



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

Trabajo Final presentado para optar al Grado de Ingeniero Agrónomo

Modalidad: Proyecto

**Efecto de la fertilización fosfatada sobre la fijación biológica de  
nitrógeno de *Adesmia bicolor* (Leguminosae) en cultivo**

**Fitzimons Dámaris**

**DNI N° 35.078.673**

**Director:** Dra. Rosana Malpassi

**Co-Director:** Dra. Luciana Bianco

**Río Cuarto – Córdoba**

**Abril, 2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO  
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN**

Título del Trabajo Final: Efecto de la fertilización fosfatada sobre la fijación biológica de nitrógeno de *Adesmia bicolor* (Leguminosae) en cultivo

Autor: **Fitzimons Dámaris**

DNI: 35.078.673

Director: Dra. Rosana Malpassi

Co-Director: Dra. Luciana Bianco

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Dra. Sara Basconsuelo \_\_\_\_\_

Dra. Mónica Grosso \_\_\_\_\_

Dra. Rosana Malpassi \_\_\_\_\_

Fecha de Presentación: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Secretario Académico

## AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional de Río Cuarto, por abrir sus puertas a jóvenes como yo, darme la oportunidad de estudiar, prepararme para un futuro competitivo y formarme como persona de bien.
- A mi Directora de Tesis, Rosana Malpassi por dedicarme su tiempo y esfuerzo, de manera adecuada, aportándome su experiencia, conocimientos, capacidad y, por sobre todo, su amistad, durante la realización de esta investigación.
- De igual manera a mi Co-Directora Luciana Bianco por su apoyo y colaboración en este trabajo.
- A mi familia, por ser quienes, a lo largo de toda mi vida, han apoyado y motivado mi formación académica, por la educación que me han brindado, porque creyeron en mí en todo momento y no dudaron de mis habilidades.
- A mis amigos y compañeros de estudio por compartir momentos inolvidables en esta facultad, que me han servido de motivación para poder llevar a cabo este trabajo.
- A todas aquellas personas que han hecho posible que este trabajo llegue a buen término. Personas que me brindaron su colaboración recolectando y analizando datos, ayudándome incondicionalmente durante esta investigación. Este es el esfuerzo de un gran equipo de trabajo.
- A todos, muchas gracias...

## ÍNDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....</b>	<b>1</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS .....</b>	<b>5</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>6</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>12</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>21</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>22</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>28</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1: Determinación de materia orgánica en laboratorio.....</b>	<b>7</b>
<b>Figura N° 2: Esquema de la parcela de <i>Adesmia bicolor</i> en campo experimental.....</b>	<b>8</b>
<b>Figura N° 3: Parcela de <i>Adesmia bicolor</i> en campo experimental. ....</b>	<b>8</b>
<b>Figura N° 4: Toma de muestras en <i>A. bicolor</i> y muestras de la misma.....</b>	<b>9</b>
<b>Figura N° 5: Digestor y destilador para Kjeldhal. ....</b>	<b>11</b>
<b>Figura N° 6: Gráfico de barras de biomasa total .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura N° 7: Gráfico de barras de proteína bruta total.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura N° 8: Gráfico de barras de biomasa aérea.....</b>	<b>15</b>
<b>Figura N° 9: Gráfico de barras de biomasa subterránea.....</b>	<b>17</b>

## RESUMEN

En regiones áridas de Argentina se está evaluando a *Adesmia bicolor* (Fabaceae) como especie forrajera, ya que es una planta herbácea perenne de hábito rastrero, potencialmente productiva y con gran respuesta a la fertilización fosfatada. Además, se ha observado que es capaz de presentar buen crecimiento invernal, rebrotar vigorosamente en verano después de las lluvias, y que posee una elevada capacidad para fijar nitrógeno. El objetivo de este trabajo es determinar la producción de biomasa y la capacidad fijadora de nitrógeno (N) de *A. bicolor* al aplicarse un fertilizante fosforado líquido en tres dosis diferentes: tratamiento “I” (control), “II” (50 kg/ha) y “III” (100 kg/ha). El ensayo se llevó a cabo en una parcela de *Adesmia bicolor* ya establecida desde hace cinco años, ubicada en el Campo Experimental de la UNRC. Se realizaron seis muestreos en los que se analizaron: biomasa aérea, biomasa subterránea y contenido de proteína bruta (PB). Durante el ciclo biológico, *Adesmia bicolor* presentó un incremento progresivo de biomasa total. El tratamiento “II” fue el que presentó mayor producción de biomasa, siendo estas diferencias estadísticamente significativas con respecto al tratamiento “I”, pero no con respecto al tratamiento “III”. El contenido de proteína bruta en biomasa aérea y subterránea fue relativamente constante y similar entre los tratamientos, disminuyendo en las últimas etapas de muestreo. Sería interesante continuar esta investigación para poder conocer cómo se comporta la especie frente a la fertilización en los años consecutivos.

## SUMMARY

In arid regions in Argentina *Adesmia bicolor* (Fabaceae) is being evaluated as a forage species, since it is a perennial herbaceous plant with creeping habit, potentially productive and with a great response to P fertilization. Furthermore, it has been observed that it is able to present good winter growth, to regrow vigorously in summer after rains and it has a high capacity to fix nitrogen. The aim of this work is to determine the effect of P fertilization in biomass production and the nitrogen fixing capacity (N) of *A. bicolor*. when applying a phosphorus phertilizer fluid in three different doses: treatment “I” (control), “II” (50 kg/ha) y “III” (100 kg/ha). The experiment was carried out in the UNRC experimental field, on a plot of *A. bicolor* already established five years ago. Six samplings were taken to analyze: aerial biomass, underground biomass and the crude protein content (CP). During the biological cycle, *Adesmia Bicolor* showed a progressive increase of total biomass. Treatment “II” showed a higher biomass production, than treatment “I”. The crude protein content in aerial and underground biomass was relatively constant and similar among the treatments, decreasing in the last stages of sampling. It would be interesting to continue this research in order to know how the species behaves against fertilization in consecutive years.

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La región semiárida del centro de Argentina es un área predominantemente ganadera, donde, en general, la producción se realiza sobre pastizales naturales. En los últimos años, estos ambientes presentan un cierto grado de deterioro debido al manejo irracional. La introducción de una especie perenne forrajera de crecimiento preferentemente invernal, periodo crítico para las pasturas, podría mejorar la calidad, cantidad y regulación de la disponibilidad de forraje para el ganado (Berretta, 2003). Además la introducción de leguminosas forrajeras a la comunidad vegetal nativa incrementa los niveles productivos de las pasturas debido a la fijación biológica de nitrógeno (Reyno *et al.*, 2006).

Las pasturas tienen un rol decisivo en la base productiva del país agropecuario. La mejora del nivel de producción de forraje y su calidad, implica el desarrollo de pasturas mejoradas, desde el mejoramiento de campos por siembra en cobertura, a la pastura cultivada o la siembra directa de distintas forrajeras, entre las que, las leguminosas desempeñan un rol fundamental. A su vez, el fósforo constituye un elemento clave que, junto a otros factores de manejo, determina la posibilidad de alcanzar la expresión del potencial productivo de esas leguminosas y su adecuada persistencia, siendo ya conocido el bajo contenido de este nutriente en la generalidad de los suelos del país. Asimismo, la disponibilidad de métodos adecuados y precisos, para la estimación de los niveles de fósforo en el suelo o en la planta, constituye una importante herramienta para una correcta toma de decisiones al respecto. Tanto la introducción de leguminosas como la fertilización con fósforo previenen la degradación de los campos y mejoran de manera sostenible este recurso natural sin destruir el tapiz (Bermúdez *et al.*, 1998; Berretta, 2003; Ayala & Bermúdez, 2004; Amadeo, 2014).

Las leguminosas son cultivadas en todo el mundo, cubriendo aproximadamente 250 M ha y fijando alrededor de 90 Tn de N<sub>2</sub> por año (Kinzig & Socolow, 1994). La fijación biológica de nitrógeno (FBN) ofrece una serie de ventajas sobre la aplicación de fertilizantes nitrogenados, incluyendo la mayor eficiencia en la utilización de nitrógeno (N) por parte de la planta, la minimización de la lixiviación de N y la reducción de la contaminación tanto del suelo como del agua (Peoples *et al.*, 1995). Es por esto que la FBN es sinónimo de sustentabilidad. El N fijado de esta forma es considerado un recurso renovable que debería constituir parte integral de los agroecosistemas sustentables debido a que queda ligado en la materia orgánica del suelo, siendo menos susceptible a transformaciones químicas y a factores físicos que lo llevan a volatilizar o percolar. Asimismo, la FBN tiene efectos beneficiosos para los cultivos subsiguientes en las rotaciones y para especies no leguminosas en las pasturas mixtas, de allí su importancia en el mantenimiento de la productividad en muchos sistemas agrícolas. Este proceso sólo o en combinación con fertilizantes puede ser la mejor solución para proveer nitrógeno a los sistemas cultivados en el futuro (Russell, 1977;

Döbereiner, 1997; Sánchez-Yáñez, 1997; Adjei *et al.*, 2006; Hardarson *et al.*, 2003; Jensen & Hauggaard, 2003).

La cantidad de N fijado biológicamente depende de diversos factores como el tipo de leguminosa, la capacidad que posee la bacteria para fijar nitrógeno, las condiciones del suelo y la presencia de nutrientes para la planta como fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, molibdeno, cobre y boro (Adjei *et al.*, 2006).

Las plantas absorben el N del suelo en forma de nitratos o amonio si se encuentran disponibles en el suelo, estas formas derivan de la biotransformación de las moléculas orgánicas que contienen los restos vegetales y animales (Olivares Pascual, 2006). Las plantas que se asocian simbióticamente con rizobios son capaces de fijar el N atmosférico en óxidos ó amonios. Los rizobios y otros organismos capaces de fijar N contribuyen con importantes cantidades de amoníaco a los sistemas de cultivo (Lindemann & Glover, 2003).

Cuando el aporte de nitrógeno se hace por fijación biológica (FBN), es deseable que las bacterias sean eficientes en el proceso, ya que una tasa alta de FBN resultará en un forraje de mayor calidad nutritiva, mayores rendimientos de materia seca y mayor fertilidad del suelo (Pahuara Hernández & Zúñiga Dávila, 2001). Ésto ha sido demostrado, por ejemplo, en *Adesmia bicolor* y los rizobios que la nodulan. En esta especie no se observaron diferencias significativas en el peso seco aéreo producido por plantas “inoculadas con *Rhizobium*” y “fertilizadas con nitrógeno” a los 360 días post-germinación, pero sí en relación con las “plantas sin nitrógeno”, donde la biomasa fue menor (Bianco, 2007).

La nodulación es un proceso complejo que consiste en una serie de etapas en las que se requiere la expresión coordinada de los genes de la planta tanto como los de la bacteria. En el interior del nódulo, la bacteria es capaz de fijar el nitrógeno atmosférico y transportarlo luego a las células de la raíz de su hospedero, en donde se asimila en forma de aminoácidos.

Las leguminosas, dependientes de N simbiótico, tienen mayores requerimientos de P, K y S que los pastos que dependen de otras fuentes de nitrógeno (Israel, 1987; Pahuara Hernández & Zúñiga Dávila, 2001; Sulieman *et al.*, 2013). Estos nutrientes pueden afectar la FBN directamente, a través de la regulación del crecimiento, formación y/o funcionamiento de los nódulos (Duke *et al.*, 1980; Vadez *et al.*, 2000; Pacyna *et al.*, 2006) o indirectamente, afectando el crecimiento de la planta hospedera (Almeida *et al.*, 2000; Varin *et al.*, 2010). También tiene un rol importante en la biosíntesis de membranas, transmisión de señales y el desarrollo general del nódulo (Al-Niemi *et al.*, 1997).

