

# Calidad nutritiva de láminas de dos cultivares de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb)

INSUA, J.R.<sup>1</sup>; AGNUSDEI, M.G.<sup>2</sup>; DI MARCO, O.N.<sup>1</sup>

## RESUMEN

Se evaluó la calidad nutritiva de dos cultivares de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb) durante un rebrote estival (temperatura media:  $21 \pm 2.8$  °C), en relación a la morfogénesis de dos cultivares (Tradicional: El Palenque Plus<sup>INTA</sup> y Hojas flexibles: Grasslands Advance<sup>Gentos</sup>). El diseño fue completamente aleatorizado ( $n=3$ ) en 250 macetas/cultivar al aire libre, sin limitantes hídricas ni de N y P. Se realizaron 8 cosechas destructivas de 300 macollos vegetativos/cosecha en un período 14 semanas. La frecuencia se ajustó al estado ontogénico de las hojas para obtener láminas en 6 estados de similar edad térmica (desde el inicio de crecimiento a la senescencia completa) de 3 generaciones consecutivas de hojas (G1, G2 y G3). Las variables de morfogénesis se midieron en 15 macollos marcados por cultivar. La edad, Vida Media Foliar (VMF) e Intervalo de Aparición de Hoja (IAH) se expresaron en Grados Días de Crecimiento (GDC:  $\sum \text{Tem}^{1/2} - 4$  °C). En las hojas se midió la longitud de las láminas y vainas; y en las láminas el contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN) y la digestibilidad *in vitro* de la FDN (DFDN) y de la MS (DAMS) por incubación a 24 horas en digestor Daisy<sup>1</sup>. Las variables de morfogénesis se evaluaron como medidas repetidas en el tiempo; y para las de calidad se ajustaron funciones lineales con la edad y el largo foliar, y se compararon mediante análisis de variables dummy. Los cultivares no se diferenciaron en morfogénesis, con excepción de la VMF y el Número de Hojas Vivas por macollo (NHV) que fueron menores para Advance. La DFDN de ambos cultivares disminuyó linealmente con la edad y con el aumento del largo foliar entre hojas sucesivas de rebrote, con mayor tasa en Advance. Pero el contenido de FDN no se diferenció entre cultivares, sino que se mantuvo constante durante la vida foliar ( $54,5 \pm 3,2\%$ ) y aumentó durante la senescencia ( $64,9 \pm 0,8\%$ ). Los cultivares no se diferenciaron en calidad al mismo estado ontogénico, lo cual indica que Advance, por tener menor VMF, requiere defoliaciones más frecuentes que El Palenque Plus para controlar los cambios de calidad en el tiempo.

**Palabras clave:** calidad de láminas, FDN, digestibilidad FDN, morfogénesis foliar, defoliación.

## ABSTRACT

Leaf nutritive quality was evaluated in two tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb) cultivars, during a summer regrowth (average daily temperature:  $21 \pm 2.8$  °C), in relation to morphogenesis parameters. Cultivars were El Palenque Plus<sup>INTA</sup> (traditional) and Grasslands Advance<sup>Gentos</sup> (soft leaf type). The experiment was conducted in pots (250/cultivar) arranged in a completely randomised design ( $n=3$ ) under natural climate conditions, without limitation of water, N and P. Swards were sampled 8 times (~300 tillers/harvest) over a period of 14 weeks,

