que se apliquen los tratamientos bajo condiciones controladas, evaluando y comparando los efectos de los mismos. El objetivo de esta parte del trabajo fue evaluar diferentes tratamientos pregerminativos que promuevan la germinación de las leguminosas herbáceas nativas seleccionadas con la intención de facilitar la obtención de material para futuros trabajos de mejoramiento y aportar conocimientos para su cultivo a escala productiva.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el porcentaje de germinación en el tratamiento control de cada especie nativa seleccionada para aproximar el porcentaje de semillas con dormición seminal que presenta cada una de ellas.
2. Evaluar el efecto de distintos tratamientos pregerminativos sobre el porcentaje de germinación de las especies nativas seleccionadas, con énfasis en tratamientos que sean repetibles y replicables a una escala mayor a la experimental.

HIPÓTESIS

H1: las semillas de leguminosas nativas silvestres exhiben dormición y la proporción de semillas dormantes es diferente para especies diferentes. La dormición que exhiben puede romperse por medio de tratamientos pregerminativos.

Predicción 1.1: las semillas no tratadas (control) tendrán porcentajes de germinación variables entre especies.

Predicción 1.2: las semillas tratadas tendrán porcentajes de germinación mayores que las no tratadas (control).

H2: el método más eficiente para romper la dormición seminal física que presentan la mayoría de las especies de leguminosas es la escarificación mecánica, ya que este tratamiento debilita la capa impermeable de la semilla directamente y permite el ingreso de agua para que comience el proceso de germinación.

Predicción 2: los lotes de semillas a los que se les aplique la escarificación mecánica con lija, que asegura la ruptura de la capa impermeable de la semilla, tendrán porcentajes de germinación mayores que aquellos tratamientos que sólo la fragilicen.

H3: las diferentes especies de leguminosas nativas seleccionadas poseen características morfológicas en las semillas (tamaño de la semilla, grosor y resistencia de la capa impermeable) que determinan distintas tolerancias de temperatura en los tratamientos de escarificación térmica.

Predicción 3: en los tratamientos de escarificación térmica, las especies evaluadas tendrán distintos tiempos y temperaturas de exposición óptimos para lograr los porcentajes de germinación máximos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron cuatro ensayos de germinación sucesivos con semillas de 7 de las 8 especies seleccionadas de acuerdo a los criterios detallados en el Capítulo 1; no se incluyó a *Lathyrus subulatus* por no contar con una cantidad suficiente de semillas. Las especies utilizadas fueron *Adesmia filipes* (Af), *A. incana* (Ai), *A. muricata* (Am), *Lathyrus nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) y *R. senna* (Rs). Las semillas se recolectaron entre diciembre del 2014 y diciembre del 2016, en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se limpiaron manualmente descartando los restos de frutos y follaje, desechando las semillas que estaban dañadas o vacías. Luego se almacenaron hasta su utilización en sobres de papel, en ambiente seco y a temperatura ambiente.

Los ensayos de germinación se realizaron en el Laboratorio de Producción y Utilización de Pasturas del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina), durante el año 2015 y 2016. Se seleccionaron las semillas que estaban en buen estado y completamente maduras (salvo los tratamientos que buscaban testear semillas verdes o arrugadas) y se desinfectaron con NaOCl al 1% durante cinco minutos (Alí *et al.*, 2011), enjuagando posteriormente cinco veces con agua. Luego de aplicar los tratamientos pregerminativos, las semillas se colocaron en cajas de Petri con una capa de 0,5 cm de arena esterilizada y humedecida debajo, llevándose a cámara de germinación con condiciones controladas. La temperatura, de 25°C, fue constante durante todos los ensayos y se fijó de acuerdo a lo determinado como óptimo en trabajos realizados sobre leguminosas nativas de zonas con precipitaciones y temperaturas semejantes a las del sudoeste bonaerense. El fotoperiodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Cuando se observaron hongos creciendo, se rociaron las cajas infectadas con un fungicida comercial (Polvo Bordelés). El diseño fue completamente aleatorizado en todos los casos.

Dado que estas son especies silvestres y que no existen variedades comerciales, la disponibilidad de semillas condicionó el número de tratamientos, réplicas y semillas por réplica en algunos casos, como suele suceder en estudios de especies nativas silvestres (Dias *et al.*, 2004a). En el primer ensayo se evaluaron semillas de Ai provenientes de CAB y VVE III (tres réplicas de 25 semillas cada una), de Rd provenientes de VVE III y SAA I (tres réplicas de 20 semillas cada una) y de Rs provenientes de CAB, CAR I, VVE III y SAA I (tres réplicas de 30 semillas cada una). Las semillas de la misma especie, pero colectadas en sitios diferentes se mezclaron a fin de no generar variación entre tratamientos inducida por el diferente sitio de colecta. En el segundo y tercer ensayo los sitios

de colecta de fueron PCO I y II (Af y Am), SAA I (Ai y Ln), VVE I (Lp), PIG I (Rd) y RN35 II (Rs) y todos los tratamientos tuvieron cuatro réplicas de 25 semillas cada una, excepto Lp que tuvo tres réplicas de 20 semillas cada una. Para ver las coordenadas de cada sitio de colecta, ver Tabla 3.

Los tratamientos pregerminativos del primer ensayo se definieron en función de lo indicado por la bibliografía para cada especie o para especies emparentadas. Los tratamientos de los ensayos siguientes se definieron en función de los resultados obtenidos en los ensayos previos. En todos los casos se agregó un control por especie. A continuación se detallan los tratamientos aplicados en al menos uno de los ensayos realizados y el método de aplicación de cada uno.

Escarificación física

Escarificación física manual (EMan): raspado con lija N° 100 hasta que la semilla se ve más clara en el lugar raspado. Cuando es lo suficientemente grande, el raspado se realizó hasta que se ve el endosperma, en el lado opuesto a la micrópila para no dañar el embrión (Ln, Lp, Rd y Rs). De lo contrario, se frotaron entre dos lijas hasta que la cubierta seminal perdió brillo y comenzó a verse más opaca (Af, Ai y Am).

Escarificación física mecánica (EMec): se fabricó una escarificadora que consiste en un tubo hueco de 110 cm de diámetro, forrado con lija N° 100 por dentro y con un cilindro central giratorio (63 cm de diámetro), también forrado con lija. El número de vueltas del cilindro central para la escarificación de cada especie se determinó haciendo pruebas de imbibición luego de someterlas a distinto número de vueltas.

Escarificación química

Escarificación con ácido sulfúrico (EQca): las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico sin diluir (pureza 95-98%), agitándolas con una varilla de vidrio para que el ácido llegue a todas las semillas por igual. Luego se colaron, lavándolas inmediatamente con agua corriente para cortar el efecto del ácido en el tiempo estipulado (ver más abajo). Se las enjuagó varias veces hasta conseguir que el pH sea neutro. Posteriormente, se dispusieron sobre papel hasta que la superficie estuviera seca.

Escarificación térmica

Inmersión con temperatura inicial controlada (INM Ti): se realizó en vasos de precipitado de vidrio de 500 ml de capacidad y 8 cm de diámetro, con 400 ml de agua caliente por vaso. Las semillas se mantuvieron sumergidas durante 24 horas y la temperatura fue bajando gradualmente a medida que el agua se enfriaba.

Inmersión a temperatura constante (INM Tc): se realizó en termos precalentados, chequeando la temperatura al iniciar y terminar el tratamiento. Una vez transcurrido el tiempo definido para cada tratamiento, las semillas se dejaron secar algunos minutos.

Exposición a aire caliente (AC): las semillas fueron dispuestas en cajas de Petri dentro de estufas precalentadas a las temperaturas seleccionadas y por el tiempo establecido para cada tratamiento. Luego se colocaron en las cajas de Petri del ensayo, ese mismo día.

En el primer ensayo, para Ai se probó EMan (Basconsuelo *et al.*, 2013), EQca por 5 y 8 minutos (Parera y Ruiz, 2003) e INM Tc por 10 minutos a 60°, 70° y 80°C (Tedesco *et al.*, 2001). Para Rd, EMan (Alí *et al.*, 2011; Alí *et al.*, 2013) e INM Tc por 10 minutos a 80°C (Shaukat y Burhan, 2000). Para Rs, EMan (Alí *et al.*, 2011; Alí *et al.*, 2013), EQca por 60 minutos (Madueño-Molina *et al.*, 2006; Alí *et al.*, 2011) e INM Tc por 30 minutos a 70°C y 10 minutos a 80°C (Shaukat y Burhan, 2000).

En el segundo y tercer ensayo se evaluaron Af, Ai, Am, Lp, Rd y Rs y los tratamientos pregerminativos fueron iguales para todas las especies. En el segundo consistieron en EMan, EMec e INM Ti a 40, 50, 60 y 70°C por 24 horas y en el tercer ensayo fueron INM Tc a 50, 60 y 70°C por una hora y AC, con iguales tiempos y temperaturas. Ln se evaluó solamente en el segundo ensayo por escasez de semillas y no se aplicó el tratamiento INM Ti 40°C.

Las semillas recolectadas pertenecen a un mismo lote cuando se colectaron en un mismo sitio y fecha; se intentó que todos los ensayos estuvieran realizados sobre semillas del mismo lote o de la misma mezcla de lotes para que los resultados fueran lo más comparable posibles, salvo en el caso siguiente. El cuarto ensayo se realizó sobre Lp únicamente, una de las especies sobre la cual fue más factible evaluar la germinación según el sitio de origen del lote de semillas, la madurez de las semillas al momento de la cosecha, y la rugosidad y el color de las mismas. Esto se debe a varias características de la especie y sus poblaciones.

En primer lugar, esta especie crece generalmente en manchones, lo cual permite discriminar fácilmente el origen de las semillas, bajo la suposición de que cada uno de esos manchones, si están alejados entre sí, podría ser una población diferente. En segundo lugar, la floración y fructificación ocurre en un período de tiempo corto y la especie presenta dehiscencia elástica, por lo que el período en que pueden cosecharse las semillas es corto. Estas dos características hacen que se puedan definir con bastante claridad un momento de cosecha en el que la mayoría de las semillas

están formadas, pero no completamente secas (semillas verdes) y uno inmediatamente anterior al de la dehiscencia en el que ya están formadas y secas (semillas maduras). En tercer lugar, se vio que algunas de las semillas cosechadas antes de su madurez total se arrugaban al secarse y otras no, y que algunas de las semillas cosechadas maduras también estaban arrugadas. Es probable que esto se relacione con el momento en el que comenzaron a secarse (dependiendo si el secado comenzó antes o después de que la semilla se terminó de formar), y con la velocidad de secado. Por último, el color de las semillas según la población de origen fue muy variable para esta especie y no para las otras con las que se trabajó. Las semillas pueden dividirse en tres tipos de coloración que son marrones moteadas, negras o color amarillo o mostaza. Las poblaciones tienen proporciones de semillas de cada color diferentes, siendo en general más abundantes las marrones moteadas o las negras.

Cada lote de semillas implica un cierto sitio y fecha de colecta específicos. En la mayoría de los sitios sólo se colectó en una fecha, salvo para el sitio VVE I en el que se cosechó en dos fechas y por lo tanto se obtuvieron dos lotes. Se evaluaron en total siete lotes de semillas de seis procedencias distintas (SUA I, PAI, SAA I, LVE, RSG y VVE I; dos lotes diferentes, colectados el 12 y el 19/12/2015, que corresponden a esta última procedencia).

Por un lado, se comparó la germinación según la procedencia (sitio de colecta) del lote de semillas. Se consideraron procedencias distintas cuando los sitios de colecta estaban distanciados por al menos 10 kilómetros, definido a partir de los radios promedio y máximo de vuelo de *Apis mellifera*, el polinizador que recorre más distancia en la zona de estudio (Beekman y Ratnieks, 2000). Para comparar los lotes según la procedencia se utilizaron las semillas óptimas (lisas maduras) y no se separaron por color (“mezcla”, que representa la distribución natural de colores de las semillas de esa población) (Tabla 4).

Por otro lado, de cada lote de semillas, colectado en un mismo sitio y fecha, se separaron los distintos tipos de semillas por madurez, rugosidad o color (Tabla 4). La madurez de las semillas se determinó según las vainas estuvieran completamente secas al momento de la cosecha (semillas maduras) o aún verdes (semillas verdes) (Fig. 2). Para evaluar la germinación según la rugosidad se compararon semillas lisas con semillas arrugadas, seleccionando aquellas que no se vieran vanas (Fig. 2). Por último, se evaluó la germinación según el color de la cubierta seminal ya que se observó mucha variabilidad en los distintos lotes de semillas y que en otros estudios se determinó que variaciones en el color estuvieron asociadas a variaciones en el poder germinativo (Baeza y Vallejo, 2006; Boyle y Hladun, 2005; Fischer *et al.*, 2011) (Fig. 2).

A todas las semillas se les aplicó el tratamiento pregerminativo que resultó más sencillo y efectivo según los ensayos previos (INM Ti 70°C por 24 hs). Como se detalla en la Tabla 4, se comparó el porcentaje de germinación obtenido según la procedencia del lote de semillas (7 lotes), la madurez al momento de cosecha (verdes vs maduras, 2 lotes), la rugosidad (lisas vs arrugadas, 5 lotes) y color (semillas amarillas, marrón, negro, 3 lotes).

Tabla 4. Lotes de semillas de *Lathyrus pubescens* utilizados para el cuarto ensayo de germinación (VVE I 19, VVE I 12, SUA I, SAA I, RSG, PAI y LVE) y categorías de madurez y rugosidad y de color evaluadas para cada uno. En la primera fila figura la procedencia y/o fecha de colecta del lote (ver Tabla 3 para detalle de las coordenadas).

	VVE I 19	VVE I 12	SUA I	SAA I	RSG	PAI	LVE
Madurez y rugosidad	Lisas maduras (LM)	LM	LM	LM	LM		
	Lisas verdes (LV)	LV					
	Arrugadas maduras (AM)	AM	AM	AM	AM		
	Arrugadas verdes (AV)	AV					
Colores	Mezcla (m) Amarillas (A)					m	m
						M	M
	Marrones (M) Negras (N)					N	N



Figura 2. Semillas de *Lathyrus pubescens* utilizadas para el cuarto ensayo de germinación. LM: lisas maduras, AM: arrugadas maduras, LV: lisas verdes, AV: arrugadas verdes.

Para todos los ensayos de germinación el recuento de semillas germinadas se realizó cada tres días y la finalización del ensayo estuvo determinada por el momento en que la curva de germinación acumulada se volvió asintótica (entre 30 y 45 días según la especie). Se registró el número de

semillas germinadas por caja de Petri y se utilizó como criterio de germinación la emergencia de la radícula. Al finalizar el ensayo, se registró el porcentaje de semillas remanentes duras o no embebidas (Franke y Baseggio, 1998), que son las que permanecieron dormantes. Esta variable es una forma indirecta de estimar si los tratamientos que logran romper la dormición física y por lo tanto aumentar la imbibición, aumentan también la germinación o si, por el contrario, solo la imbibición aumenta. Las variables registradas fueron el porcentaje de germinación (PG) y de imbibición (PI).

El análisis estadístico se realizó utilizando INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016) y la decisión de aceptación o rechazo se tomó en todos los casos al 5%. Los datos del segundo y tercer ensayo de germinación fueron analizados juntos cuando los controles no resultaron diferentes al compararlos mediante ANOVA (especies Af, Ai, Am y Rd). Los datos se analizaron mediante ANOVA siguiendo un diseño completamente al azar y cuando éste resultó significativo, las medias se compararon mediante el test de Tukey. Cuando no se cumplió el supuesto de homoscedasticidad, las variables se transformaron con el arco seno de la raíz de la proporción y se realizó el test de Tukey con las variables transformadas (primer ensayo; Ai y Am del segundo; Ai, Am y Lp del tercero y comparación de colores del cuarto). Cuando las varianzas fueron distintas y la transformación no logró igualarlas, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Af, Ln, Lp, Rd y Rs del segundo; Af, Rd y Rs del tercero y variable imbibición de la comparación de procedencias del cuarto).

RESULTADOS

Para las especies estudiadas, se observó un porcentaje de semillas no embebidas mayor al 45% en todos los casos (Tabla 5). Las dos especies de *Lathyrus* fueron las que presentaron una menor proporción de semillas dormantes y Rd fue la que tuvo un porcentaje mayor. Para las tres especies de *Adesmia* estudiadas, el porcentaje de semillas dormantes fue alto y osciló entre 74 y 85%. Para Ai y Am, utilizando el mismo lote de semillas y con una diferencia de 6 meses entre ensayos, se observó un ligero aumento en el porcentaje de semillas dormantes en el último ensayo, aunque estas diferencias no llegaron a ser significativas ($p=0,20$ y $p=0,59$, respectivamente).

Tabla 5. Porcentaje de semillas no embebidas (dormantes) en el control (semillas no tratadas) de los ensayos de germinación, para cada especie y ensayo. Los lotes de semillas utilizados en el segundo y tercer ensayo son iguales para todas las especies.

	<i>A. filipes</i>	<i>A. incana</i>	<i>A. muricata</i>	<i>L. nervosus</i>	<i>L. pubescens</i>	<i>R. diversifolia</i>	<i>R. senna</i>
1° ensayo	-	76	-	-	-	85	46
2° ensayo	75	75	76	47	54	91	70
3° ensayo	74	85	82	-	63	93	63

En los ensayos realizados el PG de las semillas EMan fue siempre mayor que el de las semillas control y este tratamiento, que tuvo PG en general altos; fue el más efectivo para todas las especies. Con los tiempos y concentración testeados, EQca no resultó diferente al control en Ai ni Rs, las dos especies en las que se ensayó (Fig. 4 y 10, respectivamente). Los tratamientos de escarificación térmica dieron resultados diversos según las temperaturas de exposición y la especie en cuestión.

Para *Adesmia filipes* los PG fueron en general muy bajos. Todos los tratamientos pregerminativos fueron iguales al control, con la excepción de EMan y EMec que, a pesar de ser mayores, tuvieron un PG también bajo (17% para ambos, Fig. 3). El PI, en cambio, fue alto y mayor al control en estos dos tratamientos (100 y 90%, respectivamente) y también fue mayor al control en INM Ti 70°, INM Tc 50° y AC 50° (Fig. 3).

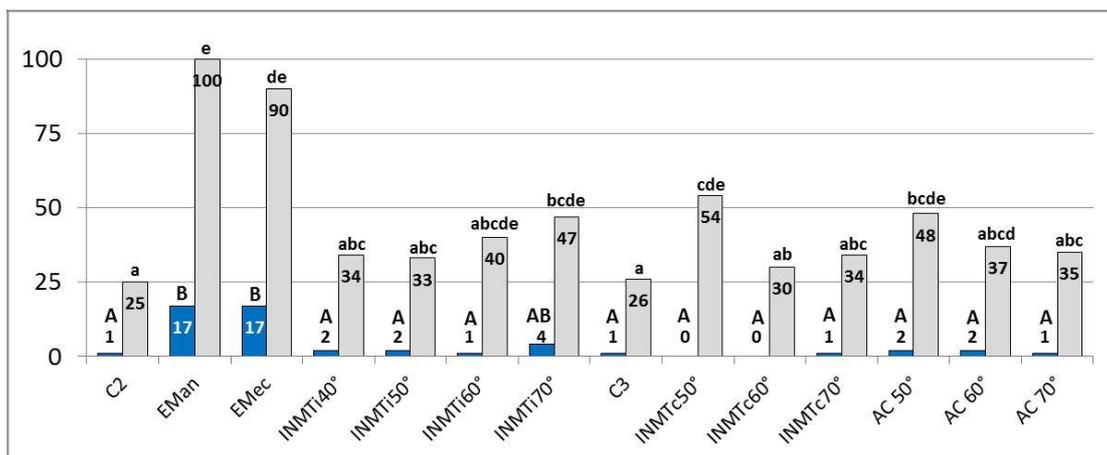


Figura 3. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia filipes* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para *Adesmia incana* el PG registrado en los tratamientos EMan en el primer ensayo (73%) (Fig. 4) y EMan y EMec en el segundo (88 y 70%, respectivamente) (Fig. 5) fueron mayores que el del tratamiento control. Los tratamientos INM Tc 70°C 10' del primer ensayo (Fig. 4) e INM Tc 70°C del tercero (Fig. 5) tuvieron un PG levemente mayor que los demás tratamientos, pero estas diferencias no fueron significativas al compararse con el control. En cuanto al PI, cuando se aumentó la temperatura en los tratamientos de INM se observó una tendencia, aunque sin diferencias significativas, a aumentar la imbibición. Sin embargo, esto no se vio acompañado por un aumento proporcional en la germinación (Figs. 4 y 5).

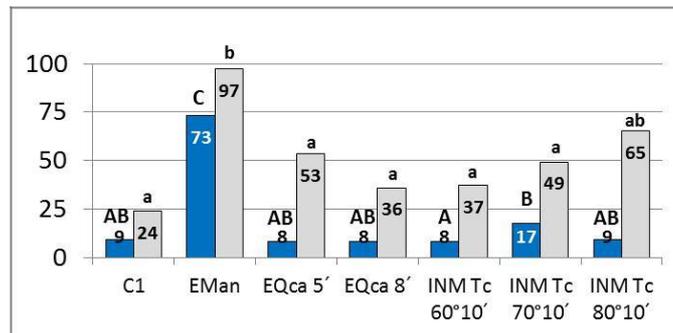


Figura 4. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia incana* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del primer ensayo (C1), escarificación física manual (EMan), escarificación química (EQca) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (INM Tc). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

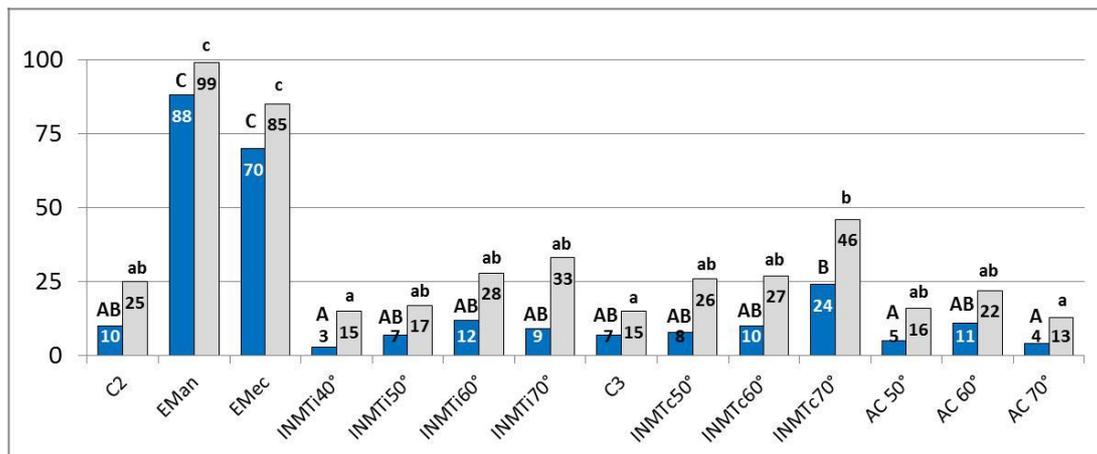


Figura 5. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia incana* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para *Adesmia muricata* el único tratamiento con PG mayor al control fue EMan (51%) (Fig. 6). El tratamiento de EMec tuvo un PG levemente mayor al de los demás tratamientos iguales al control, pero la diferencia no fue significativa. No se observó una tendencia clara en PG ni PI en respuesta a los tratamientos de INM Ti, INM Tc y AC a distintas temperaturas (Fig. 6).

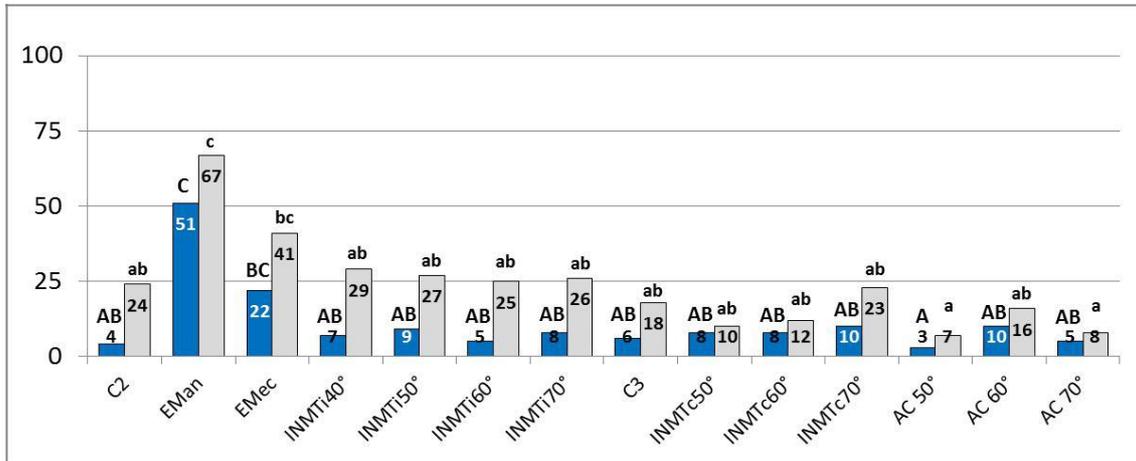


Figura 6. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Adesmia muricata* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La prueba no paramétrica utilizada no mostró diferencias significativas en el PG de *Lathyrus nervosus* entre los tratamientos pregerminativos y el control, aunque el tratamiento de EMan tuvo aproximadamente el doble de PG que los tratamientos control, INM Ti 60°C e INM Ti 70°C. En cambio, los tratamientos EMan y EMec fueron mayores que el de INM Ti 50°C. En cuanto al PI, fue mayor para el tratamiento de EMan (100%) que para los de INM Ti (52% máximo) y para el tratamiento de EMec (80%) y el de INM Ti 50°C (42%) (Fig. 7).

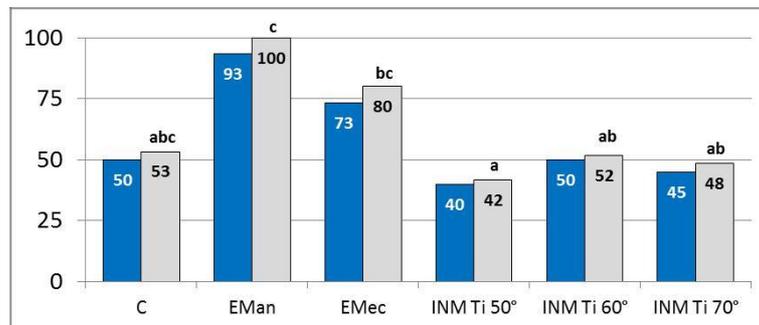


Figura 7. Porcentajes de germinación (barras azules, sin diferencias significativas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Lathyrus nervosus* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control (C), escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los valores de PG obtenidos para *Lathyrus pubescens* fueron altos en todos los tratamientos establecidos, incluido el control. En el segundo ensayo (primero para esta especie), el PG de los tratamientos EMan, EMec, INM Ti 60°C e INM Ti 70°C fue mayor al del control y varió entre 72 y 96% (Fig. 8A). La respuesta del PI fue similar, excepto que el tratamiento de INM Ti 50°C también fue mayor que el del control y que el tratamiento de INM Ti 70°C fue igual que el del control.

Los valores de PG obtenidos en el tercer ensayo, incluso los del control, fueron en general menores que los del segundo ensayo (Fig. 8). Sólo el PG del tratamiento AC 60°C fue mayor que el control. Asimismo, se observó que a medida que aumentó la temperatura en el tratamiento INM Tc, el PG disminuyó. Contrariamente, el PI mostró una tendencia a aumentar, aunque las diferencias no fueron significativas (Fig. 8B).

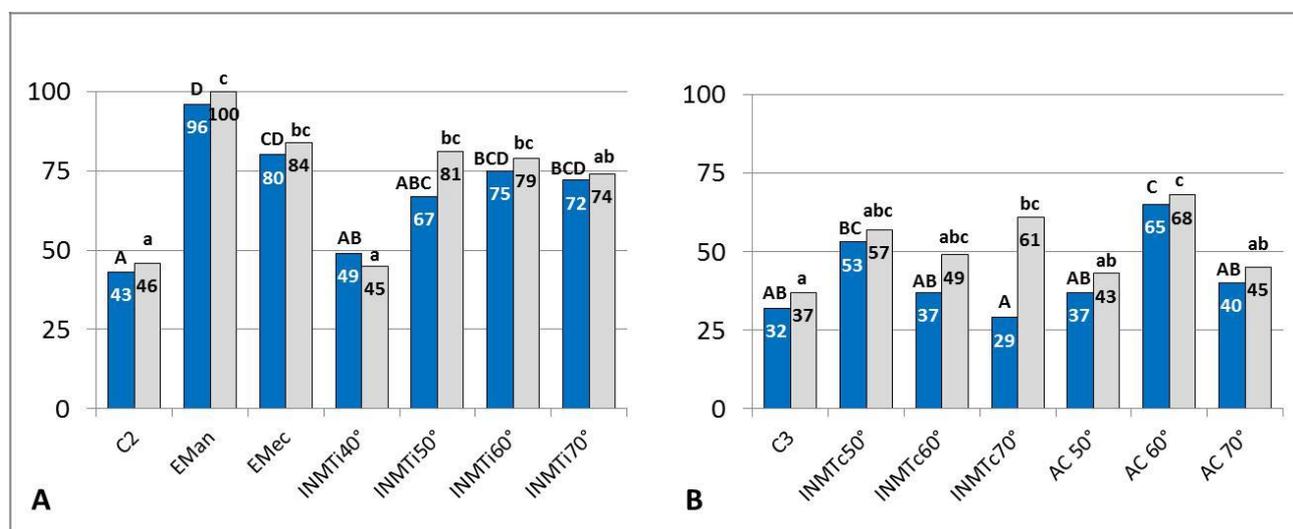


Figura 8. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Lathyrus pubescens* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos en el segundo (A) y tercer (B) ensayos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para *Rhynchosia diversifolia*, se observó en el primer ensayo que tanto el tratamiento de EMan (83%) como el de INM Tc 80°C 10' (45%) registraron PG significativamente mayores que el control (2%) y a su vez fueron estadísticamente diferentes entre sí (datos no mostrados en gráficos).

El PI se comportó de la misma manera, con valores de 100% para el de EMan, 85% para el de INM Tc 80°C 10' y 15% para el control.

En el segundo y tercer ensayo, el PG del control resultó menor que el de EMan, EMec, INM Tc 60°C, INM Tc 70°C, AC 60°C y AC 70°C (Fig. 9). Los PI de estos tratamientos también fueron distintos del control y solo levemente mayores que los PG. En la Figura 9 se puede observar cómo las temperaturas de 60°C y 70°C fueron efectivas para romper la dormición de la semilla y promover la germinación, tanto cuando se aplicaron mediante agua por INM Tc, como en seco mediante AC. Para *R. senna* en cambio, los tratamientos con AC redujeron el PG y el PI respecto del control (la reducción sólo fue significativa para AC 60°C), mientras que las mismas temperaturas pero aplicadas mediante agua por INM Tc mostraron una tendencia no significativa a incrementar el PG y el PI (Fig. 11B).

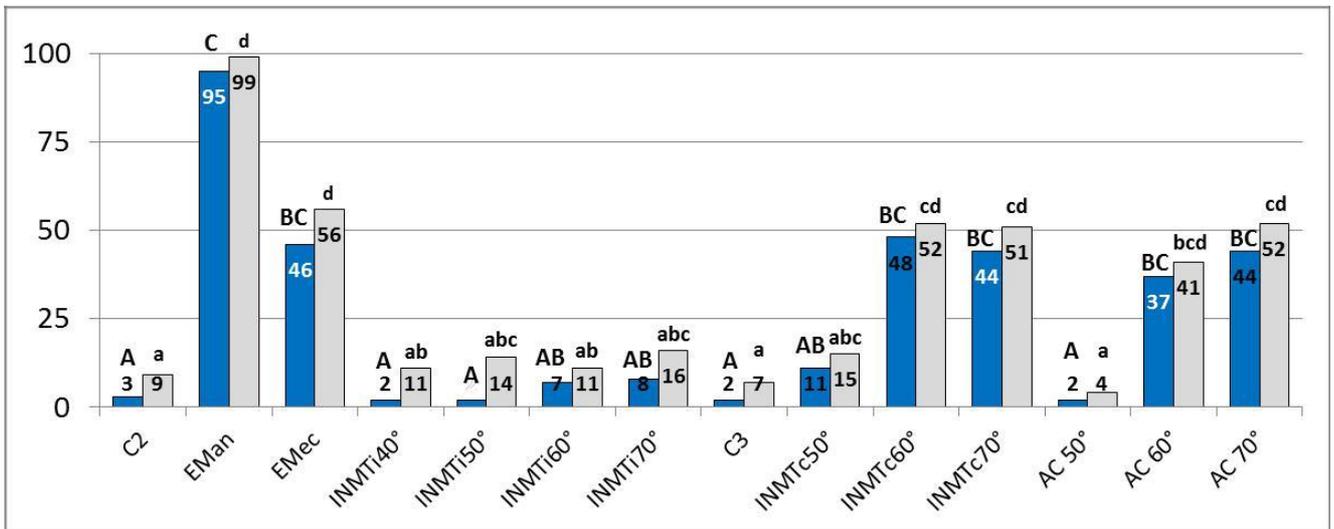


Figura 9. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia diversifolia* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para *Rhynchosia senna* se observó en el primer ensayo que tanto el tratamiento de EMan (87%) como el de INM Tc 70°C 30' (56%) registraron PG mayores que el control (24%) y a su vez fueron estadísticamente diferentes entre sí (Fig. 10). El PI fue menor en el control que en EMan, INM Tc 70°C 30' e INM 80°C 10' (Fig. 10). En el segundo ensayo, el PG y el PI de EMan y EMec fueron mayor que el PG y PI del control; los demás tratamientos no se diferenciaron entre sí (Fig. 11A).

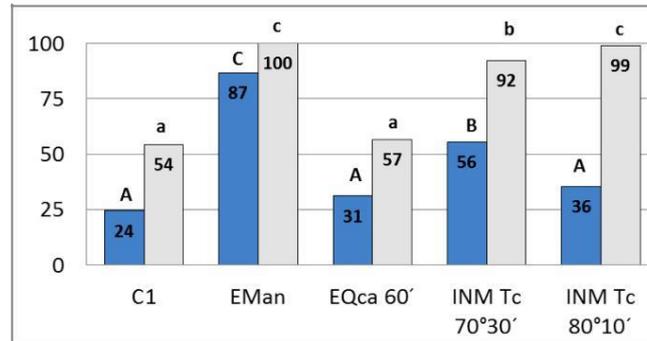


Figura 10. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia senna* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos: control del primer ensayo (C1), escarificación física manual (EMan), escarificación química (EQca) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (INM Tc). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

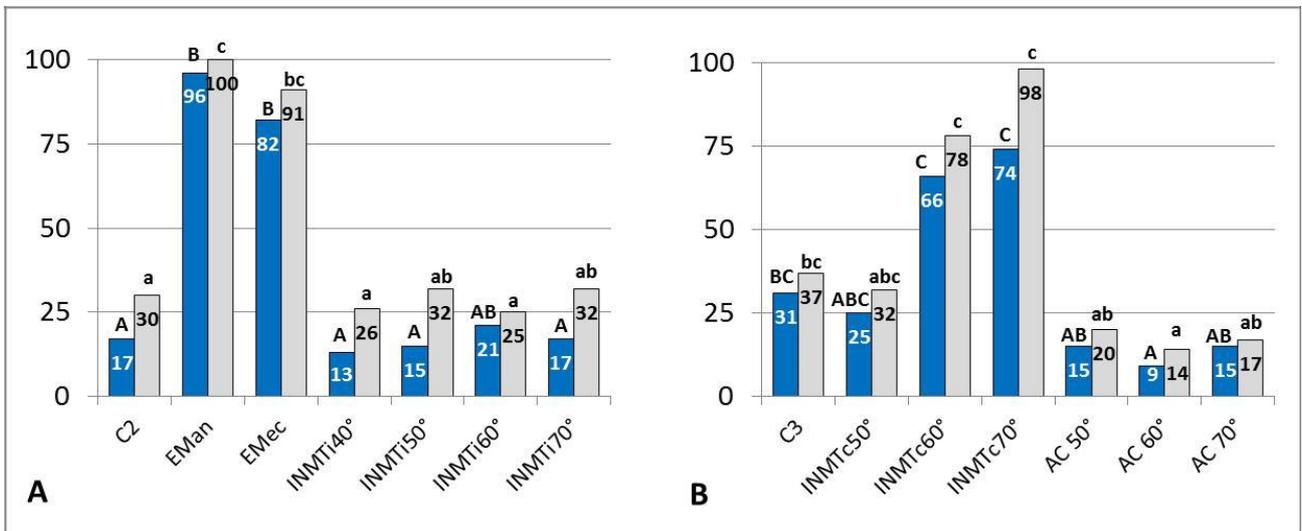


Figura 11. Porcentajes de germinación (barras azules, letras mayúsculas) e imbibición (barras grises, letras minúsculas) de las semillas de *Rhynchosia senna* expuestas a diferentes tratamientos pregerminativos en el segundo (A) y tercer (B) ensayos: control del segundo (C2) o tercer (C3) ensayo, escarificación física manual (EMan) o mecánica (EMec), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (INM Ti), con temperatura constante (INM Tc) o por exposición a aire caliente (AC). Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En el cuarto ensayo no se encontraron diferencias significativas entre lotes de *Lathyrus pubescens* de distinta procedencia (PG $p=0,49$; PI $p= 0,07$). Tampoco se encontraron diferencias según el color de las semillas en el PG ($p= 0,11$; $p=0,52$ y $p=0,71$) ni en el PI ($p= 0,60$; $p=0,40$ y $p=0,18$) para ninguno de los tres lotes evaluados. En cuanto a la madurez y rugosidad de la semilla, sólo se encontraron diferencias significativas en el PG en uno de los lotes (VVE I 12), donde las semillas arrugadas maduras tuvieron menor PG que las arrugadas verdes, lisas verdes y lisas maduras (Fig. 12).

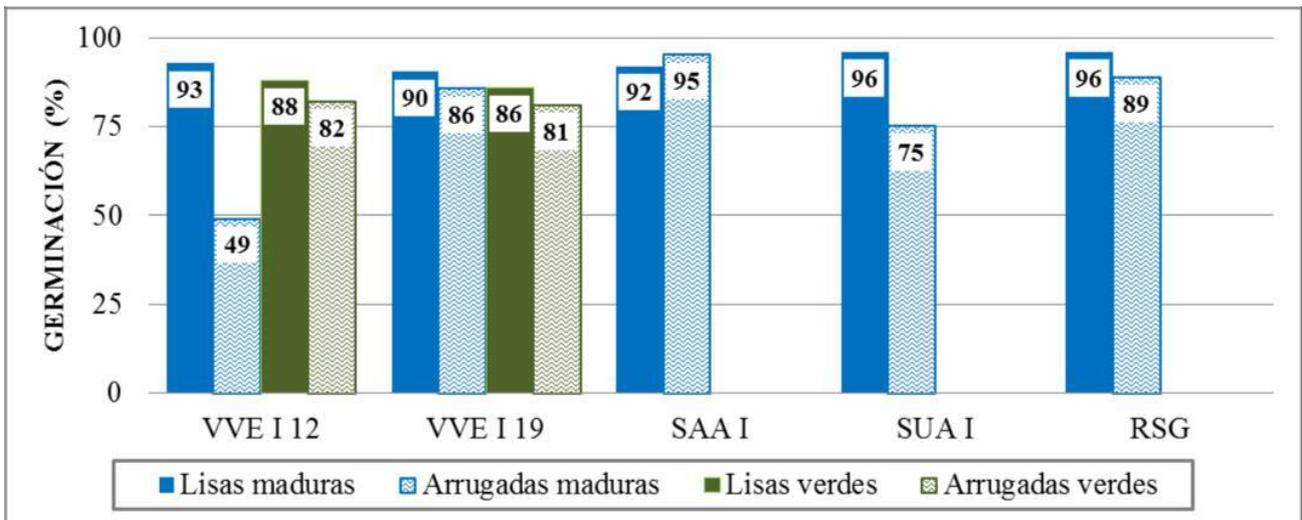


Figura 12. Porcentajes de germinación de las semillas de *Lathyrus pubescens* de distinta rugosidad y estado de madurez, en lotes de distinta procedencia o fecha de colecta. **VVE I 12:** Villa Ventana, partido de Tornquist, colectadas el 12/12/2015; **VVE I 19:** Villa Ventana, partido de Tornquist, colectadas el 19/12/2015; **SAA I:** campo cercano a la localidad de Dufaur, partido de Saavedra; **SUA I:** ruta provincial N° 76, partido de Suárez; **RSG:** Reserva Natural Sierras Grandes, partido de Tornquist. Para detalle de las coordenadas de cada sitio de colecta, ver Tabla 3.

DISCUSIÓN

Para *Adesmia filipes* los PG bajos observados en todos los tratamientos con PI relativamente altos (en especial los que estuvieron por encima de 90%) (Fig. 3), indican que, aunque se rompió la cubierta impermeable de la semilla, no se produjo la germinación. Las causas probables de esta situación son que las semillas tengan baja viabilidad o que tengan otro tipo de dormición además de la física (Fischer *et al.*, 2011). Para descartar lo primero habría que realizar pruebas de viabilidad y, de ser alta, realizar más experimentos para detectar qué tipo de dormición adicional tienen y cómo interrumpirla. Baskin *et al.* (2000) mencionan que las leguminosas presentan en algunas especies, dormición fisiológica además de física.

Los PG obtenidos para *A. incana* en los tratamientos de escarificación mecánica y control (Fig. 4 y 5) fueron similares a los reportados por Tedesco *et al.* (2001) para esta misma especie. En cambio, este autor, reportó PG mayores para tratamientos de inmersión, de 38% para el tratamiento de INM a 60°C por 5 minutos y 24% para el de INM a 70°C por 60 minutos (24%). Estas diferencias podrían atribuirse a la variabilidad natural de las poblaciones. El PI tendió a ser mayor cuando aumentó la temperatura en los tratamientos de INM, aunque esto no fue acompañado por un aumento proporcional de la germinación. Esto probablemente indica que, a pesar de que logró superarse la dormición seminal física, la germinación no se produjo porque el tratamiento fue excesivamente agresivo para el embrión (Franke y Baseggio, 1998). Para esta especie, las temperaturas más altas son más efectivas para romper la cubierta impermeable de la semilla pero podrían haberlo dañado, disminuyendo así el número de semillas que germinaron. Podrían ensayarse tiempos mayores de exposición a 50°C o 60°C a fin de intentar romper la dormición con temperaturas que no sean tan altas.

En *A. muricata*, como en *A. filipes*, sólo en el tratamiento EMAN el PG resultó significativamente mayor que en el control (Fig. 6). Sin embargo, en *A. muricata* los PI no fueron altos, por lo cual lo más probable es que no se haya logrado romper la dormición seminal y no que la viabilidad del lote de semillas sea baja. Este resultado coincide con lo reportado por Medeiros y Nabinger (1996), quienes registraron para *A. muricata* una dureza de semillas del 67% en semillas no sometidas a tratamientos pregerminativos y PG altos para los tratamientos de escarificación mecánica. Estos autores observaron una respuesta positiva en el PG de semillas tratadas con inmersión en agua caliente a 60°C por 5 minutos, a diferencia de lo registrado en este estudio.

Las tendencias observadas en otros estudios con especies de *Adesmia* también indican respuestas positivas a los tratamientos de escarificación física y respuestas variables frente a la inmersión en agua caliente. Montardo *et al.* (2000), trabajando con *A. araujoi* y *A. latifolia*, no encontraron diferencias entre los tratamientos de escarificación física e inmersión en agua caliente; mientras que en *A. psoraleoides*, *A. tristis* y *A. punctata* el tratamiento pregerminativo más eficiente fue la escarificación física. Por lo tanto, los autores sugieren que la escarificación física es eficaz y necesaria para la superación de la dormición en semillas de cuatro especies de *Adesmia* y que la escarificación térmica debería ser estudiada nuevamente. Parera y Ruiz (2003) registraron diferencias significativas entre el PG de semillas de *A. subterranea* expuestas a tratamientos de escarificación física y química, así como en semillas no tratadas.

Para otras especies de *Adesmia*, en cambio, no se encontraron diferencias entre el control y los tratamientos pregerminativos. Para *A. emarginata* se reportó que ni los tratamientos de escarificación mecánica ni los de inmersión en agua caliente aumentaron el PG (Fischer *et al.*, 2009). Tanto esta especie como *A. filipes*, evaluada en este estudio, podrían ser especies con semillas de baja viabilidad o, como sugieren Fischer *et al.* (2011), con otros tipos de dormición seminal. Contrariamente, Mersey *et al.* (2015) reportaron que las semillas de *A. erinacea* mostraron los mayores PG cuando no fueron expuestas a ningún tratamiento pregerminativo.

Aunque en *Lathyrus nervosus* no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el PG entre los tratamientos pregerminativos y el control, resulta evidente que los tratamientos de EMan y EMec produjeron un aumento importante en el PG de esta especie (Fig. 7). Franke y Baseggio (1998) tampoco detectaron incrementos significativos en el PG de las semillas de *L. nervosus* entre el control y los tratamientos aplicados. Los autores atribuyen la falta de respuesta a la escarificación física mecánica a que el tiempo de fricción sólo fue de 3 segundos, a que el volumen de semillas dentro de la escarificadora fue reducido debido a lo cual las mismas podrían haber sido dañadas o a que la constitución del tegumento seminal de esta especie podría ser más delicado requiriendo, por lo tanto, un tiempo de fricción menor.

Franke y Baseggio (1998) tampoco hallaron aumentos en el PG de las semillas de *L. nervosus* cuando fueron expuestas a tratamientos de inmersión en agua caliente y aire seco caliente. No obstante, el tratamiento de inmersión en agua caliente redujo a la mitad el número de semillas dormantes. A pesar de que este resultado difiere del hallado en el presente estudio (ninguno de los tratamientos de inmersión produjo un aumento en el PI, es decir, una reducción en el número de semillas dormantes), la recomendación resultante es similar: se necesitarían mayores temperaturas (> 70°C) o tiempos de inmersión (> 5 minutos) para romper la dormición de las semillas de esta especie. Es probable que las temperaturas o los tiempos de exposición utilizados en ambos estudios no hayan sido suficientes para romper la cubierta seminal. Es importante destacar, por último, que estos autores también lograron promover la germinación mediante la escarificación química con ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos.