El fósforo (P) es, luego del N, el nutriente que en mayor medida limita el crecimiento de los cultivos (Vance *et al.*, 2000). El P, además de contribuir al desarrollo de las plantas, mejora las condiciones del suelo y de la rizósfera (Vance *et al.*, 2000; Pahuara Hernández & Zúñiga Dávila, 2001), estimula a los rizobios para que conviertan el N atmosférico (N<sub>2</sub>) en amonio (NH<sub>4</sub>), incrementa el número y tamaño de los nódulos, reduce el tiempo en que los

nódulos en desarrollo se vuelven activos y la cantidad de N asimilado por unidad de peso de nódulos. Se cree que el P influye de manera directa en la actividad de los nódulos debido a que forma parte de la estructura química del ATP y es sabido que la enzima nitrogenasa presenta un elevado requerimiento de este compuesto para su funcionamiento adecuado (Ribet y Drevon, 1995). Aproximadamente un 40% de las tierras cultivables presentan deficiencias de este nutriente, por lo que la respuesta de las leguminosas y rizobios a su oferta ha sido muy estudiado (Almeida *et al.*, 2000; Høgh-Jensen *et al.*, 2002; Olivera *et al.*, 2004; Schulze, 2006). Morón (1997) observó que al aplicar P a un cultivo de alfalfa, los nódulos aumentaron la velocidad de desarrollo. Este desarrollo temprano de nódulos aumentó el rendimiento y el porcentaje de N en la materia seca del cultivo.

El potasio (K) incrementa el crecimiento de los nódulos, la actividad enzimática, el suministro de carbono (C) y la transducción energética (Römheld y Kirkby, 2010). Por otro lado, se ha comprobado que el azufre (S) presenta una estrecha relación con el contenido de nitrogenasa y leghemoglobina en nódulos (Varin *et al.*, 2010). Estudios realizados en arveja (*Pisum sativum* L.) y alfalfa (*Medicago sativa* L.) mostraron que la deficiencia de S reduce la FBN como consecuencia de una disminución en la concentración de ferredoxina y leghemoglobina en nódulos, sumado a una reducción del aporte de ATP (Scherer *et al.*, 2008).

En la Universidad Nacional de Río Cuarto hace más de diez años que se está evaluando a *A. bicolor* debido a que, al ser una leguminosa nativa, perenne, herbácea, preferentemente de ciclo invernal (Bianco, 2002; Veneciano *et al.*, 2005), tolerante a bajos niveles de P en suelo (Dodd & Orr, 1995), constituye una especie con alto potencial para uso forrajero (Berretta, 2003).

La plántula de *A. bicolor* es de tipo faneroepígea (Duke & Polhill, 1981), los cotiledones son foliares, están expandidos y se comportan como órganos fotosintéticos persistiendo hasta el desarrollo de las hojas siguientes. Los caracteres morfológicos más importantes que inciden en las variantes de ramificación de las especies del género *Adesmia* son: el desarrollo del eje o tallo primario y la dirección de crecimiento de los vástagos. El eje primario en *A. bicolor* crece en una primera fase perpendicular a la superficie del suelo y alcanza aproximadamente 3-5 cm. En la axila de los cotiledones se destacan dos yemas que originan dos vástagos plagiótropos de crecimiento muy rápido. Cada una de estas ramas desarrolla yemas profílicas, de tal manera que en el transcurso de un año, la planta cubre gran parte del suelo. Todas las ramas que son plagiótropas desarrollan raíces adventicias en los nudos, manifestando un típico crecimiento clonal. Este tipo de crecimiento le confiere ventajas en el flujo de fotoasimilados, agua y nutrientes entre los distintos ejes a través de conexiones fisiológicas (estolones), característica que podría ser un factor clave para asegurar la persistencia bajo pastoreo intensivo (Dodd & Orr, 1995; Veneciano *et al.*, 2005).

La planta adulta está constituida por numerosos módulos conectados fisiológicamente pero potencialmente independientes. Esta estructura modular incide en la habilidad para mover y orientar los vástagos hacia los sitios vecinos mostrando una respuesta flexible a los cambios locales del ambiente (Bianco, 2002; Weberling *et al.*, 2002; Veneciano *et al.*, 2005). Durante el segundo año se desarrollan racimos constituidos cada uno de ellos por 10 a 20 flores. La mayoría de las yemas incluidas las profilares desarrollan vástagos vigorosos y de esta manera cubren grandes extensiones del terreno.

El fruto es un lomento curvado de aproximadamente 2 cm de longitud, desarticulándose a la madurez en fragmentos transversales monospermos separados unos de otros por ceñiduras visibles externamente. El endocarpo no está adherido al tegumento de la semilla. La semilla es levemente circular de aproximadamente 2,12 mm, la superficie externa es dicrómica y presenta un moteado característico. Los estudios de espermodermis con microscopio electrónico de barrido (MEB) han revelado distintos modelos y constituyen una herramienta de valor sistemático, ya que, en *A. bicolor* se observa un reticulado característico. En la región hilar se encuentra el micrópilo, una protuberancia denominada lente y el anillo hilar (Bianco & Kraus, 2005). A la madurez, al desarticularse el lomento polispermo, permanece cubierta por parte del pericarpo, lo cual no representa ningún problema por la falta de adherencia entre ambas partes. La semilla está constituida por un embrión con dos cotiledones rectos, un eje embrionario con una radícula bien definida y un hipo-epicótilo poco desarrollado. El endosperma es muy delgado, cubriendo el embrión y adnato a la testa o tegumento seminal. Estos tegumentos representan algo más que una cubierta protectora. En muchos taxones, y fundamentalmente en las leguminosas, la condición de dormición de la semilla está impuesta por la “dureza” de los tegumentos como consecuencia de que éstos o algunas de sus capas son impermeables al agua y a los gases. En un corte transversal de una semilla madura se observa una capa externa de macroesclereidas y por debajo de ella, la presencia de osteosclereidas que le dan el carácter de “semillas duras”, típico del género *Adesmia* y de la familia Leguminosae (Gunn, 1981; Peretti, 1994; Bianco & Kraus, 2005).

*A. bicolor* se encuentra asociada a bacterias del género *Rhizobium*. Estas bacterias se caracterizan por ser móviles, Gram negativas, fácilmente cultivables, requieren manitol como fuente de carbono y crecen a temperaturas entre 25 y 30°C (Vance, 2002). Según Martínez-Viera (1986) y Mayea *et al.* (1998) todas las cepas de *Rhizobium* utilizan glucosa, galactosa, fructosa, tiamina y pentatenato de calcio. Las cepas de *Rhizobium* más eficientes son aquellas que forman una mayor cantidad de nódulos, arracimados y/o palmados que presentan un color rojo en su interior, se ubican en la raíz primaria, tienen rápida y prolongada fijación, mayor producción de materia seca y contenido total de N. Los rizobios menos eficientes forman nódulos más pequeños, de coloración verde, que se ubican en raíces

secundarias y tienden a paralizar la fijación biológica de nitrógeno en etapas tempranas (Perticari, 2001).

Los nódulos maduros de *Adesmia bicolor* son usualmente pequeños, achatados y presentan crecimiento de tipo determinado (Vileta *et al.*, 2010; Bianco *et al.*, 2012). Se los encuentra asociados a raicillas finas y usualmente se distribuyen de a pares. En corte transversal se puede observar que la parte central está ocupada por células infectadas con escasas células no infectadas entre ellas. Los nódulos que presentan estas características son clasificados como de tipo aescynomenoide. En los primeros estadios de crecimiento de *A. bicolor*, la mayor parte de los nódulos se desarrollan en la raíz principal, luego comienza la formación en raíces laterales y algunos en raíces adventicias (Bianco, 2007; Vileta *et al.*, 2010).

Si bien se ha avanzado en la evaluación de aspectos morfológicos y agronómicos para el establecimiento de esta especie en la región central de Argentina, así como su crecimiento vegetativo, calidad de forraje y eficiencia de fijación biológica de nitrógeno (Veneciano *et al.*, 2005; Bianco & Kraus, 2005; Vileta *et al.*, 2010; Bianco *et al.*, 2012; Bianco, 2014), sería interesante determinar el efecto de la fertilización fosfatada sobre la eficiencia de fijación biológica de nitrógeno de *A. bicolor*.

## **HIPÓTESIS**

*Adesmia bicolor* es capaz de producir una mayor cantidad de biomasa con mayor contenido de nitrógeno durante su ciclo de vida, debido a que la fertilización con fósforo líquido estimula su capacidad de fijar nitrógeno biológicamente.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar los efectos de distintas dosis de un fertilizante fosfatado líquido sobre eficiencia de fijación biológica de nitrógeno de *Adesmia bicolor* en cultivo.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Determinar el efecto de tres dosis de fertilizante fosfatado líquido sobre biomasa aérea y subterránea producida por *Adesmia bicolor* en cultivo durante su ciclo de crecimiento.
2. Determinar el efecto de tres dosis de fertilizante fosfatado líquido sobre el contenido de nitrógeno de la biomasa aérea y subterránea de *Adesmia bicolor* en cultivo durante su ciclo de crecimiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía y Veterinaria ubicado frente al campus universitario en una parcela de 4 x 15 m que presenta *Adesmia bicolor*. En esta parcela, el cultivo se encuentra establecido desde hace cinco años, habiendo sido tratado con herbicidas pero no con fertilizantes.

El experimento tuvo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Se llevaron a cabo numerosos análisis de la varianza para detectar diferencias significativas ( $\alpha < 0,05$ ) entre tratamientos y fases fenológicas. Estos análisis fueron realizados con el programa INFostat 2005/P.1 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) (Steel & Torrie, 1988; Di Rienzo *et al.*, 2013).

Previamente a la aplicación de fertilizante, se tomaron diez muestras de suelo al azar en la parcela para determinar el pH, humedad, contenido de materia orgánica y concentración de fósforo (P).

Para la determinación de pH se pesó 1 g de suelo de cada parcela y se agregó 10 ml de agua destilada. Se agitó y dejó reposar 10 min. Se ajustó el potenciómetro con las soluciones amortiguadoras y se procedió a medir el pH de las soluciones de suelo.

La humedad del suelo fue calculada por la diferencia de peso entre una misma muestra húmeda y después de haberse secado en la estufa hasta obtener un peso constante. Para poder determinarla se pesó 1 g de muestra, luego se colocó la muestra dentro de la estufa a 80°C durante 24 hs. Se retiró la muestra de la estufa y se la colocó dentro de un desecador para que se enfríe. Se pesó la muestra y a continuación se calcularon los porcentajes de humedad en el suelo por la diferencia de pesos, según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad del suelo} = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / \text{Peso inicial} * 100$$

La determinación de materia orgánica se realizó mediante el método de oxidación de la materia orgánica (Fig. 1). De la muestra de suelo a analizar, que previamente se la pasó por tamiz de malla de 0,5 mm, se pesaron 0,5 g y se la introdujo en un erlenmeyer de 250 ml. Luego, se añadió 5 ml de  $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$  1N, imprimiendo al erlenmeyer un movimiento de giro para lograr íntimo contacto entre el suelo y la solución. Se añadió seguidamente, por las paredes y lentamente, 10 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  y se continuó mezclando suavemente por 1 min. Se dejó la muestra en reposo durante 30 min. Simultáneamente se realizó un ensayo de valoración en blanco (sin suelo) de la misma forma. Posteriormente, se realizó una valoración por retroceso diluyendo la solución con agua destilada hasta completar 100 ml. Seguidamente se transfirió una alícuota de 20 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado y 4 gotas del indicador N-fenilanttraílico, se agitó y se mezcló. Se valoró esta disolución con sal de Mohr 0,1 N hasta el viraje de rojo vinoso a verde brillante (Nelson, D & L. Sommers, 1982). Los resultados se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ M.O} = \text{ml de } \text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2 \times (1 - T/S) \times 1,34$$

S: ml de disolución ferrosa consumidos en la valoración del ensayo en blanco.

T: ml de disolución ferrosa consumidos en la valoración de la muestra.



Fig.1. Determinación de materia orgánica en laboratorio de análisis de suelo (FAV-UNRC).Año 2015.

La determinación de P se realizó mediante el método de Bray y Kurtz I. Para ello, se tomaron 10 muestras de los primeros 20 cm de suelo al azar. Luego en el laboratorio, se colocó 2,85 g de suelo en un erlenmeyer de 50 ml, se agregó solución extractiva con una pipeta 20 ml y se agitó durante 5 min. Finalizada la agitación, se filtró utilizando papel de filtro. Se transfirió una alícuota de 2 ml a otro tubo de ensayo, después de haber apartado previamente 1 ml para enjuagar la pipeta, se añadió 5 ml de agua destilada y 2 ml de molibdato amónico, mezclando la solución. Finalmente, se agregó 1 ml de cloruro estannoso recién diluido y se lo mezcló inmediatamente. Después de 5 a 6 min y antes de 20 min, se midió el color fotométricamente a una longitud de onda de 660 nm. Paralelamente se preparó un blanco. Para el cálculo, se consideró una curva estándar incluyendo 2 ml de la solución de extracción en el rango de 0,1 a 1  $\mu\text{g}$  de P  $\text{ml}^{-1}$  (Marbán & Ratto, 2005)

Luego de la toma de muestras de suelo, la parcela fue dividida en subparcelas, en las que se aplicaron tres dosis de fertilizante fosfatado líquido:

1. Tratamiento I : 0  $\text{kg ha}^{-1}$  (control)
2. Tratamiento II: 50  $\text{kg ha}^{-1}$
3. Tratamiento III: 100  $\text{kg ha}^{-1}$

La aplicación se realizó con un equipo pulverizador de parcelas, según el diseño de bloques al azar mostrado (Fig. 2 y 3). El fertilizante, cuyo nombre comercial es Fasil 1006,

presenta una densidad de 1.26, pH 2.2, 4.8% de nitrógeno total, 3.7% de nitrógeno amoniacal y nitratos, 22.6% de fósforo total y 4.9% de sulfuros.