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Balcarce. E-mail: odimarco@balcarce.inta.gov.ar

to obtain leaves in 6 ontogenetic stages of similar age (from growing to complete senescence) corresponding to the 3 first sequentially appearing leaf generations (G1, G2, G3). Morphogenesis traits were measured in 15 marked tillers/cultivar. Leaf age, leaf lifespan (LLS) and leaf appearance interval (LAI) were expressed in growing degree days (GDD:  $\Sigma$ average temperature - 4.0 °C). Leaf blades and sheaths were measured and leaf blade NDF and the *in vitro* digestibility (NDFD and DMD, incubation at 24 h Daisy<sup>II</sup> digester) were determined. The morphogenesis traits were evaluated using repeated measures data analysis. Quality traits were analyzed by lineal function and dummy variables. The mean values of cultivars in each ontogenetic state were compared by ANOVA (Tukey,  $p < 0.05$ ). Cultivar did not differ in morphogenesis traits, with the exception of LLS and number of leaving leaves (NLL), which were lower in Advance. The NDFD declined with leaf age and length in both cultivars, with higher rate in Advance due to its shorter LLS. However, cultivars did not differ in NDF content, which remained stable throughout the leaf lifespan (54.5±3%) and increased during senescence (64.9±0.8%). Cultivars did not differ in NDFD at similar ontogenetic stages, which indicates that Advance require more frequent defoliations than El Palenque to control changes of quality over time.

**Keywords:** Tall fescue, cultivars, leaf quality, NDF, DNDF, morphogenesis, defoliation.

## INTRODUCCIÓN

Los cultivares de hojas flexibles de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb) fueron desarrollados para mejorar la palatabilidad, el consumo y la producción animal (Hopkins *et al.*, 2009). Hay experimentos que muestran que con ellos se pueden alcanzar producciones de leche comparables a raigrás perenne (Milne *et al.*, 1997; Chapman *et al.*, 2007). No obstante, el resultado productivo está asociado al manejo de la defoliación (Milne, 2001) que, al igual que en raigrás perenne (Fulkerson y Slack, 1994), depende de la sincronización entre la frecuencia de defoliación y la dinámica del recambio de hojas (Donaghy *et al.*, 2008).

La biomasa se acumula en ciclos sucesivos de recambio foliar. En éstos, las hojas van cambiando de edad y aumentando de longitud progresivamente, lo cual ocasiona pérdida de calidad del forraje (Wilson, 1976; Duru y Ducroq, 2002; Groot y Neuteboom, 1997). El aumento del largo foliar y la consecuente pérdida de calidad durante el rebrote se atribuye al incremento progresivo de la longitud de las vainas (Duru y Ducroq, 2002). Por lo tanto, la reducción de la altura de las vainas con el manejo de la defoliación disminuye la longitud de las láminas y aumenta la calidad nutritiva del forraje (Duru y Ducroq, 2002; Di Marco y Agnusdei, 2010).

La Vida Media Foliar (VMF), que es el período entre la emergencia de la hoja hasta que comienza la senescencia, es un parámetro de gran utilidad para sincronizar la frecuencia de defoliación con la dinámica del recambio de hojas (Lemaire y Chapman, 1996). Durante la VMF se acumula un Número de Hojas Vivas por macollo (NHV) que depende del cociente entre la VMF y el Intervalo de Aparición de Hojas (IAH) de la especie. Por ejemplo, raigrás puede acumular hasta 3 hojas vivas por macollo sin que se acumule material senescente (Fulkerson y Slack, 1994) porque tiene una VMF de 330 Grados Días de Crecimiento (GDC en °Cd) y un IAH de 110 GDC (330/110=3). Por lo

tanto, las variables de morfogénesis mencionadas, o el número de hojas por macollo, son de gran utilidad para interpretar los cambios de calidad y pérdidas por senescencia durante la acumulación de biomasa.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la calidad nutritiva de láminas individuales de dos cultivares de *Festuca arundinacea* (tradicional y de hojas flexibles) en relación a la morfogénesis de los cultivares. El estudio se realizó en hojas individuales, en seis estados ontogénicos de similar edad térmica, que abarcó desde el inicio del crecimiento hasta la senescencia completa de las primeras tres generaciones de hojas consecutivas de un ciclo de rebrote. Este protocolo experimental permite analizar la calidad de las láminas de ambos cultivares en estados ontogénicos comparables y evaluar, además, si el largo foliar tiene un efecto adicional a la edad foliar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó la calidad nutritiva de dos cultivares de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb.), un cultivar tradicional (El Palenque Plus<sup>INTA</sup>) y otro de hojas flexibles (Grasslands Advance<sup>Gentos</sup>). El ensayo se llevó a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del INTA en Balcarce (sudeste Bonaerense, 37° 45' S; 58° 18' W) durante el verano de 2009/10.

