

Anatomía foliar de *Bromus auleticus* y *Setaria lachnea* sometidas a digestión *in situ*

M. M. GASSER, J. C. RAMOS, J. C. TIVANO & A. C. VEGETTI

Cátedra de Morfología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Litoral.
E-mail: jctivano@unl.edu.ar

GASSER, M. M., J. C. RAMOS, J. C. TIVANO & A. C. VEGETTI. 2002. Anatomía foliar de *Bromus auleticus* y *Setaria lachnea* sometidas a digestión *in situ*. Rev. Fac. Agron. 105(1): 68-76.

Se describen los porcentajes de tejidos foliares de *Bromus auleticus* Trin. ex Ness (Cebadilla Chaqueña) y *Setaria lachnea* (Ness) Kunth (Moha Perenne) y el patrón de ataque que estos sufrieron durante la digestión ruminal. Muestras de lámina foliar se sometieron a digestión ruminal durante 24 y 48 horas en una vaca en producción provista de cánula. El material digerido se lavó con agua fría hasta que el líquido efluente fue incoloro y se colocó en solución de formol aceto alcohólica (FAA). Del residuo, se prepararon muestras para su observación en microscopio electrónico de barrido (MEB). Las muestras de lámina foliar de 5 mm de longitud fueron fijadas en FAA, cortadas con micrótomos rotatorio y coloreadas con safranina-fast green. Con un planímetro digital electrónico (PLANIX 7) se midió la superficie ocupada por cada tejido. Se determinó el total de tejidos lentamente digeribles e indigeribles (TLDI), determinados para inferir su calidad forrajera: xilema + epidermis + vaina Kranz + esclerénquima. *B. auleticus* presentó altos porcentajes de esclerénquima y de clorénquima. *S. lachnea* mostró altos porcentajes de vaina del haz y epidermis.

En *B. auleticus* a las 24 horas se encontraron digeridos el floema y el clorénquima, y parcialmente digeridas las dos epidermis. A las 48 horas se había logrado la digestión del protoxilema y de las dos epidermis. En *S. lachnea* a las 24 horas se encontraban digeridos el floema, el clorénquima y la epidermis abaxial. A las 48 horas se había logrado la digestión total de la epidermis adaxial.

Palabras clave: Anatomía foliar, digestibilidad, gramíneas C₃ y C₄

GASSER, M. M., J. C. RAMOS, J. C. TIVANO & A. C. VEGETTI. 2002. Leaf anatomy of *in situ* digested *Bromus auleticus* and *Setaria lachnea*. Rev. Fac. Agron. 105(1): 68-76.

Percentages of foliar tissues and attack pattern undergone under ruminal digestion of *Bromus auleticus* Trin. ex Ness (Cebadilla Chaqueña) and *Setaria lachnea* (Nees) Kunth (Moha Perenne) are described in the present study. Leaf samples were kept in 10 x 20 cm nylon bags with 50 + 15 μ pores, and were stored to ruminal digestion for 24 and 48 hours in a cannulated cow. Samples of the digested material were taken and prepared for their observation under a scanning electron microscope (SEM).

Five millimeter long leaf blade samples were fixed in formol aceto alcoholic solution (FAA), sectioned with a rotating microtome and stained with safranin-fast green, in order to perform the quantitative anatomic studies. A PLANIX 7 electronic digital planimeter was utilized to determine the area corresponding to each tissue. Total slow and non digestible tissues (TLDI), i.e. xylem + epidermis + bundle sheath + sclerenchyma, were determined. *B. auleticus* showed a higher proportion of sclerenchyma and chlorenchyma, while percentages of vascular tissues, bundle sheath and epidermis were higher for *Setaria lachnea*, which presents, therefore, higher TLDI tissues.

In *B. auleticus* phloem and clorenchyma were completely digested at 24 hours. However, in the same period of time the both epidermis were incompletely degraded. Finally, the protoxylem and both epidermis were completely digested at 48 hours. In *S. lachnea* the phloem, chlorenchyma and abaxial epidermis were completely degraded at 24 hours. The abaxial epidermis was completely digested at 48 hours.

Key words: leaf anatomy, digestibility, C₃ and C₄ grass.

INTRODUCCIÓN

Moha perenne (*Setaria lachnea* (Nees) Kunth) es una gramínea nativa, con vía fotosintética C₄, subgrupo NADP-ME (Ellis, 1977; Carraro *et al.*, 1991), abundante en el Parque Chaqueño, con excelente productividad y calidad, y con aptitud para ser utilizada durante el invierno como pastura diferida (Covas & Frecentese, 1983).

La Cebadilla Chaqueña (*Bromus auleticus* Trin. ex Ness) es una gramínea C₃ nativa, perenne del centro-este de Argentina que presenta gran potencial como forrajera invernal por la distribución uniforme de producción desde febrero a agosto, así como por la calidad y palatabilidad del forraje producido (Berreta *et al.*, 1990; Olmos, 1993; Pinto Oliveira & Costa Moraes, 1993).

Las Gramíneas C₃ y C₄ presentan diferencias anatómicas importantes (Hattersley, 1987). Es un hecho reconocido por varios autores que las especies con vía fotosintética C₃ tienen menor proporción de tejidos lignificados (Akin & Burdick, 1975; Hemández & Ventura, 1981; Ferres Terra, 1982; Akin, 1984; Akin *et al.*, 1984; Wilson & Hattersley, 1989). Estas diferencias han sido señaladas como uno de los factores que afectan la digestibilidad de los pastos (Akin *et al.*, 1984; Wilson & Hacker, 1987; Wilson 1990), dado que la degradabilidad de los tejidos vegetales es variable según su composición química y arreglo estructural de las células (Wilson & Hatfield, 1997). Por ello es importante conocer la proporción de los diferentes tejidos foliares, ya que las investigaciones de las características morfológicas de las especies de interés forrajero y la respuesta a la degradación ruminal permiten ampliar el conocimiento del valor nutritivo de estos recursos a partir de características histofoliares (Tivano & Heinzen, 1996). En el presente trabajo se estudian el porcentaje de tejidos y el patrón de ataque que sufrieron los mismos durante la digestión ruminal en láminas foliares de *S. lachnea* y *B. auleticus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se trabajó con una población de *S. lachnea* de la localidad de Lozano (Departamento Capital, Provincia de Jujuy, 24°25'S y 65°36'W) y una población de *B. auleticus* de Lehmann (Departamento Castellanos, Provincia de Santa Fe, 31°32'S y 61°32'W) implantadas, desde semilla en el primer caso y por clonación de matas en el segundo, en el Jardín Botánico de la Facultad de Ciencias Agrarias de Esperanza (UNL) (Departamento Las Colonias, Provincia de Santa Fe). Se recogieron muestras de hojas de tres plantas representativas de la población, al estado vegetativo, para realizar estudios de digestión *in situ* y anatómicos. Por el diferente ciclo de cada una de las especies las muestras de hojas de *B. auleticus* se tomaron en mayo y las de *S. lachnea* en noviembre. Las muestras se integraron con las hojas más distales que presentaban lámina expandida y clara diferenciación de la lígula.

Análisis de digestión *in situ*

Se tomaron dos muestras de hoja de cada especie de 5 g de materia seca y se cortaron en fracciones de 1,5 - 2,5 cm de longitud para simular la masticación animal (Frecentese & Stritzler, 1985). Las muestras se colocaron en bolsas de 10 x 20 cm de nylon con poros de 50 + 15 µ. Luego se sometieron durante 24 y 48 horas a digestión ruminal en una vaca Holando Argentino (*Bos taurus*) en producción, provista de cánula, alimentada con heno de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con 17% de proteína bruta y 60% de digestibilidad.

El material digerido se lavó con agua fría (5 °C) hasta que el líquido efluente fue incoloro y se colocó en solución de formol aceto alcohólica (FAA) para inhibir totalmente la actividad microbiana sobre el material y conservar intacta su estructura. De este residuo, se tomaron y prepararon muestras para su observación en microscopio electrónico de barrido (MEB).

Técnicas anatómicas

Para estudiar la anatomía cuantitativa, las muestras de lámina de 5 mm de largo fueron fijadas en FAA, cortadas con un micrótomo rotativo a 6–11 μ m y coloreadas con safranina-fast green (Johansen, 1940). Los transcortes, observados con un microscopio óptico, se dibujaron utilizando una cámara clara. Se determinó el porcentaje de área ocupada por clorénquima, esclerénquima, xilema, floema, vaina del haz, epidermis adaxial y abaxial (Ferrés Terra, 1982) con un planímetro digital electrónico PLANIX 7. Se determinó el total de tejidos lentamente digestibles e indigestibles (TLDI) como la suma de xilema, epidermis, vaina del haz y esclerénquima para inferir la calidad forrajera (Ehlke & Casler, 1985). Para la descripción de la anatomía foliar se siguieron los criterios de Ellis (1976).

RESULTADOS

Anatomía foliar de *Bromus auleticus* (Figura 1 a)

La lámina de *B. auleticus* en sección transversal presentó las siguientes características: nervadura central sin desarrollo del parénquima asociado; haces vasculares con doble vaina (una mestomática y una parenquimática); esclerénquima asociado con las dos epidermis en los haces de primero y segundo orden y en los márgenes; mesófilo ordenado irregularmente con poca diferenciación entre los haces y con un amplio sistema de espacios intercelulares; epidermis adaxial con grupos de tres células buliformes; paredes tangenciales externas de las células epidérmicas cutinizadas y engrosadas; presencia de agujones epidérmicos.

Anatomía foliar de *Setaria lachnea* (Figura 1 b)

La lámina de *S. lachnea* en sección transversal presentó las siguientes características: parénquima asociado al haz vascular medio; esclerénquima en los márgenes y asociados a los haces; epidermis abaxial muy cutinizada

a nivel de la quilla; epidermis abaxial y adaxial cutinizadas solamente en relación a los cordones de esclerénquima; no se observó una clara diferenciación entre células buliformes y el resto de células epidérmicas en la cara adaxial; parénquima incoloro sin contacto con las células buliformes; células del clorénquima ordenadas radialmente en los haces de primer orden, existiendo un clorénquima prácticamente continuo entre el resto de los haces.

Porcentaje de tejidos al estado vegetativo

En *B. auleticus* sobresalió el alto porcentaje de esclerénquima y especialmente de clorénquima (Tabla 1); en tanto que en *S. lachnea* se observaron altos porcentajes de vaina del haz y de epidermis, especialmente de la epidermis adaxial, lo que, en conjunto, incidió en la elevada proporción de TLDI observado en *S. lachnea*.

Digestión ruminal de los tejidos foliares de *B. auleticus*

24 HORAS: sólo permanecieron los tejidos xilemáticos rodeados por su vaina mestomática y casquete de esclerénquima abaxial. Dichas unidades de tejidos se mantuvieron unidas únicamente por las paredes tangenciales externas de la epidermis abaxial. Se observaron agujones epidérmicos intactos (Tabla 2, Figura 1 c).

48 HORAS: no se observaron grandes diferencias respecto del estado de las láminas a las 24 horas, excepto que los haces aparecieron solitarios, con presencia de uno solo de los casquetes esclerenquimáticos y las paredes exteriores de unas pocas células epidérmicas relacionadas a estos (Tabla 2, Figura 1 e).

Digestión ruminal de los tejidos foliares de *S. lachnea*

24 HORAS: las paredes tangenciales internas de las células buliformes, de la epidermis adaxial, han sido degradadas hasta dejar

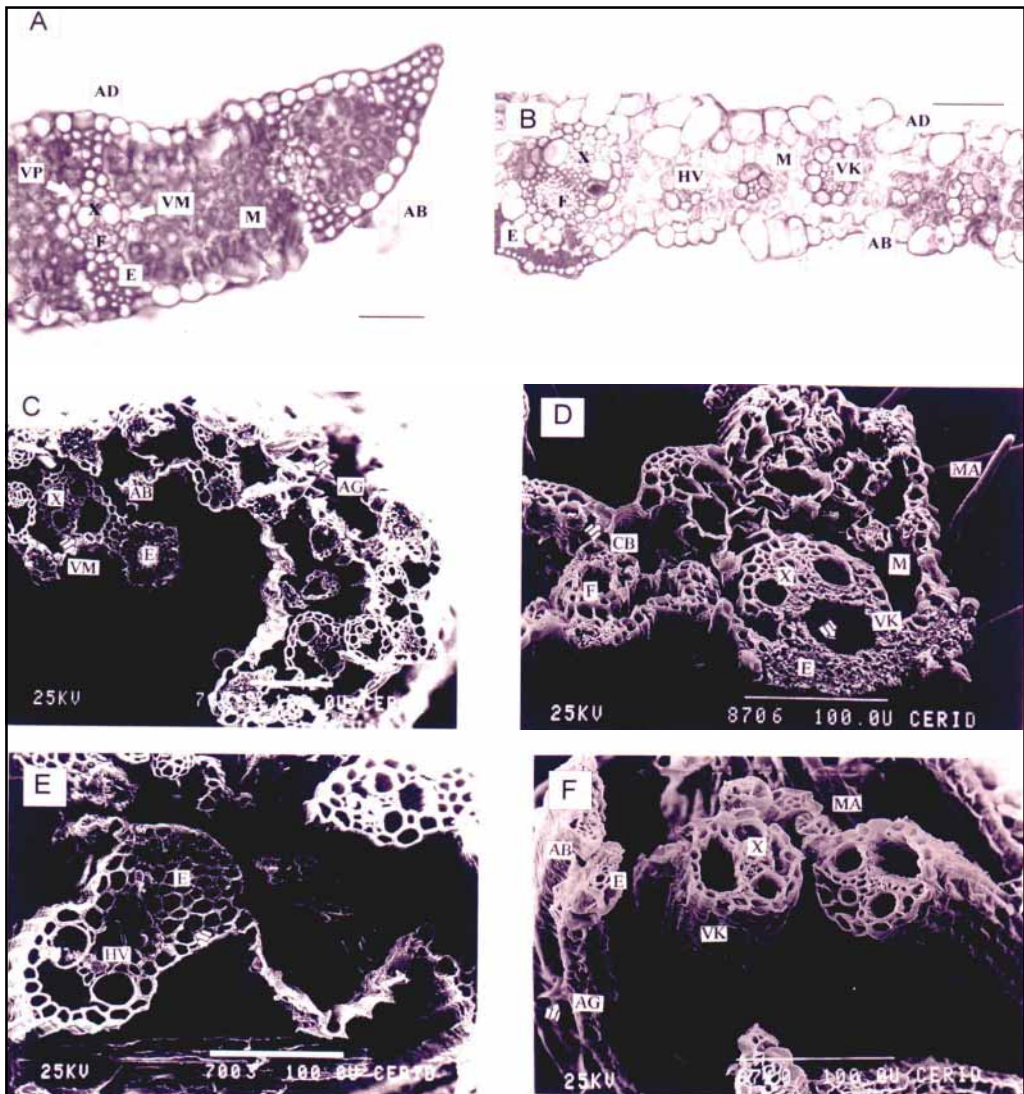


Figura 1. Cortes transversales de láminas foliares de *B. auleticus* (a, c y e) y *S. lachnea* (b, d, y f): a y b: no sometidas a digestión ruminal. C y d: sometidas a 24 horas de digestión ruminal. e y f, sometidas a 48 horas de digestión ruminal. c-f, fotomicrografías con m.e.b. Referencias: AB, epidermis abaxial; AG, agujones; CB, células buliformes; E, esclerenquima; F, floema; HV, haz vascular; M, parénquima clorofiliano; MA, macropelos; VK, vaina Kranz; VM, vaina mestomática; VP, vaina parenquimática; X, xilema; la flecha indica el parénquima asociado al protoxilema. La escala mide 100 μ m

Transversal cuts of leaf blades of *B. auleticus* (a, c and e) and *S. lachnea* (b, d and f) not subjected to ruminal digestion (a and b), subjected to 24 hours (c and d) or to 48 hours (e and f) ruminal digestion. c-f: m.b.e. microphotographs. References: AB, abaxial epidermis; AG, prickles; CB, bulliform cells; E, sclerenchyma; F, floem; HV, bundle vascular; M, photosynthetic parenchyma; MA, macro-hairs; VK, Kranz sheath; VM, mestomatic sheath; VP, parenchymatous sheath; X, xylem. The arrow indicates parenchyma associated to protoxylem. Scale measures 100 μ m.

Tabla 1. Porcentajes de tejidos en sección transversal de lámina foliar en *B. auleticus* y *S. lachnea*.
Leaf blade tissue proportions in cross section (%) in *B. auleticus* and *S. lachnea*.

Tejido Foliar	Porcentaje de tejidos	
	<i>Bromus auleticus</i> (C ₃)	<i>Setaria lachnea</i> (C ₄)
Tejidos vasculares	4,2	6,3
Esclerénquima	9,8	7,8
Vaina del haz	3,2	11,2
Epidermis adaxial	10,2	22,4
Epidermis abaxial	7,4	13,2
Clorénquima	65	39,7
TLDI	33,3	58,0

sólo un tercio de las mismas, permaneciendo inalterable los macropelos. El parénquima clorofiliano que rodea a la vaina Kranz desapareció completamente, mientras que el parénquima de la nervadura central no se alteró. El floema y el parénquima asociado al protoxilema fueron degradados completamente. El esclerénquima, la vaina Kranz y el xilema permanecieron indigeridos. En las adyacencias de la nervadura central, la epidermis abaxial

se presentó intacta aunque en otras regiones de la lámina apareció degradada parcialmente, quedando sus paredes tangenciales externas (Tabla 2 y Figura 1 d).

48 HORAS: Sólo quedaron remanentes el xilema rodeado por la vaina Kranz y fragmentos de epidermis abaxial unidos a casquetes de esclerénquima. Se observaron agujijones unicelulares y macropelos fracturados (Tabla 2 y Figura 1 f).

Tabla 2. Grado de digestión de los tejidos foliares de *B. auleticus* y *S. lachnea*, según el tiempo de permanencia en el rumen. Referencias: I: indigerido, no hay pérdida de tejido con respecto a una hoja sin digerir. P: parcialmente digerido, remoción parcial de ciertas regiones. AD: altamente digerido, remoción significativa y general pero sin pérdida total. D: totalmente digerido, pérdida total en el campo del microscopio.

Degree of the digestion undergone by leaf tissues of *B. auleticus* and *S. lachnea* staying in rumen for different periods. References: I, ingested, no tissue losses, as compared to undigested leaves. P, partially digested, some areas have been partially removed; AD, highly digested, significantly and generally, though not totally, removed; D, totally digested, total loss in the microscope field.

Tejido Foliar	Horas de Incubación ruminal			
	<i>Bromus auleticus</i> (C ₃)		<i>Setaria lachnea</i> (C ₄)	
	24	48	24	48
Protoxilema	I - P	D	I	I
Metaxilema	I	I	I	I
Floema	D	D	D	D
Vaina del haz	I	I	I	I
Esclerénquima	I	I	I	D
Epidermis adaxial	P	AD	I - AD	D
Epidermis abaxial	P	D	D	D
Clorénquima	D	D	D	D

Tanto en *B. auleticus* como en *S. lachnea* las paredes celulares del mesófilo y del floema fueron las primeras en ser degradadas (Tabla 2, Figura 1); en ambas gramíneas esos tejidos estaban totalmente digeridos a las 24 horas de incubación ruminal.

En *B. auleticus* (Tabla 2) ocurrió una digestión diferencial entre las epidermis, siendo rápidamente digerida la abaxial, mientras que a las 48 horas quedaban remanentes las paredes externas de la adaxial, probablemente debido a su mayor grado de cutinización y lignificación. Comparativamente, en la especie C_4 la epidermis abaxial se degradó más rápidamente, no así la epidermis adaxial que lo hizo más lentamente (Tabla 2). Respecto a las dos epidermis su paredes tangenciales externas fueron más resistentes a la degradación.

En *S. lachnea* se observó una vaina parenquimática Kranz formada por una sola capa de células grandes. La proporción de vaina del haz en esta especie presentó un porcentaje muy superior al ocupado por la vaina parenquimática del haz de *B. auleticus* (Tabla 1), permaneciendo indigerida aún luego de 48 horas de incubación ruminal.

Las dos especies mostraron un comportamiento diferencial respecto al protoxilema. En *B. auleticus* este tejido fue parcialmente digerido a las 24 horas y completamente digerido a las 48 horas. En tanto que en *S. lachnea* el protoxilema permaneció indigerido a las 48 horas. Una situación similar mostró el metaxilema en ambas especies.

DISCUSIÓN

La anatomía foliar de las especies de gramíneas C_4 , conocida como anatomía Kranz, es substancialmente diferente a la de las especies C_3 (Hattersley, 1987). En Gramíneas se atribuyen las variaciones en la digestibilidad a las diferencias en las proporciones de tejidos entre las especies con vías fotosintéticas C_3 y

C_4 . Las especies C_3 generalmente tienen una proporción mayor de mesófilo, menor de vaina parenquimática del haz (comparada con la vaina Kranz), de esclerenquima, de tejidos vasculares y de epidérmicos que las especies C_4 (Hanna *et al.*, 1973; Akin & Burdick, 1975; Hernández & Ventura, 1981; Ferres Terra, 1982; Akin, 1984; Akin *et al.*, 1984; Wilson & Hattersley, 1989), lo cual coincide con las diferencias halladas en este trabajo, a excepción del porcentaje de esclerenquima. Estas diferencias conducen a valores mayores de TNDI en las especies C_4 y a una mayor y más rápida digestibilidad de las láminas de las especies C_3 (Wilson, 1990; Wilson & Hatfield, 1997).

En lo que respecta a la vaina parenquimática del haz se observa una gran variación entre las especies, fundamentalmente en función del tipo de vía fotosintética (Wilson *et al.*, 1983). En las especies C_4 la vaina Kranz es una estructura especializada muy importante en la determinación de la calidad nutritiva de los pastos porque llega a comprender 25% de la superficie de un corte transversal de lámina en los subtipos PCK y NAD-ME y un 15% en las NADP-ME (Wilson, 1990), a este último subtipo pertenece *S. lachnea*. La vaina Kranz está formada por células de paredes muy gruesas, comparadas con la vaina parenquimática de las C_3 , y posee una laminilla suberizada en las paredes radiales y tangenciales (Wilson & Hattersley, 1989; Carraro *et al.*, 1991) que es muy resistente a la digestión microbiana dado que restringe el acceso a las paredes celulares de los microorganismos del rumen (Wilson & Hattersley, 1983). En general, la vaina parenquimática del haz de las especies C_3 es fácilmente digestible, mientras que la vaina Kranz lo es muy lentamente (Akin *et al.*, 1984); pero ésta es completamente degradada variando los tiempos de digestión (Wilson, 1990). Luego de 48 horas de incubación en el rumen, la vaina del haz de *B. auleticus* y de *S. lachnea* permanecieron en la fracción indigerida. Resulta muy importante

destacar la elevada proporción de vaina del haz en *S. lachnea* que está en relación con el mayor número de haces vasculares por lámina que presentan las especies C_4 (125 haces/lámina para *S. lachnea*) respecto a las especies C_3 (*B. auleticus* sólo un 10% del número de haces por lámina observados en *S. lachnea*).

B. auleticus presentó una menor proporción de TLDI que el promedio de otras especies invernales pese a los altos valores de esclerénquima (Wilson & Minson, 1980; Ferrer Terra, 1982; Wilson & Hattersley, 1989). Ello es debido a una menor proporción de tejidos vasculares, epidermis y vaina parenquimática Kranz. Los más altos valores de esclerénquima en *B. auleticus* podrían relacionarse con las observaciones de los tejidos digeridos en el rumen, donde el esclerénquima permitiría que perdure cierta estructuración de la hoja. Esto indicaría, en general, una buena situación con respecto a muchas de las especies nativas perennes invernales. Cabe destacar la mayor cantidad de mesófilo y de epidermis (que luego de un mediano tiempo de exposición al líquido ruminal pueden ser digeridos) y la menor cantidad comparativa de vaina del haz que presentó *B. auleticus*. Comparada con otras especies C_4 , *S. lachnea* presentó una proporción de TLDI intermedia a alta (Wilson & Minson, 1980; Ferrer Terra, 1982; Wilson & Hattersley, 1989; Magai *et al.*, 1994).

La digestión de los tejidos foliares para las dos especies estudiadas concuerda con el patrón de digestión característico de las gramíneas reportado por Akin *et al.* (1984). Según Sleper & Roughan (1984), las principales diferencias entre las especies C_3 y C_4 no se dan en dicho patrón de digestión sino en la velocidad del proceso, hecho que se confirma en este trabajo con los resultados obtenidos para ambas especies a las 24 y 48 horas de incubación ruminal y están de acuerdo con los hallados por Akin *et al.* (1973) al estudiar las diferencias de digestión entre especies C_3 y C_4 .

Magai *et al.* (1994) sometieron a incubación en solución de celulosas a tres especies

C_4 . En todas las especies el mesófilo y el floema habían desaparecido en más del 80% luego de 24 horas de incubación, el resto de los tejidos sólo se vieron afectados después de este tiempo a excepción del xilema y la vaina interna del haz que no se degradaron. En las dos especies estudiadas en nuestro trabajo, el mesófilo y el floema fueron digeridos en un 100% después de las 24 horas. Sin embargo el protoxilema de *B. auleticus* fue degradado parcialmente en este tiempo a diferencia del protoxilema de *S. lachnea* que permaneció indigerido.

Al parecer existe una relación negativa entre terneza del pasto y el contenido de tejido vascular. Rosengurt (1979) citado por Ferrer Terra (1982) clasifica las especies según porcentaje de tejidos vasculares en: pastos finos: 5%; pastos tiernos: 5,9%; pastos duros: 8% y pastos ordinarios: 8,4 %. Así considerados, nuestros resultados indicarían que *B. auleticus* sería un pasto fino y *S. lachnea* un pasto duro.

La composición química de las paredes celulares no sólo está relacionada a una mayor o menor facilidad de degradación por los microorganismos del rumen, sino en la acción de limitar el acceso de los microorganismos del rumen a esos tejidos. Al respecto Wilson & Hattfield (1997) hacen hincapié en la importancia de los factores "extramuros" que estarían restringiendo dicho acceso. Estos autores citan como factores de este tipo a la cutícula, a capas de cera y a la laminilla suberizada de la vaina Kranz. Aspectos relacionados, en el caso de los dos primeros, con las epidermis adaxial y abaxial, y en el tercero con la vaina Kranz. Tejidos que aparecen en mayor proporción en *S. lachnea* y que son los determinantes del mayor TLDI que presenta esta especie.

CONCLUSIONES

A través de la realización de este trabajo se pudo determinar, para las condiciones de

ensayo, que *B. auleticus* presentó menor TLDI y sus tejidos foliares fueron degradados con mayor intensidad que en *S. lachnea*. Por esto, *B. auleticus* presenta características histofoliales más favorables al proceso de digestión ruminal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la EEA Rafaela del INTA y especialmente a la Ing. Agr. M. Gallardo la posibilidad de realización de los estudios de digestión *in situ*.

BIBLIOGRAFÍA

- Akin, D. E. 1984. Microbial breakdown of feed in the digestive tract. Proceedings of International Symposium Nutritional limits to animal production from pastures, St Lucia, Australia, pp. 201-223.
- Akin, D. E. & D. Burdick. 1975. Percentage of tissues types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. *Crop Science* 15: 661-668.
- Akin, D.E., H. E. Amos, F. E. Barton & D. Burdick. 1973. Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. *Agronomy Journal* 65: 825-828.
- Akin, D. E., L. L. Rigsby & R. H. Brown. 1984. Ultrastructure of cell wall degradation in Panicum species differing in digestibility. *Crop Science* 24: 156-163.
- Berreta, E. J., C. M. Formoso, C. M. Carabaja, J. Fernández & I. R. Gabachutto. 1990. Producción y calidad de diferentes especies forrajeras nativas en condiciones de campo. II Seminario Nacional de Campo Natural. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo. 449 pp.
- Carraro, L., G. Patrignani & M. Orserigno. 1991. *Avena sativa* and *Setaria glauca*: an anatomical and ultrastructural comparison between C₃ and C₄ plants. *Caryologia* 44: 361-374.
- Covas, G. & M. Frecentese. 1983. *Setaria leiantha* Hackel, un pasto nativo para integrar pasturas perennes en la región semiárida. *Agrarius* 1: 16-17.
- Ehlke, N. & M. Casler. 1985. Anatomical characteristics of smooth brome grass (*Bromus inermis* Leyss.) clones selected for in vitro dry matter digestibility. *Crop Science* 25: 513-517.
- Ellis, R. P. 1976. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. I. The leaf-blade as viewed in transverse section. *Bothalia* 12: 65-109.
- Ellis, R. P. 1977. Distribution of the Kranz syndrome in the Southern African Eragrostoideae and Panicoideae according to bundle sheath anatomy and cytology. *Agroplantae* 9: 73-110.
- Ferres Terra, P. 1982. Evaluación primaria de Gramíneas forrajeras por el método de la transección foliar. *Revista Técnica de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República del Uruguay* 52: 77-102.
- Frecentese, M. A. & N. P. Stritzler. 1985. Ataque diferencial de la flora ruminal bovina sobre tejidos foliares de gramíneas estivales. *Revista Argentina de Producción Animal* 5: 531-540.
- Hanna, W. W., W. G. Monson & G. W. Burton. 1973. Histological examination of fresh forages leaves after in vitro digestion. *Crop Science* 13: 98-102.
- Hattersley, P. W. 1987. Variation in photosynthetic pathway. En: *Grass Systematics and Evolution*. Soderstrom T.R., K.W. Hilu, C.S. Campbell & M.E. Barkworths, Eds. Smithsonian Inst. Press, Washington. pp. 49-64.
- Hernández, O. & J. L. Ventura. 1981. Sistemas fotosintetizantes en gramíneas forrajeras y sus implicancias sobre el rendimiento y calidad de los pastos. Editorial Universidad de La Pampa. Santa Rosa, La Pampa. 18 pp.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw Hill, New York. 523 pp.
- Magai, M. M., D. A. Sleper & P. R. Beuselink. 1994. Degradation of three warm season grasses in a prepared cellulase solution. *Agronomy Journal* 86: 1049-1053.
- Olmos, F. 1993. *Bromus auleticus*. Serie Técnica N° 35. Editorial INIA, Montevideo. 30 pp.
- Pinto Oliveira, J. C. & C. O. Costa Moraes. 1993. Distribuição da Produção e Qualidade de Forragem de *Bromus auleticus* Trinius. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 28: 391-398.
- Rosengurtt, B. 1979. Tablas de comportamiento de las especies de plantas de campos naturales en el Uruguay. Universidad de la República, Montevideo. 86 pp.
- Sleper, D. A. & P. G. Roughan. 1984. Histology of several cool-season forage grasses digested by cellulase. *New Zealand Journal Agricultural Research* 27: 161-166.
- Tivano, J. C. & F. Heinzen. 1996. Utilización de la anatomía cuantitativa en 3 cultivares de *Dichanthium aristatum* (Poir) C.E. Hubbard. para inferir su valor forrajero. *Revista de la Facultad Agronomía de La Plata* 101: 15-23.
- Wilson, J. R. 1990. Influence of plant anatomy on digestion and fiber breakdown. En: *Microbial and plant opportunities to improve the utilization of lignocellulose by ruminants*. Akin, D. E., P. J. Harris, L. G. Ljungdahl & J. R. Wilson

- Eds. Elsevier, New York. pp: 99-117.
- Wilson, J. R. & J. Hacker.** 1987. Comparative digestibility and anatomy of some sympatric C₃ and C₄ arid zone grass. Australian Journal Agricultural Research 38: 287-295.
- Wilson, J. R. & R. Hatfield.** 1997. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: consequences for fiber degradation by rumen microflora. Australian Journal Agricultural Research 48: 165-180.
- Wilson, J. R. & P. W. Hattersley.** 1983. In vitro digestion of bundle sheath cells in rumen fluid and its relation to the suberized lamella and C₄ photosynthetic type in *Panicum* species. Grass and Forage Science 38: 219-223.
- Wilson, J. R. & P. W. Hattersley.** 1989. Anatomical characteristics and digestibility of leaves of *Panicum* and other grass genera with C₃ and different types of C₄ photosynthetic pathway. Australian Journal Agricultural Research 40: 125-136.
- Wilson, J. R. & D. J. Minson.** 1980. Comparative digestibility of tropical and temperate forage – A contrast between grasses and legumes. Journal Australian Institute Agricultural Science 247-249.
- Wilson, J. R., R. Brown & W. Windham.** 1983. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C₃, C₄, and C₃/C₄ intermediate types of *Panicum* species. Crop Science 23: 141-146.