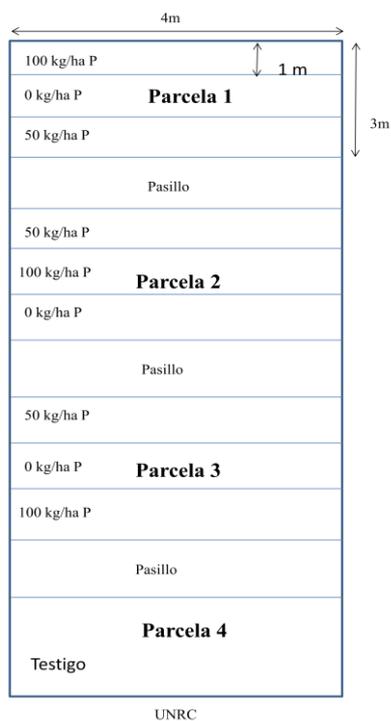


Fig. 2. Esquema de la parcela donde crece *A. bicolor* en el campo experimental de la UNRC, mostrando el diseño del experimento. Año 2015.



Fig. 3. Parcela de *Adesmia bicolor*. Campo experimental de la UNRC. Año 2015.

Se llevaron a cabo seis muestreos, cuatro durante la etapa vegetativa (20/03/15, 21/05/15, 28/07/15 y 30/09/15), uno durante la etapa de floración (25/11/15) y el último

durante la etapa de fructificación (07/01/16). La metodología de muestreo consistió en arrojar al azar un aro (superficie 0,0625 m<sup>2</sup>) en cada uno de los bloques y por tratamiento. En esta área, se cosechó la biomasa aérea y subterránea producida por *Adesmia bicolor* (Fig. 4).

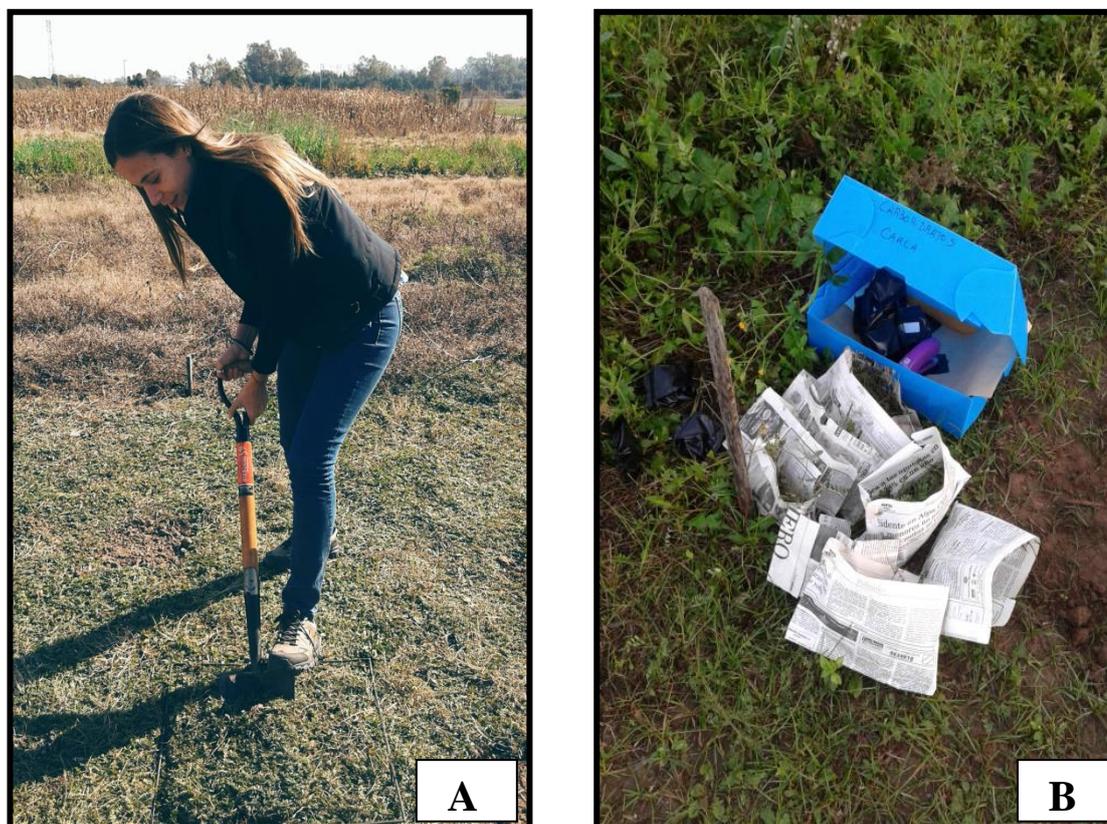


Fig. 4. A. Toma de muestras de *A. bicolor*. B. Muestras de *A. bicolor*. 28/07/2015. UNRC

El material extraído fue secado en estufa a 60°C hasta lograr peso constante para determinar el peso seco aéreo y subterráneo. Posteriormente, se cuantificó el contenido de proteína bruta (%) en el material extraído en cada fecha de muestreo a través del método de Kjeldahl (Bremner & Mulvaney, 1982). Para ello, se molió cada muestra, la cual contenía de manera conjunta el material aéreo y el material subterráneo y se la introdujo en un matraz de digestión Kjeldahl de 100 ml, se le agregó el catalizador más 3 ml de ácido sulfúrico concentrado (Fig. 5A). Luego se lo colocó en un soporte asociado a un calefactor eléctrico y se inició la digestión. Al final de la digestión, se detuvo el proceso de calefacción. Cuando se enfriaron los matraces hasta el punto justo en que empiezan a separarse cristales, se añadió 50 ml de agua destilada. A esta disolución se le agregó hidróxido de sodio como neutralizador para que el ácido se evapore (Fig. 5B). Por medio de un electrodo se midió el sulfato de amonio en milivoltios. Luego con el electrodo se midió el NH<sub>4</sub>Cl de 1 ppm, NH<sub>4</sub>Cl 10 ppm y NH<sub>4</sub>Cl 100 ppm con neutralizador. A través del programa MicroCal Origin

3.0, se realizó la curva patrón de ppm vs mV. Esta curva sirvió para determinar las partes por millón en todas las muestras medidas con el electrodo. Una vez que se obtiene la curva patrón y con los datos del material vegetal, se determina el N total de cada muestra. Para ello, se disponía de los siguientes datos:

- ❖ Peso de la muestra (g),
- ❖ Volumen final del extracto de Kjeldahl,
- ❖ Volumen tomado del extracto para hacer la lectura,
- ❖ mV leído en el potenciómetro al medir la muestra,
- ❖ ppm correspondiente a la lectura en mV (curva patrón).

Luego, se determinó el N total mediante la siguiente ecuación:

$$\text{ppm de muestra} \times 100 \text{ g muestra} \times \frac{\text{Volumen de la muestra (ml)}}{\text{alícuota (ml)}} \times \frac{\text{Vol. final del extracto de Kjeldahl}}{\text{peso de la muestra}}$$

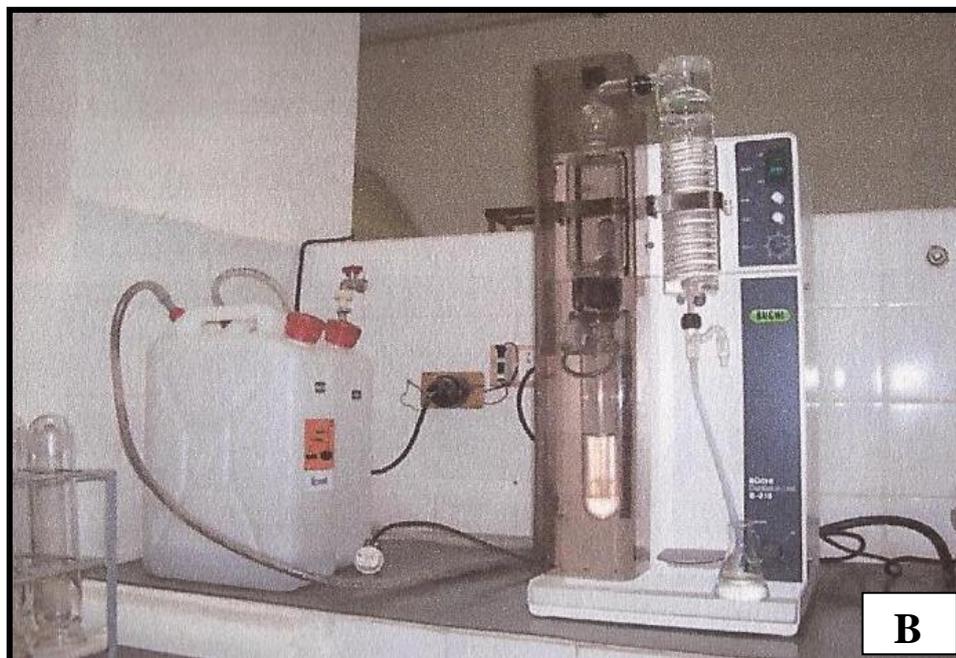
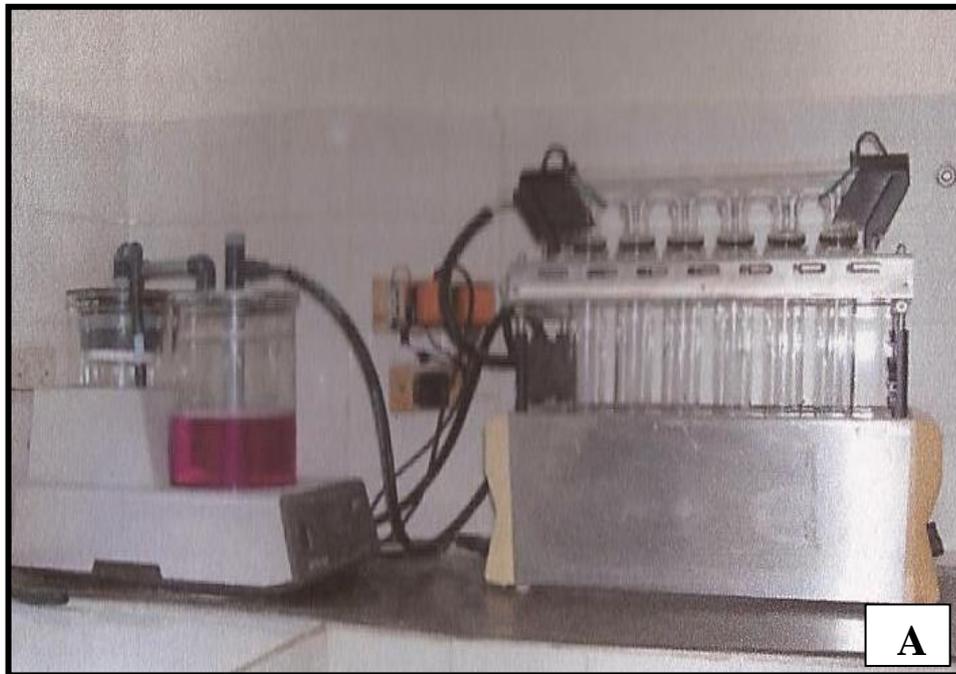


Fig. 5. A. Digestor para análisis de Kjeldhal. B. Destilador para Kjeldhal.

## RESULTADOS

El suelo de la parcela donde se llevó a cabo el experimento presenta 3,15% de materia orgánica; pH: 7,24; 7,43% de humedad y 8,1 ppm P (Tabla 1). El nivel de P es bajo, ya que se encuentra por debajo del nivel crítico que para esta zona es de 17-18 ppm. La materia orgánica presenta un valor aceptable, ya que un ensayo llevado a cabo en el sudeste de la provincia de Córdoba determinó un promedio de 2% de materia orgánica (Echeverría, H; H, Sainz Rozas, 2007).