Los cultivares se sembraron (4/08/09) en 250 macetas/cultivar (20 x 40 cm), con sustrato extraído del horizonte A de un suelo Argiudol típico, en un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA,  $n=3$ ). El ensayo fue al aire libre sin limitantes hídricas ni nutricionales para simular un ambiente no restrictivo para el crecimiento. Se aplicó riego por aspersión diariamente hasta capacidad de campo, y se realizó una fertilización inicial con Nitrato de Amonio Calcáreo (150 kg N ha<sup>-1</sup>) y Fosfato Diamónico (50 kg P ha<sup>-1</sup>), más fertilizaciones semanales de Nitrato de Amonio Calcáreo (35 kg

N ha<sup>-1</sup>) durante todo el ensayo. Previo al inicio del período experimental se realizaron 3 cortes para favorecer el aumento de la densidad de plantas y homogenizar la edad de macollos para formar micropasturas densas y foliosas.

Previo al muestreo se realizó un corte de homogenización y sincronización del crecimiento a 5 cm de altura (8/12/09). Se registró la temperatura diaria, la cual fue de 21±2,8 °C para todo el período experimental. El tiempo se expresó como GDC, que se calculó como la acumulación de la temperatura media diaria por encima de una temperatura base de 4 °C. Se registró el IAH, la tasa de elongación foliar (TEF), la VMF y el NHV por macollo, con una frecuencia de tres veces por semana en 15 macollos por cultivar. La VMF se midió como los GDC acumulados transcurridos entre la aparición de la lámina visible y el comienzo de la senescencia.

Al mismo tiempo, se realizaron 8 cosechas destructivas durante 14 semanas, en las que se obtuvieron ~ 300 macollos vegetativos/unidad experimental. La frecuencia de cosecha se ajustó al estado de desarrollo de las hojas para obtener la evolución de las 3 primeras generaciones de hojas que aparecieron secuencialmente durante el rebrote (G1, G2 y G3) en los siguientes 6 estados ontogénicos: crecimiento, expandida, adulta, pre-senescente, 50% de senescencia y 100% de senescencia.

Los macollos se cortaron a nivel de la base y se congelaron inmediatamente en N líquido. Luego, se almacenaron en freezer (-20 °C) hasta su posterior separación y procesado. A continuación, se descongelaron y se mantuvieron en bandejas sobre hielo durante la separación de la lámina y vaina, por generación (G1, G2 y G3) en 6 categorías de edad. Las generaciones posteriores a la G3 que aparecie-

ron durante este período no fueron estudiadas y se descartaron.

Las láminas y vainas se midieron y pesaron por separado. Las láminas se liofilizaron y molieron con un molino tipo Cyclotec con malla de 1 mm. Luego se determinó el contenido (en %) de FDN (Van Soest *et al.*, 1991) y la digestibilidad de la FDN (DFDN) y verdadera de la materia seca (DVMS) por incubación *in vitro* de 250 mg de muestra a 24 h de incubación en el equipo Daisy<sup>II</sup>. La DVMS se convirtió a digestibilidad aparente (DAMS) restando el factor metabólico 11,9 propuesto por Van Soest (1994).

Los datos se analizaron con un modelo estadístico lineal para un diseño DCA con 3 repeticiones. Las variables de morfogénesis se analizaron como mediciones repetidas en el tiempo tomando en cuenta a los macollos marcados como sujetos de estudio y al cultivar como factor de tratamiento. Para las variables de calidad se evaluaron los cultivares y las generaciones de las láminas realizando ajustes de funciones lineales con los GDC y comparaciones mediante análisis de variables dummy. Los datos se analizaron con los PROC REG y PROC GLM de la versión 8 del paquete estadístico SAS (SAS, 2001). Se efectuó un análisis de la varianza para un DCA de las variables de interés y se compararon las medias utilizando la prueba de Tukey (p<0,05).

## RESULTADOS

### Variables de morfogénesis

Advance presentó menor VMF y NHV que El Palenque Plus, sin diferenciarse en TEF, IAH ni largo foliar. El largo

Parámetros	Advance	El Palenque Plus	EE
VMF(°Cd)	490 b	632 a	60
NHV (hojas macollo <sup>-1</sup> )	2,5 b	3,3 a	0,2
TEF (mm día <sup>-1</sup> macollo <sup>-1</sup> )	18 a	16 a	1,8
IAH (°Cd)	168 a	190 a	38
<b>Largo lámina (mm)</b>			
G1	142 c	136 c	7
G2	255 b	222 b	7
G3	354 a	360 a	7
<b>Largo vaina (mm)</b>			
G1	41 c	37 c	7
G2	73 b	64 b	14
G3	99 a	102 a	12

**Tabla 1.** Variables de morfogénesis de "Advance" (A) y "El Palenque Plus" (EP). Letras diferentes significan diferencias significativas (p<0,05). EE: Error estándar de la media (n=3).

de lámina y vaina fue similar entre cultivares y aumentó entre generaciones de hojas sucesivas del rebrote (tabla 1).

**Calidad de láminas al mismo estado ontogénico**

Los cultivares no se diferenciaron en calidad de las láminas (DAMS, FDN y DFDN) al mismo estado ontogénico (tabla 2). La DAMS y la DFDN disminuyeron con el progreso de la ontogenia foliar ( $p < 0,0001$ ) y estuvieron altamente relacionados entre sí ( $y = 0,68x (\pm 0,02) + 26,4 (\pm 0,68)$ ,  $R^2 = 0,95$ ,  $p < 0,0001$ ). El contenido de FDN no varió durante la VMF, pero aumentó durante el proceso de senescencia. Dicho parámetro mostró moderada relación con la DAMS ( $y = -1,91x (\pm 0,17) + 162 (\pm 9,8)$ ,  $R^2 = 0,54$ ,  $p < 0,0001$ ) y pobre asociación con la DFDN ( $y = 2,2x (\pm 0,3) - 163 (\pm 17)$ ,  $R^2 = 0,33$ ,  $p < 0,0001$ ).

**Efecto de la edad foliar sobre la calidad de las láminas**

El contenido de FDN se mantuvo constante durante la VMF en un valor promedio de  $54,5 \pm 3,2\%$  para ambos cul-

