

RESIEMBRA NATURAL EN *Lotus tenuis* IMPLANTADO CON DIFERENTES SISTEMAS DE SIEMBRA

NATURAL RESEEDING IN *Lotus tenuis* ESTABLISHED BY DIFFERENT SOWING SYSTEMS

Lisandro J. Entio*, María de la M. Mujica

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119.
Código Postal 1900. Argentina. (mejoramientogenetico@agro.unlp.edu.ar).

RESUMEN

La incorporación de *Lotus tenuis* permitiría aumentar la productividad de pastizales en forma sostenible con base en su persistencia, para la cual es importante la resiembra natural de *L. tenuis*. El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de resiembra natural de una pradera de *L. tenuis* cv. Aguapé en tres sistemas de siembra. El ensayo se implantó el 19/4/2006 en la Chacra Experimental de Chascomús, Provincia de Buenos Aires (35° 34' S; 58° 30' O) en un lote de 14.6 ha. Los tratamientos fueron tres sistemas de siembra: voleo (V), interseembra (I) y directa (D). El diseño experimental fue de bloques completos al azar y la unidad experimental fue una parcela de 1.92×150 m. Las variables fueron: número de plántulas, producción y calidad de semilla y resiembra potencial evaluada mediante emergencia de nuevas plántulas. Se realizó un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). La siembra directa superó ($p \leq 0.05$) a los otros dos sistemas en crecimiento de planta, producción de semilla y emergencia de nuevas plántulas, pero no hubo diferencia ($p > 0.05$) en calidad de semilla. El peso aéreo por la planta o por unidad de superficie influyó ($p \leq 0.05$) lineal y positivamente sobre la producción de semilla fisiológicamente viable. Por tanto, la mejor respuesta en resiembra natural con la siembra directa se asoció con haber favorecido un mayor peso aéreo. Independientemente del sistema de siembra *L. tenuis* cv. Aguapé presentó un elevado potencial de resiembra natural. La conclusión fue que la expresión del potencial de resiembra natural depende del sistema de siembra y que la siembra directa, al favorecer un mayor rendimiento de semilla, presenta mayor potencial de resiembra natural que la interseembra y la siembra al voleo.

Palabras clave: *Lotus*, producción de semilla, sistema de implantación, persistencia.

ABSTRACT

The incorporation of *Lotus tenuis* would increase the productivity of grasslands in a sustainable way based on its persistence, for which natural reseeding of *L. tenuis* is important. The objective of this study was to evaluate the potential of natural reseeding in a pasture of *L. tenuis* cv. Aguapé in three sowing systems. The trial was implanted on April 19, 2006 in La Chacra Experimental de Chascomús, Province of Buenos Aires (35° 34' S; 58° 30' W) in a 14.6 ha lot. Treatments were three sowing systems: by hand (V), intercropping (I) and direct (D). The experimental design was a randomized complete block and the experimental unit was a 1.92×150 m plot. The variables were: number of seedlings, production and quality of seed and potential reseeding by estimating emergence of new seedlings. A variance analysis was carried out and means were compared with the Tukey test. Direct seeding was higher ($p \leq 0.01$) than the other two systems in plant growth, seed production and emergence of new seedlings, but there was no difference ($p > 0.05$) in seed quality. Air weight per plant or per unit area influenced ($p \leq 0.05$) linearly and positively on the physiologically viable seed production. Therefore, the best response in natural reseeding with direct sowing was associated with having favored a greater air weight. Regardless of the sowing system *L. tenuis* cv. Aguapé showed a high potential for natural reseeding. The conclusion was that the expression of the natural reseeding potential depends on the sowing system and that direct sowing, when favoring a higher seed yield, presents a higher potential for natural reseeding than the intercropping and hand sowing.

Key words: *Lotus*, seed production, implantation system, persistence.

INTRODUCTION

The grasslands of the Pampa Deprimida Bonaerense, Province of Buenos Aires, Argentina, are the main source of cattle

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: Marzo, 2010. Aprobado: Abril, 2011.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 45: 431-441. 2011.

INTRODUCCIÓN

Los pastizales de la Pampa Deprimida Bonariense, provincia de Buenos Aires, Argentina son la principal fuente de alimentación del ganado, donde *Lotus tenuis* (Waldst et Kit) (ex *Lotus glaber*) coloniza nichos vacantes por la eliminación de dicotiledóneas (Soriano, 1994). Además se considera una especie clave en el manejo de pastizales por su efecto positivo sobre el crecimiento de las gramíneas, basado en el aporte de N por fijación simbiótica (Quinos et al., 1998), y también porque mejora la calidad nutricional del pastizal al aportar proteína de alta digestibilidad (McGraw et al., 1989).

Según Flaresso y De Saibro (1992) la persistencia por resiembra natural en *Lotus corniculatus* es una característica fundamental, mientras que en *L. tenuis* la magnitud de la resiembra natural depende del banco de semillas en el suelo (Vignolio, 2005). Mujica y Rumi (1994) señalan que en 35 genotipos de una población natural de *L. tenuis* hay un alto potencial biológico para producir semilla, por lo cual tienen una gran capacidad de aporte al banco de semillas del suelo. *Lotus tenuis* presenta semillas duras con tegumentos impermeables que demandan temperaturas bajas fluctuantes para romper este estado (Mujica y Rumi, 1991), por lo cual naturalmente puede haber una mayor emergencia de plántulas de alta viabilidad y persistencia desde el banco de semillas del suelo a fines del invierno (Sevilla y Fernández, 1991; Mujica y Rumi, 1993; Sevilla et al., 1996).