### **Biomasa total de *Adesmia bicolor***

Durante la primera fecha de muestreo correspondiente a la etapa vegetativa de *Adesmia bicolor*, las plantas correspondientes al tratamiento “I” producen una biomasa total media de 692,8 kg.ha<sup>-1</sup>, las correspondientes al tratamiento “II”, 1064 kg.ha<sup>-1</sup> y las plantas del tratamiento “III”, 1276,3 kg.ha<sup>-1</sup>. Si bien existen diferencias entre los tratamientos, estas no son estadísticamente significativas (Fig. 6).

En la segunda fecha de muestreo, también correspondiente a la etapa vegetativa, la biomasa total media de las plantas del tratamiento “II” se incrementan a 1259,7 kg.ha<sup>-1</sup>, las del tratamiento “III” producen 1060,3 kg.ha<sup>-1</sup> aunque tampoco difieren significativamente. El tratamiento “I” se mantiene prácticamente constante, 675,2 kg.ha<sup>-1</sup> y éste si difiere significativamente con respecto a los tratamientos anteriores (p= 0,0028).

Durante la tercera fecha de muestreo, se presenta la misma tendencia que el caso anterior, el tratamiento “I” difiere significativamente de los restantes tratamientos (p= 0,0093), arrojando un valor de biomasa media total de 742,9 kg.ha<sup>-1</sup>. El tratamiento “II” muestra una producción de biomasa media total de 1371,2 kg.ha<sup>-1</sup>, y el “III” de 1145 kg.ha<sup>-1</sup>, si bien existen diferencias entre estos dos últimos tratamientos, éstas no son estadísticamente significativas.

En cuarta fecha de muestreo durante la etapa vegetativa, el tratamiento “I” arroja una biomasa media total de 1124,3 kg.ha<sup>-1</sup>, el tratamiento “II” 2636,8 kg.ha<sup>-1</sup> y el “III”, 1670,4 kg.ha<sup>-1</sup>. Si bien no existen diferencias significativas entre el tratamiento “I” y “III”, estos dos tratamientos son estadísticamente diferentes al tratamiento “II” (p= 0,0148).

En el muestreo llevado a cabo ya en la etapa de floración, el tratamiento “I” presenta una biomasa total media de 1301 kg.ha<sup>-1</sup>, el tratamiento “II” de 2218,7 kg.ha<sup>-1</sup> y el “III” de 1806,9 kg.ha<sup>-1</sup>, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p= 0,0002).

El último muestreo de *A. bicolor* que se realizó durante la etapa de fructificación, los resultados presentan la misma tendencia que la fecha anterior, siendo las diferencias entre los tratamientos significativas (p= 0,0001). El tratamiento “I” arroja una biomasa total

media de 1336,5 kg.ha<sup>-1</sup>, mientras que el tratamiento “II” de 2187,7 kg.ha<sup>-1</sup> y el “III” de 1824 kg.ha<sup>-1</sup>.

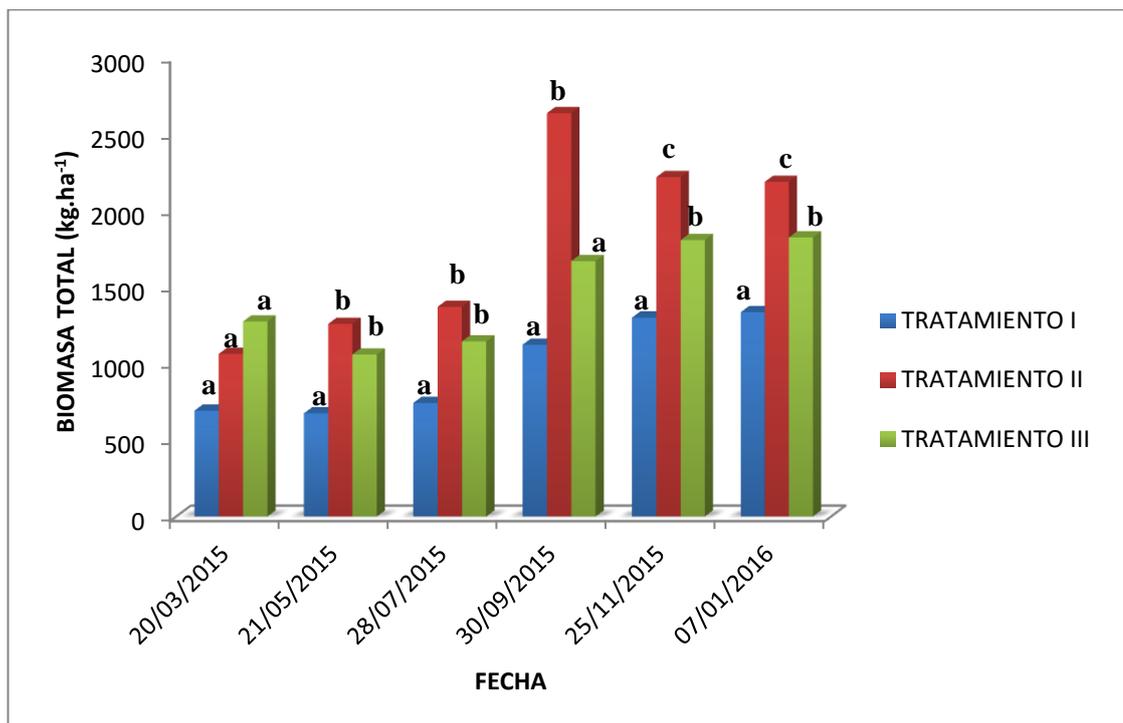


Fig. 6. Biomasa total de *Adesmia bicolor* de cada tratamiento y en cada fecha de muestreo. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). UNRC 2015/16.

### Contenido de Proteína bruta en *Adesmia bicolor*

En el primer muestreo realizado, los valores obtenidos de proteína bruta (PB) media no presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento “I” presentó un valor medio de PB de 16,6%, el tratamiento “II” de 15,76%, y el “III”, 16,91% (Fig. 7). Esta tendencia se repite en todas las fechas de muestreos siguientes, a excepción del último muestreo.

En la segunda fecha de muestreo, las diferencias entre tratamientos no son estadísticamente significativas, aunque el tratamiento “III” es el que mayor porcentaje de PB presenta (20,14%), luego le sigue el tratamiento “I” (18,97%) y el “II” (15,93%).

Durante la tercera fecha de muestreo, el tratamiento que presenta mayor porcentaje de PB es el “II” con un valor de 19,58%, en segundo lugar el tratamiento “III” con un valor de 17,91% y el “I” es el que presentó menor cantidad, con un valor de 16,9% .

Durante el último muestreo realizado en la etapa vegetativa de *A. bicolor*, el tratamiento “I” presenta el mayor contenido de PB (19,56%), luego los tratamientos “II” y “III” presentan valores similares 17,63% y 17,89%, respectivamente, ( $p = 0,2083$ ).

Durante la etapa de floración, el tratamiento “II” presenta mayor contenido de PB (15,76%), luego el tratamiento “III” (15,64%) y en último lugar el “I” (14,69%). Por último,

durante la etapa de fructificación, las plantas correspondientes al tratamiento “I” presentan un contenido de PB medio de 14,81%, el tratamiento “II” arroja un valor de 13,72% y el “III” de 12,2%. Si bien no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos “I” y “II”, el tratamiento “III” es significativamente diferente con respecto al tratamiento “I” ( $p= 0,0323$ ).

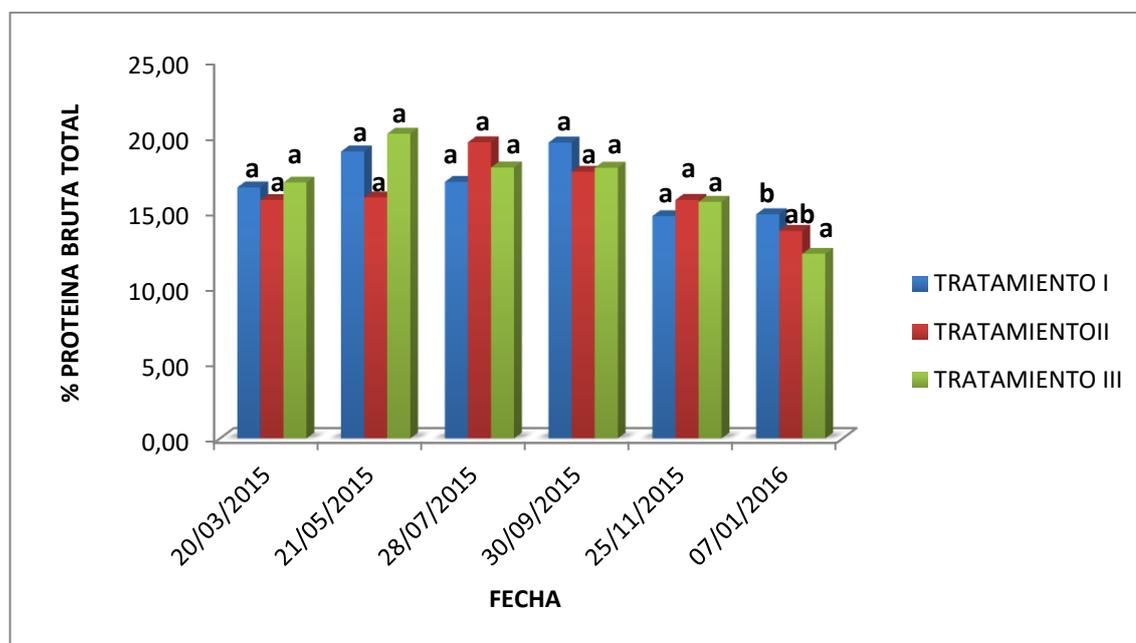


Fig. 7. Porcentaje de PB de *Adesmia bicolor* de cada tratamiento y en cada fecha de muestreo. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD Fisher ( $p<0,05$ ). UNRC 2015/16.

### Biomasa aérea en *Adesmia bicolor*

En el primer muestreo, los datos obtenidos no presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p= 0,1938$ ). El valor medio de biomasa aérea para el tratamiento “III” es el mayor de todos, siendo este de  $604,8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , luego el tratamiento “II” de  $553,1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y en tercer lugar el “I”,  $365,3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Fig. 8).

En la segunda fecha de muestreo, se observan diferencias estadísticamente significativas en cada uno de los tratamientos ( $p= 0,0031$ ). El tratamiento “II” es el que presentó una mayor biomasa aérea siendo el valor medio de  $695,5 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , mientras que el tratamiento “III” arroja un valor medio de  $528,5 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y el “I” es el que produce la menor cantidad de biomasa aérea, siendo esta de  $326,4 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

En la tercer fecha de muestreo, el tratamiento “II” al igual que el caso anterior es el que arroja el mayor valor de biomasa aérea media, siendo de  $731,2 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , luego el tratamiento “III”, produciendo  $549,9 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y en último lugar el tratamiento “I” con un valor medio de  $377,1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Si bien existen diferencias entre el tratamiento “I” y “III”, estas no

son estadísticamente significativas (Fig. 8). El tratamiento “I” presenta diferencias significativas respecto al tratamiento “II” ( $p=0,0355$ ).

En el cuarto muestreo llevado a cabo durante la etapa vegetativa, el tratamiento “II” es el que presenta la mayor cantidad de biomasa aérea, siendo el valor medio producido de  $1433,1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . La biomasa aérea de este tratamiento es estadísticamente diferente con respecto a los restantes tratamientos ( $p=0,0023$ ). Continuando con la tendencia observada en las fechas de muestreo anteriores, el tratamiento “III” es el que arroja el segundo valor medio más alto, siendo este de  $894,4 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . El “I” presenta un valor medio de  $585,6 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . A pesar de que existen diferencias entre estos últimos dos tratamientos, las mismas no son significativas.

Durante la etapa de floración, el tratamiento “II” es el que mayor biomasa aérea produce ( $1186,7 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). El tratamiento “III” presenta un valor de  $892,3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y el tratamiento “I” de  $644,8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Las diferencias observadas entre los tratamientos son estadísticamente significativas ( $p=0,0009$ ).

Durante la etapa de fructificación, el tratamiento “II” produce  $1174 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de biomasa aérea, el “III”,  $894,4 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y el tratamiento “I”,  $684,8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Estas diferencias entre tratamientos también son estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ).