Para *L. pubescens*, en cambio, los tratamientos de EMan, EMec, INM Ti 50°C, INM Ti 60°C y AC 60°C favorecieron la germinación. En estudios posteriores podrían evaluarse otras combinaciones de temperatura y tiempo de AC e INM para optimizar la germinación. Por otro lado, al igual que en *L. nervosus*, los PI fueron apenas superiores a los PG, lo cual indica que la viabilidad del lote de

semillas utilizado era notablemente alta: prácticamente todas las semillas embebidas (sin dormición) germinaron. La excepción a esto es el resultado obtenido en el tratamiento de INM Tc 70°C, donde la temperatura parece haber sido muy alta ya que aunque el PI fue alto, el PG resultó menor que en los demás tratamientos.

En general, el PG en los lotes de semillas de distintas procedencias, colores, estados de madurez y rugosidad fue alto y no mostró diferencias significativas entre procedencias, colores o estados. El único lote de semillas con PG menor fue uno con semillas arrugadas provenientes de vainas maduras. Dado que esta tendencia no se repitió en los otros lotes, y considerando que las semillas arrugadas maduras de ese lote presentaron una incidencia de hongos mayor que las demás categorías durante el ensayo, habría que repetir la experiencia para constatar que esto no es un caso excepcional inducido por una situación puntual. Sin embargo, también es posible que el grado de rugosidad modifique la capacidad de germinar de las semillas y para descartar o corroborar esta posibilidad es necesario realizar más estudios con un número muestral mayor.

Para la especie *Rhynchosia diversifolia*, los PI fueron levemente mayores que los PG en todos los casos, lo cual indicaría una alta viabilidad de las semillas ya que el porcentaje de germinación es alto una vez que los tratamientos pregerminativos logran romper la dormancia (Fig. 9). Por otro lado, se observó que los tratamientos más efectivos para aumentar el PG y el PI fueron EMan, EMec y los tratamientos de exposición a temperaturas constantes moderadas, independientemente de si se aplicaron mediante agua o aire caliente. Es probable, sin embargo, que la exposición sostenida a temperaturas mayores a 70°C sea perjudicial para el embrión: el tratamiento de INM 80°C 10' aplicado en el primer ensayo produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición de la mayoría de las semillas, pero solo el 52% de estas semillas embebidas germinaron. El tratamiento de EMan también produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición de la mayoría de las semillas, pero germinaron el 83% de las semillas embebidas. Dado que en el primer tratamiento hay muchas semillas embebidas que no germinaron, es probable que los tratamientos con temperaturas sostenidas superiores a 70°C resulten perjudiciales para el embrión (Franke y Baseggio, 1998). También en este caso resultaría necesario ensayar otros tiempos y temperaturas de inmersión para optimizar la germinación.

Es importante destacar que *R. diversifolia* y *R. senna* no se comportaron de la misma forma frente a la escarificación térmica aplicada por tratamientos de inmersión y tratamientos con aire caliente. Para *R. diversifolia* ambos tipos de escarificación térmica fueron efectivos para romper la

dormición de la semilla y promover la germinación, mientras que para *R. senna* solo fue efectiva la escarificación térmica por inmersión (Fig. 9 y 10B). Esto podría deberse a diferencias en las estructuras de las semillas que intervienen en la mantención de la dormición física, que son variables para distintas especies de plantas (Baskin *et al.*, 2000).

Aunque en la bibliografía no hay datos sobre germinación de *R. diversifolia* ni *R. senna*, sí existen reportes sobre las especies relacionadas *R. capitata* y *R. minima*. Dado que estas dos especies tienen características biológicas, morfológicas y ecológicas en común con *R. diversifolia* y, especialmente, con *R. senna*, la comparación entre estas cuatro especies tiene una validez mayor. Trabajando con *R. capitata*, Alí *et al.* (2013) obtuvieron los mejores PG mediante la escarificación física con lija y escarificación química con H₂SO₄ durante 60 a 80 min, seguidos por la escarificación química con ácido clorhídrico durante 15 horas, lo cual coincide solo parcialmente con lo encontrado en este estudio.

Madueño-Molina *et al.* (2006) también observaron una respuesta positiva a la escarificación química en *R. minima*, utilizando H₂SO₄ durante 30 a 60 min. Obtuvieron resultados similares al aplicar calor seco (70°C) durante 5 horas, de lo cual se deduce que tal vez el problema de los tratamientos de escarificación térmica por exposición a aire caliente aplicados en este estudio sea un tiempo insuficiente de exposición, ya que solo se mantuvieron en estufa por una hora. A diferencia de los demás trabajos consultados, estos autores no testearon la escarificación física con lija. Finalmente, para esta misma especie, Shaukat y Burhan (2000) encontraron que la escarificación física con lija fue más efectiva que la escarificación química con ácido clorhídrico. La inmersión en agua caliente (100°C) y el calor seco (50°C y 70°C) dieron resultados similares a las del ácido clorhídrico. Según estos autores, en condiciones de campo, el calor seco del verano aparentemente rompería la dormición seminal.

CONCLUSIÓN

Las respuestas a los tratamientos pregerminativos fueron muy variables según las especies. Para todas las especies, salvo para Af, EMan logró PG relativamente altos (mayores al 50%) que podrían permitir su cultivo en proyectos de enriquecimiento de pastizales. Sin embargo, este tratamiento, que implica el lijado manual de cada semilla, sólo sería aplicable a escala experimental. El tratamiento de EMec tuvo resultados similares aunque algo menores, pero tiene la ventaja de

permitir el procesamiento de un número de semillas mayor en menor tiempo. A pesar de esto, el EMec no puede ser aplicado de manera uniforme sobre todo el lote de semillas y no es replicable con exactitud, por lo que es deseable encontrar otros tratamientos más homogéneos o mejorar la técnica de escarificación mecánica.

Los resultados obtenidos muestran la necesidad de aplicar tratamientos pregerminativos a las semillas de *Adesmia filipes*, *A. incana*, *A. muricata*, *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna*, ya que todas ellas presentan un 45% o más de semillas dormantes. La especie con mayor porcentaje de semillas dormantes fue *R. diversifolia* y las que tienen menor, fueron las dos especies de *Lathyrus*. El tratamiento que fue en general más efectivo para lograr la ruptura de la cubierta seminal fue EMan, seguido por EMec.

No se encontró un tratamiento pregerminativo aplicable a una escala distinta de la experimental para *A. filipes* (PG máximo: 17%) y *A. muricata* (PG máximo: 51%). Posiblemente para *A. muricata* las temperaturas o tiempos de exposición fueron insuficientes o el tipo de escarificación, inapropiado. Para *A. incana* y *L. nervosus* podría ponerse a punto el tratamiento de EMec que, aunque no produce un efecto homogéneo sobre todas las semillas tratadas, fue el único, además de la EMan, con el que se lograron PG relativamente altos (70% y 73%, respectivamente). Para *L. pubescens*, *R. diversifolia* y *R. senna* también podría ajustarse la EMec (PG de 80%, 48% y 82%, respectivamente), aunque para estas especies se encontraron también tratamientos pregerminativos efectivos, más homogéneos y aplicables a escala comercial.

Para *L. pubescens* se sugieren los tratamientos INM Ti 60°C o 70°C, y el de AC 60°C, aunque en este último caso se debería ajustar el tiempo de exposición para optimizar los resultados. Para *R. diversifolia* resultarían efectivos los tratamientos de INM y AC con temperatura de 60°C o 70°C por una hora o aún más. Para *R. senna* no deberían utilizarse los tratamientos de AC porque reducen tanto el PG como el PI, mientras que los tratamientos de INM constante a 60°C o 70°C por una hora serían los más efectivos. Los PG aproximados que se esperaría obtener aplicando estos tratamientos son de 70% para *L. pubescens* y *R. senna* y 40% para *R. diversifolia*. Deberían probarse más combinaciones de inmersión a temperaturas constantes para optimizar la germinación de *A. incana* y las dos especies de *Lathyrus* y *Rhynchosia*, y de aire caliente para *L. pubescens* y *R. diversifolia*.

Con respecto a las diferencias de procedencia, color, madurez y rugosidad de las semillas de *L. pubescens*, ninguna de estas variables parece resultar determinante en su PG, aunque es necesario realizar ensayos más extensos para corroborarlo.

CAPÍTULO 3

Fijación biológica de nitrógeno en *Lathyrus pubescens*

MARCO TEÓRICO

El nitrógeno es, después de la temperatura y del agua, el principal factor limitante de la producción vegetal en la mayoría de los ecosistemas naturales (Vitousek *et al.*, 1997; Graham y Vance, 2003). A partir del aumento de la superficie cultivada con especies fijadoras de nitrógeno, pero principalmente desde la creación y difusión comercial de fertilizantes nitrogenados, a partir del proceso industrial de síntesis de amoníaco de Haber-Bosch en 1910, la cantidad de nitrógeno que ingresa a la biosfera se ha visto dramáticamente incrementada (Vitousek *et al.*, 1997). Solo desde 1970, la fabricación de nitrógeno reactivo ha crecido en un 120% (Galloway *et al.*, 2008). Sin embargo, su distribución en el mundo es desigual: hay exceso de alimentos y prevalencia de dietas no saludables en los países más desarrollados y en los menos desarrollados, el nitrógeno disponible no es suficiente para generar alimentos que satisfagan las demandas alimentarias de la población (Sánchez y Swaminathan, 2005). Por otro lado, la producción de fertilizantes nitrogenados de síntesis química depende de recursos no renovables como gas, petróleo y otros derivados de la industria petroquímica y, tanto su proceso de producción como su deposición, genera daños significativos a la salud humana y ecosistémica (Erisman *et al.*, 2013; Townsend *et al.*, 2003).

A pesar de que en el ciclo global del nitrógeno hay un ingreso excesivo a los sistemas terrestres, existen zonas que sufren déficit, por lo que debe favorecerse la incorporación de nitrógeno minimizando el impacto ambiental (Galloway *et al.*, 2008). En sistemas agropecuarios el mantenimiento del nitrógeno en el sistema depende de la incorporación continua de este nutriente, ya que la extracción permanente de una parte de la producción (cultivos de cosecha, ganado, fibras o leña), va reduciendo la cantidad disponible en el suelo. Esta situación se ve agravada por el hecho que el nitrógeno es un elemento muy móvil que se pierde fácilmente por volatilización, lixiviación o erosión (Lambers *et al.*, 2008). Los dos medios por los que se puede devolver el nitrógeno a sistemas de mediana o gran escala son el agregado de fertilizantes nitrogenados de síntesis química o la incorporación de nitrógeno atmosférico por medio del proceso de fijación biológica de nitrógeno (Herridge *et al.*, 2008).

La utilización de fertilizantes de síntesis química no es sostenible desde varios puntos de vista. Por un lado, la fracción del fertilizante aportado al sistema agropecuario que no es asimilado por el mismo se distribuye a través de los distintos componentes del ecosistema, desencadenando lo que se conoce como *cascada del nitrógeno*: se lixivia hacia napas freáticas o se escurre superficialmente, contaminando aguas superficiales y subterráneas, generando problemas en la salud pública y ecosistémica, al favorecer la eutrofización en ríos, lagos y océanos (Erisman *et al.*, 2013). Además, los fertilizantes nitrogenados han sido identificados como el principal contribuyente a las emisiones de gases de efecto invernadero dentro de la actividad agrícola industrial contribuyendo al cambio climático y al calentamiento global (Snyder *et al.*, 2009b).

Por otro lado, la fertilización en pulsos genera un desequilibrio ecológico en los sistemas agropecuarios que favorece a las poblaciones de malezas y a los insectos plaga y genera desequilibrios en la microflora del suelo (Altieri y Nicholls, 2003; Sarandón y Flores, 2014). Por último, los fertilizantes son insumos con costos elevados que no pueden ser afrontados por gran número de pequeños o medianos agricultores (Graham y Vance, 2003). Como resultado, los suelos que no reciben nitrógeno por medio de fertilizantes ni mediante procesos naturales van perdiendo fertilidad y los productores quedan excluidos del sistema, lo cual genera un problema económico y social importante para las regiones afectadas (Krüger *et al.*, 2013).

La fijación biológica de nitrógeno (FBN), en cambio, es un proceso sostenible de gran importancia agronómica, económica y medioambiental ya que reduce la dependencia de insumos y, por ende, el impacto ambiental y social negativo de las actividades agropecuarias (Lambers *et al.*, 2008). Es el proceso ecológico más importante de los ecosistemas terrestres luego de la fotosíntesis (Lindström *et al.*, 2010) y consiste en la reducción del nitrógeno no reactivo del aire a amoníaco disponible para las plantas. Tiene la capacidad, además, de funcionar como un proceso autorregulado por retroalimentación positiva: la FBN se ve favorecida cuando las concentraciones de nitrógeno en el suelo son bajas, pero reducida cuando el nitrógeno es abundante, lo cual aumenta la eficiencia de uso y reduce las pérdidas de nitrógeno respecto a la fertilización nitrogenada (Phelan *et al.*, 2015). Los agentes fijadores de nitrógeno atmosférico más importantes en estos sistemas son las asociaciones simbióticas entre leguminosas y rizobios (Herridge *et al.*, 2008).

Dada la alta demanda actual de nitrógeno en los sistemas agropecuarios, es indispensable una fuerte inversión en investigación básica y aplicada para que la FBN de la simbiosis rizobio-leguminosa llegue a ser un reemplazo posible y eficiente de los fertilizantes nitrogenados de síntesis química

(Herridge *et al.*, 2008). El desarrollo de sistemas agropecuarios sustentables requiere de un conocimiento más preciso del manejo de las leguminosas fijadoras y las cantidades de nitrógeno fijadas, para decidir sobre el suelo y las prácticas productivas teniendo en cuenta este aporte (Peoples *et al.*, 1989).

Históricamente la mayoría de las investigaciones ha estado dirigida a leguminosas de clima templado y, en menor medida, tropical. Las leguminosas de climas áridos resistentes a heladas han recibido menos atención, a pesar de que en estas condiciones las especies tradicionalmente utilizadas fallan por no poder establecerse o persistir (Muir *et al.*, 2011). En la actualidad, en países como Brasil, Uruguay, Argentina, Estados Unidos y Australia, se están investigando especies nativas forrajeras y fijadoras de nitrógeno, que están adaptadas a condiciones ambientales adversas, con la intención de introducirlas como cultivos alternativos, aunque todavía se conoce poco acerca de las leguminosas nativas del centro de Argentina. Las especies más estudiadas en estos países pertenecen a los géneros *Trifolium*, *Adesmia*, *Desmodium*, *Lotus*, *Centrosema* y *Desmanthus* (Basconsuelo *et al.*, 2013). Su incorporación a los agroecosistemas promovería sistemas agropecuarios menos dependientes de insumos y más resilientes.

Para incorporar leguminosas nativas a los sistemas productivos, además de caracterizar biológica y agronómicamente a las especies (Scheffer-Basso *et al.*, 2001a), es necesario estudiar sus simbiontes, especialmente en relación a su capacidad de nodulación y fijación. Asimismo, en estudios más detallados, deberá investigarse su abundancia en el suelo, identidad, especificidad con los hospedadores potenciales y eficiencia de nodulación (Lindström *et al.*, 2010). La capacidad de fijación biológica de nitrógeno puede evaluarse mediante diferentes metodologías de laboratorio o a campo. En general existen cinco metodologías básicas mediante las cuales se puede estimar, que son la reducción de acetileno, el balance de nitrógeno total, el método de la diferencia de nitrógeno, la cuantificación de ureidos y las técnicas de isotopía con ^{15}N , por aplicación de fertilizantes enriquecidos con ^{15}N o por cuantificación de la abundancia natural de ^{15}N (Herridge *et al.*, 2008; Unkovich *et al.*, 2008).

Entre las técnicas utilizadas para estudios iniciales de FBN en especies que aún no han sido estudiadas en este sentido, está el cultivo en vasos de Leonard (Scheffer-Basso *et al.*, 2001b), donde se aplica la metodología de balance total de nitrógeno. Mediante este estudio, según Norris y Date (1976), puede realizarse una selección preliminar de especies vegetales y cepas de rizobio, que luego deben testarse a campo. Las mayores ventajas de este experimento son su simplicidad, su

bajo costo y el origen inequívoco del nitrógeno, ya que la única fuente de nitrógeno de las plantas inoculadas es el aire y por ende el nitrógeno que la planta tenga en sus tejidos tiene que haber sido fijado necesariamente por medio de la simbiosis rizobio-leguminosa. El objetivo de esta parte del estudio fue estimar la eficiencia de fijación de nitrógeno atmosférico de las especies de leguminosas herbáceas nativas *Adesmia incana* y *Lathyrus pubescens* mediante su cultivo en vasos de Leonard.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aislar cepas nodulantes de rizobios a partir de nódulos colectados a campo de las especies *Adesmia incana* y *Lathyrus pubescens*.
2. Cuantificar la capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico de *Adesmia incana* y *Lathyrus pubescens* como una de las características relevantes para evaluar su potencial para la restauración productiva de pastizales naturales.

HIPÓTESIS

H1: las leguminosas nativas *Adesmia incana* y *Lathyrus pubescens* tienen nódulos activos a partir de los cuales pueden aislarse cepas de rizobio nodulantes.

Predicción 1: siguiendo métodos clásicos de rizobiología se obtendrán aislamientos de rizobios a partir de nódulos de *A. incana* y *L. pubescens* colectados a campo, que luego nodularán exitosamente plántulas de las especies de las que fueron aislados.

H2: las plantas requieren de nitrógeno para vivir. Aunque en general toman nitrógeno mineral del suelo, las plantas con simbiosis efectivas con rizobios tienen al nitrógeno atmosférico como fuente adicional, por lo que pueden crecer y desarrollarse en ausencia total de nitrógeno mineral.

Predicción 2: las plantas con acceso a nitrógeno mineral y las inoculadas sin acceso a nitrógeno mineral tendrán contenidos finales de nitrógeno y biomasa significativamente mayores al testigo sin fuente de nitrógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de cepas nativas de rizobios

Se siguieron en términos generales los métodos tradicionalmente utilizados en rizobiología detallados en Vincent (1982) y en el Manual Técnico de la Fijación Simbiótica del Nitrógeno Leguminosa/*Rhizobium* (FAO, 1995). Se aislaron cepas a partir de nódulos de *A. incana* y *L. pubescens* colectados a campo. Las raíces recién recolectadas con los nódulos adheridos se lavaron exhaustivamente y luego se desinfectaron con una solución de etanol al 70% o de hipoclorito de sodio al 5% por tiempos breves (de 1 a 5 minutos según el tamaño del nódulo). A partir de este momento, toda la manipulación se realizó en flujo laminar, con material estéril y con los cuidados necesarios para no contaminarlo. Después de lavar cada nódulo 4 o 5 veces con agua destilada estéril, se lo trituró y el jugo se sembró en cajas de Petri con el medio de cultivo específico para rizobios extracto de Levadura-Manitol-Agar (LMA).

Las cajas sembradas se incubaron a 28°C por uno o dos días, hasta que se observaron colonias con la morfología típica de rizobios: traslúcidas o lechosas, brillantes, semejantes a gotas de agua. Estas colonias se repicaron a otras cajas de Petri con LMA hasta lograr colonias completamente aisladas por medio de la técnica de aislamiento por estrías (Fig. 13A). Finalmente, las colonias aisladas se repicaron a un tubo de ensayo con medio LMA inclinado y se mantuvieron en heladera hasta su uso para las pruebas de nodulación y la preparación de los inoculantes (Fig. 13B).

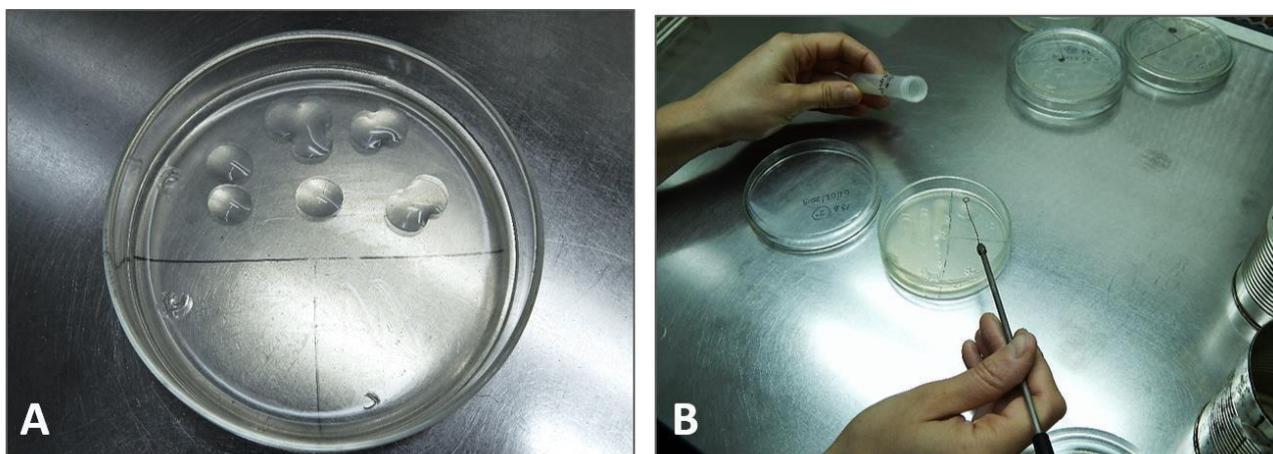


Figura 13. Obtención de rizobios por medio de la técnica de aislamiento por estrías. A) Colonias típicas aisladas, traslúcidas, brillantes y semejantes a gotas de agua. B) Repique de colonias a tubos de ensayo con medio de cultivo LMA inclinado para conservación de los aislamientos.

Para probar que los aislamientos efectivamente fueran rizobios, se realizaron pruebas de nodulación sobre semillas o plántulas de la misma especie de la que se obtuvo el aislamiento. Se inocularon plantas de *A. incana* obtenidas vegetativamente a partir de estacas y sembradas sobre un sustrato inerte, utilizando tres plantas para cada aislamiento. Se registró la formación de nódulos 29 días después de la inoculación. Por otro lado, se inocularon plántulas de *A. incana* y *L. pubescens* obtenidas de semillas y mantenidas en tubos de ensayos con solución nutritiva libre de nitrógeno. En este caso se utilizaron cinco plantas para cada aislamiento y se testearon seis aislamientos para *A. incana* y cuatro para *L. pubescens*. La formación de nódulos se registró 37 días después de la inoculación. Los aislamientos nodulantes se mantuvieron en heladera para la preparación de inoculantes que se utilizaron luego en los ensayos de FBN.

Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno

El ensayo se realizó con *A. incana* y *L. pubescens*, las dos especies de las cuáles se disponían de semillas y cepas de rizobio nodulantes, pero dado que la nodulación de *A. incana* en el ensayo de FBN no fue exitosa, sólo se pudo obtener información de *L. pubescens*. Los materiales, métodos y resultados presentados corresponden a esta especie.

Las semillas utilizadas se colectaron en diciembre de 2015, en el sitio VVE I (38° 3'55.86"S; 61°53'19.96"O, ver Tabla 3) y el ensayo comenzó en marzo de 2016. Antes de la siembra, las semillas se desinfectaron sumergiéndolas en alcohol 96% durante 10 segundos y luego en hipoclorito de sodio 2% durante 5 minutos, enjuagándolas inmediatamente después con agua destilada, desionizada y estéril seis veces (Scheffer-Basso *et al.*, 2001b). Luego, se aplicó el tratamiento pregerminativo que había resultado más eficaz según los ensayos detallados en el capítulo 2 (inmersión en agua caliente a temperatura inicial de 70°C, remojo por 48 horas). Finalmente, las semillas esterilizadas se cultivaron en medio inerte, depositándolas en vasos de Leonard modificados con un sustrato de vermiculita (Silva Santos *et al.*, 2009) (Fig. 14). Se usaron 84 vasos y se colocaron seis semillas por vaso. Después de treinta y cuatro días de la siembra (26/04/2016), se quitaron las plántulas más débiles de cada maceta dejando en cada vaso sólo las dos de mejor crecimiento.

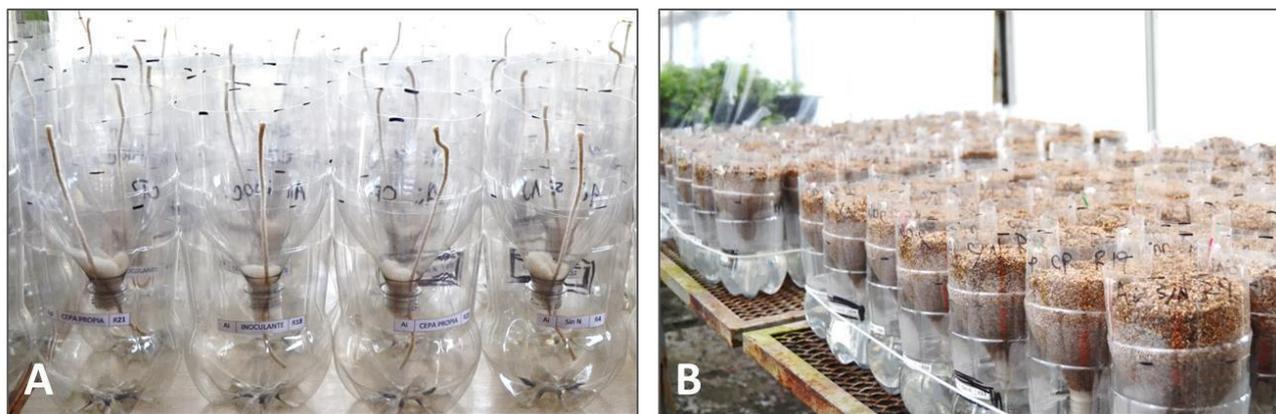


Figura 14. Vasos de Leonard modificados, utilizados para el ensayo de cuantificación de FBN. Se pueden ver los recipientes **A)** vacíos, con el sistema de conducción de la solución nutritiva a la vista y **B)** con vermiculita en el compartimento superior y solución nutritiva en el inferior.

Se establecieron cuatro tratamientos con 24 repeticiones cada uno, excepto el tratamiento control que tuvo 12 repeticiones. Los tratamientos fueron riego con solución nutritiva con ausencia total de nitrógeno (sin nitrógeno o SN), con solución nutritiva completa que incluía nitrógeno mineral (con nitrógeno o CN), con solución nutritiva con ausencia de nitrógeno pero inoculadas con rizobios de aislamiento propio (inoculante propio o IP) y con solución nutritiva con ausencia de nitrógeno pero inoculadas con inoculante comercial de *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae* (inoculante comercial o IC). El inoculante comercial utilizado fue reportado como nodulante de algunas especies de *Lathyrus* (Amarger, 2001) y se preparó según las indicaciones propuestas por el fabricante (INOCULAR SA).

La inoculación inicial se realizó el 23/03/2016 (día 0) repitiéndose 9, 20 y 30 días después de realizada la inoculación inicial. En cada inoculación se aplicaron 5 ml de inóculo por vaso de Leonard. Las plantas del tratamiento con N-mineral (CN) fueron regadas con una solución nutritiva completa de Hoagland (Hoagland y Arnon, 1938) según la fórmula de *The Royal Society of Chemistry* (RSC, 2017). Las plantas de los tratamientos control (SN) e inoculadas (IP y IC) se regaron con solución de Hoagland modificada libre de nitrógeno. Inicialmente se aplicaron 1250 ml por vaso de Leonard y luego se fue completando la solución a medida que iba siendo consumida, de manera tal que todas las plantas tuvieran solución suficiente. El día 21/04/2016 se fumigaron las macetas con un fungicida comercial para evitar el *dumping off* ya que se observó desarrollo de hongos sobre la vermiculita.

Según el plan de trabajo original, 12 de las 24 repeticiones se cosecharon 5 meses después de iniciado el ensayo y las 12 restantes a los 10 meses de comenzado el mismo, para obtener plantas en

estado vegetativo y reproductivo. Sin embargo, en las condiciones de cultivo del ensayo las plantas no florecieron, con lo cual todas las plantas se cosecharon en estado vegetativo. Se registró el número, el color, la localización de los nódulos y el número de nódulos activos totales por planta de los tratamientos con inoculante (IP e IC). Los nódulos viables se identificaron visualmente por la presencia de coloración marrón, rosada o rojiza según Weaver y Frederick (1982). Los nódulos con actividad de fijación de nitrógeno exhiben esta coloración debido a la presencia de los iones de hierro y molibdeno en la leghemoglobina, la enzima que interviene en el metabolismo del oxígeno dentro de los nódulos (Madigan *et al.*, 1999).

Luego las plantas fueron llevadas a estufa (60°C) hasta peso constante y posteriormente se registró el peso seco de la biomasa aérea y de las raíces de todas las plantas cosechadas. Además, en la primera cosecha se tomaron muestras de la biomasa aérea de las plantas no cosechadas para analizar su contenido de nitrógeno total; las muestras fueron molidas y enviadas a analizar para determinar el contenido de nitrógeno total, usando el método de semi-micro Kjeldahl (SMK) (Bremner y Mulvaney, 1982) al Laboratorio de Servicios Analíticos de Suelos, Plantas y Ambiente (LABSPA, CERZOS-CONICET-UNS). Un duplicado de las muestras fue enviado al Laboratorio de Suelos del *AgriLife Research and Extension Center (Texas A&M University, Stephenville, Texas, Estados Unidos)* para ser analizado usando el método de combustión seca (MCS) (Burt, 2004), utilizando el equipamiento *Elementar Vario Macro C&N analyzer (Elementar Americas, Inc., Mt. Laurel, NJ, EEUU)*.

El análisis de la información referida a la nodulación de los tratamientos IP e IC es descriptivo. La efectividad de la fijación biológica de nitrógeno para el tratamiento IP se calculó según la fórmula de Gibson (1980):

$$\text{Ef. FBN (\%)} = \frac{(\text{MSR simbiótica} + \text{MSPA simbiótica}) * 100}{(\text{MSR N mineral} + \text{MSPA N mineral})}$$

Donde **Ef. FBN** es la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno atmosférico, **MSR simbiótica** es la materia seca de la raíz del tratamiento IP, **MSPA simbiótica** es la materia seca de la biomasa aérea del tratamiento IP, **MSR N mineral** es la materia seca de la biomasa de la raíz del tratamiento CN y **MSPA N mineral** es la materia seca de la biomasa aérea del tratamiento CN.

El ensayo se llevó a cabo utilizando un diseño completamente aleatorizado; el análisis estadístico se realizó utilizando INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016) y la decisión de aceptación o rechazo se

tomó en todos los casos al 5%. La comparación de medias de la biomasa aérea y de la raíz se realizó empleando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ya que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad y homoscedasticidad. La comparación de medias de la relación entre la biomasa aérea y la biomasa de la raíz se realizó mediante un ANOVA de una vía. Para comparar las medias del contenido de nitrógeno total se utilizó un ANOVA de una vía previa transformación (arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción) para los resultados de SMK y sin transformar para aquellos del MCS. Para el análisis de nitrógeno total no se incluyeron los tratamientos SN e IC ya que la cantidad de material disponible por réplica era pequeña y fue necesario armar muestras compuestas para reunir la cantidad mínima necesaria para el análisis, con lo cual el número de muestras final para estos dos tratamientos no fue suficiente para el análisis estadístico.

RESULTADOS

Obtención de cepas nativas de rizobios

A partir de los nódulos recolectados se obtuvieron 19 aislamientos para *A. incana* y 7 para *L. pubescens*. En las pruebas de nodulación (Fig. 15A) se obtuvieron nódulos a partir de 6 aislamientos de *A. incana* probados sobre esquejes y de 2 de *L. pubescens* probados sobre semillas. Las plantas de *A. incana* no nodularon en los tubos de ensayo cuando estuvieron sumergidas en solución nutritiva; las cepas que produjeron nódulos fueron las testeadas sobre estacas de *A. incana* y semillas de *L. pubescens* (Fig. 15B).

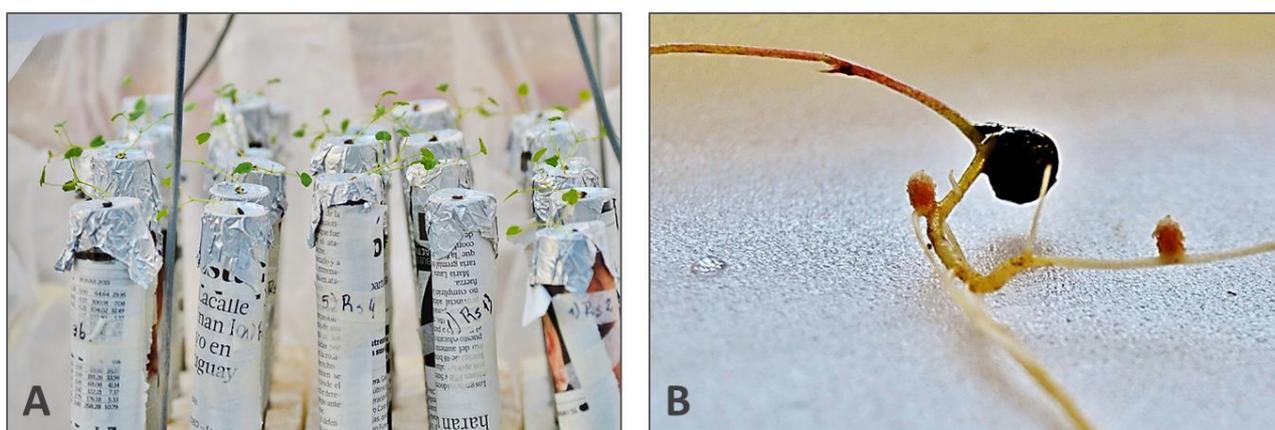


Figura 15. Pruebas de nodulación. **A)** Tubos empleados para la prueba, con plántulas creciendo en medio de cultivo líquido e inoculadas con cepas aisladas a partir de nódulos de la misma especie. **B)** Raíces de *Lathyrus pubescens* con nódulos producidos por una de las cepas de rizobios obtenidas.

Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno

En la primera fecha de cosecha, se obtuvieron 11 plantas del tratamiento CN, 12 del IP, 6 del SN y 11 del IC. En la segunda fecha todas las plantas correspondientes a los tratamientos SN e IC habían muerto debido probablemente a la deficiencia de nitrógeno causada por el tratamiento (las plantas del tratamiento IC no produjeron nódulos funcionales). En la segunda fecha se cosechó una única planta sobreviviente del tratamiento CN y 7 del tratamiento IP. En la tabla 6 se detalla el número de muestras por tratamiento y técnica de análisis (SMK o MCS) para las variables contenido de nitrógeno total de la parte aérea y contenido de nitrógeno total de las raíces.

Nodulación

Los nódulos de *L. pubescens* fueron de tipo indeterminado: elongados, con meristema persistente que permanentemente genera células nuevas que son posteriormente infectadas por los rizobios que residen en el nódulo, resultando en un gradiente de estadios de desarrollo dentro del mismo nódulo. Los nódulos producidos por el inoculante elaborado a partir de aislamientos propios (tratamiento IP) fueron inicialmente hemisféricos y luego se elongaron y ramificaron, llegando a tener forma similar a la de pequeños corales, con hasta 5 lóbulos o ramificaciones por nódulo. Los nódulos activos mostraron en general dos regiones con coloración distinta, una distal blanca (la parte apical que es más joven y sigue creciendo, sin actividad de fijación todavía) y una proximal color rosada o rojiza (zona de más edad, ya infectada por rizobios y con actividad de fijación) (Fig. 16A). Los nódulos producidos por el inoculante comercial (tratamiento IC), en cambio, fueron pequeños, no ramificados y con coloración blanca, grisácea o negruzca en todos los casos (Fig. 16B).



Figura 16. Raíces noduladas de *Lathyrus pubescens* pertenecientes a distintos tratamientos del ensayo de cuantificación de FBN. **A)** Nódulos activos de plantas inoculadas con cepas de aislamiento propio (nótese la coloración rosada de los nódulos). **B)** Nódulos no funcionales provocados por el inóculo comercial correspondiente a *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae* (nótese el número mucho mayor de nódulos, el tamaño menor y la coloración negruzca).

El número promedio de nódulos encontrados en cada tratamiento fue distinto y el número de nódulos por planta fue muy variable entre plantas del mismo tratamiento. En IP se observó un número promedio de $74,7 \pm 15,0$ nódulos, con $4,2 \pm 0,7$ en la raíz principal, $70,5 \pm 15,0$ en las laterales (mayormente en la región proximal de estas raíces) y $28,2 \pm 10,6$ nódulos activos al momento de la cosecha. En el tratamiento IC se registraron $42,3 \pm 4,8$ nódulos promedio por planta, con $3,1 \pm 0,9$ en la raíz principal, $39,2 \pm 4,2$ en las laterales y sin nódulos visiblemente activos. Es probable que los nódulos producidos no fueran fijadores de N o fueran muy ineficientes, dado que las plantas no se desarrollaron y que el color del interior de prácticamente todos los nódulos era blanco, grisáceo o negruzco (Fig. 16B).

Producción de biomasa aérea y de raíces

La biomasa de *L. pubescens* producida por la parte aérea y la producida por las raíces en plantas bajo tratamiento CN fue mayor que la producida bajo IP ($p=0,0001$) y a su vez ambas fueron mayores que las producidas bajo SN e IC ($p=0,0001$) (Fig. 17). La relación entre la materia seca de la raíz y la parte aérea fue similar entre los cuatro tratamientos ($p=0,68$).

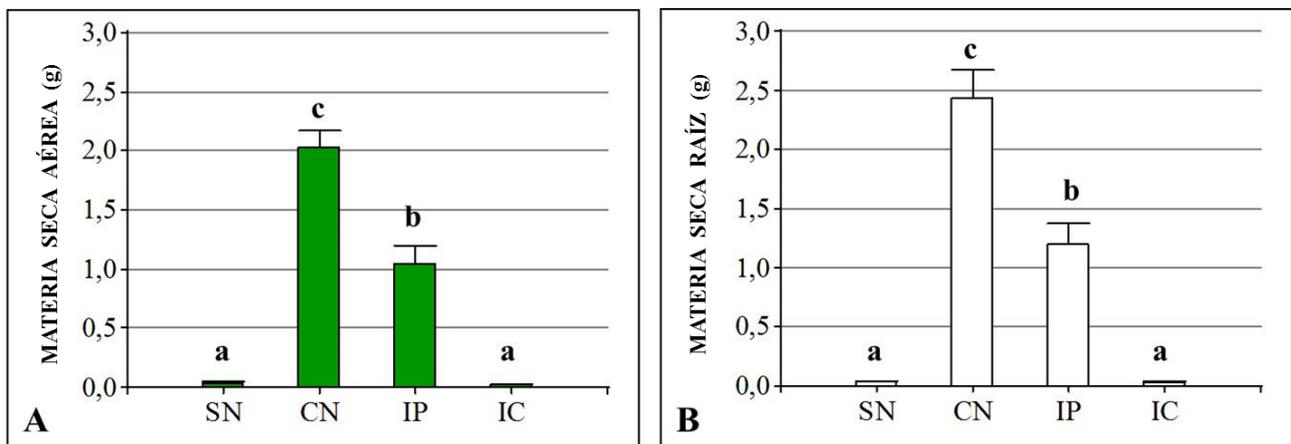


Figura 17. Biomasa **A)** aérea y **B)** de raíces producida por *Lathyrus pubescens* bajo los tratamientos **SN:** sin nitrógeno mineral ni simbiótico, **CN:** con nitrógeno mineral, **IP:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio y **IC:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante comercial de *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

El tratamiento IP produjo aproximadamente la mitad de materia seca que el CN (Fig. 17) (51,7% para la parte aérea y 49% para las raíces), mientras que los tratamientos IC y SN produjeron menos del 2% para parte aérea y raíces (Fig. 17). Esta diferencia fue observable a simple vista, tal como se puede apreciar en la Figura 18. La eficiencia de la fijación biológica de N_2 para *L. pubescens* según la fórmula de Gibson (1980) fue del 50%.



Figura 18. Plantas de *Lathyrus pubescens* producidas por los tratamientos **A)** sin nitrógeno mineral ni simbiótico (SN) y **B)** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio (IP), al momento de la primera cosecha.

Contenido de nitrógeno total

El contenido de nitrógeno total entre los tratamientos CN y IP no mostró diferencias significativas según el análisis SMK ($p=0,16$ para aéreo y $p=0,34$ para raíces) ni el análisis por el MCS ($p=0,09$ para aéreo y $p=0,90$ para raíces) (Fig. 19).

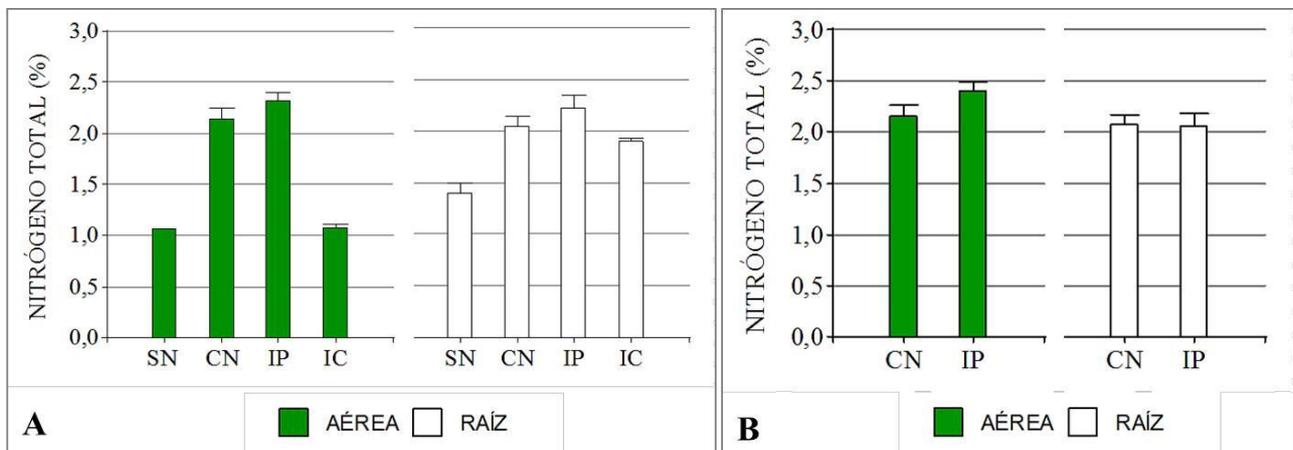


Figura 19. Contenido de nitrógeno total de la parte aérea y de las raíces de *Lathyrus pubescens* bajo los tratamientos **SN:** sin nitrógeno mineral ni simbiótico, **CN:** con nitrógeno mineral, **IP:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante de aislamiento propio y **IC:** sin nitrógeno mineral pero con inoculante comercial de *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viceae*. Muestras analizadas por **A)** el método semi-micro Kjeldahl (SMK) y **B)** el método de combustión seca (MCS).

El tratamiento IP tuvo contenidos de nitrógeno total ligeramente mayores a CN. En los datos analizados mediante SMK fue aproximadamente un 8% mayor, mientras que mediante MCS fue un 11% mayor para parte aérea y equivalente (1% menos) para las raíces. Los tratamientos IC y SN

tuvieron con respecto a CN aproximadamente la mitad de nitrógeno total para la parte aérea (50,5% y 49,5%, respectivamente) y variable para las raíces (93,1% y 68,6%, respectivamente) (Tabla 6).

Tabla 6. Contenido de nitrógeno total (en porcentaje) para la parte aérea y las raíces de *Lathyrus pubescens* según el tratamiento aplicado, determinado mediante dos técnicas diferentes (SMK: método semi-micro Kjeldahl y MCS: método de combustión seca). **CN:** plantas con nitrógeno mineral. **IP:** plantas sin nitrógeno mineral y con inoculante propio. **IC:** plantas sin nitrógeno mineral y con inoculante comercial. **SN:** plantas sin nitrógeno mineral ni simbiótico.

	N TOTAL (%) SMK						N TOTAL (%) MCS					
	Parte aérea			Raíces			Parte aérea			Raíces		
	N	Media	EE	N	Media	EE	N	Media	EE	N	Media	EE
CN	24	2,14	0,10	12	2,04	0,10	23	2,16	0,10	10	2,08	0,09
IP	31	2,32	0,08	19	2,22	0,12	18	2,40	0,09	12	2,06	0,12
IC	3	1,08	0,03	3	1,90	0,03	-	-	-	-	-	-
SN	1	1,06	0,00	3	1,40	0,10	-	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

La obtención de cepas de rizobios nativas resultó exitosa dado que lograron obtenerse varios aislamientos de cada especie a partir de unos pocos nódulos. Sin embargo, las pruebas de nodulación no fueron igualmente sencillas, particularmente las de *A. incana* en las que la planta inoculada se mantuvo creciendo en un medio líquido (solución nutritiva vegetal e inoculante). Esto podría deberse al estrés hídrico ocasionado por el anegamiento de las raíces, que ha sido demostrado en otras especies de leguminosas herbáceas como *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus*, especialmente en las plantas más jóvenes como las de este ensayo (Vignolio *et al.*, 1996). *L. pubescens*, una especie que suele crecer en suelos más húmedos y bordes de cursos de agua, no mostró dificultades para nodular aun cuando sus raíces estaban sumergidas. Tampoco tuvieron dificultades las plantas de *A. incana* formadas a partir de esquejes que se mantuvieron creciendo en un sustrato drenado. En ensayos futuros podría probarse el cultivo en un medio sólido y menos anegado como la vermiculita, aunque éste presente una dificultad mayor para observar los nódulos en formación.