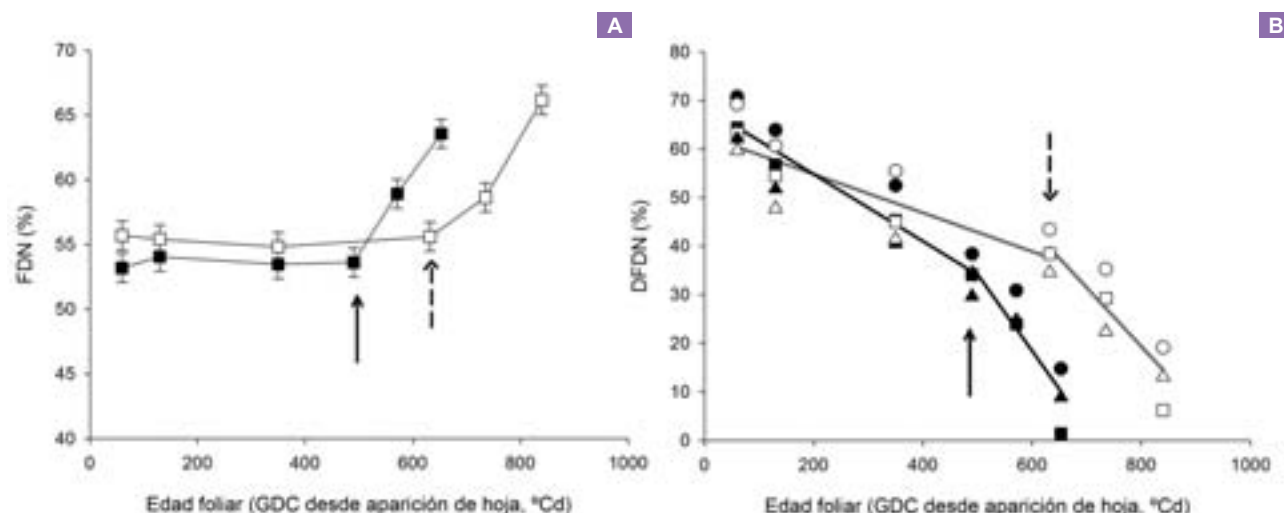
tivares, sin diferencias entre ellos ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, durante la senescencia, la FDN aumentó hasta un promedio de  $64,9 \pm 0,8\%$  (figura 1a). En cambio, la DFDN disminuyó durante la VMF y senescencia en ambos cultivares (figura 1b). La tasa de pérdida durante la VMF fue mayor en Advance (paralelismo  $p < 0,001$ ), pero no se diferenció entre cultivares durante la senescencia (paralelismo  $p > 0,05$ ). La disminución de DFDN con la edad foliar entre generaciones de hojas sucesivas de rebrote fue similar dentro de cada cultivar (paralelismo Advance:  $p > 0,05$ ; El Palenque Plus:  $p > 0,05$ ), pero las ordenadas difirieron (Advance: G1: 74,6, G2: 67,2, G3: 63,9,  $p < 0,05$ ; El Palenque Plus: G1: 69,1, G2: 62,2, G3: 57,1,  $p < 0,05$ ).

**Efecto del largo foliar sobre la calidad de las láminas**

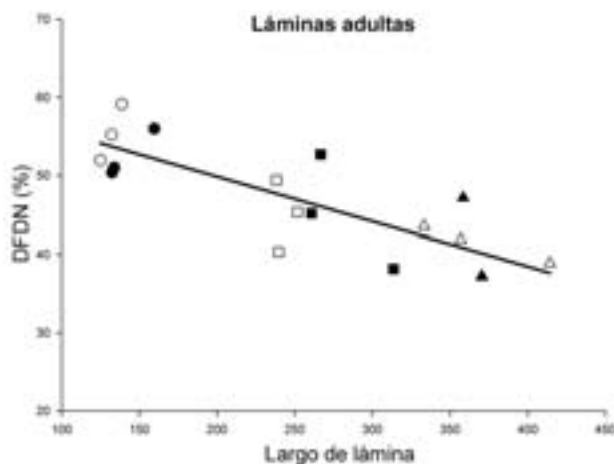
En hojas adultas (desde hoja expandida hasta el final de la VMF) el contenido de FDN no fue afectado por el aumento del largo de lámina ( $54,5 \pm 3,2\%$ ) entre generaciones, pero la DFDN disminuyó a una tasa de aproximadamente

Estado	FDN (%)			DFDN (%)			DAMS (%)		
	A	EP	EE	A	EP	EE	A	EP	EE
<b>Crecimiento</b>	53,2	55,7	0,8	65,7	64,0	1,7	69,8	68,1	0,8
<b>Expandida</b>	54,1	55,4	1,0	57,4	54,3	1,1	65,1	62,7	0,8
<b>Adulta</b>	53,5	54,8	1,1	46,1	47,3	1,6	59,3	59,2	0,8
<b>Pre Senescente</b>	53,6	55,6	1,1	34,0	38,8	1,6	52,8	54,2	0,8
<b>50% Senescente</b>	58,9	58,6	1,0	26,5	29,0	1,3	44,9	46,4	0,7
<b>100% Senescente</b>	63,6	66,2	0,8	8,3	12,8	1,2	30,0	30,9	0,4

**Tabla 2.** Contenido y digestibilidad de la FDN (DFDN) y de la MS (DAMS) de láminas en diferentes estados ontogénicos de "Advance" (A) y "El Palenque Plus" (EP). EE: Error estándar de la media (n=3).



**Figura 1.** Contenido (A) y digestibilidad de la FDN (DFDN, b) de láminas de "Advance" (negro) y "El Palenque Plus" (blanco) en la relación a la edad foliar. Flechas muestran el comienzo de la senescencia. En B: G1, ●; G2, ■; G3, ▲.



**Figura 2.** Efecto del largo de lámina sobre la digestibilidad de la FDN (DFDN) para "Advance" (negro) y "El Palenque Plus" (blanco) en hojas adultas. G1, ●○; G2, ■□; G3, ▲△.  
 $Y = -0,57x(\pm 0,1) + 61,2(\pm 2,7)$ ,  $R^2 = 0,67$ ;  $p < 0,0001$ .

0,6 por cada 10 mm de aumento en longitud de lámina (figura 2), sin diferencias entre cultivares (coincidencia  $p > 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

### Morfogénesis de los cultivares

La menor VMF de Advance en comparación con El Palenque Plus (490 vs 630 GDC) explicó su menor NHV (2,5 vs 3,3 NHV, respectivamente), ya que el NHV surge del cociente entre la VMF y el IAH (Lemaire y Agnusdei, 2000). En ambos cultivares la VMF estuvo en el rango de los 500-600 GDC citados para festuca alta (Gao y Wilman, 1994; Lemaire y Chapman, 1996), que corresponde a una especie de moderada tasa de recambio foliar en comparación a raigrás perenne que tiene una VMF de 330 y se clasifica como una especie de alta tasa de recambio foliar (Davies, 1988).

### Calidad de las láminas durante la ontogenia

Durante la VMF (desde emergencia hasta pre-senescencia) la DAMS disminuyó de aproximadamente 70 a 50%, llegando a 30% en la lámina 100% senescente (tabla 2). Las variaciones de este parámetro estuvieron altamente asociadas a las variaciones en la DFDN ( $R^2 = 95\%$ ), y en menor medida al contenido de FDN ( $R^2 = 54\%$ ). A pesar de dichas variaciones, los cultivares no se diferenciaron al mismo estado ontogénico (tabla 2). La DFDN disminuyó con el paso del tiempo durante la VMF y el contenido de FDN se mantuvo sin cambios, lo cual indica que ambas variables son independientes. Por esta razón es importante tener en cuenta la DFDN para una mejor interpretación de los cambios de calidad del forraje que corrientemente se asocian al aumento del contenido de FDN.

### Edad foliar y calidad de las láminas

El contenido de FDN de las láminas verdes (durante la VMF) se mantuvo constante en un promedio de  $54,5 \pm 3,2$

para ambos cultivares (figura 1a), valor similar al encontrado por Buxton y Redfearn (1997) en festuca alta. La constancia de la FDN durante la vida foliar concuerda con lo observado en otras especies (Di Marco y Agnusdei, 2010; Avila *et al.*, 2010; Agnusdei *et al.*, 2009). Esto se debe a que la FDN se forma en la zona de crecimiento ubicada en la base de la lámina dentro del tubo de vainas (Schnyder *et al.*, 1987; Maurice *et al.*, 1997). En cambio, el aumento de la FDN durante la senescencia se explica por la exportación del contenido celular hacia las hojas en crecimiento (Robson y Deacon, 1978).

La DFDN disminuyó progresivamente de 65% hasta 36% durante la VMF, es decir, desde la emergencia hasta la pre-senescencia sin diferencias entre cultivares al mismo estado ontogénico (tabla 2). Sin embargo, los estados ontogénicos de Advance transcurrieron más rápido por tener menor VMF (-20%). Esto significa que el mencionado cultivar envejeció más rápido y, por lo tanto, tuvo mayor tasa de pérdida de DFDN que en El Palenque Plus (figura 1b). Esto sugiere que los procesos físicos (Wilson y Mertens, 1995) y químicos (Akin, 1989; Jung y Allen, 1995; Buxton y Redfearn, 1997) que vuelven la pared celular menos digestible, sucedieron más aceleradamente en el cultivar con recambio foliar más rápido. Por otro lado, la marcada caída de DFDN durante la senescencia fue debida al aumento de la fracción seca de la lámina.

### Largo foliar y calidad de las láminas

Las hojas de las generaciones sucesivas aumentaron de longitud y tuvieron menor DFDN. Groot y Neuteboom (1997) y Duru y Ducroq (2002) sostienen que la menor DFDN de las hojas más largas está asociada al incremento de longitud del tubo de vainas, que determina mayor edad de la hoja al momento de emerger por fuera de éste. Los resultados del presente trabajo indican que se pierden 0,6 puntos de DFDN por cada 10 mm de incremento en longitud (figura 2), sin cambios en el contenido de FDN. Resultados similares fueron obtenidos en otras especies  $C_3$  y  $C_4$  (Di Marco y Agnusdei, 2010; Avila *et al.*, 2010; Agnusdei *et al.*, 2009).

## CONCLUSIONES

Los resultados confirman que la calidad de los dos cultivares de festuca alta en estudio no permanece estática durante el estado vegetativo. La digestibilidad de las láminas disminuye con la edad de la hoja y con el aumento del largo foliar entre generaciones de hojas sucesivas que conforman un ciclo de rebrote. La pérdida de calidad de las láminas se debe a la disminución de la DFDN. El contenido de FDN solamente aumenta durante el proceso de senescencia de las láminas, pero se mantiene estable en las láminas hasta el final de su ciclo de vida. Al mismo estado ontogénico los cultivares presentan similar calidad. Sin embargo, el cultivar Advance tiene menor VMF (490 vs 632 GDC), lo que significa que envejece más rápido y, por lo tanto, pierde digestibilidad a mayor tasa. A una tem-



peratura media de 20 °C las láminas del cultivar Advance cumpliría su ciclo de vida, o de acumulación de biomasa, 9 días antes que El Palenque Plus, por lo tanto, requiere defoliaciones más frecuentes para mantener una calidad equiparable a la del cultivar tradicional.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGNUSDEI, M.G., NENNING, F.R., DI MARCO, O.N. y AELLO, M.S. 2009. Variaciones de calidad nutritiva durante el crecimiento vegetativo de gramíneas megatérmicas de diferente porte y longitud foliar (*Chloris gayana* y *Digitaria decumbens*). Rev. Arg. Prod. Anim. 29: 13-25. AKIN, D.E. 1989. Histological and physical factors affecting digestibility at forages. Agron. J. 1:17-25.
- AVILA, R.E.; DI MARCO, O.N.; AGNUSDEI, M.G.; MAYORAL, C. 2010. Digestibilidad de la fibra y materia seca de dos gramíneas megatérmicas (*Chloris gayana* y *Cenchrus ciliaris*) de diferente porte. Relación con la edad y largo foliar. Rev. Arg. Prod. Anim. 30: 1-13.
- BUXTON, D.R.; REDFEARN, D.D. 1997. Plant Limitations to Fiber Digestion and Utilization. J Nutr. 127 (5): 814S-818S.
- CHAPMAN, D. F.; THARMARAJ, J.; NIE, N. 2007. Milk-production potential of different sward types in a temperate southern Australian environment. Grass Forage Sci. 63, 221-233.
- DAVIES, A. 1988. The regrowth of the grass sward. En: JONES M.B.; LAZENBY, A. (Eds.) The Grass Crop: The Physiological Basis of Production. Chapman and Hall, London. pp. 129-169.
- DI MARCO, O.N.; AGNUSDEI, M.G. 2010. Plant Morphogenetic plasticity in response to sward height can modify fibre digestibility in  $C_3$  (*Thinopyrum ponticum*) and  $C_4$  grass species (*Chloris gayana*). En: MACHADO, C.F. (Eds.) An overview of research on pastoral-based systems in the southern part of south America. Tandil. Editorial Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. pp 18-27.
- DONAGHY, D.J.; TURNER, L.R.; ADAMCZEWSKI, K.A. 2008. Effect of defoliation management on water-soluble carbohydrate energy reserves, dry matter yields, and herbage quality of Tall Fescue. Agron. J. 100:122-127.
- DURU, M.; DUCROCQ, H. 2002. A model of lamina digestibility of orchardgrass as influenced by nitrogen and defoliation. Crop Sci. 42: 214 – 223.
- FULKERSON, W.J.; SLACK, K. 1994. Leaf number as a criterion for determining defoliation time for *Lolium perenne* 1. Effect of water-soluble carbohydrates and senescence. Grass Forage Sci. 49: 373-377.
- GAO, Y.; WILMAN, D. 1994. Leaf development in eight related grasses. J. Agric. Sci. 123, 41-46.
- GROOT, J.C.; NEUTEBOOM, J.H. 1997. Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion the same levels. J. Sci. Food Agric. 75: 227-236.
- HOPKINS, A.A.; SAHA, M.C.; WANG, Z.Y. 2009. Breeding, genetics, and cultivars. En: FRIBOURG, H.A.; HANNAWAY, D.B.; WEST, C.P. (Eds.). Tall fescue for the Twenty-first Century. Agron. Monogr. 53. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. pp.339-366.
- JUNG, H.J.; ALLEN, M.S. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. J. Anim. Sci. 73: 2774-2790.
- LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. En: HODGSON, J.; ILLIUS, A.W. (Eds.) The ecology and management of grazing system. CAB International. pp. 3-36.
- LEMAIRE, G.; AGNUSDEI, M. 2000. Leaf tissue turnover and efficiency of herbage utilization. En: LEMAIER, G.; HODGSON, J.; de MORAES, A.; CARVALHO, P.C. de F.; NABINGER, C. (Eds.) Grassland ecophysiology and grazing ecology. CAB International. pp. 265-287.
- MAURICE, I.; GASTAL, F.; DURAND, J.L. 1997. Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematic approach for non-steady growth. Ann. Bot. 80: 673-683.
- MILNE, G.D. 2001. Tall fescue - dramatic changes. En: Proceedings of the Grassland Society of Victoria 42<sup>nd</sup> Annual Conference. pp.60-69.
- MILNE, G.D.; SHAW, R.; POWELL, R.; PIRIE, B.; PIRIE, J. 1997. Tall fescue use on dairy farms. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 59: 163-167.
- ROBSON M.J.; DEACON, M.J. 1978 Nitrogen deficiency in small closed communities of S24 ryegrass. II. Changes in the weight and chemical composition of single leaves during their growth and death. Ann. Bot. 42, 1199-1213.
- SAS. 2001. SAS/STAT® User's guide (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- SCHNYDER, H.; NELSON, C.J.; COUTTS, J.H. 1987. Assessment of spatial distribution of growth in the elongation zone of grass leaf blades. Plant Physiol. 85, 290-293.
- VAN SOEST, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY. 476 p.
- VAN SOEST P., ROBERTSON, J.; LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dietary Sci. 74: 3583 -3597.
- WILSON, J.R. 1976. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition and quality and dry matter digestibility. Aust. J. Agric. Res. 27: 343-354.
- WILSON, J.R.; MERTENS, D.R. 1995. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. Crop Sci. 35:251-259.