Una alta producción de semilla bien conformada requiere de plantas de crecimiento vigoroso y superar exitosamente la fase de establecimiento; en general la incorporación y persistencia de leguminosas forrajeras en pastizales es difícil por la competencia con especies vegetales presentes y establecidas (Cuomo et al., 2001). El lento crecimiento inicial de *L. tenuis* causa que la comunidad vegetal donde se intersembró sea un condicionante para su implantación (Miñon y Colabelli, 1993). Para estudiar la problemática del vigor de plántula de *L. tenuis* se consideró la influencia del tamaño de las semillas (Beuselink y McGraw, 1983; Collado y Mujica, 2002) y la función de los cotiledones (Mujica y Rumi, 1998). Debido a la baja habilidad competitiva de las plántulas es especialmente relevante utilizar un sistema de implantación apropiado.

feed, where *Lotus tenuis* (Waldst et Kit) (ex *Lotus glaber*) colonizes vacant niches by the removal of dicotyledons (Soriano, 1994). Besides, is considered a key species in grassland management for its positive effect on grass growth, based on the contribution of N by symbiotic fixation (Quinos et al., 1998), and also because it improves the nutritional quality of grassland by providing highly digestible protein (McGraw et al., 1989).

According to Flaresso and De Saibro (1992) persistence by natural reseeding in *Lotus corniculatus* is a fundamental characteristic, while in *L. tenuis* the magnitude of natural reseeding depends on the soil seed bank (Vignolio, 2005). Mujica and Rumi (1994) indicate that in 35 genotypes of a natural population of *L. tenuis* there is a high biological potential for producing seed, therefore have a great capacity to supply the soil seed bank. *Lotus tenuis* has hard seeds with impermeable teguments that require fluctuating low temperatures to break this state (Mujica and Rumi, 1991), which can naturally have higher seedling emergence of high viability and persistence from the soil seed bank at the end of winter (Sevilla and Fernández, 1991; Mujica and Rumi, 1993; Sevilla et al., 1996).

A high well formed seed production requires vigorous growing plants to successfully overcome the establishment phase; in general, the incorporation and persistence of forage legumes in grasslands is difficult because of competition with present and established plant species (Cuomo et al., 2001). The slow initial growth of *L. tenuis* causes that the plant community where it is intercropped be a condition for its implantation (Miñon and Colabelli, 1993). To study the problem of seedling vigor of *L. tenuis* influence of the seed size was considered (Beuselink and McGraw, 1983; Collado and Mujica, 2002) and the cotyledon function (Mujica and Rumi, 1998). Due to the low competitive ability of seedlings it is particularly relevant to use an appropriate implantation system.

Therefore, the objective of this study was to determine the natural reseeding potential in *L. tenuis* cv. Aguapé established by three sowing systems. The hypothesis was that the natural reseeding potential will depend on the sowing system used in the establishment of *L. tenuis* cv. Aguapé.

Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el potencial de resiembra natural en *L. tenuis* cv. Aguapé establecido mediante tres sistemas de siembra. La hipótesis fue que el potencial de resiembra natural dependerá del sistema de siembra usado en el establecimiento de *L. tenuis* cv. Aguapé.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la Chacra Experimental de Chascomús, Ministerio de Asuntos Agrarios-Buenos Aires, Provincia de Buenos Aires (35° 34' S; 58° 30' O). Los tratamientos fueron tres sistemas de siembra de *L. tenuis* variedad sintética Aguapé (Universidad Nacional de La Plata, 2003): voleo (V), interseembra (I) y directa (D); evaluados en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y la unidad experimental fue una parcela de 1.92×150 m. El lote (14.6 ha) con las parcelas provenía de dos años de manejo (semilla, fertilización y eliminación de competencia) de ballico (*Lolium multiflorum*). La semilla fue inoculada con *Mezorhizobium* sp. y procesada a gránulos (pellet). Para preparar el suelo se removió el tapiz vegetal con un corte bajo para V e I y se aplicó de glifosato (4 L ha⁻¹) para D. Luego (19 de abril del 2006) la semilla se sembró con una sembradora con trenes de siembra modificados para obtener los tres sistemas en evaluación. La densidad de siembra fue 5.73 kg ha⁻¹ más 89.71 kg ha⁻¹ de fosfato diamónico al sembrar. Del 11 de noviembre al 11 de diciembre del 2006 se pastoreó con vaquillonas Holando-Argentino (240 kg) a una carga de 1.18 vaquillonas ha⁻¹ para dejar el *L. tenuis* con una altura de 8-10 cm. El pastoreo se interrumpió para asegurar la resiembra natural, según lo propuesto por Kitahara *et al.* (1989).

La última semana de junio del 2006 se determinó el número de plántulas en nueve aros de 0.9090 m² en cada unidad experimental y se expresó en plántulas m⁻². Con el mismo procedimiento, el 6 de febrero del 2007 se cosecharon plantas de *L. tenuis* a ras del suelo y en ellas se determinó: peso seco aéreo (Peso aéreo), producción total de semilla (Sem prod), producción de semilla morfológicamente (SMV) y fisiológicamente (SFV) viables y semilla morfológicamente no-viable (SMNV). La SMV se obtuvo restando de la Sem prod aquellas con alteraciones visibles en su estructura morfológica que se consideraron como SMNV, y se expresó como porcentaje de la Sem prod. La SFV se evaluó mediante un ensayo de germinación (descrito a continuación) con SMV. Además se calcularon las razones: Sem prod:Peso aéreo, y SFV:Peso aéreo. Las determinaciones en semilla se hicieron en semillas de frutos maduros de las plantas cosechadas para determinar peso aéreo y antes de ser procesadas para calcular peso seco.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out at La Chacra Experimental de Chascomús, Ministry of Agrarian Affairs-Buenos Aires, Province of Buenos Aires (35° 34' S; 58° 30' W). The treatments were three sowing systems of *L. tenuis* synthetic variety Aguapé (Universidad Nacional de La Plata, 2003): by hand (V), intercropping (I) and direct (D); they were evaluated in a randomized complete block design with three replicates and the experimental unit was a 1.92×150 m plot. The lot (14.6 ha) along with the plots came from two years of management (seed, fertilization and elimination of competence) of ryegrass (*Lolium multiflorum*). The seed was inoculated with *Mezorhizobium* sp. and pelletized. Soil preparation consisted in removing the plant cover with a low cut for V and I and application of glyphosate (4 L ha⁻¹) for D. Then (April 19, 2006) seed was sown using a seeder with trains modified to obtain the three systems under evaluation. The planting density was 5.73 kg ha⁻¹ plus 89.71 kg ha⁻¹ of diammonium phosphate when planting. From November 11 to December 11, 2006 the land was grazed with Holstein-Argentino heifers (240 kg) under a stocking rate of 1.18 heifers ha⁻¹ to leave the *L. tenuis* with a height of 8-10 cm. Grazing was interrupted to ensure the natural reseeding as proposed by Kitahara *et al.*, (1989).

In the last week of June of 2006 the number of seedlings in nine rings of 0.9090 m² in each experiment unit was determined and it was expressed in seedlings m⁻². With the same procedure, on February 6, 2007, *L. tenuis* plants were harvested at ground level and in them it was determined: air dry weight (Air weight), total seed production (Sem Prod), morphologically viable seed production (SMV) and physiologically viable seed (SFV) and morphologically non-viable seed (SMNV). The SMV was obtained by subtracting from the Sem prod those with visible impairments in their morphological structure that were considered as SMNV, and expressed as a percentage of the Sem prod. The SFV was evaluated by a germination test (described below) with SMV. In addition the following ratios were calculated: Sem prod:Air weight, and SFV:Air weight. Determinations in seed were made in seeds from ripe fruits of the plants harvested to determine air weight and before being processed to calculate dry weight.

The germination test was carried out in a second experiment; were treatments the sowing systems and the experimental design was completely random with six replicates. The experimental unit was a petri dish with 50 seeds from as described above. Germination was with mechanically scarified seed, in darkness, for 9 d and temperature to simulate the thermal regime of end of winter in the field: from 13.5 to 19.0 °C, average minimum of 15.3±0.42 and maximum 18.1±0.2 °C.

El ensayo de germinación se realizó en un segundo experimento; los tratamientos fueron los sistemas de siembra y el diseño experimental fue completamente al azar con seis repeticiones. La unidad experimental fue una caja de petri con 50 semillas provenientes según lo descrito anteriormente. La germinación fue con semilla escarificada mecánicamente, en oscuridad, por 9 d y temperatura simulando el régimen térmico de final del invierno en campo: de 13.5 a 19.0 °C, medias mínima de 15.3 ± 0.42 y máxima 18.1 ± 0.2 °C.

Cada 24 h se registró el número de semillas germinadas (con radícula >2 mm de longitud); el número de semillas no embebidas y embebidas pero no germinadas se determinó al finalizar el ensayo. Con estos datos se calculó: porcentaje final de germinación (G), tiempo a 50 % de germinación (T_{50}), los porcentajes de semillas embebidas no germinadas (SENG) y duras (SD), considerando a las semillas no embebidas como semillas duras y vigor germinativo mediante el índice de velocidad de germinación (IVG) según Maguire (1962).

Un tercer experimento se realizó para determinar la emergencia en campo de semilla proveniente de los tres sistemas de siembra en un diseño completamente al azar con siete repeticiones y la unidad experimental fue una maceta (500 cm^3) con 100 semillas. Las semillas, al igual que en el segundo experimento, provinieron de plantas cosechadas en campo para determinar peso aéreo, y después de una escarificación mecánica se sembraron a 0.5 cm de profundidad en un suelo homogeneizado y que se mantuvo húmedo todo el tiempo. Las macetas se mantuvieron a la intemperie. Durante 30 d (agosto-septiembre) se registró diariamente la emergencia de plántulas considerando como plántula emergida a la presencia de hojas cotiledóneas y al final se calculó el porcentaje de emergencia acumulada (EAc). Con dicho dato más el de SFV y de que un gramo de semilla contiene 1000 semillas se calculó el número posible de plantas emergidas m^{-2} , lo que se consideró como el potencial de resiembra natural. Mientras duró la fase de campo se registró cada día la temperatura mínima (promedio 11.6 ± 0.55 °C) y la máxima (promedio 16.9 ± 0.73 °C) que estuvieron en un intervalo de 7 a 23 °C.

Los datos del primer experimento se analizaron con ANDEVA, con un modelo estadístico de bloques al azar con submuestreo, y para los otros dos experimentos el modelo fue completamente al azar. Las medias se compararon con Tukey ($p \leq 0.05$; Steel y Torrie, 1988). Para cada sistema de siembra se hizo regresión lineal de SFV sobre Peso aéreo, se compararon las pendientes y se desarrolló una sola ecuación de regresión lineal por no existir diferencia entre pendientes. Mediante el análisis de los componentes de la varianza se determinó el peso relativo de ellos para explicar la varianza de los caracteres vinculados directamente con el potencial de la resiembra natural. Todos los

Every 24 h the number of germinated seeds (with radicle >2 mm long) were recorded; the number of non-embedded and embedded seeds but not germinated was determined at the end of the experiment. With these data the following was calculated: final germination percentage (G), time at 50 % of germination (T_{50}), the percentages of ungerminated embedded seeds (SENG) and hard seeds (SD), considering the non-embedded seeds as hard seeds and germination vigor by the germination speed rate (IVG) according to Maguire (1962).

A third experiment was carried out to determine the emergence of seeds from the three sowing systems in a completely randomized design with seven replicates and the experimental unit was a pot (500 cm^3) with 100 seeds. The seeds, as in the second experiment, came from plants harvested in field to determine air weight, and after a mechanical scarification were seeded at 0.5 cm deep in a homogenized soil that was maintained wet all the time. The pots were kept outdoors. For 30 d (August-September) the emergence of seedlings was recorded daily considering as emerged seedling the presence of cotyledonous leaves and at the end the percentage of cumulated emergence (EAc) was calculated. With this datum plus that of the SFV and that a gram of seed contains 1000 seeds the possible number of emerged seedlings m^{-2} was calculated, which was considered as the potential of natural reseeding. While the field experiment lasted minimum (average 11.6 ± 0.55 °C) and maximum (average 16.9 ± 0.73 °C) temperatures were recorded daily, they were found in a range of 7 to 23 °C.

The first experiment data were analyzed with ANOVA, with a statistical model of random blocks with a sub-sampling, and for the other two experiments the model was a completely random design. Means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$; Steel and Torrie, 1998). For each sowing system linear regression of SFV was applied on Air weight, the slopes were compared and only one equation of linear regression was developed because there was no difference between slopes. Also, it was determined by analysis of variance components the relative weight of them to explain the variance of the characters directly linked to the potential for natural reseeding. All of the statistical analyses were performed with the program Statgraphic Plus 4.0 (Statistical Graphics Corporation, 1997).

RESULTS AND DISCUSSION

The sowing systems showed no difference ($p > 0.05$) only in SMNV, but the direct sowing was higher ($p \leq 0.01$) in the other variables (Table 1). On average, 41.5 % of seeds were morphologically non-viable for the three sowing systems and the magnitude of this variable would be due to

análisis estadísticos se hicieron con el programa Statgraphic Plus 4.0 (Statistical Graphics Corporation, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los sistemas de siembra no fueron diferentes ($p > 0.05$) sólo en SMNV, pero la siembra directa fue superior ($p \leq 0.05$) en las demás variables (Cuadro 1). En promedio, 41.5 % de las semillas fueron morfológicamente no viables para los tres sistemas de siembra y la magnitud de esta variable se debería a que las escasas precipitaciones en enero afectaron negativamente el llenado de semilla. La mayor superioridad relativa se encontró en los pesos de semilla producida, semilla morfológica y fisiológicamente viable donde la siembra directa mostró valores más de dos veces mayores ($p \leq 0.01$) al promedio de los otros dos sistemas de siembra. En número de plántulas ($p \leq 0.05$) y peso aéreo ($p \leq 0.01$) esta superioridad fue 1.6 y 1.7 veces mayor (Cuadro 1). Para las variables directamente vinculadas con la resiembra, los tratamientos explicaron un porcentaje relevante de la varianza: Sem prod (45 %), SMV (42 %) y SFV (42 %).

La siembra directa se utiliza también para la implantación de forrajeras, pero hay dudas acerca de su conveniencia. Así, Cuomo *et al.* (2001) consideran que cualquier sistema de siembra sería exitoso si la aplicación de glifosato reduce la vegetación competitiva. En años húmedos la siembra en cobertura o al voleo de *L. corniculatus* y *T. repens* no difirió de

the fact that the low precipitation in January adversely affected seed filling. The largest relative superiority was found in weights of produced seed, morphologically and physiologically viable seed where direct sowing showed values more than two times greater ($p \leq 0.01$) to the average of the other two sowing systems. In number of seedlings ($p \leq 0.05$) and air weight ($p \leq 0.01$) this superiority was 1.6 and 1.7 times higher (Table 1). For variables directly linked with reseeding, the treatments accounted for a significant percentage of variance: Sem prod (45 %), SMV (42 %) and SFV (42 %).

Direct sowing is also used for the implantation of forage plants, but there are doubts about their convenience. Thus, Cuomo *et al.* (2001) consider that any sowing system would be successful if competitive vegetation is decreased with the application of glyphosate. During humid years cover or hand seeding of *L. corniculatus* and *T. repens* did not differ from other disturbing methods of the environment, as direct sowing, which would be higher in dry years (Risso, 2005). *Lotus tenuis* has low seedling vigor and its epigeal cotyledons have a strategic role in the survival and the competitive ability of seedlings. It would therefore be desirable to avoid the shading of the cotyledons which occurs when the seedlings emerge under the brush or individuals of other species in a grassland (Mujica and Rumi, 1993), and the negative effect of shading of seedlings on the accumulation of air dry weight has been shown (Ixtaina and Mujica, 2009).

Cuadro 1. Establecimiento, crecimiento y producción de semilla en *Lotus tenuis* cv. Aguapé sembrado bajo tres sistemas.
Table 1. Establishment, growth and seed production in *Lotus tenuis* cv. Aguapé sowed under three systems.

Variables	Sistema de siembra		
	Voleo	Intersiembra	Directa
Plántulas m ⁻²	99.74 ab*	92.66 b*	172.82 a*
Peso aéreo (g m ⁻²)	141.51 b**	127.27 b**	217.26 a**
Sem prod (g m ⁻²)	16.89 b**	16.11 b**	36.20 a**
SMV (g m ⁻²)	9.92 b**	9.46 b**	20.88 a**
SFV (g m ⁻²)	8.28 b**	7.90 b**	17.44 a**
SMNV (%)	41.30	1.27	42.32
Sem prod: Peso aéreo	0.107 b**	0.105 b**	0.170 a**
SFV: Peso aéreo	0.052 b*	0.051 b**	0.082 a**

Sem prod = semilla producida; SMV = semilla morfológicamente viable; SFV = semilla fisiológicamente viable; SMNV = semilla morfológicamente no viable. a,b Medias en cada variable con diferente letra son significativamente diferentes (* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$) ❖ Sem prod = produced seed; SMV = morphologically viable seed; SFV = physiologically viable seed; SMNV = morphologically non-viable seed. a,b Means in each variable with different letter are significantly different (* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$).

otros métodos perturbadores del ambiente, como la siembra directa, que sería superior en años secos (Risso, 2005). *Lotus tenuis* posee un bajo vigor de plántula y sus cotiledones epigeos tienen una función estratégica en la supervivencia y la habilidad competitiva de las plántulas. Por ello sería conveniente evitar el sombreado de los cotiledones que ocurre cuando las plántulas emergen debajo de la broza o de individuos de otras especies en un pastizal (Mujica y Rumi, 1993), y se ha mostrado el efecto negativo del sombreado de las plántulas sobre la acumulación de peso seco aéreo (Ixtaina y Mujica, 2009). Aunque la siembra directa es la alternativa que más modifica el ambiente debido al uso de herbicida, en intersiembra y voleo la disminución de la vegetación acompañante mediante el corte tiene sus limitaciones, ya que su rebrote colocaría a las plántulas de *L. tenuis* en una situación desfavorable.

Por unidad de peso aéreo las plantas de siembra directa rindieron mayor ($p \leq 0.01$) cantidad de semilla y de SFV (Cuadro 1), indicando que luego del pastoreo las plantas a siembra directa posiblemente conformaron una arquitectura de cultivo más favorable a la producción de semilla y consecuentemente con un potencial mayor de resiembra natural.

Independientemente del sistema de siembra, una ecuación de regresión lineal describió la relación entre SFV y el peso aéreo; la tendencia fue mayor cantidad de SFV a mayor peso aéreo (Figura 1). Por tanto, el impacto del sistema de siembra sobre el potencial de resiembra natural ocurre debido a un mayor peso aéreo por unidad de superficie, ya sea por plantas de mayor peso o mayor número de plantas por unidad de superficie o ambas.

La magnitud de las variaciones en Peso aéreo y SFV dentro de cada sistema de siembra fue diferente: CV para Peso aéreo 55, 57 y 29 % y para SFV 74, 91 y 38 %, para V, I y D. La variación fenotípica de *Lotus tenuis* cv. Aguapé fue menor en siembra directa, lo que permite señalar que este sistema de siembra proveyó condiciones micro-ambientales más uniformes y, por tanto, un menor componente ambiental de la variación fenotípica.

Los tres sistemas de siembra no mostraron diferencias ($p > 0.05$) en calidad de semilla (Cuadro 2) y la germinación promedio fue $83.55 \% \pm 1.88$, valor menor al esperado según experiencias previas con el cv. Aguapé. Sin embargo, la siembra directa superó ($p \leq 0.05$) en 13 % a la siembra al voleo en porcentaje

Although the direct seeding is the alternative that most modifies the environment through the use of herbicide, in intercropping and hand sowing the reduction of the accompanying vegetation by cutting has its limitations, since its regrowth would place the seedlings of *L. tenuis* in an unfavorable situation.

Per unit of air weight the plants of direct sowing yielded higher ($p \leq 0.01$) amount of seed and SFV (Table 1), indicating that after grazing direct sowing plants possibly conformed the architecture of cultivation more favorable to seed production and consequently with higher potential of natural reseeding.

Regardless of the sowing system, a linear regression equation described the relationship between SFV and air weight; the trend was higher amount of SFV at higher air weight (Figure 1). Therefore, the impact of the sowing system on the potential of natural reseeding occurs due to higher air weight per unit area, either by plants of greater weight or higher number of plants per unit area or both.

The magnitude of variations in Air weight and SFV within each sowing system was different: CV for Air weight 55, 57, and 29 % and for SFV 74, 91, and 38 %, for V, I and D. Phenotypic variation of *Lotus tenuis* cv. Aguapé was lower in direct sowing, which allows noting that this sowing system provided the more uniform micro-environmental conditions and, therefore, a lower environmental component of the phenotypic variation.

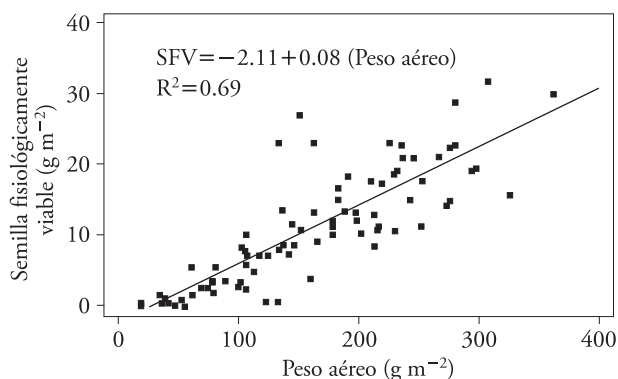


Figura 1. Producción de semilla fisiológicamente viable a diferente peso aéreo de *Lotus tenuis* cv. Aguapé conjuntando los tres sistemas de siembra.

Figure 1. Physiologically viable seed production at different air weight of *Lotus tenuis* cv. Aguapé putting together the three sowing systems.

Cuadro 2. Variables de las semillas de *Lotus tenuis* cv. Aguapé sembrado bajo tres sistemas.
Table 2. Variables of the seeds of *Lotus tenuis* cv. Aguapé sowed under three systems.

Atributo	Sistema de siembra		
	Voleo	Intersiembr	Directa
G (%)	82.66	85.33	82.66
IVG	10.65	10.73	10.79
T ₅₀ (d)	4.33	4.16	4.33
SD (%)	3.32	6.66	7.00
SENG (%)	15.32	10.66	8.32
EAc (%)	65.85 b	71.71 ab	74.43 a

G = germinación; IVG = índice de vigor de germinación; T₅₀ = días a 50 % de germinación; SD = semillas duras; SENNG = semillas embebidas no germinadas; EAc = emergencia acumulado a 30 días. a,b Medias dentro de cada variable con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) ❖ G = germination; IVG = index of vigor of germination; T₅₀ = days at 50 % of germination; SD = hard seeds; SENNG = ungerminated embedded seeds; EAc = emergence accumulated at 30 days. a,b Means within each variable with different letter are significantly different ($p \leq 0.05$).

de emergencia, mientras que la intersiembr mostró un valor intermedio y no fue diferente a los otros dos sistemas.

Previo a la escarificación mecánica la presencia de semilla dura en las muestras analizadas fue superior al 95 %, en coincidencia con lo hallado por Mujica y Rumi (1991) en poblaciones naturales y mejoradas de *L. tenuis*. El banco de semillas del suelo puede funcionar como tal si éstas permanecen viables (Baker, 1989). Un factor que contribuye a la persistencia del banco de semillas del suelo es la presencia de tegumentos impermeables (Baskin y Baskin, 2001). Evers y Smith (2006) en un estudio con *T. incarnatum*, concluyen que la baja densidad de plántulas de resiembra se debió a la escasa producción de semilla dura y al ablandamiento de la misma durante el verano debido al calor. En *L. tenuis*, en condiciones de campo, hubo una gradual en la pérdida de impermeabilidad de los tegumentos y un remanente de semillas duras en el banco del suelo al finalizar el primer año (Mujica y Rumi, 1993).

En el presente estudio la cantidad de semilla por unidad de superficie fue 573 semillas m⁻², y la siembra directa mostró el máximo potencial de resiembra natural, hasta 2.3 veces mayor número de plántulas en la siguiente generación que los otros dos sistemas, los cuales no difirieron entre si (Figura 2). El mayor potencial de resiembra natural de la siembra directa se asoció con 1.8 y 2.1 veces más plántulas emergidas y semillas producidas m⁻², que el promedio de los otros dos sistemas que mostraron una respuesta similar ($p > 0.05$). *Lotus tenuis* cv.

The three sowing systems showed no differences ($p > 0.05$) in seed quality (Table 2) and the average germination was 83.55 % \pm 1.88, lower value than that expected according to previous experiences with the Aguapé cv. However, the direct sowing exceeded ($p \leq 0.05$) in 13 % the hand sowing in emergence percentage, while intercropping showed an intermediate value and was not different from the other two systems.

Prior to the mechanical scarification presence of hard seed in the analyzed samples was higher than 95 %, coinciding with that found by Mujica and Rumi (1991) in natural and improved populations of *L. tenuis*. The soil seed bank can work as such if seeds remain viable (Baker, 1989). A factor that contributes to persistence of the soil seed bank is the presence of impermeable teguments (Baskin and Basking, 2001). Evers and Smith (2006) in a study of *T. incarnatum*, conclude that the low density of seedlings for reseeding was due to low production of hard seed and the softening of the same during the summer by the heat. In *L. tenuis*, under field conditions, there was gradual loss of impermeability of the teguments and a remaining of hard seeds in the soil seed bank at the end of the first year (Mujica and Rumi, 1993).

In this study the amount of seed per unit area was 573 seeds m⁻², and direct sowing showed the greatest potential for natural reseeding, up to 2.3 times higher number of seedlings in the next generation than in the other two systems which did not differ from each other (Figure 2). The highest potential for natural reseeding of direct seeding was

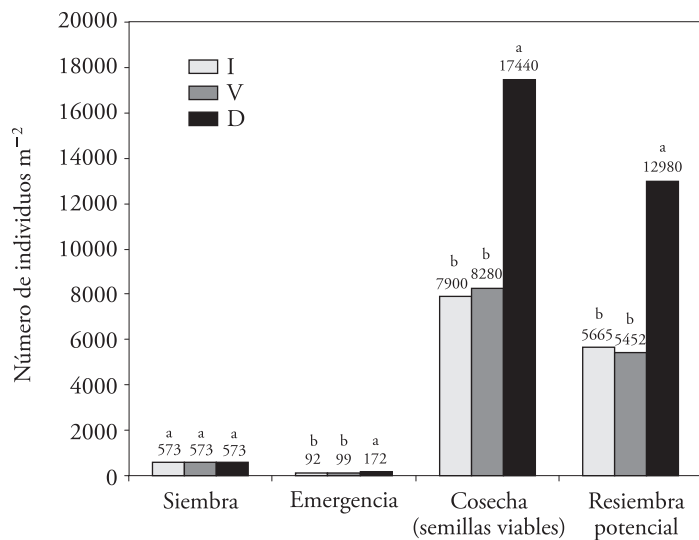


Figura 2. Etapas (Siembra; Emergencia; Cosecha; Resiembra potencial) en la sucesión semillas sembradas-plántulas potenciales para la resiembra natural en *Lotus tenuis* cv. Aguapé sembrado bajo tres sistemas: I, intersejembra; V, voleo; D, directa. a, b Medias dentro de cada etapa con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 2. Stages (Sowing; Emergence; Harvest; Potential reseeding) in succession sown seeds-potential seedlings for the natural reseeding in *Lotus tenuis* cv. Aguapé sown under three systems: I, intercropping; V, hand; D direct. a, b Means within each stage with different letter are significantly different ($p \leq 0.05$).

Aguapé puede lograr un alto potencial de resiembra natural en cualesquiera de los tres sistemas de siembra considerando que el número de plántulas potenciales m^{-2} en la siguiente generación fue casi 10 veces la cantidad de semilla originalmente colocada al sembrar.

En Wyoming, Australia, se encontraron en especies anuales de *Medicago* que algunos cv. como Herald y Santiago de *M. polymorpha* producían 20 000 o 4000 semillas viables m^{-2} , pero con la más baja producción se aseguraba la resiembra natural de la pastura (Walsh *et al.*, 2001). En Cerro Largo, Uruguay, se determinó que el número de semillas viables m^{-2} en el banco de semilla del suelo, con pastoreo interrumpido en octubre o diciembre fue 2383 y 333 para *L. corniculatus* cv. INIA Draco y 55 267 y 2700 para *L. subviflorus* cv. El Rincón (Ayala, 2006). *Lotus corniculatus* y *T. repens* regeneraron el cultivo desde el banco de semillas del suelo aun en rotaciones leguminosas-trigo (Carr *et al.*, 2005 a y b). En Dakota del Norte, EE.UU., durante tres años, *L. corniculatus* cv. Norcen presentó de 304 a 1659 plántulas m^{-2} regeneradas del banco de semillas del suelo luego del cultivo de trigo de primavera (Carr *et al.*, 2005 b).

Yang *et al.* (1988) indican que las eficiencias de implantación de pasto ovido por resiembra natural bajo diferente sistema de pastoreo fluctuaron entre 0.96 y 5.32 %. Suponiendo para el *L. tenuis* una eficiencia intermedia de 3.74 %, según los resultados del presente estudio (Figura 2), se podría esperar como mínimo 309, 295 y 652 plántulas establecidas

associated with 1.8 and 2.1 times more emerged seedlings and produced seed m^{-2} , than the average of the other two systems which showed a similar response ($p > 0.05$). *Lotus tenuis* cv. Aguapé can achieve a high potential for natural reseeding in any of the three sowing systems considering that the number of potential seedlings m^{-2} in the following generation was nearly 10 times the amount of seed originally placed at the sowing time.

In Wyoming, Australia, it was found in annual species of *Medicago* that some cv. such as Herald and Santiago de *M. polymorpha* produced 20 000 or 4000 viable seeds m^{-2} , but with the lowest production, the natural reseeding of the pasture was assured (Walsh *et al.*, 2001). In Cerro Largo, Uruguay, it was determined that the number of viable seeds m^{-2} in the soil seed bank, with grazing interrupted in October or December was 2383 and 333 for *L. corniculatus* cv. INIA Draco and 55 267 and 2700 for *L. subviflorus* cv. El Rincon (Ayala, 2006). *Lotus corniculatus* and *T. repens* regenerated the crop from the soil seed bank even in legume-wheat rotations (Carr *et al.*, 2005 a and b). In North Dakota, USA, during three years, *L. corniculatus* cv. Norcen showed from 304 to 1659 seedlings m^{-2} regenerated from the soil seed bank after the spring wheat crop (Carr *et al.*, 2005 b).

Yang *et al.* (1998) point out that implantation efficiencies of orchard grass by natural reseeding under different grazing system ranged between 0.96 and 5.32 %. Assuming for *L. tenuis* an intermediate efficiency of 3.74 %, according to the results of this

m^{-2} para V, I y D. Es importante aclarar que los valores de semilla producida en este estudio corresponden sólo a una parte de la etapa de fructificación, la cual normalmente se extiende hasta marzo aunque con menor producción (Mujica y Rumi, 1994). Se considera que 200 plántulas establecidas m^{-2} son suficientes para regenerar y mantener productivas pasturas de leguminosas, desde el banco de semillas del suelo (Walsh *et al.*, 2001; Carr *et al.*, 2005 b). Este criterio se aplica en la ley que rige el sistema integrado agrícola-ganadero de Australia (Walsh *et al.*, 2001).

El análisis de los resultados de este estudio sugiere que *L. tenuis* cv. Agupé tiene una alta capacidad potencial para la resiembra natural heredada de las poblaciones naturales de las cuales deriva. Esta capacidad, presente en las poblaciones naturales de *L. tenuis* de la región, es estratégica para su difusión espontánea y adaptación. La persistencia en el banco de semillas del suelo es una reserva de adaptabilidad genética acumulada para la población sobre la que puede actuar la selección natural (Simpson *et al.*, 1989). Así como para lograr pasturas anuales de especies de *Medicago* se debe prestar atención a la planificación apropiada del manejo de la implantación, la elección de cultivares y el manejo del pastoreo (Walsh *et al.*, 2001), también en *L. tenuis* deberían tenerse en cuenta estos factores.

Cauhepé (2004) plantea la hipótesis de que una mayor presencia de *L. tenuis* en los pastizales de la Pampa Deprimida incrementará la producción de carne, mediante la mejora del rendimiento y calidad del forraje. Coincidiendo con Vignolio y Fernández (2006), en *L. tenuis* es necesario ampliar y profundizar el conocimiento sobre la producción de semillas, la dinámica del banco de semillas del suelo y la supervivencia de las plantas bajo pastoreo.

CONCLUSIONES

Lotus tenuis cv. Agupé presenta un elevado potencial de resiembra natural lo que contribuye a su persistencia e indica una buena aptitud para el mejoramiento de pastizales. La magnitud del potencial de resiembra natural depende del sistema de siembra; así, siembra directa favorece un mayor potencial de resiembra que la intersiembra y siembra al voleo, debido a una mayor producción de semilla.

study (Figure 2), it would be expected at least 309, 295 and 652 seedlings established m^{-2} for V, I and D. It is important to point out that the values of seed produced in this study represent only to a portion of the fructification stage, which usually lasts until March but with lower production (Mujica and Rumi, 1994). It is considered that 200 seedlings established m^{-2} are sufficient to regenerate and maintain productive legume pastures, from the soil seed bank (Walsh *et al.*, 2001; Carr *et al.*, 2005 b). This criterion applies in the law that rules the integrated agricultural-cattle system of Australia (Walsh *et al.*, 2001).

The analysis of the results of this study suggests that *L. tenuis* cv. Agupé has a high potential for natural reseeding inherited from the natural populations from which it derives. This ability, present in the natural populations of *L. tenuis* in the region, is strategic for spontaneous diffusion and adaptation. Persistence in the soil seed bank is a reservoir of genetic adaptability accumulated for the population on which the natural selection can act (Simpson *et al.*, 1989). And as to achieve annual pastures of species of *Medicago* attention should be paid to the proper planning of the implantation management, the election of cultivars and grazing management (Walsh *et al.*, 2001), also in *L. tenuis* these factors should be taken into account.

Cauhepé (2004) hypothesizes that a greater presence of *L. tenuis* in the grasslands of the Pampa Deprimida will increase meat production by improving yield and quality of forage. Coinciding with Vignolio and Fernández (2006), in *L. tenuis* it is necessary to broaden and deepen the knowledge on seed production, the dynamics of soil seed bank and the survival of plants under grazing.

CONCLUSIONS

Lotus tenuis cv. Agupé has a higher potential of natural reseeding which contributes to its persistence and indicates a good aptitude for the improvement of grasslands. The magnitude of the potential of natural reseeding depends on the sowing system; thus, the direct sowing favors a higher potential of reseeding than the intercropping and hand sowing due to a higher production of seed.

—End of the English version—

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Daniel Sarena y Patricio Vértiz la colaboración brindada para la implantación del ensayo y el manejo del pastoreo en la Chacra Experimental de Chascomús, MAA-BA.

LITERATURA CITADA

- Ayala, W. 2006. Productividad y persistencia de leguminosas en ambientes con restricciones, el caso de Uruguay. *In*: Hepp, K. C. (ed). Taller Grupo de Estudio Pastizales Patagónicos-FAO. Degradación de Ecosistemas Pastoriles de la Patagonia. Coyhaique, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Tamel Aike. Serie de Actas 36: 21-27.
- Baker, H. G. 1989. Some aspects of the natural history of seed banks. *In*: Leck, M. A., V. T. Thomas, and R. L. Simpson (eds). Ecology of Soil Seed Banks. Academic Press, San Diego, California, USA. pp: 9-21.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2001. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Morgan, T. H. (ed). Second edition. Academic Press. San Diego, California, USA. 666 p.
- Beuselinck, P. R., and R. L. McGraw. 1983. Seedling vigor of three *Lotus* species. *Crop Sci.* 23: 390-391.
- Carr, P. M., W. W. Poland, and L. J. Tisor. 2005a. Forage legume regeneration from soil seed bank in western North Dakota. *Agron. J.* 97: 505-513.
- Carr, P. M., W. W. Poland, and L. J. Tisor. 2005b. Natural reseeding by forage legumes following wheat in western North Dakota. *Agron. J.* 97: 1270-1277.
- Cauhepé, M. 2004. Does *Lotus glaber* improve beef production at the Flooding Pampas? *Lotus Newsletter.* 34: 38-43. <http://www.inia.org.uy/sitios/lnl/vol34/cahuepe.pdf>. (Consultado: noviembre, 2007).
- Collado, M. B., y M. M. Mujica. 2002. Aprovechamiento de la heterosis y rol de dos caracteres determinantes del vigor de las plántulas de *Lotus glaber*. Actas del XXI Congreso Argentino de Genética, La Plata, Argentina. pp: 122.
- Cuomo, J. G., D. G. Johnson, and W. A. Head, Jr. 2001. Interseeding Kura clover and Birdsfoot trefoil into existing cool-season grass pastures. *Agron. J.* 93: 458-462.
- Evers, G. W., and G. R. Smith. 2006. Crimson clover seed production and volunteer reseeding at various grazing termination dates. *Agron. J.* 98: 1410-1415.
- Flaresso, J. A., e J. C. De Saibro. 1992. Influência de regimes de cortes e adubação no rendimento de matéria seca, reservas de glicídios não estruturais e ressemeadura natural de *Lotus corniculatus* L. *Pesquisa Agropecuária Bras.* 27: 181-188.
- Ixtaina, V. Y., y M. M. Mujica. 2010. Respuesta del vigor de plántula de poblaciones de *Lotus tenuis* a variaciones contrastantes de disponibilidad de agua luz y nutrientes. *Agrociencia.* 44: 31-41.
- Kitahara, N., Y. Yoshimura, and S. Suzuki. 1989. Grassland renovation by taking advantage of natural reseeding. *Japan Agric. Res. Quart.* 23: 115-120.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- Mc Graw, R. L., P. R. Beuselinck, and G. C. Marten. 1989. Agronomic and forage quality attributes of diverse entries of birdsfoot trefoil. *Crop Sci.* 29: 1160-1164.
- Miñón, D. P., y M. R. Colabelli. 1993. Intersiembrado de *Lotus tenuis* en tres comunidades nativas de la Pampa Deprimida. *Rev. Argentina Prod. Anim.* 13: 133-140.
- Mujica, M. M., y C. P. Rumi. 1991. Estado de dureza de las semillas de *Lotus tenuis*: efecto de las condiciones de conservación. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)* 66/67: 63-66.
- Mujica, M. M., y C. P. Rumi. 1993. Dinámica del estado de dureza de semillas de *Lotus tenuis* (Waldstet Kit) obtenidas del suelo en respuesta a un régimen de baja temperatura. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)* 69: 69-75.
- Mujica, M. M., y C. P. Rumi. 1994. Producción de semilla de *Lotus tenuis*: análisis de su distribución y de la variación de determinantes del rendimiento por planta. *In*: Bertín, O., J. Castaño, A. García E, M. C. Saucedo, y G. Schrauf (comps). Semillas Forrajeras, Producción y Mejoramiento. Orientación Gráfica Editora S. R. L. Buenos Aires, Argentina. pp: 162-163.
- Mujica, M. M., y C. P. Rumi. 1998. El crecimiento inicial de *Lotus glaber* afectado por la remoción y el sombreado de los cotiledones. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)* 103: 127-133.
- Quinos, P., P. Insausti, and A. Soriano. 1998. Facilitative effect of *Lotus tenuis* on *Paspalum dilatatum* in lowland grassland of Argentina. *Oecología* 114: 427-431.
- Risso, D. F. 2005. Mejoramiento de campos: asegurando una instalación exitosa. *Revista INIA Uruguay N° 2*: 2-5.
- Sevilla, G. H., y O. N. Fernández. 1991. Leguminosas forrajeras herbáceas; emergencia y establecimiento de plántulas. *Rev. Argentina Prod. Anim.* 11: 419-429.
- Sevilla, G. H., O. N. Fernandez, D. P. Miñón, and L. Montes. 1996. Emergence and seedling survival of *Lotus tenuis* in *Festuca arundinacea* pastures. *J. Range Manage.* 49: 509-511.
- Simpson, R. L., M. A. Leck, and V. T. Parker. 1989. Seed banks: General concepts and methodological issues. *In*: Leck, M. A., V. T. Thomas, and R. L. Simpson (eds). Ecology of Soil Seed Banks. Academic Press San Diego, California, USA. pp: 3-8.
- Soriano, A. 1994. Sustitución de dicotiledóneas espontáneas por *Lotus tenuis* en un pastizal de la Depresión del Salado. *In*: Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (comps). Buenos Aires. 48: 6-9.
- Statistical Graphics Corporation. 1997. Statgraphics Plus for Windows. Versión 4.0. Rockville.
- Steel, R. G. D., y J. H. Torrie. 1988. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda edición. MacGraw-Hill/ Interamericana de México (Ed). Naucalpan de Juárez, Estado de México, México. 622 p.
- Universidad Nacional de La Plata. 2003. Variedad Sintética "Aguapé" de *L. tenuis*. INASE. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires, Argentina. Título de propiedad N° 10749. Técnica obtentora: M. M. Mujica.
- Vignolio, O. R. 2005. *Lotus glaber* productivity changes under different management conditions. *Lotus Newsletter.* 35:

- 39-41. <http://www.inia.org.uy/sitios/Inl/vol35/vignolio.pdf>. (Consultado: noviembre, 2007).
- Vignolio, O. R., y O. N. Fernández. 2006. Bioecología de *Lotus glaber* mill. (Fabaceae) en la Pampa Deprimida (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Rev. Argentina Prod. Anim.* 26: 113-130.
- Walsh, M. J., R. H. Delaney, R. W. Groose, and J. M. Krall. 2001. Performance of Annual Medic Species (*Medicago* spp.) in Southeastern Wyoming. *Agron. J.* 93: 1249-1256.
- Yang, Z., K. Sugawara, I. Ito, J. Maruyama, and K. Fukunaga. 1988. Factors Affecting the Regeneration of Pasture Vegetation by Natural Reseeding. *Tohoku J. Agric. Res.* 39: 1-7.