

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y SALINIDAD EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO INICIAL DE UN MATERIAL NATURALIZADO DE *Lotus tenuis* WALDST. & KIT

MARINONI, L.¹; ZABALA, J. M.²; PATIÑO, J.¹ & PENSIERO, J. F.^{1,2}

RESUMEN

Lotus tenuis Waldst. & Kit es una leguminosa perenne tolerante a la salinidad, con dificultades en su implantación en el centro-norte de Argentina debido al estrés térmico e hídrico sufrido durante el verano. En el presente estudio se evaluó el comportamiento germinativo y crecimiento inicial de una población naturalizada de *L. tenuis* del centro-norte de Santa Fe, comparado con el cultivar comercial Aguapé. Se analizaron diferentes temperaturas constantes y alternas de germinación y se evaluó el crecimiento inicial en condiciones controladas de luz y temperatura, en ausencia y presencia de estrés salino. Altas temperaturas afectaron negativamente la germinación en ambos materiales, en ausencia y presencia de salinidad, hallándose la mayor tolerancia a salinidad a la temperatura constante más baja y alterna. La presencia de sales afectó la producción de biomasa en crecimiento inicial, aunque la partición no se vio afectada. El cv. comercial Aguapé, presentó mayor producción de biomasa que el material naturalizado.

Palabras clave: pastizales, estrés térmico, estrés salino, Lotus tenuis.

ABSTRACT

Effect of temperature and salinity in germination behaviour and initial growth in a naturalized material of *Lotus tenuis* Waldst. & Kit.

Establishment of the perennial forage legume *Lotus tenuis* Waldst. & Kit is difficult in central-north areas of Argentina because thermal and water stressful conditions during summer. In the present study, germination behavior and initial growth was evaluated for a naturalized population of *L. tenuis* from center-north of Santa Fe province and it was compared with the Aguapé commercial

1.- Programa de Documentación, Conservación y Valoración de la Flora Nativa. Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Litoral). 86-Kreder 2805 (3080HOF) Esperanza, provincia de Santa Fe.

Email: lmarinoni@fca.unl.edu.ar

2.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Manuscrito recibido el 14 de junio de 2017 y aceptado para su publicación el 2 de agosto de 2017.

cultivar. Constant and alternating germination temperatures and initial growth, under controlled conditions of light and temperature, were assessed under salinity stress. Higher temperatures negatively affect the germination of both materials, under stressful and non-stressful conditions. Salinity tolerance was higher at lower constant temperature and alternating. Salinity negatively affects biomass production in initial growth although biomass allocation was not affected. The cv. Aguapé showed a better behavior than naturalized material.

Key words: rangelands, thermal stress, salt stress, Lotus tenuis.

INTRODUCCIÓN

La producción ganadera extensiva del centro-norte de Argentina utiliza como fuente principal de forraje los pastizales naturales, con un escaso aporte de tecnología. Esto se ha acentuado ante el avance de la agricultura a áreas antes consideradas marginales, desplazando la ganadería a ambientes con múltiples limitantes (13; 42). El crecimiento y la productividad de las pasturas en estas zonas están limitados por ciclos alternados de excesos y déficits hídricos. Los suelos, en su mayoría son heterogéneos, pobremente drenados, con bajo contenido de nutrientes y altos contenidos de sales (27). Los cultivares de forrajeras adaptados a esta región son escasos, en particular los de leguminosas.

El uso de especies del género *Lotus* en pasturas se ha incrementado en el mundo debido a su plasticidad y productividad en un amplio rango de suelos (7). *Lotus tenuis* Waldst. & Kit, conocido vulgarmente como “lotus”, “trébol de pájaro” o “lotus de hoja angosta”, es una leguminosa perenne originaria de Europa, introducida en nuestro país alrededor de 1930, difundándose en la región de la Pampa Deprimida (8), en suelos asociados a diferentes comunidades vegetales, donde el pH en superficie varía entre 6-9, con diferente

contenido de sales y pobres en fósforo y nitrógeno (24; 28; 32; 33; 34). Si bien es común hallarla en los bajos dulces (29), ensayos experimentales han demostrado tolerancia a condiciones de estrés por NaCl (3; 5; 44), dado por la capacidad de excluir iones Na⁺ (18; 19; 20; 31; 41), al igual que otras leguminosas forrajeras (43; 48; 54).

Lotus tenuis es considerada clave para el manejo de los sistemas ganaderos de la región de la Pampa Deprimida de la provincia de Buenos Aires debido a su capacidad para incorporar nitrógeno atmosférico al suelo, en simbiosis con bacterias fijadoras, interferir en el establecimiento de malezas o especies de pobre valor forrajero, mejorar la calidad y digestibilidad del forraje e incrementar la productividad primaria de los pastizales (1; 9; 12; 16; 21; 26). Los cambios en la calidad del forraje por la incorporación de esta especie se traducen en mayores ganancias de peso vivo de novillos y vaquillonas, respecto a otras leguminosas forrajeras (4; 9; 10).

Si bien se han identificado variedades de *L. tenuis* menos sensible a altas temperaturas estivales, en comparación con otras leguminosas templadas como *Lotus uliginosus*, *Trifolium fragiferum*, *T. hybridum*, *T. pratense* y *T. repens* (3), y se han obtenido buenos resultados en la germinación de *L. tenuis* a 20-25 °C (17;

35; 36; 47), existen escasos antecedentes donde se evalúe la variabilidad entre materiales en cuanto a la tolerancia a temperaturas extremas durante la germinación.

