

# Calidad de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) en estado vegetativo en relación con la edad y longitud de las hojas

DI MARCO, O.N.<sup>1</sup>; HARKES, H.<sup>2</sup>; AGNUSDEI, M.G.<sup>3</sup>

## RESUMEN

Se estudió el efecto de la edad y largo foliar en la calidad de láminas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* cv. Hulk) en un rebrote otoñal de dos alturas. El ensayo se realizó en invernáculo ( $17 \pm 4$  °C) en un diseño BCA (n=3) de 160 macetas por bloque. Se estudiaron láminas de 3 generaciones sucesivas de hojas en 6 estados ontogénicos (de crecimiento hasta senescencia avanzada). Las láminas se obtuvieron de ~200 macollos vegetativos/cosecha, muestreados a lo largo de 52 días de rebrote, con una frecuencia de 80 GDC (grados día de crecimiento:  $\sum t_{1/2}$  - 4,5 °C). Se midió la vida media foliar (VMF), el intervalo de aparición (IAH), largo de lámina y vaina, contenido de FDN y digestibilidad *in vitro* de la FDN (DFDN). Se realizaron ajustes lineales entre variables de calidad con edad y largo de hoja y se compararon pendientes y ordenadas al origen (PROC REG de SAS). El resto de las variables se analizaron según BCA con arreglo factorial (2 alturas x 3 generaciones de hoja) utilizando el procedimiento GLM de SAS. Las medias se compararon por el test de Tukey al 5%. La pastura de menor altura (241,8 vs 458,4 mm) tuvo mayor VMF (453,6 vs 337,8 GDC), similar contenido de FDN (52,3%) y mayor DFDN (~10%). En ambas pasturas la DFDN disminuyó linealmente con la edad y el largo foliar, pero la FDN no fue afectada durante la VMF. Se concluye que durante el rebrote la DFDN disminuye con la edad y el aumento del largo foliar entre hojas sucesivas y que la reducción de la altura de la pastura retrasa la senescencia (>VMF), aumenta el número de hojas vivas por macollo y la calidad de las láminas.

**Palabras claves:** crecimiento, FDN, digestibilidad de la FDN, edad, largo foliar.

## ABSTRACT

The effect of leaf age and length on leaf blade quality was studied in wheatgrass leaf blades leaves (*Thinopyrum ponticum* cv. Hulk) from swards of two heights. Swards were grown in plots in a greenhouse ( $17 \pm 4$  °C) in a randomized block design (n=3) of 160 plots/block. Leaves in 6 ontogenic stages from 3 consecutive leaf generations (from early growth to advanced senescence) were obtained from vegetative tillers (~200/harvest) harvested along 52 days of regrowth, with a frequency 80 GDD (growing degree days:  $\sum t_{1/2}$  - 4,5 °C). The leaf lifespan (LLS), leaf appearance interval (LAI), leaf and sheath lengths, NDF content and NDF digestibility (NDFD) were measured. The relationships among quality and morphogenic parameters were studied by linear regression and data analyzed as a complete randomized block design with factorial arrangement (2 heights x 3 leaf generations) and means compared by Tukey test (5%). The shorter leaf sward (241.8 vs 458.4 mm) had longer LLS (453.6 vs 337.8 GGD), similar NDF content and higher NDFD (~10%). In both swards the NDFD

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Correo electrónico: ondimarco@balcarce.inta.gov.ar

<sup>2</sup>Maestría en Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Balcarce.

decreased linearly with leaf age and length, but NDF remained unchanged during the LLS. It is concluded that the NDFD declines with leaf age and length during regrowth, however shorter sward height delays senescence (>LLS), increases tiller leaving leaf number and improves leaf blade quality.

**Keywords:** growth, NDF content, NDF digestibility, leaf age, leaf length.

## INTRODUCCIÓN

El agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) es una graminéa forrajera templada perenne de gran importancia en la ganadería argentina por su adaptabilidad a suelos con severas limitantes edáficas (Mazzanti *et al.*, 1992). Es una especie de hojas rústicas que, si no es correctamente manejada, progresa a estructuras de matas altas de bajo valor forrajero. Sin embargo tiene alta calidad en estado vegetativo (Aello *et al.*, 1981; Di Marco *et al.*, 1982; Garcíarena *et al.*, 1984; Gándara y Gómez, 1987).

Trabajos previos mostraron que la calidad de las graminéas forrajeras no solamente disminuye con el avance del estado fenológico, sino también con la acumulación de biomasa de hojas en estado vegetativo (Agnusdei *et al.*, 2009 y Ávila *et al.*, 2009). Esto se debe a que las pasturas aún en estado vegetativo acumulan biomasa progresivamente en ciclos sucesivos de crecimiento, en los cuales las hojas atraviesan por fases sucesivas de crecimiento, madurez y senescencia (Chapman y Lemaire, 1993; Lemaire y Chapman, 1996; Lemaire y Agnusdei, 2000). De esta forma, a medida que progresa el tiempo de rebrote, se van acumulando hojas en estados ontogénicos avanzados que van aumentando progresivamente de longitud. El presente trabajo se llevó a cabo para estudiar la dinámica de la calidad de las láminas de agropiro durante el rebrote, en relación con la edad y con el incremento de longitud de hojas sucesivas en dos estructuras cespitosas estabilizadas en diferente altura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en un invernáculo con cubierta de plástico de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Balcarce (sudeste bonaerense, 37° 45' S; 58° 18' W). La pastura de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum* cv. Hulk) se sembró el 3 de julio de 2008 con una densidad de 430 semillas/m<sup>2</sup>. Se usaron macetas de plástico (20 x 40 cm) rellenas con tierra negra (horizonte A de un suelo Argiudol típico, Serie Mar del Plata) agrupadas en tres bloques completos al azar de 160 macetas por bloque. El ensayo se condujo sin limitantes de agua ni de N y P (aplicación de urea y fosfato di amónico a razón de 400 kg ha<sup>-1</sup> y 60 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) para simular un ambiente no restrictivo para el crecimiento. La temperatura promedio durante el ensayo fue de 17 ± 4 °C. El tiempo se

expresó en GDC (grados día de crecimiento:  $\sum t_{1/2} - 4,5$  °C). Las plantas crecieron hasta el 12 de noviembre de 2008 cuando se sometieron a dos regímenes de defoliación que duraron hasta el 02 de marzo de 2009. En la mitad de las macetas se aplicó corte severo y en la otra mitad corte leve, para conformar dos tratamientos, que fueron dos estructuras de pasturas de alturas baja (B) y alta (A). El corte severo fue a 5 cm del suelo con una frecuencia de 132 GDC, que representa un período equivalente a la mitad de la Vida Media Foliar (VMF). El corte leve fue a la altura de la vaina de la última hoja expandida (~15 cm del suelo) con una frecuencia de (396°GDC), que representa el período completo de VMF.

Posteriormente, se realizaron 8 cosechas (~200 macollos vegetativos) durante 52 días (02/03/09 - 29/05/09) con una frecuencia de 80 GDC. Se cosecharon macollos de tres generaciones sucesivas de rebrote (G1, G2 y G3); cada cosecha fue sobre 10 macetas/bloque/tratamiento, que no se volvieron a utilizar. De los macollos se separaron las hojas y, de éstas, las láminas y vainas. A su vez, las láminas se separaron en 6 categorías de edad: en crecimiento, recién expandidas o con lígula visible, madura, al final de la VMF y lámina senescente, con menos (S<30) o más de 30% (S>30) de fracción seca. De estas dos últimas solamente las determinaciones se realizaron en la fracción verde.

Se registró la VMF y el intervalo de aparición de hojas (IAH) con una frecuencia de tres veces por semana (5 macollos marcados/repeticón). La VMF se midió como los GDC acumulados transcurridos entre la aparición de la lámina visible y el comienzo de la senescencia.

La longitud de las láminas y vainas se midió por separado. Las láminas se liofilizaron y molieron con un molino tipo Ciclotec con malla de 1 mm para determinar el contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN, Van Soest *et al.*, 1991) y la digestibilidad de la FDN (DFDN) por incubación *in vitro* de 250 mg de muestra a 24 h de incubación en el equipo Daisy<sup>®</sup>.

Se ajustaron funciones lineales entre variables de calidad con la edad (GDC) y largo de hoja y se compararon pendientes y ordenadas al origen (PROC REG de SAS). El resto de los datos se analizaron según BCA con arreglo factorial (2 alturas x 3 generaciones de hoja) utilizando el procedimiento GLM de SAS. Las medias se compararon por el test de Tukey (p<0,05).

**RESULTADOS**

La pastura B tuvo una altura 50% inferior que la A, mayor VMF y número de hojas vivas, pero no se diferenció en el resto de los parámetros morfogenéticos en estudio (tabla 1).

En la pastura A no hubo diferencias en longitud foliar entre generaciones de hojas, en cambio, en la B el largo de lámina adulta aumentó significativamente desde la primera a la tercera generación de hojas sucesivas (135,3 mm, 196,8 y 256,7 mm, respectivamente). En ambas estructuras el largo de lámina estuvo altamente asociado ( $y = 3,20x + 20,60$ ;  $R^2 = 0,80$ ) al largo de vaina.

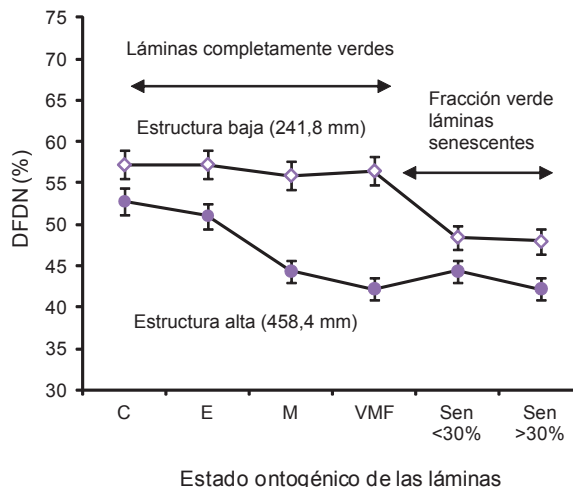
Parámetros	Estructura		ES	P
	Baja	Alta		
Altura pastura (mm)	241,8	458,4	10,1	*
Largo hoja expandida (mm)	249,0	503,3	11,2	*
Largo lámina expandida (mm)	196,3	394,5	9,2	*
Período elongación foliar (GDC)	233	200	12,1	NS
Vida media foliar (GDC)	453,6	337,8	31,2	*
Intervalo aparición hojas (GDC)	243,9	208,3	11,1	NS
Numero hojas vivas por macollo	1,9	1,6	0,1	*

**Tabla 1.** Características morfogenéticas y estructurales de un rebrote otoñal de pasturas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) de diferente altura.

El contenido de FDN se mantuvo sin cambios con la edad, o estado ontogénico, en un promedio de 52% (SE:1.6) en ambas estructuras, sin interacción entre los factores altura de la pastura y generación del rebrote. Sin embargo, la FDN aumentó un 12% ( $y = 0,01x + 47,8$ ;  $R^2 = 0,74$ ) con el largo de hoja (lámina + vaina).

La DFDN promedio del conjunto de hojas de las tres generaciones sucesivas del rebrote fue mayor en la pastura B (fig. 1), en la cual se mantuvo constante durante la VMF de las láminas en un promedio de ~57% y disminuyó a ~48% en la fracción verde de las hojas en senescencia. En cambio, en la pastura A la DFDN fue de ~52% durante la elongación de la hoja (hasta aparición de lígula) y posteriormente disminuyó a un promedio de ~42% en la hoja madura, permaneciendo en este nivel en la fracción verde de la hoja en senescencia.

En las láminas individuales el efecto de la edad en la DFDN (fig. 2) mostró interacción entre los factores altura



**Figura 1.** Digestibilidad de la FDN (DFDN) de láminas de pasturas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) de diferente altura.  $\diamond$ : baja  $\bullet$ : alta. Cada punto representa el promedio ( $\pm$  ds) de tres generaciones consecutivas de hoja en el mismo estado ontogénico (C: en crecimiento, E: recién expandida, M: madura, fin de VMF y S<30% y S>30%: fracción verde de lámina senescente con menos o más de 30% de senescencia, respectivamente).

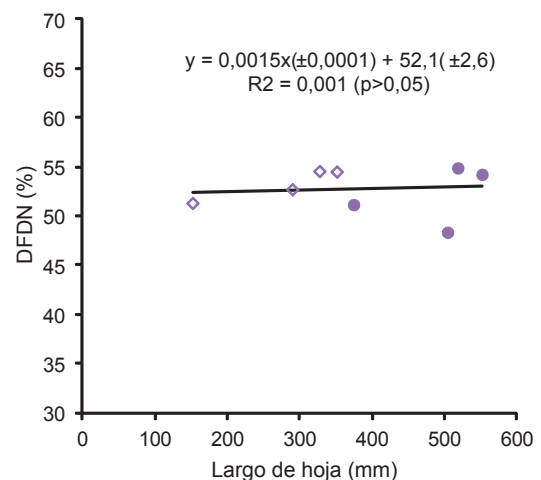
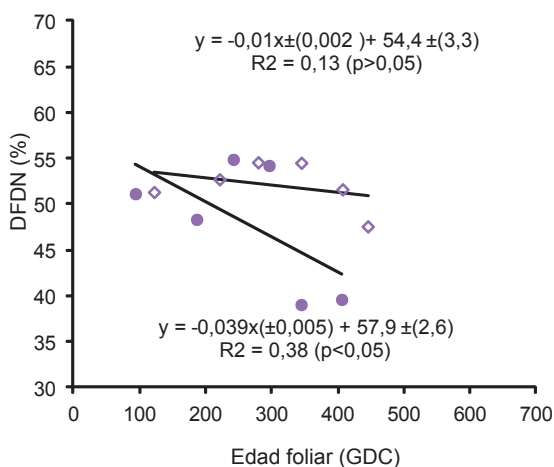
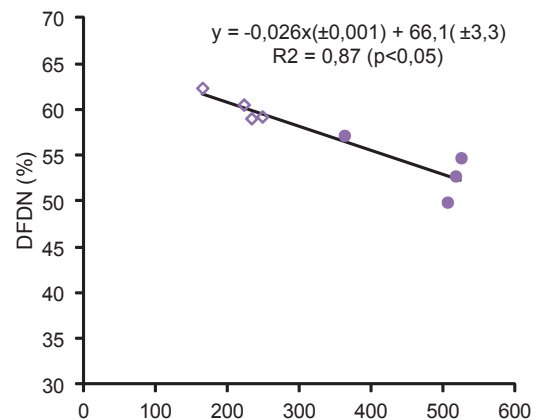
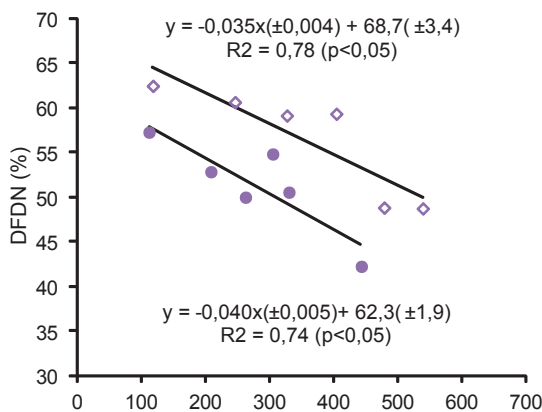
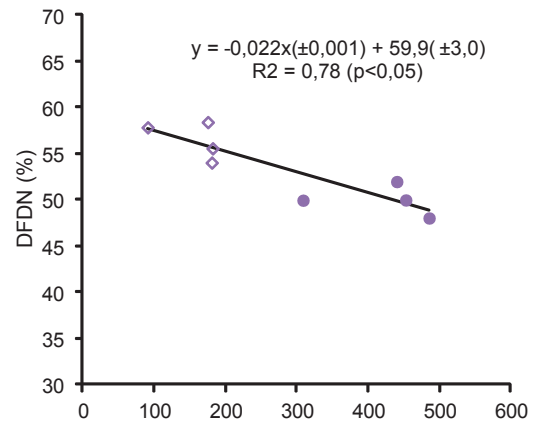
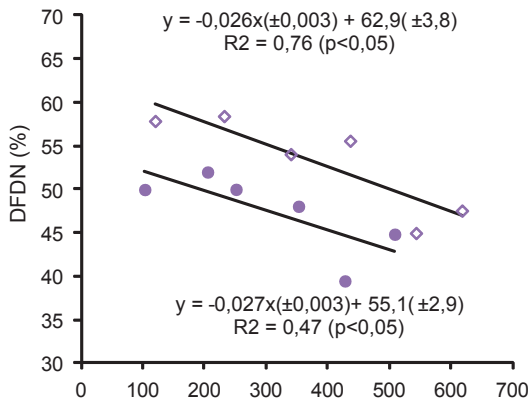
y generación de hojas. En G1 y G2 la DFDN disminuyó linealmente con el avance de los estados ontogénicos. La pendiente fue similar entre alturas de pastura, pero el intercepto fue un ~12% mayor en B que en A (65,8% vs 58,7%), indicando que las láminas de menor longitud emergieron con mayor DFDN que las más largas. En cambio en G3 la DFDN, que fue más baja que en las dos primeras generaciones (50-55%), hubo interacción con la edad. En B se mantuvo constante (54,4%) y en A disminuyó.

La DFDN disminuyó 0,024 unidades porcentuales/mm en G1 y G2 con el incremento del largo foliar, pero no mostró cambios en G3 que presentó el valor más bajo (52,1%). Según las ecuaciones mostradas para G1 y G2 (fig. 2), la DFDN promedio disminuiría de ~60% a ~50% con un aumento de longitud entre 100 a 500 mm.

**DISCUSIÓN**

El agropiro alargado es una especie muy difundida en suelos con severas limitantes edáficas de nuestro país que disminuye drásticamente su calidad con la acumulación de biomasa (Aello *et al.*, 1981; Di Marco *et al.*, 1982; Garciaarena *et al.*, 1984; Gándara y Gómez, 1987). No obstante, bajo las condiciones de este experimento, mostró plasticidad fenotípica como ha sido señalado por Nelson y Moser (1994) en otras gramíneas. Es decir, modificó parámetros morfogenéticos y de calidad forrajera como respuesta al régimen de defoliación mecánica aplicado.

En primer lugar, la altura de la pastura disminuyó 50% con el corte a 5 cm del suelo y una frecuencia de  $\frac{1}{2}$  VMF. Ello es debido a que el corte bajo reduce la longitud de la



**Figura 2.** Digestibilidad de la FDN (DFDN) de láminas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) con relación a la edad de la hoja.  $\diamond$ : estructura baja;  $\bullet$ : estructura alta. G1, G2 y G3: Generaciones consecutivas de hoja de un rebrote otoñal desde inicio del crecimiento hasta senescencia avanzada.

**Figura 3.** Digestibilidad de la FDN (DFDN) de láminas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) con relación al largo de hoja.  $\diamond$ : estructura baja;  $\bullet$ : estructura alta. G1, G2 y G3: Generaciones consecutivas de hojas de un rebrote otoñal desde inicio del crecimiento hasta senescencia avanzada.

vaina y consecuentemente el tamaño de la zona de crecimiento dentro de la misma (Arredondo y Schnyder, 2003), lo que determina que las hojas sucesivas sean de menor

longitud (Wilson y Laidlaw, 1985 y Duru y Ducrocq, 2002). Esta respuesta fotomorfogénica explica la asociación entre largo de vaina y lámina previamente descrita en resul-

tados, la cual ha sido destacada previamente por Wilson (1976); Groot; Neuteboom (1997) y Duru; Ducroq (2000).

En segundo lugar, aumentó el ciclo de vida de las hojas (VMF) un 30%, lo cual muestra que el momento del comienzo de la senescencia no es estático. Este efecto no ha sido reportado en la bibliografía, en la cual está aceptado que la VMF expresada en tiempo térmico es relativamente constante bajo un amplio rango de condiciones ambientales y de manejo (Lemaire y Chapman, 1996). Los resultados aquí mostrados indican que la senescencia se adelanta en pasturas de estructura alta y se atrasa en la baja, lo cual puede estar asociado al grado de sombreado de las hojas del estrato inferior y/o a la calidad de la iluminación, que cambia la relación rojo/rojo lejano de la luz (Deregibus *et al.*, 1983).

En tercer lugar, la disminución de la altura de la pastura ocasionó un aumento del número de hojas vivas. Esto es esperable ya que aumentó la VMF y el número de hojas vivas por macollo está determinado por el cociente entre la VMF y el intervalo de aparición de hojas (Lemaire y Chapman, 1996). También podría esperarse, si bien no se midió en este experimento, un aumento del número de macollos en la estructura baja, ya que la disminución su peso (hojas más pequeñas) es compensado por un aumento de su número (Davies, 1988; Lemaire y Chapman, 1996).

Finalmente la altura de la pastura afectó la calidad de las láminas por medio de su incidencia en la DFDN, ya que el contenido de FDN se mantuvo relativamente estable en ambas estructuras de pasturas en un promedio de 52% (SE:1.6), independientemente del estado ontogénico. Esto es esperable debido a que la acumulación de pared celular (FDN) ocurre en la zona de maduración dentro de la vaina cuando la lámina aún no es visible (MacAdam y Nelson, 1987; Nelson, 1992). No obstante, el largo foliar tuvo un efecto de moderada importancia práctica, ya que según la ecuación previamente mostrada en resultados, la FDN aumentaría de 48,8% a 53,8% para un rango de longitud hoja entre 100 a 600 mm. Los resultados concuerdan con trabajos previos en otras especies templadas y megatérmicas (Agnusdei *et al.*, 2009; Avila *et al.*, 2009 y Insua *et al.*, 2012)

La DFDN aumentó aproximadamente 10% al disminuir la altura de la pastura y también disminuyó con el avance del estado ontogénico y con el aumento de la longitud de la hoja dentro de ambas alturas de pastura (fig. 3 y 4). Una vez que la lámina emergió su DFDN disminuyó durante la VMF con similar tasa en las generaciones 1 y 2. En la generación 3, en cambio, la DFDN se mantuvo constante en el nivel mínimo. Esta generación emergió con la DFDN más baja y fue más larga que las precedentes. Lo cual puede explicarse porque creció dentro de una vaina más larga. Por lo tanto, lleva a suponer que en la zona de maduración, ubicada en la base de la vaina, ocurren cambios en la pared celular de las láminas en formación que hacen que las hojas emerjan con menor DFDN. Esto puede interpretarse como una respuesta fotomorfogénica para dar mayor capacidad de sostén a los órganos foliares de mayor longitud. Entre los procesos que se mencionan en la bibliografía que tornan menos digestible la pared celular (<DFDN) se pueden citar los complejos que

se forman entre precursores fenólicos de la lignina, como el ácido ferulico y p-cumárico, con la hemicelulosa (Akin y Chesson, 1989; Jung y Allen, 1995).

La disminución de la DFDN con el aumento del largo foliar fue de 0,02 unidades por mm de incremento, con excepción de la generación 3. Los resultados de ambos tratamientos se ubicaron sobre una misma recta descendente con el aumento del largo foliar. Las láminas cortas se ubicaron en la porción superior de la línea y las láminas largas en su parte inferior. Ello indica que el aumento del largo foliar ocasionado por la competencia lumínica afecta negativamente la DFDN, como ha sido observado en otras especies (Groot; Neuteboom, 1997; Avila, 2009; Agnusdei, 2009).

Las variaciones en la DFDN comentadas determinaron la calidad del material ofrecido, con consecuencias sobre el consumo de materia seca y por lo tanto sobre la productividad animal (Oba y Allen; 1999). Dichos autores estiman que por cada unidad de incremento de la DFDN hay un aumento de 0,177 kg/día en el consumo de MS y de 0,230 kg/día en la productividad de leche.

## CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que al avanzar el rebrote de una pastura vegetativa de agropiro la DFDN disminuye con la edad y el largo foliar, sin afectar el contenido de FDN. No obstante, el agropiro es una especie plástica que modificó su estructura y calidad nutritiva como respuesta al manejo. La defoliación con una frecuencia dentro del período de VMF y una intensidad que controló el alargamiento de las vainas redujo la altura de la pastura y aumentó la calidad de las láminas por dos vías. En forma directa, al mejorar la digestibilidad de la FDN sin afectar su contenido; e indirectamente, al retrasar la senescencia y aumentar el número de hojas vivas por macollo. Lo contrario también fue observado, es decir, la acumulación de biomasa que exceda el período de VMF de la especie implica la formación de hojas más largas de menor calidad, mayor desarrollo de las vainas, alta proporción de hojas en distintos grados de senescencia y material muerto y raleo de la pastura por pérdida de macollos.

## BIBLIOGRAFÍA

- AELLO, M.S.; GÓMEZ, P.O.; DI MARCO, O.N.; MATINATA, L.V. 1981. El agropiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. VI – Dinámica de la pastura durante la primera clausura otoñal. Rev. Arg. Prod. Anim. 10: 343-356.
- AGNUSDEI, M.G.; NENNING, F.R.; DI MARCO, O.N.; AELLO, M.S. 2009. Variaciones de calidad nutritiva durante el crecimiento vegetativo de gramíneas megatérmicas de diferente porte y longitud foliar (*Chloris gayana* y *Digitaria decumbens*). Rev. Arg. Prod. Anim. 29: 13-25.
- AKIN, D.E.; CHESSON, A. 1989. Lignification as the major factor limiting forage feeding value especially in warm conditions. In: Proc. 16th Int. Grassl. Congr. Assoc. Francaise pour la Production Fourragere, Nice, France. pp. 1753–1760.



- ARREDONDO, J.T.; SCHNYDER, H. 2003. Components of leaf elongation rate and their relationship to specific leaf area in contrasting grasses. *New Phytologist*. 158:305–314.
- AVILA, R.E.; DI MARCO, O.N.; AGNUSDEI, M.G.; MAYORAL, C. 2009. Digestibilidad de la fibra y materia seca de dos gramíneas megatermicas (*Chloris gayana* y *Cenchrus ciliaris*) de diferente porte. Relación con la edad y largo foliar. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 30: 1-13.
- CHAPMAN, D.F.; LEMAIRE, G. 1993. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: BAKER, M.J. ed. *Grasslands for Our World*. SIR Publishing, Wellington. pp. 55-64.
- DAVIES, A. 1988. The regrowth of the grass sward. In: Jones M.B.; Lazenby, A. eds. *The Grass Crop: The Physiological Basis of Production*. Chapman and Hall, London. pp. 129-169.
- DEREGIBUS, V.A.; SANCHEZ, R.A.; CASAL, J.J. 1983. Effects of light quality on tiller production in *Lolium* sp. *Plant Physiology*. 72: 900-912.
- DI MARCO, O.N.; AELLO, M.S.; GÓMEZ, P.O.; GUTIÉRREZ, C. 1982. El agropiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. IV – Dinámica de la pastura durante la segunda clausura otoñal. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 2: 11-36.
- DURU, M.; DUCROCQ, H. 2000. Growth and senescence of the successive leaves on a cocksfoot tiller. Effect of nitrogen and cutting regimen. *Ann. Bot.* 85: 645–653.
- DURU, M.; DUCROCQ, H. 2002. A model of lamina digestibility of orchardgrass as influenced by nitrogen and defoliation. *Crop Science* 42: 214 – 223.
- GÁNDARA, F.R.; GÓMEZ, P.O. 1987. El agropiro (*Agropyron elongatum*) como recurso forrajero invernal, bajo distintas condiciones de manejo. V. Valor alimenticio invernal de dos pasturas de agropiro diferidas de otoño. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 7: 147-161.
- GARCIARENA, D.A.; CHIFFLET de VERDE, S.; COCIMANO, M.; OVEJERO, F.; DI MARCO, O.; SAINT MIQUEU, E.; COLOMBO, I. 1984. Digestibilidad *in vivo* del agropiro. Predicción por índices fecales. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 4: 141-149.
- GROOT, J.C.; NEUTEBOOM, J.H. 1997. Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion the same levels. *J. Sci. Food Agric.* 75: 227–236.
- INSUA, J.R.; AGNUSDEI, M.G.; DI MARCO, O.N. 2012. Calidad nutritiva de láminas de dos cultivares de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb). En prensa RIA 2012.
- JUNG, H.J.; ALLEN, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2774-2790.
- LEMAIRE, G.; AGNUSDEI, M. 2000. Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilization. In: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; de MORAES, A.; CARVALHO, P.C. de F.; NABINGER, C. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. CAB International. pp. 265-287.
- LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In: HODGSON, J.; ILLIUS, A.W. eds. *The ecology and management of grazing system*. CAB International. pp. 3-36.
- MAC ADAM, J.W.; NELSON, C.J. 1987. Specific leaf weight in zones of cell division, elongation and maturation in tall fescue leaf blades. *Annals of Botany* 59: 369–376.
- MAZZANTI, A.; CASTAÑO, J.; SEVILLA, G.H.; ORBEA, J.R. 1992. Características agronómicas de especies y cultivares de gramíneas y leguminosas forrajeras adaptadas al sudeste de la provincia de Buenos Aires. Manual de descripción. CERBAS. INTA. Pp. 32-33.
- NELSON, C.J. ; MOSER, L.E. 1994. **Plant factors affecting forage quality**, In: G. C. Fahey, Jr. et al. (ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. ASA, Madison, WI. USA, pp. 115-154.
- NELSON, C.J. 1992. Physiology of leaf growth of grasses. In: Proc 14<sup>th</sup> European Grassland Federation, Lahti, Finland. pp 175-179.
- OBA, M.; ALLEN, M. 1999. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 589-596.
- SAS. 2001. SAS/STAT® User's guide (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC
- VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J.; LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- WILSON, J.R. 1976. Variations of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition and quality. and dry matter digestibility. *Aust. J. Agric. Res.* 27: 343–354.
- WILSON, R.E.; LAIDLAW, A.S. 1985. The role of the sheath tube in the development of expanding leaves in perennial ryegrass. *Ann Appl Biol* 106: 385-391.