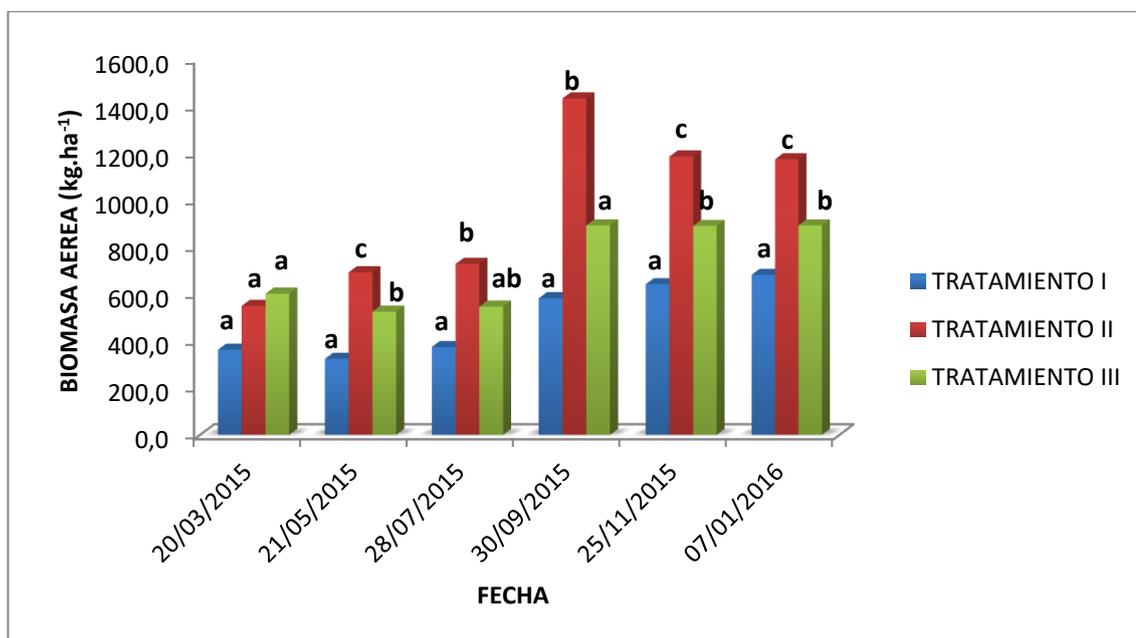


Fig. 8. Biomasa aérea de *Adesmia bicolor* de cada tratamiento y en cada fecha de muestreo. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD Fisher ( $p<0,05$ ). UNRC 2015/16.

### **Biomasa subterránea en *Adesmia bicolor***

En el primer muestreo, la biomasa subterránea correspondiente a cada tratamiento no presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). El valor medio de biomasa subterránea para el tratamiento “III” es el mayor de todos, siendo este de 671,5 kg.ha<sup>-1</sup>, luego el tratamiento “II” con un valor de 510,9 kg.ha<sup>-1</sup> y en tercer lugar el “I” con 327,5 kg.ha<sup>-1</sup> (Fig. 9).

En la segunda fecha de muestreo, el tratamiento “II” es el que presenta la mayor biomasa subterránea con un valor de 564,3 kg.ha<sup>-1</sup>, mientras que el tratamiento “III” arroja un valor medio de 531,7 kg.ha<sup>-1</sup> y el “I” es el que produce la menor cantidad de biomasa subterránea, siendo esta de 353,1 kg.ha<sup>-1</sup>. Las diferencias existentes entre el tratamiento “II” y “III” no son significativas, pero si lo son entre el tratamiento “I” con los restantes ( $p=0,0252$ ).

En el tercer muestreo, el tratamiento “I” difiere significativamente de los restantes ( $p= 0,0022$ ), arrojando un valor de biomasa subterránea media de 339,2 kg.ha<sup>-1</sup>. El tratamiento “II” presenta un valor medio de 640 kg.ha<sup>-1</sup>, y el “III”, 595,2 kg.ha<sup>-1</sup>. Si bien existen diferencias entre estos dos últimos tratamientos, éstas no son estadísticamente significativas.

En el cuarto muestreo, el tratamiento “II” es el que arroja el mayor valor de biomasa subterránea media, siendo dicho valor de 1203,7 kg.ha<sup>-1</sup>, luego nuevamente el tratamiento “III” ocupa el segundo lugar, produciendo una biomasa subterránea media de 776 kg.ha<sup>-1</sup> y en último lugar el tratamiento “I” presenta un valor medio de 538,7 kg.ha<sup>-1</sup>. Si bien existen diferencias entre el tratamiento “I” y “III”, estas no son estadísticamente significativas. El tratamiento “I” presenta diferencias significativas en comparación al tratamiento “II” ( $p= 0,0657$ ).

Durante la etapa de floración, la biomasa subterránea media de las plantas del tratamiento “II” es de 1032 kg.ha<sup>-1</sup>, las del tratamiento “III” producen 914,7 kg.ha<sup>-1</sup> aunque tampoco difieren significativamente. El tratamiento “I” produce 656,5 kg.ha<sup>-1</sup> y éste difiere significativamente con respecto a los tratamientos anteriores ( $p= 0,0009$ ).

En la etapa de fructificación, el tratamiento “II” produce 1017,6 kg.ha<sup>-1</sup> de biomasa subterránea, el “III”, 929,6 kg.ha<sup>-1</sup> y el tratamiento “I”, 651,7 kg.ha<sup>-1</sup>. Estas diferencias entre tratamientos son estadísticamente significativas ( $p= 0,0001$ ).

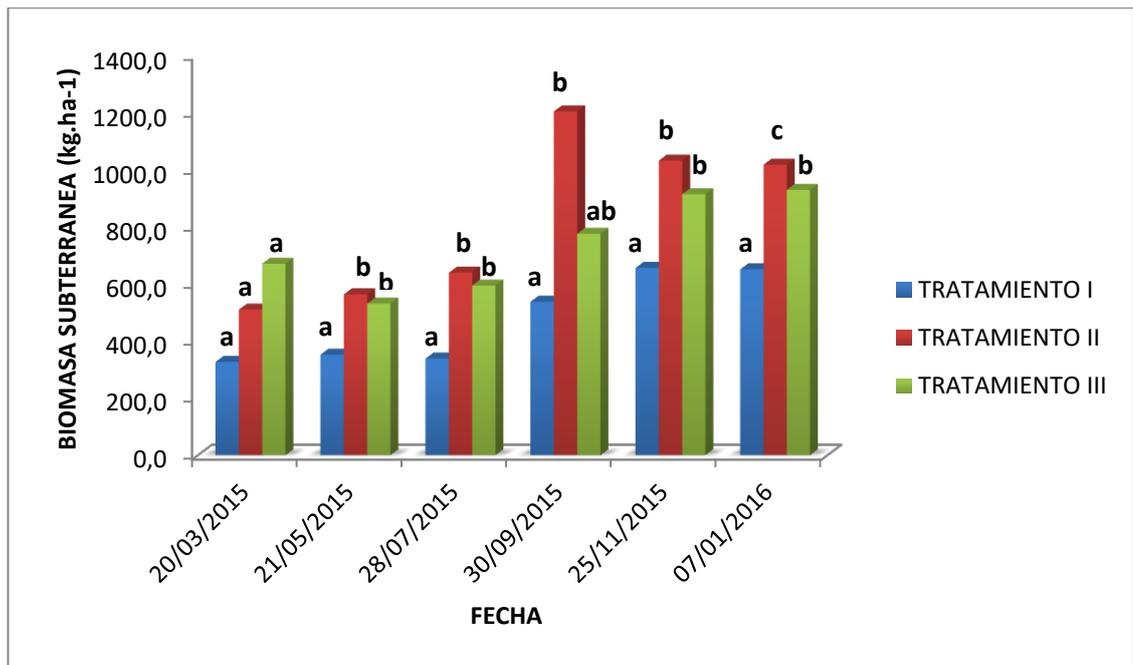


Fig. 9. Biomasa subterránea de *Adesmia bicolor* de cada tratamiento y en cada fecha de muestreo. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). UNRC 2015/16.

## DISCUSIÓN

El mejoramiento de campos por fertilización con fósforo (P) e incorporación de leguminosas, es una tecnología de uso creciente como forma de mejorar la base forrajera de sistemas ganaderos y, de esta forma, posibilitar la dinamización de su proceso productivo (Risso *et al.*, 1985; Risso, 1990). Como en la totalidad de situaciones en que se incluyen leguminosas en nuestro país, la política de fertilización fosfórica (desde los niveles iniciales, hasta las aplicaciones para mantenimiento) cumple un papel esencial. Ésta satisface una condición necesaria, aunque no suficiente, para el logro de pasturas productivas y persistentes, teniendo en cuenta que las diferentes especies presentan distintos requerimientos (Risso y Morón, 1990).

*Adesmia* es un género que está recibiendo cada vez más atención debido al potencial que presentan sus especies como forrajeras. Dos de los países más interesados son Brasil y Nueva Zelanda, ya que disponen de muy pocas especies capaces de producir suficiente biomasa en invierno para alimentar al ganado (Miotto & Leitao Filho, 1993). En nuestro país, los estudios están enfocados en utilizarlas en la región árida y semiárida central (Bianco, 2002; Kraus & Bianco, 2005; Veneciano *et al.*, 2005).

Los resultados de biomasa producida por *Adesmia bicolor* en este trabajo coinciden en su mayor parte con las investigaciones llevadas a cabo por Cambra Liscano (1987), quien determina que *Adesmia bicolor* presenta un 200% de incremento de biomasa con respecto al campo natural, cuando se la fertiliza con P. Por otro lado, estudios llevados a cabo en especies de *Lotus* mostraron un incremento lineal en la producción de materia seca durante el primer año de fertilización. Ésto concuerda con estudios realizados por Bermúdez *et al.* (2000), en los cuales se observa que la producción anual del forraje total de *Lotus*, *Trifolium repens* y *A. bicolor* presenta una clara y significativa respuesta frente a la fertilización. Asimismo, la mezcla de *Trifolium repens* y *Lotus* muestra una excelente adaptación al mejoramiento en cobertura en suelos de la Región de Cristalino (Uruguay), siendo la fertilización fosfatada un factor prioritario e imprescindible para el logro del éxito mencionado. Independientemente de la fuente empleada, existe importante respuesta al nivel de aplicación inicial de fósforo, tanto en el primer año, como durante todo el período considerado (efecto residual).

*Adesmia bicolor* presenta mayor respuesta a la dosis de 50 kg.ha<sup>-1</sup> de fertilizante fosforado, estos resultados no coinciden con estudios realizados en otras especies como alfalfa, donde la producción anual de materia seca se incrementó en forma lineal hasta la dosis más alta de P aplicado inicialmente (100 kg.ha<sup>-1</sup>) en relación a los testigos y a las dosis menores de fertilización (25 y 50 kg.ha<sup>-1</sup>) (Berardo, 1999).

Otro aspecto de interés estudiado fue la capacidad de respuesta de la alfalfa a la refertilización fosfatada. Si bien han existido algunas dudas respecto a la capacidad de respuesta de dicha especie a la refertilización fosfatada dado su sistema radicular profundo y al hecho de que las aplicaciones de fertilizantes en cobertura concentran el P cerca de la superficie, ensayos realizados por INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria), La Estanzuela y por la Cátedra de Fertilidad de Suelos de la Facultad de Agronomía (Cambra Liscano, 1987) determinaron importantes respuestas de la alfalfa a la refertilización fosfatada. La respuesta a la refertilización es dependiente del nivel de disponibilidad de P en el suelo (Díaz Lago *et al.*, 1996). También en investigaciones llevadas a cabo sobre trébol blanco se llegó a la conclusión que la producción de materia seca alcanzada en la primera temporada de fertilización fosfatada puede considerarse baja respecto de aquella obtenida en la segunda temporada (Campillo y Rodríguez, 1984). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en la última temporada el periodo de producción de las praderas del segundo año de fertilización se incrementa notoriamente y que dichas producciones capitalizan, también el efecto residual del P aplicado a la siembra. En ambas temporadas de fertilización se aprecia una creciente y significativa respuesta al P. En el presente trabajo si bien estamos frente al primer año de fertilización también se puede observar aumento de la producción de materia seca, pero sería interesante continuar fertilizando con P en los años siguientes para evaluar el efecto de la refertilización sobre la producción.