Por otro lado, se desconocen los motivos por los cuales las cepas de *A. incana* utilizadas no nodularon en el ensayo de FBN. Una causa posible es que tal vez las cepas aisladas no tenían las características necesarias como para sobrevivir en un medio de cultivo o tenían requerimientos diferentes a los brindados. Durante el tiempo de almacenamiento de las cepas hasta el preparado de los inoculantes o bien durante el almacenamiento de los inoculantes, las cepas podrían haberse perdido o modificado de manera que perdieran la capacidad de nodular efectivamente las plántulas del ensayo.

La información respecto de la nodulación y eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno de *L. pubescens* es inexistente en la literatura científica, por lo que los datos reportados en este trabajo constituyen un aporte original al conocimiento de la especie. Los dos tratamientos de inoculación produjeron nódulos en las raíces. La producción de nódulos activos, en cambio, ocurrió solamente en el tratamiento con inoculante propio y no en el tratamiento con inoculante comercial, a pesar de que la cepa utilizada (*R. leguminosarum* biovar. *viciae*) ha sido reportada como nodulante de otras especies del género *Lathyrus* (Amarger, 2001). Esta cepa ha mostrado cierta divergencia en la efectividad de nodulación en especies de *Lathyrus*, siendo frecuente que sea efectiva en algunas plantas e inefectivas en otras, lo cual podría explicar los resultados obtenidos (Amarger, 2001). Los resultados discutidos de aquí en más hacen referencia a los nódulos producidos por el tratamiento con inoculante propio, que fue el único tratamiento que estableció una simbiosis efectiva con *L. pubescens*.

Los nódulos de tipo indeterminado desarrollados por *L. pubescens* son típicos de muchas leguminosas emparentadas de zonas templadas, tales como alfalfa (*Medicago sativa*), arveja (*Pisum sativum*), tréboles (*Trifolium* spp.) y vicias (*Vicia* spp.) (Gage, 2004). La morfología externa de los nódulos de *L. pubescens* se asemeja a lo descrito para las especies emparentadas *L. maritimus* (Barimah-Asare, 1991), *L. odoratus* y algunos cultivares de *L. sativus* (Sidorova *et al.*, 2013). En particular, nódulos ramificados, con forma de coral y desarrollados en la parte superior de las raíces también se han reportado para *L. chloranthus* y *L. odoratus* (Sidorova *et al.*, 2013) y nódulos grandes y abundantes, elongados cuando jóvenes y luego ramificados, para *L. sylvestris* (Foster, 1990). Esta morfología es diferente a la que se ha observado en especies de otros géneros de leguminosas herbáceas nativas como *Adesmia bicolor* y *A. volckmanni*, donde los nódulos son pequeños, esféricos y usualmente asociados con las raicillas finas, donde suelen formarse de a pares (Bianco *et al.*, 2013; Golluscio *et al.*, 2006).

La mayoría de los nódulos de *L. pubescens* se ubicaron en las raíces secundarias y esto podría deberse a que la raíz principal se ramifica rápidamente, por lo que su extensión y el área susceptible de ser nodulada es reducida (obs. pers.). Según lo reportado en estudios de FBN de otras leguminosas nativas, este sería un carácter variable y dependiente de la morfología radical de la especie en cuestión. En *Adesmia bicolor* y *A. capitellata* la mayoría de los nódulos se ubican en la raíz principal (Vileta *et al.*, 2010), mientras que en *A. macrostachya* se ubican en partes aproximadamente iguales sobre la principal y las laterales (Vileta *et al.*, 2010) y en *A. araujoi*, exclusivamente en las laterales (Scheffer-Basso *et al.*, 2000). En *A. bicolor*, sin embargo, la distribución de los nódulos se modifica a medida que la planta se desarrolla, aumentando el número en las raíces laterales hacia el estado reproductivo y luego ubicándose principalmente en las raíces adventicias (Bianco *et al.*, 2013).

El número de nódulos encontrados fue notablemente alto en relación a lo reportado para otras especies de *Lathyrus* que tuvieron entre 3 y 10 nódulos por planta (*L. tingitanus*, *L. odoratus*) y alrededor de 35 (*L. chloranthus*), aunque para *L. sativus* se ha registrado un número mucho mayor, con un promedio de 250 nódulos (Sidorova *et al.*, 2013). En especies del género *Adesmia* el número oscila entre 58 (*A. tristis*) y 203 (*A. bicolor*), con variaciones debidas al estado fenológico (Westphal Muniz *et al.*, 2012; Bianco *et al.*, 2013). Es importante destacar que la nodulación ocurrió solamente en la fracción de las raíces que creció en vermiculita, mientras que las raíces que atravesaron el tapón del compartimento superior y crecieron en el recipiente contenedor de la solución nutritiva líquida no presentaron nódulos en ninguno de los casos. Si el espacio del compartimento con sustrato hubiera sido mayor, es probable que el número de nódulos producidos también hubiera sido más alto.

La cantidad de biomasa producida por las plantas del tratamiento con nitrógeno simbiótico fue alta (un 50% de lo que produjeron las plantas con un suministro óptimo de nitrógeno mineral), teniendo en cuenta que las leguminosas que solo cuentan con nitrógeno simbiótico no logran expresar su máximo potencial productivo porque el proceso de la FBN promueve alteraciones fundamentales en su morfofisiología (Cassman *et al.*, 1980). La reducción en el crecimiento se ve agravada por la deficiencia de nitrógeno que sufre la planta hasta lograr establecer una simbiosis funcional, que puede demorar entre una y tres semanas (Atkins, 1984). El crecimiento también se ve afectado por la demanda de compuestos carbonados que generan los rizobios, que en situaciones de baja eficiencia puede representar hasta el 25% de los fotoasimilados producidos por la planta (Atkins, 1984). En algunos casos se ha propuesto incluso que la causa del menor crecimiento de plantas con

acceso a nitrógeno simbiótico únicamente es esta demanda de energía adicional más que una limitación en el nitrógeno disponible (Phelan *et al.*, 2015).

Otras especies de *Lathyrus* sobre las que se han realizado experimentos similares han tenido también buenos desempeños en la FBN. En *L. sylvestris*, por ejemplo, no se observaron diferencias en la producción de biomasa ni en la altura de las plantas entre los tratamientos con nitrógeno mineral y simbiótico, lo cual indicaría una eficiencia de FBN aun mayor que la de *L. pubescens* (Shen *et al.*, 1990). La relación entre la biomasa de la raíz y aérea de *L. pubescens* no mostró diferencias entre los tratamientos, difiriendo de lo reportado en otros trabajos que evalúan la FBN en leguminosas nativas silvestres y que han observado un desarrollo mayor de las raíces en los tratamientos con nitrógeno simbiótico o sin nitrógeno (Scheffer-Basso *et al.*, 2000).

El contenido de nitrógeno total no mostró diferencias entre ninguno de los tratamientos para la parte aérea ni las raíces por ninguno de los dos métodos de análisis empleados. Sin embargo el tratamiento con nitrógeno simbiótico tuvo contenidos de nitrógeno ligeramente mayores que el de nitrógeno mineral. Lo contrario sucedió en la especie emparentada *L. sylvestris*, donde el contenido de nitrógeno fue menor en las plantas suplidas con nitrógeno simbiótico: 73% en las hojas, 66% en los tallos y 82% en las raíces (Shen *et al.*, 1990). Los valores de contenido de nitrógeno del tratamiento con nitrógeno simbiótico son similares al 1,4% reportado para *L. latifolius* (Wanjiku, 1996).

La eficiencia de fijación biológica de N₂ para *Lathyrus pubescens* fue del 50%, un hallazgo considerable en comparación con valores reportados para plantas seleccionadas y comúnmente cultivadas. Heichel *et al.* (1983) estimaron que la alfalfa puede derivar de la fijación biológica de nitrógeno entre 43% y 64% de sus requerimientos totales de nitrógeno, valores similares a lo que ha sido reportado en estudios realizados en Argentina (Basigalup, 2007). Si comparamos la eficiencia de esta especie cultivada con décadas de mejoramiento, considerada una de las más eficientes en la FBN (Vance, 2002), el valor obtenido para *L. pubescens* es notablemente alto. En este punto es importante recordar que la alfalfa, al igual que otras especies cultivadas, ha atravesado un largo período de selección que permitió mejorar tanto su capacidad de FBN como la especificidad y eficiencia de sus simbioses. Las especies silvestres de leguminosas y rizobios, por el contrario, no han sido seleccionadas (Sidorova *et al.*, 2013) y por lo tanto los valores obtenidos en estudios exploratorios como este sirven de referencia para establecer cuál es la capacidad mínima de la especie. Realizando nuevos estudios e implementando un proceso de selección de ecotipos de

plantas y cepas de rizobios es probable que los resultados productivos vayan mejorando progresivamente.

La eficiencia de FBN de otras especies de *Lathyrus* es muy variable. Comparando distintas cepas de *L. sativus* se encontraron valores de 38% a 143% de eficiencia (Barrientos *et al.*, 2003), mientras que en otras especies de leguminosas nativas la eficiencia de FBN reportada varía desde porcentajes bajos de 17% para *Adesmia araujoi* (Scheffer-Basso *et al.*, 2000), 13 a 35% para *A. tristis* (Westphal Muniz *et al.*, 2012) y 37% para *A. latifolia* (Scheffer-Basso *et al.*, 2001b), a otros altos de alrededor del 60% para *A. bicolor* y *A. macrostachya* (Vileta *et al.*, 2010).

CONCLUSIÓN

Se puede afirmar que *Lathyrus pubescens* puede establecer simbiosis efectivas con cepas de rizobio nativas aisladas a partir de nódulos de la misma especie. La efectividad de la simbiosis le permitió disponer de cantidades de nitrógeno suficientes para crecer y desarrollarse, con un 50% de eficiencia de fijación y contenidos totales de nitrógeno ligeramente superiores a los observados para las plantas suplidas con nitrógeno mineral. Los nódulos que desarrolla esta especie son numerosos, de gran tamaño y con ramificaciones.

Para obtener resultados ajustados a otras variables presentes en la naturaleza, es necesario complementar lo investigado aquí estableciendo ensayos de campo que reproduzcan más fielmente las condiciones verdaderas de cultivo. Por otro lado, la selección de características deseables tanto en las plantas como en los rizobios es conveniente para mejorar la eficiencia de esta simbiosis y los beneficios que puede ofrecer a los sistemas productivos y naturales donde sea aplicada. Por su aptitud para nodular y fijar nitrógeno atmosférico, esta especie puede considerarse promisoría para su utilización en restauración productiva, mediante la reintroducción a pastizales empobrecidos o el cultivo en suelos degradados. El estudio de otras características de importancia agronómica y ecológica, tal como las abordadas en el siguiente capítulo, es también necesario para poder optimizar la utilización de esta especie.

CAPÍTULO 4

Calidad nutritiva de leguminosas herbáceas nativas

MARCO TEÓRICO

La incorporación de especies forrajeras a los agroecosistemas tiene numerosas ventajas, entre las que se destacan la mejora de la calidad y cantidad de forraje para el ganado, la regulación de su disponibilidad, una mayor cobertura vegetal, un mayor control tanto de la erosión como del desarrollo de malezas y un aumento en la incorporación de materia orgánica al suelo (Phelan *et al.*, 2015). Si las especies forrajeras son leguminosas, se suman a estas ventajas la reposición de nitrógeno a través de la fijación biológica de nitrógeno y, si se implantan en una consociación o policultivo, la diversificación de especies, que favorece la disminución del uso de pesticidas y fertilizantes y mejora la utilización de recursos locales (Basconsuelo *et al.*, 2013).

Las ventajas comparativas de las forrajeras leguminosas frente a las gramíneas incluyen mayor palatabilidad y contenido proteico y menor dependencia de fertilizantes nitrogenados (Phelan *et al.*, 2015). Por otro lado, tienen algunas desventajas que son su lento establecimiento, baja persistencia por ser preferidas por el ganado y ser peores competidoras que las gramíneas, su tendencia a producir timpanismo cuando se siembran en monocultivo o en altas proporciones y una mayor dificultad para conservarlas como forraje cortado (Phelan *et al.*, 2015). Sin embargo, estos últimos dos problemas no se expresan en sistemas de pastoreo extensivos, con dietas basadas en pastizales multiespecíficos más que en monoculturas. El problema del establecimiento y la persistencia puede ser mitigado mediante el manejo orientado a favorecer la semillazón de estas especies o por un aporte externo de semillas de las leguminosas preferidas o más afectadas por el pastoreo (Cuomo *et al.*, 2001).

Tanto en pastizales naturales como en pasturas cultivadas consociadas, gramíneas y leguminosas realizan aportes importantes y complementarios a la dieta animal. En general, las gramíneas son las que aportan mayor cantidad de biomasa y energía digestible, mientras que las leguminosas aportan componentes minoritarios de la dieta que aumentan su calidad, como proteína, fósforo y fibras solubles de fácil degradación (Muir *et al.*, 2011). Por otro lado, la consociación es ventajosa porque estos dos grupos funcionales aprovechan los recursos disponibles de forma complementaria, logrando una producción de forraje final mayor que la que daría la suma de los rendimientos

individuales en monocultura. Esta característica, conocida como complementariedad de nicho, ha sido reportada en una amplia diversidad de sitios, suelos y climas (Phelan *et al.*, 2015). La restauración productiva de pastizales naturales del sudoeste bonaerense permitiría una oferta forrajera tanto de gramíneas como de leguminosas, con cantidad de biomasa aportada por las primeras y la calidad por las segundas.

Existe un gran número de leguminosas forrajeras cultivadas en el mundo, estimadas en más de 150 especies, pero las más cultivadas y económicamente relevantes son unas pocas e incluyen, en orden decreciente de importancia, a *Medicago sativa* (alfalfa), *Trifolium repens* (trébol blanco), *Trifolium pratense* (trébol rojo), *Trifolium subterraneum* (trébol subterráneo) y *Lotus corniculatus* (lotus, trébol criollo). Solo dos de estas especies (*M. sativa* y *T. repens*) han sido ampliamente dominantes en la literatura científica en las últimas tres décadas (Phelan *et al.*, 2015). Desarrollar conocimiento sobre otras especies, nativas y mejor adaptadas a condiciones locales es importante, entre otros factores ya mencionados, porque las especies más difundidas no se adaptan bien a condiciones de cultivo desfavorables como precipitaciones escasas y erráticas, heladas y veranos cálidos y secos (Muir *et al.*, 2011).

A pesar de que en el sudoeste bonaerense la ganadería sobre pastizales es una actividad productiva y económica importante, la información disponible sobre la calidad nutritiva de las especies forrajeras nativas de esos pastizales es escasa. Existen pocos estudios acerca de las características nutritivas tanto de las gramíneas forrajeras más importantes, como *Poa ligularis*, *Stipa clarazzi* o *Piptochaetium napostaense*, como de las leguminosas nativas alguna vez abundantes en los pastizales de la región pampeana. El objetivo de esta parte del trabajo fue realizar una primera evaluación de la calidad nutritiva de algunas leguminosas herbáceas nativas de las zonas semiárida y subhúmeda del sudoeste bonaerense, seleccionadas por su aptitud potencial para ser reintroducidas en pastizales naturales degradados con fines de restauración productiva.

Parámetros de la calidad nutritiva del forraje

La calidad nutritiva se define como la composición química, digestibilidad y la naturaleza de los productos de digestión del forraje (Sollenberger y Cherney, 1995). Las paredes celulares de las células vegetales, que componen entre el 20 y el 80% del peso seco del forraje, constituyen la mayor fuente de energía de los rumiantes y están compuestas principalmente por hemicelulosa, pectina, celulosa y lignina (Wilson, 1994). Estos componentes de las paredes celulares, cuya función está vinculada al soporte de las estructuras vegetales de las plantas terrestres y que por lo

tanto son fibrosos y resistentes, limitan la cantidad de energía disponible para los rumiantes debido a su compleja digestión. Los análisis más utilizados para evaluar el contenido de fibras de un forraje son la extracción de la fibra detergente neutra (FDN), la fibra detergente ácida (FDA) y la lignina (lignina detergente ácida, LDA) (Dynes *et al.*, 2003). La extracción de la FDN separa el material vegetal en los compuestos celulares solubles que son casi totalmente digestibles (azúcares, proteínas, almidón y lípidos) de los componentes de la pared celular que solo son parcialmente digestibles (Wilson, 1994). La fracción de FDA proporciona un estimativo de la digestibilidad, siendo ésta mayor cuanto menor es esta fracción (Minson, 1982). La extracción de lignina, en cambio, refiere a una porción de las fibras que es casi completamente indigestible aun en el rumen y por lo tanto son deseables concentraciones mínimas de esta fracción de las fibras (Wilson, 1994).

Los forrajes con contenidos altos de componentes de la pared celular (fibras) tienen baja digestibilidad, palatabilidad y consecuentemente, baja calidad forrajera (Nordkvist y Aman, 1986). El contenido de fibras suele ser menor en leguminosas que en gramíneas, en material joven que maduro y en hojas que en tallos (Wilson, 1994). La digestibilidad de las leguminosas tiende a ser mayor y más variable que la de las gramíneas, pero menos variable en función del estado fenológico (Muir *et al.*, 2011). La adición de leguminosas a una dieta basada en gramíneas de baja calidad generalmente aumenta la digestibilidad y la ingesta, mejorando el desempeño del animal con un agregado mínimo de insumos (Pitman *et al.*, 1992; Weder *et al.*, 1999; Foster *et al.*, 2009). El mayor aporte de las leguminosas a la dieta del ganado, sin embargo, suele ser su alto contenido de proteínas (Muir *et al.*, 2011). Dada su calidad nutritiva superior, se ha visto que la inclusión de leguminosas en los sistemas de pastoreo, además de mejorar la nutrición, la ganancia de peso del ganado, el sistema inmunológico y llega a tener un impacto positivo incluso en las características de los productos resultantes, tales como la composición de ácidos grasos de la leche y la carne (Phelan *et al.*, 2015).

Modificadores de la calidad nutritiva: estado fenológico y pastoreo

Uno de los factores más influyentes en la calidad nutritiva de los forrajes, además de la variabilidad interespecífica, es el estado fenológico o de desarrollo. A medida que la planta madura, el contenido de proteína decrece y el contenido de lignina y otros carbohidratos estructurales aumenta (Sollenberger *et al.*, 2012). El aumento de la lignina en particular, que es la fibra que no puede ser degradada por el sistema digestivo del ganado, conduce a una disminución de la digestibilidad del forraje (Dynes *et al.*, 2003). La modificación en la calidad está dada en parte por el cambio en la proporción de hojas y tallos de la planta (Nogueira Filho *et al.*, 2000; Dumont *et al.*, 2006). Aunque

la relación hoja/tallo es alta en las leguminosas en comparación con otros grupos y la disminución de la calidad no es tan marcada, en muchas especies el efecto de la madurez es apreciable (Nordkvist y Aman, 1986).

El pastoreo, por su parte, también produce efectos en la calidad del forraje, que varían en magnitud y signo dependiendo de la intensidad (Matches, 1992; Sollenberger *et al.*, 2012). En una revisión que incluyó 67 trabajos que relacionaban la intensidad del pastoreo con la calidad nutritiva, se vio que el 60% reportaron algún efecto del pastoreo, con la respuesta reflejada principalmente en el contenido de proteína bruta, la digestibilidad *in vitro*, y el contenido de fibras (FDN, FDA, LDA) (Sollenberger *et al.*, 2012). El sentido de la respuesta, sin embargo, no es constante y la bibliografía es contradictoria respecto al efecto del pastoreo sobre la calidad del forraje (Sollenberger *et al.*, 2012).

Contenido de taninos y efectos de su consumo

El contenido de taninos del forraje, así como de otros compuestos secundarios, puede influir en la calidad nutritiva del forraje más allá del contenido de fibras, azúcares, proteínas y nutrientes que éste tenga. Los taninos son un grupo de compuestos secundarios que se encuentran presentes en una amplia variedad de plantas y que químicamente se definen como compuestos fenólicos de alto peso molecular, solubles en agua (Monteiro *et al.*, 2005). Tienen la capacidad de formar complejos reversibles e irreversibles con proteínas, y también en menor medida con polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectina), alcaloides, ácidos nucleicos y minerales (Frutos *et al.*, 2004).

Aunque su función original está probablemente vinculada a la defensa frente a la herbivoría, dependiendo del enfoque de la investigación los taninos pueden ser vistos como perjudiciales para la nutrición por reducir la palatabilidad y la digestión de proteínas o, por el contrario, beneficiosos por aumentar la eficiencia de su uso (Muir, 2011). En rumiantes, tienen la capacidad de ligarse a proteínas, evitando la degradación ruminal y optimizando el pasaje hacia el intestino delgado y la absorción (Min y Hart, 2003). Por otro lado, se sabe que también influyen en la digestión de fibras y carbohidratos (Martínez *et al.*, 2006; Pagán-Riestra *et al.*, 2010), en la supresión o disminución del timpanismo por desestabilización de proteínas formadoras de espuma (Tanner *et al.*, 1995; Aerts *et al.*, 1999) y en la disponibilidad de nutrientes, particularmente de cationes (Kumar y Vaithyanathan, 1990).

El surgimiento de interés por prácticas agropecuarias ambientalmente amigables y el impulso a sistemas sustentables de control de enfermedades animales que combinen el uso de métodos no químicos con la aplicación mínima de drogas han fomentado la investigación en los forrajes con contenido de taninos condensados (Cooper *et al.*, 2014). La literatura reciente indica que la presencia de taninos influye en el control parasitario de nemátodos (Min y Hart, 2003; Shaik *et al.*, 2004; Min *et al.*, 2005; Nguyen *et al.*, 2005), en la reducción de la producción ruminal de metano (Cooper *et al.*, 2014), en la comunidad microbiana de la materia fecal del herbívoro (Bettelheim *et al.*, 2005) y finalmente en el ciclaje de nutrientes del suelo (Smolander *et al.*, 2005; Tscherning *et al.*, 2005). El estudio de los taninos en plantas forrajeras encierra entonces una complejidad hasta ahora ignorada y el conocimiento de este atributo es importante para realizar un manejo correcto del forraje, tanto en pasturas cultivadas como en pastizales naturales (Muir, 2011).

Aunque pueden realizarse determinaciones químicas para definir el contenido de taninos de una muestra, el método de cuantificación de taninos precipitantes de proteínas (en inglés, *Protein Precipitable Polyphenolics* o PPP) se basa en la capacidad de los taninos de ligarse a proteínas y puede resultar más valioso por dar información sobre su actividad biológica que no puede ser obtenida por medio de análisis químicos (Hagerman y Butler, 1978). Este método, que tiene la ventaja de ser robusto y aplicable a prácticamente cualquier extracto vegetal, mide la cantidad de taninos condensados o hidrolizables que precipitan al combinarse con una solución estándar de proteína, la albúmina bovina. El precipitado luego se disuelve en medio alcalino en presencia de detergente, se colorea y la concentración del complejo coloreado se determina mediante espectrofotometría (Hagerman y Butler, 1978). Naumann *et al.* (2014) encontraron que el contenido de taninos precipitantes de proteínas y el contenido total de taninos condensados están positivamente correlacionados ($r=0,81$) en leguminosas forrajeras. Para estudios de calidad nutritiva, este método resulta apropiado por aproximar el contenido de taninos biológicamente activos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar algunos aspectos del potencial forrajero de *Adesmia incana*, *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens*, *L. subulatus*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna* mediante el análisis de parámetros de calidad nutritiva.
2. Comparar su calidad nutritiva en estado vegetativo y reproductivo.
3. Comparar la calidad nutritiva de muestras sometidas o no a corte o pastoreo para *Adesmia incana*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna*, tres de las especies más frecuentemente encontradas en los muestreos.
4. Determinar la presencia o ausencia de taninos en estas especies y cuantificar el contenido de taninos biológicamente activos (PPP).

HIPÓTESIS

H1: las leguminosas son variables en su calidad nutritiva y en general poseen contenidos de proteína altos por su capacidad para utilizar nitrógeno atmosférico, una fuente de nitrógeno inaccesible para otros grupos botánicos.

Predicción 1.1: las especies de leguminosas evaluadas exhibirán diferencias en cuanto a su contenido de fibras, proteínas, fósforo, taninos y a su digestibilidad.

Predicción 1.2: con respecto a especies forrajeras convencionales, los valores de proteína bruta obtenidos serán similares a los citados en la literatura científica para leguminosas cultivadas.

H2: la calidad nutritiva de las especies evaluadas es mayor durante el desarrollo vegetativo que durante el estadio reproductivo.

Predicción 2: las especies evaluadas tendrán mayor contenido de proteína bruta y fósforo, mayor digestibilidad y menor contenido de fibras y taninos en estado vegetativo que en reproductivo.

H3: el corte y el pastoreo tienen efectos apreciables en la calidad nutritiva de especies forrajeras.

Predicción 3: las muestras de sometidas a corte o pastoreo tendrán diferencias significativas en algunos de los parámetros de calidad nutritiva evaluados con respecto a las muestras que no han estado sometidas a corte ni a pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras de forraje para evaluar la calidad nutritiva de 6 de las 8 especies seleccionadas de acuerdo a los criterios detallados en el Capítulo 1; no se incluyó a *Adesmia filipes* ni *A. muricata* por no haber logrado colectar un número suficiente de muestras, ya que se detectaron solo dos poblaciones de cada una de estas especies y no fue posible colectar un número suficiente de muestras para el estado vegetativo. Las especies evaluadas fueron *Adesmia incana* (Ai), *Lathyrus nervosus* (Ln), *L. pubescens* (Lp), *L. subulatus* (Ls), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) y *R. senna* (Rs).

Para cada especie se tomaron al menos cuatro muestras en estado fenológico vegetativo (VEG) y cuatro en reproductivo (REP), entre los meses de noviembre de 2015 y enero de 2017, intentando abarcar la mayoría de las poblaciones localizadas durante los recorridos dentro del área de estudio. El detalle de los sitios de colecta y del número de muestras tomadas por estado fenológico y especie figuran en la Tabla 7. Para todas las especies salvo Ln y Lp las muestras estuvieron compuestas de varios individuos de la misma población, tomando un radio máximo de 100 m a la redonda desde el punto inicial de colecta. Para las muestras correspondientes al estado vegetativo de Ln, Lp y Rs se colectó material nuevo ya que, a pesar de ser especies perennes, pierden casi la totalidad de la parte aérea luego de la etapa reproductiva y la porción utilizable en un planteo productivo forrajero sería el rebrote del año.

En todos los casos las muestras se tomaron intentando simular el pastoreo del ganado bovino, seleccionando las partes de las plantas que son probablemente consumidas. De esta manera se intentó mitigar el problema asociado a la colecta de muestras de forraje para evaluaciones de calidad nutritiva, ya que se sabe que una muestra obtenida a partir del corte homogéneo a un nivel cercano al suelo no es representativa de lo que el animal efectivamente ingiere (Rouquette, 2016). Durante la colecta de muestras se registró también que las plantas muestreadas estuvieran o no sujetas a corte (por mantenimiento de banquinas o parques) o pastoreo y para el estado reproductivo, si estaban en flor o en fruto. Estas son variables adicionales que podrían ayudar a explicar parte de la variación encontrada y que fueron analizadas o no en función del número de muestras que fue posible obtener para cada una de estas categorías.

Tabla 7. Sitios de colecta y número de muestras tomadas para análisis de calidad nutritiva, por estado fenológico y especie. Para detalle de la ubicación y coordenadas de cada sitio, ver Tabla 3.

Especie	Estado	N	Sitios de colecta
<i>Adesmia incana</i>	REP	21	CAR I-LEO-PAL-PCO III-PIE-PIG I-PPT I-PUA I-PUA II-RN35 I-RN35 II-RSG-SAA I-VVE II-VVE III
<i>Adesmia incana</i>	VEG	22	CAB-CAR I-CAR III-CCT-LEO-PIG I-PIG III-PPT I-PUA I-PUA III-RN35 III-SAA I-TOR III
<i>Lathyrus nervosus</i>	REP	4	PPT II-SAA I
<i>Lathyrus nervosus</i>	VEG	5	SAA I-RSG
<i>Lathyrus pubescens</i>	REP	9	PAI-PPT I-PPT II-SAA I-SUA I-VVE I-VVE II-VVE III
<i>Lathyrus pubescens</i>	VEG	7	PAI-SAA I-VVE II
<i>Lathyrus subulatus</i>	REP	9	PIE-PPT II-PUA I-SAA I-SUA I-VVE III
<i>Lathyrus subulatus</i>	VEG	4	SAA I-RSG- PIG I
<i>Rhynchosia diversifolia</i>	REP	9	PIG I-PPT I-PUA I-RSG-SAA I-VVE III
<i>Rhynchosia diversifolia</i>	VEG	10	PIE-PIG I-PUA I-SAA I-SUA I-VVE II-VVE III
<i>Rhynchosia senna</i>	REP	20	3CU-AZO-CAR I-LEO-PAL-PIE-PIG I-PPT I-PUA I-PUA II-RN35 III-RSG-SAA I-TAN-VVE II
<i>Rhynchosia senna</i>	VEG	5	PUA I-SAA I-SUA I-VVE II

Los análisis de calidad nutritiva se realizaron en colaboración con el área de Ecología de Pastizales del *AgriLife Research and Extension Center* en la Universidad AyM de Texas, en las instalaciones del Laboratorio de Suelos (Stephenville, Texas, Estados Unidos). Se determinó el contenido de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), lignina detergente ácida (LDA), nitrógeno (N), carbono (C), fósforo (P), taninos precipitantes de proteínas (PPP) y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS). Para la variable PPP se realizaron análisis prospectivos para corroborar la presencia de taninos, ya que no todas las especies poseen estos compuestos.

Los métodos analíticos utilizados para las determinaciones de fibras (FDN, FDA y LDA) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca son los indicados por *ANKOM Technology*© y pueden

consultarse en www.ankom.com. El contenido de C y N se determinó por el método de combustión seca (Burt, 2004), utilizando el equipamiento *Elementar Vario Macro C&N Analyzer* (Elementar Americas, Inc., Mt. Laurel, NJ, EEUU). A partir del valor de N obtenido se calculó luego el contenido de proteína bruta (PB), multiplicando el contenido de nitrógeno por 6,25 (Muir *et al.*, 2005). El contenido de taninos precipitantes de proteínas se analizó siguiendo el protocolo detallado en Naumann *et al.* (2014) y el de fósforo, siguiendo a Eaton *et al.* (1995).

Para la comparación de medias de los grupos de datos que cumplieran con los supuestos de normalidad y homoscedasticidad se utilizó un ANOVA; para los que no, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Ambas pruebas se realizaron utilizando INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016) y la decisión de aceptación o rechazo se tomó en todos los casos al 5%. Para la comparación entre especies (factor especie con 6 niveles) ninguna de las variables analizadas cumplió con los supuestos, por lo que se aplicó Kruskal-Wallis. Para la comparación de los estados fenológicos dentro de cada especie (factor estado, 2 niveles por especie) se utilizó un ANOVA para las variables que cumplieran los supuestos y para las que no (FDA para Ls y Rs, DIVMS para Ai y Rs, PB para Ln y Ls y C para Rd) se aplicó Kruskal-Wallis. Para la comparación de las especies dentro de cada estado fenológico (factor especie, 6 niveles por estado) prácticamente ninguna de las variables cumplía con los supuestos, por lo que se analizaron todas mediante Kruskal-Wallis. La variable contenido de taninos no cumplió con las variables de normalidad ni homoscedasticidad, por lo que también se analizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

La comparación de los estados fenológicos VEG, FLO y FRU se realizó mediante ANOVA, salvo LDA para Rd, DIVMS para Ai y Ls, PB para Ln y C para Ls y Rd que no cumplieron los supuestos, por lo que fueron analizados mediante Kruskal-Wallis. Para el análisis de los factores corte y pastoreo los datos se analizaron mediante ANOVA.

RESULTADOS

Comparación de la calidad nutritiva entre especies

En una primera instancia se realizó una comparación entre especies de las variables de calidad nutritiva evaluadas utilizando el valor promedio de todas las muestras, incluyendo las de ambos estados fenológicos, y esos resultados son los que se muestran en esta primera sección. Esta comparación mostró diferencias significativas entre especies para todas las variables analizadas

($p < 0,0001$ en todas, salvo DIVMS: $p = 0,0436$). Los mayores valores de contenido de fibras (FDN, FDA y LDA) fueron encontrados en Lp, Ls, Rd y Rs, que se diferenciaron de Ai; Ln tuvo una posición intermedia (Fig. 20). La especie con mayor contenido de estas fibras fue Rd y luego, en orden decreciente, Rs, Ls/Lp, Ln y Ai (Fig. 20).

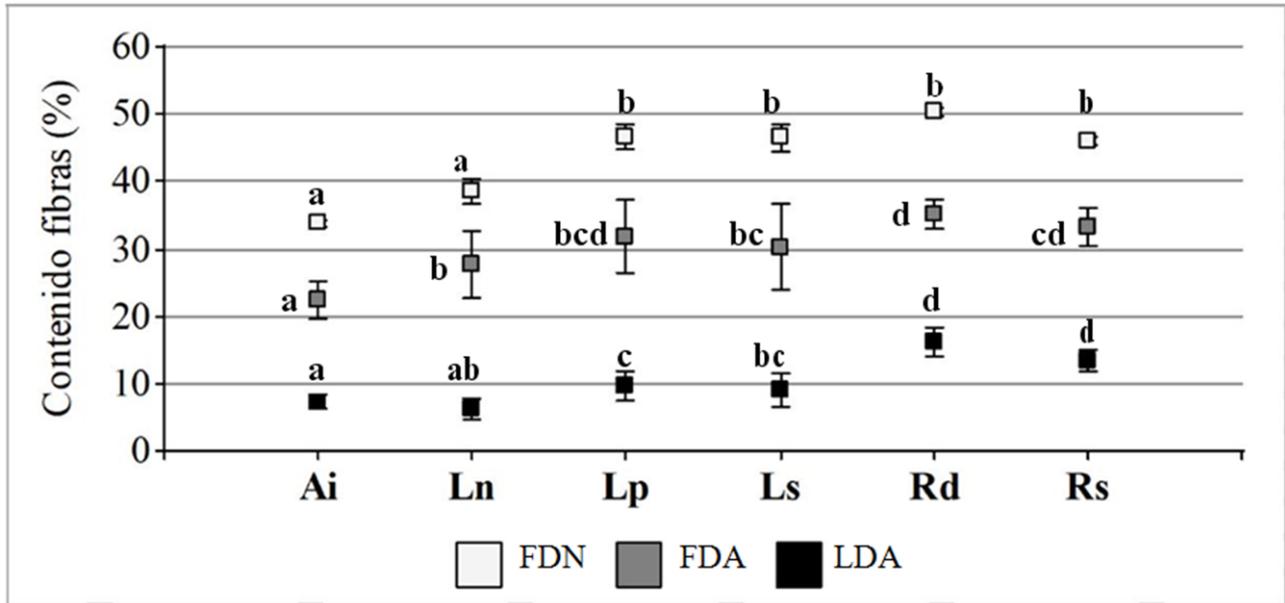


Figura 20. Contenido porcentual de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina (LDA) de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de la misma variable (FDN, FDA o LDA).

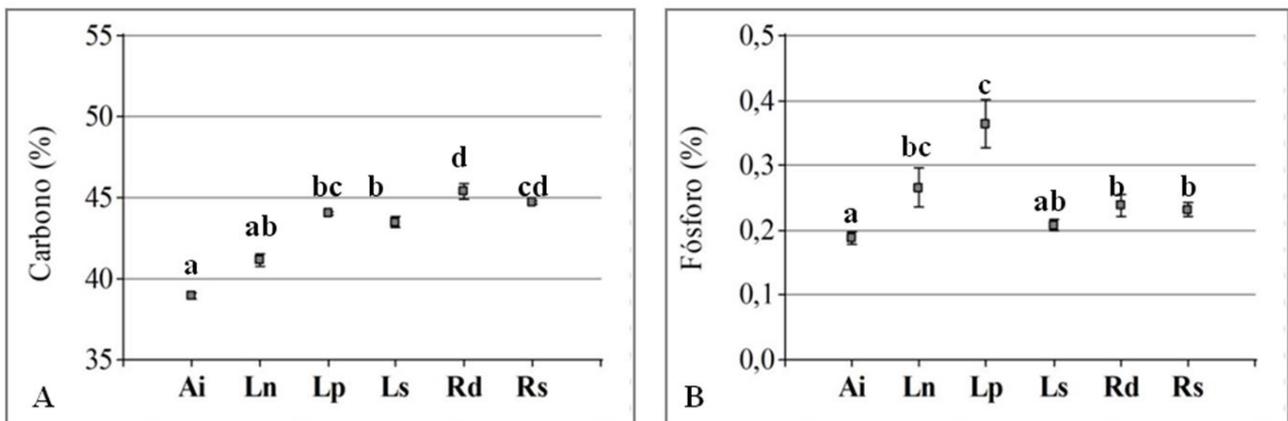


Figura 21. Contenido de A) carbono y B) fósforo de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia* y Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La especie con mayor contenido de carbono fue Rd, seguida en orden decreciente por Rs, Lp, Ls, Ln y Ai, aunque la variación entre especies no fue tan notoria para esta variable como para otras

(Fig. 21A). En cuanto al contenido de fósforo, Lp fue la especie con mayor concentración, seguida por Ln; las especies Ls, Rd y Rs tuvieron contenidos intermedios y Ai fue la que exhibió un contenido menor (Fig. 21B).

A la inversa que el contenido de fibras, la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) fue mayor para Ln, Lp y Ai y menor para Rs; Ls y Rd no se diferenciaron de ninguno de los dos grupos anteriores (Fig. 22A). El contenido de proteína bruta (PB) fue notablemente mayor en Lp que en las demás especies, mientras que de las especies restantes solo Ai, con el menor contenido de PB, se diferenció de Ls y Rs. Las especies Ln, Ls, Rd y Rs no mostraron diferencias significativas entre sí (Fig. 22B).

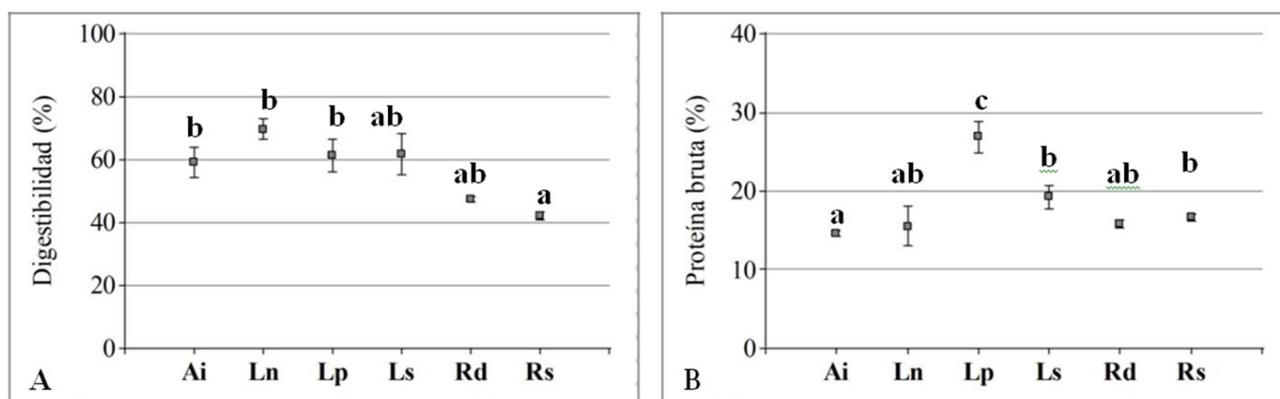


Figura 22. A) Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y B) contenido de proteína bruta (PB) de las especies Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Comparación dentro de cada especie: influencia del estado fenológico

Las medias para la comparación de las variables según el estado fenológico están basadas en distinta cantidad de datos en función de las muestras que fue posible coleccionar; aunque algunas están basadas en números muestrales bajos, se realizó un chequeo gráfico de la información para asegurarse de que los promedios fueran representativos (ver Anexo 3). En todas las especies se observó que la media de las variables FDN, FDA y LDA tuvo un valor absoluto mayor para el estado REP que VEG, aunque las diferencias no fueron significativas en algunos casos (Fig. 23, para información detallada ver Anexo 4). Para las variables DIVMS, PB y P, en cambio, el valor absoluto de la media fue menor para todas las especies para el estado REP (Fig. 23, para información detallada ver Anexo 4). Para DIVMS esta diferencia fue significativa en todas las especies salvo Ls y Rd, para PB fue significativa en todas salvo Ln y en P fue significativa también

en todas salvo para Ls que no se evaluó por falta de datos (Fig. 23F). La variable C resultó semejante para todas las especies en ambos estados, salvo para Rs que mostró diferencias significativas.

Para la especie Ai todas las variables fueron significativamente diferentes en los estados estudiados, salvo FDN y C. También las especies Lp (salvo C), Ls (salvo DIVMS) y Rs (salvo LDA) mostraron diferencias significativas en casi todas las variables evaluadas. Las especies Ln y Rd, en cambio, fueron más constantes en su calidad nutritiva en los dos estados fenológicos comparados y solo se diferenciaron en DIVMS (Fig. 23E) y P (Fig. 23D) para Ln y en PB (Fig. 23F) para Rd.

Comparación de especies dentro de cada estado fenológico

La comparación dentro de cada estado fenológico mostró diferencias altamente significativas entre todas las especies para cada una de las variables, tanto para las comparaciones dentro del estado vegetativo como dentro del reproductivo.

En las muestras correspondientes al estado vegetativo se vio que Rd y Rs presentaron en general valores mayores de FDN, FDA y LDA, mientras que Ai y las tres especies de *Lathyrus* tuvieron valores menores (Fig. 23 A, B y C). Para PB y P, en cambio, se destacó Lp con valores medios más altos que los de las demás especies, seguido por Ln y Rs en el caso del P y por Ls y Rs en el caso de la PB, sin diferencias significativas entre la primera especie y las segundas en ninguno de los casos (Fig. 23 D y F). Las especies con mayor digestibilidad en estado vegetativo fueron Ai, Lp y Ls, seguidas por Ln y Rs, con Rd en último lugar (Fig. 23E).

En las muestras correspondientes al estado reproductivo, los valores mayores de FDN y FDA se observaron en Rd y Rs, como en estado vegetativo, pero también en Lp y Ls para la FDN y en Lp, Ls y Ln en el caso de la FDA (Fig. 23 A y B). La LDA, en cambio, fue mayor en Rd y Rs, seguidas por Lp, luego Ls y finalmente Ln y Ai (Fig. 23C). El contenido de fósforo en estado reproductivo fue menor para Ai que para Lp, Ls y Rs (Fig. 23D). El contenido de PB y la digestibilidad fueron más homogéneas en estado reproductivo que en vegetativo (Fig. 23 E y F), pero Lp siguió destacándose en cuanto al contenido de PB por sobre las demás especies salvo de Ls, que a su vez tuvo contenidos de PB semejantes a los de Ln, Rd y Rs (Fig. 23F). La digestibilidad fue menor para Ai que para las demás especies, por lo que esta fue la especie con mayor variación entre estados, siendo la de mayor digestibilidad en estado vegetativo y la de menor en estado reproductivo (Fig. 23E).

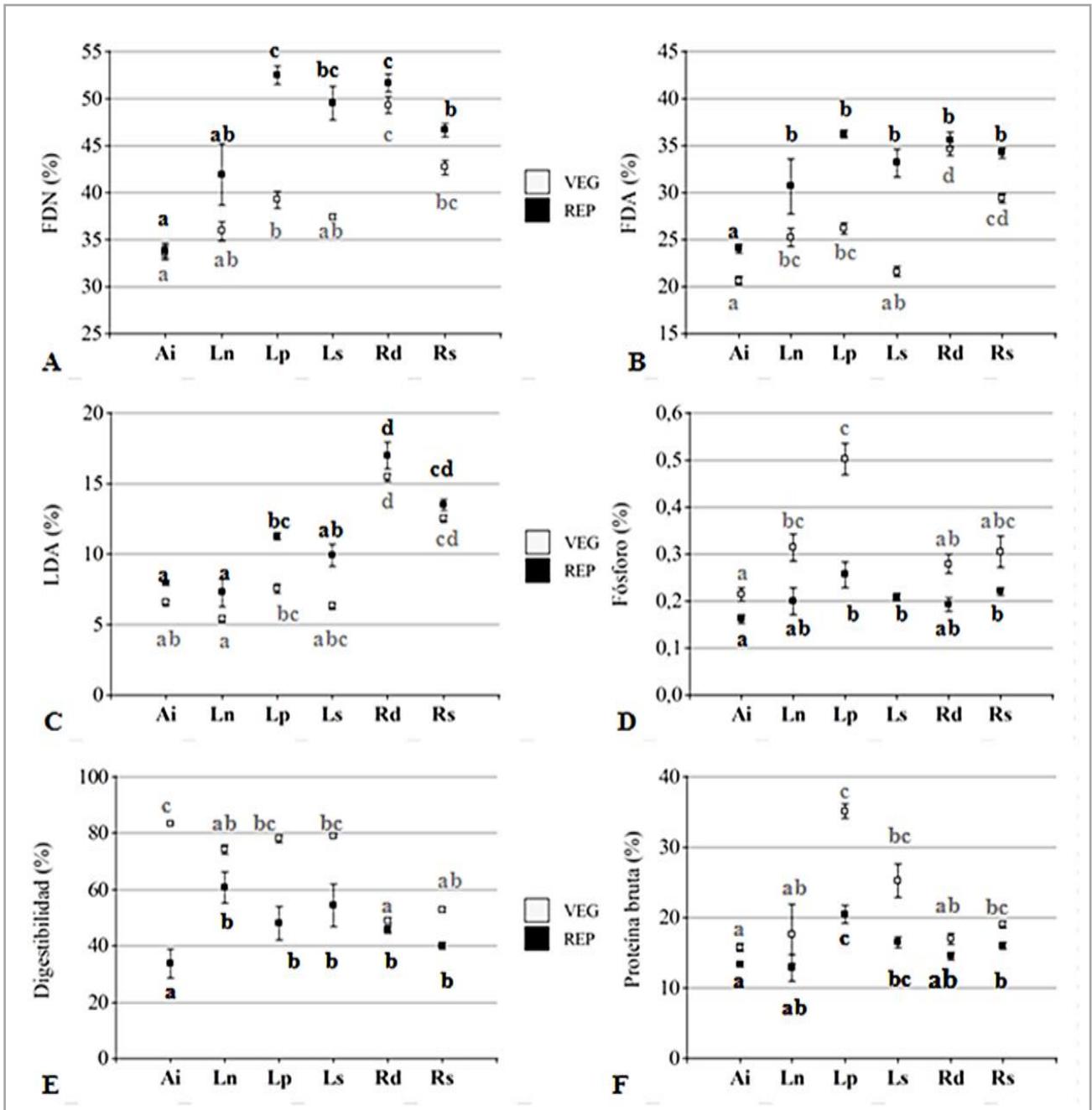


Figura 23. Comparación entre especies, según el estado fenológico, de **A)** contenido de fibra detergente neutra (FDN), **B)** contenido de fibra detergente ácido (FDA), **C)** contenido de lignina detergente ácido (LDA), **D)** contenido de fósforo, **E)** la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y **F)** el contenido de proteína bruta (PB). Ai: *Adesmia incana*, Ln: *Lathyrus nervosus*, Lp: *L. pubescens*, Ls: *L. subulatus*, Rd: *Rhynchosia diversifolia*, Rs: *R. senna*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre especies dentro de un mismo estado fenológico.

Estado vegetativo, floración y fructificación

Para observar con mayor detalle la variación de la calidad nutritiva en función del estado fenológico, se analizaron los datos desdoblado el estado reproductivo en los estados floración (FLO) y fructificación (FRU) para todas las especies salvo Ln (por muestras insuficientes). Para algunas de las especies, se vio que las variables mostraban diferencias significativas entre los estados VEG y FRU, pero no entre estos dos y FLO. Este fue el caso para el contenido de P en Ai, de LDA y DIVMS en Ls y para el contenido de FDN en Rs. Para la digestibilidad observada en Rd, en cambio, se encontraron diferencias entre los estados VEG y FLO, pero no entre estos dos y FRU. Por último, para Lp los tres estados fueron estadísticamente diferentes entre sí en cuanto a la digestibilidad (FRU $33,5 \pm 1,98$; FLO $66,4 \pm 2,21$; VEG $78,1 \pm 1,67$) y al contenido de fósforo (FRU $0,19 \pm 0,03$; FLO $0,34 \pm 0,03$; VEG $0,5 \pm 0,02$).

Corte y pastoreo

Se analizó información de Ai comparando muestras de plantas sometidas o no a corte o a pastoreo. Las únicas diferencias significativas detectadas fueron las halladas para muestras en estado vegetativo, donde las plantas pastoreadas tuvieron mayor contenido de FDA ($p=0,0211$) y LDA ($p=0,0097$) y menor DIVMS ($p=0,0160$). Por otro lado, se analizó información de Rd, comparando muestras sometidas o no a pastoreo, dentro de cada estado fenológico; sólo se encontraron diferencias significativas para el contenido de carbono en estado vegetativo, que resultó menor para las muestras pastoreadas ($p=0,0147$). Por último se comparó información de Rs, solo del estado reproductivo, de muestras sometidas o no a pastoreo y no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables.

Contenido de taninos precipitantes de proteínas

Solo se encontraron taninos precipitantes de proteínas por encima del nivel de detección de la técnica empleada para los estados vegetativo y reproductivo de las especies Rd, Rs y para las muestras correspondientes al estado reproductivo de Ai.

La diferencia en la concentración de taninos entre especies y estados fenológicos resultó altamente significativa ($<0,0001$). Las especies Rd y Rs tuvieron contenidos de taninos equivalentes entre sí y significativamente más altos que la especie Ai ($p<0,0001$), con valores de $44,2 \pm 21,6$ mg/g y $39,3 \pm 31,5$ mg/g, respectivamente, frente al valor medio de $5,2 \pm 3$ mg/g observado en Ai (Fig. 24).

Esto implica una diferencia aún más notable entre especies si se tiene en cuenta que las muestras de Ai consideradas son solo del estado reproductivo, que en general presenta contenidos mayores de taninos que el estado vegetativo para una misma especie. En las muestras de estado vegetativo de Ai, la concentración de taninos estuvo por debajo del límite de detección del método utilizado.

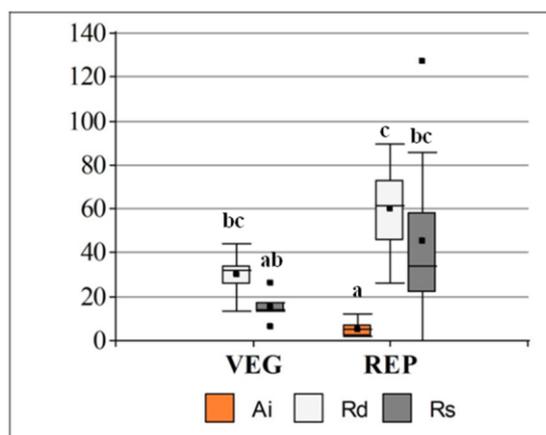


Figura 24. Contenido de taninos precipitantes de proteínas (PPP, en mg de taninos precipitantes de proteína por gramo de materia seca) según el estado fenológico para *Adesmia incana* (Ai), *Rhynchosia diversifolia* (Rd) y *R. senna* (Rs). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Cuando la comparación de estados fenológicos se realizó dentro de cada especie, se vio que la concentración de taninos fue mayor en estado reproductivo que en vegetativo tanto para Rd ($p=0,0010$) como para Rs ($p=0,0209$) (datos no mostrados). Cuando la comparación se realizó combinando especies y estados fenológicos (Fig. 24), se vio que Ai en estado reproductivo ($5,25 \pm 0,78$) se diferenció de Rd y Rs en estado reproductivo ($59,92 \pm 7,02$ y $45,20 \pm 7,26$, respectivamente). La especie Rd en estado reproductivo, que fue la que tuvo mayor contenido de taninos, se diferenció también de Rs en estado vegetativo ($15,49 \pm 3,30$), mientras que Ai y Rs en estado vegetativo tuvieron contenidos semejantes de taninos (Fig. 24). La especie Rd en estado vegetativo tuvo un contenido de taninos precipitantes de proteínas de $30,09 \pm 2,71$.

DISCUSIÓN

La comparación de los contenidos de fibras de las especies estudiadas con otras del mismo género mostró una alta variabilidad interespecífica. Los valores de FDN, FDA y LDA encontrados para *Adesmia incana* (Fig. 20) fueron intermedios respecto a los reportados para otras especies de este

género como *A. bicolor* y *A. macrostachya* (Coll y Zarza, 1992; Basconsuelo *et al.*, 2013). Por otro lado, las tres especies de *Lathyrus* estudiadas tuvieron contenidos de FDN, FDA y LDA mayores que las reportadas para las especies *L. clymenum* y *L. sphaericus* (Robles *et al.*, 2015) y *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna* tuvieron contenidos de FDN y FDA menores que los reportados para la especie emparentada *R. americana* (Muir *et al.*, 2009) (Fig. 20).

En un meta análisis realizado incluyendo 13 trabajos que estudiaron la calidad nutritiva de 10 especies de leguminosas herbáceas, se vio que la digestibilidad estimada de las leguminosas varió entre un mínimo promedio de $624 \pm 43 \text{ g kg}^{-1}$ (62%) y un máximo de $793 \pm 61 \text{ g kg}^{-1}$ (79%) (Muir *et al.*, 2011). La digestibilidad en estado reproductivo de las especies estudiadas en este trabajo varió entre 33% y 61%, valores claramente menores que los reportados como mínimos en el meta análisis mencionado. La digestibilidad en estado vegetativo, en cambio, fue mayor al 70% en todas las especies salvo en *R. diversifolia* y *R. senna*, valor a partir del cual se considera que el forraje tiene una buena digestibilidad. Estas dos especies en los dos estados fenológicos estudiados mostraron digestibilidad muy baja, lo cual reduce significativamente su valor como forrajeras. Según esta información, las especies estudiadas tendrían una digestibilidad alta en estado vegetativo pero baja en reproductivo, comparándolas con otras leguminosas herbáceas también silvestres.

La digestibilidad para otras especies de *Adesmia* que figuran en la bibliografía fue algo menor a la reportada para esta especie en estado vegetativo (Fig. 23E), con valores que van de aproximadamente 70% para *A. muricata* y *A. bicolor* y *A. latifolia* en estado reproductivo, hasta casi 80% para *A. bicolor* y *A. latifolia* en estado vegetativo (Coll y Zarza, 1992; Dall'Agnol y Gomes, 1994 *fide* Dias *et al.*, 2004a; Dodd y Orr, 1995). Por otro lado, analizando la digestibilidad de tallos y hojas por separado, Scheffer-Basso *et al.* (2001a) encontraron valores de 67,8 a 75% en hoja y de 34,8 a 60,6% en tallos para *A. latifolia*, *A. punctata* y *A. tristis*. A pesar de que Coelho (1997) menciona que la digestibilidad es especialmente alta en especies de hábito postrado por la alta relación hoja: tallo, esto no siempre se ve reflejado en los valores de digestibilidad de especies rastreras de *Adesmia* como son *A. incana*, *A. bicolor*, *A. latifolia* y *A. punctata*. La digestibilidad en estado vegetativo de las tres especies de *Lathyrus* estudiadas (Fig. 23E) es similar a la reportada Robles *et al.*, (2015) para *L. clymenum* (77% de DIVMO) y *L. sphaericus* (72% de DIVMO).

Los valores de proteína bruta encontrados en este trabajo para *A. incana* (Fig. 23F) son de intermedios a bajos con respecto a los reportados para otras especies de *Adesmia*. Los estudios referidos a la calidad nutritiva de especies de este género son más numerosos que para las especies

restantes, ya que son buenas forrajeras tolerantes a la sequía y a las heladas, con escasos o nulos compuestos antinutritivos. El rango de contenido proteico es amplio y va desde 11% para *A. macrostachya* (Basconsuelo *et al.*, 2013) hasta 27,7% en las hojas en estado vegetativo para *A. tristis* (Scheffer-Basso *et al.*, 2001a). La mayoría de los valores reportados, sin embargo, se encuentran entre 12 y 19%, empezando por un 12,9% reportado para *A. muricata*, 13,9-18% para *A. bicolor*, 16% para *A. punctata* y 18,6% para *A. latifolia*, con hasta 21,6% en hoja y 13,4% en tallos (Muñoz y Suarez, 1945 *vide* Dias *et al.*, 2004a; Coll y Zarza, 1992; Dall'Agnol y Gomes, 1994 *vide* Dias *et al.*, 2004a; Dodd y Orr, 1995; Coelho 1997; Scheffer-Basso *et al.*, 2001a; Basconsuelo *et al.*, 2013; Izaguirre de Artucio, 2017b).

El contenido de proteína bruta de *Lathyrus nervosus* observado en este estudio es menor que el reportado para las especies emparentadas *L. clymenum* (16,7%), *L. sphaericus* (17%) y *L. crassipes* (23%), mientras que el de *L. subulatus* es semejante (Fig. 23F) (Robles *et al.*, 2015; Izaguirre de Artucio, 2017c). El contenido proteico de *L. pubescens*, en cambio, es bastante superior al reportado para estas especies e incluso para *L. sativus*, una especie ampliamente cultivada en Turquía y con un largo proceso de selección, para la cual se han reportado valores de proteína bruta de entre 13,8% y 26,2% (Hanbury *et al.*, 2000; Basaran *et al.*, 2010).

Las especies de *Rhynchosia* son las únicas para las que hay datos previos publicados acerca de su contenido de proteína bruta. El valor reportado para *R. diversifolia* en estado reproductivo coincide por lo encontrado en este trabajo (14,6% en ambos casos) (Izaguirre de Artucio, 2017e), mientras que el valor vegetativo es algo mayor (17%), tal como se espera considerando que la calidad suele ser más alta en estado vegetativo. Por otro lado, el valor de 12% de PB reportado para *R. senna* (Izaguirre de Artucio, 2017f) es bastante menor que el registrado en este trabajo (Fig. 23F). Para la especie emparentada *R. americana* los valores publicados también son considerablemente menores (1,79% de N, que equivale a 11% PB según Muir *et al.*, 2009).

En el meta análisis realizado por Muir *et al.* (2011), se vio que el contenido de PB de las 10 especies de leguminosas herbáceas disminuye a medida que avanza la estación de crecimiento y que típicamente no toma valores por debajo de 70 g kg⁻¹ (7%) de PB, con un valor mínimo promedio de 151 ± 9 g kg⁻¹ (15%). Las especies estudiadas en general no tomaron valores de PB por debajo de 15% (salvo Ai, Ln y Rd en estado reproductivo) y en ningún caso tuvieron valores menores al 10%, con un mínimo promedio de 15,7%. Estos valores de contenido de proteínas se encuentran dentro del rango requerido para los forrajes destinados a la alimentación de rumiantes, que según

diferentes autores va del 7-10 al 17% (Scheffer-Basso *et al.*, 2001a; Phelan *et al.*, 2015). Asimismo, este mínimo promedio es cercano al 17% reportado como un valor frecuente para leguminosas (Minson, 1990), e incluso fue bastante mayor para *L. pubescens* en estado vegetativo y reproductivo y para *L. subulatus* en estado vegetativo.

El contenido de fósforo encontrado en *A. incana* (Fig. 23D) fue similar a los valores reportados para otras especies de *Adesmia* (0,24% para *A. bicolor*, 0,23% para *A. muricata*, 0,2% para *A. punctata* (Dodd y Orr, 1995; Izaguirre de Artucio, 2017a y 2017b). Los valores de fósforo encontrados para *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens* y *L. subulatus* variaron entre 0,2 y 0,5%, rango que contiene al 0,31% reportado para la especie emparentada y también nativa *L. crassipes* (Izaguirre de Artucio, 2017c); el valor correspondiente a *L. pubescens* es mayor en ambos estados que el dato que figura en la bibliografía (0,22%; Spinelli *et al.*, 2013). Los valores encontrados para *Rhynchosia diversifolia* (0,23%) y *R. senna* (0,26%) son notablemente mayores que los reportados previamente para estas mismas especies (0,16% para Rd y 0,11% para Rs) (Izaguirre de Artucio, 2017e y 2017f).

En relación a la variación de la calidad nutritiva con respecto al estado fenológico, tal como indica la bibliografía, la digestibilidad fue mayor en estado vegetativo que reproductivo en todas las especies estudiadas. En especies de *Adesmia* estudiadas los resultados obtenidos fueron diversos, ya que se observó también una disminución de la digestibilidad en *A. punctata*, una variación despreciable para *A. latifolia* (Scheffer-Basso *et al.*, 2001a) y en *A. bicolor*, en cambio, un aumento de la digestibilidad hacia el estado reproductivo (Vileta *et al.*, 2009). Esto podría explicarse, en parte, porque la relación hoja/tallo es más alta en las leguminosas que en otros grupos y por lo tanto la variación de esta relación y la disminución de la digestibilidad no es tan marcada como en otros grupos (Nordkvist y Aman, 1986).

Comparación con especies cultivadas típicas

La comparación de la calidad nutritiva de las leguminosas estudiadas con especies cultivadas comunes representa un buen punto de referencia para estimar su calidad respecto de cultivos tradicionales. La alfalfa (*Medicago sativa*) es la leguminosa forrajera más extendida en climas templados (Russelle, 2001) y en conjunto con el trébol blanco (*Trifolium repens*) dominan la literatura científica referida a leguminosas forrajeras en las últimas décadas (Phelan *et al.*, 2015). Por otro lado, las especies *Vicia villosa* y *Vicia sativa*, como también la alfalfa, son cultivos habituales de la zona de estudio de este trabajo y constituyen una referencia local (Krüger, 2015; Loewy *et al.*, 2015).

Se han reportado valores de PB en cultivos de alfalfa reales, medidos en campos de productores, que oscilan entre 21% y 27% aproximadamente (Cisint *et al.*, 2007). Asimismo, Georgieva *et al.* (2016) reportan para *Vicia villosa* y *V. sativa* en estado reproductivo contenidos de PB descriptos como altos, de 21% y 19%, respectivamente, mientras que para un cultivo de *V. villosa* y *V. dasycarpa* los valores oscilaron entre 23% y 25% (Assefa y Ledin, 2001). Por otro lado, en un estudio sobre un cultivo consociado de *Lolium perenne* y *Trifolium repens* con un manejo tendiente a favorecer el contenido de PB, el valor reportado para *T. repens* fue de 26% (Søgaard, 1993). En resumen, los valores de estas cinco especies cultivadas oscilan entre 19% y 27%. Los valores de PB obtenidos para *Lathyrus pubescens* en el presente estudio son superiores a estos para el estado vegetativo y entran dentro de este rango para el estado reproductivo. También entra dentro de este rango el valor obtenido para *L. subulatus* y *R. senna* en estado vegetativo, mientras que los valores obtenidos para las demás especies están por debajo de este rango.

La digestibilidad de estas especies fue muy variable, con cierta homogeneidad dentro de los géneros. En estado vegetativo, la digestibilidad de *A. incana* y de las tres especies de *Lathyrus* fue comparable a las especies cultivadas como la alfalfa o las vicias, que tienen valores de digestibilidad reportados de entre de 60% y 70% aproximadamente (Assefa y Ledin, 2001; Basigalup, 2007; Cisint *et al.*, 2007). En estado reproductivo en cambio, solo *L. nervosus* se aproximó a estos valores de digestibilidad. Las especies de *Rhynchosia* tuvieron valores de digestibilidad claramente por debajo de las especies de leguminosas cultivadas más comunes.

Contenido de taninos y factores antinutritivos

En algunas especies de *Adesmia* se han descripto la presencia de factores antinutritivos, aunque la toxicidad de este género es considerada baja (Agnese *et al.*, 1998). En este estudio el contenido de taninos biológicamente activos hallados en *A. incana* estuvo por debajo del límite de detección en estado vegetativo y, en reproductivo, dentro del límite aceptable para la nutrición de rumiantes (Muir, 2011). Coincidentemente, Vileta *et al.* (2014) reportaron contenidos de fenoles totales y taninos totales para *A. bicolor* y *A. macrostachya* que se consideran inocuas para la fermentación ruminal y el metabolismo intestinal de rumiantes.

Para las tres especies de *Lathyrus* en ambos estados fenológicos el contenido de taninos biológicamente activos fue prácticamente cero, también por debajo del límite de detección. En cuanto a otros compuestos de consumo perjudicial, se han reportado para algunas especies de este género (*L. sativus*, *L. cicera* y *L. clymenum*) casos de toxicidad por el consumo prolongado de

semillas o forraje y también efectos adversos por el consumo de estas plantas en proporciones altas en la dieta, debido a compuesto antinutritivos. En la revisión realizada por Enneking (2011) se analizan estudios de este tipo, tanto de efectos negativos como neutros o positivos de la incorporación de especies de *Lathyrus* a dietas animales o humanas. Para las especies estudiadas en el presente trabajo, sin embargo, no existen reportes de toxicidad y son por el contrario palatables y muy seleccionadas por el ganado.

La concentración de taninos precipitantes de proteínas para *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna* aumentó del estado vegetativo al reproductivo, tal como ha sido reportado para otras leguminosas herbáceas (Cooper *et al.*, 2014). La concentración promedio de taninos biológicamente activos encontrada en *R. senna* estuvo entre 25 y 45 g kg⁻¹, que es la concentración de taninos condensados requerida para reducir la degradación ruminal de proteínas, sin llegar a 55 g kg⁻¹, el valor a partir del cual el efecto empieza a ser negativo por reducir la ingesta voluntaria (Phelan *et al.*, 2015). *R. diversifolia*, en cambio, se mantuvo dentro de este rango en estado vegetativo, pero tuvo más de 55 g kg⁻¹ de taninos precipitantes de proteínas en estado reproductivo. Esta especie debería por ende ser utilizada preferentemente en estado vegetativo o en mezclas con otras forrajeras para utilizar los taninos para reducir el riesgo de timpanismo o controlar los parásitos gastrointestinales (Muir, 2011).

CONCLUSIÓN

La información disponible acerca de la calidad nutritiva de las leguminosas herbáceas nativas estudiadas en este capítulo es escasa o inexistente, por lo que los resultados presentados constituyen un aporte original en la evaluación de estas especies como forraje. Las especies analizadas fueron variables en su calidad nutritiva y en general la variación fue menor dentro de especies del mismo género. La madurez disminuyó la calidad nutritiva para casi todas las especies y variables, tal como reporta la bibliografía específica. La comparación de muestras pastoreadas y no pastoreadas de *A. incana* en estado vegetativo mostraron un incremento en el contenido de fibras y una reducción en la digestibilidad de las muestras en sometidas a pastoreo, aunque sería necesario corroborar esta información mediante un estudio más detallado, dirigido especialmente a responder esta pregunta.

Adesmia incana tuvo contenidos de fibras y de proteína bruta intermedios respecto a otras especies silvestres del género y una digestibilidad algo menor. En estado vegetativo, la digestibilidad fue aceptable en comparación con leguminosas forrajeras cultivadas, aunque no en estado reproductivo.

El contenido de proteína bruta tomó valores por encima del 10%, por lo que se encuentran dentro del rango requerido para los forrajes destinados a la alimentación de rumiantes. Se vio que en general la calidad se redujo con la madurez. La toxicidad de las especies de este género es considerada baja y en este trabajo se vio que el contenido de taninos biológicamente activos fue despreciable en estado vegetativo y muy bajo en reproductivo, por lo que la presencia de factores antinutricionales en esta especie no es en principio una preocupación.

Las tres especies de *Lathyrus* estudiadas tuvieron contenidos de fibra mayores que las reportadas para especies emparentadas y valores de digestibilidad similares, siendo ésta alta en estado vegetativo para las tres especies con respecto a leguminosas forrajeras cultivadas. El contenido de proteína bruta resultó de alto a muy alto en estas especies coincidentemente con lo reportado para otras especies del género, tanto en estado vegetativo como reproductivo, aunque existió una reducción en la calidad nutritiva debido al cambio de estado fenológico. En particular es destacable el contenido de proteína bruta en estado vegetativo de *L. pubescens* y *L. subulatus*, que estuvieron por encima del 35% y 25%, respectivamente. El contenido de taninos biológicamente activos en estas especies estuvo por debajo del límite de detección.

Las especies del género *Rhynchosia* fueron, entre las especies estudiadas, las que mostraron una menor calidad nutritiva en términos generales. El contenido de fibras fue alto en relación a las demás especies y la digestibilidad, tanto en estado vegetativo como reproductivo, estuvo por debajo de 55%. El contenido de proteína bruta fue moderado y coincidente con lo reportado en otros trabajos para las mismas especies. La concentración de taninos precipitantes de proteínas fue mayor que para las demás especies; en *R. senna*, la concentración se mantuvo dentro de un rango moderado, en el cual los taninos cumplen funciones de optimización del aprovechamiento de proteínas y potencialmente de controlador de parásitos gastrointestinales. *R. diversifolia*, en cambio, excedió en estado reproductivo ese rango y tomó valores que podrían comenzar a mostrar efectos adversos, como la reducción de la ingesta voluntaria por reducción de la palatabilidad, si se consumiera en proporciones altas en la dieta. Sin embargo, ambas especies podrían ser utilizadas en mezclas y aportar los taninos de los cuales las especies restantes estudiadas en este trabajo carecen.

CONSIDERACIONES FINALES

La revisión de listados botánicos y la caracterización de especies utilizando información disponible en la literatura científica permitieron identificar 16 leguminosas herbáceas nativas con potencial para la restauración productiva de pastizales naturales del sudoeste bonaerense. Mediante la búsqueda de poblaciones en el área de estudio se detectó la presencia de 11 de estas leguminosas herbáceas nativas. Las especies con mayor prioridad de investigación según la caracterización realizada y las poblaciones encontradas son *Adesmia filipes*, *A. incana*, *A. muricata*, *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens*, *L. subulatus*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna*.

En cuanto a la germinación de las especies testeadas y la dormición seminal que exhiben, se puede concluir que todas tienen un porcentaje de semillas dormantes, que este porcentaje es diferente para cada especie y que la dormición puede interrumpirse mediante la aplicación de tratamientos pregerminativos, lo cual apoya la primera hipótesis planteada. También se pudo corroborar la segunda hipótesis, en la que se planteó que estas leguminosas tienen, como la mayoría de las especies de su familia, una dormición seminal de tipo física, y que la forma más efectiva de interrumpirla es romper la cubierta impermeable de la semilla mediante algún tipo de escarificación física. En los ensayos de germinación se observó que para todas las especies, el tratamiento más efectivo fue la escarificación física manual, en la que la cubierta seminal queda visiblemente interrumpida. Por último, las respuestas variables de las especies a los tratamientos aplicados corroboran la tercera hipótesis: para su germinación, cada especie posee características morfológicas en las semillas que determinan distintos rangos óptimos de temperatura y tiempos de exposición en los tratamientos pregerminativos de escarificación térmica.

El aislamiento de cepas nodulantes a partir de nódulos colectados a campo fue exitoso tanto para *Adesmia incana* como para *Lathyrus pubescens*, aunque solo esta última especie noduló en el ensayo de fijación biológica de nitrógeno. La producción de biomasa de las plantas sometidas al tratamiento con nitrógeno simbiótico fue mayor a la de plantas sin suministro de nitrógeno, aunque menor que la de las plantas del tratamiento con nitrógeno mineral. Por otro lado, el contenido de nitrógeno de las plantas del tratamiento con nitrógeno simbiótico y con nitrógeno mineral fue equivalente. Aunque la eficiencia de fijación no llegó a cubrir completamente los requerimientos de la planta, la fijación biológica de nitrógeno le permitió a *L. pubescens* crecer, a pesar de la única fuente de nitrógeno disponible era el nitrógeno atmosférico obtenido por medio de la simbiosis, corroborando la hipótesis planteada.

Las especies estudiadas mostraron gran variabilidad en su calidad nutritiva. *Adesmia incana*, *Lathyrus nervosus*, *L. pubescens* y *L. subulatus*, a pesar de ser silvestres y no haber sido modificadas mediante un proceso de selección y mejoramiento, mostraron en estado vegetativo valores de contenido de fibra y digestibilidad equivalentes a los de leguminosas forrajeras cultivadas, que las hacen aptas para su utilización como forrajeras. El contenido de proteína bruta fue alto y estuvo dentro del rango de valores típicos para leguminosas, corroborando la primera hipótesis de trabajo. El contenido de proteína bruta de las especies de *Lathyrus* fue incluso superior a la de muchas leguminosas forrajeras convencionales, lo cual orienta nuevamente a pensar estas diferencias ante estrategias de selección dirigida, valorizando los hallazgos en especies silvestres. Por último, para todas las especies estudiadas se constató que la calidad es mejor en estado vegetativo que reproductivo, corroborando la segunda hipótesis de trabajo. El efecto del pastoreo sólo se corroboró en algunos parámetros de las muestras en estado vegetativo de *A. incana* (mayor FDA y LDA, menor DIVMS) y de *R. diversifolia* (menor contenido de C con pastoreo) y los resultados son contradictorios, por lo que la tercera hipótesis de trabajo se corroboró solo parcialmente.

De las especies estudiadas, *Lathyrus pubescens* es probablemente la que posee más características que la hacen promisorias para su utilización en sistemas productivos. Combinando la información obtenida en este estudio con otra publicada anteriormente se puede decir que entre sus características agronómicas ventajosas se encuentran su capacidad como fijadora de nitrógeno atmosférico, palatabilidad, calidad nutritiva (alto contenido de proteínas, alta digestibilidad, bajo contenido de fibras y de taninos), la producción abundante de forraje, sus raíces profundas y rizomas que la vuelven más tolerante a la sequía y al pastoreo, la tolerancia al anegamiento, al frío y a la sombra moderada y su aptitud como flora apícola, entre otras. Desde un punto de vista práctico, algunos aspectos de su desarrollo y reproducción también facilitarían el trabajo con esta especie. Entre éstos se destacan que tiene semillas y vainas de gran tamaño, que las vainas tienen disposición apical y en infrutescencias en la planta, que la floración y semillazón están concentradas en el tiempo (aproximadamente un mes en la zona de estudio) y que es por estas razones potencialmente fácil de cosechar adaptando maquinaria existente. Por otro lado, la viabilidad y el poder germinativo de las semillas es excelente para tratarse de una especie silvestre y aunque exhibe dormición seminal, hay tratamientos pregerminativos de fácil aplicación que la interrumpen.

Aunque el número de atributos deseables es alto, esta especie también exhibe algunos rasgos poco deseables, que probablemente podrían ser superados mediante la evaluación comparativa de

ecotipos y la selección dirigida. Estas características no deseadas desde un punto de vista agronómico son la dehiscencia elástica de las vainas, la disponibilidad de semilla actualmente limitada por no ser una especie de uso comercial, la presencia de dormición seminal física, un establecimiento probablemente lento y una resistencia al pisoteo desconocida.

El objetivo de este estudio, sin embargo, no es seleccionar la especie que reúna un mayor número de atributos deseables y la menor cantidad de desventajas posibles, sino indagar en la diversidad disponible de leguminosas herbáceas nativas y conocer mejor sus cualidades como especies potencialmente aptas para utilizarse en agroecosistemas. De las especies estudiadas, *Adesmia incana* y *Rhynchosia senna* no son las de mejor calidad nutritiva ni las de mayor desarrollo vegetativo, pero sí las más frecuentemente encontradas en potreros pastoreados, por lo que es probable que su tolerancia al pisoteo y la defoliación sea superior. También son estas dos especies las que habitan los suelos más pobres y crecen en áreas con menor disponibilidad de agua. Las especies *Lathyrus nervosus* y *L. subulatus* probablemente no sean resistentes a la sequía según los ambientes en los que se lo ha observado creciendo en el campo y probablemente no desarrollan una cantidad de forraje equivalente a *L. pubescens*, pero la primera es tolerante a condiciones de anegamiento y ambas, por su menor porte, tienen la capacidad de crecer trepando arbustos, lo cual las protege del pastoreo excesivo. Las especies *A. incana*, *R. diversifolia* y *R. senna* tienen hábito rastrero, lo cual las hace más resistentes al pastoreo porque las áreas meristemáticas tienen menor probabilidad de ser dañadas.

Dentro de un mismo grupo funcional de especies como son las leguminosas, la variación dada por la diversidad de especies promueve más intensamente las funciones ecosistémicas y la estabilidad. La restauración productiva promueve prácticas de restauración que beneficien tanto al ecosistema como a la población humana y por eso el aumento de la diversidad de especies es un atributo deseable de los agroecosistemas restaurados. Para esto es necesario continuar trabajando en líneas de investigación que permitan disponer de información y, a futuro, de semillas y tecnologías de implantación y cosecha para hacer uso de la mayor cantidad posible de estas especies.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamovich AH, MC Tellería, NB Díaz. 2001. ***Bombus* species and their associated flora in Argentina.** Bee World 82(2): 76-87.
- Aerts RJ, McNabb WC, Molan A, Brand A, Barry TN, Peters JS. 1999. **Condensed tannins from *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus* exert different effects on the in vitro rumen degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) protein.** J. Sci. Food Agric 79: 79–85.
- Agnese AM, Juliani HR, Cabrera JL. 1998. **Chemotaxonomic features of lipophilic component in *Adesmia* species (Leguminosae).** Pl. Syst. Evol. 210: 141-145.
- Alí HH, Tanveer A, Nadeem MA, Asghar HN. 2011. **Methods to break seed dormancy of *Rhynchosia capitata*, a summer annual weed.** Chil. J. Agr. Res. 71(3): 483-487.
- Alí HH, Tanveer A, Nadeem MA, Asghar HN, Javaid MM. 2013. **Germination ecology of *Rhynchosia capitata*: an emerging summer weed in Asia.** Planta Daninha 31(2): 249-257.
- Allen ON, Allen EK. 1981. **The Leguminosae: a Source Book of Characteristics, Uses and Nodulation.** University of Wisconsin Press, Madison, EEUU. 812 pp.
- Alonso SI, Guma IR, Nuciari MC, van Olphen A. 2009. **Flora de un área de la Sierra La Barrosa (Balcarce) y fenología de especies con potencial ornamental.** Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo XLI (2): 23-44.
- Altieri MA. 1995. **Agroecology: The Science of Sustainable Agriculture.** 2ª ed. Westview Press. Boulder, Colorado, EEUU. 433 pp.
- Altieri MA, Nicholls CI. 2003. **Soil fertility management and insect pests: harmonizing soil and plant health in agroecosystems.** Soil Till. Res. 72: 203–211.
- Altieri MA, Nicholls CI. 2007. **Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación.** Ecosistemas 16 (1): 3-12.
- Altieri MA, Nicholls CI. 2012. **Agroecología: única esperanza para la soberanía alimentaria y la resiliencia socioecológica.** Agroecología 7(2): 65-83.
- Altieri MA, Funes-Monzote FR, Petersen P. 2012. **Agroecologically efficient agricultural systems for smallholder farmers: contributions to food sovereignty.** Agron. Sustain. Dev. 32: 1–13.
- Álvarez CR, Álvarez R, Steinbach H. 2000. **Predictions of available nitrogen content in soil profile depth using available nitrogen concentration in surface layer.** Commun. Soil Sci. Plan. 32: 759-769.
- Amarger N. 2001. **Rhizobia in the field.** Adv. Agron. 73: 109-168.
- Andrada AC, Tellería MC. 2005. **Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Caldén district (Argentina): botanical origin and protein content.** Grana 44(2): 115-122.
- Assefa G, Ledin I. 2001. **Effect of variety, soil type and fertilizer on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures.** Anim. Feed Sci. Tech. 92: 95-111.
- Atkins, CA. 1984. **Efficiencies and inefficiencies in the legume/*Rhizobium* symbiosis. A review.** Plant Soil 82(3): 273-284.
- Badgley C, Moghtader J, Quintero E, Zakem E, Chappell MJ, AvilesVazquez K, Samulony A, Perfecto I. 2007. **Organic agriculture and the global food supply.** Renew. Agr. Food Syst. 22: 86–108.

- Baeza MJ, Vallejo VR. 2006. **Ecological mechanisms involved in dormancy breakage in *Ulex parviflorus* seeds.** Plant Ecol. 183: 191–205.
- Baldi G, Paruelo JM. 2008. **Land-use and land cover dynamics in South American temperate grasslands.** Ecol. Soc. 13(2). Disponible en línea en www.ecologyandsociety.org/vol13/iss2/art6/ (consultado por última vez el 28/08/2017).
- Barimah-Asare J. 1991. **Symbiotic nitrogen fixation in two species of Leguminosae: *Lathyrus maritimus* (L) Bigel. and *Oxytropis campestris* (L) DC.** Tesis de maestría. Departamento de Biología, Universidad Memorial de Newfoundland, Canadá. 119 pp.
- Barrientos L, Badilla A, Mera M, Montenegro A, Gaete N, Espinoza N. 2003. **Performance of *Rhizobium* strains isolated from *Lathyrus sativus* plants growing in southern Chile.** Lathyrus Lathyrism Newsletter 3: 8-9.
- Basaran U, Acar Z, Onal Asci O, Mut H, Tongel O. 2010. **Cultivated local *Lathyrus* varieties in Turkey and their some agronomical traits.** En: Porqueddu C, Ríos S (eds). The contributions of grasslands to the conservation of Mediterranean biodiversity. Zaragoza: CIHEAM/CIBIO/FAO/SEEP. Série A. Séminaires Méditerranéens 92). Pp 129 -133.
- Basconsuelo S, Grosso M, Kraus T, Bianco C, Bianco L, Vileta D, Malpassi R. 2013. **Leguminosas nativas con potencial forrajero: *Adesmia bicolor*.** UniRío Editora, 1° edición. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 23 pp.
- Basconsuelo S, Grosso M, Molina MG, Malpassi R, Kraus T, Bianco C. 2011. **Comparative root anatomy of papilionoid Legumes.** Flora 206: 799– 807.
- Basigalup DHR (ed). 2007. **El cultivo de la alfalfa en la Argentina.** Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. 479 pp.
- Baskin CC. 2003. **Breaking physical dormancy in seeds – focussing on the lens.** New Phytol. 158: 227–238.
- Baskin CC, Baskin JM. 1998. **Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination.** Academic Press. San Diego, California, EEUU. 666 pp.
- Baskin CC, Baskin JM. 2008. **Advances in understanding seed dormancy at the whole-seed level: an ecological, biogeographical and phylogenetic perspective.** Acta Botánica Yunnanica 30(3): 279-294.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. **Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination.** Elsevier/Academic Press, 2° edición. San Diego, California, EEUU. 1600 pp.
- Baskin JM, Baskin CC. 2000. **Classification, Biogeography and Phylogenetic Relationships of Seed Dormancy.** Pp 518-544 en: Smith RD, JB Dickie, SL Linington, HW Pritchard, RJ Probert (eds). Seed conservation: Turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido. 1023 pp.
- Baskin JM, Baskin CC. 2004. **A classification system for seed dormancy.** Seed Sci. Res. 14: 1–16.
- Baskin JM, Baskin CC, Li X. 2000. **Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds.** Plant Spec. Biol. 15: 139-152.
- Battistin A, Fernández A. 1994. **Karyotypes of four species of South America natives and one cultivated species of *Lathyrus* L.** Caryologia 47(3-4): 325-330.
- Beekman M, Ratnieks FLW. 2000. **Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L.** Funct. Ecol. 14: 490– 496.

- Bell LW, Bennett RG, Ryan MH, Clarke H. 2010. **The potential of herbaceous native Australian legumes as grain crops: a review.** *Renew. Agr. Food Syst.* 26(1): 72–91.
- Bemhaja M, Pittaluga O. 2006. **30 años de Investigación en Suelos de areniscas INIA Tacuarembó.** Serie Técnica N° 159 del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Editorial Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. 436 pp.
- Bernardello G, Galetto L, Forcone A. 1999. **Floral nectar chemical composition of some species from Patagonia. II.** *Biochem. Syst. Ecol.* 27: 779-790.
- Bettelheim KA, Kuzevski A, Gilbert RA, Krause DO, McSweeney CS. 2005. **The diversity of *Escherichia coli* serotypes and biotypes in cattle faeces.** *J. Appl. Microbiol.* 98: 699–709.
- Bianco CA. 2002. **Growth forms, taxonomy, distribution, and uses of *Adesmia* species (Leguminosae) in Central Argentina.** Editorial J. Kramer. Berlin, Alemania. 157 p.
- Bianco L. 2014. **Rhizobial infection in *Adesmia bicolor* (Fabaceae) roots.** *Arch. Microbiol.* 196: 675–679.
- Bianco L, Angelini J, Fabra A, Malpassi R. 2013. **Diversity and symbiotic effectiveness of indigenous rhizobia nodulating *Adesmia bicolor* in soils of central Argentina.** *Curr. Microbiol.* 66: 174–184.
- Bianco CA, Kraus TA. 1996. **Las especies de *Lathyrus* (Leguminosae) silvestres y cultivadas del sur de la Provincia de Córdoba, República Argentina.** *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam* 9(1): 33-48.
- Biondo E, Battistin A. 2001. **Comparacao da eficiencia de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de graos de polen em especies dos generos *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour.** *Bioikos, PUC-Campinhas* 15(1): 39-44.
- Boyle TH, Hladun K. 2005. **Influence of seed size, testa color, scarification method and immersion in cool or hot water on germination of *Baptisia australis* (L.) R. Br. seeds.** *Hortic. Sci.* 40(6): 1846-1849.
- Bremner JM, Mulvaney CS. 1982. **Nitrogen total.** En: Page AL, Miller RH, Keeney DR (eds). *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties.* American Society of Agronomy, Madison, EEUU. pp. 595.
- Brown CS. 2004. **Are functional guilds more realistic management units than individual species for restoration?** *Weed Technol.* 18: 1566–1571.
- Brummitt RK, Powell CE. 1992. **Authors of plants names.** Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido. 732 pp.
- Burkart A. 1943. **Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas.** Ediciones Acme Agency, 1° edición. Buenos Aires, Argentina. 590 pp.
- Burkart A. 1952. **Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas.** Ediciones Acme Agency, 2° edición. Buenos Aires, Argentina. 569 pp.
- Burkart A. 1967. **Sinopsis del género sudamericano de leguminosas *Adesmia* DC.** *Darwiniana* 14(2-3): 463-573.
- Burkart A. 1987. **Leguminosae.** En: Burkart NST, Bacigalupo NM (eds). *Flora Ilustrada de Entre Rios, Argentina.* Colección Científica del INTA N° 6: 695-704.
- Burt R. 2004. **Soil Survey Laboratory Methods Manual.** Burt R (ed). Editor Soil Survey Investigations Report 42, version 4. Pp: 347-352.

- Butchart SHM, Walpole M, Collen B, van Strien A, Scharlemann JPW, Almond REA, ..., Watson R. 2010. **Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines**. *Science* 328(5982): 1164–1168.
- Cabezudo B, Casimiro-Soriguer Solanas F, Pérez-Latorre AV, Dana E, Ramírez J. 2009. ***Hoffmannseggia glauca* (Ortega) Einferr (Fabaceae, Caesalpinioideae): nuevo metáfito en el sur de la Península Ibérica (Málaga, España)**. *Acta Botánica Malacitana* 34: 261-263.
- Cabrera AL. 1967. **Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte III: Piperáceas a Leguminosas**. Colección Científica INTA.
- Cabrera AL. 1971. **Fitogeografía de la República Argentina**. *B. Soc. Argent. Bot.* 14(1-2): 1-50.
- Campo AM, Rosell P, Benedetti G, Gil V. 2012. **Geografía física del suroeste bonaerense. Guía de observaciones de campo**. IX Jornadas Nacionales de Geografía Física. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.
- Campo de Ferreras AM, Capelli de Steffens AM, Diez PG. 2004. **El clima del suroeste bonaerense**. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur. 99 pp.
- Camuñas E, Crespo MB. 1999. **The genus *Hoffmannseggia* Cav. (Fabaceae, Caesalpinioideae), new for the Mediterranean Flora**. *Israel J. Plant Sci.* 47: 283-286.
- Cano E. 1988. **Pastizales naturales de La Pampa. Tomos I: Descripción de las especies más importantes**. Convenio AACREA, Gobierno de La Pampa. Buenos Aires, Argentina. 425 pp.
- Carlisle L, Miles A. 2013. **Closing the knowledge gap: How the USDA could tap the potential of biologically diversified farming systems**. *J. Agric. Food Syst Community Dev.* 3(4): 219-225.
- Carrasco AE, Sánchez NE, Tamagno LE. 2012. **Modelo agrícola e impacto socio-ambiental en la Argentina: monocultivo y agronegocios**. Serie Monográfica Sociedad y Ambiente: Reflexiones para una nueva América Latina. 135 pp.
- Carrion AA, Brack EP. 2012. **Eudicotiledóneas ornamentais dos campos do bioma Pampa no Rio Grande do Sul**. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 18(1): 23-37.
- Cassman KG, Whitney AS, Stockinger KR. 1980. **Root growth and dry matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source**. *Crop Sci.* 20: 239-244.
- Catorci A, Tardella FM, Cesaretti S, Bertellotti M, Santolini R. 2012. **The interplay among grazing history, plant-plant spatial interactions and species traits affects vegetation recovery processes in Patagonian steppe**. *Community Ecol.* 13(2): 253-263.
- Ceccon E. 2013. **Restauración en bosques tropicales: fundamentos ecológicos, prácticos y sociales**. Ediciones Díaz de Santos, 1º edición. México DF, México.
- Celsi CE, Monserrat AL. 2008. **Vascular plants, coastal dunes between Pehuen-có and Monte Hermoso, Buenos Aires, Argentina**. *Check List* 4(1): 37–46.
- Censo Nacional Agropecuario (CNA)**. 2002. Disponible en línea en www.indec.gov.ar/index_agropecuario.asp (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Chalup L, Grabiele M, Solís Neffa V, Seijo G. 2012. **Structural karyotypic variability and polyploidy in natural populations of the South American *Lathyrus nervosus* Lam. (Fabaceae)**. *Plant. Syst. Evol.* 298: 761–773.
- Chirino CC, Norlander Grahn KM, Robles LE. 1988. **Determinación de proteína bruta de algunas especies forrajeras de La Pampa**. *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam* 3(2): 57-74.

- Ciotti EM, Castelán ME, Tomei CE, Hack CM. 2004. **Caracterización preliminar de plantas de *Trifolium polymorphum* Poir.** Revista Científica Agropecuaria 8(2): 25-31.
- Cisint JC, Martín GO, Toll Vera JR, Nicosia MG; Pellegrino MB, Villaverde J. 2007. **Producciones promedio de materia seca de alfalfares (*Medicago sativa* L.) sin reposo invernal y calidad forrajera en condiciones reales de productores en el departamento Trancas, Tucumán.** Avances en la producción vegetal y animal del NOA 2005 – 2007: 478-482.
- Coelho LGM. 1997. **Citogenética e qualidade da forragem de espécies de *Adesmia* DC. nativas no Rio Grande do Sul.** Revista de Ciencia Rural 27(2): 367- 368.
- Coelho LGM, Battistin A. 1998. **Meiotic behavior of *Adesmia* DC. (Leguminosae-Faboideae) species native to Rio Grande do Sul, Brazil.** Genet. Mol. Biol. 21(3): 41-45.
- Coll J, Zarza A. 1992. **Leguminosas nativas promisorias: Trébol polimorfo y babosita.** Boletín de Divulgación N° 22, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Montevideo, Uruguay. 20 pp.
- Conterato IF. 2009. **Caracterizacao de populacoes de *Trifolium polymorphum* Poir., *T. argentinense* Speg. e *T. riograndense* Burkart nativas do Rio Grande do Sul: número cromossômico, morfología e anficarpia.** Tesis doctoral. Universidad Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduacao em Zootecnia. Porto Alegre, Brasil.
- Cooper CE, Naumann HD, Lambert BD, Muir JP, Kattes DH. 2014. **Legume protein precipitable phenolic and nutrient concentration responses to defoliation and ontogeny.** J. Plant Interact., 9(1): 468-477.
- Cooper M, Johnson A. 1984. **Poisonous Plants in Britain and their Effects on Animals and Man.** Editorial HM Stationery Office. Londres, Reino Unido. 351pp.
- Córdoba SA, Cocucci AA. 2017. **Does hardness make flower love less promiscuous? Effect of biomechanical floral traits on visitation rates and pollination assemblages.** Arthropod-Plant Inte. 11(3): 299–305.
- Cuomo GJ, Johnson DG, Head WA. 2001. **Interseeding kura clover and birdsfoot trefoil into existing cool-season grass pastures.** Agron. J. 93 (2): 458–462.
- Dall’Agnol M, Gomes KE. 1994. **Qualidade de Forragem de Leguminosas do Gênero *Adesmia*.** Reunión Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia 31, p. 653.
- De Faria SM, Lewis GP, Sprent JI, Sutherland JM. 1989. **Occurrence of nodulation in the Leguminosae.** New Phytol. 111: 607–619.
- De Ponti T, Rijk B, van Ittersum MK. 2012. **The crop yield gap between organic and conventional agriculture.** Agr. Syst. 108: 1–9.
- De Schutter O. 2010. **Report of the Special Rapporteur on the right to food.** Human Rights Council Sixteen Session, agenda item 3. Promotion and Protection of All Human Rights, Civil, Political, Economic, Social and Cultural Rights, Including the Right to Development. Report Submitted by the Special Rapporteur on the Right to Food Olivier De Schutter.
- Delucchi G, Correa RF. 1992. **Las especies vegetales amenazadas de la provincia de Buenos Aires.** En: Situación Ambiental de la Provincia de Buenos Aires. A. Recursos y rasgos naturales en la evaluación ambiental. Vol. 2. 38 pp.
- Dettenborn GR. 2009. **Investigacao de isoflavonas em especies de leguminosas nativas do sul do Brasil, com enfase em *Trifolium riograndense* Burkart.** Tesis de maestría en Ciencias Farmacéuticas. Faculdade de Farmacia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2016. **InfoStat versión 2016**. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dias PMB, Schifino-Wittmann MT, Dall'Agnol M. 2004a. **Adesmia DC: Estado atual do conhecimento e perspectivas de uso de uma forrageira nativa de alta qualidade**. Revista Científica Rural 9(2): 60-71.
- Dias PMB, Dall'Agnol M, Schifino-Wittmann MT. 2004b. **Genetic diversity in the Brazilian species of Adesmia DC (Leguminosae) as assessed by RAPD**. Plant Genetic Resources 2(1): 43–50.
- Distel RA. 2016. **Grazing ecology and the conservation of the Caldenal rangelands, Argentina**. J. Arid Environ. 134: 49-55.
- Dittus DA, Muir JP. 2010. **Breaking germination dormancy of Texas native perennial herbaceous legumes**. Native Plants Journal 11(1): 5–10.
- Dodd MB, Orr SJ. 1995. **Seasonal growth, phosphate response, and drought tolerance of 11 perennial legume species grown in a hill-country soil**. New Zeal. J. Agr. Res. 38(1): 7-20.
- Dumont LJC, Anrique GR, Alomar CD. 2006. **Efecto de dos sistemas de determinación de materia seca en la composición química y calidad del ensilaje directo de avena en diferentes estados fenológicos**. Agr. Tec. 65(5): 388-396.
- Dynes RA, Henry DA, Masters DG. 2003. **Characterising Forages for Ruminant Feeding**. Asian Austral J. Anim. Sci. 16(1): 116-123.
- Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE. 1995. **4500-PE Ascorbic Acid Method**. En: Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE (eds). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, 19° edición. Washington DC, EEUU. Pp: 4-113-114.
- Elver H. 2017. **Report of the Special Rapporteur on the right to food**. Human Rights Council Thirty-fourth Session, agenda item 3. Promotion and Protection of All Human Rights, Civil, Political, Economic, Social and Cultural Rights, Including the Right to Development. Report Submitted by the Special Rapporteur on the Right to Food Hilal Elver.
- Enneking D. 2011. **The nutritive value of grasspea (*Lathyrus sativus*) and allied species, their toxicity to animals and the role of malnutrition in neurolathyrism**. Food Chem. Toxicol. 49(3): 694-709.
- Erisman JW, Galloway JN, Seitzinger S, Bleeker A, Dise NB, Petrescu AMR, *et al.* 2013. **Consequences of human modification of the global nitrogen cycle**. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 368:20130116.
- Evenson RE, Gollin D. 2003. **Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000**. Science 300: 758-762.
- FAO. 1995. **Manual técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno Leguminosa/Rhizobium**. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. Aprox. 100 pp.
- Fagúndez GA, Reinoso PD, Aceñolaza PG. 2016. **Caracterización y fenología de especies de interés apícola en el departamento Diamante (Entre Ríos, Argentina)**. B. Soc. Argent. Bot. 51 (2): 243-267.
- Fenner M, Thompson K. 2005. **Seed dormancy**. En: Fenner M, Thompson K. The ecology of seeds. Cambridge University Press. Nueva York, EEUU. Pp. 97-109.

- Fernández JC, Benitez CA, Royo Pallarés O, Pizzio R. 1983. **Principales forrajeras nativas del medio este de la provincia de Corrientes.** INTA EEA Mercedes, Corrientes. Serie Técnica N° 23, 2° edición: 76-77.
- Fernández OA. 2003. **Los pastizales naturales del Caldenal.** Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (ISSN 0327-8093). Tomo LVII: 68-91.
- Fernández VA, Galetto L, Astegiano J. 2009. **Influence of flower functionality and pollination system on the pollen size-pistil length relationship.** Org. Divers. Evol. 9:75–82.
- Ferrucci MS, Cáceres Moral SA, Galbany Casals M, Martínez WJ. 2007. **Las plantas trepadoras del macrosistema Iberá.** 13^{ra} Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE. Corrientes, Argentina.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006. **Seed dormancy and the control of germination.** Tansley review. New Phytol. 171: 501-523.
- Fischer J, Abson DJ, Bustic V, Chappell MJ, Ekroos J, Hanspach J, Kuemmerle T, Smith HG, von Wehrden H. 2014. **Land Sparing Versus Land Sharing: Moving Forward.** Conserv. Lett. 7(3): 149–157.
- Fischer S, Ramirez C, Wilckens R, Finot VL. 2009. **Características morfoanatómicas y germinación de semillas de paramela (*Adesmia emarginata* Clos, Fabaceae).** Agro-Ciencia: Revista Chilena Ciencias Agropecuarias 25 (2): 89–99.
- Fischer S, Berti M, Wilckens R, Baeza M, Pastene E, Inostroza L, Tramon C, Gonzalez W. 2011. **Characterization and propagation of some medicinal plants in the central-south region of Chile.** Ind. Crop. Prod. 34: 1313– 1321.
- Foley JA *et al.*, 2005. **Global Consequences of Land Use.** Science 309: 570–574.
- Forcone A, Galetto L, Bernardello L. 1997. **Floral Nectar Chemical Composition of Some Species from Patagonia.** Biochem. Syst. Ecol. 25(5): 395-402.
- Foster JG. 1990. **Flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.): A new forage species? A comprehensive review.** Adv. Agron. 43: 241-313.
- Foster JL, Adesogan AT, Carter JN, Myer RO, Blount AR, Phatak SC. 2009. **Intake, digestibility, and nitrogen retention by sheep supplemented with warm-season legume hays or soybean meal.** J. Anim. Sci. 87: 2891–2898.
- Franke LB, J Baseggio. 1998. **Superação da Dormência de Sementes de *Desmodium incanum* DC. e *Lathyrus nervosus* Lam.** Revista Brasileira de Sementes 20(2):182-186.
- Frohne D, Pfänder J. 1984. **A Colour Atlas of Poisonous Plants.** Wolfe Publishing Ltd. Timber Press Inc. Londres, Reino Unido. 292 pp.
- Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Mantecón AR. 2004. **Tannins and ruminant nutrition.** Span. J. Agric. Res. 2 (2): 191-202.
- Gage DJ. 2004. **Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes.** Microbiol. Mol. Biol. R. 68(2): 280-300.
- Galloway JN, Townsend AR, Erismann JW, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA. 2008. **Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions.** Science 320: 889-892.
- Georgieva N, Nikolova I, Naydenova Y. 2016. **Nutritive value of forage of vetch cultivars (*Vicia sativa* L., *Vicia villosa* ROTH.).** Banat's Journal of Biotechnology 7(14): 5-12

- Gibson AH. 1980. **Methods for legumes in glasshouses and controlled environment cabinets.** En: Bergensen FL (ed). *Methods for evaluating biological nitrogen fixation.* Canberra: CSIRO/John Wiley. Pp:139-184.
- Gigón R, Vigna M, López R, Istilart C. 2013. **Relevamiento de malezas en cultivos de soja en el sur de la provincia de Buenos Aires, Argentina.** Trabajo presentado en el XXI Congreso Latinoamericano de Malezas, México.
- Gliessman SR. 1998. **Agroecology: ecological processes in Sustainable Agriculture.** Ann Arbor Press. Chelsea, Manhattan, EEUU. 368 pp.
- Goleniowski ME, Bongiovanni GA, Palacio L, Núñez CO, Cantero JJ. 2006. **Medicinal plants from the “Sierra de Comechingones”, Argentina.** *J. Ethnopharmacol.* 107: 324–34.
- Golluscio R, Faigón A, Tanke M. 2006. **Spatial distribution of roots and nodules, and $\delta^{15}\text{N}$ evidence of nitrogen fixation in *Adesmia volckmanni*, a Patagonian leguminous shrub.** *J. Arid Environ.* 67: 328–335.
- Graham PH, Vance IP. 2003. **Legumes: importance and constraints to greater use.** *J. Plant Physiol.* 131: 872-877.
- Gras C. 2013. **Expansión agrícola y agricultura empresarial. El caso argentino.** *Revista de Ciencias Sociales* 26(32): 73-92.
- Green RE, Cornell SJ, Scharlemann JPW, Balmford A. 2005. **Farming and the Fate of Wild Nature.** *Science* 307: 550-555.
- Groom A. 2012a. ***Adesmia muricata*.** En: *The IUCN Red List of Threatened Species 2012:* e.T19892824A20002244. Disponible en línea en <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T19892824A20002244.en> (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Groom, A. 2012b. ***Rhynchosia senna*.** En: *The IUCN Red List of Threatened Species 2012:* e.T19891570A20137453. Disponible en línea en <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T19891570A20137453.en> (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Haferkamp MR, Kissock DC, Webster RD. 1984. **Impact of presowing seed treatments, temperature and seed coats on germination of velvet bundleflower.** *J. Range Manage.* 37: 185–188.
- Hagerman AE, Butler LG. 1978. **Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins.** *Journal of Agriculture Food Chemistry* 26(4): 809-812.
- Hanbury CD, White CL, Mullan BP, Siddique KHM. 2000. **A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L. cicera* L. grain for use as animal feed.** *Anim. Feed Sci. Tech.* 87: 1-27.
- Heichel GH, Vance CP, Barnes DK. 1983. **Symbiotic nitrogen fixation of alfalfa, birdsfoot trefoil and red clover.** En: Smith JA, Hays VW (eds). *Proc. 14th Int. Grassl. Congr.* Westview Press. Boulder, Colorado, EEUU. Pp. 336-339.
- Hellriegel H, Willfarth H. 1888. **Untersuchungen uber die stickstoffnahrung der Gramineen “ und Leguminosen Addendum.** *Z. Ver. Rubenzucker-Ind., Dtsh. Reichs.*
- Herridge DF, Peoples MB, Boddey RM. 2008. **Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems.** *Plant Soil* 311: 1–18.
- Hoagland DR, Arnon DI. 1938. **The water-culture method for growing plants without soil.** N° 04 USDA Folleto 1564.

- Holmberg EL. 1884. **Informe presentado al Gobernador de la provincia de Buenos Aires. Excursión a la Sierra del Curá-Malal.** En: Chébez JC, Gasparri B (eds). 2008. Excursiones Bonaerenses por Eduardo Ladislao Homberg. Editorial Albatros. Buenos Aires, Argentina. 239 pp.
- Hooper DU, Adair EC, Cardinale BJ, Byrnes JEK, Hungate BA, Matulich KL, Gonzalez A, Duffy JE, Gamfeldt L, O'Connor MI. 2012. **A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change.** *Nature* 486(7401): 105-108.
- Humphreys J, Mihailescu E, Casey IA. 2012. **An economic comparison of systems of dairy production based on N fertilized grass and grass-white clover grassland in a moist maritime environment.** *Grass Forage Sci.* 67: 519–525.
- Irigoyen J, Lauric A, Marinissen A, Torres Carbonell C, Gigón R, Labarthe F (eds). 2009. **Jornada sobre reconocimiento y control de malezas en trigo Partido de Bahía Blanca.** INTA, Centro Regional Buenos Aires Sur (CERBAS). Estación Experimental Agropecuaria Bordenave, Unidad de Comunicaciones Bahía Blanca. 29 pp.
- Izaguirre P. 2005. **Uruguay y sus Recursos Fitogenéticos en Leguminosas.** *Agrociencia* 9(1-2): 77-83.
- Izaguirre de Artucio P. 2017a. ***Adesmia bicolor* (Poiret) De Candolle.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGp/agpc/doc/gbase/data/pf000509.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Izaguirre de Artucio P. 2017b. ***Adesmia punctata* (Poiret) De Candolle.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGp/agpc/doc/gbase/data/pf000511.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Izaguirre de Artucio P. 2017c. ***Lathyrus crassipes* Gillies ex Hooker & Arnott.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGp/agpc/doc/gbase/data/pf000525.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Izaguirre de Artucio P. 2017d. ***Lathyrus pubescens* Hooker & Arnott.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGp/agpc/doc/gbase/data/Pf000526.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Izaguirre de Artucio P. 2017e. ***Rhynchosia diversifolia* Micheli var. *prostrata* Burkart.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGP/agpc/doc/Gbase/DATA/Pf000158.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Izaguirre de Artucio P. 2017f. ***Rhynchosia senna* Gillies ex Hooker et Arnott.** En: *FAO Crop and Grassland Service (AGPC). Grassland and Pasture/Crop Systems. Grassland species profiles Database.* Disponible en línea en www.fao.org/ag/AGp/agpc/doc/gbase/data/Pf000533.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Jacobo E, Rodríguez A, González J, Golluscio R. 2016. **Efectos de la intensificación ganadera sobre la eficiencia en el uso de la energía fósil y la conservación del pastizal en la cuenca baja del río Salado, provincia de Buenos Aires, Argentina.** *Agriscientia* 33(1): 1-14.
- Juárez FC, Novara LJ. 2005. **Flora del Valle de Lerma. Fabaceae Lindl. Tribu 3. Caesalpinieae Benth.** Herbario MCNS, UNSa. Serie Flora 7(10): 1-27.

- Kenicer GJ, Kajita T, Pennington RT, Murata J. 2005. **Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and IPDNA sequence data.** *Am. J. Bot.* 92(7): 1199–1209.
- Kim KH, Kabir E, Jahan SA. 2017. **Exposure to pesticides and the associated human health effects.** *Sci. Total Environ.* 575: 525-535.
- Klamt A, Schifino-Wittmann MT. 2000a. **Karyotype morphology and evolution in some *Lathyrus* (Fabaceae) species of southern Brazil.** *Geneti. Mol. Biol.* 23(2): 463-467.
- Klamt A, Schifino-Wittmann MT. 2000b. **Estudo do ciclo de vida em espécies de *Lathyrus* L. (Leguminosae) ocorrentes no Rio Grande do Sul.** *Iheringia Ser. Bot.* 54: 57-73.
- Kraus TA, Bianco CA, Weberling F. 2003. **Root system morphology of Fabaceae species from central Argentina.** *Wulfenia* 10: 61–72.
- Kremen C. 2015. **Reframing the land-sparing/land-sharing debate for biodiversity conservation.** *Ann. NY. Acad. Sci.* 1355: 52–76.
- Krüger HR. 2015. **Secuencias de cultivos con trigo para el ambiente semiárido bonaerense: rendimientos y efectos sobre el suelo.** Ediciones INTA, 1° edición. Bordenave, Buenos Aires, Argentina. 52 pp.
- Krüger H, Martens F, Villagra C, González Ferrín S, Bruno S, Pelta H, Iurman D. 2013. **Sustentabilidad. Interpretación conceptual y problemas observados en el Centro y Sur de la provincia de Buenos Aires.** Hugo Krüger (ed). Boletín Técnico N°19 del INTA. Ediciones INTA, 1° edición. Bordenave, Buenos Aires, Argentina. 31 pp.
- Ladio AH. 2001. **The maintenance of wild edible plant gathering in a Mapuche community of Patagonia.** *Econ. Bot.* 55(2): 243-254.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. 2008. **Plant Physiological Ecology.** Springer, 2° edición. 604 pp.
- Larramendy ML, Molinari G, González NV, Pilili JP, Candiotti JV, Reigosa MA, Soloneski S. 2010. **Agroquímicos en Argentina. Genotoxicidad y citotoxicidad inducida por principios activos y sus formulaciones comerciales.** *Journal of Basic and Applied Genetics* 21(2): 1-6.
- Lindström K, Murwira M, Willems A, Altier N. 2010. **The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia.** *Res. Microbiol.* 161:453–463.
- Lloret L, Martínez-Romero E. 2005. **Evolución y filogenia de *Rhizobium*.** *Revista Latinoamericana de Microbiología* 47(1-2): 43-60.
- Loewy T, Milano FA, Angeles GR, Saldungaray MC, Campaña DH, Álamo MA. 2015. **Buenas prácticas agrícolas con desarrollo local para el Sudoeste Bonaerense.** Serie Extensión, Colección Ciencias y Tecnología. Editorial de la Universidad Nacional del Sur (EdiUNS), 1° edición. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina: 101 pp.
- Long MA, Grassini C. 1997. **Actualización del conocimiento florístico del Parque Provincial Ernesto Tornquist.** Informe final. Convenio de colaboración recíproca Ministerio de Asuntos Agrarios de la provincia de Buenos Aires- Universidad Nacional del Sur. 257 p.
- López Castro N. 2014. **De chacareros a rentistas: trayectorias de abandono de la actividad agropecuaria en el SO bonaerense (Puán y Adolfo Alsina, 1988-2012).** *Mundo Agrario* 15 (28).
- Loydi A, Distel RA. 2010. **Diversidad florística bajo diferentes intensidades de pastoreo por grandes herbívoros en pastizales serranos del Sistema de Ventania, Buenos Aires.** *Ecología Austral* 20: 281-291.

- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 1999. **Brok. Biología de los Microorganismos**. 8ª ed. Prentice Hall Iberia. Madrid, España. 1064 pp.
- Madueño-Molina A, García-Paredes D, Martínez-Hernández J, Rubio-Torres C, Navarrete-Valencia A, Bojórquez-Serrano J. 2006. **Germinación de semilla de frijolillo, *Rhynchosia minima* (L.) DC., luego de someterla a tratamientos pregerminativos**. *Bioagro* 18(2): 101-105.
- Martin LJ, Blossey B, Ellis E. 2012. **Mapping where ecologists work: biases in the global distribution of terrestrial ecological observations**. *Front. Ecol. Environ.* 10(4): 195–201.
- Martins CC, Mendonça CG, Martins D, Velini ED. 1997. **Superação da dormência de sementes de carrapicho-beiço-de-boi**. *Planta Daninha* 15(2): 104-113.
- Martínez TF, McAllister TA, Wang Y, Reuter T. 2006. **Effects of tannic acid and quebracho tannins on in vitro ruminal fermentation of wheat and corn grain**. *J. Sci. Food Agr.* 86: 1244–1256.
- Martínez-Crovetto RN. 2014. **Algunos datos sobre etnobotánica Mocoví**. *Bonplandia* 23(2): 119-131.
- Martínez-Crovetto R. 1968. **Estudios Etnobotánicos III. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Araucano-Pampas del Oeste de Buenos Aires**. *Etnobiológica* 12: 1-24.
- Mas MT, Verdú AMC, Kruk BC, De Abelleira D, Guglielmini AC, Satorre EH. 2010. **Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soyabean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina**. *Weed Res.* 50: 320–330.
- Matches AG. 1992. **Plant response to grazing: a review**. *J. Prod. Agric.* 5(1): 1-7.
- Medeiros RB, Nabinger C. 1996. **Superação da dormência em sementes de leguminosas forrageiras**. *Revista Brasileira de Sementes* 18(2): 193- 199.
- Mersey L, Reinoso F, Riquelme F. 2015. **Experiencias en propagación y cultivo de especies de plantas andinas de ambientes zonales y azonales de la Región de Antofagasta, Chile**. *Chloris Chilensis* 18(1), disponible en línea en www.chlorischile.cl/sapunta-mersey/sapunta-final%20.htm (consultado por última vez el 28/08/ 2017).
- Min BR, Hart SP. 2003. **Tannins for suppression of internal parasites**. *Journal of Animal Science* 81: E102–E109.
- Min BR, Hart SP, Miller D, Tomita GM, Loetz E, Sahl T. 2005. **The effect of grazing forage containing condensed tannins on gastrointestinal parasite infection and milk composition in Angora does**. *Veterinarian Parasitology* 130: 105–113.
- Minson DJ. 1982. **Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy**. *Nutrition Abstracts Review* (B) 52:592–614.
- Minson DJ. 1990. **Forage in Ruminant Nutrition**. Academic Press. Londres, Reino Unido. 483 pp.
- Miotto STC, Forni-Martins ER. 1994. **Número cromossômico em espécies brasileiras de *Adesmia* DC. (Leguminosae, Faboideae)**. *Acta Bot. Bras.* 8(1): 3-9.
- Moço MCC, Mariath JEA. 2009. **Comparative floral ontogeny in *Adesmia* (Leguminosae: Papilionoideae: Dalbergieae)**. *Aust. J. Bot.* 57: 65–75.
- Monge S. 1995. **Características epidérmicas de dicotiledóneas encontradas en las dietas de herbívoros de la Reserva de la Biósfera de Ñacuñán (Santa Rosa, Mendoza)**. *Multequina* 4:47-57.
- Monserrat AL, Celsi CE, Fontana SL. 2012. **Coastal dune vegetation of the Southern Pampas (Buenos Aires, Argentina) and its value for conservation**. *J. Coastal Res.* 28(1): 23–35.

- Montardo DP, Cruz FP, Silva JH, Egers L, Boldrini I, Dall'Agnol M. 2000. **Efeito de dois tratamentos na superação da dormência de cinco espécies de *Adesmia* DC.** Revista Científica Rural 1(5).
- Monteiro JM, de Albuquerque UP, Araújo EL, Cavalcanti de Amorim EL. 2005. **Taninos: uma abordagem da química à ecologia.** Quim Nova 28(5): 892-896.
- Moraes COC, Paim NR, Nabinger C. 1989. **Avaliação de leguminosas do gênero *Trifolium*.** Pesqui. Agropecu. Bras. 24(7): 813-818.
- Muir JP. 2011. **The multi-faceted role of condensed tannins in the goat ecosystem.** Small Ruminant Res. 98: 115–120.
- Muir JP, Bow JR, Boggs LL. 2009. **Response of two perennial herbaceous Texas legumes to shade.** Native Plants Journal 10(3): 253-261.
- Muir JP, Pitman WD. 1987. **Improving germination rate of the Florida legume *Galactia elliotii*.** J. Range Manage. 40: 452–454.
- Muir JP, Pitman WD, Dubeux JC, Foster JL. 2014. **The future of warm season, tropical and subtropical forage legumes in sustainable pastures and rangelands.** African Journal of Range y Forage Science 2014: 1–12.
- Muir JP, Pitman WD, Foster JL. 2011. **Sustainable, low-input, warm-season, grass–legume grassland mixtures: mission (nearly) impossible?** Grass Forage Sci. 66: 301–315.
- Muir JP, Taylor J, Interrante S. 2005. **Herbage and Seed from Texan Native Perennial Herbaceous Legumes.** Rangeland Ecol. Manag. 58(6): 643-651.
- Muñoz CP, Suarez FJ. 1945. **Possibilidades forrajeras del género *Adesmia* em Chile.** Agr. Tec. 5(1): 96-97.
- Naumann HD, Hagerman AE, Lambert BD, Muir JP, Tedeschi LO, Kothmann MM. 2014. **Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes.** J. Plant Interact. 9(1): 212-219.
- Neme J. 2017. **Informe del estado del Ambiente: Argentina.** Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. 455 pp.
- Nguyen TM, van Binh D, Orskov ER. 2005. **Effect of foliages containing condensed tannins on gastrointestinal parasites.** Anim. Feed Sci. Tech. 121: 77–87.
- Nikolaeva MG. 2004. **On criteria to use in studies of seed evolution.** Seed Sci. Res. 14: 315-320.
- Noah RL, Muir JP, Wittie RD, Kattes DH, Pitman WD, Rea GL, Brakie MR. 2012. **Prairie Acacia, Panicked Tick-Clover, and Herbaceous Mimosa Herbage, Nitrogen and Seed Yields, Nutritive Value, and Regional Adaptation.** Agron. J. 104(2): 265-270.
- Nogueira Filho JCM, Fondevila M; Barrios UA, González-Ronquillo M. 2000. **In vitro microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage.** Anim. Feed Sci. Tech. 83: 145-157.
- Nordkvist E, Aman P. 1986. **Changes during growth in anatomical and chemical composition and in vitro degradability of lucerne.** J. Sci. Food Agr. 37: 1-7.
- Norris DO, Date RA. 1976. **Legume bacteriology.** In: Shaw NH, WW Bryan (eds). Tropical pasture research -principles and methods. Brisbane: CAB. p.134-173.
- Oesterheld M. 2008. **Impacto de la agricultura sobre los ecosistemas. Fundamentos ecológicos y problemas más relevantes.** Ecología Austral 18: 337-346.

- Orfila EN, Farina EL. 2002. **Leguminosas autóctonas y naturalizadas de las Sierras de Azul, provincia de Buenos Aires**. Facultad de Agronomía, UNIPBA.
- Othax N, Peluso F, J Gonzales Castelain. 2014. **Riesgo a la salud integrado por fluoruros, nitratos y arsénico en agua subterránea: caso del partido de Tres Arroyos, Argentina**. Rev. Int. Contam. Ambient 30(1): 27-41.
- Pagán-Riestra S, Muir JP, Lambert BD, Tedeschi L, Redmon L. 2010. **Phosphorus and other nutrient disappearance from plants containing condensed tannins using the nylon bag technique**. Anim. Feed Sci. Tech. 156: 19– 25.
- Paleologos MF, Iermanó MJ, Blandi ML, Sarandón SJ. 2017. **Las relaciones ecológicas: un aspecto central en el rediseño de agroecosistemas sustentables, a partir de la Agroecología**. Redes, Universidade de Santa Cruz do Sul 22(2): 92-115.
- Parera CA, Ruiz M. 2003. **Adesmia subterranean Clos germination physiology and presowing treatments**. J. Range. Manage. 56: 273-276.
- Parodi LR. 1937. **Indigenous psammophytes which may be cultivated for the consolidation of dunes**. Jornadas agronómicas y veterinarias, 311-321 pp.
- Peláez DV. 2012. **Dinámica de la vegetación en los pastizales del SO Bonaerense: Interacción clima-fuego-pastoreo**. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (ISSN 0327-8093). Tomo LXV: 406-416.
- Peoples MB, Faizah AW, Rerkasem B, Herridge DF. 1989. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. ACIAR Monograph 11(7): 76 pp.
- Perfecto I, Vandermeer J. 2008. **Biodiversity Conservation in Tropical Agroecosystems: A New Conservation Paradigm**. Ann. NY. Acad. Sci. 1134: 173–200.
- Perfecto I, Vandermeer J. 2012. **Separación o integración para la conservación de biodiversidad: la ideología detrás del debate *land-sharing* frente a *land-sparing***. Ecosistemas 21(1-2): 180-191.
- PFAF (Plants for a Future)**. 2017. Base de datos con más de 7000 especies medicinales y comestibles. Disponible en línea en www.pfaf.org (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Phalan B, Onial M, Balmford A, Green RE. 2011. **Reconciling Food Production and Biodiversity Conservation: Land Sharing and Land Sparing Compared**. Science 333: 1289-1291.
- Phelan P, Moloney AP, McGeough EJ, Humphreys J, Bertilsson J, O’Riordan EG, O’Kiely P. 2015. **Forage Legumes for Grazing and Conserving in Ruminant Production Systems**. Crit. Rev. Plant Sci. 34(1-3): 281-326.
- Pitman WD, Portier KM, Chambliss CG, Kretschmer AE Jr. 1992. **Performance of yearling steers grazing bahia grass pastures with summer annual legumes or nitrogen fertiliser in subtropical Florida**. Trop.Grasslands 26: 206–211.
- PDSB (Plan de Desarrollo del Sudoeste Bonaerense)**. 2007. Creado mediante la y reglamentado en el Decreto 2585/07 de la Subsecretaría de Producción, Economía y Desarrollo Rural del Ministerio de Agroindustria.
- Ponisio LC, M’Gonigle LK, Mace KC, Palomino J, de Valpine P, Kremen C. 2015. **Diversification practices reduce organic to conventional yield gap**. Proc. R. Soc. B 282: 20141396.
- Postgate J. 1987. **New studies in biology. Nitrogen Fixation**. Edward Arnold, 2º edición. Londres, Reino Unido. 73p.

- Powell AM, Turner BL, Powell SA. 2010. **Miscellaneous chromosome numbers: Texas plant species.** *Phytologia* 92(1): 96-102.
- Puignau JP. 1990. **Introducción, Conservación y Evaluación de Germoplasma Forrajero en el Cono Sur.** Primer Taller de Trabajo de la Red de Forrajeras del Cono Sur. Montevideo: IICA – PROCISUR. 379 pp.
- Ramírez Lozano RG. 2009. **Forrajes nativos. Una alternativa sustentable en la alimentación de ruminantes.** *Ciencia UANL* 12(1): 4-5.
- Ramírez C, Milano F. 2007. **¿Ayuda la soja Argentina a atenuar el hambre mundial?** En: Feyen J, LF Aguirre, M Moraes R. (eds). Congreso Internacional sobre Desarrollo, Medio Ambiente y Recursos Naturales: Sostenibilidad a Múltiples Niveles y Escalas, Cochabamba, Bolivia. Vol. III: 1996-2005.
- Real D, Dalla Rizza M, Reyno R, Quesenberry KH. 2007. **Breeding system of the aerial flowers in an amphicarpic clover species: *Trifolium polymorphum*.** *Crop. Sci* 47: 1401–1406.
- Rebuffo M, Bemhaja M, Risso DF. 2006. **Utilization of forage legumes in pastoral systems: state of art in Uruguay.** *Lotus Newsletter* 36(1): 22-33.
- Robles AB, Ramos ME, Cabeza FM, Delgado F y González-Rebollar JL. 2015. **Leguminosas herbáceas en la restauración forestal de zonas incendiadas del macizo de Sierra Nevada: producción y calidad.** *Cifre J. et al*, 129-136.
- Rodrigues ASL, Andelman SJ, Bakarr MI, Boitani L, Brooks TM, Cowling R, ..., Yan X. 2004. **Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity.** *Nature* 428: 9–12.
- Rodriguez-Pontes M. 2008. **Seed formation in two species of *Adesmia* (Fabaceae): co-occurrence of micropylar and lateral endosperm haustoria in legumes and its taxonomic value.** *Bot. J. Linn Soc.* 158: 602–612.
- Rouquette FM. 2016. **The roles of forage management, forage quality, and forage allowance in grazing research.** *The Professional Animal Scientist* 32:10–18.
- Rowland M. 2008. **The *Lathyrus* species information site: *Lathyrus nervosus*, Lord Anson's Blue Pea.** Disponible en línea en www.lathyrus.info/species/nervosus (consultado por última vez el 28/08/2017).
- Rowland M. 2008. **The *Lathyrus* species information site: *Lathyrus pubescens*.** Disponible en línea en www.lathyrus.info/species/pubescens (consultado por última vez el 28/08/2017).
- RSC (The Royal Society of Chemistry).** 2017. Disponible en línea en www.rsc.org/learn-chemistry/resource/download/res00000903/cmp00001134/pdf (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Runquist EB, Forister ML, Shapiro AM. 2012. **Phylogeography at large spatial scales: incongruent patterns of population structure and demography of Pan-American butterflies associated with weedy habitats.** *J. Biogeogr.* 39: 382–396.
- Russelle MP. 2001. **Alfalfa: After an 8,000-year journey, the " Queen of Forages" stands poised to enjoy renewed popularity.** *Am. Sci.* 89(3): 252-261.
- Sanchez PA, Swaminathan MS. 2005. **Hunger in Africa: the link between unhealthy people and unhealthy soils.** *Lancet* 365: 442–44.

- Santamaría L, Pericás J, Carrete M, Tella JL. 2009. **La ausencia de enemigos naturales favorece las invasiones biológicas.** En: Invasiones biológicas. Vilá M, F Valladares, A Traveset, L Santamaría, P Castro (eds). Pp. 91-101. CSIC, Madrid, España.
- Sarandón SJ, Flores CC. 2014. **La insustentabilidad del modelo agrícola actual.** En: Sarandón SJ, CC Flores (eds). Agroecología: bases para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EdiLP). La Plata, Buenos Aires, Argentina. 466 pp.
- Scarpa GF, Rosso CN, Anconatani L. 2016. **Etnobotánica médica de grupos criollos de Argentina: reconocimiento, análisis y puesta en valor de los datos presentados por el gobierno argentino en la Exposición Universal de París de 1889.** Darwiniana, nueva serie 4(2): 291-315.
- Shaik SA, Terrill TH, Miller JE, Kouakou B, Kannan G, Kallu RK, Mosjidis JA. 2004. **Effects of feeding *Sericea lespedeza* hay to goats infected with *Haemonchus contortus*.** S. Afr. J. Anim. Sci. 34: 248-250.
- Shaukat SS, Burhan N. 2000. **Fecundity, seed characteristics and factors regulating germination of *Rhynchosia minima* (L.) DC.** Pak. J. Bot. 32(1): 211-226.
- Scheffer-Basso SM, Jacques AVA, Dall'Agnol M, Riboldi J, Castro SMJ. 2001a. **Disponibilidade e Valor Nutritivo de Forragem de Leguminosas Nativas (*Adesmia* DC.) e Exóticas (*Lotus* L.).** Rev. Bras. Zootecn. 30(3): 975-982.
- Scheffer-Basso SM, Carneiro CM, Voss M. 2000. **Nodulação e fixação biológica de nitrogênio em *Adesmia araujoii* Burk.** Revista Brasileira de Agrociência 6(1): 16-18.
- Scheffer-Basso SM, Voss M, Ávila AV Jacques. 2001b. **Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em Vasos de Leonard.** Rev. Bras. Zootecn. 30(3): 687-693.
- Schifino-Wittmann MT, Lau AH, Simioni C. 1994. **The genera *Vicia* and *Lathyrus* (Leguminosae) in Rio Grande do Sul (southern Brazil): cytogenetics of native, naturalized and exotic species.** Braz. J. Genet. 17(3): 313-319.
- Schifino MT, Moraes-Fernandes MIB. 1988. **Chromosome numbers, karyotypes and meiotic behavior of populations of some *Trifolium* (Leguminosae) species.** Rev. Bras. Genet. 11: 637-643.
- Schinini A, Ciotti EM, Tomei CE, Castelán ME, Hack CM. 2004. **Especies nativas de campos bajos con potencial valor forrajero.** Agrotecnia 12: 18-22.
- Schroeder J, Murray L, Ulery A, Fiore C, Nguyen H, Liu X. 2012. **Identification and Detection of Weeds on Irrigation Canals: Survey of the Vegetation and Soils of the Leasburg Canal System, 2002-2006.** Agricultural Experiment Station, College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, New Mexico State University. Research Report 777, 64 pp.
- Scian B. 2009. **Clima: Bahía Blanca y Sudoeste Bonaerense.** En: Paoloni JD (compilador). 2009. Ambiente y recursos naturales del partido de Bahía Blanca. Editorial de la Universidad Nacional del Sur (EdiUNS). Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. 240 pp.
- Scriber JM. 1984. **Nitrogen nutrition of plants and insect invasion.** En: Hauck RD (ed). Nitrogen in crop production. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, EEUU. Pp. 441-460.
- Seijo JG, Fernández A. 2003. **Karyotype analysis and chromosome evolution in South American species of *Lathyrus* (Leguminosae).** Am. J. Bot. 90(7): 980-987.

- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). 2017. Disponible en línea en www.senasa.gob.ar/casos-confirmados-de-malezas-resistentes-en-argentina (consultado por última vez el 28/08/2017).
- Seufert V, Ramankutty N, Foley JA. 2012. **Comparing the yields of organic and conventional agriculture.** *Nature* 485: 229–232.
- Shen L, Foster JG, Orcutt DM. 1990. **Growth and 2,4-Diaminobutyric Acid Composition of Flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as Influenced by Mineral- and Symbiotically Fixed-Nitrogen.** *J. Exp. Bot.* 41(226): 521-527.
- Sidorova KK, Levkoba GD, Shumnya VK. 2013. **Investigation of Nodulation and Nitrogen Fixation in Annual Species and Varieties of Vetchling, Genus *Lathyrus*.** *Russ. J. Genet. Applied Research* 3(3): 197–202.
- Silenzi JC, Echeverría NE, Bouza ME, de Lucia MP. 2011. **Degradación de suelos del SO bonaerense y su recuperación.** *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, tomo LXV. Pp. 382-404. ISSN: 0327-8093.
- Silva Santos CER, Vasconcelos Bezerra R, Santiago de Freitas AD, Lima Seido S, Vieira Martins LM, Gouvea Rumjanek N, Ribeiro Xavier G. 2009. **Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis tipo PET.** Comunicado Técnico 124. Embrapa Agrobiologia. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.
- Smolander A, Lpenen J, Suominen K, Kitunen V. 2005. **Organic matter characteristics and C and N transformations in the humus layer under two tree species, *Betula pendula* and *Picea abies*.** *Soil Biol. Biochem.* 37: 1309–1318.
- Snyder CS, Bruulsema TW, Jensen TL, Fixen PE. 2009a. **Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects.** *Agr. Ecosyst. Environ.* 133: 247-266.
- Snyder CS, Bruulsema TW, Jensen TL. 2009b. **Greenhouse Gas Emissions from Cropping Systems and the Influence of Fertilizer Management-A Literature Review.** *Agr. Ecosyst. Environ.* 133: 247-266.
- Søegaard K. 1993. **Nutritive value of white clover.** En: *White Clover in Europe: State of the Art.* REU Technical Series 29. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, Italia. En línea en www.fao.org/docrep/v2350e/v2350e03.htm (consultado por última vez el 24/08/2017).
- Sollenberger LE, Agouridis CT, Vanzant ES, Franzlebbbers AJ, Owens LB. 2012. **Prescribed grazing on pasturelands.** En: Nelson CJ (ed). *Conservation outcomes from pastureland and hayland practices.* USDA, NRCS. Allen Press. Lawrence, Kansas, EEUU. Pp. 111-204.
- Sollenberger LE, Cherney DJR. 1995. **Evaluating forage production and quality.** En: Barnes RF *et al.* (eda.). 1995. *Forages: The science of grassland agriculture.* Iowa State University Press. Ames, Iowa, EEUU. Pp. 97–110.
- Spinelli MV, De Loof E, Rossi CA, González GL, De Magistris A, Carou NE. 2013. **Contenido de minerales en algunas especies forrajeras presentes en el pastizal natural de un sistema silvopastoril en el bajo delta del Río Paraná.** *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam* 22(2): 81-83.
- Stanhill, G. 1990. **The comparative productivity of organic agriculture.** *Agr. Ecosyst. Environ.* 30: 1–26.
- Steibel PE. 2000. **Sinopsis de las Leguminosas (Leguminosae) de la Provincia de La Pampa (República Argentina).** *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam* 11(1): 1-46.

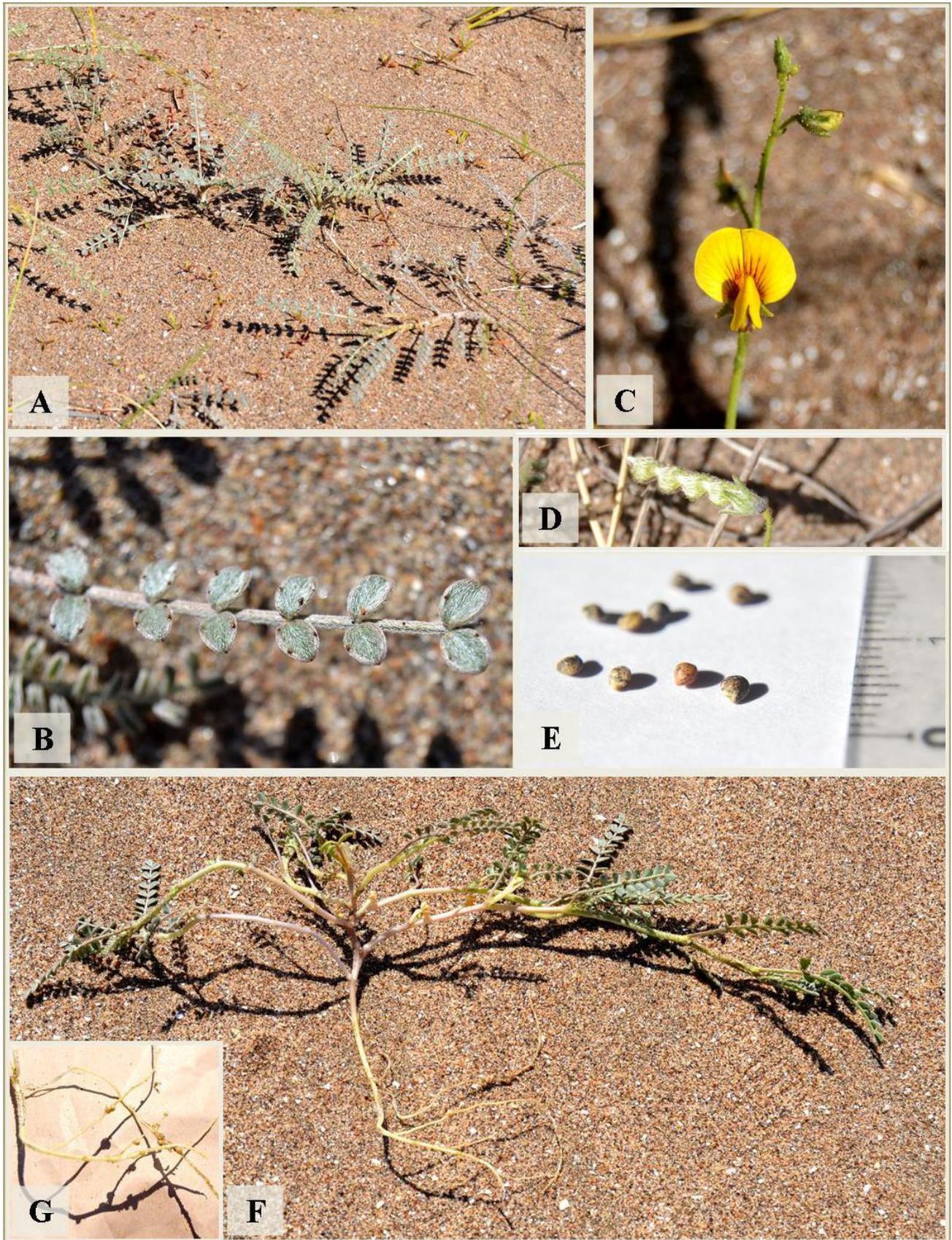
- Tamame MA. 2011. **Estudio de la composición, disponibilidad y calidad de los recursos apícolas del noroeste de La Pampa, Provincia Fitogeográfica del Monte (República Argentina)**. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. 172 pp.
- Tanner GJ, Moate PJ, Davis LH, Laby RH, Li Y-G, Larkin PJ. 1995. **Proanthocyanidins (condensed tannin) destabilise plant protein foams in a dose-dependent manner**. Aust. J. Agr. Res. 46: 1101–1109.
- Tedesco SB, Dall’Agnol M, Schifino-Wittmann MT, Valls JFM. 2000. **Mode of reproduction of Brazilian species of *Adesmia* (Leguminosae)**. Genet. Mol. Biol. 23: 475–478.
- Tedesco SB, Stefanello MO, Schifino-Wittmann MT, Battistin A, Dall’Agnol M. 2001. **Superação de dormência em sementes de espécies de *Adesmia* DC. (Leguminosae)**. Revista Brasileira de Agrociência 7(2):89-92.
- Tilman D. 1996. **Biodiversity: population versus ecosystem stability**. Ecology 77: 3560–3563.
- Tilman D, Isbell F, Cowles JM. 2014. **Biodiversity and Ecosystem Functioning**. Annu. Rev. Ecol. Evol. S. 45: 471–93.
- Tilman D, Reich PB, Isbell F. 2012. **Biodiversity impacts ecosystem productivity as much as resources, disturbance, or herbivory**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109: 10394–10397.
- Tittonell P. 2013. **Ecology. Towards ecological intensification of world agriculture**. Lección Inaugural en la Wageningen University, Países Bajos. 40 pp.
- Tizón FR. 2003. **Inventario florístico de las dicotiledóneas (excepto Asteraceae) del partido de Saavedra (provincia de Buenos Aires)**. Tesis de grado. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.
- Tomlinson I. 2013. **Doubling food production to feed the 9 billion: A critical perspective on a key discourse of food security in the UK**. J. Rural Stud. 29: 81-90.
- Toniutti MA, Fornasero LV, Albicoro FJ, Martini MC, Draghi W, Alvarez F, Lagares A, Pensiero JF, Del Papa MF. 2017. **Nitrogen-fixing rhizobial strains isolated from *Desmodium incanum* DC in Argentina: phylogeny, biodiversity and symbiotic ability**. Syst. Appl. Microbiol. (en prensa).
- Toribio MS, Oriani SD, Toso RE, Tortone CA, Fernández JG. 2007. **Suceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina**. B. Latinoam. Caribe Pl. 6(6): 367-368.
- Townsend AR, Howarth RW, Bazzaz FA, Booth MS, Cleveland CC, Collinge SK, Dobson AP, Epstein PR, Holland EA, Keeney DR. 2003. **Human health effects of a changing global nitrogen cycle**. Front. Ecol. Environ. 1 (5): 240–246.
- Tscherning K, Barrios E, Lascano C, Peters M, Shultze-Kraft R. 2005. **Effects of sample post harvest treatment on aerobic decomposition and anaerobic in-vitro digestion of tropical legumes with contrasting quality**. Plant Soil 269: 159–170.
- Ulibarri EA. 1997. **Fabaceae, parte I**. Flora Fanerogámica Argentina, Fascículo 32. ISSN: 0328-3453.
- Ulibarri EA, Burkart A. 2000. **Sinopsis de las Especies de *Adesmia* (Leguminosae, Adesmieae) de la Argentina**. Darwiniana 38(1-2): 59-126.
- Ulibarri EA, Novara LJ. 1996. **Flora del Valle de Lerma. Fabaceae Lindl. Tribu 10. Adesmieae (Benth.) G.E. Hutch**. Herbario MCNS, UNSa. Serie Flora 4(8): 1-12.
- Unkovich M, Herridge D, Peoples M, Cadisch G, Boddey R, Giller K, Alves B, Chalk P. 2008. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems**. ACIAR Monograph No. 136. 258 pp.

- Van Maele-Fabry G, Hoet P, Lison D. 2013. **Parental occupational exposure to pesticides as risk factor for brain tumors in children and young adults: A systematic review and meta-analysis.** Environ. Int. 56: 19–31.
- Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain F, Lison D. 2012. **Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies.** Environ. Int. 46: 30–43.
- Vance IP. 2002. **Root-bacteria interactions: symbiotic N₂ fixation.** En: Waisel Y, A Eshel , U Kafkafi (eds). Plant Roots. The Hidden Half. Tercera edición. Dekker, Nueva York, EEUU. Pp. 839-868.
- Vanloqueren G, Baret PV. 2009. **How agricultural research systems shape a technological regime that develops genetic engineering but locks out agroecological innovations.** Res. Policy 38: 971–983.
- Varela SA, A Aparicio. 2011. **Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos.** Publicación de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Cuadernillo N° 3 de la Serie Técnica “Sistemas forestales integrados”. Ediciones INTA. 10 pp.
- Vaz Patto MC, Skiba B, Pang ECK, Ochatt SJ, Lambein F, Rubiales D. 2006. **Lathyrus improvement for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical breeding to marker assisted selection.** Euphytica 147: 133–147.
- Veneciano JH, Frasinelli CA, Kraus TA, Bianco CA. 2005. **Domesticación de especies forrajeras.** Editorial de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 60 pp.
- Vercelli N, Entraigas I, Scaramuzzino R, Migueltoarena V, D'Alfonso C. 2013. **Plantas medicinales de los bajos alcalinos de la cuenca del arroyo del Azul (provincia de Buenos Aires, Argentina).** Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo 45(2): 285-298.
- Vidal C, Ibañez M, Boito G, Crenna C, Basconsuelo S. 2016. **Sistema Reproductivo de *Adesmia bicolor* (Leguminosae).** Interciencia 41(11): 757-762.
- Vignolio OR, Fernández ON, Maceira ON. 1996. **Respuestas de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus* (Leguminosae) al anegamiento en plantas de distintas edades.** Revista de la Facultad de Agronomía, UNLP 101 (1): 57-67. ISSN 0041-8676.
- Vileta D, Bianco L, Grosso M, Malpassi R. 2010. **Biological nitrogen fixation by *Adesmia bicolor* and *A. macrostachya*, potential forage species for arid and semi-arid environments.** Interciencia 35(2): 120-125.
- Vileta DG, Grosso M, Fondevila M. 2014. **Nutritive value for ruminants of two herbaceous South American native legumes: *Adesmia bicolor* and *Adesmia macrostachya*.** Anim. Prod. Sci. 54: 158–164.
- Vileta D, Ortiz M, Alcantú G, Grosso M. 2009. **Evaluación de la calidad forrajera y degradabilidad *in situ* de dos leguminosas nativas: *Adesmia bicolor* (Poir.) DC y *Adesmia macrostachya*. Benth.** 32 Congreso de Producción Animal. Malargüe, Mendoza, Argentina. 29(1): 259-260.
- Vincent JM 1982. **Nitrogen fixation in legumes.** Academic Press. Proc. Seminar Aust. Devpt. Assist. Bureau & Univ. Sydney. Sydney, Australia. 288 pp.
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matscon PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman DG. 1997. **Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences.** Ecol. Appl. 7(3): 737–750.

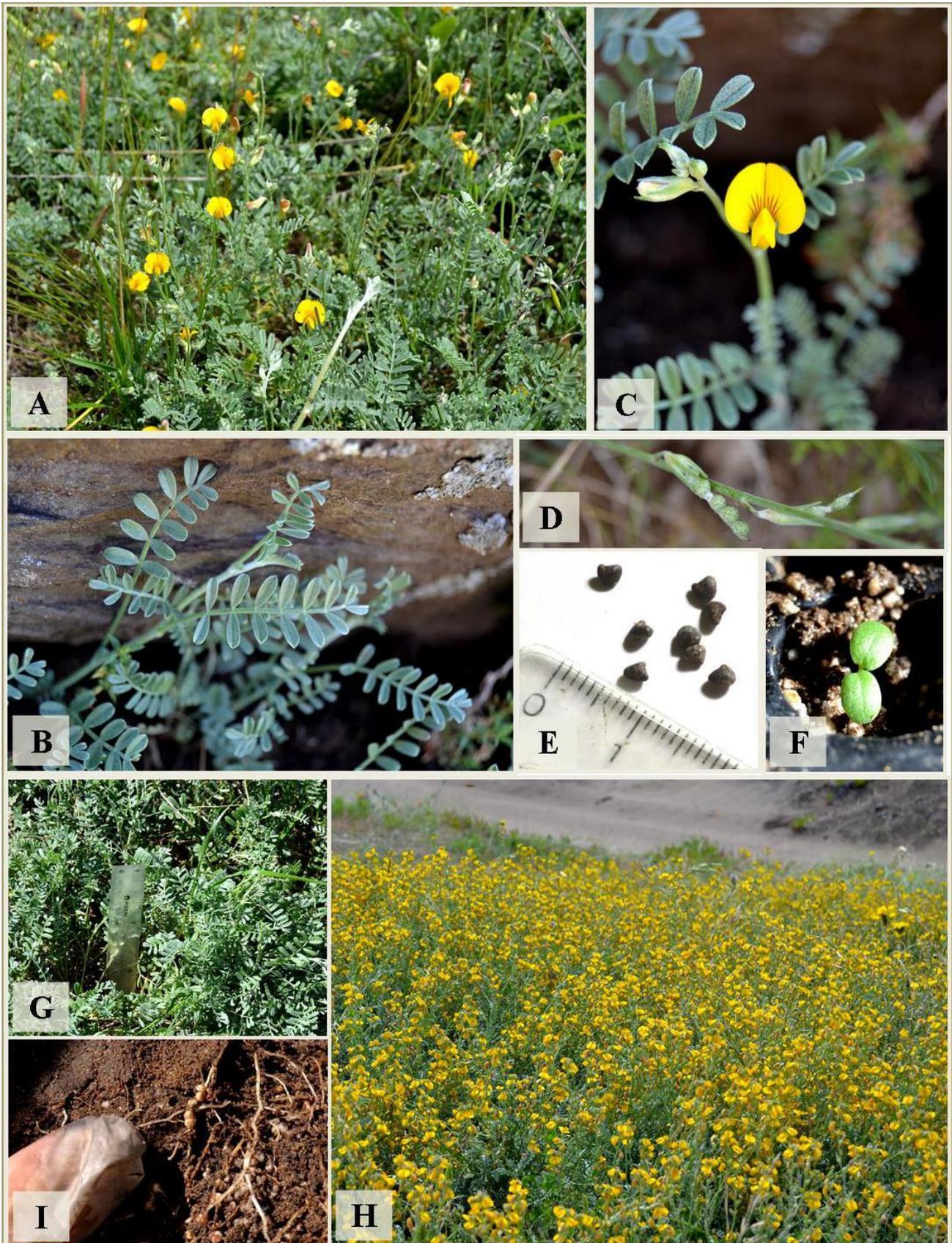
- Volante J, Mosciaro J, Morales Poclava M, Vale L, Castrillo S, Sawchik J, Tiscornia G, Fuente M, Maldonado I, Vega A, Trujillo R, Cortéz L, Paruelo J. 2015. **Expansión agrícola en Argentina, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Chile entre 2000-2010. Caracterización espacial mediante series temporales de índices de vegetación.** RIA 41(2): 179-191.
- Wanjiku J. 1996. **Biological nitrogen fixation of some legumes at a coastal sand dune forest site in New Zealand.** Kenya Forestry Research Institute. Doctoral dissertation, Lincoln University. Canterbury, Nueva Zelanda.
- Weaver RW, Frederick LR. 1982. **Rhizobium.** En: Page AL (ed). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy Monograph N° 9 (2° edición). ASA-SSSA. Madison, Wisconsin, EEUU. Pp. 1043-1069.
- Weberling F, Kraus TA, Bianco CA, Malpassi R. 2002. **Variación y estrategias adaptativas de los sistemas de ramificación de Fabáceas herbáceas.** Feddes Repertorium 113(5-6): 342-353.
- Weder CE, Delcurto T, Svejcar T, Jaeger JR, Bailey RK. 1999. **Influence of supplemental alfalfa quality on the intake, use, and subsequent performance of beef cattle consuming low-quality roughages.** J. Anim. Sci. 77: 1266-1276.
- Westphal Muniz A, Carvalho Silva TA, Costa MD, Tonato F, Saccol de Sá EL, Rabelo Cordeiro E, da Silva Nunes RH. 2012. **Eficiência simbiótica de rizóbios em *Adesmia tristis*.** Resumen expandido presentado a FERTBIO 2012 Maceió, Brasil. Pp. 1-3.
- Wezel A, Bellon S, Doré T, Francis C, Vallod D, David C. 2009. **Agroecology as a science, a movement and a practice. A review.** Agron. Sustain. Dev. 29: 503-515.
- Wilson JR. 1994. **Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants.** J. Agr. Sci. 122:173-182.
- Wingenroth MC. 2001. **Honey types and pollen grains of Asunción, Lavalle, Mendoza, Argentina (32°33'21''S; 68°14'45''W), vegetal origin and possible management of the beehive production.** Proc. 37th Int. Apic. Congr., 28 Oct - 1 Nov 2001, Durban, South Africa.
- Zabaleta M. 2013. **Conservación de leguminosae nativas y sus bacterias simbióticas del Parque Nacional Esteros de Farrapos e Islas del Río Uruguay (ROU).** Tesis de maestría. Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas de la Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 65 pp.
- Zohary M, Heller D. 1984. **The genus *Trifolium* L.** The Israel Academy of Science and Humanities. Jerusalem, Israel. 606 pp.

ANEXO 1

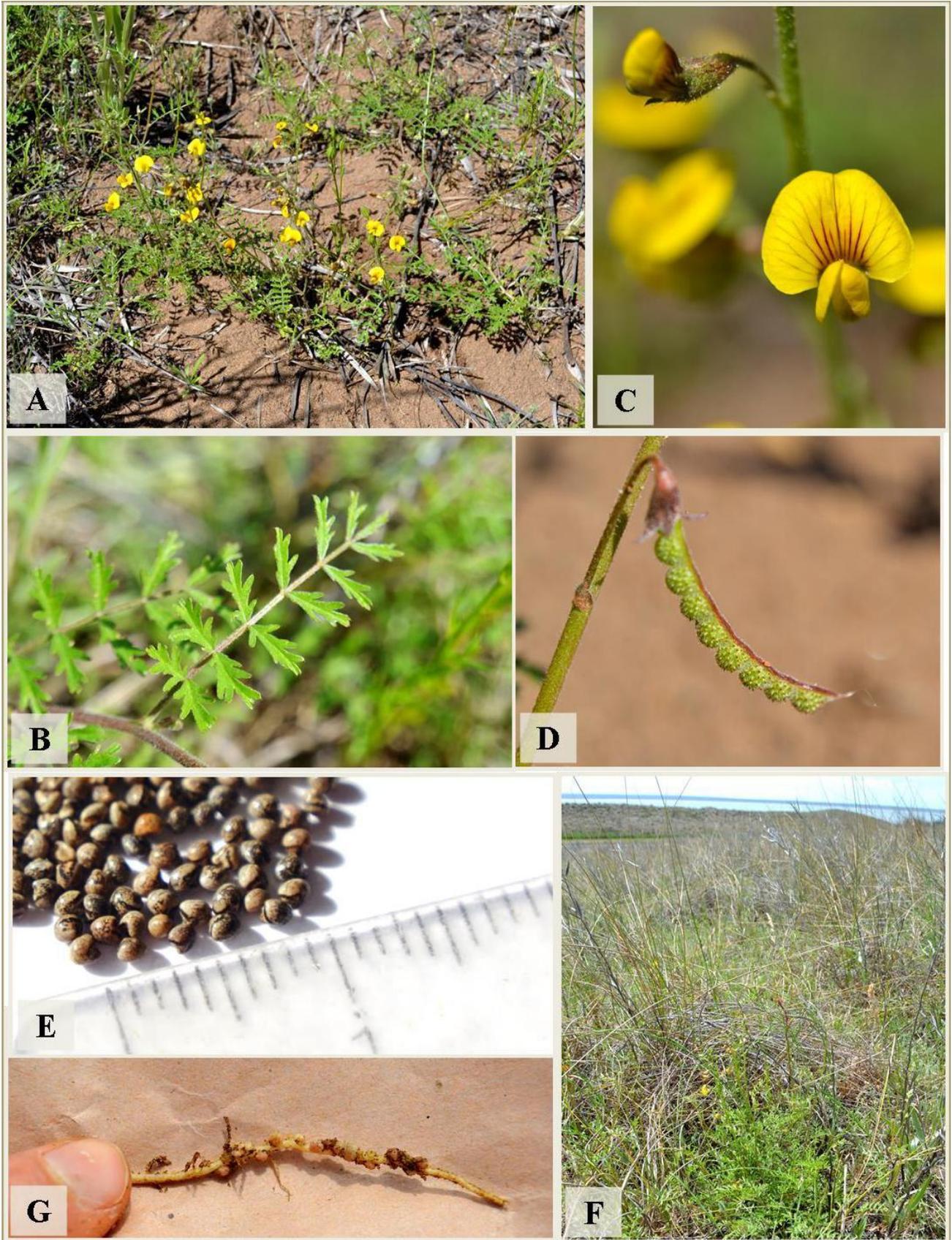
Imágenes de las especies estudiadas

Adesmia filipes A. Gray

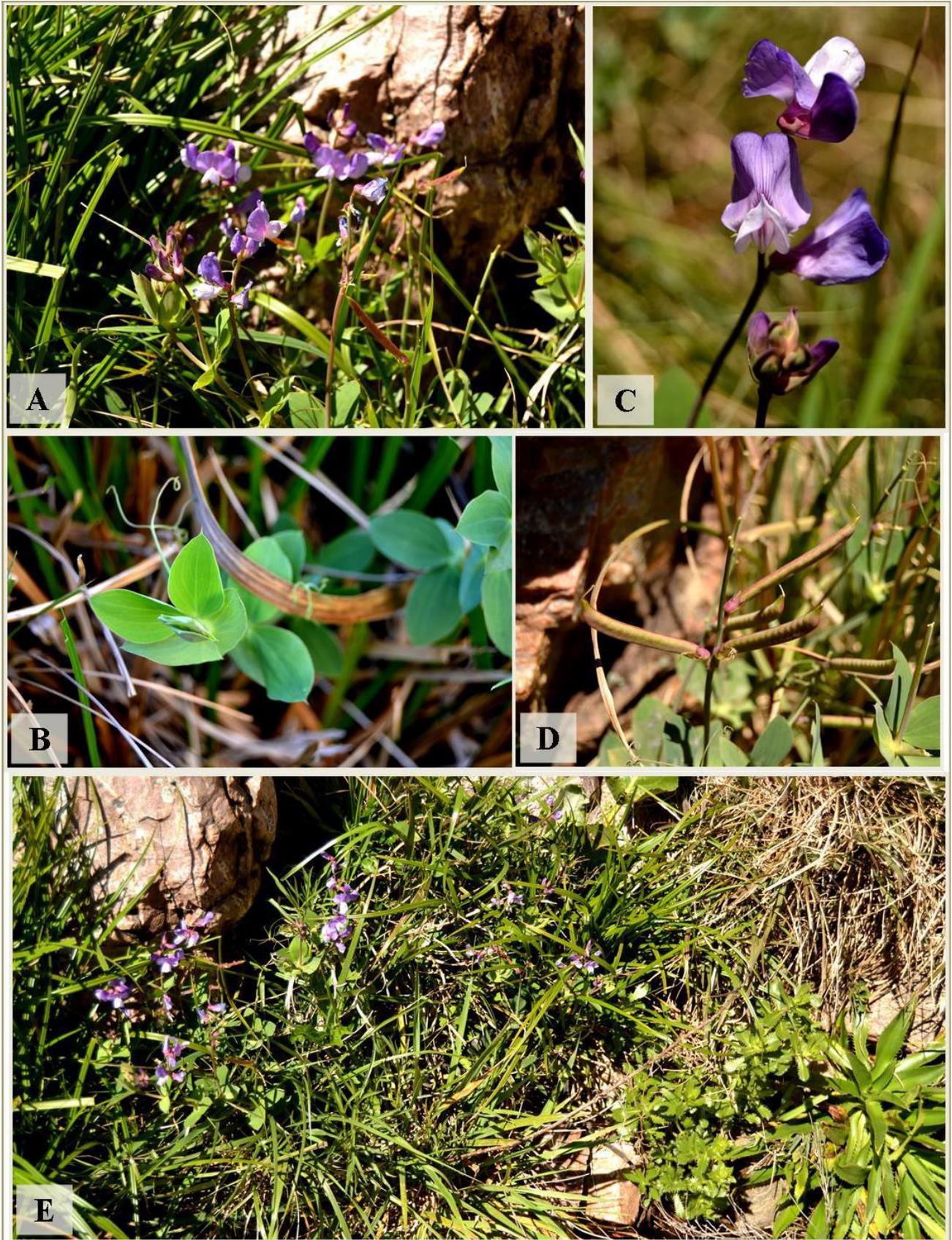
Adesmia filipes. A) Plantas completas B) Hoja C) Flor D) Fruto E) Semillas F) Planta completa con raíz nodulada G) Detalle de la raíz nodulada.

Adesmia incana Vogel

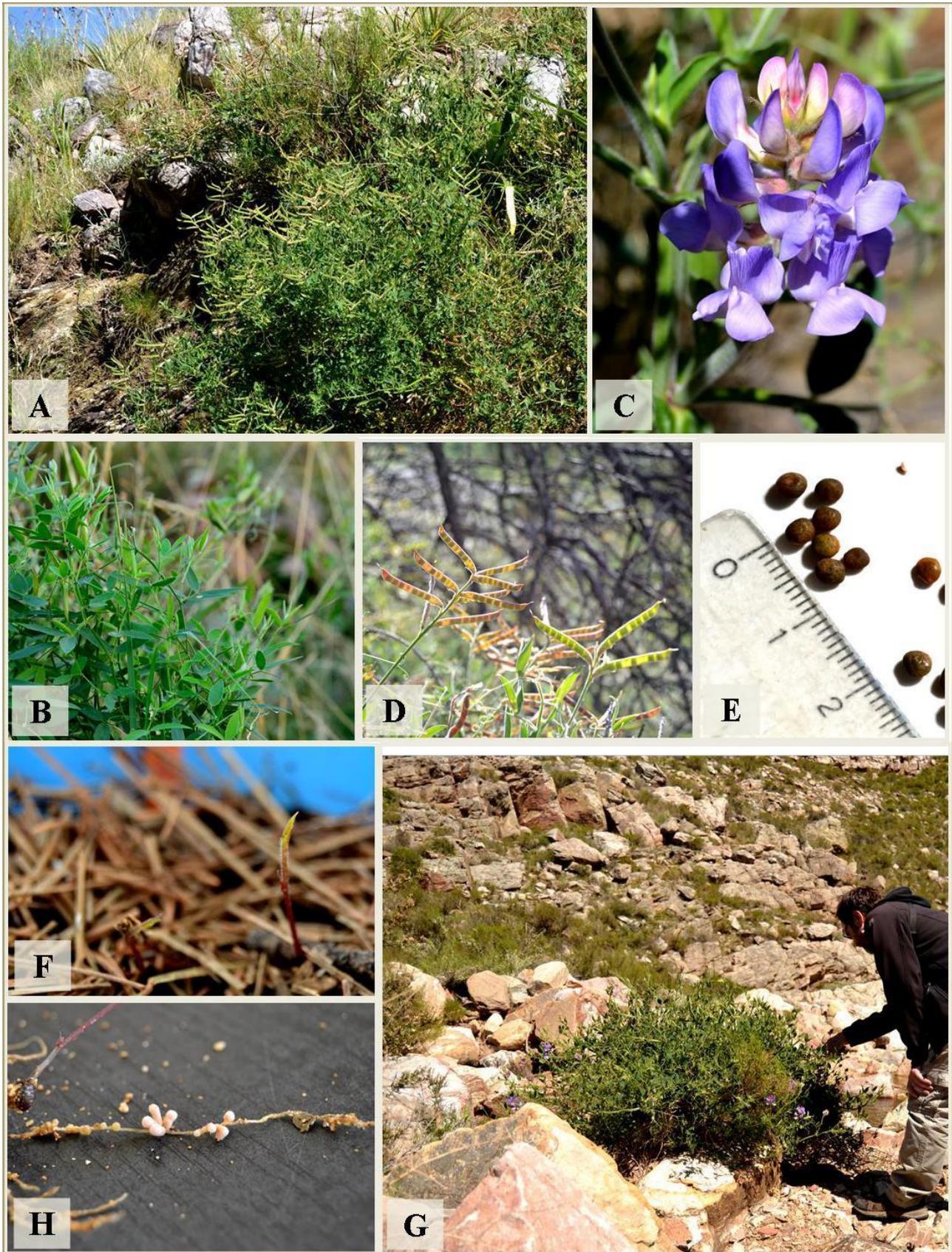
Adesmia incana. A) Plantas completas B) Hojas C) Flor D) Fruto E) Semillas F) Plántula G) Plantas formando tapiz H) Plantas formando tapiz en flor, médanos semifijos I) Nódulos en la raíz.

Adesmia muricata (Jacq.) DC.

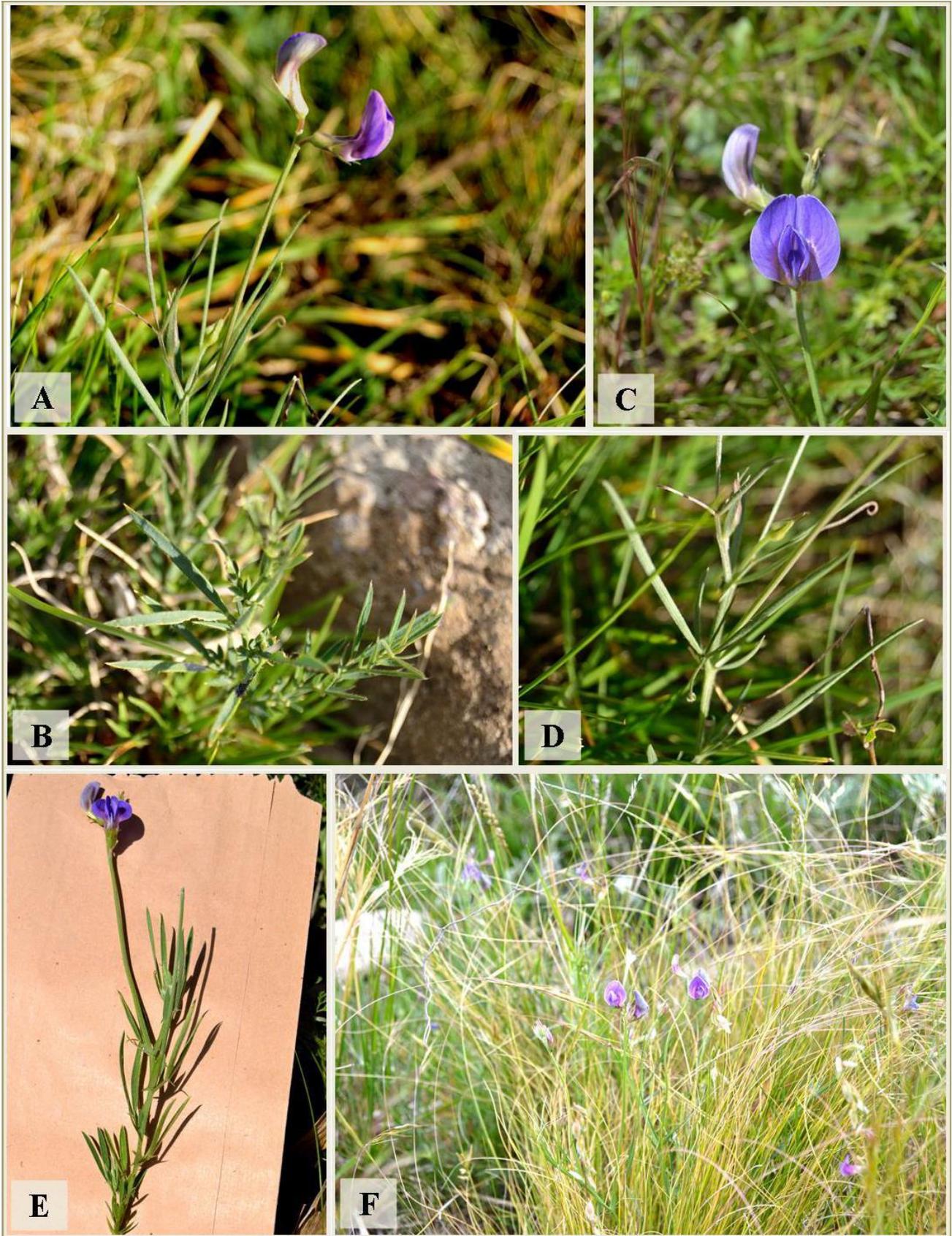
Adesmia muricata. A) Plantas completas B) Hoja C) Flor D) Fruto E) Semillas F) Planta creciendo en un pastizal psammófilo G) Nódulos en la raíz.

Lathyrus nervosus Lam.

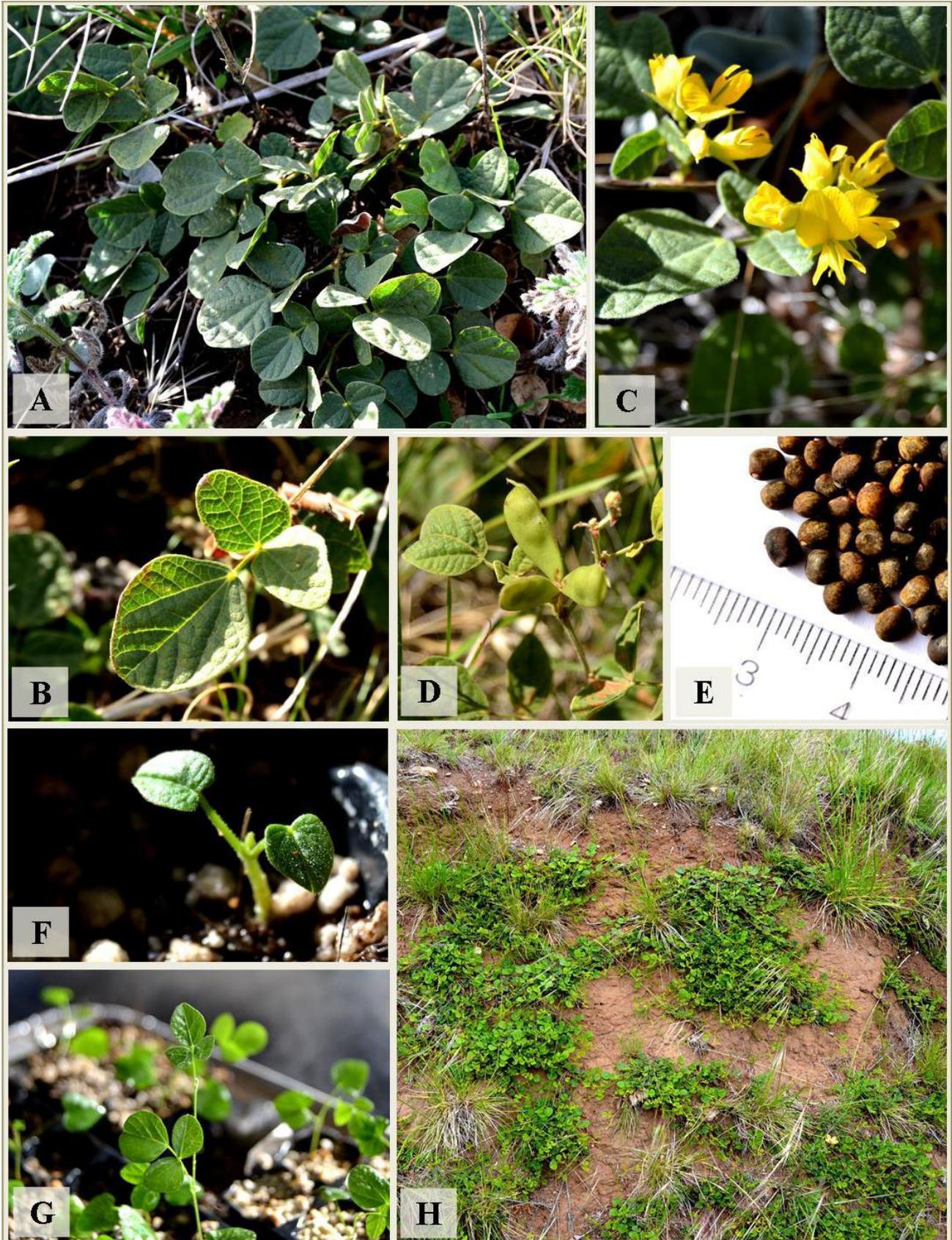
Lathyrus nervosus. A) Planta completa B) Hoja C) Flor D) Fruto E) Plantas creciendo en ambiente palustre, cerca del cauce de un arroyo serrano.

Lathyrus pubescens Hook. et Arn.

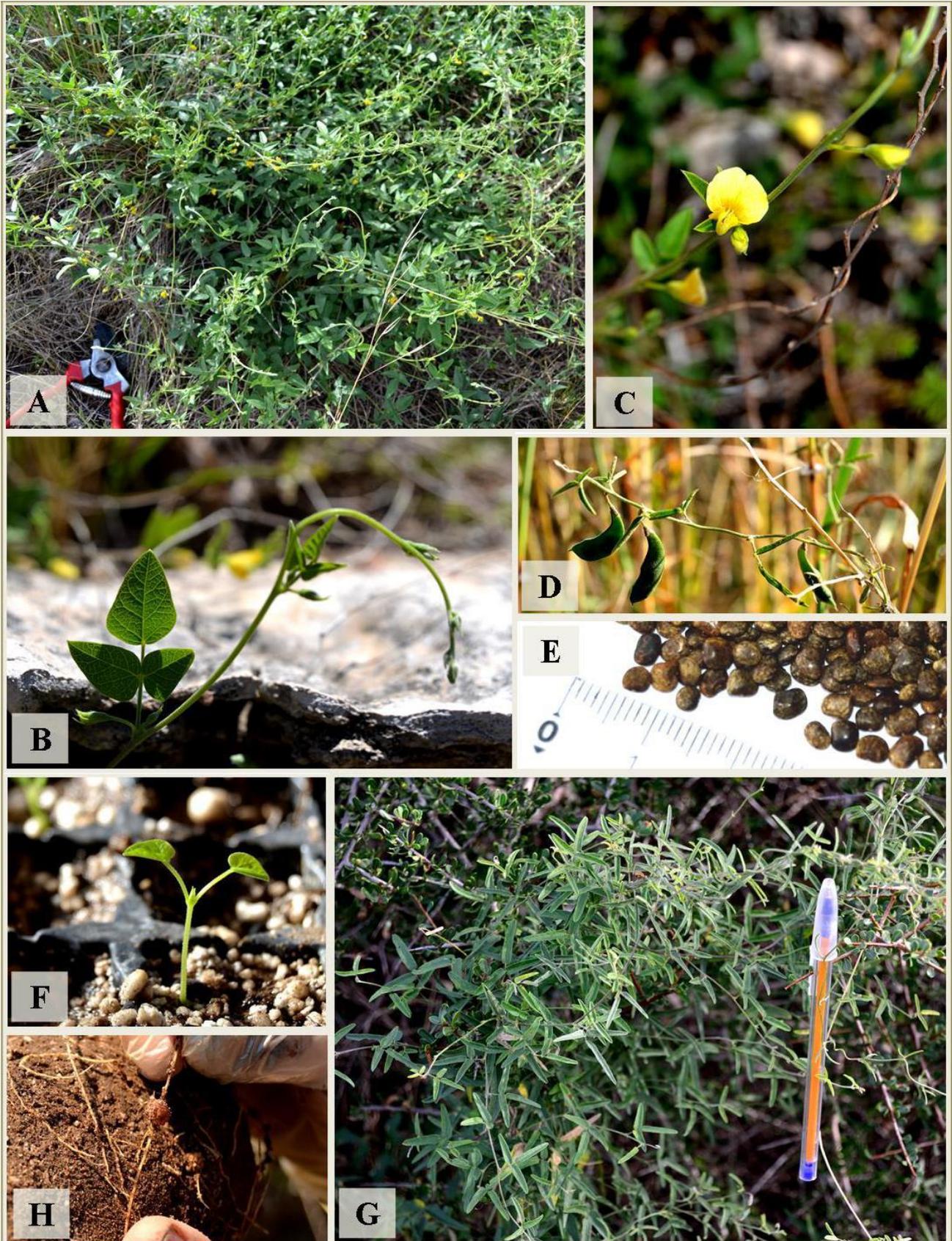
Lathyrus pubescens. A) Planta completa B) Hojas C) Flores D) Frutos E) Semillas F) Plántula G) Planta en cauce de arroyo, tamaño adulto H) Nódulos en la raíz.

Lathyrus subulatus Lam.

Lathyrus subulatus. A) Planta completa B) Hojas C) Flor D) Rama con zarcillo E) Planta completa en flor F) Planta creciendo entre gramíneas, en un pastizal serrano.

Rhynchosia diversifolia Micheli

Rhynchosia diversifolia. A) Planta completa B) Hoja C) Flores D) Frutos E) Semillas F) Plántula G) Plantines H) Plantas colonizando un barranco.

Rhynchosia senna Gillies ex Hook.

Rhynchosia senna. A) Planta completa B) Hojas C) Flor D) Frutos E) Semillas F) Plántula G) Planta creciendo sobre la vegetación aledaña (especie voluble) H) Nódulo en la raíz.

ANEXO 2

Caracterización de las leguminosas nativas del Sudoeste Bonaerense potencialmente útiles para la restauración productiva

A continuación se presenta una caracterización detallada de las 19 especies de leguminosas potencialmente útiles para la restauración productiva del sudoeste bonaerense. Se incluyeron las especies que aún no fueron localizadas ya que podrían hallarse en un trabajo más extenso e intensivo. La información de cada especie fue extraída de la Flora de la Provincia de Buenos Aires (Cabrera, 1967) o de la Flora Argentina, consultada en línea a través de la página del Instituto de Botánica Darwinion (www.floraargentina.edu.ar). Información complementaria, especialmente aquella requerida a usos y potenciales aplicaciones, fue extraída de bibliografía específica que se cita oportunamente en el texto. Los autores en los nombres siguen las abreviaturas según Brummitt y Powell (1992).

Adesmia DC.

La tribu sudamericana *Adesmieae* (Benth.) Hutch. comprende solamente el género *Adesmia* DC., con aproximadamente 240 especies herbáceas o arbustivas que crecen en zonas montañosas y semidesérticas, muchas de ellas con potencial forrajero (Ulibarri y Burkart, 2000). Su distribución abarca desde el norte del Perú hasta Tierra del Fuego, comprendiendo Bolivia, Chile, Argentina, sur de Brasil y Uruguay, pero la mayor diversidad se encuentra en el centro de Chile y sur y oeste de Argentina (Burkart, 1943). Según Allen y Allen (1981) este es el mayor género de leguminosas en Argentina, donde viven aproximadamente 100 especies y 14 variedades, de las cuales 53 son endémicas (Burkart, 1967; Bianco, 2002) y al menos 7 son nodulantes (De Faria *et al.*, 1989).

El valor forrajero de las especies herbáceas de *Adesmia* ha sido mencionado en publicaciones de Argentina, Uruguay, Chile y Brasil (Dias *et al.*, 2004a). En Argentina, observaciones de campo de estas especies como forrajeras indican que son consumidas por el ganado y que no presentan ningún registro de sustancias tóxicas (Burkart, 1952).

Información complementaria sobre algunas características químicas del género en Agnese *et al.* (1998).

Adesmia bicolor (Poir.) DC.

Nombre común: alverjilla (Buenos Aires), babosita (Uruguay), patopé (Corrientes).

Hierba perenne, rastrera y viajera, glabra, de 15 a 30 cm de altura. **Raíz** principal axonomorfa, profunda, las adventicias en general menores. **Tallos** largos, de hasta 2 m (Izaguirre de Artucio, 2017a), rastreros, radicantes en los nudos, ramosos, ascendentes en el ápice, con indumento tenue y breve. Plagiótropos (Basconsuelo *et al.*, 2013). **Hojas** de 2,5 cm, en formas bajas, hasta 22 cm, 6-13-yugadas y paripinnadas, alternas, distanciadas en los tallos largos o pocas fasciculadas, en ramillas laterales; **estípulas** de 2,5-8 mm, herbáceas, persistentes, oval-lanceoladas; **pecíolos** tenues, breves o, en hojas basales, muy alargados y superando a veces la mitad del largo total de la hoja; **folíolos** de 2-17 por 0,8-6 mm, herbáceos, opuestos, peciolulados, uninervios, elípticos, emarginados o mucronados, plegados a planos. **Racimos** de 2-45 cm, laxifloros, tenues, subcapitados cuando jóvenes; **brácteas** de 2-5 mm, herbáceas, persistentes, pubérulas; **pedicelos** de

0,4-4 mm, gráciles, tenues, los inferiores mayores. **Flores** de 1-1,4 cm; **cáliz** de 8-11 mm, pubescente, con tubo alargado, dientes algo menores que el tubo; **corola** casi dos veces mayor que el cáliz, amarilla con estrías rojas; vexilo amplio, pubescente; uña de los pétalos larga; quilla glabra, aguda. **Estambres**, los dos superiores adheridos a la base de la uña del vexilo. **Ovario** pubescente. **Frutos**: lomentos de 1,2-3 cm, 4-9-articulados, rectos o levemente incurvos, rara vez erguidos, comprimidos, marginados, subtorulosos, pubescentes con pelos glandulosos amarillentos tenues, rara vez glabros. **Artejos** lenticulares, dehiscentes, con borde placentar persistente, pero a veces artejos indehiscentes, o dehiscentes quebrándose sin dejar semirrepleo. El lomento se separa en fragmentos transversales monospermos, separados unos de otros por ceñiduras visibles externamente (Basconsuelo *et al.*, 2013). **Semillas** de 2-2,2 por 1,8-2,4 mm, mitriformes, oscuras, maculadas de pardo y negro. Está constituida por un embrión con dos cotiledones rectos, un eje embrionario con una radícula bien definida y un hipo-epicótilo poco desarrollado (Basconsuelo *et al.*, 2013). El endocarpo no está adherido al tegumento de la semilla y el endosperma es muy delgado, cubriendo el embrión y adnato a la testa o tegumento seminal (Basconsuelo *et al.*, 2013). Para detalles sobre la ontogenia seminal, ver Rodríguez-Pontes (2008).

Distribución: Uruguay, sur de Brasil, parte central de Chile y Argentina, en Tucumán, San Luis, Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires, Entre Ríos, Corrientes y Río Negro. Es una especie muy abundante en nuestro país y el centro de origen de la especie es probablemente el Chaco argentino (Izaguirre de Artucio, 2017a).

Ambiente: es un elemento típico de la pampa prístina, que vuelve a los campos arados a los pocos años porque las semillas duras se mantienen en el suelo. Crece en pendientes suaves y en prados naturales, en una amplia variedad de suelos, aunque prefiere los francos o arcillosos, fértiles. Desde el nivel del mar hasta los 2000 msnm.

Desarrollo, fenología y biología reproductiva: las semillas germinan en invierno y las plantas se desarrollan también en esta época (Vileta *et al.*, 2010), aunque con buena disponibilidad de agua crece hasta mediados de verano (Izaguirre de Artucio, 2017a). La germinación es epígea, la plántula es de tipo faneroepígea y el eje primario alcanza un escaso desarrollo (3–5 cm) y tiene 4 a 6 nudos (Basconsuelo *et al.*, 2013). En la axila de cada uno de los cotiledones se destacan dos yemas que originan dos vástagos de crecimiento muy rápido (Weberling *et al.*, 2002). La floración ocurre por primera vez en el segundo año (Basconsuelo *et al.*, 2013), en primavera y verano. La fecundación puede ser cruzada o por autofecundación, pero es preferentemente alógama porque necesita de

estimulación física para producir frutos y semillas por autopolinización (Tedesco *et al.*, 2000; Vidal *et al.*, 2016). Los insectos de la familia Apidae serían los posibles polinizadores en cultivo (Vidal *et al.*, 2016). El número cromosómico es de $2n=20$ (Miotto y Forni-Martins, 1994; Morais, 1999).

Forma de crecimiento: clonal, lo cual le confiere ventajas en el flujo de fotoasimilados, agua y nutrientes entre los distintos ejes a través de conexiones fisiológicas (estolones), característica que podría ser un factor clave para asegurar la persistencia bajo pastoreo intensivo (Dodd y Orr, 1995; Veneciano *et al.*, 2005). La mayoría de las yemas, incluidas las profilares, desarrollan vástagos vigorosos y de esta manera cubren grandes extensiones del terreno (Basconsuelo *et al.*, 2013).

Nodulación y FBN (Basconsuelo *et al.*, 2013): los nódulos maduros son usualmente pequeños, achatados y presentan crecimiento de tipo determinado (Vileta *et al.*, 2010; Bianco *et al.*, 2013). Se los encuentra asociados a raicillas finas y usualmente se distribuyen de a pares. En los primeros estadios de crecimiento, la mayor parte de los nódulos se desarrolla en la raíz principal, luego comienza la formación en raíces laterales y algunos en raíces adventicias (Vileta *et al.*, 2010). El mecanismo de infección es diferente al de la mayoría de las leguminosas, aunque ha sido reportado en el 75% de las especies de la subfamilia Papilionoideae. Los rizobios no penetran por los pelos radicales, sino infectan a través de la hendidura que se genera entre la raíz principal y las laterales y luego se forman allí los nódulos. Este tipo de infección se conoce como *crack entry* y podría representar una estrategia adaptativa de esta especie, que es típica de ambientes áridos (Bianco, 2014). En los nódulos, de tipo aescynomenoide, se pueden observar dos zonas, la corteza y la zona bacterial; en corte transversal se ve que la parte central está ocupada por células infectadas, con escasas células no infectadas entre ellas. En general, los nódulos de este tipo derivan de las células más externas de la corteza de la raíz y son viables por corto tiempo. Es abundantemente nodulada por rizobios de crecimiento rápido y tiene una alta capacidad de FBN (Bianco y Kraus, 1996).

Calidad forrajera: muy buena aptitud forrajera por su alta calidad nutricional, similar a la de la alfalfa (*Medicago sativa*) en estado vegetativo (Basconsuelo *et al.*, 2013), tolerancia al pastoreo intenso (Izaguirre de Artucio, 2017a), gran capacidad de rebrote, facilidad para colonizar nuevas áreas y producción de forraje de alta palatabilidad a fines de invierno y comienzos de primavera, época de escasez de alimento (Weberling *et al.*, 2002). Preferida por el ganado ovino en campos de Uruguay (Coll y Zarza, 1992). Los valores de proteína bruta reportados varían entre 14 y 18% y la digestibilidad *in vitro* de materia seca entre 74 y 78% (Burkart, 1943; Coll y Zarza, 1992; Dodd y

Orr, 1995; Izaguirre de Artucio, 2017a). Se reportó un 0,24% de P (Dodd y Orr, 1995) y un 16% de fibra detergente ácida (Izaguirre de Artucio, 2017a).

Características agronómicas: en un experimento realizado en Nueva Zelanda, donde se compararon accesiones de 11 especies de *Adesmia*, *Medicago* y *Trifolium* en cuanto al crecimiento estacional, la respuesta a la fertilización con P y la tolerancia a la sequía, las accesiones con una tasa de crecimiento mayor incluyeron tres accesiones de *Trifolium* y una de *Adesmia bicolor* (Dodd y Orr, 1995). *A. bicolor* mostró un potencial particular por su abundante producción de forraje, crecimiento vigoroso, tolerancia a bajos contenidos de P y características morfológicas agronómicamente valiosas, como la formación de estolones radicantes (Dodd y Orr, 1995). Se adapta a temperaturas bajas, es una de las pocas especies que se encuentra en estado vegetativo durante el invierno, simultáneamente con *Trifolium repens* y *Medicago lupulina* (Veneciano *et al.*, 2005). Tolera la presencia de una estación extremadamente seca y bajos contenidos de N en el suelo (Vileta *et al.*, 2010). Compite bien con gramíneas agresivas (Izaguirre de Artucio, 2017a). Se han realizado trabajos de mejoramiento, pero con éxito parcial por germinación errática de las semillas y crecimiento irregular (Bianco y Kraus, 1996).

Usos medicinales: se ha reportado la presencia de las isoflavonas genisteína y formononetina en esta especie, compuestos fenólicos utilizados entre otras cosas como alternativa para la reposición hormonal en mujeres postmenopáusicas (Dettenborn, 2009).

Otros usos: buena para la fijación de dunas (Izaguirre de Artucio, 2017a). La abundante producción de semilla, el éxito en el establecimiento de las plántulas y el modelo arquitectural de *Adesmia bicolor* son adecuados para ser utilizadas en la revegetación para recuperar áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002; Izaguirre, 2005).

***Adesmia corymbosa* Clos**

Hierba perenne, pubescente, de 10-30 cm de altura. **Raíz** principal única, vertical, subcarnosa. **Tallos** poco ramosos, decumbentes, no radicantes, emergiendo en buen número del cuello de la raíz. **Hojas** 6-9-yugas, seríceo-pilosas; **folíolos** de 2-5 mm, opuestos, uninervados, obovales, obtusos, plegados, aproximados, ocupando solo la mitad superior del eje foliar. **Racimos** simples, apicales, breves, subcorimbosos cuando jóvenes, **pedicelos** de 1-1,5 cm. **Flores** de 7 mm, amarillas

a anaranjadas; **cáliz** de 4 mm, pubescente; **corola** casi glabra afuera, quilla con barbilla subapical extrorsa bien visible. **Frutos:** Lomentos de 1-2 cm, 7-articulados, lineares, plumosos-setulosos, marginados; **artejos** semilenticulares indehiscentes, de 3-4 mm de diámetro, con cerdas plumosas orientadas hacia el ápice, ralas, desnudas en su parte basal.

Distribución: Chile central y Argentina, en Mendoza, Neuquén, Rio Negro, Chubut, Santa Cruz. Rara en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, en arenas (Bahía Blanca, Monte Hermoso).

Ambiente: puede soportar temperaturas bajas y vientos fuertes (Ladio, 2001). Crece entre los 200 y los 3500 msnm.

Biología reproductiva y polinización: entomófilas, en particular melitófilas (polinizadas por insectos himenópteros, como abejas y avispas, con aparato bucal suctor corto y que buscan alimentarse de néctar). La composición química del néctar floral contiene en promedio aproximadamente la misma cantidad de fructosa que de glucosa, no posee sacarosa y tiene presencia de fenoles y lípidos (Bernardello *et al.*, 1999).

***Adesmia filipes* A. Gray**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Hierba anual y monocárpica, seríceo-pubescente y glutinosa, rara vez semiperenne, de 10-50 cm de altura. **Raíz** única, delgada, vertical y amarillenta, rara vez engrosada y subleñosa en ejemplares probablemente 2-3-anales. **Tallos** varios, ascendentes a erectos, ramificados desde el cuello de la raíz, amarillentos y de pocas hojas. Pubescencia rala o subdensa en todas partes, compuesta de pelitos blancos estrigosos o semierectos y cerditas glandulosas erguidas de base cónica. **Hojas** de 30-50 mm, pecioladas y 5-8-yugadas; **estípulas** pequeñas y libres; **folíolos** de 4-6 por 2-3 mm, planos, obovales, orbiculares o elípticos, dispuestos laxamente sobre el raquis. Pubescencia corta, suave en ambas caras, de pelitos blancos que dan una coloración grisácea y algunos glandulosos. Estomas ranunculáceos. Histología: pelos no glandulares de superficie lisa, con una célula basal corta y célula distal larga, implantados en una roseta de células epidérmicas (Monge, 1995). **Racimos** simples de hasta 22 cm (Ulibarri y Burkart, 2000), con 7 a 10 flores cada uno, laxos, alargados, sobrepasando las hojas. **Flores** de 7-9 mm; pedicelos de 3-5(19) mm (Ulibarri y Burkart, 2000), hispídulos, glandulosos; **cáliz** pubescente, glanduloso, con 5 dientes largos y agudos; **corola**

anaranjada con estrías rojizas, dientes desiguales más largos o iguales al tubo; vexilo generalmente glabro exteriormente, amarillo, rubrolineado, obtuso, amplio; uña corta, cóncava, barbelada interiormente; alas y quilla más o menos del mismo largo que el vexilo; estandarte poco pubescente afuera; quilla sin barba apical, ancha, aguda, glabra salvo el borde inferior con ciliadas; **estambres** totalmente libres. **Ovario** recto pubescente, plurióvulado. **Frutos:** lomentos de 15-25 por 3-3,5 mm, rectos o levemente curvos (Ulibarri y Burkart, 2000), comprimidos, arrosariados, con pubescencia rala y cerdas plumosas, blanquecinas, largas; **artejos** 6-9, indehiscentes que se desarticulan sin dejar semirrepto. **Semillas** de 2-2,5 mm de diámetro, discoidales.

Distribución: endemismo del centro y sur de Argentina (Steibel, 2000), habita en la Provincia Biogeográfica del Monte, incluyendo Catamarca, San Juan, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y La Pampa. Alcanza Buenos Aires por el SO, en la Provincia Biogeográfica del Espinal.

Ambiente: es psammófila y efímera, frecuente en pedregales, médanos marítimos fijos y semifijos (Celsi y Monserrat, 2008) y arenales costeros de arena incluso muy suelta y sin vegetación, entre la primera línea de vegetación (obs. pers.). Llega hasta los 2.200 msnm.

Fenología y biología reproductiva: la germinación es epígea, los cotiledones son fotosintetizantes y el eje primario tiene un crecimiento inicial vigoroso (Weberling *et al.*, 2002). En la región florece de octubre a diciembre y está en fruto en enero (obs. pers.)

Nodulación y FBN: se ha observado la presencia de nódulos abundantes y activos en esta especie (Merino y Quintana, 1991; obs. pers.).

Calidad forrajera: útil forrajera en médanos, aunque de escaso desarrollo (Cabrera, 1967; Izaguirre, 2005).

Calidad melífera: es utilizada por *Apis mellifera*, la composición del néctar se analiza en Forcone *et al.* (1997).

Observaciones: es una especie citada por algunos autores como amenazada (Monserrat *et al.*, 2012).

***Adesmia incana* Vogel**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Ulibarri y Burkart (2000). Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: "alverjilla amarilla" (Entre Ríos).

Hierba perenne y polimorfa, que varía en la longitud de los tallos estoloníferos, en la forma y número de los folíolos y en la pubescencia. El ecotipo de las dunas marítimas es rastrero y el serrano o campestre es postrado-ascendente, poco rastrero o suberecto; ambos con tallos estoloníferos radicales en los nudos que alcanzan los 2 m de longitud (obs. pers.). Es seríceo o incano-pubescente, cubierta de pelitos blancos, densos, mezclada o no con cerditas mayores amarillentas, erguidas, en especial en inflorescencias y frutos. **Raíz** principal profunda y única, luego ramificada; las raíces adventicias de los nudos son de dos tipos, algunas de escasos milímetros y muy lignificadas que actúan como órgano de fijación y otras desarrolladas, ubicadas en el extremo de los vástagos, que permiten una propagación asexual de la especie (Weberling *et al.*, 2002). **Tallos** en general largamente tendidos, a veces suberectos. **Hojas** de 1-7 cm, 4-13-yugas; **folíolos** de 3-15 por 1-5 mm, uninervados, oblongo-obovales, obtusos o rara vez agudos, seríceo-estrigosos. **Racimos** simples, alargados cuando floríferos, capitado-subcorimbosos en el ápice. **Flores** de 11-15 mm, brevemente pediceladas (pedicelos de 1-9 mm); **cáliz** alargado 5-dentado, **corola** amarillo-anaranjada con estrías rojizas, estandarte afuera seríceo-pubescente. **Frutos:** Lomentos 1-7 articulados, erguidos, seríceos, con artejos semilenticulares.

Distribución: Uruguay, sur de Brasil y Argentina, en Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Buenos Aires, La Pampa, Córdoba, San Luis, Catamarca y Salta.

Ambiente Crece en sierras, barrancas calcáreas (Steibel, 2000), campos semisecos y dunas atlánticas, hasta los 1.800 msnm. Forma tapices monoespecíficos extensos o crece en pastizales, mezclada con otras especies y apoyándose en matas de gramíneas o arbustos (obs. pers.). Su raíz pivotante profunda y los ambientes en los que crece permite suponer una gran tolerancia a la sequía (Graham y Vance, 2003).

Fenología y biología reproductiva: en la zona de estudio tiene un período de floración amplio, que va desde la primavera tardía y verano hasta principios del otoño en algunas poblaciones, aunque el pico de floración ocurre en diciembre y enero (obs. pers.). La autofecundación puede ocurrir pero

requiere de estimulación mecánica para que sea efectiva, con lo cual la fecundación cruzada es probablemente lo más frecuente (Tedesco *et al.*, 2000). Las especies de abejorro *Bombus atratus* y *B. bellicosus* son visitantes florales de esta especie (Abrahamovich *et al.*, 2001). El número cromosómico reportado es $2n=20$ (Coelho, 1997) y $2n=40$ (Miotto y Forni-Martins, 1994; Coelho y Battistin, 1998), lo cual indica que puede haber tetraploidía. En la germinación, la radícula sale primero de la cubierta seminal pero los dos cotiledones no tardan en aparecer.

Nodulación y FBN: se ha observado la presencia de nódulos abundantes y activos en esta especie (obs. pers.).

Calidad forrajera: buena forrajera (Burkart, 1943; Ulibarri y Burkart, 2000). En la EEA Pergamino del INTA, entre 1956 y 1986 se evaluó un cultivar de esta especie (Puignau, 1990).

Calidad melífera: de interés apícola (Fagúndez *et al.*, 2016).

Otros usos: tiene varias características que la hacen adecuada para ser utilizada en la fijación de médanos y en la revegetación para recuperar áreas degradadas (Parodi, 1937; Burkart, 1943; Ulibarri y Burkart, 2000; Weberling *et al.*, 2002). Algunas de ellas son su abundante producción de semillas, el éxito en el establecimiento de las plántulas, el modelo arquitectural que posee (produce pocos brotes de innovación pero son largos, de 50–100 cm, y se disponen en forma radial cubriendo rápidamente grandes sectores del terreno), las reservas radiculares que aseguran un buen rebrote y las raíces adventicias que le permiten fijarse y propagarse vegetativamente (Weberling *et al.*, 2002).

Observaciones: es semejante a *A. bicolor*, pero grisácea-pubescente.

***Adesmia muricata* (Jacq.) DC.**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: alverjilla (San Luis).

Hierba anual o 2-3-anual, de 15 a 60 cm de altura, ascendente o erecta, con corona subleñosa, pubescente, setulosas y polimorfa. **Raíz** principal única, delgada y vertical (Merino y Quintana, 1991). **Tallos** ascendentes (15-60 cm) o procumbentes (90-120 cm), en ramillete desde la corona,

con ramificación acrópeta e indumento breve de pelos simples y glandulosos. **Hojas** de 5 a 6 cm, paripinnadas y pluriyugas; **folíolos** 3-8 pares, de 4-18 por 2-9 mm, elípticos, obovados u oblongos, inciso-dentados o raramente enteros, de ápice obtuso o levemente emarginado, con pubescencia variable; **estípulas** pequeñas, membranosas, deltoide-lanceoladas; **pecíolo** menor que el raquis, éste terminado en breve mucrón (Ulibarri y Novara, 1996). **Racimos** apicales 5-25 cm de longitud, raquis de 20 cm (Weberling *et al.*, 2002), con 14 a 20 flores. **Flores** de 6-7 (10) mm, pediceladas; **cáliz** 3,5-5 mm, raramente estrigoso y ciliolado, persistente; lóbulos deltoides, subiguales, algo menores que el tubo; **corola** amarilla-anaranjada con estrías rojizas, estandarte orbicular, obtuso, glabro en el dorso, alas glabras, algo cilioladas en el margen, quilla obtusa, con el margen inferior ciliolado. Brácteas ovado-lanceoladas, cóncavas, membranosas, sésiles; pedicelos de 5-10 mm (Ulibarri y Novara, 1996). Para detalles sobre la ontogenia floral, ver Moço y Mariath (2009). **Frutos:** lomentos de 1,5-2,3 cm, subsésiles, lineares o levemente incurvos, comprimidos, divergentes, muricados y pubescentes, arrosariados, istmos anchos; **artejos** 7-10, de 2,2-2,5 por 3-3,2 mm, suborbiculares, lenticulares, dehiscentes dejando semireplo. **Semillas** de 1,8 a 2,2 mm de diámetro, ovoides a discoidales, grisáceo-marmoreada (Ulibarri y Novara, 1996).

Distribución: de distribución muy amplia, en Chile, Bolivia, Perú, Uruguay, sur de Brasil y Argentina (Ulibarri y Burkart, 2000; Groom, 2012a). En Argentina, desde el N y NO argentino, hasta Córdoba, Santa Fe, y Entre Ríos (Ulibarri y Novara, 1996), con diferentes variedades en distintas zonas geográficas. **Var. *affinis*** en Uruguay, Rio Grande do Sul, Brasil y el sur de Buenos Aires. **Var. *dentata*** de distribución extensa, encontrándose en Lima, Perú, el extremo S de Brasil y en Argentina en Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, La Rioja, Chaco, Santiago del Estero, Córdoba, San Luis, Santa Fe, Entre Ríos y Buenos Aires. **Var. *gilliesii*** y **var. *muricata*** en las Provincias Biogeográficas Chaqueña, del Monte y del Espinal (San Luis, Mendoza, La Pampa, Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires). **Var. *rionegrensis*** en el norte de Patagonia, provincia de Río Negro.

Ambiente: especie psammófila de zonas semiáridas. La var. *muricata* es preferentemente psammófila, igual que la var. *gilliesii*, y crece en quebradas y llanos de ríos temporarios, entre los 400 y 2600 msnm; var. *affinis* crece en serranías y praderas; var. *dentata* crece en montes, lechos secos de ríos y pedregales, entre los 900-1.300 msnm (Ulibarri y Burkart, 2000). En el área de estudio crece en manchones de varios individuos, en pastizales abiertos de suelos arenosos (obs. pers.).

Fenología y biología reproductiva: se implanta en invierno y permanece en estado de plántula hasta la primavera (Chirino *et al.*, 1988). En flor y fruto de septiembre a marzo, en La Pampa, florece y fructifica en diciembre, se seca a mediados de verano (Chirino *et al.*, 1988). La polinización es entomófila y especialista y sus polinizadores incluyen a Apidae o Anthophoridae (Fernández *et al.*, 2009). La fecundación es versátil, aunque parece ser predominante la fecundación cruzada (Tedesco *et al.*, 2000). El número cromosómico es $2n=20$ (Miotto y Forni-Martins, 1994; Morais, 1999).

Nodulación y FBN: se ha observado la presencia de nódulos activos en esta especie (Merino y Quintana, 1991; Ulibarri y Burkart, 2000; obs. pers.). Sobre la morfología de sus nódulos radicales véase Stronati *et al.* (1994).

Calidad forrajera: forrajera de cierto valor en regiones semiáridas (Cabrera, 1967; Ulibarri y Burkart, 2000), aunque es poco productiva (Steibel, 2000). Burkart (1943) menciona que “abunda en el centro del país y en San Luis es apreciada como forraje, siendo frecuente en los alfalfares” y que “a veces es invasora de cultivos”. Antes de la floración el contenido proteico llega a 17% y en diciembre es de alrededor de 12% (Chirino *et al.*, 1988). Según Dodd y Orr (1995), los valores de proteína bruta son de 13%, P de 0,34% y digestibilidad *in vitro* de materia seca de 71%. En la EEA Pergamino del INTA, entre 1956 y 1986 se evaluó un cultivar de esta especie (Puignau, 1990).

Características agronómicas: se resiembrada sola con facilidad (Cabrera, 1967). En el estudio realizado por Dodd y Orr (1995), se vio que el desarrollo era lento y escaso y que no toleraba bien los tratamientos de sequía. No se observaron rizobios funcionales ya que no hubo nódulos activos en las raíces de las plantas al final de los experimentos, pero esto podría adjudicarse a que el ensayo fue conducido en Nueva Zelanda, lejos de la zona de donde esta especie es nativa; es posible que no haya habido cepas correctas de rizobios para la nodulación.

Calidad melífera: de interés apícola (Fagúndez *et al.*, 2016). Se encontró alrededor de un 1% de polen de esta especie como componente del polen de abejas (*Apis mellifera*), en la cosecha de la primavera tardía-principio de verano (Andrada y Tellería, 2005). La composición del néctar se analiza en Forcone *et al.* (1997).

Usos medicinales: citada entre las especies de la provincia de Buenos Aires que además de tener algún grado de amenaza, presentan alguna propiedad medicinal (Vercelli *et al.*, 2013). Se ha

reportado que contiene la isoflavona formononetina, un compuesto fenólico utilizado entre otras cosas como alternativa para la reposición hormonal en mujeres postmenopáusicas (Dettenborn, 2009).

Otros usos: fijadora de médanos. Su abundante producción de semilla, el éxito en el establecimiento de las plántulas y el modelo arquitectural que posee la hace adecuada para ser utilizadas en la revegetación para recuperar áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002).

***Adesmia punctata* (Poir.) DC.**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Ulibarri y Burkart (2000).

Hierba perenne, rastrera o ascendente, radicante, con sétulas amarillentas en todos los órganos salvo la corola. Muy semejante a *A. bicolor*, que es glabra o pubérula, y a *A. incana*, que es grisáceo-pubescente. **Raíces** en sistema radicular profundo (Izaguirre de Artucio, 2017b). **Tallos** delgados, acostados, con indumento de pelos simples blanquecinos, entremezclados con sétulas amarillentas más densas hacia el ápice. **Hojas** de 1-12 cm, 6-10-yugadas, poco pubescentes o setulosas; **folíolos** de 3-8 (-13) por 1-2,5 mm, uninervados, elíptico-obovados, obtusos o mucronulados. **Racimos** de 4-20 cm, subcapitados en el ápice y densifloros, pedúnculo y raquis breve y densamente setulosos; **pedicelos** de 1-7 mm. **Flores** de 1 cm, **cáliz** de 7-8 mm, breve y densamente setuloso, dientes subulados, el doble de largo que el tubo; **corola** amarilla con estrías rojizas, estandarte afuera pubescente. Para detalles sobre la ontogenia floral, ver Moço y Mariath (2009). **Frutos:** Lomentos de 1-1,5 cm, (1-)3-6 articulados, rectos o arqueados, aproximados al raquis, densamente setulosos con sétulas uniformes y numerosas, breves, a veces con algunos artejos estériles; **artejos** de 2,5-3 por 3-4 mm, convexos y marginados, dehiscentes dejando el margen placentar persistente. **Semillas** de 2,2 mm de diámetro, mitriiformes y oscuras.

Distribución: Uruguay, sur de Brasil y Argentina, en Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires. La var. *punctata* tiene una distribución más restringida en Argentina y en Buenos Aires es rara y prácticamente extinguida. La var. *hilariana*, de indumento más denso y sétulas cortas, es más abundante y está presente en Buenos Aires. Categorizada como “rara” por Delucchi y Correa (1992).

Ambiente: crece en laderas, campos pedregosos y bordes de carreteras, puede prosperar en suelos de fertilidad baja, arenosos, playas³. La var. *punctata* crece en campos, pastizales y barrancas

pratenses, hasta los 300 msnm. La var. *hilariana* crece en barrancas, prados y márgenes de ríos, hasta los 2200 msnm.

Fenología y biología reproductiva: crecimiento invierno-primaveral. Floración en primavera-verano (Izaguirre de Artucio, 2017b). Puede ocurrir fecundación cruzada o autofecundación, aunque en este último caso necesita de un estímulo mecánico para que la autofecundación sea efectiva (Tedesco *et al.*, 2000). La var. *hilariana* parecería hibridarse con *A. bicolor* según Burkart (1987). Abundante producción de semillas (Izaguirre de Artucio, 2017b). El número cromosómico para *A. punctata* var. *hilariana* es $2n=20$ (Coelho y Battistin, 1998; Morais, 1999). La variabilidad genética, evaluada por RAPD, mostró una similaridad genética intrapoblacional media de 0,8 según el índice de Jaccard (Dias *et al.*, 2004b).

Calidad forrajera: la producción de forraje es abundante y de calidad, con 16 a 23% de proteína y 0,2% de P, y es palatable a pesar de su vellosidad (Dall'AgnoI y Gomes, 1994 *fide* Tedesco *et al.*, 2000; Ulibarri y Burkart, 2000; Izaguirre, 2005).

Características agronómicas: en parcelas experimentales mostró lento crecimiento inicial y establecimiento; es resistente a las bajas temperaturas, responde a la fertilización fosfatada y produce abundante forraje (Izaguirre de Artucio, 2017b; Scheffer-Basso *et al.*, 2001a). Las temperaturas altas y las sequías estivales causan defoliación y a veces la muerte de las plantas (Izaguirre de Artucio, 2017b).

Otros usos: repobladora (Izaguirre, 2005).

Usos medicinales: se ha reportado la presencia de las isoflavonas formononetina y biochanina en esta especie, compuestos fenólicos utilizados entre otras cosas como alternativa para la reposición hormonal en mujeres postmenopáusicas (Dettenborn, 2009).

***Hoffmannseggia glauca* (Ortega) Eifert**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Juárez y Novara (2005) y Simpson (1999).

Nombres comunes: porotillo, algarrobilla fina, papa cuchi, camincha, cina enana. En México: cocos, coquito, camote de ratón, papilla. En Estados Unidos: *indian rush-pea*, *hog potato*.

Hierba erecta, perenne, rizomatosa y con tubérculos pequeños, cilíndricos y oscuros de hasta 1 cm de diámetro (Camuñas y Crespo, 1999), por los que se dispersa fácilmente, ramificados en la base, con pelos glandulosos y multicelulares cortos, de hasta 30 cm de altura. **Raíces** finas de aproximadamente 3 mm de diámetro, con yemas abundantes y distanciadas por 3-10 cm en las raíces principal y laterales. Estas yemas son gemíferas y dan brotes que crecen verticalmente hasta emerger y poseen catáfilas en su primer nudo. Durante los primeros meses de crecimiento, la raíz que desarrollan es no ramificada y profunda (Kraus *et al.*, 2003). **Tallos** subterráneos que a veces forman tubérculos de hasta 3 cm de diámetro. Tallos aéreos de hasta 40 cm, cortamente pubescentes con pelos curvos, en general no ramificados o con ramas cortas abajo (Camuñas y Crespo, 1999). **Hojas** de 3,8-15 cm, impari-bipinnadas, con 3-13 pares de pinas de 4 por 11 mm, más una terminal; **estípulas** de 2 mm, ovadas, ciliadas; **pecíolos** de 6 mm, pubescentes; **folíolos** de 2-7 mm, de 4-13 por pina, oblongos a obovados, pubérulos en la cara abaxial y glabros en la abaxial, nerviación poco notable. Zona de inserción de las pinas en el raquis estrigosa, con pocos a varios tricomas glandulares multicelulares. **Racimos** de 5-23 cm, con 4-15 flores, terminales, muy pubescentes, axilares y opuestos a las hojas; **brácteas** de 2,5 mm, ovadas, pubérulas; **pedicelos** de 2-5 mm, verdes, persistentes. **Flores** de 10-16 por 10-18 mm, hermafroditas, ebracteadas; pedicelo erecto de hasta 5 mm, que se recurva antes de la antesis y se curva más con la edad; **cáliz** con 5 lóbulos oblongos, de 5-7 mm; **corola** con pétalos amarillos a anaranjados, obovados a oblanceolados, unguiculados, glandular-pubescentes en toda la longitud de la uña; lámina del pétalo adaxial de 9-10 mm, angostada en la parte media y ensanchada en la base; los 5 **estambres** externos rojizos, con pubescencia glandulosa y eglandulosa, los 5 internos amarillentos, glabros, de 7-8 mm. **Gineceo** de 4 mm, glanduloso, pubescente; estilo glabro. **Frutos:** Legumbres de 2,5-4,5 cm por 5-8 mm, oblongas, falciformes, apiculadas, indehiscentes o dehiscentes tardías, valvas ligeramente tomentosas con 5-9 semillas. **Semillas** de 2-5 mm, hasta 10 por fruto, obovadas, oscuras y marrones, con endosperma mucilaginoso rodeando el embrión. Las flores abren hacia arriba, pero los pedicelos se curvan hacia abajo a medida que van envejeciendo y que los frutos comienzan a

formarse. Cuando el fruto está maduro, el pedicelo cuelga hacia abajo pero la legumbre tiene una curva hacia arriba (Simpson, 1999).

Distribución: tiene distribución disyunta en Norteamérica y Sudamérica. En Norteamérica está ampliamente distribuida y es frecuentemente maleza en el centro y sur de Estados Unidos y México (Simpson, 1999). En Sudamérica, ocurre en Perú, Chile y Argentina, desde Jujuy hasta el norte de Chubut (Steibel, 2000). Ha sido reportada en las floras Ibérica y Europea, creciendo en la zona costera, cálida y seca de la provincia de Alicante, en el sudeste de España inicialmente, siendo este el primer registro extra americano para el género (Camuñas y Crespo, 1999) y más tarde en Málaga (Cabezudo *et al.*, 2009). En cuanto a su comportamiento invasor, no parece muy definido, puesto que la población de Alicante está en regresión, pero la de Málaga está en expansión; sería necesario un seguimiento para ver su futuro comportamiento (Cabezudo *et al.*, 2009).

Ambiente: crece en poblaciones abundantes en lugares secos y semidesérticos, en sitios modificados como orillas de caminos y cultivos (Kraus *et al.*, 2003) y en microambientes húmedos de quebradas, entre los 3000 y 3400 msnm. Prefiere suelos loésicos a arenosos y tolera la salinidad (Steibel, 2000; Kraus *et al.*, 2003); crece hasta los 3400 msnm. Reportada como maleza de canales de riego (Schroeder *et al.*, 2012) e invasora en distintos tipos de cultivos y pastizales (Cabezudo *et al.*, 2009).

Fenología, forma de crecimiento y biología reproductiva: en el área de estudio florece entre principios de octubre y fines de febrero, con un pico de floración entre mediados de octubre y mediados de noviembre, aunque en otras zonas el pico de floración está corrido hacia el verano (Wingenroth, 2001; Tamame, 2011). La parte aérea muere en invierno, pero en la siguiente estación de crecimiento se desarrollan nuevos brotes a partir de los tallos y raíces gemíferas (Kraus *et al.*, 2003). El frecuente y vasto crecimiento vegetativo que exhibe esta especie, por medio de tallos subterráneos lleva a que existan diferencias clonales entre poblaciones que a veces han sido percibidos como diferentes variedades o especies. El número cromosómico es $2n=24$, al igual que en otras especies del género, como *H. densiflora* y *H. falcaria* (Simpson, 1999). Las configuraciones meióticas observadas exhibieron irregularidades, incluyendo algunos potenciales multivalentes (Powell *et al.*, 2010).

Calidad forrajera: considerada buena forrajera natural en los lugares secos en que habita (Steibel, 2000; Juárez y Novara, 2005).

Calidad melífera: es utilizada por *Apis mellifera* como fuente de polen y de néctar, aunque su importancia es secundaria (Tamame, 2011).

Otros usos: las etnias nativas americanas Apache, Pima y Pueblo, consumían los tubérculos asados o hervidos y los Chiricahua, Mescalero y Cocopa los comían tanto cocidos como crudos (Simpson, 1999). Tiene potencial ornamental por sus flores vistosas y grandes en relación al tamaño de la planta.

Observaciones: los engrosamientos tuberiformes de las raíces son buscados por los jabalíes, que para ello hozan grandes superficies en sitios bajos en la región del Caldenal (Steibel, 2000).

***Hoffmannseggia trifoliata* Cav.**

Hierba perenne, viajera, de 25 a 30 cm, radicigémifera, pubescente y con escasos pelos glandulosos.

Raíces no tuberosas. **Tallos** aéreos breves. **Hojas** subarrosetadas; **pecíolos** de 3-9 cm, rígidos, erectos; **pinas** 3, digitadas, de 2-8 cm; **folíolos** de 2-10mm, 6-18-yugos, subrígidos, aproximados a subdistantes en el raquis, oval-lanceolados a subfalcados, obtusos a brevemente agudos, pubescentes, variables, a veces con el nervio medio pronunciado. **Racimos** de 5-20 cm. **Flores** de 1 cm, anaranjado-rojizas, hermafroditas; **cáliz** pubescente hasta el ápice; estambres 10, declinados, libres; ovario lineal, central, libre, **pedicelos** de hasta 7 mm. **Frutos:** Legumbres comprimidas, con vainas arqueadas, recurvas y con placenta convexa, dehiscentes. **Semillas** con endosperma mucilaginoso rodeando el embrión.

Distribución: Argentina, desde el sudoeste de La Pampa y Buenos Aires hasta Río Negro, Neuquén, Chubut y Santa Cruz (Steibel, 2000).

Ambiente: crece en suelos secos y salinos, en bardas y arbustales del Monte (Steibel, 2000), en poblaciones abundantes incluso en sitios modificados como orillas de caminos y cultivos (obs. pers.)

Calidad forrajera: muy palatable (Catorci *et al.*, 2012).

Otros usos: tiene potencial ornamental por sus flores vistosas y grandes en relación al tamaño de la planta.

Lathyrus L.

El género *Lathyrus* L. pertenece a la subfamilia Papilionoideae, tribu Fabeae, y es el género más grande de esta tribu económicamente importante, con alrededor de 160 especies distribuidas principalmente en zonas extratropicales de los hemisferios norte y sur. Se distribuye ampliamente por el hemisferio norte, con su centro principal de diversidad en la cuenca mediterránea seca y la región occidental Irano-Turaniana. Los centros secundarios de diversidad se encuentran en América del Norte y en las zonas templadas de América del Sur, de Colombia a Tierra del Fuego, probablemente migrando a la parte austral del continente por la ruta andina (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a; Kenicer *et al.*, 2005), con unas pocas especies creciendo en zonas montañosas del este de África típicamente en hábitats más templados (Burkart, 1943). La mayoría de las especies son mesófitos de bosques abiertos, márgenes forestales y márgenes de carretera, pero también están representadas especies litorales, alpinas y más tolerantes a la sequía (Kenicer *et al.*, 2005). En Argentina, son de crecimiento invierno-primaveral, salvo en la Patagonia donde crecen en verano (Burkart, 1943).

Los miembros de *Lathyrus* incluyen cultivos alimenticios y forrajeros, plantas ornamentales, especies fijadoras biológicas de nitrógeno, estabilizadores de dunas, malezas agrícolas importantes y organismos modelo para la investigación genética y ecológica (Kenicer *et al.*, 2005). Las semillas de algunas especies de este género contienen un aminoácido tóxico que puede causar una grave enfermedad del sistema nervioso conocida como "latirismo" si se comen en grandes cantidades, aunque se dice que en pequeñas cantidades son nutritivas (Cooper y Johnson, 1984; Frohne y Pfänder, 1984; PFAF, 2017). Burkart (1943) menciona que "las especies indígenas sirven como forraje, sobre todo en el oeste de la Patagonia, donde hay lugares en que se cortan para heno con el pasto". Actualmente, el germoplasma de diferentes especies de *Lathyrus* está siendo colectado en diferentes zonas del planeta y conservado en países como Australia, Bangladesh, Canadá, Chile, China, Chipre, Reino Unido, Etiopía, Alemania, Grecia, India, Italia, Nepal, Pakistán, Estados Unidos, Polonia, Portugal, Rusia, España, Siria y Turquía, demostrando la importancia que estas especies tienen y demostrando ser una fuente de alimentos y forraje potencialmente muy importante (Vaz Patto *et al.*, 2006).

***Lathyrus crassipes* Gillies ex Hook. et Arn.**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Bianco y Kraus (1996). Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: arvejilla chica, alverjilla de campo, alverjilla.

Hierba anual, glabra, trepadora por medio de zarcillos, de 5-60 cm de altura. **Raíz** principal poco desarrollada, ramosa, breve y débil. **Tallos** angostamente alados. **Hojas** uniyugas; **pecíolos** de 0,5-1,5 mm, no alado; **estípulas** de 10-20 por 5-7 mm, sagitadas, triangulares, agudas, con apéndices basales agudos y desiguales; **folíolos** de 15-40 por 3-6 mm, linear-lanceolados; **zarcillos** 1-3-fidos, muy breves en las hojas inferiores que son menores. **Racimos** cortos con 1-3 flores, pedúnculos de 0,2-10 cm, generalmente más gruesos que el tallo y huecos, subtruncados. **Flores** con pedicelos de 1-2 mm; **cáliz** glabro, con 5 dientes subulados, iguales o mayores que la longitud del tubo; **corola** azul o blanco-azulada, igual o mayor que el cáliz. **Frutos:** Vainas de 3-6 cm por 3-5 mm, glabras, lineales, rectas, ascendentes, castañas a la madurez, con 12-15 semillas. **Semillas** de 1,5 mm de diámetro, glabras, globosas, negruzcas.

Distribución: Sudamérica; sur de Brasil, Uruguay, Paraguay, Chile, Perú y Argentina, desde las provincias del norte hasta Chubut.

Ambiente: abundante en praderas vírgenes altas de gran parte de la provincia de Buenos Aires. Frecuente en las llanuras arenosas o mal drenadas, en campos secos y en suelos serranos (Steibel, 2000).

Fenología y biología reproductiva: desarrollo otoño-inverno-primaveral (Schinini *et al.*, 2004), floración de fines del invierno a mediados de la primavera (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000b). Especie autógama (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a). El número cromosómico es $2n=14$ (Battistin y Fernández, 1994; Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a; Seijo y Fernández, 2003). El comportamiento meiótico es normal y los índices meióticos y de fertilidad de polen están en general por encima del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994).

Calidad forrajera: forrajera natural (Bianco y Kraus, 1996; Steibel, 2000; Schinini *et al.*, 2004; Izaguirre, 2005), aunque de poco desarrollo y rara donde se labran los campos (Steibel, 2000). Poco resistente al pisoteo (Burkart, 1943).

Otros usos: podría usarse para resembrar áreas erosionadas.

***Lathyrus nervosus* Lam.**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: Alverjilla silvestre.

Hierba perenne, rizomatosa, trepadora por medio de zarcillos, glabra, verde cuando seca, de 40 a 110 cm aproximadamente. **Tallos** débiles, ascendentes, estriados, tetragonos, no alados. **Hojas** uniyugas, sésiles o sobre pecíolos de hasta 10 mm, de sección triangular; **estípulas** de 13-40 por 8-25 mm, grandes, rígidamente herbáceas, sagitadas, mucronadas, marginadas, con nervios conspicuos y lóbulos desiguales; **folíolos** de 25-55 por 10-30 mm, anchamente lanceolados, a veces ovados de ápice y base agudos, mucronados, marginados, con nervios conspicuos, arqueados y paralelos que se unen en un retículo; **zarcillos** 3-5-7-fidos, ramosos, sobre un raquis robusto, desnudo, que los separa de los folíolos y alcanza 4-8 cm de longitud. **Racimos** 3-5(-10)-floros, de 7-15 cm; **brácteas** pequeñas o nulas; **pedicelos** de 3-7 mm. **Flores** de 20-28 mm, celestes a violáceas, ebracteadas, **pedicelos** de 2-7 mm; **cáliz** de 10-14 mm, glabro, con cinco dientes subulados, los superiores iguales, de 5,8 mm, los inferiores mayores que el tubo y angostos, triangulares, vexilo de 20-27 por 17-25 mm, suborbicular, emarginado, limbo de las alas de 13-18 por 7-12 mm, elíptico a ovado, uña de 5-7 mm. **Androceo** pseudomonadelfo, columna estaminal de 9-12 mm, oblicua. **Ovario** de 12-17 mm, lineal, glabro; estilo de 7 a 9 mm, estigma lunular, entero y transversal. **Frutos:** vainas de 40-70 por 5-7 mm, divergentes, lineales e incurvas en el ápice, castañas o negras cuando maduras, coriáceas, glabras, fuertemente dehiscentes, internamente con disepimentos finos entre las semillas. **Semillas** de 3-4,5 mm, globosas o algo comprimidas, amarillentas, castañas o casi negras, lisas o finamente maculadas; hilo de 1-2 mm.

Distribución: Sur de Brasil, Uruguay, Chile y Argentina, en Misiones, Salta, La Pampa, Buenos Aires, Rio Negro, Chubut y Santa Cruz.

Ambiente: Crece cerca de arroyos, en zonas húmedas y a veces en bordes de caminos y campos abiertos, en suelos pedregosos, hasta los 500 msnm.

Fenología y biología reproductiva: floración de fines del invierno a principios del verano (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000b). Especie entomófila de fecundación cruzada (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a). En ensayos de germinación se vio que la radícula asoma primero; los cotiledones son hipógeos y por lo tanto la primera parte sintética que aparece es un nomófilo que demora en formarse de dos a cuatro días aproximadamente. Una vez que se forma, el desarrollo radicular se ve ralentizado y el crecimiento de la parte fotosintética ocurre a una velocidad mayor (obs. pers. en condiciones de laboratorio). El número cromosómico es $2n=14$ (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994; Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a; Seijo y Fernández, 2003; Chalup *et al.*, 2012). Sin embargo, un estudio que compara cuatro poblaciones encontró en una de ellas, de la cual se analizaron solo 20 semillas, un individuo triploide ($2n=3x=21$) y un tetraploide ($2n=4x=28$) (Chalup *et al.*, 2012). Los sets adicionales de cromosomas tenían la misma morfología que los hallados en individuos diploides, por lo que pudieron establecerse los pares de cromosomas homólogos sin dificultad. La autoploidización sexual sería el mecanismo involucrado en la generación de poliploides. En cuanto al comportamiento meiótico, es regular para algunos estudios (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994), pero no para otros (Chalup *et al.*, 2012, al menos en algunas poblaciones). El polen muestra altos índices de viabilidad, desde alrededor de 80% a más del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994; Chalup *et al.*, 2012).

Nodulación y FBN: es fijadora de nitrógeno (PFAF, 2017).

Calidad forrajera: forrajera (Izaguirre, 2005). Holmberg (1884) menciona que “los estancieros la consideran forraje de primer orden” y que era muy abundante por esa fecha.

Usos ornamentales: ornamental (Izaguirre, 2005; Carrion y Brack, 2012; PFAF, 2017), es cultivada en el Reino Unido (www.lathyrus.info/specieSNervosus).

Cultivo (www.lathyrus.info/specieSNervosus): Es de crecimiento fácil y requiere suelos húmedos pero con buen drenaje, arenosos, francos o arcillosos pero preferentemente fértiles; sol pleno o semi sombra. Resisten hasta aproximadamente -10°C y vientos fuertes, pero no la exposición al mar (PFAF, 2017). Es muy ornamental, apoyante sobre otras plantas sosteniéndose por medio de zarcillos y tanto el follaje como la floración son atractivos. Las semillas tienen un tegumento duro y germinan más rápidamente si el tegumento se desgasta antes de la siembra. Para reproducirla, remojar las semillas durante 24 horas en agua tibia y sembrar a principios de primavera en almácigos, luego repicar a macetas mayores. También puede sembrarse directo en tierra a mediados

de primavera. Si es sembrada en invierno las plantas florecen en su primer año, pero es mejor sembrarlas en verano y en ese caso las plantas florecerán al año siguiente.

Otros usos: sus semillas son comestibles cocidas. Se recomienda precaución porque algunas especies de este género, cuando se consumen en cantidad, provocan latirismo, una intoxicación que ataca al sistema nervioso y que es producida por ciertos aminoácidos que algunos *Lathyrus* poseen (PFAF, 2017).

***Lathyrus pubescens* Hook. et Arn.**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Bianco y Kraus (1996) y Cabrera (1967). Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: Alverjilla o alverjilla silvestre.

Hierba perenne, rizomatosa, robusta, trepadora por medio de zarcillos, seríceo-tomentosa, verde cuando seca, de 1 m de altura aproximadamente. **Raíz** leñosa y potente, rizomas subleñosos. **Tallos** de 50-100 cm, anuales, gruesos (hasta 6-7 mm de diámetro), estriados, huecos, estrechamente bialados. Hay un dimorfismo estacional en tallos y hojas: los vástagos primaverales son vigorosos y los de verano son más débiles, muy ramosos y de hojas pequeñas, que florecen poco. **Hojas** uniyugas; **pecíolos** de 8-25 mm, no alados; **estípulas** de 5-25 por 3-15 mm, semisagitadas, pequeñas y lanceoladas abajo, arriba en los tallos vigorosos oval-lanceoladas, pubescentes en ambas caras pero más en la abaxial; **folíolos** de 20-78 por 5-22 mm, opuestos o alternos, herbáceos, lanceolados a anchamente mucronados, velludos en ambas caras; **zarcillos** simples a 3-5-fidos, excepcionalmente 4-6-fidos, generalmente mucho más largos que los folíolos y a veces sobre un raquis de 6-9 cm. Follaje gris plateado, tornándose ferrugíneo en los herbarios, nunca ennegrecido. **Racimos** de 3-15 cm, 5-15-floros, erguidos, subumbelados; pedúnculos de 8-25 cm, estriados; **brácteas** nulas. **Flores** de 15-23 mm; **pedicelos** de 2-4 mm; **cáliz** de 6-13 mm, pubescente, 5 dientes agudos, sub iguales, vexilo de 15-22 por 11 mm, suborbicular, emarginado, triangular; los dientes restantes lineares, el inferior de 3-7 mm, los superiores la mitad o un tercio más breves; **corola** vistosa, azul-celeste o lila-violáceas, de 2-3 cm de longitud, estandarte de 20-25 por 15-20 mm, suborbicular, emarginado; alas de 10-18 por 7-10 mm, obovadas, limbo de las alas de 9-13 por 5-11 mm, ovado, papiloso; **androceo** de 14-16 mm, diadelfo o pseudomonadelfo, columna estaminal recta en el ápice; **ovario** lineal, muy pubescente salvo en el ápice, estilo de 4-12 mm;

muy pubescente, estigma doble. **Frutos:** Legumbres de 55-75 por 3-6 mm, 8-10 seminadas, lineales, divergentes, castañas, cubiertas de pelos cortos más o menos patentes, interiormente con diseptos celulares incompletos, esponjosos, entre las semillas. **Semillas** de 3-5 mm, globosas a comprimidas, castañas o negruzcas; hilo de 1,3 a 1,5 mm.

Distribución: sur de Brasil, Uruguay, Paraguay, centro de Chile y Argentina, en Salta, Tucumán, Catamarca, San Luis, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Buenos Aires, La Pampa, Rio Negro, Chubut y Santa Cruz.

Ambiente: frecuente en sistemas serranos, especialmente en bordes de arroyos, aunque también crece en laderas secas (obs. pers.), poco frecuente en los pastizales fuera de los sistemas serranos (Steibel, 2000); crece hasta 2500 msnm.

Fenología y biología reproductiva: floración de principios a mediados de la primavera (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000b). En el área de estudio, se la vio florecer entre principios de octubre y principios de diciembre y fructificar en diciembre (obs. pers.). En ensayos de germinación se vio que la radícula sale de la cubierta seminal primero y que tiene un fuerte geotropismo positivo ya que sale hacia abajo; su crecimiento es lento en relación al de *Adesmia incana*, *Rhynchosia diversifolia* y *R. senna* y antes de elongarse a 3 o 4 mm, desarrolla la parte aérea (obs. pers.). Los cotiledones son hipógeos y por lo tanto la primera parte fotosintética que aparece es un nomófilo que demora en formarse de dos a cinco días aproximadamente (obs. pers.). Una vez que se forma, el desarrollo radicular se ve ralentizado y el crecimiento de la parte fotosintética ocurre a una velocidad mayor (obs. pers. en condiciones de laboratorio). Es una especie entomófila con fecundación cruzada (Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a). En la provincia de Córdoba, se ha reportado que tiene un ensamble de polinizadores amplio, que incluye a *Bombus bellicosus*, *B. opifex*, *Centris tricolor*, dos especies de *Xylocopa* no determinadas y *X. ordinaria* (Córdoba y Cocucci, 2017). El número cromosómico es $2n=14$ (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994; Klamt y Schifino-Wittmann, 2000a; Seijo y Fernández, 2003). El comportamiento meiótico es regular y los índices meióticos y de fertilidad de polen está en general por encima del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994).

Calidad forrajera: especie forrajera (Cabrera, 1967; Bianco y Kraus, 1996; Izaguirre, 2005). Contenidos minerales: Fe 89 mg/kg; Cu 17,2 mg/kg; P 0,22%; Ca 0,16%; Mg 0,07%; Zn 54,8 mg/kg (Spinelli *et al.*, 2013). Fue ensayado su cultivo en Córdoba y mostró alto rendimiento y

resistencia a la sequía (Cabrera, 1967). En la EEA Pergamino del INTA, entre 1956 y 1986 se evaluó un cultivar de esta especie (Puignau, 1990).

Usos medicinales: astringente y diurética (Orfila y Farina, 2002).

Usos ornamentales: ornamental (Burkart, 1943; Carrion y Brack, 2012; PFAF, 2017). Introducidas como ornamental en otros países, como el Reino Unido, pero no se cultivan en Argentina (Burkart, 1943).

Cultivo: buena para zonas templadas, se puede reproducir a partir de semillas y florece ya en el primer año. La rusticidad de la planta depende en gran medida de la procedencia de las semillas, siendo más resistentes al frío las provenientes de poblaciones de altitudes o latitudes altas. Son trepadoras pero necesitan algún apoyo; con sus hojas pequeñas y flores llamativas son ideales para aumentar el atractivo de arbustos que florezcan en otro período (www.lathyrus.info/species/pubescens).

***Lathyrus subulatus* Lam.**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: alverjilla chica o enana.

Hierba perenne, débil y apenas trepadora por zarcillos, seríceo-pubescente, verde-grisácea a plateada, no nigrescente, de hasta 40-50 cm de altura. **Raíz** principal vertical, leñosa, rizomas largos y tardíamente radicantes. **Tallos** de 10-40 cm, delgados, tetraedros o apenas bialados. **Hojas** uniyugas (algunas pocas con 3 o 4 folíolos); **pecíolos** de 2-8 mm; **estípulas** de 6-25 mm, semisagitadas, lineales, subuladas; **folíolos** de 1-7 cm por 0,8 a 2 mm, lineales subulados, estriados, seríceos, agudos; zarcillos nulos, simples o 3-fidos, menores que los folíolos. **Racimos** de (1)-3,5-22 cm, 1-4-floros, apicales, erguidos superando el follaje. **Flores** azules o violáceas; **pedicelos** de 1-4 mm; **brácteas** nulas; **cáliz** seríceo; **corola** con tubo de 4-5 mm, dientes agudos iguales en longitud o menores, estandarte de 1,5-2 cm; **ovario** villosa, lineal, estilo de 3-4 mm, espatulado, estigma doble. **Frutos:** legumbres de 4-5 cm por 3-4 mm, con vainas lineales erguidas, castaño-rojizas, glabrescentes, con istmos membranosos entre las semillas en el interior. **Semillas** de 2,5 mm de diámetro, globosas, negras o marrones con dibujos más oscuros, algunas de color mostaza.

Distribución: sur de Brasil, Uruguay y Argentina, en Entre Ríos, Buenos Aires, sur de Santa Fe y centro de Córdoba (Steibel, 2000).

Ambiente: pastizales de poca altura, laderas de sierras y otros suelos pedregosos.

Fenología y biología reproductiva: primaveral. El número cromosómico es $2n=14$. El comportamiento meiótico es regular y los índices meióticos y de fertilidad de polen están en general por encima del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994).

Usos medicinales: Astringente y diurética (Orfila y Farina, 2002).

***Lathyrus tomentosus* Lam.**

La información referida a esta especie fue tomada principalmente de Bianco y Kraus (1996).

Nombre común: arvejilla peluda, alverjilla de la sierra.

Hierba perenne, rizomatosa, trepadora por medio de zarcillos, seríceo-tomentosa, follaje grisplateado en vivo, ferrugíneo y nunca ennegrecido en los herbarios, de 30-60 cm de altura. **Raíz** principal leñosa. **Tallos** estriados, no alados. **Hojas** 1-yugas; **pecíolo** de 5-15 mm; **estípulas** de 15-

40 por 3-7 mm, semisagitadas, lanceolado-subuladas; **folíolos** de 15-50 por 2-8 mm, lanceolados, mucronados, velludos en ambas caras, a veces más angostos que las estípulas; **zarcillos** ausentes, o si breves, 1-3-fidos no mayores que medio folíolo. **Racimos** de 3-15 cm, 2-6-floros, erguidos, apicales. **Flores** de 2-3 cm o rara vez solo de 1,5 cm, subcapitadas, vistosas, azules; **pedicelos** de 2,5-5 mm; **brácteas** nulas; **cáliz** de 10-15 mm, tomentoso, con 5 dientes agudos, subiguales, los vexilares triangulares, los restantes lineares; **corola** de 2-3 cm, vistosa, azul o celeste; estandarte de 20-25 por 15-20 mm, suborbicular, emarginado; alas de 10-18 por 7-10 mm, obovadas. **Androceo** de 14-16 mm, submonadelfo, recto. **Ovario** lineal, tomentoso; estilo de 8-10 mm, espatulado; estigma doble, transversal. **Frutos:** Legumbres de 40-65 por 5 mm, lineales, con pubescencia serícea adpresa e istmos membranosos entre las semillas. **Semillas** de 2,5-3,5 mm de diámetro, negras o castañas, oscuras, comprimidas a esféricas.

Distribución: Uruguay y Argentina, en las sierras australes de la provincia de Buenos Aires y en las costas de Chubut. Categorizada como “vulnerable” por Delucchi y Correa (1992).

Ambiente: frecuente en las sierras.

Fenología y biología reproductiva: primaveral. Hay dimorfismo vegetativo por el cual en el verano aparecen ramificaciones débiles, de hojas menores. El número cromosómico es $2n=14$ (Seijo y Fernández, 2003).

Usos ornamentales: sí (Izaguirre, 2005).

Otros usos: Fijadora de médanos (Parodi, 1937).

Observaciones: “las especies muy velludas de *Lathyrus* pueden dañar a los animales cuando se forman bolos de pelos en el estómago” (Burkart, 1943).

***Rhynchosia* Lour.**

Género con aproximadamente 150 especies en las regiones cálidas del mundo, pero sobre todo en África, con al menos 52 especies nodulantes (De Faria *et al.*, 1989). En Argentina hay 8 especies, una de las cuales, *R. senna*, llega casi al norte de la Patagonia y marca así el límite austral de distribución del género. Según Hoehne (1939), las especies de *Rhynchosia* son tóxicas para el ganado, sobre todo *R. phaseoloides* (Burkart, 1943).

***Rhynchosia diversifolia* Micheli**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombre común: Porotillo, sanalotodo.

Hierba perenne, brevemente pubescente, xilorriza, erecta o ascendente o postrada, nunca voluble, más robusta que *R. senna*, de 20 a 60 cm de alto. **Raíz** axonomorfa leñosa de hasta 3 cm de diámetro, a veces pauciramosa. **Tallos** de hasta 2,5 cm de diámetro, numerosos desde el cuello de la raíz, con ramas plagiótropas aéreas, no arraigantes (Weberling *et al.*, 2002). **Hojas** trifoliadas,

pubescentes; **estípulas** libres, escariosas, lanceoladas, persistentes; **pecíolo** de 7-24 mm, raquis de 5-20 mm; **folíolos** de 5-45 por 3-18 mm, enteros, firmemente papiráceos, pinado-reticulado-nervosos, sobre todo en el hipófilo, que además es glanduloso, costa y 2-4 nervios basales rectos bien marcados; folíolo mediano o impar de 2-6 a 0,8-4,5 cm, el doble tamaño que los dos laterales, simétrico, ovoide-romboide-lanceolado, ancho, emarginado, obtuso y mucronado a subagudo, de base ancha casi truncada o redondeada; folíolos laterales menores y asimétricos. **Racimos** 1-7-floros, brevísimos, subsésiles, corimbosos, axilares a lo largo de la parte superior de los tallos, a veces por reducción foliar parecidos a tirsos subáfilos; **pedúnculo y raquis** de 1-2 mm; pedicelos de 4-7 mm. **Flores** de 7-9 mm, amarillas; **cáliz** pubescente y glanduloso, pequeño, tubo de 2-2,5 mm, dientes 5, de 2,5-4 mm, libres, subulados, siendo ínfimo el mayor; **corola** con estandarte afuera, pubescente y glanduloso. **Frutos:** Legumbres de 15-20 por 4,5-6 mm, rectas, oblongo-ovales, de base enangostada, obtusa y mucronada, pubescentes, con 2 semillas en la mitad apical. **Semillas** de 3-3,5 mm de diámetro, discoidales a casi esféricas, oscuras y moteadas de castaño y negro.

Fenología y biología reproductiva: floración de principio de diciembre a finales de febrero (Fagúndez *et al.*, 2016). La fertilidad del polen está por encima del 90% (Biondo y Battistin, 2001). En ensayos de germinación se vio que la radícula emerge de la cubierta seminal primero, creciendo hacia el costado sin enterrarse enseguida, y tiene un gran desarrollo, llegando a medir hasta 5 cm pasados dos días de la germinación (obs. pers. en condiciones de laboratorio). Este desarrollo radicular tan rápido podría ser una adaptación al crecimiento en condiciones de escasez de agua.

Distribución: sur de Brasil, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Argentina, en la parte norte y central, hasta el SO de la provincia de Buenos Aires.

Ambiente: crece en pastizales y campos secos. Aunque no es una especie vulnerable, su hábitat está amenazado y en retroceso por actividades de deforestación, agricultura, estructuras viales y expansión de otros ambientes modificados por el hombre.

Calidad forrajera: forrajera (Izaguirre, 2005).

Calidad melífera: de interés apícola (Fagúndez *et al.*, 2016).

Usos medicinales: digestiva, hepática, y purgante (Orfila y Farina, 2002). Las hojas se utilizan contra las afecciones hepáticas drásticas, purgante y emoliente (Goleniowski *et al.*, 2006). Para afecciones estomacales, en decocción o infusión (Martínez-Crovetto, 2014). Expectorante (Scarpa *et al.*, 2016).

Observaciones: reportada como maleza resistente al glifosato en campos de cultivo de soja transgénica y de trigo (Irigoyen *et al.*, 2009; Mas *et al.*, 2010; Gigón *et al.*, 2013).

***Rhynchosia senna* Gillies ex Hook.**

Ver imágenes en el Anexo 1.

Nombres comunes: sen del campo, sen del zorro, sen, porotillo.

Hierba perenne, muy polimórfica, erecta, subprostrada o subvoluble, brevemente pubescente en todas sus partes, de 15 a más de 50 cm de altura. **Raíz** axonomorfa leñosa, simple o ramosa, rara vez rizomas delgados o raíces gemíferas. **Tallos** delgados, numerosos desde el cuello de la raíz, endurecidos con la edad. **Hojas** pinado-trifoliadas pequeñas, alternas; **estípulas** lanceoladas-lineales, pequeñas; **pecíolos** y raquis en general menores que los folíolos; **estipelas** de 0,5 mm o menos hasta nulas; **folíolos** de 5-45 por 3-18 mm, enteros, oval-lanceolados o subcordados hasta angostamente elípticos, mucronados, a veces en la misma planta los inferiores anchos y los superiores angostos; los laterales son un poco menores y asimétricos, con la mitad abaxial dilatada, consistencia subcoriácea, nervadura netamente pinnada y reticulada, pubescencia breve en ambas caras, en la inferior además pequeñas puntuaciones glandulosas. **Flores** de 5-8 mm, 1-2, rara vez 3, por axila foliar; **pedicelos** de 2,5-8 mm; **cáliz** sin bractéolas, campanulado, menor que la corola, pubescente y glanduloso-punteado, persistente, dientes 5, de 2-3,5 mm, en general de 1,5 a 2 veces la longitud del tubo, subulados; **corola** amarilla, de pétalos angostos, estandarte afuera pubescente y glanduloso, biauriculado, alas y quilla glabros; **ovario** pubescente, estilo con la parte basal recta, tenue, pubescente, ápice incurvo cartilágneo, glabro. **Frutos:** Vainas de 14-20 por 5 mm, con 2 o rara vez 1 semilla, castaño-rojizas, péndulas o divergentes, siempre incurvas y enangostadas en la base, pubescentes, mucronadas. **Semillas** de 3,5 a 4,2 mm de diámetro, arriñonadas, aplanadas y oscuras.

Distribución: Argentina, Uruguay, Paraguay, Bolivia, Brasil, Ecuador, Perú, México y sur de Estados Unidos, en los estados de Texas y Arizona (Groom, 2012b).

Ambiente: habita una variedad de hábitats incluyendo campos y pastizales en la Pampa, sobre caliza seca, suelos arenosos o ígneos en praderas, cañones, laderas de montaña, bordes de caminos, acantilados de roca seca, barrancos, claros de bosques e incluso entra en el desierto en Sonora (Groom, 2012b). Presente en pasturas cultivadas (Azpiroz y Blake, 2016).

Fenología y biología reproductiva: rebrota a fines de octubre, florece y fructifica a fines de noviembre-diciembre a finales de febrero; permanece verde todo el verano y en abril entra en reposo (Chirino *et al.*, 1988; Fagúndez *et al.*, 2016). La fertilidad del polen está por encima del 90% (Biondo y Battistin, 2001). Al igual que en *R. diversifolia*, se vio que en ensayos de germinación la radícula emerge de la cubierta seminal primero, creciendo hacia el costado, y que tiene un gran desarrollo, llegando a medir hasta 5 cm pasados dos días de la germinación (obs. pers. en condiciones de laboratorio). A diferencia de *R. diversifolia*, la radícula tiende a enterrarse rápidamente (obs. pers. en condiciones de laboratorio). El desarrollo radicular rápido podría ser una adaptación al crecimiento en condiciones de escasez de agua.

Calidad forrajera: forrajera (Izaguirre, 2005), de bajo porte. Se han reportado valores de proteína bruta de 13,6% en estado post reproductivo a 17,1% antes de la floración (Chirino *et al.*, 1988).

Calidad melífera: de interés apícola (Fagúndez *et al.*, 2016).

Usos medicinales: digestiva, hepática, y purgante (Orfila y Farina, 2002; Izaguirre, 2005). Analgésica y probablemente antiespasmódica; en cocimiento para dolores estomacales o cardíacos (Martínez-Crovetto, 1968). Actividad antiestafilocócica (Toribio *et al.*, 2007)

Otros usos: su abundante producción de semilla, el éxito en el establecimiento de las plántulas y el modelo arquitectural que posee la hace adecuada para ser utilizadas en la revegetación, con el fin de recuperar áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002).

Observaciones: reportada como maleza resistente al glifosato en campos de cultivo de soja transgénica (Mas *et al.*, 2010).

***Trifolium polymorphum* Poir.**

Nombre común: trébol criollo, trébol polimorfo.

Hierba perenne, rastrera, radicante, variable en estatura e indumento, vellosa o pubescente a subglabra, en general de poca producción de biomasa, de 5 a 15 cm de altura. **Raíz** principal de hasta 1 cm de diámetro (raramente), vertical; las adventicias fusiformes, de hasta 4-5 mm de diámetro. **Tallos** de hasta 1 mm de diámetro, débiles, delgados. **Hojas** de 1-12 cm, de tamaño muy variable, digitado-trifoliadas, pecioladas; **estípulas** amplias, membranosas, abrazadoras; **pecíolos** delgados; **folíolos** de 2-18 mm, obcordados, herbáceos, emarginados a muy escotados, denticulados, pinatinervados, no manchados. Presenta inflorescencias aéreas y subterráneas. **Flores cleistógamas subterráneas** invernales, globuloso-ovoides, reducidas, en manojitos axilares sobre pedicelos de 3-7 mm, encorvados hacia la tierra; **cáliz** persistente, glabro, envolvente; **corola** con pétalos muy reducidos, incluidos. **Frutos** subterráneos de 3-6 mm, ovoides, de glabros a pubescentes o vellosos, con 1 a 4 **semillas** más pesadas y mayores que las de las flores aéreas (Conterato, 2009). **Inflorescencias chasmógamas** primaverales en inflorescencias como cabezuelas axilares largamente pedunculadas sobrepasando el follaje, una por hoja, en otros nudos del tallo que las cleistógamas; **pedúnculo** de 4-27 cm, desnudo, pubescente por lo menos hacia arriba, delgado como los pecíolos; **brácteas** de 1-3 mm, lanceoladas; **pedicelos** de 1-5 mm, con la edad recurvos y un poco alargados. El número de inflorescencias por planta es altamente variable, oscilando entre 20 y 370 (Ciotti *et al.*, 2004). **Flores** de 6,5-10 mm, delgadas, rosadas, rosadas con la base roja o rojas, en número variable de 10-40 por cabezuela; **cáliz** de 1/3 de la longitud corolar, pubescente o subglabro, 5-dentado, 10-nervado, dientes un poco menores, mayores o iguales al tubo campanulado; ovario lineal en general sésil, 3-4-ovulado, pubescente hacia el ápice. **Semillas** de 1-1,4 mm, pequeñas, acorazonadas; también el número de semillas por plantas es variable y según Ciotti *et al.* (2004) varía entre 15 y 204, con un promedio de 54 (45,5 mg, oscilando entre 15 y 232 mg).

Distribución: Uruguay, Paraguay, Brasil, Chile, Perú, Argentina y sur de Estados Unidos (Cocks, 2001). En Argentina, en casi todo el territorio bonaerense y hasta Córdoba y Santa Fe.

Ambiente: se adapta a condiciones de suelo variables mostrando una gran plasticidad (Ciotti *et al.*, 2004). Característica de la estepa primitiva, generalmente en suelos altos, pedregosos o arenosos, pero también a veces en lugares húmedos y húmíferos, en suelos arcillosos, salitrosos, arenosos y

lateríticos en bajos cercanos a ríos y arroyos, en áreas abiertas (campos), bosques abiertos (parques) y selvas cercanas a los Esteros del Iberá (Ciotti *et al.*, 2004).

Fenología y biología reproductiva: es de ciclo invierno-primaveral, por lo que florece y fructifica en primavera, con la floración máxima entre octubre y noviembre, y desaparece del tapiz en verano (Ciotti *et al.*, 2004). Las flores aéreas son de fecundación cruzada, entomófilas y la especie es alógama, pero autocompatible (Real *et al.*, 2007), por lo que se piensa que la maduración diferencial de las flores de distintos sexos sería el sistema que evita la autopolinización (Conterato, 2009). Las flores subterráneas cleistógamas son de autofecundación obligatoria (Conterato, 2009). Es diploide, con número cromosómico $2n=2x=16$ (Schifino y Moraes-Fernandes, 1988; Conterato, 2009), aunque existen referencias de tetraploidía con $2n=32$ (Zohary y Heller, 1984). La meiosis es en general regular y la fertilidad del polen varía entre aproximadamente 40 y 90% (Schifino y Moraes-Fernandes, 1988).

Calidad forrajera: es buena forrajera (Izaguirre, 2005), de alta palatabilidad pero escasa productividad (Fernández *et al.*, 1983). Moraes *et al.* (1989) reportan para esta especie un 18% de proteína bruta y 51% de digestibilidad, con contenidos bajos de ácido cianhídrico (0,26%), lo cual hace que sea una especie no cianogénica. Soporta bien altas cargas ganaderas y desaparece donde se practica la agricultura (Fernández *et al.*, 1983). Responde bien a la fertilización fosfatada, aumentando su desarrollo y cobertura hasta 30 o 60% (Ciotti *et al.*, 2004). Tiene potencial por su hábito de crecimiento estolonífero, su rebrote natural a partir de raíces de reserva y su particular modo de reproducción anficárpico, que puede suplir al banco de semillas de nuevos propágulos independientemente del pastoreo (Conterato, 2009).

***Vicia* L.**

Las *Vicia* son plantas generalmente endebles, de follaje más fino que *Lathyrus*, exigentes en cuanto a humedad, resistentes al frío y de desarrollo invierno-primaveral. La mayoría son forrajeras naturales de valor cuando abundan, pero su exiguo desarrollo no permite tomarlas en cuenta para el cultivo, salvo tal vez *V. graminea* (Burkart, 1943).

***Vicia linarifolia* Hook. et Arn.**

Hierba anual, poco pubescente, variable, ascendente, trepadora, débil. **Raíz** única breve. **Tallos** de 7-20-40 cm, ramosos, en la base, anguloso-estriados, delgados, a veces sub-bialados. **Hojas** de 1-7 cm, las normales 3-5-yugas, con zarcillos simples a 3-fidos, reducido a un mucrón en las hojas inferiores; **estípulas** semisagitadas, lineales a lanceoladas, con el espolón de hasta 8 mm, a veces dentadas; **folíolos** de 6-24 por 0,2-3 mm, muy variables, lineares a filiformes, rara vez obcordados, alternos, agudos a obtusos, emarginados y mucronados, a veces en hojas inferiores menores, obcordado cuneiformes con todas las transiciones a oblongo-lineales o filiformes. **Flores** axilares subsésiles solitarias, de (4)-6-8 mm; **cáliz** campanulado 5-dentado, en general pubescente, tubo de 1,5-2,5 mm, diente ínfimo de 3-4 mm, dientes subulados, un poco mayores que el tubo; **corola** azulada, clara; **estilo** de 1-2 mm, barbudo en el ápice. **Frutos:** vainas de 11-35 por 3,6-8 mm, (5)-7-11-seminadas, divergentes, lineales-rectas, erectas a nutantes, subsésiles, color pajizo a castaño, pubescentes en las caras y márgenes o glabras, comprimidas, con extremos enangostados y oblicuos, márgenes prominentes, relieve de las semillas visible en las caras. **Semillas** de 1,5-3 mm de diámetro, globoides, negras, con hilo lineal alargado.

Distribución: Uruguay, Chile central y Argentina, en las regiones pampeana y mesopotámica.

Ambiente: crece en estepas gramíneas y a menudo en campos de trigo, donde no molesta por su baja estatura.

Fenología y biología reproductiva: el número de cromosomas es $2n = 14$. El comportamiento meiótico es regular y los índices meióticos y de fertilidad del polen están en general por encima del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994).

Polinización: es utilizada por la mariposa *Erynnis funeralis*, que habita en Argentina desde el norte del país hasta el norte de Río Negro y Neuquén y utiliza también otras leguminosas nativas (*Geoffroea decorticans*, *Senna corymbosa*, *Lupinus bracteolaris*, *Sesbania punicea*) y algunas exóticas (Runquist *et al.*, 2012).

Calidad forrajera: es una forrajera resistente a la sequía y a suelos arenosos.

***Vicia nana* Vogel**

Hierba anual monocárpica, grácil, trepadora, pubescente, de 10-30 cm de altura. **Raíz** delgada, ramosa y breve. **Tallos** de hasta 50 cm por 0,5-2 mm de diámetro, endebles, pubescentes, estriados, que trepan entre las gramíneas. **Hojas** adultas 5-7-yugas, **zarcillos** simples a ramosos; el primer par de folíolos un poco distantes del nudo, rara vez sobre las estípulas; **estípulas** de hasta 11 mm, semisagitadas y dentadas, a menudo oval-lanceoladas, pubescentes, herbáceas; **folíolos** de 5-16 por 2-7 mm, 8-11-(14) por hoja, alternos, elíptico-ovalados a elíptico-oblongos, herbáceos, raramente pubescentes, pinnatinervados, enteros o a veces con 1 a 3 dientes gruesos cerca del mucrón apical. **Racimos** con (3)-5-15 flores, los inferiores a veces paucifloros, unilaterales; **pedúnculo** incluso el raquis de 1,5-5,5 cm, pubescente, **pedicelos** de 1-2 mm, recurvos en fructificación; **brácteas** casi nulas. **Flores** pequeñas, de 5-6 mm, blancas o blancas con lila; **cáliz** pubescente de boca recta, con 5 largos dientes subulados, poco menores que, o iguales a la corola, tubo calicinal de 1-1,5 mm, dientes superiores de 2-2,5 mm, inferiores de 2,5-3 mm); tubo estaminal oblicuo, persistente; **estilo** de 0,5 mm, penicilado, en general caduco. **Frutos:** vainas de 9-14 por 2,1-3 mm, 4-7-seminadas, nutantes, lineales, comprimidas, no dilatadas hacia el ápice, pubescentes, con borde superior recto, ápice navicular, con pico breve, dehiscente, color castaño pajizo. **Semillas** de 1,2-1,5 mm de diámetro, globosas, negras, con hilo de 0,3-0,5 mm de longitud, algo prominente y elíptico.

Fenología y biología reproductiva: Período de floración breve, solo en primavera (Ferrucci *et al.*, 2007). El número de cromosomas es $2n = 14$, el comportamiento meiótico es regular y los índices meióticos y de fertilidad del polen están en general por encima del 90% (Schifino-Wittmann *et al.*, 1994).

Distribución: sur de Brasil, Uruguay y Argentina, en la parte central y nordeste hasta casi toda la provincia de Buenos Aires.

Ambiente: bastante difundida y social en la estepa pampeana primitiva, en campos gramínicos altos o arenosos, de llanura y serranos.

Calidad forrajera: forrajera natural (Izaguirre, 2005). En la EEA Pergamino del INTA, entre 1956 y 1986 se evaluó un cultivar de esta especie (Puignau, 1990).

***Vicia pampicola* Burkart**

Nombre común: arvejilla.

Hierba anual, primaveral, delicada, trepadora, raramente pilosa, especialmente en partes jóvenes y yemas, glabrescente en lo demás, de 15 a 60 cm de altura. **Raíz** primordial delgada, poco ramosa, superficial, única, sin raíces caulinarias (ver Basconsuelo *et al.*, 2011 para detalles de la anatomía radical). **Tallos** de 0,5-1,2 mm de diámetro, débiles, ascendentes, numerosos desde el cuello de la raíz, poco ramificados, estriados a cuadrangulares. **Hojas** 2-4-yugas; **estípulas** de 1-6 mm, semisagitadas, angostas, enteras o unidentadas, agudas en ambos extremos; **folíolos** de 6-30 por 4-17 mm, opuestos o alternos, filiformes, agudos o truncado-mucronados, glabros o poco pilosos, distanciados entre sí y de las estípulas, aunque a veces el primer par de folíolos basal, inserto al lado de éstas; **pecíolos** y raquis foliar de 15-45 mm; **zarcillos** breves 1-3-fidos. **Racimos** de 15-55 mm, poco mayores que las hojas respectivas (a veces en las hojas basales muy breves), 1-3-floros, floríferos en el ápice, pilosos o glabros; **brácteas** nulas; **pedicelos** de 1,5-3 mm, pubescentes. **Flores** de 5-7 mm, pequeñas, blanco-azuladas o lilacinas; **cáliz** de 3,5-5 mm, pubescente o glabro, oblicuamente 5-dentado, dientes agudos, menores o iguales en longitud que el tubo campanulado, el diente ínfimo igualándolo; **ovario** glabro, borde placentar a veces pubérulo, estilo de 1,5 mm, de ápice barbudo, más largamente del lado exterior. **Frutos:** vainas de 18-25 por 3,2-4,5 mm, 4-10-seminadas, lineales comprimidas, rectas, glabérrimas, marginadas, pajizas, subsésiles y con breve pico recurvo. **Semillas** de 2-2,2 mm de diámetro, globosas, rodantes, negruzcas, hilo de 1-1,2 mm, brevemente oblongo.

Distribución: ampliamente distribuida en el centro de Argentina (Steibel, 2000), en Córdoba, Buenos Aires y La Pampa. Con diversas variedades se extiende por la Patagonia y el interior hasta Jujuy (Burkart, 1943).

Ambiente: muy conspicua en campos gramínicos estépicos y suelos arenosos, abundante en médanos.

Fenología y biología reproductiva: la germinación es hipógea. El nudo cotiledonar queda por debajo del nivel del suelo y desarrolla ramas cotiledonares que emergen, se disponen en forma plagiótropa y alcanzan alrededor de 30 cm de longitud. De la axila de los cotiledones y de debajo de

las yemas regulares de los dos nudos siguientes del eje primario se desarrollan yemas accesorias (Weberling *et al.*, 2002).

Calidad forrajera: es forrajera. Aunque de desarrollo escaso, compensa este defecto por su abundancia, facilidad de resiembra (Steibel, 2000) y por su adaptación al sector subárido de la región pampeana, donde otras leguminosas son escasas.

Otros usos: su abundante producción de semilla, el éxito en el establecimiento de las plántulas y el modelo arquitectural que posee la hace adecuada para ser utilizadas en la revegetación, con el fin de recuperar áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002).

ANEXO 3

Gráficos de dispersión de datos para las variables de calidad nutritiva estudiadas

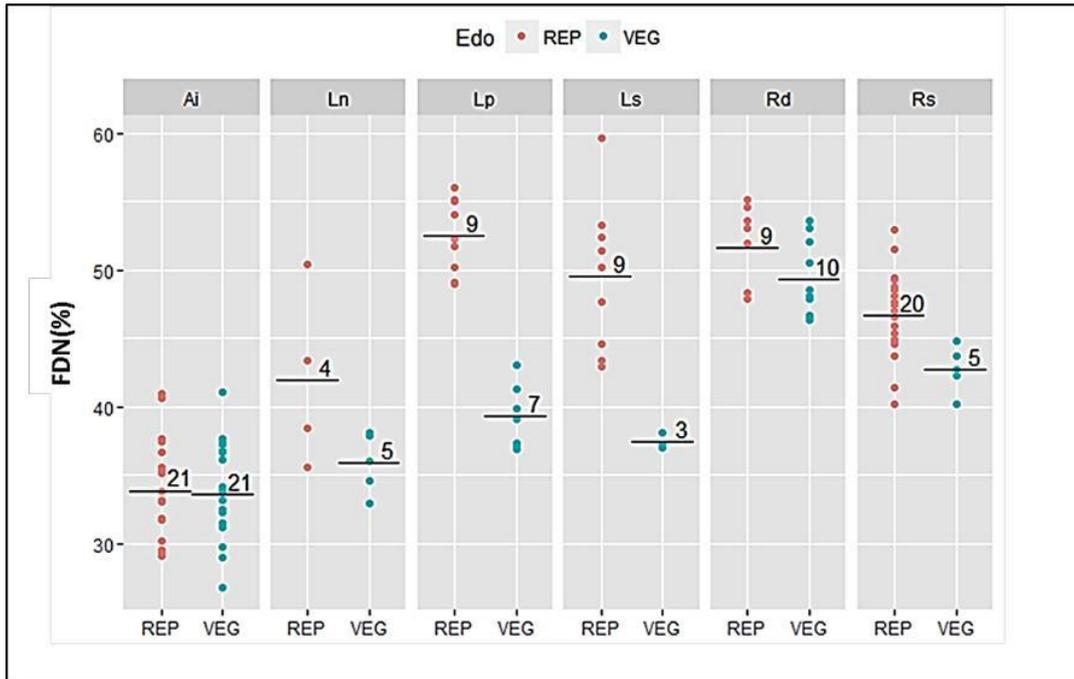


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de fibra detergente neutra (% FDN)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

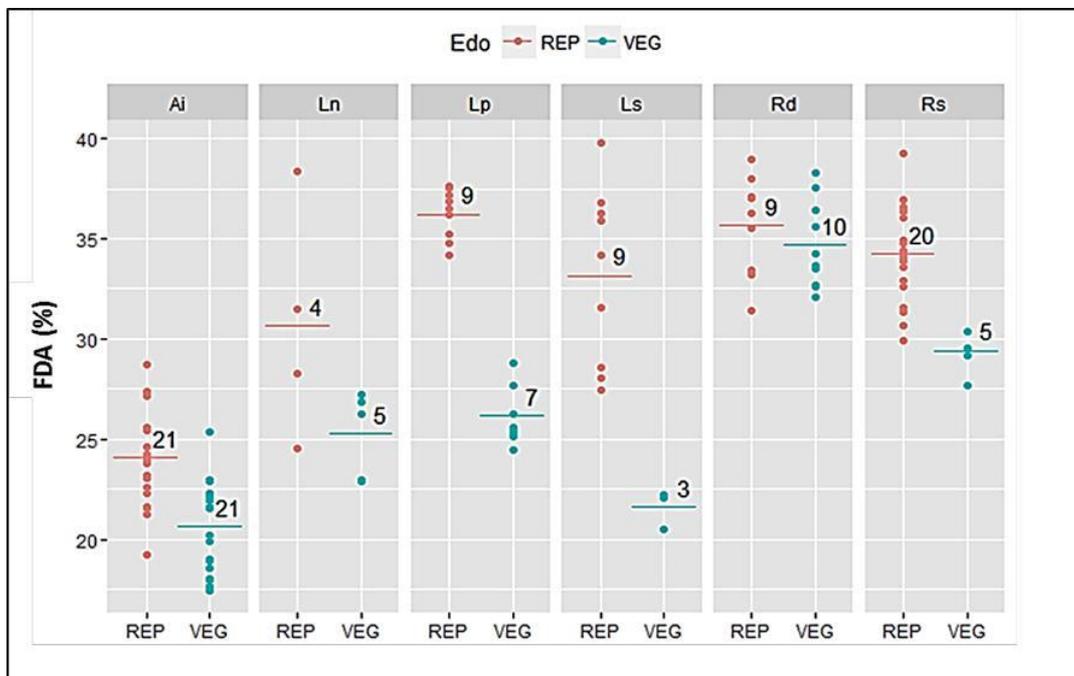


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de fibra detergente ácida (% FDA)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

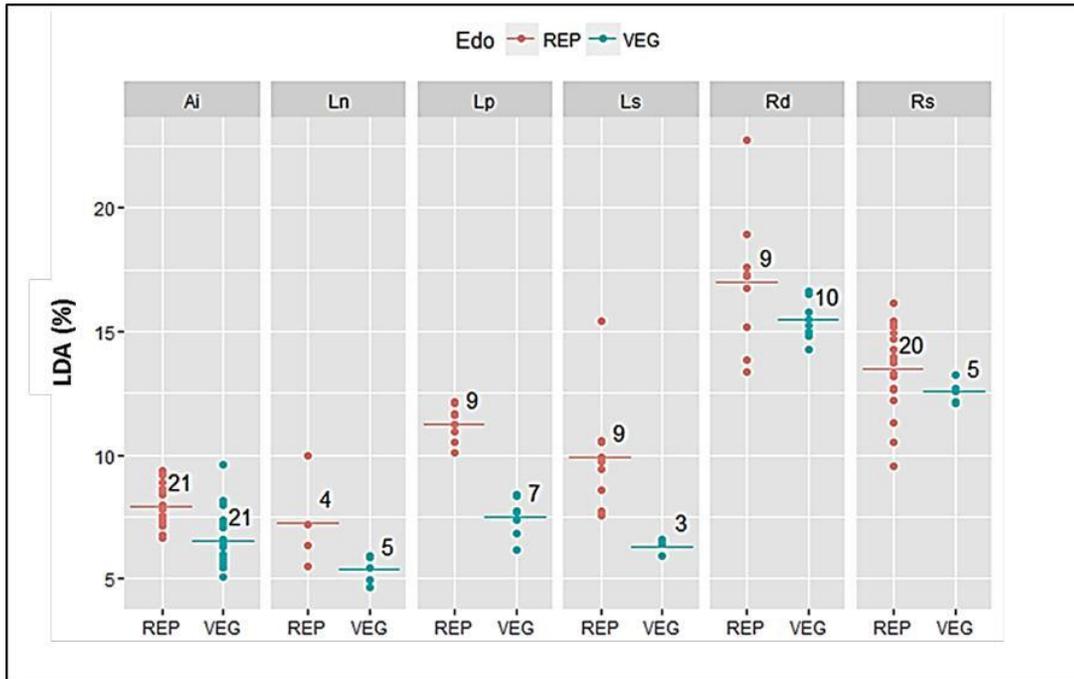


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de lignina detergente ácida (% LDA)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

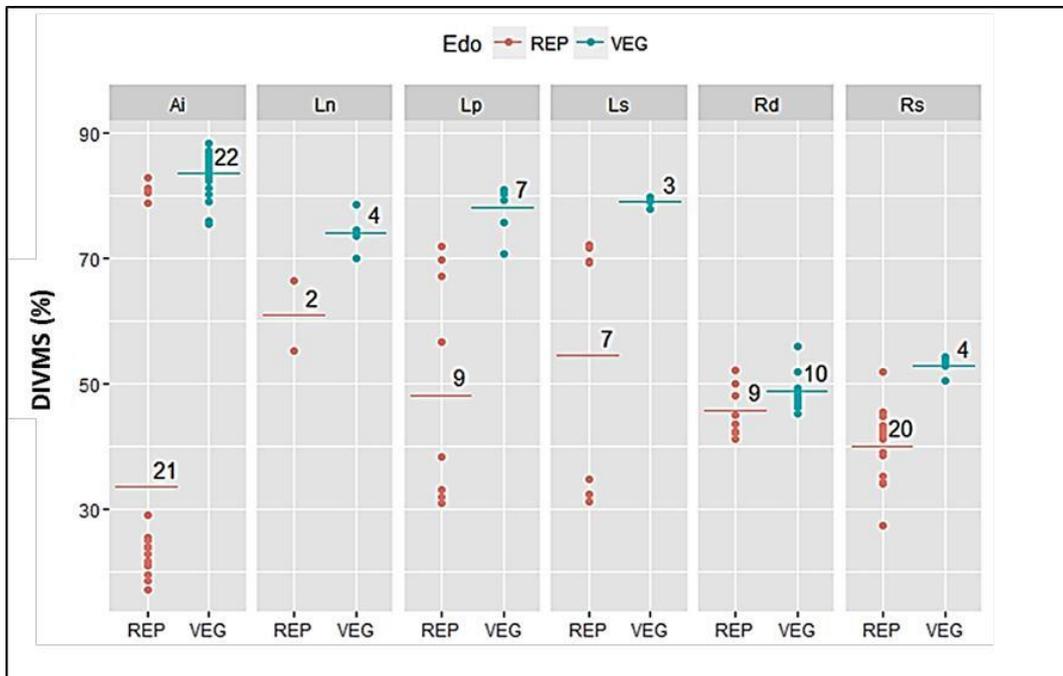


Gráfico de dispersión de datos para la variable **digestibilidad *in vitro* de la materia seca (% DIVMS)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

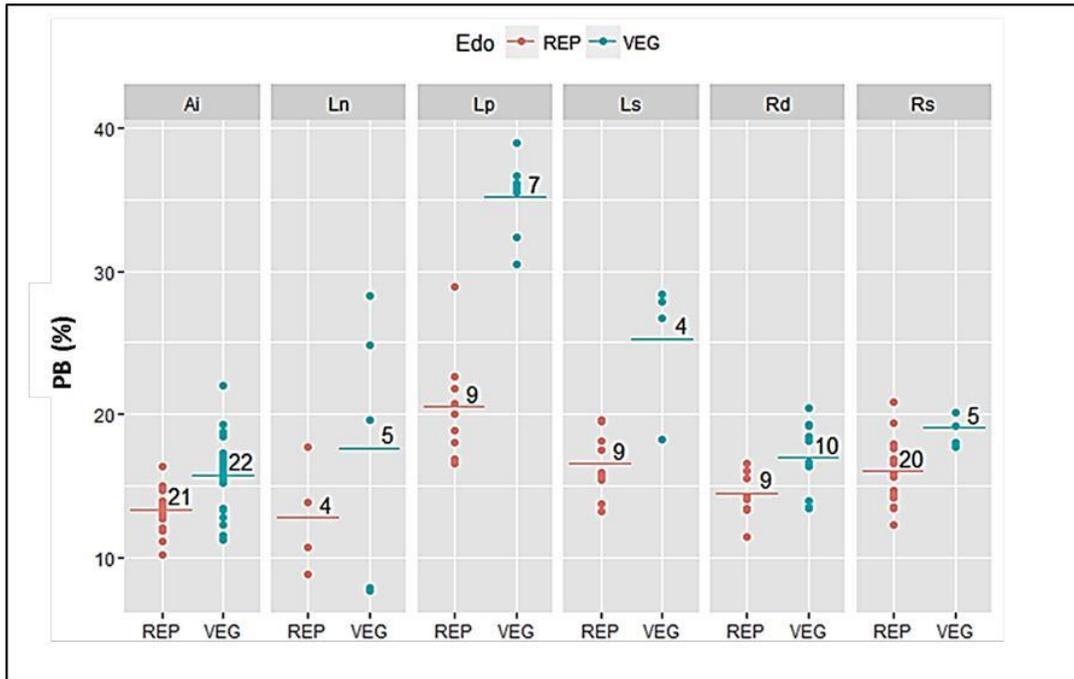


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de proteína bruta (% PB)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

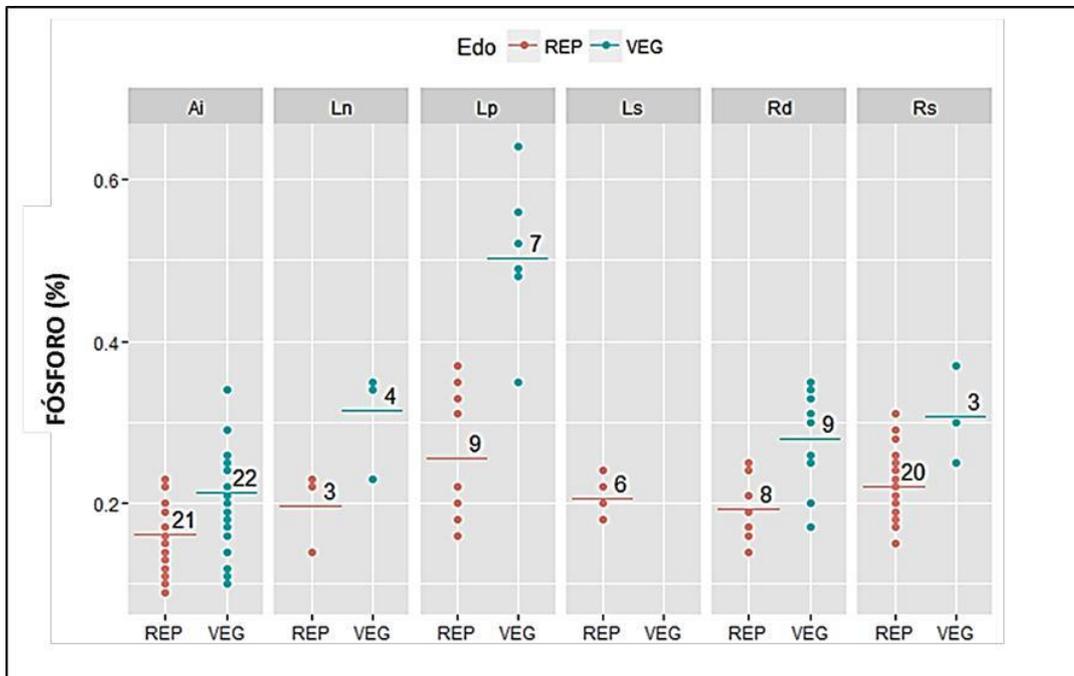


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de fósforo (% FÓSFORO)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai:** *Adesmia incana*, **Ln:** *Lathyrus nervosus*, **Lp:** *L. pubescens*, **Ls:** *L. subulatus*, **Rd:** *Rhynchosia diversifolia*, **Rs:** *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

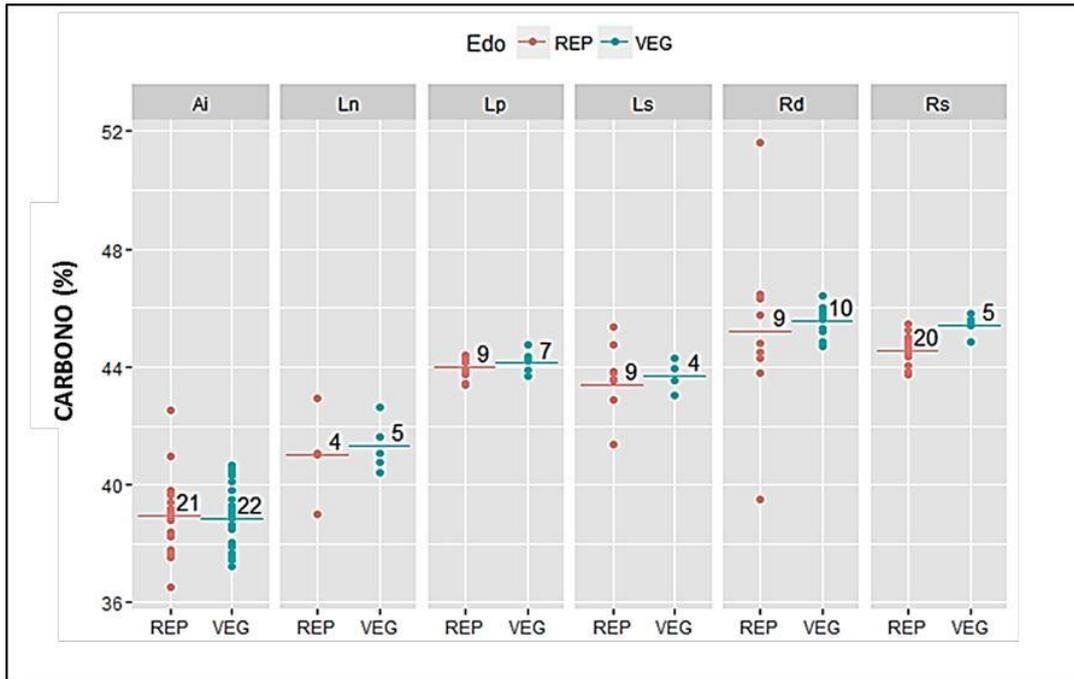


Gráfico de dispersión de datos para la variable **contenido de carbono (% CARBONO)** para las especies estudiadas, según el estado fenológico (VEG: vegetativo y REP: reproductivo). **Ai**: *Adesmia incana*, **Ln**: *Lathyrus nervosus*, **Lp**: *L. pubescens*, **Ls**: *L. subulatus*, **Rd**: *Rhynchosia diversifolia*, **Rs**: *R. senna*. Las líneas indican el valor medio de los datos y el número sobre la línea, el número de muestras en el que está basado.

ANEXO 4

**Detalle de la calidad nutritiva de cada especie
según su estado fenológico**

Anexo 4. Calidad nutritiva según estado fenológico de cada especie. **FDN:** % fibra detergente neutra, **FDA:** % fibra detergente ácida, **LDA:** % lignina detergente ácida, **DIVMS:** % digestibilidad *in vitro* de la materia seca, **PB:** % proteína bruta, **C:** % de carbono, **P:** % de fósforo. **VEG:** estado vegetativo. **REP:** estado reproductivo. **Significancia estadística (SE):** ns= diferencias no significativas; *<0,05, **<0,01, *** <0,001.

		Ai			Ln			Lp			Ls			Rd			Rs		
		N	\bar{x}	EE															
FDN	VEG	21	34	0,8	5	36	1	7	39	0,9	3	37,4	0,3	10	49	0,9	5	43	0,8
	REP	21	34	0,8	4	42	3,3	9	53	0,9	9	49,5	1,8	9	52	0,9	20	47	0,7
	SE	ns			ns			***			**			ns			*		
FDA	VEG	21	21	0,5	5	25	1	7	26	0,6	3	21,6	0,6	10	35	0,7	5	29	0,5
	REP	21	24	0,5	4	31	2,9	9	36	0,4	9	33,2	1,5	9	36	0,8	20	34	0,5
	SE	***			ns			***			**			ns			**		
LDA	VEG	21	6,6	0,2	5	5,4	0,3	7	7,5	0,3	3	6,3	0,2	10	16	0,3	5	13	0,2
	REP	21	8	0,2	4	7,3	1	9	11	0,2	9	9,9	0,8	9	17	0,9	20	14	0,4
	SE	***			ns			***			*			ns			ns		
DIVMS	VEG	22	84	0,7	4	74	1,7	7	78	1,4	3	79	0,6	10	49	1	4	53	0,8
	REP	21	34	5,2	2	61	5,6	9	48	6	7	54,4	7,7	9	46	1,3	20	40	1,2
	SE	***			*			***			ns			ns			**		
PB	VEG	22	16	0,6	5	18	4,3	7	35	1,1	4	25,3	2,4	10	17	0,8	5	19	0,5
	REP	21	13	0,3	4	13	1,9	9	21	1,3	9	16,6	0,8	9	15	0,6	20	16	0,5
	SE	***			ns			***			*			*			**		
C	VEG	22	39	0,2	5	41	0,4	7	44	0,1	4	43,7	0,3	10	46	0,2	5	45	0,2
	REP	21	39	0,3	4	41	0,8	9	44	0,1	9	43,4	0,5	9	45	1,1	20	45	0,1
	SE	ns			***														
P	VEG	22	0,2	0	4	0,3	0	7	0,5	0	-	-	-	9	0,3	0	3	0,3	0
	REP	21	0,2	0	3	0,2	0	9	0,3	0	6	0,21	0	8	0,2	0	20	0,2	0
	SE	**			*			***			-----			**			**		