El estado de desarrollo más crítico para la persistencia de las poblaciones de *L. tenuis*, tanto en pastizales como en pasturas cultivadas, es el de plántula (23; 46; 52). En tal sentido, las plántulas de *L. tenuis* son pequeñas, de lento crecimiento, quedando su supervivencia condicionada por la competencia con otras especies (46), por enfermedades fúngicas (23) y diversos tipos de estrés, especialmente hídrico y térmico (49; 52). Esto último en particular condiciona su establecimiento en suelos del centro-norte de Argentina durante el verano, por lo que resulta poco frecuente hallar poblaciones naturalizadas en esta región.

En los Bajos Submeridionales de la provincia de Santa Fe han fracasado los intentos de siembra de *L. tenuis*. Si bien no se conocen antecedentes publicados, los técnicos consultados indican que luego de la siembra la emergencia de plántulas es variable, y luego del primer verano las plantas desaparecen. Sin embargo, en un establecimiento ganadero del Departamento San Cristóbal, provincia de Santa Fe, se ha hallado una población que se ha naturalizado en sus pastizales, y en especial en comunidades de suelos salinos como las praderas de *Distichlis spicata* y en pajonales de *Sporobolus spartinus*. Semillas de dicha población fueron colectadas y conservadas en el Banco de Germoplasma “Ing. Agr. José M. Alonso” de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral. Dicha población fue instalándose en los pastizales presentes en el predio debido al manejo realizado por el dueño del establecimiento, aprovechando la posibilidad de

diseminación endozoocórica que presenta la especie. Dicho manejo consiste en utilizar al ganado bovino como cosechadora y sembradora. El ganado, una vez que consume las plantas semilladas presentes en un potrero es llevado a otro potrero para que a través de las heces las semillas sean dispersadas en otros potreros. Luego de 5 años de aplicar este manejo, el establecimiento posee una población de *L. tenuis* adaptada a las condiciones que presentan los suelos y los pastizales presentes en el mismo establecimiento. Con la finalidad de evaluar el potencial que presenta este material de *L. tenuis* en relación con un cultivar comercial, en el presente trabajo se evaluó el comportamiento germinativo a diferentes temperaturas y salinidad, y el crecimiento inicial, en condiciones de estrés salino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se evaluó una población naturalizada de *Lotus tenuis* colectada en un campo ganadero de suelos clase VI-VII del departamento San Cristóbal, provincia de Santa Fe. Las semillas se obtuvieron de la entrada del Banco de Germoplasma “Ing. Agr. José M. Alonso” de la FCA-UNL identificada con el número “00385”, en adelante referido como “LT385”. Para la evaluación comparada se utilizó material correspondiente al cultivar (cv.) comercial Aguapé de *Lotus tenuis*. El peso de semillas registrado para ambos materiales es de 0,84 y 1,11 g/1000 semillas, para LT385 y cv. Aguapé, respectivamente.

Análisis del comportamiento germinativo

Las semillas fueron escarificadas con lija (n°80), ya que al igual que ocurre con numerosas leguminosas, *L. tenuis* posee dormición impuesta por la cubierta seminal dura que impide el ingreso de agua y el intercambio gaseoso (38), permitiendo la escarificación mecánica incrementar significativamente la tasa germinativa (11).

Previo a la evaluación del comportamiento germinativo se determinó la viabilidad de las semillas mediante un ensayo topográfico de tetrazolio según las normas publicadas para *Lotus sp.* (39).

Para la germinación se evaluaron temperaturas constantes de: 20°C, 25°C y 30°C, y alternas de 20-25°C (12/12 horas, respectivamente).

Para cada nivel de temperatura se evaluó la germinación en: 1) presencia de sales (solución 120 mM de NaCl) y 2) ausencia de sales/control (agua destilada, 0 mM de NaCl). Para cada tratamiento, compuesto por un nivel de cada factor (temperatura y salinidad), se realizaron 4 repeticiones de 25 semillas, las que se ubicaron en cajas de Petri, dispuestas aleatoriamente en la estufa de germinación. Previo a la siembra las semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 10 % de Cl, durante 5 minutos y enjuagadas con agua destilada.

Para cada tratamiento se evaluó el porcentaje de germinación inicial (PGI) a los 4 días de la siembra, el porcentaje de germinación final (PGF) a los 12 días (39), y el peso fresco de plántula (PFP) a los 12 días.

Análisis del crecimiento inicial de plántulas

La evaluación del crecimiento inicial se realizó en cámara de crecimiento con temperatura controlada de 20-30 °C (16/8 horas) e iluminación artificial con lámparas LED con una relación rojo: azul de 7:1, dis-

tribuidas de tal forma que irradian una intensidad de iluminación fotosintéticamente activa (PAR) de 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, con un fotoperiodo de 16/8 horas de luz/oscuridad.

La siembra se realizó en macetas de 300 cm³ rellenas de perlita en condiciones de hidroponía con solución nutritiva Hoagland (22) diluida al 50 %, utilizada como control. Para el tratamiento salino se adicionó a la solución nutritiva 120 mM de NaCl (7g de NaCl por litro de solución nutritiva). Las macetas fueron colocadas en bandejas plásticas con las soluciones para que las mismas asciendan por capilaridad.

Los niveles de las soluciones (marcados previamente en las bandejas) se controlaron diariamente y, cuando fue necesario, se repuso con agua destilada hasta alcanzar el nivel adecuado. Semanalmente se renovaron las soluciones nutritivas y salinas, además de realizar un riego en las macetas para generar la lixiviación de los nutrientes y sales, para evitar fitotoxicidad por exceso de sales. A la siembra, todas las bandejas fueron llenadas con solución nutritiva. Luego de la emergencia se impuso el tratamiento salino en las bandejas correspondientes. Cada bandeja consistió en un tratamiento, dispuestas aleatoriamente. Se sembraron 10 a 15 semillas por maceta, en un total de 8 macetas por tratamiento (bandeja) y luego de la emergencia se efectuó un raleo hasta dejar 5 plántulas por maceta. El total de plántulas consistió en el tamaño muestral del tratamiento. A los 30 días se extrajeron las plantas y se evaluó el peso fresco de la porción aérea (g) (PFA) y radical (g) (PFR) de cada planta. Posteriormente se procedió a su secado en estufa a 60°C durante una semana, para luego registrar el peso seco de la parte aérea (PSA) (g) y radical (PSR) (g) y calcular la relación entre la biomasa seca aérea y radical (A/R).

Análisis de datos

Se evaluó la respuesta germinativa (PGI, PGF y PFP) a través de un ANVA ($p < 0,05$), para los factores: materiales de *L. tenuis* (2), temperatura de germinación (4), niveles de salinidad (2) y las interacciones correspondientes. Previamente se realizó un test de normalidad (Shapiro-Wilks modificado) y en base a esto se procedió a la transformación de los datos del PGI y PGF por el Arco seno (Raíz [p]) corroborándose, además, la homogeneidad de varianzas. Las diferencias de medias se evaluaron a través del test de Tukey ($p < 0,05$).

La evaluación del crecimiento inicial (PFA, PFR, PSA, PSR y A/R) se realizó mediante un ANVA ($p < 0,05$) para los factores: materiales de *L. tenuis* (2), tratamientos (2) y la interacción entre factores. Se comprobó la distribución normal por medio del test de normalidad Shapiro-Wilks modificado. Adicionalmente se corroboró la homogeneidad de varianzas. Las diferencias de medias se evaluaron a través del test de Tukey ($p < 0,05$).

Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico InfoStat (15).

RESULTADOS**Análisis del comportamiento germinativo**

El test de viabilidad a través del ensayo bioquímico con tetrazolio reveló que no existe un efecto diferencial entre los materiales evaluados dado por la viabilidad de las semillas, debido a que los porcentajes de semillas viables resultaron ser similares (56,20 % de semillas viables para el cv. Aguapé y 59,10% para el material LT385). Debido a que el test de tetrazolio subestimó los resultados obtenidos en el ensayo de germinación, no se evaluó el porcentaje de semillas germinadas respecto a semillas viables.

Para el porcentaje de germinación inicial (PGI) se registraron diferencias significativas entre niveles de salinidad ($p < 0,0001$) y temperaturas ($p < 0,0001$), hallándose además interacción significativa entre factores ($p < 0,0007$). En ambos materiales se observó un buen comportamiento germinativo en ausencia de sales para todas las temperaturas evaluadas, a excepción de temperaturas constantes de 30°C, donde la germinación fue menor al 5 % (Figura 1 a, b).

La interacción se vio reflejada en la respuesta germinativa en condiciones de salinidad. El estrés salino afectó la capacidad germinativa de ambos materiales, pero de manera menos marcada a menores temperaturas de germinación (Figura 2 a, b).

Para el porcentaje final de germinación (PGF) se hallaron diferencias significativas entre nivel de salinidad ($p < 0,0001$) y temperaturas ($p < 0,0001$), observándose además interacción entre factores ($p < 0,0001$). La respuesta fue similar al PGI. A excepción de temperaturas constantes de 30°C, para el resto de las temperaturas evaluadas se observó un buen comportamiento germinativo en ausencia de sales (Figura 1 c, d). La interacción se dio por una disminución marcada de la germinación a 25 °C, en condiciones de salinidad, no hallándose germinación a 30°C (Figura 2 c, d).

El peso fresco de plántula (PFP) sólo se evaluó en temperatura constante de 20 °C y alternancia a 20-25 °C, ya que en los demás tratamientos la germinación de las semillas disminuyó considerablemente en condiciones de salinidad, no pudiéndose obtener un número muestral adecuado. Se halló diferencias significativas entre materiales ($p < 0,0001$), nivel de salinidad ($p < 0,0001$) y temperaturas ($p = 0,0003$).

Adicionalmente, se observó interacción significativa entre material y tratamiento ($p < 0,018$), material y temperatura ($p = 0,0006$) y entre materiales, tratamientos y temperaturas ($p = 0,0008$). Debido a las interacciones halladas se realizó un ANVA para cada temperatura de germinación.

A 20 °C de temperatura constante, se hallaron diferencias significativas entre materiales ($p < 0,0001$) y niveles de salinidad ($p < 0,0001$). Entre los materiales evaluados el que mayor PFP alcanzó fue el cv. Aguapé, aunque el PFP se vio afectado por la presencia de sales en ambos materiales (Figura 3 a).

En alternancia de temperatura 20–25° C, el ANVA reveló diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0,0002$) e interacción entre materiales y tratamiento ($p = 0,0031$). En el tratamiento testigo el cv. Aguapé presentó el mayor PFP. Sin embargo, en condiciones de salinidad, el material LT385 tuvo mayor PFP respecto al cv. Aguapé (Figura 3 b).