Otra característica importante desde el punto de vista de la calidad del forraje es la concentración de N. Estudios realizados en alfalfa demostraron que la planta presenta mayores niveles de N a medida que aumenta la concentración de P, es decir que existe una fuerte asociación entre ambos nutrientes. Es conocido que la baja disponibilidad de P afecta el número y tamaño de los nódulos así como el proceso bioquímico de la FBN. Por tanto, los valores medios a bajos de N en planta podrían ser explicados en parte por insuficiencias en el contenido de P en planta (Cambra Liscano, 1987). Sin embargo, en este trabajo no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes dosis de P aplicado y el contenido de PB en la planta.

En este trabajo se observa que el contenido de PB de la biomasa aérea es mayor que el de la biomasa subterránea, lo que concuerda con estudios realizados anteriormente en la misma especie y en especies del mismo género como *A. latifolia* (Scheffer – Basso *et al.*, 2001a). Esto puede deberse a que en leguminosas forrajeras de hábito de crecimiento estolonífero, la materia seca aérea es mayor que la subterránea. Esta situación es diferente en especies rizomatosas donde la mayor cantidad de materia seca se encuentra en la raíz (Scheffer- Basso *et al.*, 2002). Otro aspecto importante es que a lo largo del ciclo biológico de *A. bicolor*, hay un incremento en el número de nódulos acompañado por un aumento en

el peso y contenido de nitrógeno (Peticari, 2001), situación que coincide en otras Leguminosas como *Medicago sativa*.

Burkart (1952) cita a las especies de *Adesmia* como inefectivas para fijar nitrógeno. Sin embargo, Scheffer-Basso et al. (2001b) realizan un estudio con especies de este género y observan una elevada biomasa, nodulación y eficiencia para fijar nitrógeno. Asimismo, Coll & Zarza (1992) infieren que *Adesmia bicolor* presenta una elevada capacidad para fijar nitrógeno debido a la alta producción de materia seca en suelos arenosos y pobres, llegando a la conclusión que *Adesmia bicolor* es efectiva para fijar nitrógeno y que la cantidad de nitrógeno que fija va incrementando a medida que la planta va creciendo. En este trabajo se ha observado que el contenido de nitrógeno disminuye a medida que la planta crece, esto puede deberse a que el contenido de proteína va disminuyendo a medida que avanza el estado de madurez.

Por último, es importante mencionar que no existen suficientes antecedentes de la respuesta de *A. bicolor* frente a diferentes tipos y concentración de fertilizantes por lo que sería interesante continuar esta investigación para conocer cómo se comporta la especie durante su segundo año de fertilización.

## CONCLUSIONES

Luego de comparar la producción de biomasa de *Adesmia bicolor* de los distintos tratamientos, se concluye que la especie respondió de mejor manera ante la dosis de 50 kg.ha<sup>-1</sup> de fertilizante fosforado líquido, es decir al tratamiento “II”. Aún así, cabe destacar que en algunas fechas de muestreo no presentó diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento “III” pero sí mantuvo siempre diferencias significativas con respecto al tratamiento “I” (control).

Al analizar por separado la biomasa aérea y subterránea, en ambos casos se pudo determinar que también el tratamiento “II” fue el que obtuvo una mejor respuesta a la fertilización fosfatada.

Si bien el contenido de PB en la biomasa de *A. bicolor* se va incrementando a medida que la planta crece hasta llegar al máximo en la etapa vegetativa tardía, esta variable no muestra respuesta a las dosis de P aplicadas durante el primer año del cultivo.

## BIBLIOGRAFIA

- ADJEI, M.B.; K.H. QUESENBERRY. & C.G. CHAMBLISS. 2006. *Nitrogen fixation and inoculation of forage legumes*. University of Florida. IFAS Extension:1-5.
- ALMEIDA, J.P.F.; U.A. HARTWIG.; M. FREHNER.; J. NÖSBERGER. & A. LÜSCHER. 2000. Evidence that P deficiency induces N feedback regulation of symbiotic N<sub>2</sub> fixation in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany* 51:1289-1297.
- AL-NIEMI, T.S.; M.L. KAHN. & T.R. Mc DERMOTT. 1997. P metabolism in the bean-Rhizobium tropici symbiosis. *Plant Physiol.* 113:1233-1242
- AMADEO, C.A. 2014. Fertilización de campo natural y praderas cultivadas. [http://www.elsitioagricola.com/articulos/amadeo/Fertilizacion de Campo Natural.asp](http://www.elsitioagricola.com/articulos/amadeo/Fertilizacion%20de%20Campo%20Natural.asp)
- AYALA, W. & R. BERMÚDEZ. 2004. Estrategias de fertilización para mejoramientos de *Lotus pedunculatus*. Seminario de Actualización Técnica: Fertilización Fosfatada de Pasturas en la Región Este. INIA, Uruguay: 89-95.
- BERARDO, A. 1999. La fertilización fosfatada y nitrogenada de las pasturas y sus efectos en distintos sistemas de producción. *Boletín EEA Balcarce. INTA*, 25 p.
- BERMÚDEZ, R.; M. CARÁMBULA. & W. AYALA. 1998. Estudio comparativo de diferentes fuentes y dosis de fósforo sobre el comportamiento productivo de un mejoramiento extensivo con Trébol blanco y Lotus. In: INIA Treinta y Tres. Jornada Anual de Producción Animal. Resultados experimentales 1997-1998. Treinta y Tres: INIA. p. 13-19 (Serie de Actividades de Difusión 172).
- BERMÚDEZ, R.; M. CARÁMBULA. & W. AYALA. 2000. Estudio comparativo de diferentes fuentes y dosis de fósforo sobre el comportamiento productivo de un mejoramiento extensivo con Trébol blanco y Lotus. In: Jornada Anual de Producción Animal. Resultados Experimentales. Unidad Experimental Palo a Pique. INIA Treinta y Tres. p.17-24. (Serie Actividades de Difusión 225).
- BERRETTA, E.J. 2003. Uruguay: Perfiles del recurso pastura-forraje. <http://www.producción-animal.com.ar>
- BIANCO, C.A. 2002. *Growth forms, taxonomy, distribution, and uses of Adesmia species (Leguminosae) in Central Argentina*. Stuttgart (Cramer J.): 156 pp.
- BIANCO, C. A. & T. A. KRAUS. 2005. Desarrollo y estructura de la semilla y el fruto de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. (Fabaceae). *Phyton*: 71-77.
- BIANCO, L. 2007. Patrón de nodulación y fijación biológica de nitrógeno en *Adesmia bicolor* (Poir.) DC (Fabaceae). Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. pp 40.

- BIANCO, L. 2014. Rhizobial infection in *Adesmia bicolor* (Fabaceae) roots. *Arch Microbiol.* DOI 10.1007/s00203-014-1004-0.
- BIANCO, L.; J. ANGELINI.; A. FABRA. & R. MALPASSI. 2012. Diversity and symbiotic effectiveness of indigenous rhizobia-nodulating *Adesmia bicolor* in soils of Central Argentina. *Current Microbiology* 66: 174–184.
- BREMNER, J.M. & C.S. MULVANEY. 1982. “Nitrogen-Total”. In: *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* 2° ed. PAGE, A.L.; R.H. MILLER & D.R. KEENEY (eds.). Madison, USA (American Society of Agronomy, Inc. & Soil Science Society of America, Inc. Publishers):595-624. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- BURKART, A. 1952. “Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas”. 2° ed. Buenos Aires, (ACM Agency):569 pp.
- CAMBRA LISCANO, A.J. 1987. Encalado, fertilización y refertilización en alfalfa (para 3 suelos del Dpto. de Canelones). Tesis de graduación. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo. 208 p.
- CAMPILLO, R. & S, RODRIGUEZ. 1984. Efecto acidificante de las transformaciones de la urea en dos Andisoles de la Región de los Lagos. *Agricultura Técnica (Chile)* 44 (2): 131-138.
- COLL, J. & A. ZARZA. 1992. *Leguminosas nativas promisorias: trébol polimorfo y babositas.* Montevideo, INIA.22:19 pp.
- DÍAZ LAGO, J.E.; J.GARCIA. & M. REBUFFO. 1996. Crecimiento de leguminosas en La Estanzuela. INIA Serie Técnica N° 71. 12p.
- DI RIENZO, J.; F.CASANOYES.; M. BALZARINI.; L. GONZALEZ.; M. TABLADA. & C. ROBLEDO. 2013. InfoStat, versión 2013. In: Grupo InfoStat, F. C. A. (UNC). Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DOBEREINER, J. 1997. “Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions”. *Soil Biol. Biochem.* 29(5,6):771-773.
- DODD, M.B. & S.J. ORR. 1995. Seasonal growth, phosphate response, and drought tolerance of 11 perennial legume species grown in a hill-country soil. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38:7-20.
- DUKE, S.H.; M.COLLINS. & R.M. SOBERALSKE.1980. Effects of potassium fertilization on nitrogen fixation and nodule enzymes of nitrogen metabolism in alfalfa. *CropScience* 20:213-219.
- DUKE, J. & R. POLHILL. 1981. *Seedlings of Leguminosae.* In: *Advances in Legume Systematics.* Royal Botanical Gardens. Kew, London. 941- 949 p.
- ECHEVERRIA, H. & H, SAINZ ROZAS. 2007. Nitrógeno. En: fertilidad de suelos y fertilización en cultivos. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina. pp. 69-97

- GUNN, C. R. 1981. Seeds of Leguminosae. In: Advances in Legume Systematics. Polhill, R. M. & P. H. Raven (Eds). 913-925 p. Advances in legume systematics. Part 1, Royal Botanic Gardens, Kew, 425p.
- HARDARSON, G.; S. BUNNING.; A. MONTANEZ.; R. ROY. & A. MACMILLAN. 2003. "The value of symbiotic nitrogen fixation by grain legumes in comparison to the cost of nitrogen fertilizer used in developing countries". *Maximising the use of biological nitrogen fixation in agriculture. Report of an FAO/IAEA Technical Expert Meeting held in Rome, 13-15 March 2001*:213-220.
- HØGH-JENSEN, H.; J.K. SCHJOERRING. & J.F. SOUSSANA. 2002. The influence of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of white clover plants. *Annals of Botany* 90:745-753.
- ISRAEL, D.W. 1987. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiology* 84:835-840.
- JENSEN, E.S. & N.H. HAUGGAARD. 2003. How can increased use of biological N<sub>2</sub> fixation in agriculture benefit the environment. *Plant and Soil* 252(1):177-186.
- KINZIG, A.P. & R.H. SOCOLOW. 1994. Human impacts on the nitrogen cycle. *Phys. Today* 47:24-31.
- KRAUS, T.A. & C.A. BIANCO. 2005. Desarrollo y estructura de la semilla y el fruto de *Adesmia bicolor* (Fabaceae). *Phyton*:71-77.
- LINDEMANN, W.C. & C.R GLOVER. 2003. "Nitrogen fixation by Legumes". *Cooperative Service. College of Agriculture and Home Economics. Guide A-129*:1-3.
- MARBÁN. L. & S. RATTO (eds). 2005. Tecnologías en análisis de suelos. Editorial Asociación Argentina de la Ciencia de suelo. Buenos Aires. Pp. 91-102
- MARTINEZ-VIERA, R. 1986. "Ciclo biológico del nitrógeno". La Habana (Ed. Científico Técnica):167 pp.
- MAYEA, S.; M. CARONE.; R. NOVO.; I. BOADO.; E. SILVEIRA.; M. SORIA.; Y. MORALES. & A. VALIÑO. 1998. *Microbiología Agropecuaria*. Tomo II. La Habana (Ed. Félix Varela):156-178.
- MIOTTO, S.T.S. & H.F. LEITÃO FILHO. 1993. Leguminosae-Faboideae - Gênero *Adesmia* DC. *Boletim do Instituto de Biociências*, n.52, p.1-157-
- MORÓN, A. 1997. Phosphorus requirements in legumes: Calibration of a rapid simple tissue test. In: Proceedings XVIII International Grassland Congress. Canadá. Session 10 *Soil Fertility*, 10-15.
- NELSON, D. & L. SOMMERS. 1982. Total Carbón, Organic Carbón, and Organic Matter. In *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Page, A.; Miller, R. & Keenedy, D. (eds). *Agronomy Monograph N°9*. American Society of

