Cambios en los atributos vegetativos y reproductivos en plantas de *Lotus tenuis* (Fabaceae) sembradas a diferentes densidades

Changes in vegetative and reproductive attributes in Lotus tenuis plants (Fabaceae) cultivated under different densities

Vignolio[1]**, O.R., Cambareri, G.S. y Petigrosso, L.R.**
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata-Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

Resumen

En el presente trabajo se analizaron los cambios en los atributos reproductivos y vegetativos en plantas de *Lotus tenuis* sembradas a diferentes densidades. Las plantas fueron cultivadas en condiciones de campo mediante un diseño sistemático cuya disposición permitió obtener 6 densidades comprendidas entre 7,5 y 60,0 pl/m^2. Los atributos analizados a nivel de planta como: producción de semillas, biomasa reproductiva, frutos, umbelas con frutos, biomasa total y número de tallos, decrecieron con el aumento de la densidad. La producción de semillas (g/m^2) no varió significativamente con la densidad y se explicó mediante la plasticidad fenotípica de los atributos vegetativos y reproductivos de las plantas. El peso de mil semillas fue el atributo menos variable con las densidades. El número de frutos por planta se relacionó de manera lineal y positiva con el número de tallos y la biomasa vegetativa aérea por planta. En tal sentido, manejos del cultivo que permitan aumentar el número de tallos por planta, como por ejemplo los cortes, podrían incidir positivamente sobre el número de ápices reproductivos y el rendimiento. *Lotus tenuis* puede ser sembrado en un amplio rango de densidades sin afectar significativamente el rendimiento ni la calidad de sus semillas. Sin embargo, de acuerdo con nuestras estimaciones, para alcanzar la mínima biomasa aérea vegetativa por planta consistente con el inicio de la reproducción, la densidad no debería ser superior a 109 pl/m^2.
Palabras clave: leguminosa forrajera, plasticidad fenotípica, semillas, diseño sistemático.

Summary

This assay examined the effects of plant densities of *Lotus tenuis* on reproductive and vegetative attributes. The plants were sowed in field conditions under systematic design which provided 6 plant densities from 7.5 to 60.0 pl/m². The attributes per plant as: seed production, reproductive biomass, pods, umbels with pods, total biomass and stems number decreased according to increase plant densities. Seed yield (g/m²) was relatively stable among plant densities and was explained through the plant phenotypic plasticity of vegetative and reproductive attributes. Thousand-seed weight was less influenced by plant densities. Pods number per plant showed a positive and linear relationship with number of stems per plant and vegetative biomass per

Recibido: marzo de 2013
Aceptado: junio de 2014
1. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata - Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. C.C. 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
E-mail: vignolio.osvaldo@inta.gob.ar

plant. Management decisions that increase the reproductive stems number per plant, for example defoliation, may impact positively on the number of reproductive apexes and seed production. *Lotus tenuis* can be sowed in a range of density without affecting significantly the yield neither the seed quality. Minimum vegetative shoot biomass threshold consistent with plant reproduction is with a plant density lower than 109 pl/m^2.
Key words: forage legume, phenotypic plasticity, seed, systematic design.

Introducción

La producción de semillas en cultivos forrajeros es un proceso complejo, determinado por numerosos factores bióticos y abióticos (Martiniello y Silva, 2011). Cuando los factores abióticos son controlados, uno de los principales factores bióticos que determinan la producción de semillas es la densidad de plantas. La densidad impacta en el rendimiento de los cultivos a través de cambios en la arquitectura de las plantas, en la intercepción de la radiación, en la acumulación y partición de la biomasa destinada al crecimiento reproductivo y vegetativo (McGraw et al, 1986; Weiner, 1988; Vega et al, 2000; Cheplick, 2002; Gan et al, 2002; Wang et al, 2006; Cambareri, 2010; Martiniello y Silva, 2011).

El género *Lotus* spp. (Fabaceae) incluye importantes leguminosas forrajeras como *Lotus tenuis, L, corniculatus, L. uliginosus* y *L. subbiflorus*, que son utilizadas en pasturas y pastizales de diferentes países. Su importancia radica en la capacidad para fijar nitrógeno atmosférico vía simbiosis, proteger el suelo de la erosión, crecer en suelos marginales, incidir positivamente en la calidad nutricional y en la producción primaria de pastizales y pasturas (McGraw et al, 1986; Arango et al, 1998; Blumenthal y McGraw, 1999; Fairey y Smith, 1999; García-Díaz y Steiner, 2000; Rochon et al, 2004; Díaz et al, 2005; Acuña et al, 2008; Vignolio et al, 2010a,b; Cambareri et al, 2012; Escaray et al, 2012).

Lotus tenuis está ampliamente difundida en los pastizales de la Pampa Deprimida (Buenos Aires, Argentina) y su presencia mejora su calidad y productividad (Cauhépé, 2004; Díaz et al, 2005; Cambareri et al, 2012). Las semillas son pequeñas, aproximadamente 1 mg/semilla, condicionando el vigor de las plántulas (Rowarth y Sanders, 1996) y su supervivencia en pasturas (Sevilla et al, 1996) y en pastizales (Vignolio y Fernández, 2011). En *L. tenuis* y en otras especies forrajeras y cultivos, el peso medio de las semillas puede ser afectado negativamente con el incremento de la densidad de plantas (McGraw et al, 1986; Arango et al, 1998; Vega y Andrade, 2002; Miguélez Frade y Valenciano, 2005; Cambareri, 2010). En tal sentido, en algunas leguminosas forrajeras ha sido motivo de estudio determinar la densidad del cultivo que permita lograr una producción óptima de semillas sin afectar sus cualidades (McGraw et al, 1986).

En trabajos previos se estudió la producción de biomasa vegetativa y reproductiva de *L. tenuis* bajo diferentes densidades (Vignolio y Cambareri, 2008; Cambareri, 2010; Vignolio et al, 2010a). Sin embargo, la información disponible no es suficiente para conocer los cambios de los atributos reproductivos y vegetativos de las plantas con el aumento de la densidad. El objetivo del presente trabajo fue analizar las respuestas de los atributos vegetativos y reproductivos de las plantas de *Lotus tenuis* cultivadas a diferentes densidades.

Materiales y Métodos

Sitio y diseño experimental

El estudio fue realizado en la Unidad Integrada (Estación Experimental Agropecuaria, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Balcarce-Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP), Buenos Aires, Argentina) en un suelo Argiudol típico, con aptitud para la agricultura (Soil Survey Staff-USDA, 1999). El análisis del suelo determinado a 0,15 m de profundidad presentó un valor promedio (± EE), pH (H_2O, 1:2,5) 6,53 ± 0,03, contenido de

materia orgánica 6,02 ± 0,21%, fósforo (método Bray 1) 13,07 ± 0,56 mg/g, y NO_3-N 10,51 ± 0,84 ppm. Las semillas de *Lotus tenuis* correspondieron al cultivar Pampa INTA.

En el invierno de 2007, el campo experimental fue arado, disqueado y el terreno destinado al estudio fue rastrillado a mano. Las semillas de *L. tenuis* fueron inoculadas con *Rhizobium loti* (Cepa 733, Vignolio et al, 2006) y sembradas en junio de 2007 en macetas de 35 cm^3 de volumen. Las macetas fueron mantenidas al aire libre en condiciones de campo y regadas. El 26 de septiembre de 2007, las plantas con una biomasa individual promedio de 148,27 ± 9,03 mg/pl y 5,95 ± 0,23 tallos (N/pl), fueron transplantadas en el terreno con un diseño sistemático, tipo Ia (Nelder, 1962; McGraw et al, 1986) en hoyos de 25 mm de diámetro por 50 mm de profundidad. El diseño proporcionó 6 densidades: 7,5; 11,5; 17,5; 26,5; 40,0 y 60,0 pl/m² y se repitió tres veces en el mismo período y campo experimental (Figura 1).

Muestreos y mediciones

Se realizó una sola cosecha de biomasa vegetativa y reproductiva, el 5 de marzo de 2008, cuando aproximadamente el 90% de los frutos estaban maduros (color marrón) y no había umbelas con flores. Cinco plantas de cada densidad fueron seleccionas al azar y cortadas individualmente a nivel del suelo, de manera que todos los tallos quedaran unidos por la corona. Las plantas fueron guardadas individualmente en bolsas rotuladas y conservadas en cámara de frío a 4°C.

Las variables registradas en cada planta fueron: el número de tallos (determinado a partir de los primeros 5 cm de altura, tomando como referencia la corona); el número de frutos por umbela, determinado sobre una muestra de umbelas maduras (un máximo de 50 por planta); el número de semillas por fruto, determinado en muestras de 30 frutos tomados al azar; el peso medio de 1000 semillas, estimado a partir de tres submues-

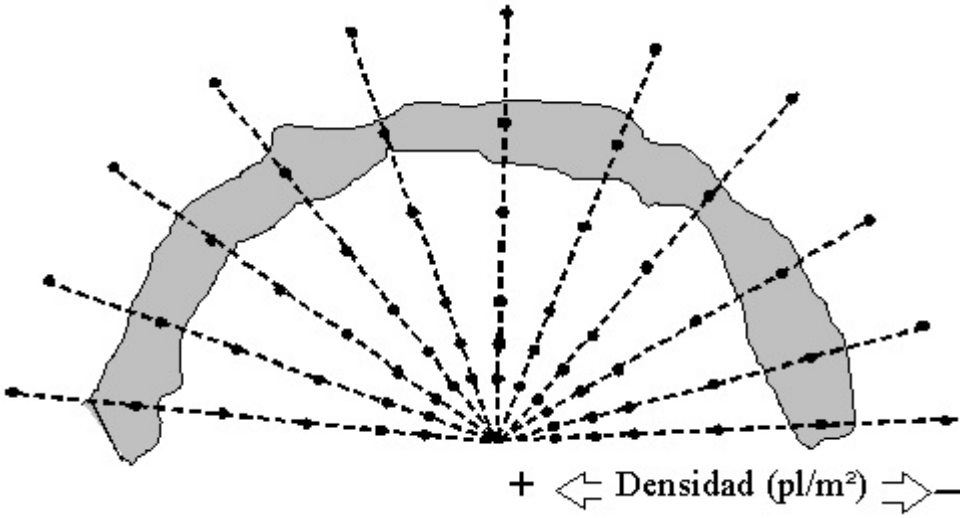

Figura 1: Disposición de las plantas de *Lotus tenuis* siguiendo un diseño sistemático. Las plantas (●) encerradas en el área sombreada corresponden a una misma densidad. En esta figura se representan seis densidades. Referencia: las líneas quebradas indican las filas de transplantes (----).

Figure 1: *Lotus tenuis plants disposition following a systematic design. The plants (●) inside the shady area correspond to the same density. Six plant densities are represented in the figure. Reference: The broken lines (----) indicate the transplant rows.*

tras por planta; y la biomasa reproductiva (semillas + frutos) y vegetativa secada en estufa. Se realizaron las siguientes estimaciones:

Frutos (N/pl)= Umbelas con frutos (N/pl) x Frutos (N/umbela) (1)
Producción de semillas (g/m^2) = Semillas (g/pl) x Densidad (pl/m^2) (2)

Se estimó para cada planta la cantidad de las semillas que se perdieron (SP) por dehiscencia de los frutos. El dato (SP) no se incluyó en los cálculos de las variables antes señaladas. La estimación de SP se realizó calculando el rendimiento potencial (RP) y restándole el rendimiento real (RR), el cosechado:

RP (g/pl) = Frutos (N/pl) x Semillas (N/fruto) x Peso medio de una semilla (g) (3)
SP (g/pl) = RP – RR (4)

Estimación de la plasticidad fenotípica

Se estimó la plasticidad fenotípica de los atributos de las plantas mediante el coeficiente de variación (CV) y el índice de plasticidad fenotípica (IPF), propuestos por Valladares et al (2006):

CV = (Desvío estándar/media) x 100 (5),
IPF = ((Media Máxima – Media Mínima)/Media Máxima) (6)

Las respuestas de las variables vegetativas y reproductivas de las plantas con el aumento de la densidad fueron explicadas mediante funciones, hipérbolas y lineales (McGraw et al, 1986; Arango et al, 1998):

$Y = Ae^{-BX}$ (7)
$Y = C X + D$ (8)

Siendo *Y* la variable de interés; *X*, la densidad de plantas; *A* y *B*, constantes; *C,* la pendiente y *D*, la ordenada al origen. Se incorporaron las desviaciones estándar a los valores de *A*, *B*, *C* y *D*.

Utilizando un modelo lineal, como el de la ecuación (8), se estimó la biomasa vegetativa aérea umbral consistente con el inicio de la reproducción. Para tal fin, se relacionó la biomasa vegetativa aérea (*X*), con la biomasa reproductiva *Y*, frutos + semillas (Samson y Werk, 1986; Weiner, 2004; Weiner et al, 2009). Cuando *Y* = 0, el valor que toma *X* es la biomasa vegetativa aérea umbral de las plantas de *L. tenuis* consistente con el inicio la reproducción.

Datos climáticos y mantenimiento del ensayo

Los datos climáticos fueron suministrados por la estación meteorológica de la Unidad Integrada Balcarce (Cuadro 1). El experimento fue mantenido libre de malezas por remoción manual y protegido de los herbívoros. No se detectaron plagas, plantas enfermas, muertas ni síntomas de estrés hídrico. Las plantas fueron regadas durante el período que duró el estudio. La polinización fue realizada principalmente por abejas (*Apis mellifera* L.), cuyas colmenas estaban situadas aproximadamente a 600 m del estudio.

Análisis de la información

Un ANOVA convencional no resulta válido para los diseños sistemáticos (Willey y Rao, 1981). En tal sentido, las relaciones entre variables vegetativas y reproductivas fueron analizas mediante las diferentes funciones anteriormente descriptas (McGraw et al, 1986; Samson y Werk, 1986; Arango et al, 1998; Weiner, 2004; Ploschuk et al, 2005; Weiner et al, 2009). Se presentan los valores medios (± EE) de los atributos analizados. Para una determinada densidad, el valor medio de cada uno de los atributos fue el promedio de tres repeticiones (diseños). Una repetición fue el promedio de las cinco plantas correspondientes a un diseño.

Cuadro 1: Temperatura máxima (T Max) y mínima (T Min) del aire, humedad relativa del aire (H), riego acumulado (R), precipitaciones (Pp) y evapotranspiración (ETP).

Table 1: *Maximum (T Max) and minimum (T Min) air temperature, relative air humidity (H), accumulated irrigation (R), rainfall (Pp) and evapotranspiration (ETP).*

Mes	T Máx (°C)	T Mín (°C)	H (%)	R (mm)	Pp (mm)	ETP (mm)
			2007			
Septiembre	17,22	7,61	84,00	0,00	183,10	58,20
Octubre	20,11	9,85	79,41	5,10	86,40	91,60
Noviembre	21,94	7,37	73,40	22,49	48,60	112,80
Diciembre	27,33	11,80	66,80	69,94	26,00	161,10
			2008			
Enero	28,27	14,45	68,90	63,63	156,00	151,50
Febrero	26,42	15,54	78,75	0,00	147,70	107,80
Marzo	23,34	13,08	84,58	0,00	239,60	80,4

Resultados

Relaciones entre los atributos vegetativos y reproductivos

El inicio de la floración (26 de diciembre de 2007) no fue afectado por la densidad de plantas. El rendimiento de semillas potencial y el cosechado, fue de 157,31 ± 9,03 y 89,10 ± 5,11 g/m², respectivamente. Las semillas perdidas a través de la dehiscencia de los frutos fueron estimadas en un 39,21 ± 2,32%. La producción de semillas cosechadas no se relacionó significativamente con la densidad de plantas (p=0,05).

La biomasa reproductiva (g/pl), biomasa total (g/pl), semillas (g/pl), umbelas con frutos (N/pl), frutos (N/pl) y tallos (N/pl) decrecieron (p=0,05) con el aumento de la densidad (Figura 2). El número de frutos/umbela también decreció con la densidad (p=0,0001). En cambio, el número de semillas/fruto, la biomasa asignada a reproducción y el peso de 1000 semillas no se relacionaron con la densidad (p=0,05), siendo el valor promedio de 12,56 ± 0,34 (N/fr), 36,34 ± 1,54% y 0,9467 ± 0,0038 g, respectivamente.

La producción de semillas por planta se relacionó positivamente (p=0,0001) con los frutos (N/pl) (Figura 3a), con la biomasa vegetativa (g/pl) (Figura 3b) y con las umbelas con frutos (N/pl) (Figura 3c). El número de frutos por planta mostró una relación lineal y positiva con el número de tallos y biomasa vegetativa por planta:

Frutos (N/pl) = 14,24 (± 1,32) x Tallos (N/pl) - 29,60 (± 87,99); (R^2= 0,589, p=0,001) (9)

Frutos (N/pl) = 31,82(± 1,69) x Biomasa (g/pl) - 5,16(± 52,66); (R^2 = 0,812; p=0,001) (10)

Umb. Fr. (N/pl) = 1,95 (± 22,91) x Tallos (N/pl) + 3,83 (± 0,45) (R^2 = 0,604; p=0,001) (11)

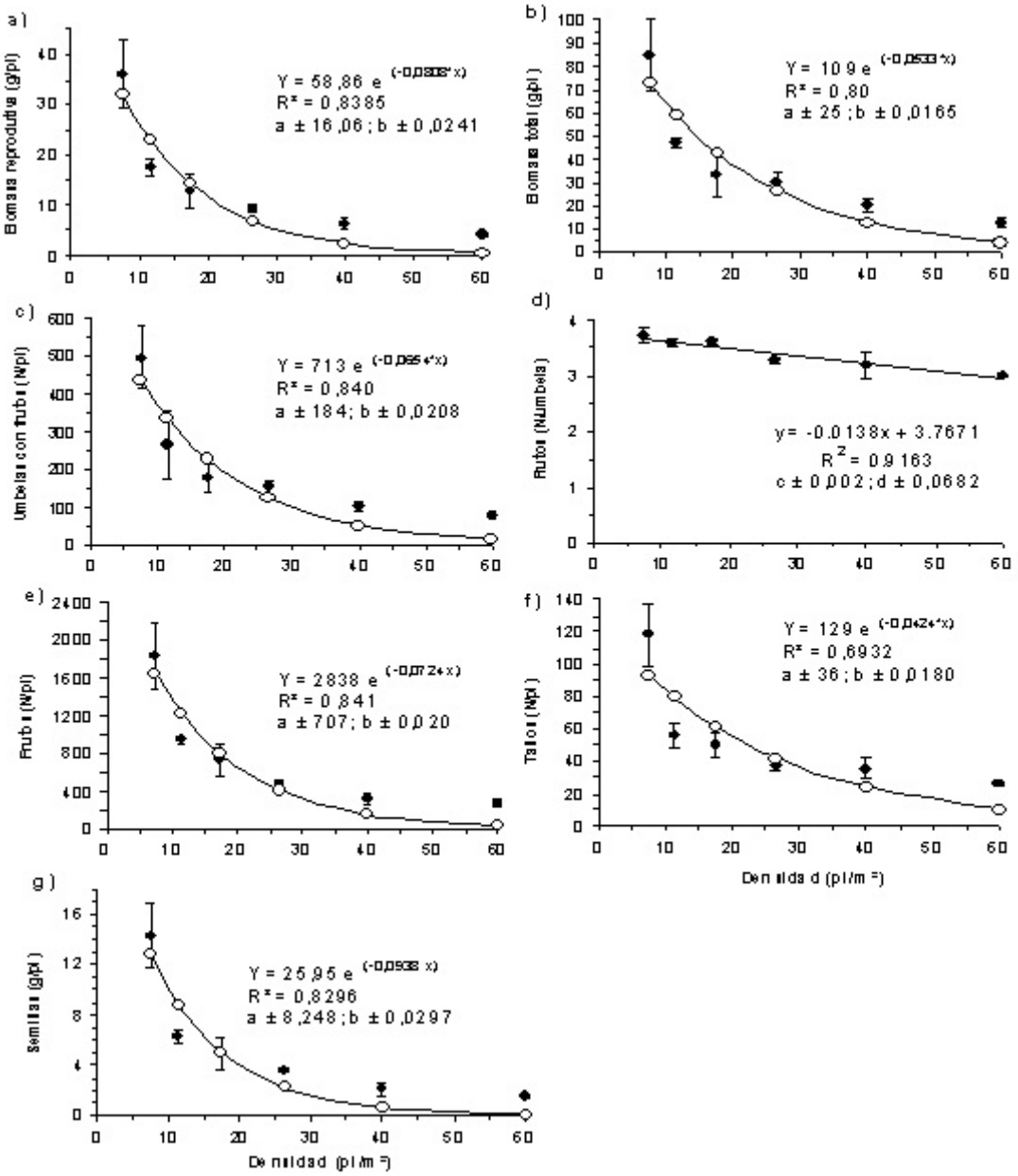

Figura 2: Relaciones entre las densidades de plantas de *Lotus tenuis* y a) biomasa reproductiva (g/pl); b) biomasa total (g/pl); c) umbelas con frutos (N/pl); d) frutos (N/umbela), e) frutos (N/pl), f) tallos (N/pl), g) semillas (g/pl). Los datos son valores promedios (± ES). Referencias: *A* y *B*, constantes de la ecuación ($Y = Ae^{-Bx}$); C y D son la pendiente y la ordenada al origen de la ecuación *(Y = CX + D)*, respectivamente; a, b, c y d, son ± DS de A, B, C y D, respectivamente. Símbolos llenos y vacíos corresponden a valores medios reales y los estimados por la función, respectivamente.

Figure 2: *Relationship between Lotus tenuis plant density and a) reproductive biomass (g/pl); b) total biomass (g/pl); c) umbels with pods (N/pl); d) pods (N/umbels); e) pods (N/pl); f) stems (N/pl); g) seed (g/pl). Data are average (± SE). References: A y B, constant of equation ($Y = Ae^{-Bx}$); C y D, are the slope of the regression and the value that intersects y-axis according to equation (Y = CX + D), respectively. a, b, c y d are ± SD of A, B, C y D, respectively. Filled and open circles are average values real and the estimated by the function, respectively.*

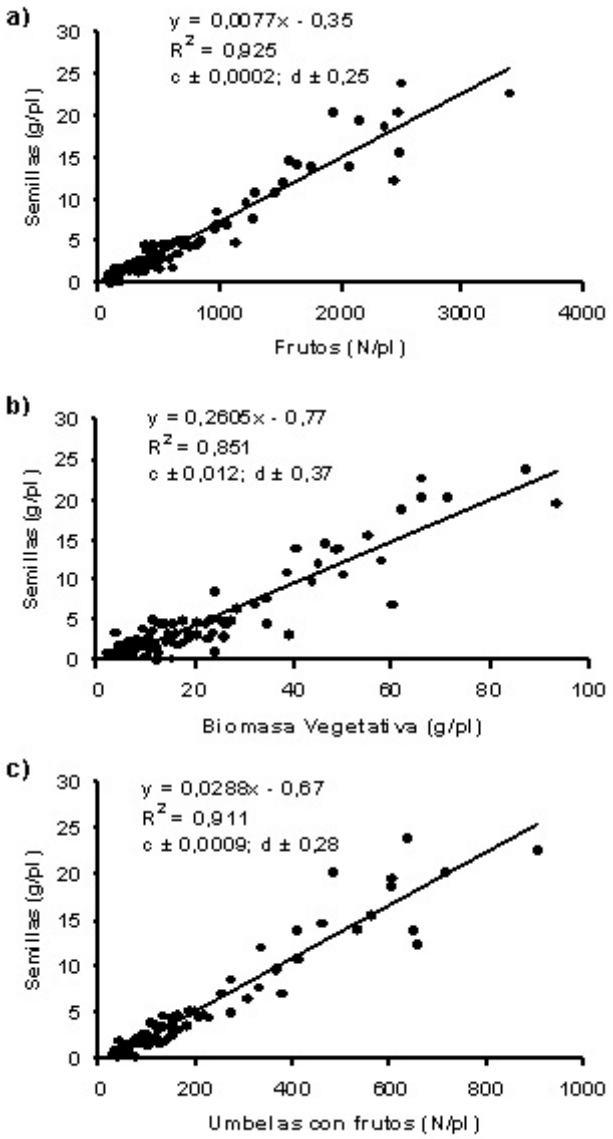

Figura 3: Relación entre el rendimiento de semillas por planta y a) el número de frutos por planta; b) biomasa vegetativa por planta y c) número de umbelas con frutos por planta de *Lotus tenuis* creciendo a diferentes densidades. Referencias como en la Figura 2.

Figure 3: *Relationship between seed yield per plant and (a) pods number per plant; (b) vegetative biomass per plant and (c) umbels number with pods per plant of Lotus tenuis growing at different plant densities. References as in Figure 2.*

La biomasa vegetativa aérea se relacionó significativamente (p=0,0001) con la biomasa asignada a reproducción. El umbral de biomasa vegetativa de *L. tenuis* requerido para el inicio de la reproducción fue de 2,06 g/pl (Figura 4).

Plasticidad fenotípica de los atributos de las plantas

La producción de semillas, la biomasa reproductiva, los frutos, las umbelas con frutos, la biomasa total y los tallos, fueron los atributos más variables con las densidades. En cambio, los menos variables fueron la biomasa asignada a reproducción, el número de semillas por fruto, los frutos por umbela y el peso de mil semillas (Cuadro 2).

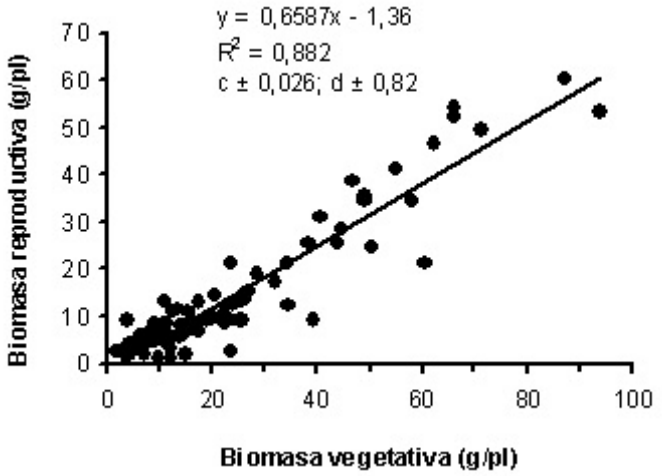

Figura 4: Relación entre la biomasa vegetativa y reproductiva de las plantas de *Lotus tenuis* creciendo a diferentes densidades. Referencias como en la Figura 2.
Figure 4: *Relationship between reproductive and vegetative biomass of Lotus tenuis plants growing at different plant densities. References as in Figure 2.*

Cuadro 2: Coeficiente de variación (CV, %) y el índice de plasticidad fenotípica (IPF) determinado en diferentes variables vegetativas y reproductivas de las plantas de *Lotus tenuis* creciendo en diferentes densidades.
Table 2: *Coefficient of variation (CV, %) and phenotypic plasticity index (IPF) of vegetative and reproductive variables of Lotus tenuis growing at different plant densities.*

Variables	Indices de plasticidad	
	CV (%)	IPF
Semillas (g/pl)	86,2	0,89
Biomasa reproductive (g/pl)	80,3	0,88
Frutos (N/pl)	75,8	0,85
Umbelas con Frutos (N/pl)	72,1	0,83
Biomasa total (g/pl)	67,6	0,84
Tallos (N/pl)	61,5	0,77
Frutos (N/umbela)	8,4	0,19
Semillas (N/fr)	6,7	0,15
1000 semillas (g)	1,0	0,02

Discusión

Los cambios observados en los atributos vegetativos y reproductivos de las plantas de *L. tenuis* son respuestas plásticas frente a las variaciones ambientales generadas por las densidades. Cuando un cultivo es sembrado a diferentes densidades, uno de los atributos que más cambia es el peso medio por planta (McGraw et al, 1986; Vega et al, 2000; Cambareri, 2010). Puede suceder que a altas densidades, las plantas no alcancen la mínima biomasa vegetativa aérea o umbral consistente con el inicio de la reproducción (Vega et al, 2000). Según las condiciones experimentales de nuestro estudio, 2,06 g/pl fue el umbral de biomasa aérea vegetativa de *L. tenuis* requerido para alcanzar la reproducción (Figura 5). Coincidentemente con nuestros resultados, en un cultivo indeterminado de *Glycine max* el umbral de biomasa aérea consistente con el inicio de la reproducción fue de 2 g/pl (Vega et al, 2000). Según nuestros cálculos, la biomasa de 2,06 g/pl puede ser alcanzada con una densidad de aproximadamente 109 pl/m² de *L. tenuis*. Esta densidad es superior al valor informado en experimentos destinados a la producción de semillas de *L. tenuis*, 90 pl/m² (Cambareri, 2010), 26 pl/m² (Bazzigalupi et al, 2010) y 20 pl/m² (Vignolio et al, 2010a).

El rendimiento de semillas (g/pl) se relacionó con el número de umbelas con frutos y la biomasa vegetativa por planta, siendo consistente con los resultados registrados en esta misma especie en experimentos previos (Vignolio y Cambareri, 2008; Vignolio et al, 2010a). El rendimiento de semillas (g/m²) no se relacionó significativamente con las densidades y se explicó por la plasticidad de las plantas en sus atributos vegetativos y reproductivos (McGraw et al, 1986; Arango et al, 1998; Weiner, 2004; Vignolio y Cambareri, 2008). La plasticidad de los atributos reproductivos y vegetativos registrada en las plantas de *L. tenuis* ha permitido explicar la falta de diferencias significativas en el rendimiento de semillas para densidades comprendidas entre 4 y 16 pl/m^2 (Vignolio y Cambareri, 2008), y en siembras de primavera de 48 y 90 pl/m^2 (Cambareri, 2010).

El tamaño de las semillas es uno de los atributos que menos cambia cuando las plantas crecen en diferentes condiciones ambientales (Vega y Andrade, 2002; Vignolio et al, 2006; Sadras, 2007; Vignolio y Cambareri, 2008). La menor variabilidad del peso medio de las semillas guardaría relación con los cambios plásticos en otros atributos como semillas (g/pl), frutos (N/pl) y umbelas con frutos (N/pl) (Arango et al, 1998).

El número de tallos por planta se relacionó positivamente con el número de umbelas con frutos. Por lo tanto, las condiciones que incidan en el aumento de tallos con ápices reproductivos, por ejemplo la defoliación, pueden impactar positivamente en la producción de semillas. Por ejemplo, parcelas de *Lotus tenuis* y de *Medicago sativa* cortadas en estado vegetativo, produjeron mayor rendimiento de semillas que las parcelas no cortadas (Iannucci et al, 2002, Bazzigalupi et al, 2010). Sin embargo, en trabajos previos no hemos registrado un incremento en el rendimiento de semillas respecto al control cuando *L. tenuis* fue manejado con cortes (Vignolio et al, 2006, 2010a). Los factores que explicarían las diferencias entre los trabajos serían el cultivar, frecuencia e intensidad del corte, estado fenológico de las plantas y condiciones climáticas durante el período de rebrote.

Aunque es posible que el aumento del número de frutos por planta sea acompañando con una reducción en el número de semillas por frutos, como ha sido informado en *Lupinus angustifolius* (Palta y Ludwig, 1998) y sugerido en *Lotus corniculatus* (Garcia-Diaz y Steiner, 2000), este tipo de respuesta no se registró en el presente estudio. En *L. tenuis*, los cambios en el número de umbelas con frutos en respuesta a la densidad (Fig. 2d) no fueron acompañados con cambios significativos en el número de semillas por fruto.

El rendimiento potencial de semillas y los porcentajes de semillas que se perdieron por dehiscencia de los frutos están dentro de los valores informados en trabajos previos (Cam-

bareri, 2010; Vignolio et al, 2010a). Según las condiciones ambientales y el manejo del cultivo, las semillas que no llegan a ser cosechadas pueden ser entre el 38 y 70 % (Cambareri, 2010; Vignolio et al, 2010a). En *L. tenuis* y en *L. corniculatus* se ha indicado que la baja cosecha de semillas es uno de los principales problemas de manejo de estas especies. La floración indeterminada, el aborto de flores y frutos, el momento de la cosecha, las pérdidas de semillas por dehiscencia de los frutos antes y durante la cosecha, trilla y limpieza reducen considerablemente el rendimiento de semillas respecto al valor potencial (Fairey y Smith, 1999; García-Díaz y Steiner, 2000; Cambareri, 2010; Vignolio et al, 2010a,b; Cambareri et al, 2012).

Los resultados del presente estudio destacan que *Lotus tenuis* puede ser sembrado en un amplio rango de densidades sin que varíe significativamente el rendimiento de semillas ni el peso medio de las mismas. La estabilidad del rendimiento se explicó por la plasticidad fenotípica de las plantas en sus atributos vegetativos y reproductivos. Los atributos analizados variaron en diferente magnitud con el incremento de la densidad. La cantidad de frutos y biomasa vegetativa por planta fueron los componentes que mejor explicaron la producción de semillas de las plantas. Según las estimaciones del presente trabajo, para alcanzar la mínima biomasa aérea vegetativa por planta consistente con el inicio de la reproducción, la densidad no debería ser superior a 109 pl/m^2.

Agradecimientos

Agradecemos a María Rosa Desirello y a Sara Garfinkel por sus comentarios en el borrador de este estudio.

Bibliografía

Acuña, H., Concha, A. and Figueroa, M. 2008. Condensed tannin concentrations of three *Lotus* species grown in different environments. Chilean J.A.R. 68: 31-41.

Arango, N., Jacobs, B.C. and Blumenthal, M.J. 1998. Seed production of *Lotus uliginosus* cv. Sharnae in response to plant population density. Aust. J. Exp. Agr. 38: 837-842.

Bazzigalupi, O., Bertin, O. y Llera, A. 2010. Momentos de defoliación y cosecha en la producción de semillas de *Lotus tenuis*. Análisis de Semillas 4: 82-84.

Blumenthal, M.J. and McGraw, R.L. 1999. *Lotus* adaptation, use, and management. *In*: Trefoil: The science and technology of *Lotus*. Cap. 6. Beuselinck, P.R. Ed. American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America. Inc. Madison, Wisconsin, USA. Pp. 97-119.

Cambareri, G.S. 2010. Cambios en partición de biomasa, fenología reproductiva y rendimiento de semilla de *Lotus tenuis* en respuesta a diferentes densidades de plantas, en cultivos de otoño y primavera. Tesis Master Scientiae en Producción Vegetal, Univ. Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. 87 p.

Cambareri, G.S., Castaño, J., Fernández, O.N., Maceira, N.O. y Vignolio, O.R. (Ex Aequo) 2012. *Lotus tenuis*: un recurso forrajero estratégico para la ganadería de la Pampa Deprimida. Ediciones INTA. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Presidencia de la Nación. 48 p.

Cauhépé, M.A. 2004. Does *Lotus glaber* improve beef production at the Flooding Pampas? *Lotus* Newsletter 34: 30-35.

Cheplick, G.P. 2002. Size and architectural traits as ontogenetic determinants of fitness in a phenotypically plastic annual weed (*Amaranthus albus*). Plant. Spec. Biol.17: 71–84.

Díaz, P., Borsani, O. and Monza, J. 2005. *Lotus*-related species and their agronomic importance. *In*: *Lotus japonicus* Handbook. Márquez, A.J. Ed. Springer, Netherlands. Pp. 25-37.

Escaray, F.J., Menéndez, A.B., Garriz, A., Pieckenstain, F.L., Estrella, M.J., Castagno, L.N., Carrasco, P., Sanjuán, J. and Ruiz, O.R. 2012. Ecological and agronomic importance of the plant genus *Lotus*. Its application in grassland sustainability and the amelioration of constrained and contaminated soils. Plant Sci. 182: 121– 133.

Fairey, D.T. and Smith, R.R. 1999. *Lotus* adaptation, use, and management. *In*: Trefoil: The science and technology of *Lotus*. Beuselinck, P.R. Ed. American Society of Agronomy, Inc.

Crop Science Society of America. Inc. Madison, Wisconsin, USA, pp. 145-166.

Gan, Y., Stulen, I., van Keulen, H and Kuiper, P.J.C. 2002. Physiological response of soybean genotypes to plant density. Field Crop. Res. 74: 231-241.

García-Díaz, C.A. and Steiner, J.J. 2000. Birdsfoot trefoil seed production: II. Plant-water status on reproductive development and seed yield. Crop Sci. 40: 449-456.

Iannucci, A., Di Fonzo, N. and Martiniello, P. 2002. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed yield and quality under different forage management systems and irrigation treatments in a Mediterranean environment. Field Crop. Res. 78: 65-74.

Martiniello, P. and Texeira da Silva, J.A. 2011. Physiological and bioagronomical aspects involved in growth and yield components of cultivated forage species in Mediterranean environments: A review. The Eur. J. Plant Sci. Biotechnol. 5: 64-98.

McGraw, R.L., Beuselinck, P.R. and Ingram, K.T. 1986. Plant population density effects on seed yield of birdsfoot trefoil. Agron. J. 78: 201-205.

Miguélez Frade, M.M. and Valenciano, J.B. 2005. Effect of sowing density on the yield and yield components of spring-sown irrigated chickpea (*Cicer arietinum*) grown in Spain. New Zeal J. Crop and Hort. Sci. 33: 367-371.

Nelder, J.A. 1962. New kinds of systematic designs for spacing experiments. Biometrics 18: 283-307.

Palta, J.A. and Ludwing, C. 1998. Yield response of narrow-leafed lupin plants to variations in pod number. Aust. J. Agric. Res. 49: 63-68.

Ploschuk, E.L., Slafer, G.A. y Ravetta, D.A. 2005. Reproductive allocation of biomass and nitrogen in annual and perennial lesquerella crops. Ann. Bot. 96: 127–135.

Rochon, J.J., Doyle, C.J., Greef, J.M., Hopkins, A., Molle, G., Sitzia, M., Scholefield, D. and Smith, C.J. 2004. Grazing legumes in Europe: a review of their status, management, benefits, research needs and future prospects. Grass Forage Sci. 59: 197-214.

Rowarth, J.S. and Sanders, K.J. 1996. Relationship between seed quality tests and field emergence for *Lotus pedunculatus* (Cav.), *L. corniculatus* (L.) and *L. tenuis* (Willd). J. Appl. Seed Prod. 14: 87-89.

Sadras, V.O. 2007. Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. Field Crop Res. 100: 125–138.

Samson, D.A. and Werk, K.S. 1986. Size-dependent effects in the analysis of reproductive effort in plants. Am. Nat. 127: 667-680.

Sevilla, G.H., Fernández, O.N., Miñón, D.P. and Montes, L. 1996. Emergence and seedling survival of *Lotus tenuis* in *Festuca arundinacea* pastures. J. Range Manage. 49: 509-511.

Soil Survey Staff-USDA. 1999. Soil Taxonomy: A basic systems for classifying soils. Agriculture Handbook 436. USDA: Washington, DC.

Valladares, F., Sancehez-Gomez, D. and Zavala, M.A. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. J. Ecol. 94: 1103–1116.

Vega, C.R.C., Sadras, V.O., Andrade, F.H. and Uhart, S.A. 2000. Reproductive allometry in soybean, maize and sunflower. Ann. Bot. 85: 461-468.

Vega, C.R.C. and Andrade, F.H. 2002. Densidad de plantas y espaciamiento entre hileras. In: Andrade, F.H. & Sadras, V.O. (eds.), Bases para el Manejo del Maíz, el Girasol y la Soja, INTA: Argentina, pp 97-135.

Vignolio, O.R., Fernández, O.N. and Castaño, J. 2006. Responses of *Lotus glaber* (Leguminosae) cv. Chajá to defoliation in reproductive stage. Ann. Bot. Fenn. 43: 284-287.

Vignolio, O.R. y Cambareri, G.S. 2008. Producción de biomasa vegetativa y reproductiva en plantas de *Lotus tenuis* cultivadas a diferentes densidades. Rev. Arg. Prod. Anim. 28: 77-86.

Vignolio, O.R., Cambareri, G.S. and Maceira, N.O. 2010a. Seed production of *Lotus tenuis* (Fabaceae), a forage legume: effects of row spacing, seedling date, and plant defoliation. Crop Pasture Sci. 61: 1027-1035.

Vignolio, O.R., Cambareri, G.S. y Maceira, N.O. 2010b. *Lotus tenuis* (Fabaceae). Productividad y manejo agronómico. Rev. Arg. Prod. Anim. 30: 97-116.

Vignolio, O.R. and Fernández, O.N. 2011. *Lotus tenuis* seedling establishment and biomass production in Flooding Pampa grasslands (Buenos Aires, Argentina). Chilean J.A.R. 71: 96-103.

Wang, T., Zhou, D., Wang, P. and Zhang, H. 2006. Size-dependent reproductive effort in *Amaranthus retroflexus:* the influence of planting density and sowing date. Can. J. Bot. 84: 485–492.

Weiner, J. 1988. The influence of competition on plant reproduction. *In*: Lovett Doust, J. & Lovett Doust, L. (eds.), Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies. Oxford University, Press: New York, pp. 228-245.

Weiner, J. 2004. Allocation, plasticity and allometry in plants. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 6: 207-215.

Weiner, J., Campbell, L.G., Pino, J. and Echarte, L. 2009. The allometry of reproduction within plant populations. J. Ecol. 97: 1220–1233.

Willey, R.W. and Rao, M.R. 1981. A systematic design to examine effects of plant population and spatial arrangement in intercropping, illustrated by an experiment on chick-pea/safflower. Exp. Agr. 17: 63-73.