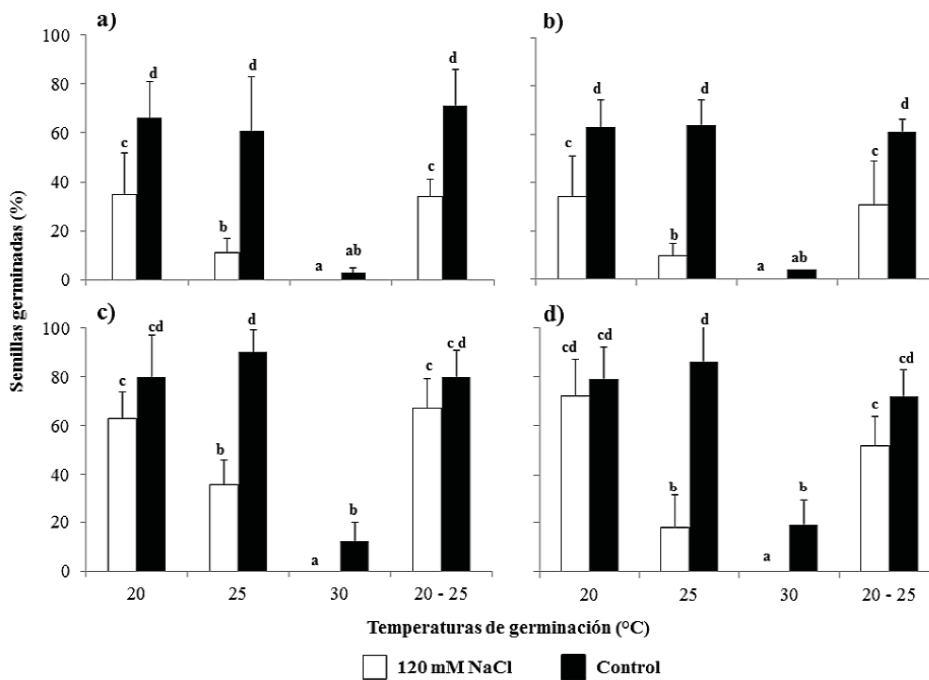


Figura 1. Porcentaje de germinación inicial (4 días) de *Lotus tenuis* en ausencia (control) y presencia de sales (120 mM NaCl) a temperaturas constantes de 20, 25 y 30 °C y alternancia de 20–25 °C para: a) cv. Aguapé y b) LT385. Porcentaje de germinación final (12 días) para: c) cv. Aguapé y d) LT385. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para cada gráfico (Tukey, $p < 0,05$)

Efecto de la temperatura y salinidad en la germinación

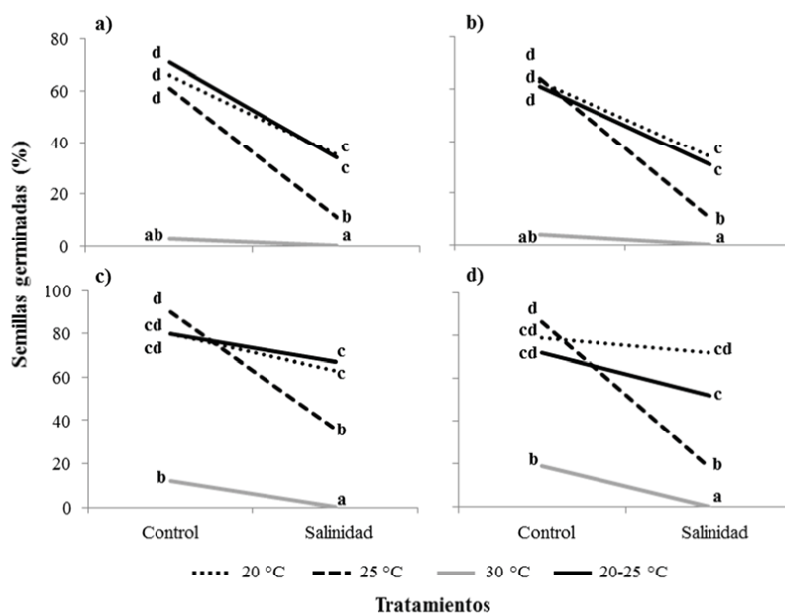


Figura 2. Interacción entre niveles de salinidad y temperaturas de germinación para el porcentaje de germinación inicial (PGI) en los materiales de *Lotus tenuis*: a) cv. Aguapé y b) LT385 y para el porcentaje de germinación final (PGF) en: c) cv. Aguapé y d) LT385. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas dentro de cada gráfico (Tukey, $p < 0,05$).

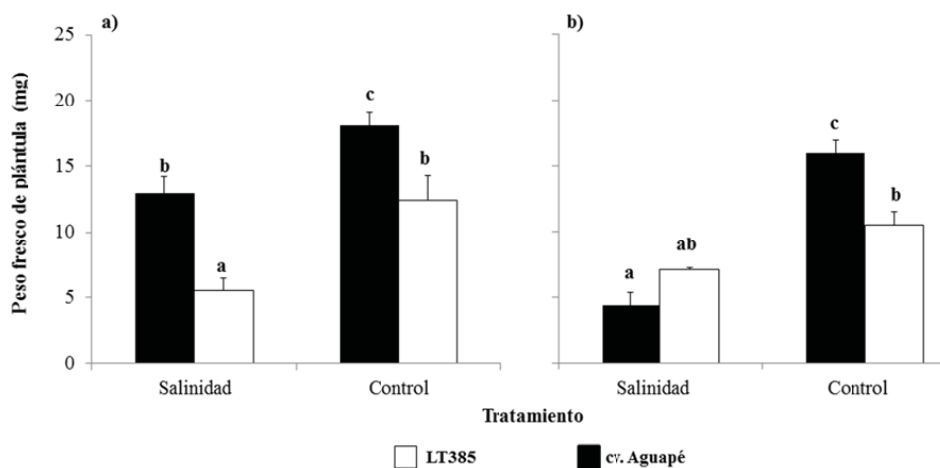


Figura 3. Peso fresco de plántula a los 12 días de inicio de germinación, para el cv. Aguapé y el material LT385 de *Lotus tenuis*, en presencia y ausencia de salinidad, para la temperatura de germinación de: a) 20 °C constante y b) alternancia a 20-25 °C. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas para cada gráfico (Tukey, $p < 0,05$).

Evaluación del crecimiento inicial

El peso fresco y seco aéreo (PFA) varió significativamente entre materiales ($p < 0,01$) y tratamientos ($p < 0,0001$). El cv. Aguapé mostró en promedio mayor biomasa aérea

que el material LT385 (Figura 4 a, b). Adicionalmente, la presencia de sales afectó la producción de biomasa aérea (Figura 5 a, b).

El ANVA para el peso fresco y seco radical reveló diferencias significativas

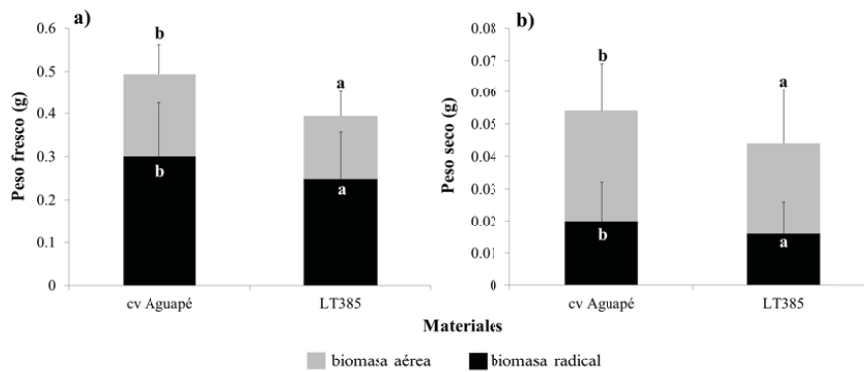


Figura 4. Producción de biomasa en crecimiento inicial para el cv. Aguapé y el material LT385 de *Lotus tenuis*: a) peso fresco y b) peso seco. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada gráfico (Tukey, $p < 0,05$).

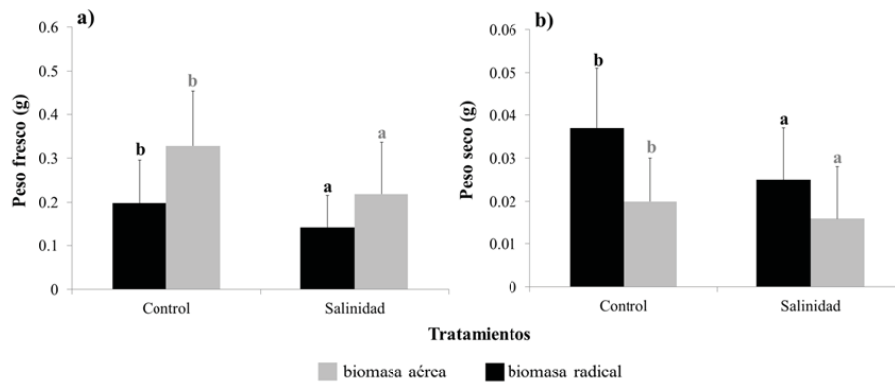


Figura 5. Producción de biomasa en crecimiento inicial promedio de ambos materiales de *Lotus tenuis* (cv. Aguapé y LT385) en ausencia y presencia de estrés salino: a) peso fresco y b) peso seco. Letras diferentes indican diferencias significativas para cada variable dentro del tratamiento (Tukey, $p < 0,05$).

entre materiales ($p < 0,05$) y tratamientos ($p < 0,01$). Al igual que en lo observado en la producción de biomasa aérea, el cv. Aguapé produjo en promedio mayor biomasa radical respecto al material LT385 (Figura 4 a, b) y la presencia de sales afectó la producción de raíces (Figura 5 a, b).

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas para la relación entre el peso seco aéreo y el peso seco radical (A/R) para ninguno de los factores evaluados. En promedio la relación A/R fue de $1,78 \pm 0,4$ y $1,81 \pm 0,42$, para el material LT385 y cv. Aguapé, respectivamente. En el tratamiento control la relación A/R se mantuvo en $1,86 \pm 0,39$ mientras que en condiciones de estrés salino fue de $1,74 \pm 0,42$.

DISCUSIÓN

La etapa germinativa en leguminosas forrajeras a menudo resulta crítica, debido a la competencia con otras especies, enfermedades y las condiciones estresantes que deben afrontar durante la germinación (23; 46; 49; 52). Diferentes autores (3; 25; 44; 45) mencionan a *Lotus tenuis* como una especie tolerante a la salinidad (NaCl) en estados de germinación, plántula y planta adulta, sin embargo, la combinación de otros estreses (ej. térmico) puede llevar a que esa tolerancia se vea modificada.

Si bien existen antecedentes que el rango de temperaturas entre 5 y 30 °C no son factores limitantes para la germinación de semillas de leguminosas perennes, observándose valores óptimos entre 15 y 20 °C (30), esta temperatura óptima varía de acuerdo a la especie (14; 40). Diversos estudios han demostrado la tolerancia a bajas temperaturas en poblaciones de *L. tenuis*

de distintas edades y biomasa (2; 50; 53) y aunque se ha demostrado que tolera las altas temperaturas en mayor medida que otras leguminosas forrajeras (3), la tolerancia a altas temperaturas en combinación con el estrés salino no había sido explorada aún. En el presente estudio se observó que la germinación fue escasa a alta temperatura (constante de 30 °C), mientras que fue máxima a temperaturas constante de 20 y 25 °C y alternancia de 20-25 °C. Sin embargo, en condiciones de salinidad (120 mM de NaCl), temperaturas media a alta (constantes a 25 y 30 °C) disminuyeron notablemente la germinación de ambos materiales evaluados de *L. tenuis*, coincidente con lo hallado por Mujica y Rumi (37).

En general, el cv. comercial Aguapé presentó mayor peso de plántulas durante la germinación, lo que puede deberse a su mayor peso de semillas (1,11 vs 0,84 g/1000 semillas para cv. Aguapé y el material LT385, respectivamente) ya que en numerosas especies forrajeras existen evidencias de correlaciones positivas entre el vigor de las plántulas y el peso de las semillas (6; 10). Sin embargo, aunque en condiciones de salinidad y alternancia de temperaturas el porcentaje de germinación fue mayor en el cv. Aguapé, el peso de plántulas resultó mayor en el material LT385.

El crecimiento inicial del cv. Aguapé fue mayor que el material naturalizado LT385 en todos los tratamientos evaluados. Como ya se ha mencionado, este crecimiento inicial puede estar relacionado con el mayor peso de sus semillas, que permite un mayor peso de plántulas y que esta diferencia de peso se mantenga durante el crecimiento inicial, o bien, estar dado por el mejoramiento de características asociadas a la supervivencia y producción al que ha sido sometido este cultivar en su programa de mejora.

Aunque la salinidad afectó la producción de biomasa en ambos materiales, en coincidencia con lo hallado por otros autores (48), la partición de biomasa no se vio modificada en condiciones de hidroponía en presencia y ausencia de estrés, como es de esperarse en tales condiciones en que las plantas destinan mayor recursos a raíces (38).

En términos generales, el cv. Agupapé de *L. tenuis* presentó un comportamiento superior a la población naturalizada LT385. Estos resultados obtenidos sugieren, en principio, que la presencia y naturalización de la población LT385 en comunidades salinas típicas de los pastizales del centro-norte de la provincia de Santa Fe, como son las praderas saladas de *Distichlis spicata* y los pajonales de *Sporobolus spartianus* está más relacionada con el manejo que hace el productor, utilizando la endozooecoria como técnica de cosecha y siembra, que a características genéticas que le confieran la adaptabilidad a tales condiciones.

En relación al manejo, se ha demostrado que la propagación a través del ganado vacuno es práctica y de bajo costo aunque es de baja eficiencia biológica cuando la siembra convencional es exitosa (46, 51). No obstante, en el norte de Argentina la siembra convencional ha demostrado ser poco exitosa. Es posible, que la germinación en las heces proteja a las semillas del estrés hídrico y térmico, característico del estío zonal, favoreciendo así la buena implantación de la especie en un microambiente de alta fertilidad.

Será necesario a futuro, nuevos estudios experimentales para determinar si la presencia de dicha población en una comunidad salina típica de los pastizales del centro-norte de la provincia de Santa Fe está condicionada por el manejo recibido

o bien por características de la población no evaluadas en el presente trabajo, como por ejemplo características reproductivas.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Proyecto CAI+D para Grupos Consolidados de la UNL convocatoria 2016 (50420150100043LI): “Forrajeras nativas para sistemas silvopastoriles del Parque Chaqueño argentino”. Director: José F. Pensiero.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **ALIAGA, O.** 1980. Efectos de la frecuencia de corte y altura de residuo sobre el rendimiento de una pradera naturalizada de *Lotus tenuis* Wald et Kit, bajo condiciones de riego, en la comuna Llay – Llay, Quillota. Tesis de grado. Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Agronomía, Chile. 129p.
- 2.- **ARCIONI, S., FALCINELLI, M., FRANCIA, U., LORENZETTI, F., NEGRI, V. Y VERONESI, F.** 1985. Qualitative evaluation of spontaneous forage legumes growing in central Italy. Proceedings of the XV IGC: 1049-1050.
- 3.- **AYERS, A.D.** 1948. Salt tolerance of birdsfoot trefoil. J. Am. Soc. Agron. 4: 331-334.
- 4.- **BAILLERES, M. Y SERENA, D.E.** 2011. Promoción de *Lotus tenuis*. Chacra Experimental Integrada Chascomús. Boletín INTA. http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-promocion_lotus_tenuis.pdf. Acceso: 30/03/2017.
- 5.- **BAÑUELOS, G.S. Y BAUSELINCK, P.R.** 2003. Growth of three forage species in saline conditions. Arid Land Res. Manag. 17: 13-22.

- 6.- **BEUSELINCK, P. R. Y MCGRAW, R.L.** 1983. Seedling vigor of three *Lotus* species. *Crop Sci.* 23: 390-391.
- 7.- **BLUMENTHAL, M.J. Y MCGRAW, R.L.** 1999. *Lotus* adaptation, use and management. En: Beuselinck, P.R. (ed.). *Trefoil: The Science and Technology of Lotus*. American Society of Agronomy Inc. & Crop Science Society of America Inc., Wisconsin, USA. p. 97-119.
- 8.- **BURKART, A.** 1952. Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas. Ed. Acme, Buenos Aires. 569p.
- 9.- **CAUHÉPÉ, M.A.** 2004. Does *Lotus glaber* improve beef production at the Flooding Pampas? *Lotus Newsletter* 34: 30-35.
- 10.- **CARAMBULA, M.** 1996. Pasturas Naturales Mejoradas. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires. 524p.
- 11.- **CLUA, A. Y GIMÉNEZ, D.O.** 2002. Environmental factors during seed development of narrow-leaved bird's-foot-trefoil (*Lotus tenuis*) influences subsequent dormancy and germination. *Grass Forage Sci.* 58: 333-338.
- 12.- **COLABELLI, M. Y VIVIANI ROSSI, E.M.** 1997. Efecto de dos métodos de intersemebra de *Lotus tenuis* sobre su implantación y sobre la producción de forraje de pastizales del área ganadera del salado (Argentina). *Avances en Producción Animal* 22: 123-128.
- 13.- **CORCUERA, J. Y MARTÍNEZ ORTIZ, U.** 2006. La expansión agrícola y el ambiente en el contexto global. En: Brown, A., Martínez Ortiz, U., Acerbi, M. y Corquera, J. 2005. *Situación Ambiental Argentina*. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires. p. 483-489.
- 14.- **DE LA CUADRA, C.** 1993. Germinación, latencia y dormición de las semillas. No 3/92. Hojas Divulgadoras, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid. 23p.
- 15.- **DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M.G., GONZALEZ, L., TABLADA, M. Y ROBLEDO, C.W.** 2011. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- 16.- **ECHEVERRÍA, D., WERNLI, C. Y COSIO, F.** 1986. Características nutricionales de una pradera naturalizada de lotus de hoja angosta (*Lotus tenuis* Wald et Kit), II. Variación en la calidad de las plantas en el tiempo. *Agricultura Técnica* 46: 245-252.
- 17.- **EHLKE, N.J. Y LEGARE, D.G.** 1993. The effects of temperature and soil stresses on the production of tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *Lotus Newsletter* 24:64-66.
- 18.- **GARCÍA, I. Y MENDOZA, R.** 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant symbiosis in a saline-sodic soil. *Mycorrhiza* 17(3): 167-74.
- 19.- **GARCÍA, I. Y MENDOZA, R.** 2008. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63: 359-371.
- 20.- **GARCÍA, I. Y MENDOZA, R.** 2014. *Lotus tenuis* seedlings subjected to drought or waterlogging in a saline sodic soil. *Environ. Exp. Bot.* 98: 47-55.
- 21.- **HIDALGO, L.G. Y RIMOLDI, P.O.** 1992. *Lotus tenuis* en pastizales templados sub-húmedos: su efecto en el valor nutritivo de la vegetación. II Congreso Latinoamericano de Ecología. I Congreso de Ecología do Brasil. Mina Gerais, Brasil. Libro de resúmenes. p. 540-542.

- 22.- HOAGLAND, D.R. Y ARNON, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Berkely College Agriculture Circular. California Agricultural Experiment Station, Univ. of California. p. 347.
- 23.- JUAN, V.F., MONTERROSO, L., SACIDO, M.B. Y CAUHÉPÉ, M.A. 2000. Postburning legume seeding in the Flooding Pampas, Argentina. *J. Range Manage.* 53: 300-304.
- 24.- KADE, M., PAGANI, E.A. Y MENDOZA, R.E. 2003. A morphological study of populations of *Lotus glaber* Mill. (Fabaceae). *Agronomie* 23(3): 203-207.
- 25.- LAMBRECHTSEN, N.C., WILLS, B.J. Y DOUGLAS, G.B. 1986. Management and uses of *Lotus tenuis* (Narrow – leaved birds-foot trefoil). En: Van Kraayenoord, C.W.S. y Hathaway, R.L. (Eds.) *Plant Material Handbook for Soil Conservartion.* p. 271-274.
- 26.- LATERRA, P. 1997. Post – burn recovery in the flooding Pampa: Impact of an invasive legume. *J. Range Manage.* 50: 271-277.
- 27.- LAVADO, R. S. 1992. Río de la Plata grasslands. Soils. In: Coupland, R.T. (Ed.) *Ecosystems of the world. Natural grasslands.* Elsevier, Amsterdam, Netherlands. Vol. 8. p. 377-380.
- 28.- LEÓN, R.J. Y BERTILLER, M. 1982. Aspectos fenológicos de dos comunidades del pastizal de la Depresión del Salado (Provincia de Buenos Aires). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 20: 329-347.
- 29.- LEÓN, R.J., RUSH, G.M. Y OESTERHELD, M. 1984. Pastizales pampeanos – impacto agropecuario. *Phytocoenologia* 12: 201-218.
- 30.- MC WILLIAM, J.R., CLEMENTS, R.J., Y DOWLING, P.M. 1970. Some factors influencing the germination and early seedling development of pasture plants. *Crop Pasture Sci.* 21:19-32.
- 31.- MENDOZA, R., ESCUDERO, V. Y GARCÍA, E.I. 2005. Plant growth, nutrient acquisition and mycorrhizal symbioses of a waterlogging tolerant legume (*Lotus glaber* Mill.) in a saline-sodic soil. *Plant Soil* 275: 305-315.
- 32.- MENDOZA, R.E., PAGANI, E. Y POMAR, M.C. 2000. Variabilidad poblacional de *Lotus glaber* en relación con la absorción de fosforo del suelo. *Ecología Austral* 10: 3-14.
- 33.- MONTES, L. 1980. Narrowleaf trefoil naturalized in low-land fields in Buenos Aires Province (Argentina). *Lotus Newsletter.* 11: 9-10.
- 34.- MONTES, L. 1988. *Lotus tenuis.* *Revista Argentina de Producción Animal* 8: 367-376.
- 35.- MUJICA, M.M. Y RUMI, C.P. 1993a. Dinámica del estado de dureza de semillas de *Lotus tenuis* Waldst. & Kit obtenidas del suelo en respuesta a un régimen de baja temperatura. *Rev. Fac. Agron. La Plata* 69: 69-75.
- 36.- MUJICA, M.M. Y RUMI, C.P. 1993 b. Effect of three different constant temperature treatments on germination of *Lotus tenuis* Waldst. & Kit. *Lotus Newsletter* 24: 35-37.
- 37.- MUJICA, M.M. Y RUMI, C.P. 1998. Effects of salinity on the germination of *Lotus glaber* Mill. (=Lotus tenuis Waldst. et Kit. ex Wild.). Publicado en internet, disponible en Lotus Newsletter U.S.A. <http://www.psu.missouri.edu/lnl/v30/Mujica.htm>.
- 38.- MUNNS, R. Y TESTER, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- 39.- PERETTI, A. 1994. Manual para el análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. p. 281.
- 40.- PÉREZ GARCÍA, F. Y MARTÍNEZ LABORDE, J.B. 1994. Introducción a la fisiología vegetal. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. p. 153-180.

- 41.- PLETT, D.C. Y MOLLER, I.S. 2010. Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant Cell Environ.* 33: 612-626.
- 42.- REARTE, D. 2003. El futuro de la ganadería Argentina. *Génesis* 53: 6-9.
- 43.- ROGERS, M.E., NOBLE, C.L., HALLO-
RAN, G.M. Y NICOLAS, M.E. 1997. Selecting for salt tolerance in white clover (*Trifolium repens*): chloride ion exclusion and its heritability. *New Phytol.* 135: 645-654.
- 44.- ROGERS, M.E., NOBLE, C.L. Y PEDERICK, R.J. 1997. Identifying suitable temperate forage legume species for saline areas. *Aust. J. Exp. Agr.* 37: 639-645.
- 45.- SCHACHTMAN, D.P. Y KELMAN, W.M. 1991. Potential of *Lotus* germplasm for the development of salt, aluminium and manganese tolerant pasture plants. *Aust. J. Agric. Res.* 42: 139-149.
- 46.- SEVILLA, G.H., FERNÁNDEZ, O.N., MIÑÓN, D.P. Y MONTES, L. 1996. Emergence and seedling survival of *Lotus tenuis* in *Festuca arundinacea* pastures. *J. Range Manage.* 49: 509-511.
- 47.- STRIKER, G.G., IZAGUIRRE, R.F., MANZUR, M.E. Y GRIMOLDI, A.A. 2012. Different strategies of *Lotus japonicus*, *L. corniculatus* and *L. tenuis* to deal with complete submergence at seedling stage. *Plant Biol.* 14: 50-55.
- 48.- TEAKLE, N.L., SNELL, A., REAL, D., BARRETT-LENNARD, E.G. Y COLMER, T.D. 2010. Variation in salinity tolerance, early shoot mass and shoot ion concentrations within *Lotus tenuis*: towards a perennial pasture legume for saline land. *Crop Pasture Sci.* 61: 379-388.
- 49.- VIGNOLIO, O.R., CAMBARERI, G.S. Y MACEIRA, N.O. 2010. *Lotus tenuis* (Fabaceae). Productividad y manejo agronómico. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 30: 97-116.
- 50.- VIGNOLIO, O.R. Y FERNÁNDEZ, O.N. 1999. Germination and emergence of populations of *Lotus tenuis* (Waldt) under saline conditions and in different soil. *J. Appl. Seed Prod.* 17: 55-60.
- 51.- VIGNOLIO, O.R. Y FERNÁNDEZ, O.N. 2010. Cattle dung as vector of spreading seeds of exotic species in the Flooding Pampa grasslands. (Buenos Aires, Argentina). *Ann. Bot. Fenn.* 47: 14-22.
- 52.- VIGNOLIO, O.R. Y FERNÁNDEZ, O.N. 2011. *Lotus tenuis* seedling establishment and biomass production in Flooding Pampa grasslands (Buenos Aires, Argentina). *Chilean J. Agric. Res.* 71: 96-103.
- 53.- VIGNOLIO, O.R., MACEIRA, N.O. Y FERNÁNDEZ, O.N. 1994. Efectos del anegamiento en invierno y verano sobre el crecimiento y la supervivencia de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus*. *Ecología Austral* 4: 19-28.
- 54.- WINTER, E. Y LAUCHLI, A. 1982. Salt tolerance of *Trifolium alexandrinum* L.I. Comparison of the salt response of *T. alexandrinum* and *T. pratense*. *Funct. Plant Biol.* 9(2): 221-226.