- Agronomy, Inc. Soil Science Society of America. Segunda edición. Wisconsin. USA. Pág. 539-537.
- OLIVARES PASCUAL, J. 2006. "Nitrogenasa. Enzima clave en la fijación. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico en vida libre". In *Fijación de nitrógeno: Fundamentos y aplicaciones*. Bedmar, E.J.; J. González; C. Llunch & B. Rodelas (eds.). Granada, España (SEFIN):29-35.
- OLIVERA, M.; N. TEJERA.; C. IRIBARNE.; A. OCAÑA. & C. LLUCH.2004. Growth, nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of phosphorus. *Physiol. Plant.* 121:498-505.
- PACYNA, S.; M. SCHULZ. & H.W. SCHERER. 2006. Influence of sulphur supply on glucose and ATP concentrations of inoculated broad beans (*Vicia faba minor* L.). *Biol. Fert. Soils* 42:324-329.
- PAHUARA HERNANDEZ, D. & D. ZÚÑIGA DÁVILA. 2001. Efecto del fósforo sobre la población microbiana en suelos con pasturas en la zona alto andina de Junín. *Ecología Aplicada* 1:1726-2216.
- PEOPLES, M.B.; D.F. HERRIDGE. & J.K. LADHA. 1995. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. *Plant Soil* 174:3-28.
- PERETTI, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. 273 p.
- PERTICARI, A. 2001. *Pasturas de alfalfa: importancia de una adecuada inoculación*. IMYZA-CICVyA- INTA Castelar:1-5.
- REYNO, R.; M. JAURENA.; D. REAL.; M. ZARZA.; R. MÉROLA.; A. VIANA.; M. DALLA RIZZA. & C.A. LABANDERA. 2006. Evaluación de Leguminosas forrajeras promisorias en la zona de areniscas. INIA Tacuarembó: 57-60.
- RIBET, J. & J.J. DREVON. 1995. Increase in permeability to oxygen and in oxygen uptake of soybean nodules under limiting phosphorus nutrition. *Physiol. Plant* 94:298-304.
- RISSO, D.F.; A. MORÓN.; E. CASTRO. 1985. Evaluación de mejoramientos extensivos en pasturas naturales en suelos sobre Cristalino. In: Seminario sobre Campo Natural,1, Cerro Largo, Uruguay, p. 17.
- RISSO, D.F. 1990. Pasturas implantadas. In: Seminario de la Producción Ovina, 3, Paysandú, Uruguay. SUL. p. 239-250.
- RISSO, D.F.; A. MORÓN. 1990. Evaluación de mejoramientos extensivos de pasturas naturales en suelos sobre Cristalino (1984-1990) (II). In: Seminario Nacional de Campo Natural, 2, Tacuarembó, Uruguay. Montevideo: Hemisferio Sur. p. 205-218.
- ROMHELD, V. & E. KIRKBY. 2010. Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant Soil* 335:155-180.

- RUSSELL, R.S. 1977. "Relationships between plant roots and the rhizosphere flora". In: *Plant roots systems: Their function and interaction with the soil*. London (McGraw-Hill Book Company):113-140.
- SÁNCHEZ-YÁÑEZ, J.M. 1997. "Inoculación de leguminosas con *Rhizobium*". [www.monografias.com](http://www.monografias.com):1-9.
- SCHEFFER-BASSO, S.M; M.C. Vendrusculo.; R.C. Benincá.; R. Lubenow. & D. Cecchetti. 2001a. "Comportamiento de Leguminosas (*Adesmia*, *Lotus*, *Trifolium*) em Mistura com Festuca". *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(6):2197-2203.
- SCHEFFER-BASSO, S.M.; M. VOSS. & A.V. ÁVILA JACQUES. 2001b. "Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em vasos de Leonard". *Revista Brasileira de Zootecnia* 30(3):687-693.
- SCHEFFER-BASSO, S.M.; A.V. ÁVILA JACQUES. & M. DALL'AGNOL. 2002. "Alocação da biomassa e correlações morfofisiológicas em leguminosas forrageiras com hábitos de crescimento contrastantes". *Revista de Scientia Agrícola* 59(4):629-634.
- SCHERER, H.W., S. PACYNA.; K. SPOTH. & M. SCHULZ. 2008. Low levels of ferredoxin, ATP and leghemoglobin contribute to limited N<sub>2</sub> fixation of peas (*Pisum sativum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) under S deficiency conditions. *Biol. Fert. Soils* 44:909-916.
- SCHULZE, J. 2006. Nitrogen fixation by white lupin under phosphorus deficiency. *Annals of Botany* 98:731-740.
- STEEL, R. & J.H. TORRIE.1988. *Bioestadística: principios y procedimientos*. 2º ed. Ed. McGraw-Hill, México. 622p.
- SULIEMAN, S.; HA, C.V.; SCHULZE, J. & L.S.P. TRAN. 2013. Growth and nodulation of symbiotic *Medicago truncatula* at different levels of phosphorus availability. *Journal of Experimental Botany* 64:2701-2712.
- VADEZ, V.; T.R. SINCLAIR. & R. SERRAJ.2000. Asparagine and ureide accumulation in nodules and shoots as feedback inhibitors of N<sub>2</sub> fixation in soybean. *Physiol. Plant.* 110:215-223.
- VANCE, C.P.; P.H. GRAHAM. & D.L. ALLAN. 2000. Biological nitrogen fixation: phosphorus Ba critical future need? In: PEDEROSA, F.O.; HUNGRIA, M.; YATES, M.G. & W.E. NEWTON (eds.) *Nitrogen fixation from molecules to crop productivity*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 509-518.
- VANCE, C.P. 2002. "Root-bacteria interactions: symbiotic N<sub>2</sub> fixation". In: *Plant roots. The hidden half*. 3º ed. Waisel, Y.; Eshel, A. & U. Kafkafi (eds.). New York (Marcel Dekker, Inc.):839-868.

- VARIN, S.; J.B. CLIQUE.; E. PERSONEN.; J.C. AVICE. & S. LEMAUVIEL-LAVENANT. 2010. How does sulphur availability modify N acquisition of white clover (*Trifolium repens* L.) *Journal of Experimental Botany* 61:225-234.
- VENECIANO, J.H.; C.A. FRASINELLI.; T.A. KRAUS. & C.A. BIANCO.2005. *Domesticación de especies forrajeras*. Córdoba ( Universidad Nacional de Río Cuarto):60 pp.
- VILETA, D.; L. BIANCO.; M. GROSSO. & R. MALPASSI. 2010. Biological nitrogen fixation by *Adesmia bicolor* and *A. macrostachya*, potential forage species for arid and semi-arid environments. *Interciencia* 35: 120-125.
- WEBERLING, F.; T. KRAUS.; C. BIANCO. & R. MALPASSI. 2002. Variación y estrategias adaptativas de los sistemas de ramificación de Fabáceas herbáceas. *Feddes Repertorium* 113(5-6):342-353.

## ANEXOS

**Tabla N° 1. A. Patrón de la curva para la determinación de P. B. Niveles de fósforo en cada una de las parcelas. C. Determinación de pH en cada una de las parcelas. D. Niveles de materia orgánica UNRC. 2015.**

**A)**

ppm	P
0,1	0,062
0,2	0,141
0,4	0,306
0,6	0,438
0,8	0,604
1	0,871

**B)**

SUBPARCELA	PROFUNDIDAD (cm)	P	ppm
1	0-20	0,04	4,5
2	0-20	0,091	10,2
3	0-20	0,077	8,69
4	0-20	0,08	9,03

ppm de P en la disolución x 70 = ppm de P en la muestra.

0,1 ppm                       $\longrightarrow$  0,062 P                       $0,00645\text{ppm} \times 70 = 4,5 \text{ ppm}$

0,00645 ppm                 $\longleftarrow$  0,04 P

**C)**

PARCELA	PROFUNDIDAD (cm)	pH
1	0-20	6,92
2	0-20	7,22
3	0-20	7,34
4	0-20	7,5

**D)**

SUBPARCELA	PROFUNDIDAD (cm)	M.O (%)
1	0-20	4.08
2	0-20	3,24
3	0-20	3,33
4	0-20	2,88

**Tabla N°2: Pesos secos aéreos y subterráneos por tratamientos en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.**

TRATAMIENTO	FECHA	ESTADO	BIOMASA AEREO (gs)	BIOMASA SUBTERRÁNEA (gs)
III	20/03/2015	vegetativo	5,51	6,5
I	20/03/2015	vegetativo	2,53	2,1
II	20/03/2015	vegetativo	3,21	2,74
II	20/03/2015	vegetativo	3,15	3,75
III	20/03/2015	vegetativo	2,97	3,02
I	20/03/2015	vegetativo	1,98	2,06
II	20/03/2015	vegetativo	4,01	3,09
I	20/03/2015	vegetativo	2,34	1,98
III	20/03/2015	vegetativo	2,86	3,07
III	21/05/2015	vegetativo	3,81	3,98
I	21/05/2015	vegetativo	2,15	2,58
II	21/05/2015	vegetativo	4,74	3,06
II	21/05/2015	vegetativo	3,98	3,54
III	21/05/2015	vegetativo	2,98	3,01
I	21/05/2015	vegetativo	2,56	1,98
II	21/05/2015	vegetativo	4,32	3,98
I	21/05/2015	vegetativo	1,41	1,98
III	21/05/2015	vegetativo	3,12	2,98
III	28/07/2015	vegetativo	4,44	3,71
I	28/07/2015	vegetativo	2,36	2,27
II	28/07/2015	vegetativo	5,37	4,5
II	28/07/2015	vegetativo	3,45	3,52
III	28/07/2015	vegetativo	2,88	3,71
I	28/07/2015	vegetativo	2,15	2,5
II	28/07/2015	vegetativo	4,89	3,98
I	28/07/2015	vegetativo	2,56	1,59
III	28/07/2015	vegetativo	2,99	3,74
III	30/09/2015	vegetativo	6,22	4,87
I	30/09/2015	vegetativo	3,84	3,4
II	30/09/2015	vegetativo	10,66	10,74
II	30/09/2015	vegetativo	8,78	6,8
III	30/09/2015	vegetativo	5,7	5,5
I	30/09/2015	vegetativo	3,95	3,5
II	30/09/2015	vegetativo	7,43	5,03
I	30/09/2015	vegetativo	3,19	3,2
III	30/09/2015	vegetativo	4,85	4,18
III	25/11/2015	floración	5,71	5,56
I	25/11/2015	floración	4,01	3,67
II	25/11/2015	floración	8,02	6,89
II	25/11/2015	floración	7,36	6,31
III	25/11/2015	floración	5,82	5,66
I	25/11/2015	floración	4,25	4,69

II	25/11/2015	floración	6,87	6,15
I	25/11/2015	floración	3,83	3,95
III	25/11/2015	floración	5,2	5,93
III	07/01/2016	fructificación	5,43	5,72
I	07/01/2016	fructificación	4,08	3,98
II	07/01/2016	fructificación	7,75	6,48
II	07/01/2016	fructificación	7,16	6,27
III	07/01/2016	fructificación	5,36	5,7
I	07/01/2016	fructificación	4,66	3,98
II	07/01/2016	fructificación	7,12	6,33
I	07/01/2016	fructificación	4,1	4,26
III	07/01/2016	fructificación	5,98	6,01

**Tabla N° 3: Biomasa total, % de proteína bruta y % de N por tratamiento en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.**

TRATAMIENTO	FECHA	MS TOTAL (gs)	%PB	% N
III	20/03/2015	12,01	17,36	2,78
I	20/03/2015	4,63	16,28	2,60
II	20/03/2015	5,95	17,55	2,81
II	20/03/2015	6,9	17,47	2,80
III	20/03/2015	5,99	16,90	2,70
I	20/03/2015	4,04	17,31	2,77
II	20/03/2015	7,1	12,25	1,96
I	20/03/2015	4,32	16,19	2,59
III	20/03/2015	5,93	16,48	2,64
III	21/05/2015	7,79	21,98	3,52
I	21/05/2015	4,73	19,29	3,09
II	21/05/2015	7,8	19,21	3,07
II	21/05/2015	7,52	18,44	2,95
III	21/05/2015	5,99	19,08	3,05
I	21/05/2015	4,54	19,2	3,07
II	21/05/2015	8,3	18,77	3,00
I	21/05/2015	3,39	18,41	2,95
III	21/05/2015	6,1	19,36	3,10
III	28/07/2015	8,15	17,69	2,83
I	28/07/2015	5,13	14,13	2,26
II	28/07/2015	9,87	19,96	3,19
II	28/07/2015	6,97	19,41	3,11
III	28/07/2015	6,59	17,9	2,86
I	28/07/2015	4,65	17,15	2,74
II	28/07/2015	8,87	19,36	3,10
I	28/07/2015	4,15	19,58	3,13
III	28/07/2015	6,73	18,13	2,90

III	30/09/2015	11,09	17,85	2,86
I	30/09/2015	7,24	19,23	3,08
II	30/09/2015	21,4	17,29	2,77
II	30/09/2015	15,58	15,72	2,52
III	30/09/2015	11,2	18,17	2,91
I	30/09/2015	7,45	19,26	3,08
II	30/09/2015	12,46	19,88	3,18
I	30/09/2015	6,39	20,18	3,23
III	30/09/2015	9,03	17,65	2,82
III	25/11/2015	11,27	14,92	2,39
I	25/11/2015	7,68	14,24	2,28
II	25/11/2015	14,91	16,6	2,66
II	25/11/2015	13,67	15,99	2,56
III	25/11/2015	11,48	13,87	2,22
I	25/11/2015	8,94	13,59	2,17
II	25/11/2015	13,02	14,7	2,35
I	25/11/2015	7,78	16,25	2,60
III	25/11/2015	11,13	18,13	2,90
III	07/01/2016	11,15	12,6	2,02
I	07/01/2016	8,06	14,2	2,27
II	07/01/2016	14,23	13,13	2,10
II	07/01/2016	13,43	12,99	2,08
III	07/01/2016	11,06	11,5	1,84
I	07/01/2016	8,64	15,82	2,53
II	07/01/2016	13,45	15,03	2,40
I	07/01/2016	8,36	14,4	2,30
III	07/01/2016	11,99	12,45	1,99

**Tabla N° 4:** Porcentaje de proteína bruta promedio, por tratamiento en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.

