

## MOVILIZACIÓN DE CARBOHIDRATOS TOTALES Y CONTENIDO DE PROTEÍNA BRUTA EN CULTIVO DE *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. BAJO FERTILIZACIÓN CON FÓSFORO

### TOTAL CARBOHYDRATE MOBILIZATION AND CRUDE PROTEIN CONTENT OF *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. CROP UNDER PHOSPHORUS FERTILIZATION

Juan Gorjon<sup>1</sup>, Dámaris Fitzimons<sup>2</sup>, Mercedes Panzitta<sup>3</sup>, Verónica Pérez<sup>4</sup>, Rosana Malpassi<sup>5</sup>, Luciana Bianco<sup>6</sup>, Ana Novaira<sup>7</sup> y Sara Basconsuelo<sup>8\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0003-2020-7255>

<sup>2</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0001-7036-4908>

<sup>3</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0003-3037-4970>

<sup>4</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0001-8544-8514>

<sup>5</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0001-5064-0055>

<sup>6</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0003-3951-0916>

<sup>7</sup> Departamento Ciencias Básicas. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0003-3286-9993>

<sup>8</sup> Departamento Biología Agrícola. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Argentina

<https://orcid.org/0000-0001-6379-3851>

\* Autor para correspondencia E-mail: [sbasconsuelo@ayv.unrc.edu.ar](mailto:sbasconsuelo@ayv.unrc.edu.ar)

### RESUMEN

En la región árida-semiárida central de Argentina la disponibilidad de biomasa de los pastizales naturales en el periodo de bajas temperaturas es escasa, por lo que es importante lograr una mayor producción de especies forrajeras de crecimiento invernal. Entre estas especies se encuentra *Adesmia bicolor* (Poir.) DC., leguminosa perenne, de ciclo indefinido, herbácea, con crecimiento clonal, lo que favorece su persistencia bajo pastoreo intensivo, y una elevada capacidad para fijar nitrógeno (N). Existe escasa información respecto al comportamiento de este cultivo bajo fertilización. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la producción de biomasa, contenido de proteína bruta y

movilización de carbohidratos totales de *A. bicolor* bajo fertilización con fósforo (P). El ensayo se llevó a cabo en una parcela con *A. bicolor* en cultivo ya establecido. El diseño empleado fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. Los tratamientos aplicados fueron tres dosis de fertilizante fosfatado líquido: Tratamiento I: 0 kg ha<sup>-1</sup> (control); Tratamiento II: 50 kg ha<sup>-1</sup> y Tratamiento III: 100 kg ha<sup>-1</sup>. Se realizaron seis muestreos cada 60 días en los que se determinó: biomasa aérea y subterránea, porcentaje de proteína bruta y concentración de carbohidratos totales. Los resultados mostraron que la mayor producción de biomasa se obtuvo con la dosis de 50 kg ha<sup>-1</sup>, el contenido de proteína bruta en biomasa aérea y subterránea fue similar en todos los tratamientos y el patrón de movilización de carbohidratos no se vio favorecido significativamente por la aplicación de P.

**Palabras clave:** leguminosa nativa, especie forrajera, producción de biomasa.

## ABSTRACT

In the arid-semi-arid central region of Argentina, biomass availability from natural grasslands in the period of low temperatures is scarce, and therefore achieving a higher production of winter-growing forage species is important. One of these species is *Adesmia bicolor* (Poir.) DC., a perennial herbaceous legume with an indefinite cycle and clonal growth, which favors its persistence under intensive grazing and high capacity to fix nitrogen (N). There is little information about the behavior of this crop under fertilization. Therefore, the objective of this work was to evaluate biomass production, crude protein content and total carbohydrate mobilization of *A. bicolor* under phosphorus fertilization. The experiment was carried out in a plot with an already established *A. bicolor* crop. A randomized complete block design with three replicates was used. The treatments consisted of three doses of liquid phosphate fertilizer: Treatment I: 0 kg ha<sup>-1</sup> (control); Treatment II: 50 kg ha<sup>-1</sup>, and Treatment III: 100 kg ha<sup>-1</sup>. Six samples were collected every 60 days, and aboveground/belowground biomass, crude protein and total carbohydrate content were determined. The results showed that Treatment II (50 kg ha<sup>-1</sup>) recorded the highest level of biomass production of all the treatments, whereas the different fertilizer doses did not affect crude protein content of aboveground/belowground biomass or carbohydrate mobilization patterns.

**Key words:** native legume, forage species, biomass production.

## INTRODUCCIÓN

La región árida-semiárida central de Argentina presenta actividad ganadera con producción sobre pastizales naturales, lo que ha llevado en los últimos años a un creciente deterioro de estas áreas debido al uso irracional de los recursos. En el periodo de bajas temperaturas la disponibilidad de biomasa de los pastizales es escasa, por lo que la mayor producción de especies forrajeras de crecimiento invernal podría mejorar no solo la cantidad, sino también la calidad del forraje disponible, regulando una oferta equilibrada de pastura para el ganado (Scheffer -Basso et al., 2002; Andrae, 2012; Basconsuelo et al., 2013).

Entre las especies que forman parte de los pastizales naturales de esta zona se encuentra *Adesmia bicolor* (Poir.) DC. Esta leguminosa herbácea de ciclo indefinido puede desfasar su crecimiento vegetativo según el momento en que se den sus condiciones de temperatura y humedad del sustrato más óptimas, encontrándose con frecuencia en estado vegetativo durante el invierno (Pereira Machín, 2011). Con el objetivo de evaluar la especie como forrajera promisoría,

se han realizado estudios de su forma de crecimiento y reproducción, calidad de forraje, eficiencia de fijación biológica de Nitrógeno (FBN) y movilización de carbohidratos en cultivo sin fertilizar (Vileta et al., 2010; Bianco et al., 2012; Basconsuelo et al., 2013; Bianco, 2014; Vidal et al., 2016; Panzitta et al., 2019; Pérez et al., 2020). Si bien estos estudios han permitido definir a *A. bicolor* como especie con atributos forrajeros deseables, es importante conocer en qué medida éstos se modifican frente a diversas condiciones de cultivo, entre ellas la fertilización.

El fósforo (P) es uno de los nutrientes que limita fuertemente el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Lambers, 2022).

La utilización de fertilizantes que contengan P en su composición resulta muy favorable para especies perennes de crecimiento invernal, produciendo un incremento del nivel trófico del suelo que favorece el establecimiento, el rebrote y crecimiento de estas especies (Berretta, 2003, 2005; Silveira et al., 2015; Fitzimons et al., 2020).

La carencia del mismo produce menor crecimiento de las hojas, afectando la intercepción y conversión de la energía solar, lo que provoca

una disminución en la biomasa y el rendimiento de los cultivos, con menor calidad y tamaño de los frutos (Lambers, 2022). Bermúdez et al. (2000) detectan una producción anual del forraje total significativamente mayor en ensayos realizados en *Lotus* y *Trifolium repens* como respuesta a la fertilización con fósforo.

Si bien la proporción de nitrógeno (N) fijado biológicamente depende diversos factores, como la especie hospedera, la eficiencia de la bacteria fijadora y las características del suelo, también resulta importante tener en cuenta la disponibilidad de nutrientes como el fósforo, potasio, magnesio, calcio, hierro, molibdeno, cobre y boro (Sprent et al., 2017). En *Lotus* y *Trifolium repens* fertilizados con P, no sólo se incrementa la FBN sino también la digestibilidad de la materia orgánica (MO) del forraje (Amadeo, 2014).

Otro de los atributos importantes de las pasturas leguminosas es el patrón de movilización de los carbohidratos no estructurales (principalmente almidón). Según Bedoussac et al. (2015) y Pérez et al. (2020), es necesario su estudio bajo diferentes condiciones de crecimiento para comprender las respuestas de los cultivos a distintas prácticas de manejo.

En un experimento llevado a cabo por Bianco et al. (2012) se determinó que el cultivo de *A. bicolor* sin fertilización presenta una eficiencia de FBN de 59%, mientras que en el estudio realizado por Pérez et al. (2020) se informó que la concentración de carbohidratos totales en raíces y estolones alcanza como máximo valor 0,49 mg g<sup>-1</sup> de muestra en coincidencia con el período de mayor producción de biomasa aérea y subterránea en el ciclo del cultivo. Estos autores concluyen que la forma de crecimiento clonal de la especie, con desarrollo de estolones, facilita la movilidad de carbohidratos totales en la planta y el follaje perenne garantiza que la tasa fotosintética nunca sea nula, por lo que la incorporación de reservas no se vio severamente afectada.

Debido a la escasa información respecto al comportamiento de estas variables bajo fertilización, se propuso evaluar la producción de biomasa, proteína bruta y movilización de carbohidratos totales en *A. bicolor* en cultivo bajo fertilización con fósforo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el campo experimental de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina (33° 06' S, 64° 17' O), en una superficie de 60 m<sup>2</sup>, nunca fertilizada, con un cultivo de *Adesmia bicolor* establecido seis años

atrás. El suelo es Hapludol éntico y el clima tiene las características de templado sub-húmedo, con temperaturas medias del mes más cálido (enero) entre 22-24 °C y del mes más frío (julio) entre 6-9 °C. Las precipitaciones ocurren en el semestre estival (octubre-marzo) con registros entre 160-170 mm.

El diseño del experimento fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. La superficie de cultivo fue dividida en tres parcelas y cada una de estas dividida a su vez en franjas correspondientes a cada uno de los tratamientos aplicados. Los mismos fueron tres dosis de fertilizante fosfatado líquido usualmente recomendadas para otros cultivos de Leguminosas: Tratamiento I: 0 kg ha<sup>-1</sup> (control); Tratamiento II: 50 kg ha<sup>-1</sup> y Tratamiento III: 100 kg ha<sup>-1</sup>. El nombre comercial del fertilizante aplicado es Fasil 1006, que presenta una densidad de 1,26; pH de 2,2; 4,8% de N total; 3,7% de N amoniacal y nitratos; 22,6% de P total y 4,9% de sulfuros.

Al comienzo del experimento (antes de la aplicación del fertilizante) y luego al finalizar el ciclo de evaluación, se tomaron diez muestras de suelo al azar en las cuales se determinó el pH con peachímetro (Hanna Modelo pH211), en una relación suelo-agua 1:25, contenido de materia orgánica mediante el método de oxidación (Page et al., 1982), humedad por diferencia de pesos húmedo y seco (gravimetría, Klute, 1986), y la concentración de P mediante el método de Bray y Kurtz I (Bray y Kurtz, 1945).

Durante el ciclo del cultivo, 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). Los muestreos se realizaron al azar en un área de 0,0625 m<sup>2</sup> en cada una de las repeticiones de los bloques para evaluar los efectos de la fertilización fosfatada sobre la producción de biomasa aérea y subterránea, el contenido de proteína bruta y la concentración de carbohidratos totales en biomasa aérea y subterránea. La biomasa aérea y subterránea producida en el área fue cosechada y secada en estufa (Marca Peet Lab, modelo DHG 9240. Año 2005. China) a 60 °C hasta lograr peso constante.

El contenido de proteína bruta (% PB) se determinó a través del método de Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982). Para ello, de cada una de las muestras, se tomaron 100 g. Esto se molió e introdujo en un matraz de digestión Kjeldahl de 100 ml, se le agregó el catalizador más 3 ml de ácido sulfúrico concentrado mezclando el contenido con movimientos giratorios para que la muestra no se quede adherida a las paredes. Luego se la colocó en un soporte asociado a

un calefactor eléctrico y se inició la digestión. Al final de la misma 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. Por medio de un electrodo se midió el sulfato de amonio en milivoltios. Luego con el electrodo se midió el  $\text{NH}_4\text{Cl}$  de 1 ppm,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  10 ppm y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  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 obtuvo la curva patrón y con los datos del material vegetal, se determinó el nitrógeno 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).

La determinación de nitrógeno total se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{ppm de muestra} \times 100 \text{ g muestra} \times$$

$$\frac{\text{Vol. de la muestra (ml)}}{\text{Alícuota (ml)}} \times$$

$$\frac{\text{Vol. final del extrac. de Kjeldahl}}{\text{Peso de la muestra}}$$

Luego, para calcular el porcentaje de PB se multiplicó el % de nitrógeno obtenido por un factor de conversión tabulado para vegetales (6,25).

La determinación de carbohidratos totales se realizó mediante el método modificado de reacción fenólica (Daniels et al., 1994). Las muestras de 0,2 g de raíces y estolones fueron homogeneizadas en mortero con N líquido y se agregó 1,5 ml de ácido tricloroacético al 1%, esta mezcla se trasvasó a un tubo Falcon y se centrifugó durante 5 min a 750 rpm. Luego se tomó el sobrenadante y se centrifugó nuevamente. Se colocó una alícuota de 20  $\mu\text{l}$  de muestra en un tubo de Khan y se enrasó a un volumen final de 500  $\mu\text{l}$  con agua destilada. Posteriormente, se agregó 500  $\mu\text{l}$  de solución acuosa de fenol al 5% y 2,5 ml de ácido sulfúrico puro, con agitación en vórtex entre cada paso. El tubo se sumergió en un baño de agua hirviendo por 10 min, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente

se realizó la lectura en espectrofotómetro a 488 nm, la que luego fue comparada con la curva patrón realizada previamente en la que se utilizó disoluciones de una solución de glucosa (1 mg  $\text{ml}^{-1}$ ) como control y como blanco 500  $\mu\text{l}$  de agua destilada.

Los datos cuantitativos obtenidos fueron sometidos a análisis de la varianza para detectar diferencias significativas ( $\alpha < 0,05$ ) entre los tratamientos aplicados y las fases fenológicas. Para las variables que presentaron diferencias significativas, se efectuó la comparación de medias (LSD-Fisher) mediante el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2020).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de suelo realizado en la parcela al inicio del estudio arrojó los siguientes valores: pH 7,2; 3,18% de materia orgánica; 8 ppm de P y 7,43% de humedad. Al finalizar la etapa de muestreo no se registraron variaciones en los mismos excepto en el contenido de humedad que incrementó a 16,5% en todos los tratamientos.

### Producción de Biomasa

#### Biomasa total (BT)

En el primer muestreo (marzo), la BT no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p=0,1695$ ), siendo los valores obtenidos de 692,8, 1064 y 1276,3  $\text{kg ha}^{-1}$  correspondientes a los Tratamientos I, II y III, respectivamente (Fig. 1A). En el segundo y tercer muestreo hubo diferencias significativas entre el Tratamiento I y el resto de los tratamientos ( $p=0,0028$  y  $p=0,0089$ , respectivamente). Los valores obtenidos en el segundo muestreo (mayo) fueron de 675,2  $\text{kg ha}^{-1}$  para el Tratamiento I, 1259,7  $\text{kg ha}^{-1}$  para el II y 1060,3  $\text{kg ha}^{-1}$  para el III, mientras que en el tercero (julio) fueron 742,9  $\text{kg ha}^{-1}$ , 1371,2 y 1145  $\text{kg ha}^{-1}$  (Tratamientos I, II y III, respectivamente). En el cuarto muestreo (septiembre), los valores de BT fueron 1124,3  $\text{kg ha}^{-1}$  para el Tratamiento I, 2636,8  $\text{kg ha}^{-1}$  para el Tratamiento II y 1670,4  $\text{kg ha}^{-1}$  para el Tratamiento III, con diferencias estadísticamente significativas entre el Tratamiento II y los Tratamientos I y III ( $p=0,0148$ ).

En la etapa de floración (noviembre), el Tratamiento I presentó una BT media de 1301  $\text{kg ha}^{-1}$ , el Tratamiento II: 2218,7  $\text{kg ha}^{-1}$  y el III: 1806,9  $\text{kg ha}^{-1}$ , siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,0002$ ).

En fructificación (enero), los valores de producción de BT mostraron diferencias significativas entre sí ( $p<0,0001$ ), registrándose 1336,5  $\text{kg ha}^{-1}$ , 2187,7  $\text{kg ha}^{-1}$  y 1824  $\text{kg ha}^{-1}$  para los Tratamientos I, II y III, respectivamente.

### **Biomasa aérea (BA)**

La producción de BA en marzo no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,1916$ ) entre tratamientos (Tratamiento I: 365,3 kg ha<sup>-1</sup>, Tratamiento II: 553,1 kg ha<sup>-1</sup>, Tratamiento III: 604,8 kg ha<sup>-1</sup>), mientras que en mayo los valores fueron de 326,4, 695,5 y 528,5 kg ha<sup>-1</sup> para los Tratamientos I, II y III, respectivamente, siendo los mismos estadísticamente diferentes ( $p=0,0031$ ; Fig. 1B). En julio, los Tratamientos I (377,1 kg ha<sup>-1</sup>) y II (731,2 kg ha<sup>-1</sup>) presentaron diferencias significativas ( $p=0,0498$ ), mientras que el Tratamiento III (549,9 kg ha<sup>-1</sup>) no fue estadísticamente diferente a ninguno de los otros dos tratamientos. En septiembre, al igual que en el muestreo anterior, el tratamiento II presentó la mayor producción media de BA (1433,1 kg ha<sup>-1</sup>), observándose diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,0023$ ) entre éste y el resto de los tratamientos (I: 585,6 kg ha<sup>-1</sup> y III: 894,4 kg ha<sup>-1</sup>).

En la etapa de floración y fructificación se observaron las mismas tendencias en los valores de producción de BA. En la primera el tratamiento II produjo 1186,7 kg ha<sup>-1</sup>, el III: 892,3 kg ha<sup>-1</sup> y el I: 644,8 kg ha<sup>-1</sup>, mientras que en la segunda el tratamiento II produjo 1174 kg ha<sup>-1</sup> de BA, el III: 894,4 kg ha<sup>-1</sup> y el I: 684,8 kg ha<sup>-1</sup>. Las diferencias entre ellos fueron estadísticamente significativas ( $p=0,0002$  y  $p=0,0001$  respectivamente).

### **Biomasa subterránea (BS)**

En el primer muestreo (marzo), la producción media de BS no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,1665$ ; Tratamiento I: 327,5 kg ha<sup>-1</sup>, II: 510,9 kg ha<sup>-1</sup> y III: 671,5 kg ha<sup>-1</sup>), mientras que en el segundo ( $p=0,0249$ ) y tercero ( $p=0,00022$ ) el Tratamiento I fue significativamente diferente al resto de los tratamientos (Fig. 1C). Los valores para el segundo muestreo (mayo) fueron: 564,3 kg ha<sup>-1</sup> para el Tratamiento I, 531,7 kg ha<sup>-1</sup> para el II y 353,1 kg ha<sup>-1</sup> para el III, y para el tercero (julio) fueron: 339,2 kg ha<sup>-1</sup>, 640 kg ha<sup>-1</sup> y 595,2 kg ha<sup>-1</sup> para los tratamientos I, II y III, respectivamente. En el cuarto muestreo (septiembre), el tratamiento II presentó el mayor valor medio de BS (1203,7 kg ha<sup>-1</sup>), seguido por el tratamiento III (776 kg ha<sup>-1</sup>) y por último el tratamiento I (538,7 kg ha<sup>-1</sup>). Los Tratamientos I y II presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,0657$ ).

En la etapa de floración, la biomasa subterránea media de las plantas del Tratamiento II fue de 1032 kg ha<sup>-1</sup>, la del III: 914,7 kg ha<sup>-1</sup> y la del I: 656,5 kg ha<sup>-1</sup>, siendo este último valor significativamente diferente a los tratamientos anteriores ( $p=0,0009$ ).

En la etapa de fructificación, el Tratamiento II produjo 1017,6 kg ha<sup>-1</sup>, el III 929,6 kg ha<sup>-1</sup> y el I 651,7 kg ha<sup>-1</sup>. Estas diferencias entre tratamientos

fueron estadísticamente significativas ( $p<0,0001$ ).

Los registros de biomasa aérea y subterránea de *A. bicolor* responden a lo establecido por otros autores (Bermúdez et al., 2000; Silveira et al., 2015; Fitzimons et al., 2020; Lambers, 2022), quienes determinan que la disponibilidad de P es importante en el desarrollo de los cultivos y en especies leguminosas es un nutriente esencial para su sobrevivencia. La producción de biomasa de los dos tratamientos bajo fertilización con P (las dos dosis aplicadas) superaron a la del Tratamiento I (control), aunque la respuesta no fue lineal, sino que los mayores registros se observaron en la dosis de 50 Kg P ha<sup>-1</sup>. Esto difiere de lo citado por Berardo y Marino (2000) para otras leguminosas, entre estas la alfalfa, en la que 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 con el testigo y a las dosis menores de fertilización (25 y 50 kg ha<sup>-1</sup>). Es importante señalar que en forma similar a lo citado por otros autores (Núñez-Cano et al., 2018), los valores de P en el suelo al inicio y fin del estudio fueron similares debido a la escasa retención de este nutriente en el suelo, como consecuencia de esto, la fertilización debería realizarse año a año.

### **Contenido de proteína bruta (PB)**

Los valores medios de proteína bruta (PB) en marzo fueron: 16,6% para el Tratamiento I, 15,76% para el II, y 16,91% para el III (Fig. 2). Estos datos no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,7329$ ), situación que se repite en todos los muestreos siguientes, a excepción del último (enero). En mayo, el Tratamiento I presentó 18,97%, el II 15,93% PB y el Tratamiento III 20,14% ( $p=0,2736$ ). En julio los valores fueron: 16,9%, 19,58% y 17,91% PB para los Tratamientos I, II y III, respectivamente ( $p=0,2054$ ); mientras que en septiembre ( $p=0,2083$ ): 19,56% (Tratamiento I), 17,63% (Tratamiento II) y 17,89% PB (Tratamiento III).

Durante la etapa de floración, el contenido promedio de PB en cada tratamiento fue el siguiente ( $p=0,6894$ ): 14,69% (Tratamiento I), 15,76% (Tratamiento II) y 15,64% (Tratamiento III).

En fructificación, las plantas correspondientes al Tratamiento I presentaron un contenido promedio de PB de 14,81%, el Tratamiento II: 13,72% y el III: 12,2% con diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos I y III ( $p=0,0323$ ).

La concentración de proteína bruta está directamente relacionada con la FBN, la cual puede verse disminuida ante una baja concentración de P en el suelo (Silveira et al.,

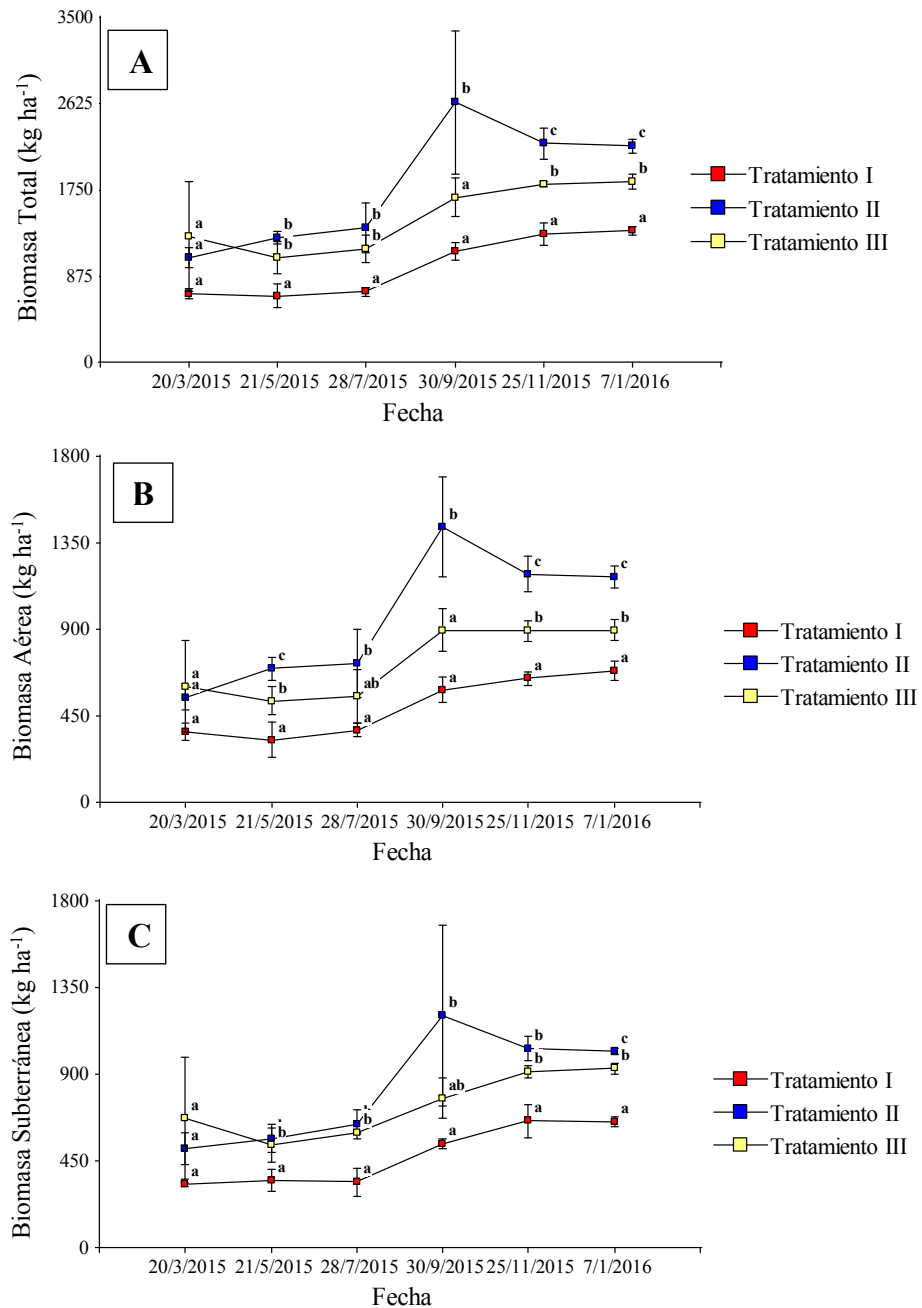
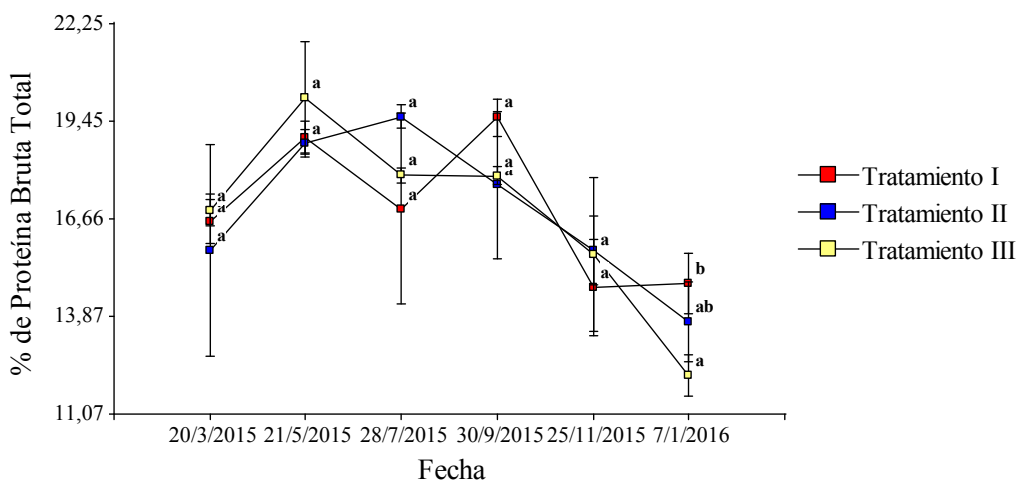


Fig. 1. A. Biomasa total (BT), B. Biomasa aérea (BA), C. Biomasa subterránea (BS) de *Adesmia bicolor* en cada tratamiento y fecha de muestreo. Tratamiento I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Tratamiento II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> y Tratamiento III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD Fisher (p<0,05). UNRC 2015/16.

Fig. 1. A. Total biomass (BT), B. Aerial biomass (BA), C. Belowground biomass (BS) of *Adesmia bicolor* in each treatment and sampling date. Treatment I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Treatment II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> and Treatment III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Different letters in each sampling date show significant differences according to the LSD Fisher Test (p<0.05). UNRC 2015/16.



**Fig. 2. Porcentaje de proteína bruta total de *Adesmia bicolor* en cada tratamiento y fecha de muestreo. Tratamiento I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Tratamiento II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> y Tratamiento III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD-Fisher ( $p < 0,05$ ). UNRC 2015/16.**

**Fig. 2. Percentage of total crude protein of *Adesmia bicolor* in each treatment and sampling date. Treatment I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Treatment II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> and Treatment III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Different letters in each sampling date show significant differences according to the LSD-Fisher Test ( $p < 0.05$ ). UNRC 2015/16.**

2015; Sprent et al., 2017). Estudios realizados en alfalfa demostraron que la concentración de N en la planta aumenta conjuntamente con la concentración de P (Berardo, 1999, Berardo y Marino, 2000). Sin embargo, en *A. bicolor* no se encontró una correlación positiva entre estos nutrientes en los distintos tratamientos aplicados.

El mayor contenido de proteína bruta de la biomasa aérea respecto de la biomasa subterránea concuerda con otros estudios realizados en *A. bicolor* y en especies del mismo género como *A. latifolia* (Vileta et al., 2010). Esto puede explicarse por el concepto que en leguminosas de hábito de crecimiento estolonífero, la biomasa aérea es mayor que la subterránea. Caso contrario sucede en especies cespitosas en donde la biomasa subterránea es mayor (Scheffer - Basso et al., 2002).

#### Cuantificación de Carbohidratos Solubles Totales

La concentración promedio de carbohidratos solubles totales (CST) en raíces y estolones de *A. bicolor* no mostró diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las fechas de muestreo (Fig. 3). En marzo ( $p=0,7043$ ) los valores registrados fueron 0,496, 0,517 y 0,522 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para los Tratamientos I, II y III, respectivamente. En mayo se produjo una disminución de CST en los tres tratamientos

( $p=0,3678$ ) con valores de 0,397 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para el Tratamiento I, 0,430 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para el II y 0,447 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para el III. En julio ( $p=0,3025$ ) los valores fueron de 0,354, 0,403 y 0,440 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco (siendo los mismos los más bajos registrados en todo el ciclo del cultivo) y en septiembre ( $p=0,6559$ ): 0,486, 0,476 y 0,510 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para los Tratamientos I, II y III, respectivamente. En la etapa de floración (noviembre,  $p=0,6932$ ), el Tratamiento II incrementó (0,515 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco), mientras que los tratamientos restantes muestran una leve disminución (0,471 y 0,4899 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco para los Tratamientos I y III). En el último muestreo (fructificación,  $p=0,1819$ ), el Tratamiento II muestra una disminución en CST (0,491 mg CST g<sup>-1</sup> de peso fresco), mientras que los Tratamientos I y III presentan un ligero aumento (0,501 y 0,507 mg CST g<sup>-1</sup>, respectivamente).

El análisis de estos resultados muestra que la marcada disminución en la concentración de carbohidratos solubles totales en mayo y julio en todos los tratamientos coincide con el periodo previo al incremento de biomasa observado a partir de septiembre. Esta situación comienza a revertirse en la etapa de rebrote (septiembre) con la recuperación de las reservas. A diferencia de lo planteado por Andrae (2012), quien sostiene que en el rebrote la planta necesita aproximadamente

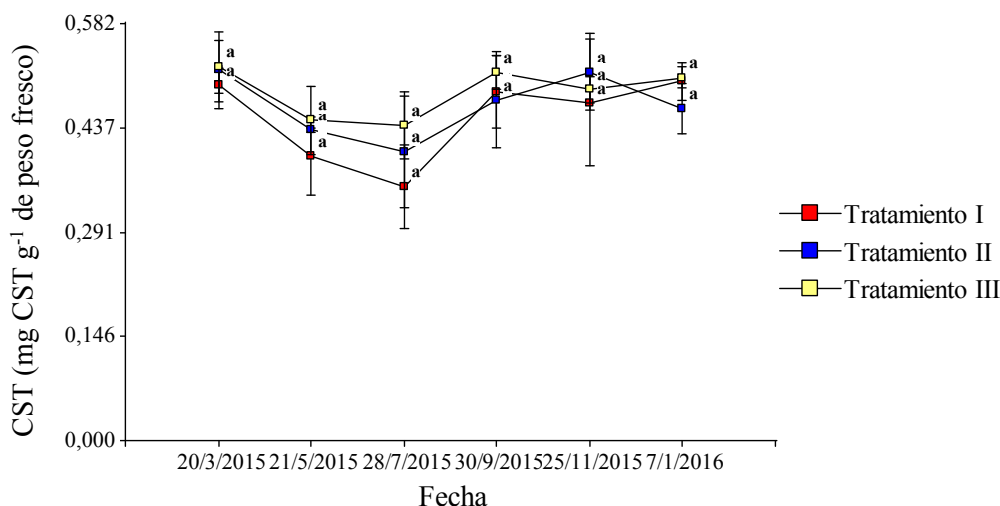


Fig. 3. Concentración de carbohidratos totales en *Adesmia bicolor* en cada tratamiento y fecha de muestreo. Tratamiento I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Tratamiento II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> y Tratamiento III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Letras diferentes en cada fecha de muestreo muestran diferencias significativas según Test LSD-Fisher ( $p < 0,1$ ). UNRC 2015/16.

Fig. 3. Concentration of total carbohydrates in *Adesmia bicolor* in each treatment and sampling date. Treatment I: 0 kg P ha<sup>-1</sup> (control), Treatment II: 50 kg P ha<sup>-1</sup> and Treatment III: 100 kg P ha<sup>-1</sup>. Different letters in each sampling date show significant differences according to the LSD-Fisher Test ( $p < 0,1$ ). UNRC 2015/16.

el 90% de las reservas acumuladas, los datos sugieren que en *A. bicolor* este requerimiento sería menor al 50% en todos los tratamientos aplicados. Según lo expresado por Pérez et al. (2020), la recuperación de las reservas en *A. bicolor* es rápida por la presencia de estolones que favorecen la movilización de carbohidratos y por el follaje perenne que garantiza que la tasa fotosintética no sea nula. A pesar de que los valores de biomasa aérea y subterránea en el rebrote fueron mayores en el Tratamiento II, esto no se tradujo en una recuperación significativamente más rápida de las reservas.

## CONCLUSIONES

*A. bicolor* respondió favorablemente en su producción de biomasa a la fertilización con P. Si bien ambas dosis aplicadas: 50 kg P ha<sup>-1</sup> y 100 kg P ha<sup>-1</sup> produjeron un aumento de biomasa con respecto al control, la respuesta no fue lineal, sino que los mayores registros se observaron en la dosis de 50 Kg P ha<sup>-1</sup>. Por su parte, el contenido de proteína bruta en *A. bicolor* se fue incrementando a medida que la planta creció hasta llegar a un punto máximo en la etapa vegetativa tardía, pero no mostró una respuesta favorable a las dosis de

P aplicadas. Asimismo, el patrón de movilización de carbohidratos no se vio significativamente favorecido por la aplicación de P en ninguna de las dosis utilizadas. Teniendo en cuenta estos resultados, se puede considerar como recomendable, por el aumento de biomasa, la fertilización con P en una dosis de 50 kg P ha<sup>-1</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina), por el financiamiento de esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- Amadeo, C.A. 2014. Fertilización de campo natural y praderas cultivadas. Disponible en <https://es.scribd.com/document/87240661/Fertilizacion-de-campo-natural-y-praderas-cultivadas> (Consulta 7 julio 2021).
- Andrae, J. 2012. Grazing impacts on pasture composition. *UGA Cooperative Extension Bulletin* 1243:1-4.



- Basconsuelo, S., M. Grosso, T. Kraus, C. Bianco, L. Bianco, D. Vileta, y R. Malpassi. 2013. E-book: Leguminosas nativas con potencial forrajero: *Adesmia bicolor*. UniRío, Río Cuarto, Argentina. <http://www.unirioeditora.com.ar/producto/leguminosas-nativas-potencial-forrajero-adesmia-bicolor/> (Consulta 10 de julio 2021).
- Bedoussac, L., E. Pascal Journet, H. Hauggaard-Nielsen, C. Naudin, G. Corre-Hellou, and E. Steen Jensen. 2015. Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35:911–935.
- 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.
- Berardo, A., y M.A. Marino. 2000. Producción de forraje de alfalfa bajo diferentes niveles de nutrición fosfatada en el sudeste bonaerense. *Revista Argentina de Producción Animal* 20(2):93-101.
- Bermúdez, R., M. Carámbula, y 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. p. 13-19. *Jornada Anual de Producción Animal. Resultados experimentales 1997-1998*. INIA Treinta y Tres (Serie de Actividades de Difusión 172).
- Berretta, E.J. 2003. Uruguay: Perfiles del recurso pastura-forraje. En: FAO. Suttie, J.M., y S.G. Reynolds (eds.). Disponible en: [www.produccionanimal.com.ar](http://www.produccionanimal.com.ar) (Consulta 02 Julio 2021).
- Berretta, E.J. 2005. Producción y manejo de la defoliación en campos naturales de basalto. p. 61-73. Serie Técnica N° 151 Seminario de Actualización Técnica en Manejo de Campo Natural. INIA, Montevideo, Uruguay.
- Bianco, L. 2014. Rhizobial infection in *Adesmia bicolor* (Fabaceae) roots. *Archives of Microbiology* 196:675-679.
- Bianco, L., J. Angelini, A. Fabra, and R. Malpassi. 2012. Diversity and symbiotic effectiveness of indigenous rhizobia-nodulating *Adesmia bicolor* in soils of Central Argentina. *Curr. Microbiol.* 66:174–184.
- Bray, R. H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45
- Bremner, J.M., and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. p. 595-624. In: Page, A.L., R.H. Miller, and D.R. Keeney (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. 2° ed. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Daniels, L., R. Hanson, and J. Phillips. 1994. Chemical analysis. p. 512-555. In: Gerhardt, P., R.G.E. Murray, W. Wood, and N.R. Krieg (eds.) *Methods for general and molecular bacteriology*. ASM, Washington DC, USA.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, y C.W. Robledo. 2020. InfoStat versión 2020. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en [www.infostat.com.ar](http://www.infostat.com.ar) (Consulta 12 Julio 2021).
- Fitzimons, D., J. Gorjon, T. Poliotto, W. Valdés, M. Panzitta, V. Pérez, S. Basconsuelo, R. Malpassi, y L. Bianco. 2020. Evaluación de caracteres vegetativos y reproductivos de *Adesmia bicolor* en cultivo bajo fertilización con fósforo. *Revista Científica FAV-UNRC Ab Intus* 5(3):01-07.
- Klute, A. 1986. *Methods of soil analysis. Part 1: Physical and mineralogical methods*. 2nd Edition, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, USA.
- Lambers, H. 2022. Phosphorus Acquisition and Utilization in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. 73:1.1–1.26.
- Núñez-Cano, J. I., J. E. Villarreal-Núñez, R. Gordón-Mendoza, J. E. Franco-Barrera, J. E. Jaén-Villarreal y A. E. Sáez-Cigarruista. 2018. Retención de fósforo en suelos dedicados al cultivo de maíz en la región de Azuero. *Ciencia Agropecuaria*, (29), 65-78.
- Page, A.L., R.H. Miller and D.D.R. Keeney. 1982. *Methods of soil analysis. Part 2 Chemical and microbiological properties*. Agron. Monograph N° 9. ASA, SSSA. Madison, Wisconsin USA.
- Panzitta, M., R. Malpassi, S. Basconsuelo, V. Pérez, J. Gorjon, D. Fitzimons, y L. Bianco. 2019. Ensayos preliminares para determinar la fijación biológica de nitrógeno de *Adesmia bicolor* a través del método de la abundancia natural. *Idesia* 37(1):61-65.
- Pereira Machín, M.P. 2011. Manejo y conservación de pasturas naturales de Basalto. Reedición. Programas de servicios agropecuarios MGAP-BID. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca-Programa Ganadero. Instituto Plan Agropecuario. Uruguay.

- Pérez, V., M. Panzitta, C. Vidal, S. Basconsuelo, J. Gorjon, D. Fitzimons, R. Malpassi, y L. Bianco. 2020. Ritmo de crecimiento, producción de biomasa y dinámica de movilización de carbohidratos en un cultivo de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC (Fabaceae). Chilean J. Agric. Anim. Sci. 36(3):171-180.
- Scheffer-Basso, S.M., A.V. Ávila Jacques, e M. Dall'Agnol. 2002. Alocação da biomassa e correlações morfofisiológicas em leguminosas forrageiras com hábitos de crescimento contrastantes. Scientia Agricola 59(4):629-634.
- Silveira, D., J. Hernández, M. Cadenazzi, A. del Pino, R. Zanoniani, y P. Boggiano. 2015. Efecto de la fertilización fosfatada sobre la composición química de *Lotus tenuis* y *Trifolium repens*. Agrociencia (Uruguay) 19(2):49-58.
- Sprent, J.I.; J. Ardley and E.K. James. 2017. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen fixing symbionts. New Phytologist, 215: 40-56.
- Vidal, C., M. Ibañez, G. Boito, C. Crenna, y S. Basconsuelo. 2016. Sistema reproductivo de *Adesmia bicolor* (Leguminosae). Interciencia 41:757-762.
- Vileta, D., L. Bianco, M. Grosso, y 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.