



## Un método no destructivo para estimar el área foliar en la cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl)

JR Jatimlansky<sup>1</sup> y DO Giménez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP y Centro de Investigaciones Genéticas (CONICET-UNLP). CC 4, 1836 Llavallol, Argentina

<sup>2</sup> Instituto de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. CC 31, 1900 La Plata, Argentina

Recibido: 26 de Agosto de 1994. Aceptado: 27 de Junio de 1995

### RESUMEN

El área de las láminas foliares de las plantas es un parámetro útil en estudios fisiológicos y agronómicos. El objetivo del presente trabajo fue obtener un método no destructivo para calcular el área foliar de la cebadilla criolla mediante la medición del ancho máximo (W) y del largo (L) de la lámina. Se emplearon hojas extraídas de plantas en distintos estados fenológicos y rebrotadas, cultivadas en macetas de 30 dm<sup>3</sup> o en el campo. Se eligió como modelo el área del rectángulo (W.L) corregida por un coeficiente ( $cp = 0,7631$ ) calculado como el promedio de los coeficientes de corrección por hoja ( $cp = c N^{-1}$ ) donde c es la relación entre el área medida (A) y el producto del ancho máximo por el largo de la lámina foliar [ $c = A (W.L)^{-1}$ ] y N es el número de láminas (N = 348). La regresión entre el área estimada (Ae) como  $Ae = 0,7631 W.L$  y el área medida de cada lámina dió una recta cuya pendiente fue de 1. El modelo fue también satisfactorio para estimar el área foliar de plantas no defoliadas o provenientes de defoliadas a fines del invierno. Ambos tratamientos fueron realizados en el campo con mayor densidad de siembra que en el diseño que dió origen al modelo.

Se requerirán otros coeficientes para estimar el área foliar si las láminas difieren en su geometría de las del modelo original. Este fue el caso de las hojas provenientes de plantas rebrotadas hacia mediados o fines de la primavera y, frecuentemente, de la hoja bandera de plantas no defoliadas cuyos coeficientes fueron menores de 0,7631.

**Palabras claves:** *Bromus unioloides*, índice de área foliar, modelo simple, superficie foliar.

Correspondencia: Jaime R. Jatimlansky, Acevedo 370, 1832 Lomas de Zamora, Argentina.

## A non destructive method to estimate leaf area of prairie grass (*Bromus catharticus* Vahl)

### SUMMARY

Plant leaf area is a useful parameter in physiological and agronomic research. The objective of the present study was to obtain a non-destructive model for estimating leaf blade areas in prairie grass plants from two easily measurable variables: maximum width (W) and length (L). Leaves from plants grown in pots at different stages of maturity and non-defoliated or defoliated from a field plot were employed.

The area of the rectangle (W.L) corrected by the coefficient mean  $cp$  ( $cp = 0.7631$ ) was the chosen model. Coefficient  $cp$  was the mean of the correction coefficients  $c$  ( $cp = c N^{-1}$ ) that was the ratio between the measured area (A) and the product of maximum width and length of each blade [ $c = A (W.L)^{-1}$ ] and N was the number of blades (N = 348). The regression model between the estimated area ( $Ae = 0.7631 W.L$ ) and the measured area of each blade provided an excellent fit to the data for non-defoliated plants. The model was successfully validated with data sampled from non-defoliated or late winter defoliated plants in the field plot including different plant densities than those of the original model.

However, different coefficients may be needed to calculate leaf lamina geometry if different from the original model, such as leaves sampled in defoliated plants sprouted in mid or late spring and, frequently, from flag leaves clipped in non-defoliated ones.

**Key words:** *Bromus unioloides*, lamina area, leaf area index, leaf blade, rescue grass.

### INTRODUCCION

El área de la lámina foliar es un parámetro de utilidad en estudios agronómicos y fisiológicos de las plantas (Persaud *et al*, 1993). Es posible su medición separando la hoja de la planta (Sestak *et al*, 1971) o, sin separarla, mediante equipos integradores comerciales no siempre asequibles. Cuando las medidas directas no son posibles suelen emplearse métodos estimativos. Se conoce que el área foliar está relacionada a las dimensiones lineales, como son el ancho y el largo de la lámina (Milthorpe, 1956). André y Du Cloux (1993) han obtenido estimaciones satisfactorias midiendo el largo de la lámina en el trigo (*Triticum aestivum* L.) y Went (1967) en sorgo (*Sorghum bicolor* L.), ricino (*Ricinus communis* L.) y algodon (*Gossypium hirsutum* L.). Otros

autores han empleado medidas del ancho máximo y del largo de la lámina en el algodón (Ashley *et al*, 1963), maíz (Montgomery, 1911; Daughtry y Hollinger, 1984), mijo perlado (Persaud *et al*, 1993), sorgo (Stickler *et al*, 1961) y en el trigo (Miralles y Slafer, 1991). Las determinaciones son específicas para los distintos estadios de crecimiento de las plantas de las que se derivaron, y no pueden ser extrapoladas a otras especies (Persaud *et al*, 1993).

El ancho de la lámina de la hoja adulta de la cebadilla criolla (*Bromus catharticus* Vahl), se incrementa a partir de la lígula hasta un valor máximo (generalmente no más de un 10% del valor basal) y luego disminuye lentamente hasta un valor mínimo en el ápice, como

se observó en otras gramíneas (Persaud *et al.*, 1993). De allí que el producto del ancho máximo (W) por el largo (L) de la lámina foliar arroja un área mayor que la real. Esta puede ser estimada corrigiendo dicho producto mediante un coeficiente empírico (*cp*) calculado a partir de los coeficientes de cada hoja [ $c = A (W.L.)^{-1}$ ] como un promedio de los mismos mediante la fórmula  $cp = \sum c N^{-1}$  de Sestak *et al.* (1971) donde: A es el área foliar medida por un método convencional; W es el ancho máximo de la lámina; L es el largo de la lámina y N es el número de muestras.

El área de cada lámina (*Ae*) se podría estimar según la fórmula:  $Ae = cp W.L.$

El objetivo de este trabajo fue obtener un modelo no destructivo para estimar el área foliar en la cebadilla criolla a través de la medición del ancho máximo y del largo de la lámina foliar utilizando hojas en distintos estados fenológicos, provenientes de plantas no defoliadas y defoliadas. De obtenerse un modelo adecuado el mismo será validado en un nuevo ensayo.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron 3 ensayos, uno en condiciones controladas, en 1990 y dos en condiciones de campo, en 1991 y 1993.

Se emplearon 3 cultivares de cebadilla criolla: 78-32 de alto rinde (HY), 79-42 de bajo rinde (LY), ambas seleccionadas en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (IFSC), y el cv 'Matua'. En el ensayo en condiciones controladas las semillas fueron sembradas el 4-V-1990 en 20 macetas de polietileno (de 57cm de profundidad por 30cm de ancho) por cultivar, conteniendo 30dm<sup>3</sup> de arena fina de río (<1mm de diámetro) regadas con agua y cultivando inicialmente 6 plantas en cada una, raleadas a 2 el 19-VI. Se colocaron las mace-

tas en un invernáculo con 30cm de separación entre ellas y fueron regadas con agua o con solución nutritiva (Coïc y Le Saint, 1975).

Las muestras fueron tomadas en distintos estados fenológicos de las plantas: estado vegetativo (9-VIII- y 10-IX), encañazón (8-X) y antesis (15-XI). Para ello, se cortaron desde la lígula las 2 primeras hojas completamente expandidas del macollo principal de 6 plantas por variedad y por fecha. En el muestreo correspondiente a antesis, las hojas cortadas fueron la bandera y la precedente. Todas fueron colocadas con su zona de corte en una solución nutritiva al 50% para prevenir pérdida de turgencia y, en el laboratorio, se obtuvieron calcos sobre papel heliográfico en los que se midieron el ancho máximo con un calibre, el largo con una regla y el área con un planímetro con una precisión de 0,1mm, 1mm y 1mm<sup>2</sup>, respectivamente.

Los ensayos en condiciones de campo se efectuaron dentro del jardín del IFSC, en un suelo méxico, Argiudol Típico. El primero de ellos se inició el 10-V-1991 y consistió en un diseño en bloques al azar con 5 repeticiones. La densidad de siembra de las 3 variedades citadas fueron de 94 semillas m<sup>-2</sup>. A los 171 días de la siembra (DDS) (28-X) se extrajeron 2 hojas de una macolla, sin signos de senescencia y completamente expandidas, de 8 plantas por parcela y por variedad, con las plantas en encañazón, procesándolas como se indicó antes, salvo las áreas foliares que fueron medidas con un equipo LICOR modelo 3100 (LI-COR Inc., Lincoln, NE). A los 181 DDS (7-XII) las plantas ya panojadas fueron cortadas a 0,1m de altura. A los 241 DDS (6-I-1992) se obtuvieron muestras foliares de las plantas rebrotadas procesándolas del mismo modo que las anteriores.

Los coeficientes empíricos (*cp*) fueron calculados según Sestak *et al.* (1971). Para ello, los coeficientes de cada hoja (*c*) fueron

agrupados teniendo en cuenta el estado fenológico de las plantas, vegetativo o reproductivo, dado que las hojas diferían en forma y área. Los *cp* de cada ensayo fueron analizados según la prueba de *t*. Las áreas foliares fueron analizadas según el ANOVA y los promedios fueron separados por su diferencia mínima significativa (DMS) ( $P \leq 0,05$ ).

Se emplearon como criterios para obtener el coeficiente de corrección más adecuado: a) que la relación entre el área foliar estimada y el área foliar medida fuera altamente significativa ( $P \leq 0,001$ ); b) que la ordenada al origen de la recta de regresión entre estos parámetros fuera cero; y c) que la pendiente fuera igual a la unidad (Miralles y Slafer, 1991).

Para darle validez al modelo se obtuvieron muestras foliares en 1993 de un nuevo ensayo realizado en el campo. El experimento incluyó 2 de las variedades que dieron origen al modelo (LY y Matua) las que fueron sembradas el 28-IV-1993 en 10 parcelas de 4 hileras de 4m de largo, separadas entre sí por 0,4m, con una densidad de 125 semillas  $m^{-2}$ .

Se realizaron 5 tratamientos por duplicado consistentes en cortes, aproximadamente a 0,1m de altura, en distintas fechas: a) a los 134, 171, y 208 DDS (9-IX, 16-X y 22-II, respectivamente); b) a los 134 y 208 DDS; c) a los 171 y 208 DDS; d) a los 180 DDS y e) a los 208 DDS. Las plantas panojaron entre el 3-X (LY) y el 12-X (Matua). Antes de cada corte (24 a 48 h) se extrajeron 2 hojas de una macolla, de 4 plantas por parcela, variedad y tratamiento, es decir, en plantas en estado vegetativo o panojadas, no defoliadas o rebrotadas. En las plantas no defoliadas, solo 8 de las 80 muestras por variedad fueron de las hojas banderas.

Las áreas foliares se midieron con un planimetro y se estimaron empleando el modelo de corrección del área del rectángulo:  $Ae = 0,7631 W.L.$

## RESULTADOS Y DISCUSION

En todos los estados fenológicos del ensayo en macetas, los coeficientes de regresión entre el producto del ancho máximo por el largo de la lámina foliar y el área medida fueron altamente significativos ( $P \leq 0,001$ ), mientras que las rectas de regresión dieron ordenadas al origen distintas de cero y pendientes mayores que la unidad (Tabla 1). Estos resultados indican que serían adecuadas las variables utilizadas para estimar el área foliar, pero que dichos valores deberían ser ajustados para poder obtener una relación 1:1 entre las áreas foliares estimadas y las áreas foliares medidas.

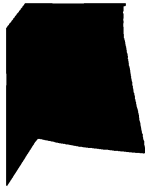
**Tabla 1.** Coeficiente (*r*) y ecuación de regresión entre el producto del ancho máximo por el largo de la lámina foliar (W.L) en función del área foliar medida (A). El 15-XI, el 50% de los datos son de hojas bandera. \*\*\*, relación estadísticamente significativa ( $P \leq 0,001$ ).

Correlation coefficient (*r*) and linear regression equation between the calculated leaf area (as maximum width by length = W.L) and the observed leaf blade area (A) measured with a planimeter. Half of the data taken on 15-XI were from flag leaves. \*\*\*, regression coefficient was statistically significant at  $P \leq 0.001$ .

Fecha	N	r	Ecuación de regresión
09/08	36	0,993***	W.L = -1,37 + 1,364 A
10/09	36	0,936***	W.L = 7,95 + 1,047 A
08/10	36	0,928***	W.L = 4,60 + 1,231 A
15/11	36	0,906***	W.L = 2,70 + 1,359 A

Los coeficientes de corrección promedios *cp* (Tabla 2) fueron mayores en las hojas de plantas no panojadas, respecto a los de hojas de las plantas panojadas y no defoliadas (cultivo en macetas) o defoliadas y rebrotadas (cultivo en el campo).

Las láminas obtenidas de plantas no cortadas ni florecidas fueron de mayor área que las de plantas florecidas (bandera y pre-



**Tabla 2.** Coeficientes de corrección promedios ( $cp \pm DE$ ). El coeficiente de corrección para cada hoja se calculó como el cociente entre el área medida y el producto del ancho máximo por el largo de la lámina foliar. #, plantas rebrotadas. Para cada cultivo, los promedios con distinta letra difieren significativamente según la prueba de  $t$  ( $P \leq 0,05$ ).

Mean correction coefficients ( $cp \pm SD$ ) for plants with or without panicles. For each leaf, the correction coefficient was obtained by the ratio of the measured foliar area and the product of the maximum width by the leaf blade length. #, regrown plants. For each study, means followed by different letters were significantly different according to test  $t$  ( $P \leq 0.05$ ).

	Plantas no panojadas	Plantas panojadas
Cultivo en macetas	0.750 $\pm$ 0.052 a	0.623 $\pm$ 0.048 b
N	108	36
Cultivo en el campo	0.769 $\pm$ 0.056 a	0.670 $\pm$ 0.063#b
N	240	240

cedente) o de aquellas provenientes de rebrotes (Tabla 3). En las hojas de menor área, la porción apical, generalmente de forma triangular, tendría mayor participación porcentual

en el área foliar total y daría lugar a  $cp$  menores que los calculados para las de mayor área (Tabla 2). En hojas jóvenes de mijo los coeficientes de corrección fueron menores que para las adultas, (Persaud *et al*, 1993). La irradiancia y el fotoperíodo influyen en la morfogénesis foliar (Gaba y Black, 1983) y podrían dar lugar a los menores  $cp$  de las hojas jóvenes y de las hojas rebrotadas hacia fines de la primavera (Tabla 2). En nuestros ensayos, los  $cp$  para las hojas de mayor área fueron similares y las relaciones entre las áreas estimadas y medidas cumplieron con los requisitos de dar coeficientes de regresión altos ( $P \leq 0,001$ ) y ecuaciones de regresión con ordenadas al origen de casi cero y pendientes iguales a 1 (Tabla 4). Del análisis de las 348 muestras de las hojas de mayor área se obtuvo un  $cp$  ( $\pm DE$ ) de los datos agrupados ( $cp = 0,7631 \pm 0,0556$ ). El coeficiente y la ecuación de regresión entre las áreas medidas y las estimadas con  $Ae = 0,7631 W.L$  cumplieron con los requisitos exigidos (Tabla 4).

La validez del modelo se constató en 1993 mediante un nuevo ensayo en el campo. En plantas no defoliadas ( $N = 80$  por variedad),

**Tabla 3.** Promedios de las áreas de las dos primeras hojas completamente expandidas de la macolla de mayor altura. El 8-1 provinieron de plantas rebrotadas. Se obtuvieron 12 y 80 hojas por fecha y variedad en los cultivos en macetas y en el campo, respectivamente. #, la primera hoja es la bandera. Para cada cultivo, promedios con la misma letra no difieren significativamente ( $P \leq 0,05$ ).

Mean blade areas of the first and second fully developed leaves obtained from the highest tiller of grass plants. On 8-1 leaves were clipped from regrown plants. Samples taken on each date were 12 or 80 (pot and field, respectively) for each variety. #, flag leaf is the uppermost one. For each study, means followed by the same letter are not statistically different ( $P \leq 0.05$ )

Variedad	mm <sup>2</sup>					
	Cultivo en macetas (1990)			Cultivo en el campo (1991)		
	9-VIII	10-IX	8-X	15-XI#	28-X	8-I #
79-42	1453 e	2261 cd	3354ab	1112a	2844 b	928 de
78-32	2908abc	2715 bc	3467a	1098a	3063a	1021 d
MATUA	2003 de	2443 cd	3128ab	1052a	2623 c	885 e
DMS (0,05)	668			128		

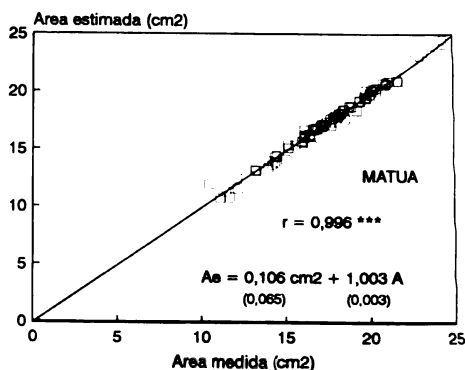
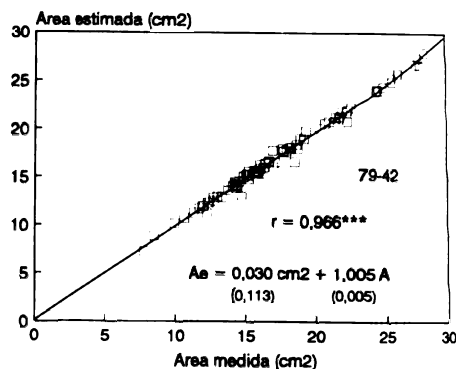
**Tabla 4.** Ecuaciones y coeficientes de regresión entre las áreas foliares medidas (A) y las áreas foliares estimadas (Ae). Las hojas fueron extraídas de plantas aún no panojadas. Coeficientes de corrección empleados: #, ver Tabla 2; ##, promedio:  $cp = 0,7631$ . Entre paréntesis, errores estándar de cada término. \*\*\*, relación estadísticamente significativa ( $P \leq 0,001$ ).

Regression equation between measured leaf area (A) and estimated leaf area (Ae). Clipped leaves were taken from plants before tasseling. Correction coefficients employed: #, see Table 2; ##, mean  $cp = 0.7631$ . In brackets, standard error for each term. \*\*\*, regression coefficient statistically significant at  $P \leq 0.001$ .

	Ecuación de regresión	Coefficiente r	N
Cultivo en macetas#	$Ae = -0,14 \text{ cm}^2 + 1,010 A$ (0,34) (0,010)	0,990***	108
Cultivo en el campo#	$Ae = 0,18 \text{ cm}^2 + 0,998 A$ (0,18) (0,004)	0,966***	240
Datos agrupados##	$Ae = 0,02 \text{ cm}^2 + 1,004 A$ (0,14) (0,004)	0,974***	348

los coeficientes de regresión fueron significativos ( $P \leq 0,001$ ), las pendientes no difirieron de la unidad y las ordenadas al origen no fueron diferentes de cero (Figura 1). Las hojas extraídas de las plantas rebrotadas entre el 9-IX y el 16-X no difirieron del modelo, ( $cp = 0,762 \pm 0,022$ ,  $N = 32$ ), no así las que rebrotaron entre el 16-X y el 22-XI ( $cp = 0,717 \pm 0,035$ ;  $N = 96$ ). La duración de los fotoperíodos y la irradiancia aumentan hacia mediados y fines de primavera en relación al invierno o comienzo de primavera, lo que podría dar lugar a las diferencias morfológicas foliares encontradas en los respectivos periodos de rebrote, a similitud de lo informado por Gaba y Black (1983).

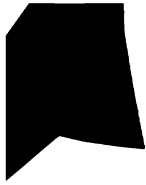
El valor del coeficiente para corregir el área foliar estimada mediante W.L puede ser obtenido por un promedio de los coeficientes individuales ( $cp$ ) o por regresión mediante el



**Figura 1.** Área foliar estimada como  $Ae = 0,7631 \text{ W.L}$  en función del área medida (A) en 2 variedades de cebadilla criolla cultivadas en el campo (1993) con mayor densidad de siembra que en el cultivo que dió origen al modelo. Entre paréntesis, errores estándar de la ordenada al origen a (en  $\text{cm}^2$ ) y de la pendiente. \*\*\*, coeficientes de regresión estadísticamente significativos ( $P \leq 0,001$ ).

Relationship between estimated leaf area (as  $Ae = 0.7631 \text{ W.L}$ ) and measured area (A) of leaves clipped from 2 varieties of prairie grass grown in the field (1993) with higher sown density than the original model. Between brackets, standard errors of the intercept a ( $\text{cm}^2$ ) and the slope. \*\*\*, coefficient of regression was statistically significant ( $P \leq 0.001$ ).

método de los cuadrados mínimos, entre las áreas foliares medidas y estimadas (Miralles y Slafer, 1991; Persaud *et al*, 1993). En nuestro caso, el coeficiente promedio 0,7631 se ha comportado en forma satisfactoria para estimar el área foliar en la cebadilla criolla.



## CONCLUSIONES

La relación entre las áreas estimadas, de plantas en estado vegetativo o que preceden a la hoja bandera, con el modelo 0,7631 W.L y las mismas áreas medidas han dado origen a regresiones altamente significativas, con pendientes y ordenadas al origen que cumplieron con las exigencias planteadas. Para estimar el área foliar se requerirían otros coeficientes distintos de 0,7631 si las hojas tienen una geometría diferente a las del modelo. Este sería el caso de las hojas de las plantas

rebrotadas hacia fines de la primavera y, frecuentemente, de la hoja bandera de plantas no defoliadas.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo fue subsidiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) mediante el PID 399/88 y PRINFIVE Legajo N° 5416 y por la Academia de Ciencias del Tercer Mundo (TWAS) mediante la RG BC 88-48.

## BIBLIOGRAFIA

- André M and H Du Cloux** (1993) Interaction of CO<sub>2</sub> enrichment and water limitations on photosynthesis and water efficiency in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 31:103-112.
- Ashley DA, BD Doss and OL Bennet** (1963) A method for determining leaf area in cotton. *Agronomy Journal* 55:584-585.
- Coïc Y et C Le Saint** (1975) La nutrition minérale et en eau des plantes en horticulture avancée. *Document Technique SCPA* 23: 1-2.
- Daughtry CST and SE Hollinger** (1984) Costs of measuring leaf area index of corn. *Agronomy Journal* 76:836-841.
- Gaba V and M Black** (1983) The control of cell growth by light. *Encyclopedia of Plant Physiology* vol.16 A W Shropshire and H Mohr Eds Springer-Verlag, Berlin: 358-400.
- Milthorpe FL** (1956) The growth of leaves. Butterworth's Scientific Publications, London. 243 pp.
- Miralles DJ and GA Slafer** (1991) A simple model for non-destructive estimates of leaf area in wheat. *Cereal Research Communications* 19: 439-444.
- Montgomery EC** (1911) Correlation studies in corn. *Nebraska Agriculture Experimental Station Annual Report* 24: 108-159.
- Persaud N, M Gandah, M Ouattara and N Mokete** (1993) Estimating leaf area of pearl millet from linear measurements. *Agronomy Journal* 85: 10-12.
- Sestak Z, J Cataký and PG Jarvis** (1971) Plant photosynthetic production. Dr W Junk N V Publishers, The Hague. 589 pp.
- Stickler FC, S Wearden and AW Pauli** (1961) Leaf area determination in grain sorghum. *Agronomy Journal* 53:187-188.
- Went CW** (1967) Use of a relationship between leaf length and leaf area to estimate the leaf area of cotton (*Gossypium hirsutum* L.), castor (*Ricinus communis* L.) and sorghum (*Sorghum vulgare* L.). *Agronomy Journal* 59:484-486.