	20/03/2015	21/05/2015	28/07/2015	30/09/2015	25/11/2015	07/01/2016
TRATAMIENTO I	16,59	18,97	16,95	19,56	14,69	14,81
TRATAMIENTO II	15,76	15,93	19,58	17,63	15,76	13,72
TRATAMIENTO III	16,91	20,14	17,91	17,89	15,64	12,20

**Tabla N° 5:** Biomasa total (kg/ha) promedio, por tratamiento en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.

	20/03/2015	21/05/2015	28/07/2015	30/09/2015	25/11/2015	07/01/2016
TRATAMIENTO I	692,8	675,2	742,9	1124,3	1301	1336,5
TRATAMIENTO II	1064	1259,7	1371,2	2636,8	2218,7	2187,7
TRATAMIENTO III	1276,3	1060,3	1145	1670,4	1806,9	1824

**Tabla N° 6: Biomasa aérea (kg/ha) promedio, por tratamiento en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.**

	20/03/2015	21/05/2015	28/07/2015	30/09/2015	25/11/2015	07/01/2016
TRATAMIENTO I	365,3	326,4	377,1	585,6	644,8	684,8
TRATAMIENTO II	553,07	695,5	731,2	1433,1	1186,7	1174,9
TRATAMIENTO III	604,8	528,5	549,9	894,4	892,3	894,4

**Tabla N° 7: Biomasa subterránea (kg/ha) promedio, por tratamiento en las diversas fechas de muestreos. UNRC. 2015/16.**

	20/03/2015	21/05/2015	28/07/2015	30/09/2015	25/11/2015	07/01/2016
TRATAMIENTO I	327,5	353,1	339,2	538,7	656,5	651,7
TRATAMIENTO II	510,9	564,3	640	1203,7	1032,0	1017,6
TRATAMIENTO III	671,5	531,7	595,2	776	914,7	929,6

**Tabla N° 8 Tabla N° 8. Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 20/03/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.**

**A)**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,45	0,26	32,52

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	20,44	2	10,22	2,42	0,1695
TRATAMIENTO	20,44	2	10,22	2,42	0,1695
Error	25,33	6	4,22		
Total	45,77	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,10523**

Error: 4,2221 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
I	4,33	3	1,19 A
II	6,65	3	1,19 A
III	7,98	3	1,19 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,10	0,00	11,01

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,14	2	1,07	0,33	0,7329
TRATAMIENTO	2,14	2	1,07	0,33	0,7329
Error	19,61	6	3,27		
Total	21,75	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,61192**

*Error: 3,2684 gl: 6*

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
II	15,76	3	1,04	A
I	16,59	3	1,04	A
III	16,91	3	1,04	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,42	0,23	29,09

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,72	2	1,86	2,18	0,1938
TRATAMIENTO	3,72	2	1,86	2,18	0,1938
Error	5,11	6	0,85		
Total	8,83	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,84423**

*Error: 0,8521 gl: 6*

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	2,28	3	0,53	A
II	3,46	3	0,53	A
III	3,78	3	0,53	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,45	0,27	37,82

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,94	2	3,47	2,45	0,1665
TRATAMIENTO	6,94	2	3,47	2,45	0,1665
Error	8,49	6	1,42		
Total	15,44	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,37696**

*Error: 1,4155 gl: 6*

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	2,05	3	0,69	A
II	3,19	3	0,69	A
III	4,20	3	0,69	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

**Tabla N° 9: Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 21/05/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.**

**A)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,86	0,81	12,06

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
------	----	----	----	---	---------

Modelo.	20,69	2	10,35	18,26	0,0028
TRATAMIENTO	20,69	2	10,35	18,26	0,0028
Error	3,40	6	0,57		
Total	24,09	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,50390**

Error: 0,5666 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.		
I	4,22	3	0,43	A
III	6,63	3	0,43	B
II	7,87	3	0,43	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,35	0,13	5,13

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,18	2	1,59	1,62	0,2736
TRATAMIENTO	3,18	2	1,59	1,62	0,2736
Error	5,88	6	0,98		
Total	9,07	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,97864**

Error: 0,9808 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.		
II	18,81	3	0,57	A
I	18,97	3	0,57	A
III	20,14	3	0,57	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,85	0,81	14,76

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,01	2	4,00	17,61	0,0031
TRATAMIENTO	8,01	2	4,00	17,61	0,0031
Error	1,36	6	0,23		
Total	9,37	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,95263**

Error: 0,2274 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.		
I	2,04	3	0,28	A
III	3,30	3	0,28	B
II	4,35	3	0,28	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,71	0,61	15,53

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,16	2	1,58	7,24	0,0252

TRATAMIENTO	3,16	2	1,58	7,24	0,0252
Error	1,31	6	0,22		
Total	4,47	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,93380**

Error: 0,2185 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	2,18	3	0,27	A
III	3,32	3	0,27	B
II	3,53	3	0,27	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N° 10: Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 28/07/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.**

**A)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,79	0,72	15,10

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	23,73	2	11,87	11,28	0,0093
TRATAMIENTO	23,73	2	11,87	11,28	0,0093
Error	6,31	6	1,05		
Total	30,04	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,04888**

Error: 1,0517 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	4,64	3	0,59	A
III	7,16	3	0,59	B
II	8,57	3	0,59	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,41	0,21	8,78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,58	2	5,29	2,08	0,2054
TRATAMIENTO	10,58	2	5,29	2,08	0,2054
Error	15,23	6	2,54		
Total	25,81	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,18285**

Error: 2,5380 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	16,95	3	0,92	A
III	17,91	3	0,92	A
II	19,58	3	0,92	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,67	0,56	22,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7,35	2	3,67	6,13	0,0355
TRATAMIENTO	7,35	2	3,67	6,13	0,0355
Error	3,60	6	0,60		
Total	10,95	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,54690**

Error: 0,5995 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
I	2,36	3 0,45 A
III	3,44	3 0,45 A B
II	4,57	3 0,45 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,87	0,83	12,00

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,17	2	3,09	19,93	0,0022
TRATAMIENTO	6,17	2	3,09	19,93	0,0022
Error	0,93	6	0,15		
Total	7,10	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,78623**

Error: 0,1549 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
I	2,12	3 0,23 A
III	3,72	3 0,23 B
II	4,00	3 0,23 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**Tabla N° 11: Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 30/09/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.****A)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,75	0,67	24,15

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	137,50	2	68,75	9,21	0,0148
TRATAMIENTO	137,50	2	68,75	9,21	0,0148
Error	44,80	6	7,47		
Total	182,29	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=5,45899**

Error: 7,4658 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
I	7,03	3 1,58 A
III	10,44	3 1,58 A
II	16,48	3 1,58 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,41	0,21	6,87

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,56	2	3,28	2,06	0,2083
TRATAMIENTO	6,56	2	3,28	2,06	0,2083
Error	9,55	6	1,59		
Total	16,10	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,52018**

Error: 1,5912 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
II	17,63	3 0,73 A
III	17,89	3 0,73 A
I	19,56	3 0,73 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,87	0,82	17,23

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	43,11	2	21,56	19,72	0,0023
TRATAMIENTO	43,11	2	21,56	19,72	0,0023
Error	6,56	6	1,09		
Total	49,67	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,08862**

Error: 1,0929 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
I	3,66	3 0,60 A
III	5,59	3 0,60 A
II	8,96	3 0,60 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,60	0,46	33,02

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	26,62	2	13,31	4,44	0,0657
TRATAMIENTO	26,62	2	13,31	4,44	0,0657
Error	18,01	6	3,00		
Total	44,63	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,46097**

Error: 3,0009 gl: 6

TRATAMIENTO Medias	n	E.E.
I	3,37	3 1,00 A
III	4,85	3 1,00 A B
II	7,52	3 1,00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N° 12: Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 25/11/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.**

**A)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,94	0,93	6,25

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	49,48	2	24,74	51,41	0,0002
TRATAMIENTO	49,48	2	24,74	51,41	0,0002
Error	2,89	6	0,48		
Total	52,37	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,38591**

Error: 0,4812 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	8,13	3	0,40	A
III	11,29	3	0,40	B
II	13,87	3	0,40	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,12	0,00	10,49

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,06	2	1,03	0,40	0,6894
TRATAMIENTO	2,06	2	1,03	0,40	0,6894
Error	15,58	6	2,60		
Total	17,64	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,21939**

Error: 2,5966 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	14,69	3	0,93	A
III	15,64	3	0,93	A
II	15,76	3	0,93	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,95	0,93	7,10

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	17,25	2	8,62	53,14	0,0002
TRATAMIENTO	17,25	2	8,62	53,14	0,0002
Error	0,97	6	0,16		
Total	18,22	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,80485**

Error: 0,1623 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	4,03	3	0,23	A
III	5,58	3	0,23	B
II	7,42	3	0,23	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,90	0,87	7,27

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,65	2	4,32	27,84	0,0009
TRATAMIENTO	8,65	2	4,32	27,84	0,0009
Error	0,93	6	0,16		
Total	9,58	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,78739**

Error: 0,1553 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	4,10	3	0,23	A
III	5,72	3	0,23	B
II	6,45	3	0,23	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N° 13: Análisis estadísticos correspondientes a la fecha de muestreo del 07/01/2015. A. Biomasa total. B. Proteína bruta. C. Biomasa aérea. D. Biomasa subterránea. UNRC. 2015.**

**A)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MS TOTAL	9	0,97	0,97	3,86

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	43,21	2	21,61	116,71	<0,0001
TRATAMIENTO	43,21	2	21,61	116,71	<0,0001
Error	1,11	6	0,19		
Total	44,32	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,85961**

Error: 0,1851 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
I	8,35	3	0,25	A
III	11,40	3	0,25	B
II	13,70	3	0,25	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**B)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
%PB	9	0,68	0,58	6,64

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,42	2	5,21	6,42	0,0323
TRATAMIENTO	10,42	2	5,21	6,42	0,0323

Error	4,87	6	0,81
Total	15,29	8	

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,79977**

Error: 0,8115 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
III	12,18	3	0,52	A	
II	13,72	3	0,52	A	B
I	14,81	3	0,52		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**C)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO AEREO	9	0,95	0,94	5,94

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	14,17	2	7,09	61,07	0,0001
TRATAMIENTO	14,17	2	7,09	61,07	0,0001
Error	0,70	6	0,12		
Total	14,87	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,68059**

Error: 0,1160 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
I	4,28	3	0,20	A	
III	5,59	3	0,20		B
II	7,34	3	0,20		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**D)**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PESO SECO RADICULAR	9	0,98	0,98	2,78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,55	2	4,27	188,73	<0,0001
TRATAMIENTO	8,55	2	4,27	188,73	<0,0001
Error	0,14	6	0,02		
Total	8,68	8			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,30064**

Error: 0,0226 gl: 6

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
I	4,07	3	0,09	A	
III	5,81	3	0,09		B
II	6,36	3	0,09		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )