



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para graduados

**EFFECTO DE DISTINTOS TRATAMIENTOS DE *PRIMING* Y DEL
POSTERIOR ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE
DOS LOTES DE *Setaria sphacelata* 'NAROK'**

Melina Rut Tamborelli

Tesis

Para optar al grado académico de
Magister en Ciencias Agropecuarias
Mención Tecnología de Semillas

Córdoba, 2020

**EFFECTO DE DISTINTOS TRATAMIENTOS DE *PRIMING* Y DEL
POSTERIOR ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE
DOS LOTES DE *Setaria sphacelata* 'NAROK'**

Melina Rut Tamborelli

Comisión Asesora de Tesis

Directora: Ing. Agr. (MSc.) Silvina E. Fiant

Asesor: Ing. Zoot. (MSc.) Pablo Barbera

Asesor: Ing. Agr. (Dr.) Mariano Córdoba

Tribunal Examinador de Tesis

PHD. María Andrea Tomás -----

Ing. Zoot. (MSc) Pablo Barbera -----

Ing. Agr. (MSc) César Germán Agüero -----

Presentación Formal Académica: 27 de Julio de 2020

Facultad de Ciencias agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) por permitirme realizar y financiar mis estudios de postgrado.

A mi Directora Ing. Agr. (MSc) Silvina Fiant por su esmero, dedicación y acompañamiento.

A los asesores Ing. Zoot. (MSc) Pablo Barbera e Ing. Agr. (Dr) Mariano Córdoba por sus valiosos aportes.

A Mario y Ricardo, auxiliares del Laboratorio de Análisis de Semillas de la EEA INTA Mercedes y al Ing. Agr. (MSc) Guillermo Mc Lean por su gran colaboración en la realización de los trabajos de laboratorio.

A todo el grupo de Producción Vegetal de la EEA Mercedes por su acompañamiento en este proceso.

A las autoridades de la Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias agrarias, UNC.

A Liam y Willy

A mis padres y hermanos

RESUMEN

El incremento del stock ganadero en el norte argentino se ha correspondido, en gran parte, con un aumento en el uso de pasturas tropicales. La implantación inicial de éstas es particularmente lenta y tienen bajos coeficientes de logro. *Setaria sphacelata* es una gramínea forrajera megatérmica que por su gran plasticidad es cultivada en una amplia diversidad de regiones agroecológicas. Es de alta producción estival, su producción anual de materia seca fluctúa entre 6000 a 10000 Kg ha⁻¹. Se sabe que los tratamientos de *priming* han resultado eficientes para acelerar y uniformar la germinación de muchas especies. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto del *priming* sobre la viabilidad y el vigor en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de distintos años de cosecha y caracterizar su comportamiento en el posterior almacenamiento en condiciones controladas (CC) y a temperatura ambiente (TA). Se describió la curva trifásica de germinación de la especie y se aplicaron 16 tratamientos de *priming* con tres agentes imbibitorios: agua, KNO₃ 0,02% y GA₃ 0,02 y 0,05%. Las variables evaluadas fueron porcentaje de viabilidad (PV), porcentaje de germinación (PG), energía germinativa (EG) e índice de velocidad de emergencia (IVE), las evaluaciones se repitieron a los 45, 90 y 135 días post tratamiento. La inmersión en solución de KNO₃ 0,2% por más de 24 horas provocó un gran porcentaje de semillas muertas. En cuanto al PG, a excepción de los tratamientos con KNO₃ 0,02%, todas las variantes de *priming* superaron al testigo. La EG y el IVE se vieron beneficiados por la aplicación de tratamientos con agua o GA₃, uniformizando la rápida emergencia de plántulas. El almacenamiento de las semillas en CC mantuvo la calidad de las mismas en cuanto a su PV, PG e IVE hasta los 135 días post tratamiento. En condiciones de TA se observó una disminución generalizada de los parámetros de calidad en las semillas tratadas, igualando al testigo en algunos casos. Se concluye que todos los tratamientos de *priming* con agua y GA₃ ensayados en esta tesis fueron eficientes para mantener la viabilidad y mejorar la respuesta germinativa en los dos lotes de *Setaria sphacelata* evaluados. Al no hallarse diferencias significativas entre ellos, el *hidropriming* resulta el más promisorio debido a su bajo costo, sencillez de aplicación y la factibilidad de llevarlo a la práctica a campo.

Palabras claves: forrajera megatérmica, curva trifásica, germinación, KNO₃, GA₃

ABSTRACT

Livestock increase in northern argentine has been corresponding, in large part, with the increase of use of tropical forages. Initial establishment of pasture is particularly slow and has low accomplishment coefficients. *Setaria sphacelata* is a megatermic forage grass cultivated in a wide diversity of agro ecological regions due to its plasticity. It is a high productive species on summer, its dry matter annual production range between 6000 and 10000 kg.ha⁻¹. It's known that priming treatments have been efficient to enhance and uniform the germination of lots of species. The aim of this work was to study the effect of priming on viability and vigor of seeds of *Setaria sphacelata* 'Narok' from different years of harvest and characterize it subsequent behavior in controlled condition storage (CC) and at environmental temperatures (TA). The three-phasic germination curve of the species was described and then 16 priming treatments were applied with three imbibition agents: water, KNO₃ 0,02% y GA₃ 0,02 y 0,05%. Analyzed variables were viability percentages (PV), germination percentages (PG), germinative energy (EG) and emergence speed index (IVE), evaluations were repeated at 45, 90 and 135 days post- treatment. Immersion on KNO₃ 0,2% solutions for more than 24 hours caused a great percentage of death seeds. All priming treatments except KNO₃ 0,02%, were superior to control. EG and IVE were improved by water or GA₃ application treatments, homogenizing the rapid seedlings emergence. The storage of seeds in CC preserved the PV, PG e IVE quality until 135 days post- treatment. It was observed a generalized reduction of quality parameters on treated seeds under TA conditions, some of them equalizing the control. It is concluded that priming treatment assays with water and GA₃ in this work were efficient to maintain viability and enhance the germinative response in both evaluated batch of *Setaria sphacelata*. Since statistical differences were not detected between them, hidropriming shows to be the most promising treatment by its low cost, easy of application and feasibility to practice it in field conditions.

Key words: megatermic forage, three-phasic curve, germination, KNO₃, GA₃

TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE TABLAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	XII
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
HIPÓTESIS	7
OBJETIVOS.....	7
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	9
CAPÍTULO II. Caracterización de la curva trifásica de germinación de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' de diferentes años de cosecha con distintos agentes de imbibición.....	11
INTRODUCCIÓN.....	11
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Material biológico	18
Obtención de la curva trifásica de germinación	19
Análisis estadístico	20
RESULTADOS	22
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	31
CAPÍTULO III. Efectos del <i>priming</i> sobre la viabilidad y vigor de semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' de diferentes años de cosecha	34
INTRODUCCIÓN.....	34
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS.....	38
MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
Material biológico	39
Metodología.....	39
Aplicación de los tratamientos de <i>priming</i>	42
Variables evaluadas	44
Diseño experimental y análisis estadístico	46
RESULTADOS	47
1. Porcentaje de viabilidad (PV).....	47
2. Porcentaje de germinación (PG).....	49

3. Primer recuento de germinación o Energía germinativa (EG)	51
4. Índice de velocidad de emergencia (IVE)	52
DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIONES.....	60
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	61
CAPÍTULO IV. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y vigor de semillas de <i>Setaria sphacelata</i> ‘Narok’ de diferentes años de cosecha sometidas a tratamientos de <i>priming</i>.....	66
INTRODUCCIÓN.....	66
HIPÓTESIS	69
OBJETIVO.....	69
MATERIALES Y MÉTODOS.....	70
Material biológico	70
Detalle de los tratamientos:	70
Metodología.....	70
Diseño experimental y análisis estadístico	71
RESULTADOS	72
1. Porcentaje de viabilidad (PV).....	72
2. Porcentaje de germinación (PG).....	74
3. Primer recuento de germinación o Energía germinativa (EG)	78
4. Índice de velocidad de emergencia (IVE)	81
DISCUSIÓN.....	85
CONCLUSIONES.....	88
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	90
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES.....	92
FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	94
ANEXO 1: Resolución N° 350 de INASE.....	95
ANEXO 2: obtención de las curvas de imbibición de <i>Setaria sphacelata</i> ‘Narok’ cosecha 2016 y 2017. Seguimiento del incremento de peso	96

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1: Tiempo necesario para alcanzar fase I y fase II de la curva trifásica de germinación en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO ₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA ₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA ₃ 0,05%).....	26
Tabla 3.1: Detalle de los agentes de <i>priming</i> , tiempo de inmersión, horas de imbibición y número de ciclos de hidratación utilizados en los tratamientos de <i>priming</i> aplicados en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017.....	41
Tabla 4.1: Porcentaje de viabilidad (PV) promedio de los dos lotes a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC), sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	73
Tabla 4.2: Porcentaje de germinación (PG) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	76
Tabla 4.3: Porcentaje de germinación (PG) promedio de los dos lotes a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y bajo condiciones controladas (CC) sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	78
Tabla 4.4: Porcentaje de Energía germinativa (EG) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	80
Tabla 4.5: Índice de velocidad de emergencia (IVE) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Pastura de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' en pastoreo, Mercedes, Corrientes.....	2
Figura 1.2: Imágenes de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' A: planta entera, B: detalle de panojas, C: detalle de espiguillas.....	3
Figura 2.1: Incremento de peso en función del tiempo y duración de las fases de germinación en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO ₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA ₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA ₃ 0,05%).....	23
Figura 2.2: Incremento de peso en función del tiempo y duración de las fases de germinación en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2017 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO ₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA ₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA ₃ 0,05%).....	23
Figura 2.3: Vista de semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' tomadas bajo lupa binocular con aumento de 40x donde se observa la protrusión de las primeras radículas (flechas rojas).....	24
Figura 2.4: Incremento de peso en función del tiempo en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosechas 2016 y 2017 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO ₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA ₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA ₃ 0,05%) y duración de las fases de germinación. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	25
Figura 3.1: Esquema del arreglo factorial según el cual se conforman los 16 tratamientos de <i>priming</i>	40
Figura 3.2: Imágenes que muestran en detalle la aplicación de los tratamientos de <i>priming</i> . A: semillas envueltas en toalla de papel. B: semillas sumergidas. C: cajitas de Petri con arena para hacer peso y evitar que las semillas floten. D: distribución al azar de los tratamientos en la cámara de germinación.....	43
Figura 3.3: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 (barras rojas) y 2017 (barras amarillas) sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	48
Figura 3.4: Imágenes bajo lupa de 40x de aumento de semillas de <i>Setaria phacelata</i> 'Narok' luego de la tinción en el ensayo de viabilidad por Test de tetrazolio.....	48
Figura 3.5: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Promedio de cosecha 2016 y 2017. Barra negra: testigo, barras celestes: tratamientos con agua, barras verdes: tratamientos con KNO ₃ y barra rojas: tratamientos con GA ₃ . Las columnas representan la media de los tratamientos (n=8), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	50
Figura 3.6: Porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas frescas (SF) y semillas muertas (SM) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok'	

sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Promedio de cosecha 2016 y 2017. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	51
Figura 3.7: Porcentaje de energía germinativa o primer recuento de germinación (EG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	52
Figura 3.8: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	53
Figura 4.1: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> , almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultado promedio entre cosecha 2016 y 2017.....	72
Figura 4.2: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> , almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultado promedio entre todos los tratamientos. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	74
Figura 4.3: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.....	75
Figura 4.4: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de <i>priming</i> y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	77
Figura 4.5: Porcentaje de energía germinativa (EG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.....	79
Figura 4.6: Porcentaje de energía germinativa (EG) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de <i>priming</i> y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	81
Figura 4.7: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de <i>priming</i> . Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.....	83
Figura 4.8: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de <i>Setaria sphacelata</i> 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de <i>priming</i> y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ABA: Ácido abscísico
ADN: Ácido desoxiribinucleico
GA₃: Ácido giberélico
ARN: Ácido ribonucleico
ATP: Adenosín trifosfato
cm: centímetro/s
CC: condiciones controladas
CO₂: Dióxido de carbono
DPT: días post tratamiento
EEA: Estación Experimental Agropecuaria
EG: energía germinativa
KH₂PO₄: fosfato monopotásico
°C: grado centígrado
g: gramo/s
ha: hectárea
HD: hidratación-deshidratación
hs: hora/s
INASE: Instituto Nacional de Semillas
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
ISTA: Internacional Seed Testing Association
IVE: índice de velocidad de emergencia
Kg: kilogramo/s
mm: milímetro/s
MLM: modelo lineal mixto
KNO₃: nitrato de potasio
N°: número
O₂: oxígeno
PN: plántulas normales
%: porcentaje
PG: porcentaje de germinación
PV: porcentaje de viabilidad
SF: semillas frescas
SM: semillas muertas
TA: temperatura ambiente

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

La actividad ganadera que prevalece en una región depende en gran medida de la disponibilidad y la calidad de las fuentes de alimentación. La distribución de las existencias ganaderas del norte argentino es desuniforme y responde a los grandes ambientes, donde los pastizales son casi el único recurso alimenticio (Pizzio y Bendersky, 2018). Fiant *et al.* (2018) afirman que las pasturas megatérmicas, junto con los pastizales naturales conforman la cadena forrajera para la producción ganadera en la región extrapampeana argentina.

En la actualidad, alrededor del 34% de la ganadería argentina se lleva a cabo en las regiones subtropicales del país (norte argentino), y de éstas, las subtropicales subhúmedas y semiáridas son las que presentan mayores posibilidades de incremento de la productividad mediante el uso de pasturas megatérmicas. El incremento del stock ganadero de esta región se ha correspondido, en gran parte, con un aumento en la implantación de pasturas tropicales (Arroquy, 2015).

A escala nacional, Corrientes ocupa el tercer lugar en relación al stock ganadero argentino desde el año 2010 pero considerando el número de vacas, se encuentra en ese mismo lugar desde hace más tiempo. En el período 2010-2016, participó en promedio con el 9,8% del stock bovino y 10,4% de las vacas del país (Calvi, 2017).

Un sistema productivo exitoso comienza con una correcta implantación de pasturas, lo que en la práctica es una de las tareas más difíciles y delicadas si se compara con la siembra de cualquier otro cultivo agrícola (Pozzolo, 2006). Uno de los objetivos principales en la implantación de gramíneas forrajeras es lograr que la germinación y la emergencia de las plántulas se resuelvan rápida y uniformemente. Variaciones tanto en la velocidad de germinación como en la de formación de hojas y macollos pueden determinar capacidades diferenciales para competir durante el

establecimiento, alcanzar una rápida cobertura y permitir un aprovechamiento de forraje anticipado (Horst y Dunning, 1989).

Setaria sphacelata (Schumach.) Stapf & C.E. Hubb es una gramínea forrajera megatérmica nativa de África tropical y subtropical, utilizada en pastoreo y como heno y silaje (Hacker y Jones, 1969). Desde el punto de vista taxonómico, el género *Setaria* pertenece a la familia Poaceae, subfamilia Panicoideae, tribu Paniceae. El género *Setaria* comprende alrededor de 125 especies distribuidas a través de las regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo (Rominger, 1962; Webster, 1993). Es una especie perenne formadora de macollos, de 45 a 180 cm de altura; con nudos inferiores del tallo comprimidos y vainas foliares dispuestas con frecuencia en forma de abanico. Sus inflorescencias son panojas con forma de espiga falsa, densas, con barbas color naranja; y espiguillas subagudas entre 2,5 y 3 mm de largo (Napper, 1965). Su peso de mil semillas es de aproximadamente un gramo. Es de alta producción estival, su crecimiento comienza en primavera y su producción anual de materia seca fluctúa entre 6000 a 10000 Kg ha⁻¹.



Figura 1.1: Pastura de *Setaria sphacelata* 'Narok' en pastoreo, Mercedes, Corrientes.

Debido a su gran plasticidad *Setaria sphacelata* es cultivada con éxito en la amplia diversidad de regiones agroecológicas que presenta la provincia de Corrientes. Dependiendo del ambiente, y con un manejo adecuado se logran pasturas con más de 10 años de persistencia (Borrajo y Pizzio, 2006).



Figura 1. 2: Imágenes de *Setaria sphacelata* 'Narok'. A: planta entera, B: detalle de panojas, C: detalle de espiguillas.

En relación a las especies forrajeras subtropicales, éstas tienen un uso agronómico y un proceso de mejoramiento mucho más reciente que las forrajeras templadas y otras especies cultivadas. La cosecha de semilla es mucho más difícil debido a su floración escalonada y la rápida dehiscencia de sus semillas y los volúmenes cosechados en general son bajos y de calidad regular. Además, la implantación inicial de estas forrajeras es naturalmente lenta, demostrando en condiciones de campo un período crítico en el estado de plántula, de 30-45 días, con riesgo de pérdidas debidas a estrés

hídrico, anegamiento o ataque de insectos (Barbera, 2015). Marcos Filho (2015) cita a las gramíneas forrajeras como ejemplo de semillas que se desprenden de la planta madre con su estructura morfológica completa, pero con un embrión fisiológicamente inmaduro o dormición fisiológica. Teniendo en cuenta estos aspectos se podría asumir que este tipo de dormición se encontraría según la clasificación propuesta por Baskin y Baskin (2004) dentro del tipo endógena fisiológica, pero no se halló en la literatura consultada algún estudio en el que se clasifique el tipo específico de dormición en *Setaria sphacelata*.

Las características antes mencionadas respecto a la maduración escalonada de las forrajeras subtropicales y la dormición poscosecha de sus semillas, son aspectos que pueden condicionar el tratamiento que se dé a un grupo de semillas de la especie en estudio. Resulta necesario entonces mantener presente el concepto de lote de semillas. Según la definición de las Reglas ISTA (2019) un lote de semillas es una cantidad específica de semilla identificable física e inequívocamente que presenta un comportamiento fisiológico con distribución normal para cualquier parámetro que se observe. Ese comportamiento corresponde con la variabilidad genética del lote, expresado en las características de cada semilla como propágulo independiente (Caver, 1983). Las gramíneas, especialmente las tropicales, florecen en generaciones múltiples, lo que resulta que en un momento dado se encuentren flores y tallos en diversas proporciones y etapas de desarrollo, sean espiguillas maduras en planta y suelo, flores en ejerción, flores en antesis, tallos en transición o tallos vegetativos (Quero Carillo y Enríquez Quiroz, 2013). Al mismo tiempo, este comportamiento heterogéneo atenta contra la aplicación de tratamientos agrotécnicos masivos, al estar constituidas las poblaciones por individuos en diferentes estadios ontogénicos.

En particular, no es sencillo lograr una buena implantación y alto número de plantas en especies forrajeras megatérmicas. Esto se debe al bajo coeficiente de logro (cantidad de plantas logradas en función de las semillas viables sembradas) que tienen estas especies comparado con otros recursos forrajeros o cultivos. Tan importante es la limitante que la calidad de semilla puede ejercer en el éxito de la implantación, que el Instituto Nacional de Semillas (INASE) establece dentro del estándar nacional, un mínimo de germinación de cuarenta por ciento y una viabilidad por tetrazolio del

cincuenta por ciento (Resolución N°350/2011 de INASE presentada en Anexo 1), considerando las particulares características fisiológicas respecto a dormición que ésta especie presenta.

Reafirmando esta idea y tal como lo demostraron las experiencias de implantación de Barbera (2015) en *Setaria sphacelata*, con semilla de excelente calidad (no menos de setenta por ciento de poder germinativo) y sembradora con fertilización en la línea, menos de la mitad de las semillas puras germinables sembradas generaron plantas viables luego de sesenta días de la siembra.

Por lo antes expuesto, es de suma importancia conocer la calidad de la semilla con la que se cuenta. Para ello, pueden realizarse ensayos en laboratorios de análisis de semillas tales como pureza, poder germinativo, peso absoluto, viabilidad, vigor, humedad y sanidad de semillas.

Una vez asegurada la calidad de las semillas aún se puede lograr mejorar el desempeño de las mismas a través de la optimización de las condiciones de siembra y del ambiente a su alrededor (Baudet y Peske, 2007). Los tratamientos de semillas con fungicidas e insecticidas han sido utilizados por años en muchos cultivos. Aunque siguen siendo importantes existen otras tecnologías como el *priming* y el peleteo que mejoran el comportamiento de las semillas durante la germinación en un amplio rango de condiciones de siembra y almacenaje (Tekrony, 2006).

En cuanto a los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas se sabe que han resultado eficientes para acelerar y uniformar la germinación, revigorar semillas envejecidas, e incrementar el rendimiento de los cultivos en condiciones ecológicas óptimas y adversas (Sánchez *et al.*, 2001). Dichas técnicas son conocidas fundamentalmente como acondicionamiento de semillas o “*seed priming*”, revigorización de semillas o “*seed reinvigoration*” y robustecimiento de semillas o “*seed hardening*” (Khan, 1992; Taylor *et al.*, 1998; Welbaum *et al.*, 1998a; McDonald, 2000; Sánchez *et al.*, 2001); aunque el término más empleado en la literatura científica es acondicionamiento o “*seed priming*”, independientemente de los objetivos que se persigan.

La característica de las técnicas recién mencionadas es que todas implican absorción controlada de agua (Varier *et al.*, 2010) seguida de una deshidratación, cuyo objetivo es iniciar los eventos tempranos de la germinación, sin llegar a la emergencia de la radícula (McDonald, 2000). Generalmente en el proceso de germinación de las semillas la absorción de agua muestra un patrón trifásico: una rápida absorción inicial debido al bajo potencial hídrico de las semillas (Fase I), seguida de un período de longitud variable en que el contenido de agua se incrementa muy poco (Fase II) y, finalmente, se reanuda el incremento en la toma de agua, debido a la emergencia de la radícula (Fase III) (Bewley y Black, 1994).

Otro de los efectos del *priming* es atenuar la profundidad de la dormición. Por ejemplo, semillas de ciertas especies que requieren luz para germinar necesitan estar hidratadas para recibir esa influencia, de modo que, al ser iluminadas durante el tratamiento pueden tener las exigencias satisfechas, lo que es particularmente interesante en semillas que reciben materiales de cobertura durante el procesamiento como pelets (Marcos Filho, 2015), técnica aplicada con frecuencia en semillas forrajeras megatérmicas como *Setaria sphacelata*.

Resulta fundamental recordar que luego de cualquier tratamiento de acondicionamiento, es necesaria la deshidratación de las semillas para facilitar el manejo, la siembra mecánica o la prolongación del período de mantención de la viabilidad durante el almacenamiento. Sin embargo, el almacenamiento a largo plazo, particularmente en condiciones adversas, puede ser más perjudicial en las semillas acondicionadas en comparación a las no tratadas; esto debido a que las acondicionadas pueden presentar mayor sensibilidad a la desecación y menos tolerancia al almacenamiento, lo que puede provocar reducción de la germinación y el vigor (Nascimento, 2009).

Por lo expuesto anteriormente se plantea la necesidad de estudiar el efecto del *priming* en la calidad fisiológica de semillas de *Setaria sphacelata* ‘Narok’ inmediatamente post tratamiento y en su posterior almacenamiento.

En base al análisis precedente se plantean las siguientes:

HIPÓTESIS

- El patrón de imbibición de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' en agua, solución de KNO_3 o GA_3 se comporta como una curva trifásica de germinación estándar.
- La aplicación de ciertos tratamientos de *priming* sobre semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' mejoran la rapidez y uniformidad de emergencia de plántulas.
- Las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' tratadas con *priming* mantienen su calidad fisiológica durante el almacenamiento.

Por lo expuesto se plantean los siguientes:

OBJETIVOS

Objetivo General

- ✓ Estudiar el efecto del *priming* sobre la viabilidad y el vigor en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de distintos años de cosecha y caracterizar su comportamiento en el posterior almacenamiento.

Objetivos Específicos

- ✓ Describir la curva trifásica de la germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' en semillas provenientes de diferentes años de cosecha.
- ✓ Observar si la incorporación de KNO_3 o GA_3 modifica la curva trifásica de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.

- ✓ Identificar el tiempo de imbibición necesario para llegar a inicio y a mitad de Fase II de la curva trifásica de germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha con diferentes agentes de imbibición.

- ✓ Observar el efecto de los tratamientos de *priming* sobre la viabilidad y el vigor de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.

- ✓ Determinar el efecto del uso de KNO_3 o GA_3 en tratamientos de *priming* sobre la ruptura de dormición de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.

- ✓ Evaluar el efecto del almacenamiento en condiciones controladas y de ambiente natural sobre la calidad fisiológica de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha sometidas a diferentes tratamientos de *priming*.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Arroquy J. I. e Imaz A. 2015. Informe Técnico N°60. II Jornada Nacional Forrajeras Tropicales 2015. INTA Ediciones. 27-38.
- Barbera P. 2015. Informe Técnico N° 60. II Jornada Nacional Forrajeras Tropicales 2015. INTA Ediciones. 39-52.
- Baskin J. M. and Baskin C. C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14: 1–16.
- Baudet L. y Peske F. 2007. Aumentando o desempenho das sementes. *Seed News*, 9(5): 22-24.
- Bewley J. D. and Black M. 1994. *Seed: physiology of development and germination*. New York, London: Plenum Press.
- Borrajo C. I. y Pizzio R. 2006. Manual de producción y utilización de Setaria. Libreta técnica. Material de divulgación. Ed. Proyecto Ganadero de Corrientes. EEA Mercedes, CR Corrientes, INTA. 1-12.
- Calvi M. 2017. Análisis sobre la existencia bovina en la provincia de Corrientes. Hoja informativa N° 89. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Mercedes.
- Caver P. B. 1983. Seed demography. *Canadian Journal of Botany*, 61: 3578-3590.
- Fiant S. E., Núñez, S. B., Pereyra, M. S., Bruno, C. I., y Tablada, E. M. 2018. Manual de buenas prácticas para la evaluación de calidad de semillas incrustadas de Gatton Panic. In: UNC-FCA.
- INASE. 2011. Resolución N° 350: tolerancias para la comercialización de especies forrajeras subtropicales.
- ISTA. *International Rules for Seed Testing*. 2019. Published by The International Seed Testing Association (ISTA). Zurichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Switzerland.
- Hacker J. B. and Jones R. J. 1969. The Setaria sphacelata complex- A review. *Tropical Grasslands*, 3: 13-34.
- Horst G. and Dunning N. 1989. Germination and seedling growth of perennial ryegrasses in soluble salts. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114: 338-342.
- Khan A. A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 14: 131-181.
- Marcos Filho J. 2015. *Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas*. ABRATES, Londrina, PR, Brasil. 496-547 pp.
- McDonald M. B. 2000. Seed priming. *Seed Technology and its biological basis*. Eds. M. Black and J.D. Bewley. Sheffield, Academic Press. 286–325 pp.
- Napper D. M. 1965. Grasses of Tanganyika with keys for identification. *Bull. Min. Agric. For. Wildlife, Tanzania*, 18.
- Nascimento W. M. 2009. Condicionamiento osmótico de sementes de hortaliças. Ed. *Tecnologia de Sementes de Hortaliças*. Brasilia, Embrapa Hortaliças, 345-396 pp.
- Pizzio R. y Bendersky D. 2018. Base forrajera y potencial de mejora en el NEA. En: *Cría Vacuna en el NEA*. Sampedro D. INTA Ediciones. Argentina, 16-29 pp.
- Pozzolo O. R. 2006. Implantación de pasturas. Hoja informativa electrónica 143. EEA Concepción del Uruguay, 8 pp.
- Quero Carillo A. R. y Enríquez Quiroz J. F. 2013. Manejo de la producción de semilla en especies forrajeras: experiencias en México. En: *Manejo de pastos y forrajes tropicales*. Ed. Perozo Bravo A. Maracaibo, Venezuela. 143-153 pp.

- Rominger J. M. 1962. Taxonomy of *Setaria* (Gramineae) in North America. 29. Illinois biological monographs, v. 29.
- Sanchez J. A., Orta R. y Muñoz B. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*, 25: 67-92.
- Taylor A. G., Allen P. S., Bennett M. A., Bradford K. J., Burris J. S. and Misra M. K. 1998. Seed enhancements. *Seed Science Research*, 8:245-256.
- Tekrony D. M. 2006. Seeds. *Crop science*, 46(5): 2263-2269.
- Variar A., Vari A. K. and Dadlani M. 2010. The subcellular basis of seed priming. *Current Science India*. 99: 450-456.
- Webster R. D. 1993. Nomenclature of *Setaria* (Poaceae: Paniceae). *SIDA, Contributions to Botany*, 447-489.
- Welbaum G. E., Shen Z., Oluoch M. O. and Jett L. W. 1998a. The evolution and effects of priming vegetable seeds. *Seed Technology*, 20: 209-235.

CAPÍTULO II

Caracterización de la curva trifásica de germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha con distintos agentes de imbibición

INTRODUCCIÓN

El proceso de absorción de agua por las semillas durante la germinación sigue un patrón trifásico (Bewley y Black, 1994). Los tratamientos de acondicionamiento fisiológico se dirigen a las Fases I y II de imbibición, durante las cuales ocurre la activación de mecanismos de reparo de macromoléculas y de estructuras celulares (Bray, 1995). La imbibición constituye la primera etapa de una secuencia de eventos que culminan con la emisión de la raíz primaria. No obstante, se debe tener en cuenta que la tasa de imbibición inicial de agua puede llegar a tener un gran impacto negativo sobre la viabilidad de las semillas y el éxito de la emergencia de plántulas. Esto es debido a que si la imbibición es demasiado rápida puede causar daños severos, directamente relacionados con la integridad de las membranas celulares condicionando diferentes aspectos del vigor de la semilla (Benech-Arnold y Sánchez, 2004). El momento y la velocidad de entrada del agua durante el proceso de imbibición dependen tanto de las características intrínsecas de las semillas como de la permeabilidad de la cubierta seminal. A su vez, la permeabilidad está influenciada por la morfología, la estructura, la composición y el contenido inicial de humedad de la semilla. Por todo esto, según Sharma (1973), el patrón de absorción es difícil de predecir.

En la Fase I, se observa una rápida transferencia de agua desde el sustrato que rodea a la semilla, gracias a una gran diferencia entre sus potenciales hídricos, siendo consecuencia de las fuerzas matriciales de las paredes celulares y de los constituyentes de las semillas secas. En general, esta primera fase de captación de agua ocurre durante ocho a dieciséis horas, y en este periodo surgen las primeras señales de activación del metabolismo, con un aumento acentuado de la actividad respiratoria y liberación de

energía para la germinación, activación de enzimas y síntesis de proteínas a partir de ARN mensajero almacenado al final del proceso de maduración (Marcos Filho, 2015). Al final de esta fase, que es de corta duración, semillas endospermáticas adquieren un grado de humedad de veinticinco a treinta por ciento y las semillas cotiledonares de treinta y cinco a cuarenta por ciento. A partir de ahí, los potenciales hídricos del sustrato y de la semilla tienden a igualarse, y con eso la absorción de agua por la semilla se estabiliza, caracterizando a la Fase II, que puede durar ocho o diez veces más que la Fase I (Pereira, 2007).

Marcos Filho (2015) describe que la Fase II se caracteriza por la reducción en la velocidad de hidratación y de la intensidad de respiración, su ocurrencia y duración es variable según la especie considerada. Por ejemplo las semillas de frijol, maíz, soja, lechuga, rábano y maní pueden permanecer en pausa relativa durante un período de hasta ocho a diez veces superior a la duración de la Fase I, mientras que las de trigo, cebada, arroz y avena generalmente no presentan Fase II. Aunque haya decrecimiento de la absorción de agua, durante la Fase II prosiguen varios eventos metabólicos, la reorganización de organelas y membranas, síntesis y consumo de ATP, síntesis de proteínas y ARN mensajero y activación de enzimas. Esto resulta en el inicio de la movilización de las reservas para nutrir al embrión, lo que promueve la acumulación de solutos y el consecuente nuevo ingreso de agua a las células, a causa de un menor potencial osmótico, llevando a la expansión celular que culmina en el elongamiento del embrión. Al mismo tiempo, la duración de la Fase II depende del potencial hídrico del sustrato, cuanto mayor sea el potencial, mayor será la duración de esta fase.

Durante el desarrollo de las semillas tiene lugar el almacenamiento de una serie de materiales de reserva en los cotiledones y el endospermo. Estas sustancias tienen la misión de alimentar a la plántula hasta que ésta adquiera competencia fotosintética y se convierta en un organismo autótrofo. La movilización de las reservas requiere un proceso previo de hidrólisis para liberar los compuestos de menor peso molecular. Al iniciarse la germinación se produce una activación de la síntesis proteica que da lugar, entre otras proteínas, a la formación de enzimas hidrolíticas que producen la movilización de las reservas (García y Primo-Millo, 1993). La mayor parte de los trabajos sobre movilización de sustancias de reservas se han llevado a cabo en

monocotiledóneas, y en particular en gramíneas. En estas semillas el proceso está controlado por el embrión, sin embargo, en ausencia de éste se puede inducir la hidrólisis añadiendo GA₃ al medio, lo que demuestra que las giberelinas sintetizadas en el escutelo de ese órgano son las encargadas de inducir y controlar hormonalmente la hidrólisis. Tanto el escutelo como las células aleuronales pueden sintetizar enzimas hidrolíticas para degradar el almidón. Las giberelinas inducen la síntesis y la posterior secreción hacia el endosperma de la α -amilasa para iniciar la degradación del almidón. Además de la α -amilasa, las giberelinas están implicadas en la síntesis de otras enzimas hidrolíticas (Mantilla, 2013).

El inicio de la Fase III está marcado por el crecimiento visible del embrión, ocurriendo la protrusión de la raíz primaria, y el aumento en el grado de humedad de la semilla, adquiriendo valores entre cincuenta y cincuenta y cinco por ciento (cotiledonares) y entre treinta y cinco y cuarenta por ciento (endospermáticas). Las semillas vuelven a absorber agua rápidamente debido a la reducción en el potencial osmótico. Solamente semillas viables y no durmientes alcanzan esta fase (Bewley y Black, 1994). De esta manera, los principales procesos que ocurren en la Fase III son el transporte de hormonas hacia los tejidos de reserva; la movilización de reservas; el transporte de las reservas movilizadas hacia los puntos de crecimiento del embrión y su asimilación; el elongamiento celular; el inicio de las divisiones celulares (mitosis); la emergencia de la raíz primaria y finalmente el crecimiento de la plántula (Marcos Filho, 2015).

Debe destacarse que el inicio de la Fase III no implica la paralización de las anteriores fases, de modo que la semilla puede presentar simultáneamente las tres fases, dependiendo de factores como la permeabilidad de la cubierta seminal y de la composición química de los tejidos de reserva. De esta manera, la distinción entre las tres fases de imbibición no deja de ser relativamente arbitraria, ya que todos los estadios de germinación envuelven una sucesión ordenada de eventos interligados e interdependientes. Después de la germinación, la cual se determina *sensu stricto* con el inicio del crecimiento de la radícula al final de la Fase II, la tolerancia a la desecación se pierde progresivamente en la mayoría de las especies. Este paso crítico ocurrirá a distintos tiempos en cada semilla de la población, lo que lleva a una germinación

acumulativa con una distribución característica de curva tipo sigmoidea (Benech-Arnold y Sánchez, 2004).

Las semillas ortodoxas adquieren la resistencia a la desecación durante la maduración en planta madre y la pierden cuando se produce la germinación. Un organismo vivo que tolere la desecación debe ser capaz de prevenir, disminuir y/o reparar las reacciones deletéreas producidas por la falta de agua. Por lo tanto, la adquisición de la resistencia a la desecación implica profundos cambios estructurales y bioquímicos a nivel celular así como la síntesis de sustancias protectoras que se producen cuando todavía las semillas ortodoxas están en planta madre (Bewley y Black, 1994).

Como parte del proceso de resistencia a la desecación, el volumen de las células es minimizado y la materia seca reemplaza todo el volumen que previamente estaba ocupado por el agua. Para ello, se produce la síntesis de oligosacáridos y proteínas LEA (*late embryogenesis abundant*), que tienen por función, entre otras, reemplazar los lugares que el agua abandona. La tolerancia a la desecación implica principalmente la protección de las membranas celulares, debido a que éstas son el sitio primario de daños cuando se produce la pérdida de agua y resulta fundamental mantener la estructura de la bicapa lipídica en ausencia de un medio acuoso. Sumado a lo anterior, en las últimas etapas de acumulación de materia seca en planta madre, se depositan gotas de lípidos en la periferia del plasmalema, las que representan un reservorio para la reparación de las membranas, cuando las semillas vuelven a hidratarse en las primeras etapas de la germinación (Del Longo, 2008).

Por lo antes expuesto, semillas hidratadas hasta la Fase II de imbibición no perderán la viabilidad al ser deshidratadas, de tal forma que la germinación puede tener continuidad cuando hay rehidratación de las semillas (Koster y Leopold, 1988). Si la interrupción del suministro de agua a la semilla fue prematura, la activación del metabolismo puede ser insuficiente para promover los beneficios esperados. En contraparte, la interrupción tardía de la hidratación, puede contribuir a revertir los efectos del acondicionamiento (Marcos Filho, 2015).

El principio fundamental del *priming* es que durante la hidratación los procesos metabólicos de las semillas necesarios para la germinación son activados, sin permitir la protrusión de la raíz primaria, o sea, las semillas no alcanzan la Fase III de imbibición (Pill, 1995). De esa forma, después del acondicionamiento fisiológico, las semillas tratadas estarán prácticamente en el mismo estadio metabólico y, consecuentemente, la germinación ocurrirá de forma más rápida y sincronizada (Bray, 1995).

Marcos Filho (2015) describe que otro de los efectos del acondicionamiento fisiológico es atenuar la profundidad de la dormición de semillas, en el caso que la presenten. Como ejemplo de esto Bradford (1990) trabajó con 42 lotes de semillas de pimiento (*Capsicum annuum*) de diferentes grados de maduración y logró los mejores resultados, para incrementar y acelerar la germinación, cuando los tratamientos acondicionadores fueron aplicados en semillas frescas o inmaduras. En este sentido, por tratarse *Setaria sphacelata* de una especie que presenta dormición, resultaría de interés la evaluación de tratamientos de *priming* que incorporen KNO₃ o GA₃, ya que las Reglas ISTA recomiendan entre los tratamientos para ruptura de dormición el uso de solución de KNO₃ al 0,2% y/o de GA₃ al 0,02 y 0,05% en el sustrato del ensayo de germinación. Para el caso de *Setaria sphacelata*, ISTA sugiere el uso de nitrato de potasio. Además de esto, hay numerosos antecedentes de trabajos en los que tratamientos de *priming* con estas sustancias mejoraron el desempeño de las semillas tratadas. Por citar algunos ejemplos, tratamientos con KNO₃ mejoraron la germinación en semillas de *Citrullus lanatus* (Demir y Mavi, 2004), de *Echinacea purpurea* (Chiu *et al.*, 2006), de *Cucumis sativus* (Ghassemi-Golezani y Esmaeilpour, 2008), de *Sorghum bicolor* (Moradi y Younesi, 2009), de *Solanum lycopersicum* (Nawaz *et al.*, 2011). Mientras que el uso de GA₃ fue beneficioso en semillas de *Triticum aestivum* (Angrish *et al.*, 2001; Radi *et al.*, 2001), de *Salicornia europaea* (Khan *et al.*, 2002), de *Zea mays* (Aragão *et al.*, 2003), de *Tanacetum cinerariifolium* (Bisht *et al.*, 2009), de *Agropyron elongatum* (Eisvand *et al.*, 2010) y de *Brassica napus* (Benincasa *et al.*, 2013), entre otros.

La hidratación de las semillas puede realizarse en soluciones osmóticas, en agua o en partículas sólidas (Taylor *et al.*, 1998) y puede ser controlada de distintas formas. Una de ellas es en función del equilibrio de potenciales químicos (Heydecker *et al.*,

1973), otra es limitando la cantidad de agua añadida (Henckel, 1982), y finalmente en función del tiempo de inmersión en agua (Orta *et al.*, 1998). La ya mencionada diferencia entre especies, y también entre lotes de distinta calidad, aún en el mismo cultivar, es importante cuando se estudian métodos para el acondicionamiento fisiológico, porque se sabe que entre los diferentes factores que afectan los resultados de este tipo de tratamientos, el potencial fisiológico inicial de las semillas es uno de los más importantes (Caseiro, 2003). Por lo tanto, conocer el patrón de absorción de agua permite establecer bases para la selección del protocolo que permita asegurar la máxima eficiencia del tratamiento de *priming*, pues el metabolismo debe ser activado de manera controlada y en proporción adecuada, permitiendo que las semillas relativamente débiles adquieran un nivel metabólico lo más próximo posible a las que presentan potencial fisiológico superior (Marcos Filho, 2015), sin llegar al estado irreversible de emisión de radículas.

En base al análisis precedente se plantea la siguiente:

HIPÓTESIS

- ✓ El patrón de imbibición de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' en agua, solución de KNO_3 o GA_3 se comporta como una curva trifásica de germinación estándar.

Por lo expuesto se plantean los siguientes:

OBJETIVOS

- ✓ Describir la curva trifásica de la germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' en semillas provenientes de diferentes años de cosecha.
- ✓ Observar si la incorporación de KNO_3 o GA_3 modifica la curva trifásica de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.
- ✓ Identificar el tiempo de imbibición necesario para llegar a inicio y a mitad de Fase II de la curva trifásica de germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha con diferentes agentes de imbibición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron en este trabajo de tesis semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' correspondientes a dos lotes, uno cosecha 2016 y otro cosecha 2017, con 10,9% y 11,2% de humedad respectivamente, ambos pertenecientes a la producción propia de la EEA INTA Mercedes, Corrientes, Argentina. El contenido de humedad de las semillas fue determinado por el método de estufa descrito para el género *Setaria sp.* en las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas ISTA (*International Seed Testing Association*). Si bien se encuentran estandarizadas las prácticas agronómicas para la producción de semillas, las condiciones ambientales de la precosecha difirieron entre años. De acuerdo a los registros de la experimental, particularmente la variable precipitaciones mostró diferencia entre años, con volumen acumulado de los meses septiembre a enero de 1350 y 884 mm en 2016 y 2017 respectivamente.

La producción de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' (semilla identificada) de ambos años de cosecha fue realizada en un mismo predio de la experimental EEA INTA Mercedes, Corrientes, Argentina. Para la obtención de semillas, cada primavera se realiza un corte de emparejamiento del cultivo y se fertiliza con urea (50 a 80 kg/ha). Adicionalmente, cada 2 años se refuerza fertilización con superfosfato triple o fosfato di amónico (con dosis de 80 a 100 kg/ha). Durante la etapa vegetativa se controlan insectos, incluso en estado reproductivo dependiendo de la presión de plagas. A partir de 5-10 macollos por metro cuadrado en estado reproductivo se comienza a incrementar la frecuencia de muestreos para controlar plagas y estimar el momento óptimo de cosecha y probable rendimiento del cultivo. Una vez definida la fecha se realiza la cosecha con maquinaria contratada (corta-trilladora) y se procede al secado en galpón y al aire libre durante 4 a 7 días dependiendo de las condiciones meteorológicas. La humedad del material se controla diariamente, y cuando la misma llega al 12% o menos, se realiza una pre limpieza. Luego se procede a la clasificación de la semilla mediante

zarandas y aire hasta lograr un porcentaje de pureza superior a 70% y controlando la viabilidad y el poder germinativo con análisis de laboratorio.

Al momento de la realización de los ensayos (enero de 2018), las semillas contaban con 24 meses de almacenamiento (lote cosecha 2016) y 12 meses de almacenamiento (lote cosecha 2017) en un depósito con condiciones controladas (18-20°C y 60-70% de humedad relativa).

Cabe aclarar que en el presente estudio se utilizó el término semilla en un sentido agronómico, según la definición de semilla pura de las Reglas ISTA 2019, la cual define como semilla pura para el género *Setaria sp.* a las espiguillas, con o sin pedicelo, con glumas (lemma y palea) encerrando un cariopse. Puede tener adherida una lemma estéril. También se consideran semilla pura cariopses desnudos o fragmentos de ellos con un tamaño mayor a la mitad del tamaño original.

Obtención de la curva trifásica de germinación

Para conocer el patrón de absorción de agua en la germinación de *Setaria sphacelata* se trabajó con cuatro muestras de un gramo de semillas de cada lote (Caseiro, 2003). Se utilizó esta metodología debido a la dificultad de trabajar con semillas individuales por su escaso peso (el peso de mil semillas es aproximadamente un gramo) y por la gran variabilidad de estados de madurez que se encuentra en un mismo lote.

Se puso a embeber cada muestra en agua destilada, solución de nitrato de potasio al 0,2% y solución de ácido giberélico al 0,02 y 0,05% (concentraciones indicadas para ruptura de dormición en Reglas ISTA) entre toallas de papel absorbente de origen nacional, marca Elite, tipo Supreme blancas, embebidas hasta saturación con 4,75 ml por hoja, según el cálculo de retención de dicho papel. Para preparar las soluciones, se utilizó agua destilada estéril y sales de nitrato de potasio y ácido giberélico para síntesis. Cabe aclarar que la incorporación de estas soluciones como agentes imbibitorios fue

con la intención de evaluar, en los ensayos posteriores a la aplicación de los tratamientos de *priming*, un posible efecto en la ruptura de dormición de las semillas y no con el fin de provocar un osmoacondicionamiento.

Para evitar pérdidas de humedad se colocó las semillas en imbibición en contenedores plásticos con cierre hermético de 11 cm de diámetro y 5 cm de altura. Éstos fueron puestos en cámara a una temperatura constante de 25°C y sin aireación (Batista *et al.*, 2016).

A fin de conocer la cantidad de agua absorbida por las semillas, éstas se pesaron en una balanza analítica de cuatro dígitos de precisión cada cuatro horas las primeras doce, luego cada doce horas. Estos intervalos de tiempo se determinaron luego de varias pruebas previas llevadas a cabo en el laboratorio hasta poner a punto la técnica.

En los ensayos previos también se vio la necesidad de retirar de las semillas las glumas estériles, en el caso de que las tuviesen. Esto debido a que la humedad que quedaba en ellas hacía que el peso de las semillas no se estabilice y sea un factor de variación, ya que en realidad, lo que se quiere conocer es el agua que ingresa al interior de la semilla y no la humedad que queda en su superficie.

Como paso previo a cada pesada se eliminó la humedad superficial de las semillas secándolas primero con toallas de papel y luego soplándolas con secador de cabello (28-30°C) durante 5 minutos. Se realizó el seguimiento de peso hasta observar la protrusión de radículas, lo que estaría indicando inicio de la Fase III (Anexo 2).

Análisis estadístico

Para describir el patrón de absorción de agua, en función del tiempo, se realizaron gráficos de puntos que muestran la relación entre el incremento de peso (g) y tiempo (hs). Posteriormente para evaluar las diferencias estadísticas en el incremento de peso de semilla tratadas con diferentes agentes imbibitorios (agua, nitrato de potasio 0,2%, ácido giberélico 0,02% y ácido giberélico 0,05%), en diferentes tiempos y años de

cosecha (2016 y 2017), se ajustó un Modelo Lineal Mixto (MLM) (West *et al.*, 2015). El mismo incluyó los efectos fijos de agente imbibitorio, tiempo, año y sus interacciones dobles. Además, se incluyó un efecto aleatorio de la unidad experimental (muestra) que permite contemplar la correlación temporal entre las observaciones. Finalmente, para la comparación de medias se utilizó el test DGC con un nivel de significación de $\alpha=0,05$ (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTADOS

El patrón de absorción de agua, solución de nitrato de potasio al 0,2% y solución de ácido giberélico al 0,02 y 0,05% en función del tiempo, expresado en gramos de agua incorporados por gramo de semilla se muestra en la Figura 2.1 para el lote cosecha 2016 y en la Figura 2.2 para el lote de cosecha 2017.

Como resultado de esta experiencia en todos los casos se pudo observar claramente un patrón trifásico tal lo demuestran las Figuras 2.1 y 2.2, las que evidencian una primera etapa de rápida entrada de agua (Fase I) que para los dos lotes evaluados fue de 24 horas. Una segunda etapa en donde la entrada de agua se estabilizó (Fase II) y cuya duración fue entre 60 y 72 horas para las semillas del lote 2016 y entre 48 y 60 horas en las del lote 2017. Finalmente se pudo ver una tercera etapa marcada por un nuevo incremento en el peso de las semillas, el cual ocurrió luego de que se empezara a observar la protrusión de las primeras radículas (Figura 2.3), lo que estaría indicando el inicio de la Fase III. El inicio de esta última fase se alcanzó en el lote 2016 a las 84 horas para el agente imbibitorio agua y GA₃ 0,05%, y a las 96 horas para el agente imbibitorio KNO₃ y GA₃ 0,02%. En el lote 2017, el inicio de Fase III se logró a las 72 horas con el agente imbibitorio agua y GA₃ 0,02 y 0,05 %; mientras que el inicio de Fase III con KNO₃ se dio a las 84 horas.

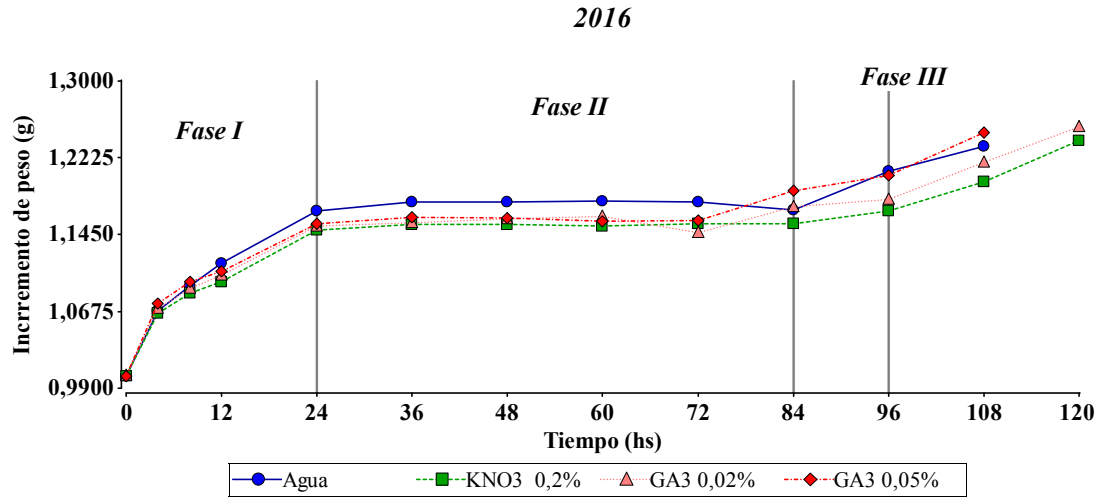


Figura 2.1: Incremento de peso en función del tiempo y duración de las fases de germinación en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA₃ 0,05%).

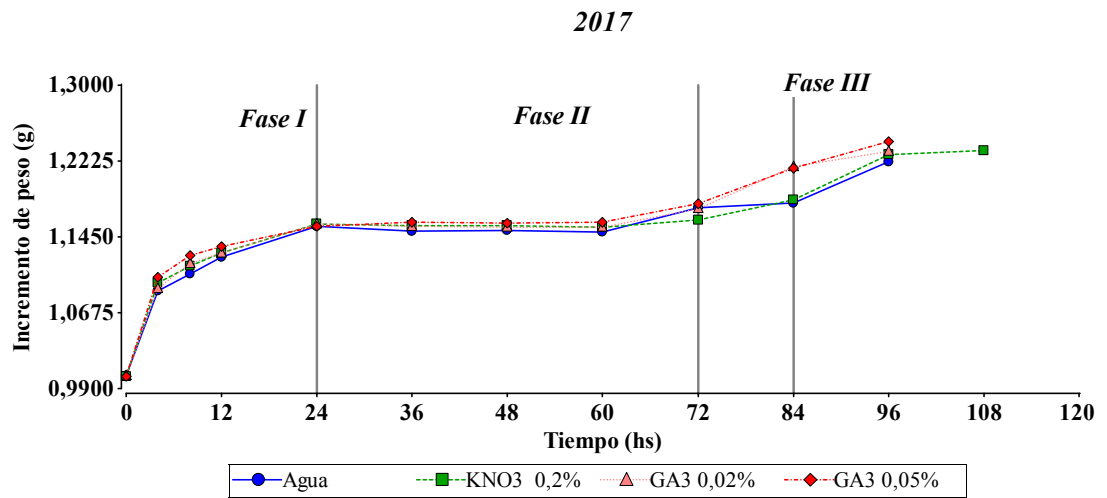


Figura 2.2: Incremento de peso en función del tiempo y duración de las fases de germinación en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2017 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA₃ 0,05%).

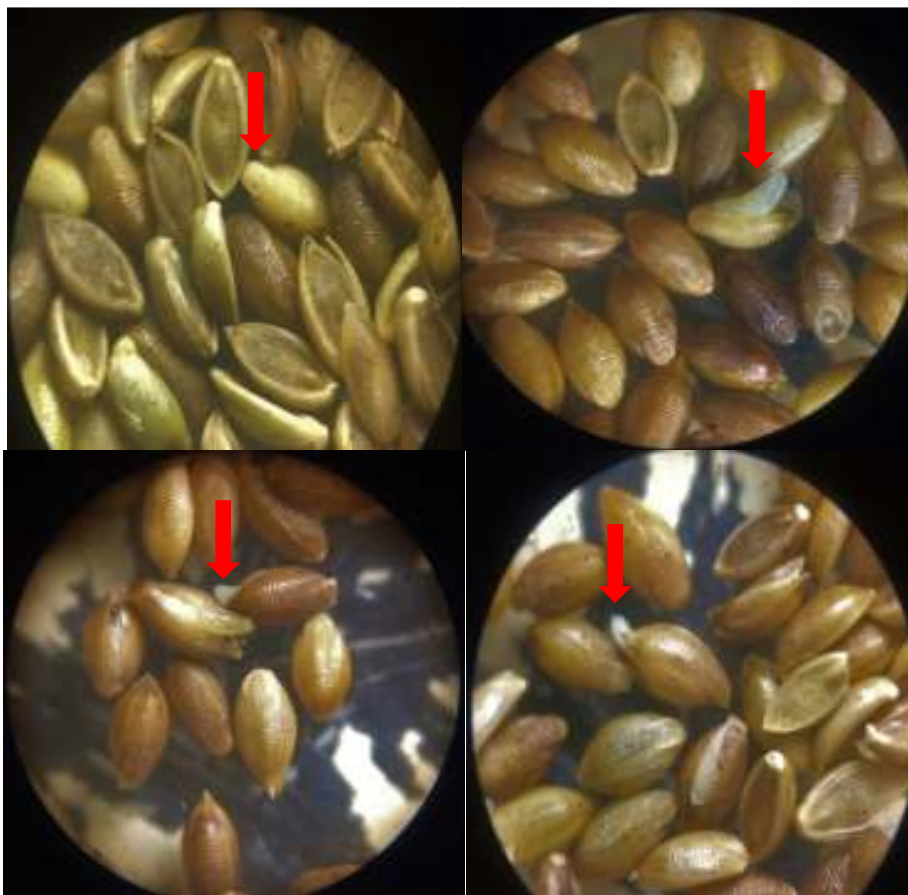


Figura 2.3: Vista de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' tomadas bajo lupa binocular con aumento de 40x donde se observa la protrusión de las primeras radículas (flechas rojas).

Los resultados del MLM ajustado mostraron un efecto significativo de la interacción entre el agente imbibitorio con el tiempo y año ($p < 0,05$). En cuanto al uso de solución de nitrato de potasio 0,2% y ácido giberélico 0,02 y 0,05% como agentes imbibitorios, como se evidencia en la Figura 2.4, no se observaron variaciones en el patrón de imbibición respecto al agua, comportándose en los cuatro casos como una curva trifásica estándar de germinación. Durante la Fases I y hasta finales de la Fase II no se obtuvieron diferencias significativas. Las condiciones ambientales a la precosecha de las semillas parecen no tener influencia en las primeras dos etapas de preparación. A partir de las 72 horas desde el inicio de la imbibición, momento que coincide con la aparición de las primeras radículas en el lote cosecha 2017 se aprecia alguna diferencia. En cambio, en el lote cosecha 2016, se observó la aparición de las primeras radículas a

las 84 horas desde el inicio de la imbibición, lo que constituye un comportamiento típico en semillas de mayor edad. Si bien en la última fase se aprecian pequeñas diferencias, el comportamiento de las curvas es similar para los cuatro casos, una primera fase de rápido incremento, seguida de una fase de mantenimiento para luego finalizar en un nuevo incremento de peso que acompaña la elongación del eje embrionario.

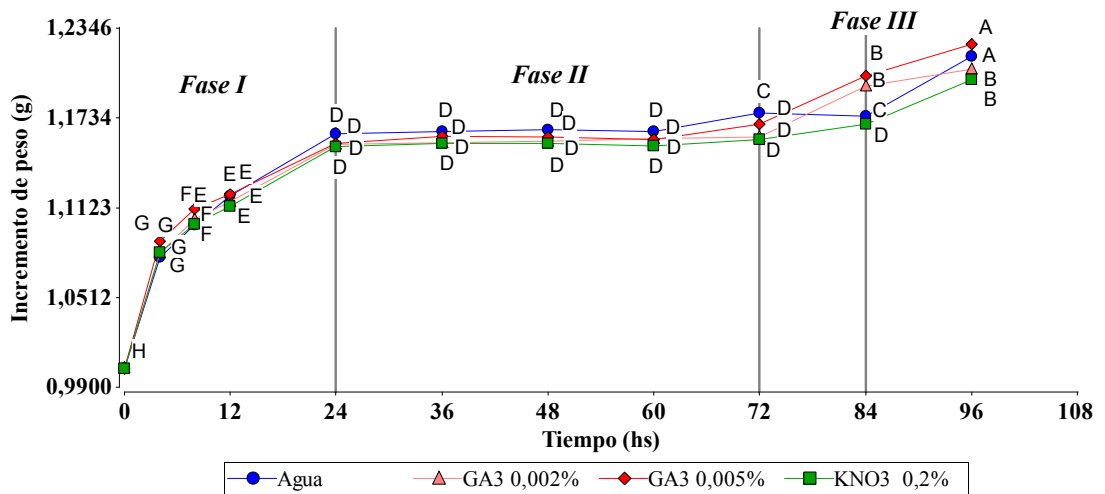


Figura 2.4: Incremento de peso en función del tiempo en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosechas 2016 y 2017 tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA₃ 0,05%) y duración de las fases de germinación. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

En la Tabla 2.1 se puede observar las horas necesarias para completar las Fases I y II en la curva de germinación de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosechas 2016 y 2017, usando cuatro agentes imbibitorios diferentes. La duración de la Fase I fue de 24 horas para todas las situaciones evaluadas, mientras que en la duración de la Fase II hubo variaciones. Para el caso de las semillas del lote cosecha 2016, con el uso de agua y GA₃ 0,05% como agentes imbibitorios necesitaron de 60 horas para completar la Fase II, en tanto que con el uso de KNO₃ y GA₃ 0,02% necesitaron de 72 horas para completar dicha fase. Tendencias similares se observaron en las semillas del lote

cosecha 2017, donde necesitaron menor cantidad de horas (48 horas) para completar la Fase II cuando se utilizó como agentes imbibitorios agua y GA₃ al 0,02 y 0,05%, por otra parte se necesitó de 60 horas cuando el agente usado fue el KNO₃.

Tabla 2.1: Tiempo necesario para alcanzar fase I y fase II de la curva trifásica de germinación en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' tratadas con diferentes agentes imbibitorios: agua, nitrato de potasio 0,2% (KNO₃ 0,2%), ácido giberélico 0,02% (GA₃ 0,02%) y ácido giberélico 0,05% (GA₃ 0,05%).

Año de cosecha	Agente imbibitorio	Fase I (horas)	Fase II (horas)
2016	Agua	24	60
	KNO ₃	24	72
	GA ₃ 0,02%	24	72
	GA ₃ 0,05%	24	60
2017	Agua	24	48
	KNO ₃	24	60
	GA ₃ 0,02%	24	48
	GA ₃ 0,05%	24	48

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en las curvas de absorción de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' permiten corroborar un patrón trifásico como la generalidad de todos los cultivos (Bewley y Black, 1994), aceptándose de esta manera la hipótesis planteada para el presente capítulo. Numerosos trabajos en los que se estudiaron las curvas de absorción de distintas especies mostraron este mismo comportamiento como Sanchez *et al.* (1999) en semillas de *Solanum lycopersicum* y *Cucumis sativus*, Evencio *et al.* (2011) en semillas de *Jatropha curcas* L., Szemruch (2011) en semillas de *Helianthus annuus*, Olivera (2011) en semillas de *Festuca arundinacea*, Gimenez (2012) en semillas de *Annona emarginata*, Araujo *et al.* (2014) en semillas de *Macroptilium martii*, Perissé (2015) en semillas de *Vicia dasycarpa*, entre otros.

Respecto a la incorporación de KNO_3 0,02% y de GA_3 0,02 y 0,05%, no se observaron modificaciones significativas en el patrón trifásico de la curva. Esto estaría indicando que las concentraciones utilizadas no son lo suficientemente altas como para producir un cambio importante de potencial respecto al agua. En efecto, esto es lo que se esperaba ya que la incorporación de estas sustancias fue con el objetivo de ver si en los ensayos posteriores tienen injerencia en la ruptura de dormición y no con la intención de provocar un osmocondicionamiento. En otra investigación, Szemruch (2011) trabajando con semillas de girasol incrustadas y sin incrustar, evaluó distintos tratamientos con agua, insecticida y fungicida, hizo un seguimiento de la cantidad de agua que absorbieron las semillas y construyó las curvas de germinación con sus respectivas fases. La autora no observó diferencias significativas en las curvas de las semillas incrustadas y sin incrustar ante los distintos tratamientos aplicados. Por otra parte, Olivera (2011) estudió la dinámica de absorción de agua en semillas incrustadas y sin incrustar de festuca alta y observó un patrón trifásico en ambos tratamientos. Si bien la velocidad de absorción de agua fue mayor en las semillas incrustadas, esta rápida absorción no se tradujo en una mejora de los índices de velocidad de germinación. A pesar de que la Fase II comenzó cuatro horas antes para las semillas incrustadas dicha fase terminó al mismo tiempo para incrustado y testigo, ambos mostraron la protrusión de radículas al mismo tiempo.

En cuanto a la duración de las fases se observó que para los dos lotes evaluados con los distintos agentes imbibitorios la duración de la Fase I fue siempre de 24 horas. Esto podría ser debido a que semillas secas, viables o no, embeben en agua. Varios factores gobiernan el movimiento del agua desde el sustrato a la semilla, pero principalmente importantes son las relaciones hídricas del potencial agua, éste es una expresión del estado energético del agua y la difusión neta del agua ocurre en un gradiente de energía de alto a bajo potencial (por ejemplo de agua pura a agua que contiene solutos). Inicialmente la diferencia de potencial entre la semilla seca y el sustrato o agua pura es muy grande. A medida que el contenido de humedad de la semilla aumenta con la imbibición los potenciales se van equilibrando y la tasa de transferencia disminuye con el tiempo. Este proceso ocurre en cualquier material vivo o muerto que contenga sitios de afinidad con el agua (Bewley y Black, 1994). La duración de las Fase II difirió entre lotes, verificándose el fin de la Fase II y el inicio de la Fase III con la observación de las primeras radículas. De esta manera se halló que el lote cosecha 2017 requirió menor cantidad de horas (48-60 horas) para completar la segunda fase que el cosecha 2016 (60-72 horas), resultado esperable por tratarse de semillas más jóvenes y por ende más vigorosas.

De modo similar, Caseiro (2003) evaluó la dinámica de absorción de agua de seis lotes de semillas híbridas de cebolla. Sus resultados mostraron que en cuatro de los seis lotes la emisión de la raíz primaria ocurrió en menores períodos de imbibición (24-30 horas) mientras que en los dos lotes restantes, de menor potencial fisiológico, fue necesario mayor tiempo de imbibición (48-60 horas), en coincidencia con nuestros resultados. Esta autora resalta que estas diferencias deben ser tenidas en cuenta ya que afectan directamente el proceso de acondicionamiento de semillas, debido a que cada lote debe recibir un tratamiento diferenciado.

Un punto importante a ser considerado en los tratamientos que involucran una hidratación y deshidratación de semillas es que, mientras las semillas embeben agua y avanzan hacia la Fase III del patrón trifásico se tornan menos resistentes a la desecación (Bewley y Black, 1994). En la Fase III de imbibición los daños provocados por el secado son considerados irreversibles para la mayoría de las especies. De esta forma se observa que el grado de humedad de las semillas y la cantidad de semillas con emisión

de raíz primaria, deben ser parámetros considerados en la elección de un método para el acondicionamiento fisiológico. Por este motivo, en el presente trabajo se decidió que en los tratamientos de priming a aplicar se considere el período necesario para llegar solo hasta mitad de Fase II, minimizando de este modo los riesgos de provocar daños irreversibles en las semillas.

En base a los resultados obtenidos en este capítulo surgen las siguientes:

CONCLUSIONES

La germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' demuestra un patrón de absorción de agua característico a una curva trifásica, en la que se distinguen las tres etapas del modelo teórico. La protrusión de la radícula se vio más demorada en semillas de mayor edad (lote 2016).

Con agentes imbibitorios agua; GA₃ 0,02%; GA₃ 0,05% y KNO₃ 0,2% se observa el patrón trifásico clásico de germinación en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha. La protrusión de radícula se vio más demorada con el uso de KNO₃ como agente imbibitorio independientemente del año de cosecha de la semilla. En tanto que, cuando el agente imbibitorio fue agua y/o GA₃ 0,05%, la protrusión de radícula se anticipó en ambos lotes.

El inicio de Fase II de la curva trifásica de germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' de ambos lotes estudiados y con todos los agentes imbibitorios aplicados fue a las 24 horas post aplicación. Para llegar a mitad de Fase II, el lote 2016 requirió 54 horas usando como agente de imbibición agua y GA₃ 0,05 %, mientras que se requirieron 60 horas usando GA₃ 0,02 % y KNO₃ 0,02%. El lote 2017, alcanzó mitad de Fase II a las 48 horas con agentes imbibitorios agua, GA₃ 0,02 % y GA₃ 0,05%; mientras que con KNO₃ se requirieron 54 horas para llegar a mitad de Fase II.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Angrish R., Kumar B. and Datta K. S. 2001. Effect of gibberellic acid and kinetin on nitrogen content and nitrate reductase activity in wheat under saline conditions. *Indian journal of plant physiology*, 6(2): 172-177.
- Aragão C. A., Dantas B. F., Alves E., Cataneo A. C., Cavariani, C. y Nakagawa, J. 2003. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes*, 25(1): 43-48.
- Araujo A. M. S., Torres S. B., Nogueira N. W., de Freitas R. M. O. y Carvalho S. M. C. 2014. Caracterização morfolométrica e germinação de sementes de *Macroptilium martii* Benth.(Fabaceae). *Revista Caatinga*, 27(3): 124-131.
- Batista T. B., Binotti F. F. S., Cardoso E. D., Costa E. and Nascimento D. M. 2016. *Appropriate hydration period and chemical agent improve priming in brachiaria seeds*. *Pesq. Agropec. Trop.* 46: 350-356.
- Benech-Arnold R. L. and Sánchez R. A. 2004. *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*. Ed. Harworth, 480 pp.
- Benincasa P., Pase R., Quinet M. and Lutts S. 2013. Effect of salinity and priming on seedling growth in rapeseed (*Brassica napus* Del. var. oleifera). *Acta Scientiarum Agronomy*. 35 (4):479-486.
- Bewley J. D. and Black M. 1994. *Seed: physiology of development and germination*. New York, London: Plenum Press.
- Bisht C., Badoni A., Vashishtha R. K. and Nautiyal M. C. 2009. Photoperiodic effect on seed germination in pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium* vis.) under the influence of some growth regulators. *Journal of American Science*, 5(4): 147-150.
- Bradford K. J. 1990. A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiology*, 94(2): 840-849.
- Bray C. M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. In: *Seed development and germination*. Ed. Kigel J. and Galili G. New York. 767-789 pp.
- Caseiro R. 2003. Métodos para acondicionamiento fisiológico de semillas de cebolla e influencia del secado y almacenamiento. Tesis Doctoral. Escuela superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidad de San Pablo. Estado de San Pablo, Brasil. 22-35 pp.
- Chiu K. Y., Chuang S. J. and Sung J. M. 2006. Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of *Echinacea purpurea* seeds that differ in size. *Scientia Horticulturae*, 108(2): 220-226.
- Del Longo O. 2008. Contenidos de humedad en las semillas y su relación con el deterioro. *Análisis de semillas*. Tomo 2 (8): 50-54.
- Demir I. and Mavi K. 2004. The effect of priming on seedling emergence of differentially matured watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds. *Scientia horticulturae*, 102(4): 467-473.
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. W. *InfoStat versión 2017*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Eisvand H. R., Tavakkol-Afshari R., Sharifzadeh F., Maddah Arefi H. and Hesamzadeh Hejazi S. M. 2010. Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). *Seed Science and Technology*, 38(2): 280-297.
- Evencio T., Junior D. D. S. B., Neves J. M. G., de Amorim A., Brandão H. M. M., da Costa, C. A. y Martins E. R. 2011. Curva de absorção de água em sementes de Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L.). *Revista Árvore*, 35(2): 193-197.
- García-Agustín P. y Primo-Millo E. 1993. Germinación de Semillas. En Azcón Bieto J. y Talón M. *Fisiología y Bioquímica general*. Ed. Mc Graw Hill, Interamericana de España. Madrid, España. 419-433 pp.
- Ghassemi-Golezani K. and Esmailpour B. 2008. The effect of salt priming on the performance of differentially matured cucumber (*Cucumis sativus*) seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36(2): 67-70.
- Gimenez J. I. 2012. Condicionamento osmótico e GA₃ na germinação de sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer). Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu, S.P, Brasil. 91 p.
- Henckel P. A. 1982. *Fisiología de la Resistencia de las plantas al calor y a la sequía*. Nauka, Moscú. 280 p.
- Heydecker W., Higgins J. and Gulliver R. L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, 246: 42-44.
- ISTA. International Rules for Seed Testing. 2019. Published by The International Seed Testing Association (ISTA). Zurichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Switzerland.
- Khan M. A., Gul B. and Weber D. J. 2002. Improving seed germination of *Salicornia rubra* (Chenopodiaceae) under saline conditions using germination-regulating chemicals. *Western North American Naturalist*, 62: 101-105.
- Koster K. L. and Leopold A. C. 1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology*, 88(3): 829-832.
- Mantilla A. J. 2013. Desarrollo y germinación de las semillas. En Azcón Bieto J. y Talón M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Ed. Mc Graw Hill, Interamericana de España. Madrid, España. 537-558 pp.
- Marcos Filho J. 2015. *Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas*. ABRATES, Londrina, PR, Brasil. 496-547 pp.
- Moradi A. and Younesi O. 2009. Effects of osmo-and hydro-priming on seed parameters of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 1696-1700.
- Nawaz A., Amjad M., Pervez M. A. and Afzal I. 2011. Effect of halopriming on germination and seedling vigor of tomato. *African Journal of Agricultural Research*, 6(15): 3551-3559.
- Olivera M. E. 2011. Efecto del incrustado sobre atributos fisiológicos de semillas de festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC), Córdoba, Argentina. 129 p.
- Orta R., Sanchez J.A., Muñoz B. y Calvo E. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana*, 121: 1-8.
- Pereira M. D. 2007. Condicionamento osmótico de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.). Tesis de Magister. Universidad Federal de Viçosa. Viçosa, Mina Gerais, Brasil. 71 pp.

- Perissé P. 2015. Respuesta morfo-fisiológica de la germinación de *Vicia dasycarpa* Ten. Cv Tulse F.C.A. en condiciones de estrés hídrico y salino. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC), Córdoba, Argentina. 102 p.
- Pill W. G. 1995. Low water potential and presowing germination treatments to improve seed quality. *Seed quality*: 319-359.
- Radi A. F., Shaddad M., El-Enany A. E. and Omran F. M. 2001. Interactive effects of plant hormones (GA₃ or ABA) and salinity on growth and some metabolites of wheat seedling. In: Plant nutrition, food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. 14th international plant nutrition colloquium, Hannover, Germany, 436-437 pp.
- Sánchez J. A., Calvo E., Muñoz B. y Orta R. 1999. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. *Cultivos tropicales*, 20(4): 51-56.
- Sharma M. L. 1973. Simulation of drought and its effect on germination of five pasture species. *Agron. J.* 65: 982-987.
- Szemruch C. 2011. Efecto de la Tecnología de incrustado sobre la calidad fisiológica de semillas de girasol (*Helianthus annuus* L.). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC), Córdoba, Argentina. 109 p.
- Taylor A. G., Allen P. S., Bennett M. A., Bradford K. J., Burris J. S. and Misra M. K. 1998. Seed enhancements. *Seed Science Research*, 8:245-256.
- West T. B., Welch K. B. and Galecki A. T. 2015. Linear mixed models: a practical guide using statistical software. 2 ed. Chapman & Hall/CRC.

CAPÍTULO III

Efectos del *priming* sobre la viabilidad y vigor de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha

INTRODUCCIÓN

Como se vio en los capítulos previos, una alternativa para mejorar el comportamiento germinativo de muchas especies de interés agrícola son los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas, que han probado ser eficientes para revigorizar semillas envejecidas, acelerar e incrementar la germinación y los rendimientos de las plantas, tanto bajo condiciones ecológicas óptimas como adversas (Sánchez, Orta y Muñoz, 2001). Dichas técnicas son conocidas como acondicionamiento de semillas o *priming*, las cuales implican la absorción de agua por la semilla, en condiciones controladas, incentivando el metabolismo de las semillas durante las fases I y II de imbibición (Bewley y Black, 1994) pero impidiendo que ocurra la protrusión de la raíz primaria.

Las metodologías empleadas en el acondicionamiento fisiológico pueden diferir entre sí. Las variaciones consisten en las formas de suministro del agua, en la opción de secado posterior a la hidratación, en el número de ciclos de hidratación y deshidratación, en la duración del período de hidratación, en el nivel de hidratación y en el estado de germinación alcanzado durante el acondicionamiento (Guimarães, 2000).

Cuando las condiciones de los tratamientos son favorables, el proceso de movilización de reservas, activación y síntesis de novo de algunas enzimas, síntesis de ARN y ADN son iniciadas durante el acondicionamiento. Cuando el obstáculo a la absorción de agua es removido, ocurre un rápido crecimiento del embrión (Khan, 1992). Cabe destacar que cuando las semillas se sumergen en solución acuosa, las condiciones

de las semillas y del medio, como potencial hídrico, lixiviación de reservas solubles, suministro de O₂ y la acumulación de CO₂ se modifican. Estas modificaciones están influenciadas por el tiempo, la temperatura, el volumen de agua, el tamaño y la densidad de las semillas (Lopes *et al.*, 1996).

En la práctica del acondicionamiento se aplican diferentes sustancias y métodos para que las semillas logren el mismo nivel de humedad y estado fisiológico. Los mejores resultados experimentales, generalmente, se alcanzan con soluciones poliméricas, como el polietilenglicol (PEG) (Heydecker, 1974; Bradford, 1986), pero en condiciones agronómicas, resultan más simples y baratos los métodos de imbibición parcial en agua; que han demostrado ser eficientes, no solo para incrementar, acelerar y uniformar la germinación (Gray *et al.*, 1990; Jett *et al.*, 1996; Sánchez *et al.*, 1997; Orta *et al.*, 1998), sino también para sincronizar e incrementar el establecimiento y los rendimientos de los cultivos (Henckel, 1982; Khan *et al.*, 1983; Harris *et al.*, 1999; Sánchez *et al.*, 1999b).

La aplicación efectiva del modelo de imbibición parcial, que proponen Orta *et al.* (1998), consiste en lograr que todas las semillas tratadas alcancen el mismo nivel de humedad deseado, para que el efecto del tratamiento sea homogéneo. El riesgo de heterogeneidad en los niveles de humedad logrados luego de la imbibición se minimiza con la utilización de soluciones osmóticas, por cuanto la barrera a la absorción de agua se establece sobre la base del equilibrio de potenciales hídricos en el sistema solución semilla y no en el tiempo de inmersión en agua. Para superar esta dificultad que podría presentarse en la imbibición con agua y/o soluciones no osmóticas, Sanchez *et al.* (1999) proponen someter a las semillas a dos ciclos de hidratación parcial-desección.

Adicionalmente, otros autores consideran que la utilización de sales, resulta más ventajosa en relación al PEG, porque no reducen la disponibilidad de oxígeno, además de resaltar los beneficios del nitrato de potasio (KNO₃) en la germinación de algunas especies, especialmente cuando hay dormición (Marcos Filho, 2015). No obstante, existen evidencias de que las sales también pueden provocar efectos negativos (Haigh y Barlow, 1987). Si bien la promoción de la germinación debida a las sales se atribuye a sus propiedades osmóticas y no a sus propiedades químicas, Bradford (1995) hace

referencia a que éstas pueden llegar a afectar las estructuras celulares de las semillas y por ende la viabilidad de las mismas. Asimismo Khan (1992) afirma que el uso de compuestos químicos biológicamente activos, tales como los reguladores de crecimiento, pueden reducir el impacto de factores adversos provocados por el acondicionamiento fisiológico.

La dormición característica de pasturas de verano (Petruzzi *et al.*, 2003), constituye una estrategia de algunas plantas para prevenir la germinación durante períodos en los que las condiciones del ambiente no son favorables, incluyendo la etapa de desarrollo de plántulas. Marcos Filho (2015) cita a las gramíneas forrajeras como ejemplo para el caso de semillas que se desprenden de la planta madre con su estructura morfológica completa, pero con un embrión fisiológicamente inmaduro que presenta dormición. Esta causa de dormición ha sido atribuida a la desuniformidad de maduración de semillas de la misma planta, ocasionando la cosecha de una parte de ellas con maduración incompleta, presentando, por ejemplo, desequilibrio entre sustancias promotoras e inhibitoras de la germinación como lo son el ABA y las giberelinas.

Uno de los tratamientos sugeridos por las Reglas ISTA para la ruptura de dormición de muchas especies es el uso de ácido giberélico (GA_3) al 0,02 y 0,05% en el sustrato del ensayo de germinación. Según Marcos Filho (2015) las giberelinas actúan durante la germinación, estimulando la síntesis y la actividad de las enzimas; contribuyen a superar las exigencias de luz y/o bajas temperaturas, favorecen la expansión celular, el crecimiento de la plántula y la ampliación de la faja de temperaturas óptimas para la germinación. Además de esto, el uso de giberelinas en gramíneas estimula la biosíntesis de la enzima hidrolítica α -amilasa, la cual rompe el polisacárido de almacenamiento (almidón) necesario para el metabolismo de la germinación. En concreto, Dantas *et al.* (2001) y Batista *et al.* (2016) vieron que semillas del género *Urochloa* acondicionadas con ácido giberélico tuvieron una mayor velocidad de germinación con respecto al control.

El ensayo de poder germinativo, indica el potencial máximo del lote para la implantación del cultivo en condiciones óptimas de siembra, y es el dato generalmente

más aceptado del que se dispone para conocer la capacidad germinativa de las semillas. Sin embargo, lotes que muestran igual poder germinativo al final de un ensayo de germinación, a menudo evidencian una heterogeneidad en el ritmo de aparición de plántulas dentro del período prescrito de germinación. En tal sentido, el primer recuento de germinación informa sobre las semillas que más rápidamente han reanudado las actividades metabólicas tras la etapa de imbibición, y este dato puede ser interpretado como una expresión de vigor (Peretti, 1994).

Ahora bien, la velocidad de germinación es un atributo más abarcativo, pues se calcula en función del número de semillas que germinan a lo largo de un período determinado. Varios índices se han propuesto para el modelo de germinación en el tiempo, siendo uno de los más utilizados es el de Maguire (1962). En éste método, la velocidad es calculada dividiendo el número de plántulas normales nuevas registradas en cada recuento por el número de días de ensayo correspondiente a ese recuento.

Asimismo, otro de los análisis más utilizados es la prueba topográfica del tetrazolio, análisis bioquímico que permite determinar en forma rápida la viabilidad de las semillas y otorga una referencia de su poder germinativo. Es particularmente útil en el caso de semillas dormidas o lentas en germinar (Peretti, 1994) problemática particular de la especie en estudio. En el análisis topográfico con tetrazolio se usa una solución incolora de cloruro o bromuro de 2,3,5-trifeniltetrazolio como un indicador para revelar los procesos de reducción que tienen lugar dentro de las células vivas. El indicador es embebido por la semilla, una vez dentro de los tejidos de la semilla interactúa con los procesos de reducción de las células vivas y acepta hidrógeno de las deshidrogenasas. Por hidrogenación del cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio en las células vivas se produce el trifenil formazán que es una sustancia de color rojo, estable y no difusible. Esto hace posible distinguir a las partes vivas de las semillas por su color rojo de las partes muertas que quedan incoloras (ISTA, 2019).

En base al análisis precedente se plantea la siguiente:

HIPÓTESIS

- ✓ La aplicación de ciertos tratamientos de *priming* sobre semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' mejora la rapidez y uniformidad de emergencia de plántulas.

Por lo expuesto se plantean los siguientes:

OBJETIVOS

- ✓ Observar el efecto de los tratamientos de *priming* sobre la viabilidad y el vigor de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.
- ✓ Determinar el efecto del uso de KNO_3 o GA_3 en tratamientos de *priming* sobre la ruptura de dormición de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' correspondientes a dos lotes, uno cosecha 2016 y otro cosecha 2017, con 10,9% y 11,2% de humedad respectivamente, ambos pertenecientes a la producción propia de la EEA INTA Mercedes, Corrientes, Argentina. El contenido de humedad de las semillas fue determinado por el método de estufa descrito para el género *Setaria sp.* en las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas ISTA. Al momento de la realización de los ensayos (enero de 2018), las semillas contaban con 24 meses de almacenamiento (lote cosecha 2016) y 12 meses de almacenamiento (lote cosecha 2017) en un depósito con condiciones controladas (18-20°C y 60-70% de humedad relativa).

Como ya se mencionó en el Capítulo II cabe aclarar que en el presente estudio se utilizará el término semilla en un sentido agronómico, según la definición de semilla pura de las Reglas ISTA (2019), la cual establece para el género *Setaria sp.* a las espiguillas, con o sin pedicelo, con glumas (lemma y palea) encerrando un cariopse. Puede tener adherida una lemma estéril. También se consideran semilla pura cariopses desnudos o fragmentos de ellos con un tamaño mayor a la mitad del tamaño original.

Metodología

Con los datos obtenidos en el Capítulo II, donde se describieron las curvas trifásicas de germinación de cada lote, y teniendo en cuenta que una de las objeciones que tiene el método de imbibición parcial propuesto por Orta *et al.* (1998) es que no todas las semillas alcanzan el mismo nivel de humedad, se decidió sumar la técnica propuesta por Sanchez *et al.* (1999) la cual consiste en someter a las semillas a dos

ciclos de hidratación. De esta manera quedaron conformados 16 tratamientos, en un arreglo factorial según el siguiente esquema.

Conformación de los tratamientos:

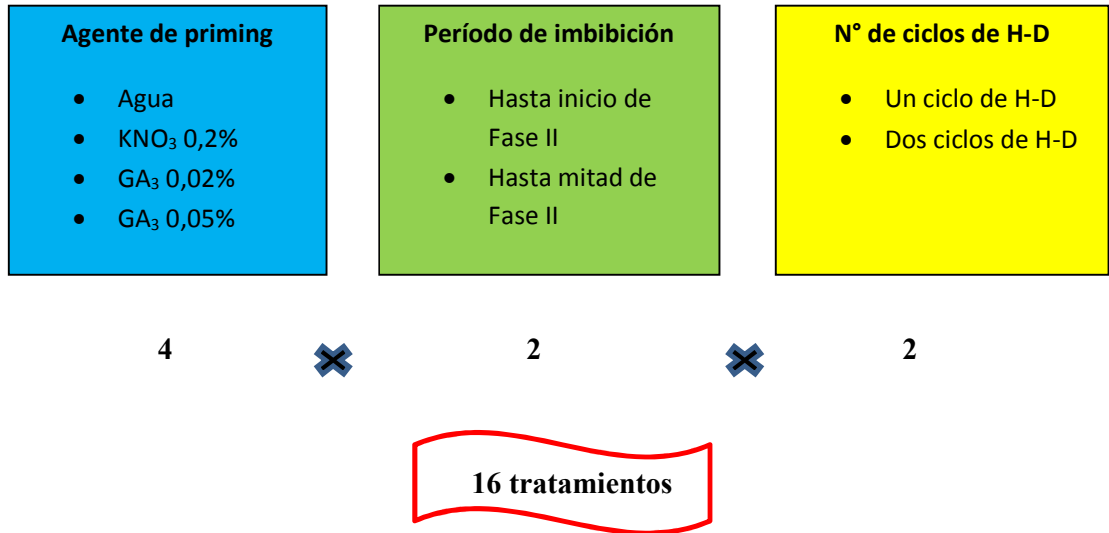


Figura 3.1: Esquema del arreglo factorial según el cual se conforman los 16 tratamientos de *priming*.

Tabla 3.1: Detalle de los agentes de *priming*, tiempo de inmersión, horas de imbibición y número de ciclos de hidratación utilizados en los tratamientos de *priming* aplicados en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017.

Trat	Agente de <i>priming</i>	Tiempo de inmersión	Horas de imbibición		Ciclos de Hidratación
			Lote 2016	Lote 2017	
T1	Agua	Hasta inicio de F II	24	24	1
T2	Agua	Hasta mitad de F II	54	48	1
T3	KNO ₃ 0,2%	Hasta inicio de F II	24	24	1
T4	KNO ₃ 0,2%	Hasta mitad de F II	60	54	1
T5	GA ₃ 0,02%	Hasta inicio de F II	24	24	1
T6	GA ₃ 0,02%	Hasta mitad de F II	60	48	1
T7	GA ₃ 0,05%	Hasta inicio de F II	24	24	1
T8	GA ₃ 0,05%	Hasta mitad de F II	54	48	1
T9	Agua	Hasta inicio de F II	24	24	2
T10	Agua	Hasta mitad de F II	48	48	2
T11	KNO ₃ 0,2%	Hasta inicio de F II	24	24	2
T12	KNO ₃ 0,2%	Hasta mitad de F II	48	48	2
T13	GA ₃ 0,02%	Hasta inicio de F II	24	24	2
T14	GA ₃ 0,02%	Hasta mitad de F II	48	48	2
T15	GA ₃ 0,05%	Hasta inicio de F II	24	24	2
T16	GA ₃ 0,05%	Hasta mitad de F II	48	48	2

Aplicación de los tratamientos de *priming*

Se puso a embeber 20 g de semillas de cada lote por cada tratamiento, utilizando 50 ml del agente imbibitorio correspondiente, en contenedores plásticos con cierre hermético de 11 cm de diámetro y 5 cm de altura. Para asegurar la inmersión de todas las semillas en el líquido se las sumergió envueltas en una toalla de papel y para evitar que floten se les colocó encima una cajita de Petri con arena, sin que la arena tome contacto con el líquido (Figura 3.2).

Todos los tratamientos se realizaron mediante la inmersión completa de las semillas en los distintos agentes imbibitorios, por tanto, esta fase experimental se llevó a cabo en condiciones de anoxia parcial, con el objetivo de simular lo que ocurriría en la futura implementación de la técnica en condiciones normales de producción a campo.

Los contenedores plásticos fueron distribuidos al azar en una cámara a 25°C constantes y sin aireación (Batista *et al.*, 2016), con una alternancia de luz/oscuridad de 8/16 horas. La aplicación de los tratamientos se inició con los que consistían en dos ciclos de hidratación (T9 a T16) y siempre empezando por los que requerían mayor cantidad de horas, de manera tal que finalizaran todos al mismo tiempo.

Inmediatamente después de finalizado el acondicionamiento las semillas se secaron superficialmente con toallas de papel y se las puso en bandejas, distribuidas en una capa simple, en condiciones de temperatura ambiente. Luego de 24 horas se las pesó y se corroboró que habían retornado a su peso inicial (20 g).



Figura 3.2: Imágenes que muestran en detalle la aplicación de los tratamientos de *priming*. A: semillas envueltas en toalla de papel. B: semillas sumergidas. C: cajitas de Petri con arena para hacer peso y evitar que las semillas floten. D: distribución al azar de los tratamientos en la cámara de germinación.

Variables evaluadas

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la calidad fisiológica de las semillas y comparándolos con un testigo sin tratar (T0) se llevó a cabo un ensayo de germinación y un ensayo de viabilidad por tetrazolio, utilizando 4 repeticiones de 50 semillas por tratamiento en cada ensayo. Las condiciones para germinación fueron las dispuestas por las Reglas ISTA (2019) para la especie *Setaria sphacelata*, sembrando las semillas en contenedores plásticos con tapa para evitar pérdidas de humedad. Se utilizó papel como sustrato de germinación, el cual se humedeció con agua destilada hasta saturación, con la cantidad obtenida en el cálculo de retención de dicho papel. Los contenedores plásticos tapados se distribuyeron al azar en los estantes de una cámara de germinación con temperatura y luz controlada, con una alternancia de 20-35°C y 8/16 horas de luz/oscuridad.

Para conocer la viabilidad de las semillas post tratamiento se realizó el test de tetrazolio, previo al humedecimiento se quitaron las glumas lemma y palea. Luego de 5 horas de humedecimiento del cariopse desnudo se procedió a realizar un corte transversal sobre el embrión. Para la tinción las semillas fueron puestas en tubos de ensayo con una solución acuosa de cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio al 0,5% con pH 7 y se llevaron a estufa a 30°C, en oscuridad, por 18 horas.

Se evaluó la viabilidad y vigor de las semillas mediante las siguientes variables:

1. Porcentaje de viabilidad (PV): por método de tetrazolio según Reglas ISTA (2019)

$$PV: N^{\circ} SV * 100 / N^{\circ} TS$$

Donde:

PV: porcentaje de viabilidad

N° SV: cantidad de semillas viables

N° TS: cantidad total de semillas evaluadas

2. **Porcentaje de Germinación (PG):** el conteo final se realizó a los 21 días, discriminándose entre plántulas normales, plántulas anormales, semillas muertas y se calculó las semillas frescas como la diferencia entre las semillas viables, identificadas por test de tetrazolio, y las plántulas normales. El porcentaje de germinación quedó determinado por la siguiente fórmula:

$$PG = N^{\circ} PN 21 * 100 / N^{\circ} TS$$

Donde:

PG: porcentaje de germinación

N° PN21: cantidad de plántulas normales emergidas el día 21 desde la siembra

N° TS: cantidad total de semillas sembradas

3. **Primer recuento de germinación o Energía germinativa o (EG):** para el cálculo de esta variable se contabilizó el número de plántulas normales a los 7 días desde la siembra, según lo establece las Reglas ISTA para esta especie. Respondiendo a la siguiente fórmula:

$$EG = N^{\circ} PN7 * 100 / N^{\circ} TS$$

Donde:

EG: energía germinativa

N° PN7: cantidad de plántulas normales emergidas al día 7 desde la siembra

N° TS: cantidad total de semillas sembradas

4. **Índice de velocidad de emergencia (IVE):** se calculó la velocidad de emergencia de plántulas normales según el IVGN de Maguire (1962) hasta el día 7, computando el intervalo de tiempo para la emergencia de plántulas en días. Según la siguiente fórmula:

$$IVE = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$$

Donde:

IVE: índice de velocidad de emergencia de plántulas normales expresado en PN. d⁻¹

G₁, G₂, G_n: cantidad de plántulas normales computadas en el primer, segundo y último conteo

N₁, N₂, N_n: cantidad de días desde el inicio del ensayo

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se realizó con un arreglo factorial de tratamientos en un diseño completamente al azar. Los datos fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANAVA) incluyendo los efectos del tratamiento, año y su interacción. Para la comparación de medias se utilizó la prueba DGC con un nivel de significación de $\alpha=0,05$. Todos los análisis se realizaron usando el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los errores, mediante la prueba de Shapiro Wilks y gráficos de dispersión de residuos vs predichos.

RESULTADOS

1. Porcentaje de viabilidad (PV)

El test de tetrazolio (Figura 3.4) arrojó como resultado diferencias significativas en el PV entre tratamientos y entre años de cosecha. El Lote 2017 tuvo la mayor viabilidad con un promedio de 53% contra un 49% del Lote 2016. Los mejores resultados se obtuvieron con los T1, T7 y T13 ya que no presentaron diferencias con el T0 promedio de ambos lotes (62%), lo que nos indica que no afectaron la viabilidad de las semillas tratadas. A continuación se ubicaron los T2, T3, T5, T6, T8, T9, T10, T14, T15, y T16 con una disminución promedio del 10% del PV con respecto al T0. Finalmente se ubicaron los tratamientos que implicaban imbibición con KNO_3 los cuales afectaron significativamente la viabilidad de las semillas tratadas, el T11 presentó un 43% de PV mientras que los T12 y T4 arrojaron 3 y 0 % respectivamente. Este alto porcentaje de semillas muertas en dichos tratamientos se ve reflejado en los resultados de las variables presentadas a continuación.

Al analizar las interacciones año \times tratamiento (Figura 3.3), en el Lote 2017 se observó diferencia significativa entre el testigo y los tratamientos, el máximo PV lo presentó el T0 con un promedio de 75%, le siguieron los T1, T2, T5, T7 y T13 con un promedio de 66%, a continuación los T3, T6, T8, T9, T10, T14, T15 y T16 con un promedio de 56% y finalmente los T11, T12 y T4 con 39, 5 y 0% respectivamente. En el caso del Lote 2016, solo los T4 y T12 afectaron significativamente el PV de las semillas presentando un 1 % de semillas vivas. Los T1 y T7 resultaron superiores al testigo y el resto de los tratamientos (T2, T3, T5, T6, T8, T9, T10, T11, T13, T14, T15 y T16) no se diferenciaron significativamente del T0, el cual presentó un promedio de 50% de semillas viables.

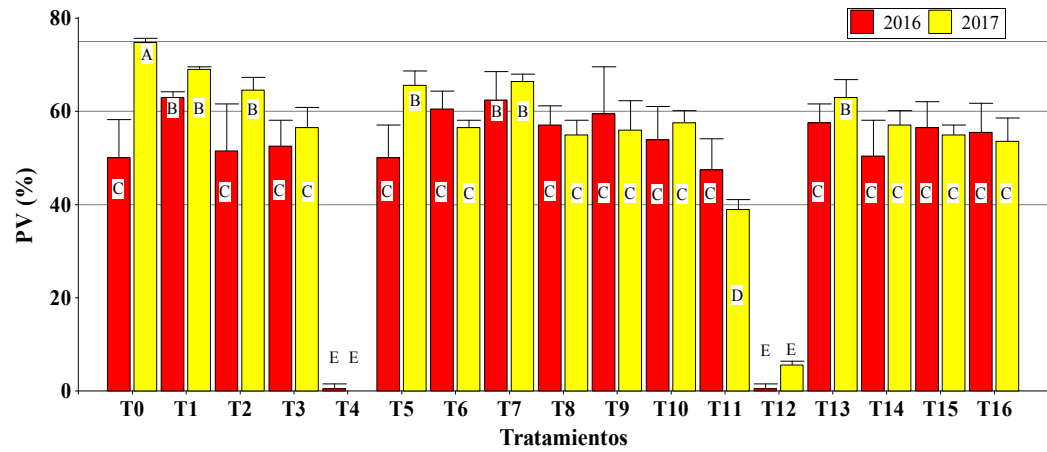


Figura 3.3: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 (barras rojas) y 2017 (barras amarillas) sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

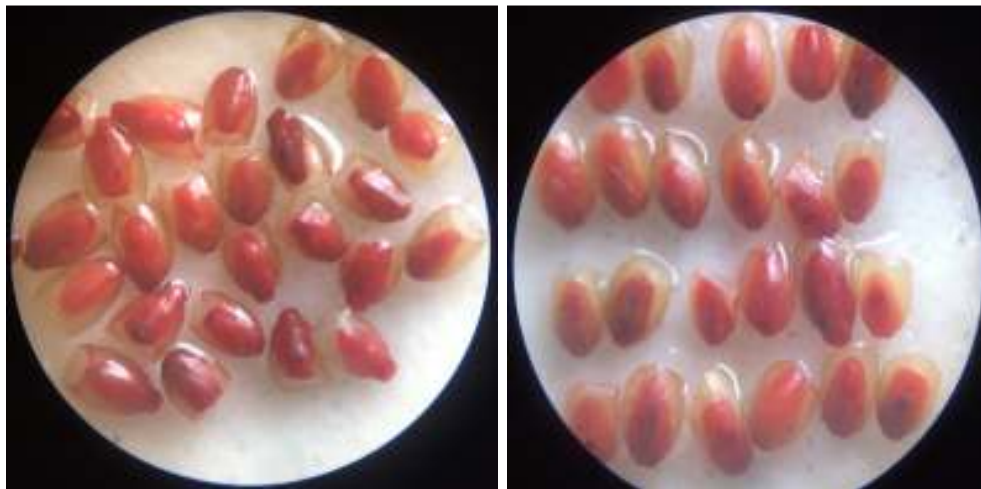


Figura 3.4: Imágenes bajo lupa de 40x de aumento de semillas de *Setaria phacelata* 'Narok' luego de la tinción en el ensayo de viabilidad por Test de tetrazolio.

2. Porcentaje de germinación

En cuanto al PG se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, no así entre años de cosecha. Todos los tratamientos de *priming* con agua o GA₃ como agente imbibitorio (T1, T2, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T13, T14, T15) resultaron superiores al testigo (T0) pero sin diferencia significativa entre ellos. Los tratamientos con KNO₃ que implicaban imbibición hasta inicio de Fase II (T3 y T11) obtuvieron resultados similares al testigo y los que comprendían una imbibición hasta mitad de Fase II (T4 y T12) resultaron muy inferiores tanto del testigo como del resto de los tratamientos (Figura 3.5).

Al analizar el porcentaje de plántulas anormales (PA) al final del ensayo de germinación, la Figura 3.6 refleja que no se halló diferencia significativa entre los tratamientos y al observar las interacciones de éstos con el año de cosecha tampoco hubo diferencias, la única interacción que resultó superior y estadísticamente diferente al resto de los tratamientos fue el testigo (T0) del lote cosecha 2016 con 9% de plántulas anormales.

Con respecto al porcentaje de semillas frescas (SF) transcurrido el tiempo prescrito para la germinación el mayor valor, con diferencia significativa, se observó en el testigo con 35%. En contraposición a esto los valores más bajos fueron los de los tratamientos con KNO₃ hasta mitad de Fase II (T4 y T12), pero esto fue debido a que casi la totalidad de las semillas se hallaron muertas. En el resto de los tratamientos (T1, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T13, T14, T15 y T16) disminuyó el número de semillas frescas con respecto al testigo pero sin diferencias significativas entre ellos (Figura 3.6).

En relación al porcentaje de semillas muertas (SM) a los 21 días del ensayo, en concordancia con los resultados anteriores se observó que los tratamientos que presentaron mayor porcentaje de semillas muertas fueron los que tenían KNO₃ como agente imbibitorio. Los mejores tratamientos resultaron los T1 y T7, quienes mantuvieron el porcentaje de SM sin diferencias significativas respecto al testigo. El

resto de los tratamientos presentaron un porcentaje levemente mayor de SM que el testigo pero sin diferencias significativas entre ellos (Figura 3.6).

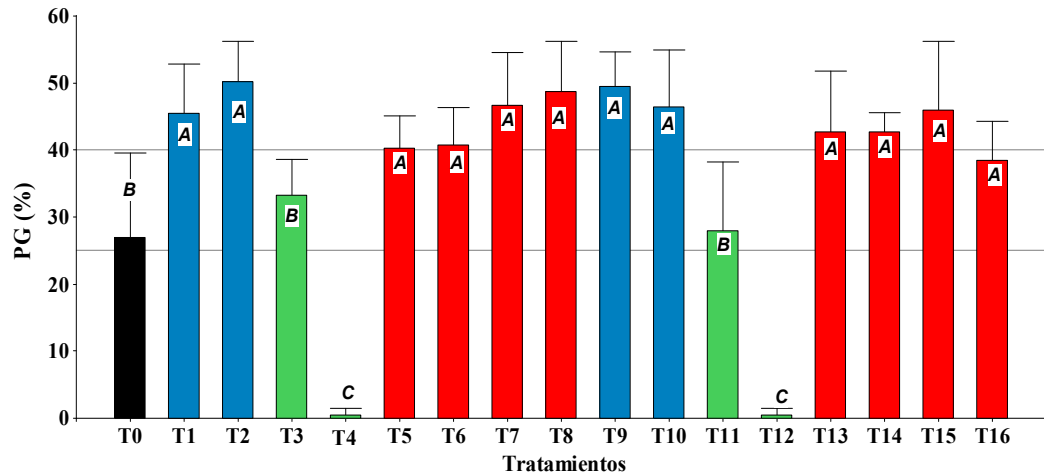


Figura 3.5: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Promedio de cosecha 2016 y 2017. Barra negra: testigo, barras celestes: tratamientos con agua, barras verdes: tratamientos con KNO_3 y barra rojas: tratamientos con GA_3 . Las columnas representan la media de los tratamientos ($n=8$), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

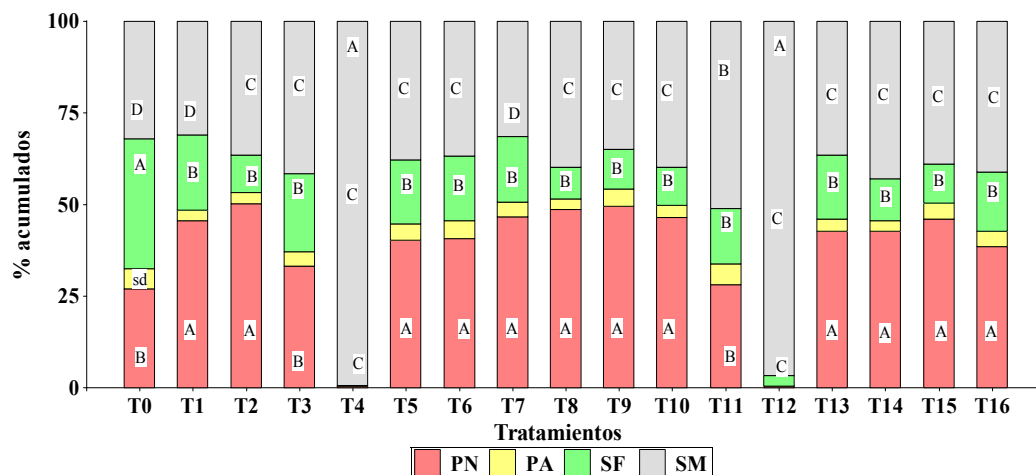


Figura 3.6: Porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas frescas (SF) y semillas muertas (SM) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Promedio de cosecha 2016 y 2017. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

3. Primer recuento de germinación o Energía germinativa (EG)

La Figura 3.7 muestra que la EG tuvo un comportamiento muy similar al PG. Los tratamientos que implicaban el uso de KNO_3 resultaron inferiores al testigo, sin diferencia significativa para el caso de los T3 y T11 y con diferencia significativa los T4 y T12. El resto de los tratamientos con agua sola y con GA_3 (T1, T2, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T13, T14, T15 y T16) fueron significativamente superiores al testigo pero sin diferencias entre ellos. También se observaron diferencias significativas entre los distintos años de cosecha, resultando superior el porcentaje de EG en las semillas provenientes del lote 2017 con un valor promedio de 29% de plántulas normales a los 7 días post siembra contra un promedio de 24% para el lote 2016. Hubo interacción significativa ($p < 0,05$) entre tratamiento y año de cosecha. Para el caso del lote 2016 los tratamientos que se diferenciaron estadísticamente del resto fueron los T7 y T8, los cuales consistían en un ciclo de hidratación con GA_3 al 0,05% hasta inicio y mitad de Fase II respectivamente. Respecto al lote 2017 se repiten como los mejores tratamientos

los T7 y T8 junto a T13 y T15 y a los cuatro tratamientos que implicaban imbibición en agua (T1, T2, T9 y T10) sin diferencia significativa entre ellos.

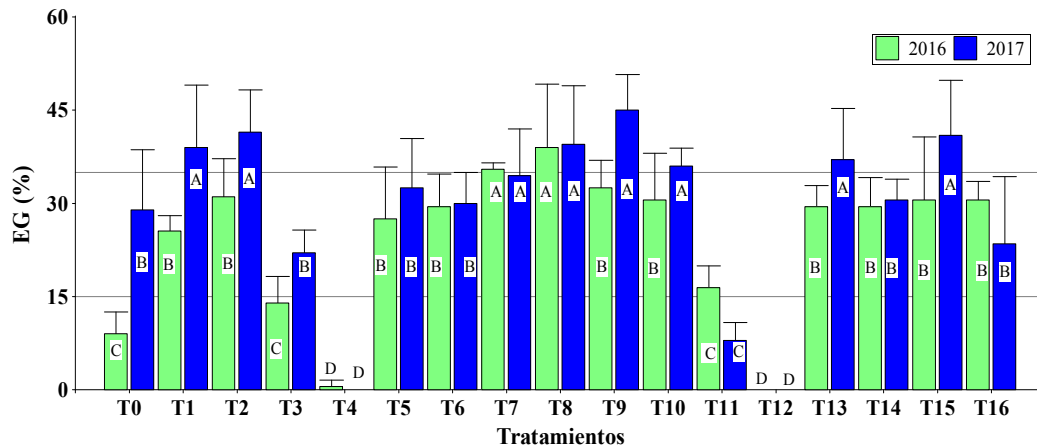


Figura 3.7: Porcentaje de energía germinativa o primer recuento de germinación (EG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

4. Índice de velocidad de emergencia (IVE)

En cuanto a la velocidad de emergencia de plántulas normales se halló diferencia significativa entre tratamientos y entre años de cosecha. Como se pudo observar ya en otras variables los mejores tratamientos resultaron los que implicaban imbibición en agua y solución de GA₃ (T1, T2, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T13, 14, T15 y T16), pero sin diferencia entre ellos. Los tratamientos que implicaban el uso de KNO₃ fueron iguales (T3 y T11) o inferiores (T4 y T12) al T0. Al analizar esta variable por año de cosecha de las semillas el Lote 2017 resultó superior con un promedio de 3,01 PN. d⁻¹ contra uno de 2,34 PN. d⁻¹ en el Lote 2016.

Ahora bien, cuando observamos el detalle de la interacción tratamiento × año, para el Lote 2016 el mejor tratamiento resultó el T8 con un promedio de 3,89 PN. d⁻¹, a

continuación se ubicaron el resto de los tratamientos con agua y solución de GA₃, superando al T0 pero sin diferencia entre ellos. Para el caso del Lote 2017 los mejores tratamientos fueron todos los que implicaban imbibición en agua (T1, T2, T9 y T10) junto a los T7, T8, T13 y T15, sin diferencia entre ellos. A continuación se ubicaron los T5, T6, T14 y T16 sin diferencias significativas con el T0 (Figura 3.8).

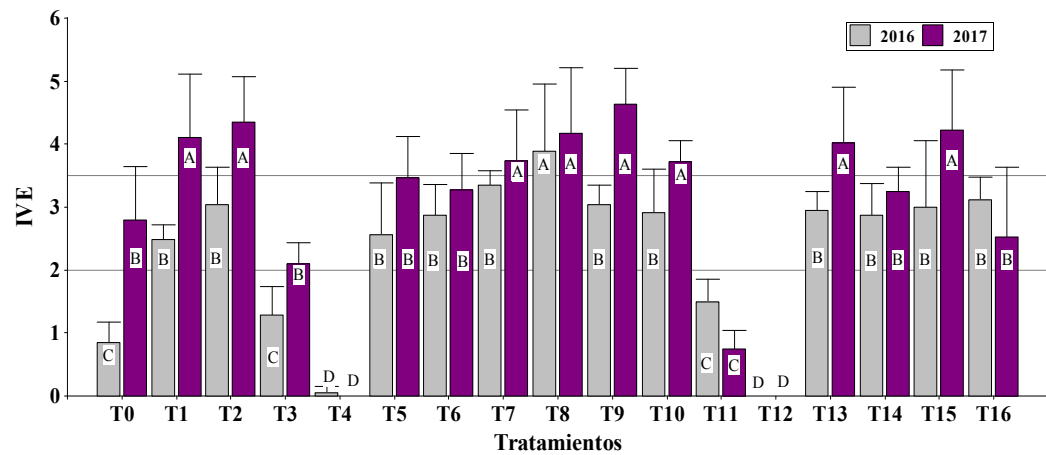


Figura 3.8: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Las columnas representan la media de cada tratamiento (n=4), y las barras verticales el error estándar. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

DISCUSIÓN

Los resultados de porcentaje de viabilidad de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' luego de aplicados los tratamientos de *priming*, medidos a través del test de tetrazolio, mostraron diferentes comportamientos en función a su edad fisiológica. Mientras que el lote cosecha 2016 mantuvo su viabilidad sin diferencias significativas respecto al testigo, la viabilidad del lote cosecha 2017 se vio afectada por la aplicación de los distintos tratamientos, disminuyendo en todos los casos de forma significativa en relación al testigo. En la literatura hay información contradictoria en cuanto a los efectos de la calidad inicial de las semillas sobre los resultados del *priming*. Brocklehurst y Dearman (1983) observaron que el acondicionamiento puede ser más favorable sobre el desempeño de semillas de cebolla de bajo potencial fisiológico, cuando es comparado con semillas más vigorosas. Por otro lado, Heydecker y Coolbear (1977) verificaron que no hubo respuesta al acondicionamiento fisiológico en semillas de cebolla con menos de 60% de germinación. Mc Donald (1999) también destaca que el *priming* favorece el desempeño de las semillas sobre condiciones adversas en el campo, principalmente en lotes con bajo potencial fisiológico, sin embargo, no define cuantitativamente ese potencial.

Si bien la viabilidad post tratamientos del lote 2017 disminuyó, al evaluar el poder germinativo como otro indicador de la viabilidad, se observó que todos los tratamientos que implicaban el uso de agua o GA₃ resultaron superiores al testigo sin diferencias significativas entre tratamientos ni entre lotes, lo que corrobora que el efecto de estos tratamientos uniformizó el estado fisiológico de las semillas, siendo aún más beneficioso el resultado para el lote cosecha 2016 que partió de un porcentaje de viabilidad inferior al 2017 (50% vs 75%).

Al evaluar el vigor a través del primer recuento de germinación y del índice de velocidad de emergencia se observaron resultados similares a lo ocurrido con el poder germinativo en cuanto a la superioridad de los tratamientos que implicaban el uso de agua o GA₃, con la diferencia que en estas variables se constató diferencia entre lotes a favor del lote cosecha 2017, lo que puede explicarse al tratarse de semillas más jóvenes y por ende de mayor vigor. Las semillas, como todo ser vivo, están expuestas al

proceso natural de envejecimiento que las conducen finalmente a su muerte, siendo el vigor uno de los primeros atributos de su calidad en verse afectado. Según Delouche (1995) el vigor de semillas y su deterioro están fisiológicamente ligados, son aspectos recíprocos, imágenes reflejadas en el espejo de la calidad de semillas en el cual el deterioro es el proceso de envejecimiento y muerte y el vigor es el principal componente de la calidad afectado por el proceso de deterioro. El envejecimiento natural o artificial de las semillas disminuye la germinación, la velocidad de crecimiento y la tolerancia a condiciones adversas (Cruz Pérez *et al.*, 2003).

En términos generales el efecto de los tratamientos de *priming* sobre las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' que se estudiaron en el presente trabajo, independientemente del lote, benefició la germinación y el vigor cuando los tratamientos implicaban el uso de agua o GA₃, mientras que los tratamientos con KNO₃ no se diferenciaron del testigo (los de menor duración) o fueron inferiores a este (los de mayor duración), lo que corrobora la hipótesis planteada al inicio de este capítulo. Resultados similares se observaron en otras especies, en *Arabis alpina* los tratamientos de *priming* con agua y GA₃ fueron los mejores en porcentaje y velocidad de germinación (López del Egido *et al.*, 2018). En semillas de *Solpium perfoliatum* donde se evaluaron distintos tratamientos presiembra, entre los mejores se destacaron la imbibición por 24 horas en KNO₃ al 0,2% y en GA₃ al 0,05% (Von Gehren *et al.*, 2016). En tanto que Gimenez (2012) observó mejoras en el porcentaje de germinación en semillas de *Annona emarginata* cuando fueron tratadas con GA₃ hasta adquirir 15% de agua y cuando fueron tratadas con agua hasta que adquirieron el 20% de la misma. En el mismo sentido Sedghi *et al.* (2010) observaron un incremento en la germinación y el establecimiento de plántulas en condiciones de estrés por salinidad para la especie *Silybum marianum* cuando fue tratada con agua y GA₃.

En relación al uso de agua en los tratamientos de acondicionamiento fisiológico ha sido revelado como una opción interesante, favoreciendo el desempeño de las semillas sin la interferencia de los productos químicos empleados en el osmoacondicionamiento. Distintos autores destacan que, además de ser más simple y económico, el método que implica la imbibición de las semillas en agua no requiere reactivos o equipamientos sofisticados. Como ejemplos en los cuales el mejor

tratamiento resultó ser el *hidropriming* podemos citar numerosas experiencias como las de Coolbear *et al.* (1987) en semillas de *Solanum lycopersicum*, Fujikura *et al.* (1993) en semillas de *Brassica oleracea*, Trigo *et al.* (1999 a) en semillas de *Allium cepa*, Madeiros Filho *et al.* (2000) en semillas de *Sorghum bicolor*, Caseiro (2003) en semillas de *Allium cepa*, Casenave y Toselli (2007) en semillas de *Gossypium hirsutum* bajo estrés hídrico y térmico, Ávila *et al.* (2008) en semillas de *Brassica napus* de bajo potencial fisiológico, Ashrafi y Razmjoo (2010) en semillas de *Carthamus tinctorius*, Caldeira *et al.* (2014) en semillas de *Nicotiana tabacum*, Eskandari y Alizadeh-Amraie (2014) en semillas de *Lens culinaris* bajo condiciones de salinidad y sequía. Asimismo, como ejemplos donde el *hidropriming* resultó el mejor tratamiento bajo condiciones de estrés por salinidad podemos citar a Yagmur y Kaydan (2008) en semillas de *Triticum secale*, Janmohammadi *et al.* (2008) en semillas de *Zea mays*, Tavili *et al.* (2011) en semillas de *Bromus tomentellus*, Ferreira *et al.* (2011) en semillas de *Moringa oleífera* y Abassi *et al.* (2013) en semillas de *Agropiron elongatum*.

Por otra parte, el uso de GA₃ en tratamientos de *priming* ha resultado una interesante opción en muchas especies. Según Khan (1992), el uso de compuestos químicos biológicamente activos, tales como los reguladores de crecimiento, pueden reducir el impacto de factores adversos en el acondicionamiento fisiológico. Se sabe que el GA₃ estimula la germinación elevando la plasticidad de la pared celular, seguida de la hidrólisis del almidón en azúcares por la activación de las hidrolasas, lo que reduce los potenciales hídricos de las células, resultando en la entrada de agua en las células y promoviendo su estiramiento (Bewley y Black, 1994; Bewley, 1997; Aragão y Dantas, 2008). Las semillas cuando son embebidas en una solución de GA₃, tienen su metabolismo acelerado, lo que aumenta el porcentaje y velocidad de emergencia (Andreoli y Khan, 2000; Aroucha *et al.*, 2006). Como ejemplos en los que la incorporación de GA₃ acarreó efectos benéficos podemos citar la experiencia de Li *et al.* (2010) en la que tratamientos de *priming* con GA₃ mejoraron el porcentaje de germinación, la longitud de hipocótilo, el peso fresco de plántulas y la tolerancia a la sequía en semillas de *Brassica napus*. En el trabajo de Eisvand *et al.* (2010) se probaron distintos tratamientos de *priming* con hormonas en semillas de *Agropiron elongatum* y el tratamiento con 100 ppm de GA₃ resultó uno de los mejores en porcentaje y

velocidad de germinación tanto en condiciones normales como de sequía. De modo similar, Aragão *et al.* (2003) verificaron un aumento en la germinación y vigor de semillas de maíz súper dulce tratadas con GA₃.

En cuanto al uso del KNO₃ en tratamientos de *priming* en la bibliografía se encuentran diversos resultados. Por un lado se visualizan efectos benéficos como en el trabajo de Lara *et al.* (2014) donde observaron una mejora en el tiempo y la tasa de germinación en semillas de *Solanum lycopersicum* tratadas con KNO₃. Dichos autores le atribuyen esa mejora a la mayor actividad de la enzima nitrato reductasa que detectaron. Ésta interviene en la producción de nitrato/nitrato nítrico, los cuales actúan eliminando la dormición y promoviendo una germinación más rápida. En el mismo sentido Musthaq *et al.* (2012) observaron una reducción en el tiempo de germinación en semillas tratadas con KNO₃ de *Gladiolus alatus*, mientras que el aumento en la tasa de germinación después de un tratamiento de *priming* con KNO₃ fue registrado en semillas de *Brassica napus* (Abdollahi y Jafari, 2012). Bonome *et al.* (2006) encontraron que semillas de *Brachiaria brizantha* 'Marandú' acondicionadas en KNO₃ mostraron mayor uniformidad de germinación que el control con PEG. Caldeira *et al.* (2014) probaron en semillas de *Nicotiana tabacum* distintos tratamientos de *priming* con agua, KNO₃ y PEG y observaron diferencias significativas en germinación con respecto al testigo pero sin diferencia entre ellos. De modo similar, Mgaya *et al.* (2016) probaron en semillas de *Oryza sativa* los mismos agentes imbibitorios y para las variables poder germinativo, energía germinativa y velocidad de germinación todos los tratamientos superaron al testigo pero el mejor fue el *hidropriming*.

Por otro lado, existen evidencias que las sales también pueden provocar efectos negativos. Soluciones salinas fueron tóxicas para semillas de *Sorghum bicolor*, siendo que para cebolla (*Allium cepa*) fueron menos benéficas que con soluciones de PEG (Haigh y Barlow, 1987). Brocklehurst y Dearman (1984) verificaron que el acondicionamiento con KH₂PO₄ redujo el porcentaje de germinación y emergencia de plántulas de cebolla, apio (*Apium graveolens*) y zanahoria (*Daucus carota*). Tal como se observó en las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok', Nirmala y Umarani (2008) mostraron que el KNO₃ fue perjudicial para semillas de okra (*Abelmoschus esculentus*) independientemente de la concentración y de la duración de los tratamientos que

probaron. Durante el *priming*, las actividades metabólicas relacionadas con la germinación, como la eficiencia del metabolismo del ATP, síntesis de ARN y proteínas, crecimiento embrionario más rápido, la activación del sistema antioxidante, la reparación del ADN y el metabolismo mitocondrial se vuelven más dinámicos (Chen y Arora, 2013; Paparella *et al.*, 2015). El mantenimiento de la integridad del ADN y la actividad de reparación del ADN durante la rehidratación representa requisitos fundamentales para la tolerancia a la desecación (Ventura *et al.*, 2012). Dado que el *priming* a veces reduce la tolerancia a la desecación (Sliwinska y Jendrzejszak, 2002), también puede mostrar efectos nocivos en las semillas, esto podría explicar los casos citados anteriormente. Por su parte, Bradford, Steiner y Trawatha (1990) plantearon que los resultados inconsistentes obtenidos en tratamientos de hidratación-deshidratación se debían a la carencia de estandarización u optimización de los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial para cada especie, variedad o lote en particular, debido a que su efectividad depende del grado de maduración fisiológica que presentan las semillas.

Debido a las objeciones que tiene el método de imbibición parcial propuesto por Orta *et al.* (1998) las cuales dicen que no todas las semillas alcanzan el mismo nivel de humedad, se decidió sumar la técnica propuesta por Sanchez *et al.* (1999) la cual consiste en someter a las semillas a dos ciclos de hidratación, los resultados obtenidos demostraron que no sería necesario para el caso de los dos lotes de *Setaria sphacelata* 'Narok' estudiados sumar esta práctica ya que no hubo diferencias significativas entre uno o dos ciclos de hidratación, incluso en algunas variables se vieron mejores resultados con un solo ciclo de hidratación. Por la misma razón Batista *et al.* (2015) trabajando con semillas de *Brachiaria brizantha* 'MG5' probaron distintos tratamientos con agua, KNO₃ y GA₃ con uno y dos ciclos de hidratación y no hallaron diferencias significativas con el testigo.

En lo que respecta a la ruptura de dormición que se vio reflejada en la disminución del porcentaje de semillas frescas, no puede ser atribuida al efecto de la incorporación de KNO₃ y GA₃, ya que todos los tratamientos presentaron igual comportamiento. Según Sanchez *et al.* (1999) la efectividad de los tratamientos acondicionadores dependen fundamentalmente de los cambios bioquímicos-fisiológicos

que provoquen en las semillas un nivel determinado de humedad y no del tipo de sustancia empleada en ellos.

En base a los resultados obtenidos en este capítulo surgen las siguientes:

CONCLUSIONES

La viabilidad de *Setaria sphacelata* 'Narok' evaluada a través del test de tetrazolio en las semillas del año 2016 no se vio afectada por la aplicación de *priming* realizados con agua y con GA₃. En las semillas del año 2017, todos los tratamientos de *priming* reflejaron menor viabilidad que el testigo. La inmersión en solución de KNO₃ 0,2%, hasta mitad de fase II reflejó muerte de embriones con niveles de viabilidad prácticamente nulos en ambos lotes.

En cuanto a la viabilidad medida por poder germinativo, a excepción de los tratamientos con KNO₃, todas las variantes de *priming* aplicados lograron resultados superiores al testigo y sin diferencia entre ellos cuando se analizaron semillas de ambos lotes.

La valoración de vigor a través del primer recuento o energía germinativa y el IVE se ven positivamente afectada por el uso de agua o GA₃ como agente imbibitorio, uniformizando la rápida aparición de plántulas.

La técnica que implica dos ciclos de hidratación para que las semillas alcancen un nivel homogéneo de humedad no sería necesaria en los dos lotes de *Setaria sphacelata* 'Narok' evaluados, ya que no se hallaron diferencias significativas a favor de estos tratamientos.

La ruptura de dormición, evidenciada por la disminución en el porcentaje de semillas frescas, de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' en los diferentes años de cosecha evaluados no puede ser atribuida al efecto de la incorporación de KNO₃ o GA₃ a los tratamientos de *priming*, ya que se observó el mismo comportamiento en los tratamientos con agua.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abbasi M., Azarnivand H., Alizadeh O. and Hedayati A. 2013. Seed treatments to improve germination of *Agropyron elongatum* seeds under salt stress. *Int. J. Agron. Plant. Prod.* 4 (4):603-609.
- Abdollahi F. and Jafari L. 2012. Effect of NaCl and KNO₃ priming on seed germination of canola (*Brassica Napus* L.) under salinity conditions. *International Journal of Agriculture, Research and Review*, 2: 573-579.
- Andreoli C. and Khan A. A. 2000. Integration of physiological, chemical and biological seed treatments to improve stand establishment and yield of vegetables. *Acta Horticulturæ, Wageningen*, 533 (31): 31-39.
- Aragão C. A., Dantas B. F., Alves E., Cataneo A. C., Cavariani, C. y Nakagawa, J. 2003. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes*, 25(1): 43-48.
- Aragão C. A. y Dantas B. F. 2008. Efeito de doses e formas de aplicação de ácido giberélico em sementes de milho super doce. *Informativo Abrates, Londrina*, 11 (2) 345 p.
- Aroucha E. M. M., Silva R. F., Nunes G. H. S. y Santos M. C. A. 2006. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Caatinga, Mossoró*, 19 (3) : 272-277.
- Ashrafi E. and Razmjoo K. 2010. Effects of priming on seed germination and field emergence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Seed Science and Technology*, 38(3): 675-681.
- Ávila M. R., Braccini A. L., Scapim C. A., Albrecht L. P., Rodovalho M. A. and Fracaro M. 2008. Hydration and pre-osmotic treatments on canola rape seeds (*Brassica napus* L.). *Seed Science and Technology*, 36(1): 218-224.
- Batista T. B., Cardoso E. D., da Silva Binotti F. F., de Sá M. E. y Haga K. I. 2015. Nutrientes e giberelina no condicionamento fisiológico sob a qualidade de sementes de braquiária. *Journal of Neotropical Agriculture*, 2(1): 10-16.
- Batista T. B., Binotti F. F. S., Cardoso E. D., Costa E. and Nascimento D. M. 2016. Appropriate hydration period and chemical agent improve priming in brachiaria seeds. *Pesq. Agropec. Trop.* 46: 350-356.
- Bewley J. D. and Black M. 1994. *Seed: physiology of development and germination*. New York, London: Plenum Press.
- Bewley J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The plant cell*, 9(7): 1055.
- Bonome L. T., Guimarães R. M., Olivera J. A., Andrade V. y Cabral P. 2006. Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. *Ciência e Agrotecnologia*, 30: 422-428.
- Bradford K. L. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience*, 21: 1105-1112.
- Bradford K. J., Steiner J. J. and Trawatha S. E. 1990. Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots. *Crop Science*, 30(3): 718-721.
- Bradford K. J. 1995. Water relations in seed germination. In *Seed development and germination*, CRC Press. 351-396 pp.

- Brocklehurst P. A. and Dearman J. 1983. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination. *Annals of Applied Biology*, 102(3): 577-584.
- Brocklehurst P. A. and Dearman J. 1984. A comparison of different chemicals for osmotic treatment of vegetable seed. *Annals of Applied Biology*, 105(2): 391-398.
- Caldeira C. M., de Carvalho M. L. M., Guimarães R. M. y Coelho S. V. B. 2014. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. *Seed Science and Technology*, 42(2): 180-189.
- Caseiro R. 2003. Métodos para acondicionamiento fisiológico de semillas de cebolla e influencia del secado y almacenamiento. Tesis Doctoral. Escuela superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidad de San Pablo. Estado de San Pablo, Brasil. 22-35 pp.
- Casenave E. C. and Toselli M. E. 2007. Hydropriming as a pre-treatment for cotton germination under thermal and water stress conditions. *Seed Science and Technology*, 35(1): 88-98.
- Chen K. and Arora R. 2013. Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 94: 33-45.
- Coolbear P., Newell A. and Bryant J. 1987. An evaluation of the potential of low temperature pre-sowing treatments of tomato seeds as a means of improving germination performance. *Annals of Applied Biology*, 110(1): 185-194.
- Cruz Pérez A. B., González Hernández V. A., Mendoza Castillo M. C. y Ortega Delgado M. L. 2003. Marcadores fisiológicos de la tolerancia al envejecimiento de semilla en maíz *Agrociencia*, 37 (4): 371-381.
- Dantas B. F., Alves E., Aragão C. A., Tofaneli M., Correa M. R., Rodrigues J. D., Cavariani C. y Nakagawa J. 2001. Germinação de sementes de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea* L.) tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes*, 23: 27-34.
- Delouche J. C., Cabrera E. R. and Keith B. C. 1995. Strategies for improving physiological seed quality. Mississippi State University, Bulletin 1029, 29 p.
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Eisvand H. R., Tavakkol-Afshari R., Sharifzadeh F., Maddah Arefi H. and Hesamzadeh Hejazi S. M. 2010. Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tall wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). *Seed Science and Technology*, 38(2): 280-297.
- Eskandari H. and Alizadeh-Amraie A. 2014. Improvement of lentil germination performance under salt and drought conditions using seed priming treatments. *Seed Science and Technology*, 42(1): 87-91.
- Ferreira Dos Santos A. R., Silva-Mann R., Ferreira R. A. and Souza-Brito A. 2011. Water pre-hydration as priming for *Moringa oleifera* Lam. Seeds under salt stress. *Trop. Subtrop. Agroecosys.* 14 (1): 201-207.
- Fujikura Y., Karssen C., Kraak H., and Basra A. 1993. Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. *Seed Science and Technology*, 21: 639-642.
- Gray H. R., Rowse R., Drew R. L. K. 1990. A comparison of two large-scale seed priming techniques. *Annals of Applied Biology*, 116: 611-624.
- Gimenez J. I. 2012. Condicionamento osmótico e GA₃ na germinação de sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer). Dissertação

- (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu, S.P, Brasil. 91 p.
- Guimarães R. M. 2000. Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L.). (Tesis Doctoral), Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil.
- Haigh A. and Barlow E. 1987. Germination and priming of tomato, carrot, onion, and sorghum seeds in a range of osmotica. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112: 202-208.
- Harris D., Joshi A., Khan P. A., Gothkar P. and Sodhi P. S. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Experimental Agriculture*, 35: 15-29.
- Heydecker W. and Coolbear P. 1977. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. *Seed science and technology*, 5:353-425.
- Henckel P. A. 1982. Fisiología de la Resistencia de las plantas al calor y a la sequía. Nauka, Moscú. 280 p.
- Heydecker W. 1974. Germination of an idea: the priming of seeds. *University Nottingham School Agr. Rep. 1973/1974*: 50-67.
- ISTA. International Rules for Seed Testing. 2019. Published by The International Seed Testing Association (ISTA). Zurichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Switzerland.
- Janmohammadi M., Moradi Dezfuli P. and Sharifzadeh F. 2008. Seed invigoration techniques to improve germination and early growth of inbred line of maize under salinity and drought stress. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 34 (3-4): 215-226.
- Jett L. W., Welbaum G. E. and Morse R. D. 1996. Effects of matric and osmotic priming treatments on broccoli seed germination. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 121: 423-429.
- Khan A. A., Peck N. H., Taylor A. G. and Samimy C. 1983. Asmoconditioning of beet seeds to improve emergence and yield in cold soil. *Agronomy Journal*, 75: 788-794.
- Khan A. A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 14: 131-181.
- Lara T. S., Lira J. M. S., Rodrigues A. C., Rakocevi M. and Alvarenga A. A. 2014. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. *Journal of Agricultural Science*, 6 (2): 72-80.
- Li Z., Lu G. Y., Zhang X. K., Zou C. S., Cheng Y. and Zheng P. Y. 2010. Improving drought tolerance of germinating seeds by exogenous application of gibberellic acid (GA₃) in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Seed Science and Technology*, 38(2): 432-440.
- Lopes H. M., Fontes P. C. R., Maria J., Cecon P. R. y Malavasi M. M. 1996. Germinação e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) influenciados pelo período de temperatura de condicionamento osmótico. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 18 (2):173-179.
- Lopez del Egidio L., Toorop P. E. and Lanfermeijer F. C. 2018. Seed priming improves germination of *Arabis alpina* under thermo-inhibiting conditions. *Seed Science and Technology*, 46(2): 285-303.
- Maguire J. D. 1962. Speed of germination. Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop science*, 2: 176-177.
- Marcos Filho J. 2015. Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas. ABRATES, Londrina, PR, Brasil. 496-547 pp.
- Mc Donald M. B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed science and Technology*, 27: 177-237.

- Medeiros Filho S., Carvalho L., Teófilo E. y Rossetti A. 2000. Efeito do osmocondicionamento no vigor de sementes de sorgo. *Ciência Agronômica*, 31(1-2): 33-42.
- Mgaya A., Thobunluepop P., Sreewongchai T., Sarobol E. and Onwimol D. 2016. Integral Effect of Seed Treatments and Production Systems for Sustainability of Rice Production under Acid Soil. *Journal of Agronomy*, 15(3): 122-129.
- Mushtaq S., Hafiz A. I., Ul Hasan S. Z., Arif M., Shehzad M. A., Rafique R. and Iqbal M. S. 2012. Evaluation of seed priming on germination of *Gladiolus alatus*. *African Journal of Biotechnology*, 11: 11520-11523.
- Nirmala K. and Umarani R. 2008. Evaluation of seed priming methods to improve seed vigour of okra (*Abelmoschus esculentus*) and beetroot (*Beta vulgaris*). *Seed Science and Technology*, 36(1): 56-65.
- Orta R., Sanchez J. A., Muñoz B. y Calvo E. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana*, 121: 1-8.
- Paparella S., Araújo S., Rossi G., Wijayasinghe M., Carbonera D. and Balestrazzi A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34: 1281-1293.
- Peretti A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed Hemisferio Sur. Buenos aires, Argentina. 197-216 pp.
- Petruzzi H., Stritzler N., Adema E., Ferri C. y Pagella J. 2003. Mijo perenne – *Panicum coloratum*. Sitio Argentino de Producción Animal. 1-28.
- Sanchez J. A., Calvo E., Muñoz B. y Orta R. 1999. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. *Cultivos tropicales*, 20: 51-56.
- Sanchez J. A., Calvo E., Muñoz B. y Orta R. 1999b. Efecto de los tratamientos pregerminativos de hidratación deshidratación sobre la germinación, establecimiento, floración y fructificación del pepino. *Agronomía Costarricense*, 23: 193-204.
- Sanchez J. A., Calvo E., Orta R. y Muñoz B. 1997. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación para semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Acta Botánica Mexicana*, 38: 13-20.
- Sanchez J. A., Orta R. y Muñoz B. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*, 25: 67-92.
- Sedghi M., Nemati A. Amapour-Balaneji B. and Gholipouri A. 2010. Influence of different priming materials on germination and seedling establishment of milk thistle (*Silybum marianum*) under salinity stress. *World Appl. Sci. J.* 11 (5):604-609.
- Sliwinska E. and Jendrzyszczak E. 2002. Sugar-beet seed quality and DNA synthesis in the embryo in relation to hydration-dehydration cycles. *Seed Science and Technology*, 30: 597-608.
- Tavili A., Zare S., Moosavi S. A. and Enayati A. 2011. Effects of seed priming on germination characteristics of Bromus species under salt and drought conditions. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 10 (2):163-168.
- Trigo M., Nedel J., Garcia A., y Trigo L. 1999 a. Efeitos do condicionamento osmótico com soluções aeradas de nitrato de potássio no desempenho de sementes de cebola. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 21(1): 139-144.

- Ventura L., Donà M., Macovei A., Carbonera D., Buttafava A., Mondoni A. and Balestrazzi A. 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 196-206.
- Von Gehren P., Gansberger M., Mayr J. and Liebhard P. 2016. The effect of sowing date and seed pretreatments on establishment of the energy plant *Silphium perfoliatum* by sowing. *Seed Science and Technology*, 44(2): 310-319.
- Yagmur M. and Kaydan D. 2008. Alleviation of osmotic stress of water and salt in germination and seedling growth of triticale with seed priming treatments. *Afr. J. Biotechnol.* 7 (13): 2156-2162.

CAPÍTULO IV

Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y vigor de semillas de *Setaria sphacelata* ‘Narok’ de diferentes años de cosecha sometidas a tratamientos de *priming*

INTRODUCCIÓN

La longevidad de las semillas queda determinada en tres momentos históricos vividos: el periodo previo a la cosecha, el periodo entre cosecha y almacenamiento y el almacenamiento. En cualquiera de estos momentos la capacidad germinativa de las semillas es pasible de ser deteriorada. En el caso particular de las gramíneas, son resistentes al daño mecánico por la protección que generan sus estructuras externas (lemma y palea), pero son sensibles a las altas temperaturas de secado y a las condiciones de almacenamiento inadecuadas (Bewley y Black, 1982).

El envejecimiento de las semillas podría estar influenciado por los tratamientos pregerminativos que se les apliquen y por el momento desde la cosecha en que sean aplicados. Esta modificación podría operar mejorando la calidad de las semillas y manteniendo sus propiedades post almacenamiento (Kim *et al.*, 2000). Pero por otra parte podría influir de forma negativa acelerando el deterioro, por ejemplo al ser almacenadas con altos niveles de humedad post tratamiento (Bewley y Black, 1982). Alineados a esta afirmación Carpenter *et al.* (1995) indican que una de las principales causas del envejecimiento acelerado de las semillas son sus elevados contenidos de humedad. En el mismo sentido Mc Donald (1999) alega que los tratamientos de semillas también pueden impactar de modo negativo la calidad de las mismas, acelerando su deterioro.

En contraste con los efectos generalmente positivos del *priming* sobre la germinación de las semillas, existen muchas contradicciones con respecto a los efectos de *priming* sobre la longevidad de las semillas. Algunos investigadores han descubierto que los tratamientos de *priming* reducen la vida útil de las semillas (Gurusinghe *et al.*, 2002; Shwember y Bradford, 2005; Hill *et al.*, 2007), mientras que otros han demostrado que el *priming* mejora la capacidad de almacenamiento de las semillas en especies como arveja, tomate, zanahoria y cebolla (Savino *et al.*, 1979; Dearman *et al.*, 1986; Liu *et al.*, 1996). Butler *et al.* (2009) sugirieron que las diferencias en la respuesta de un lote de semillas a distintos tratamientos de *priming* podrían deberse a diferencias en las respuestas moleculares y bioquímicas de las semillas. Estos hallazgos contradictorios pueden restringir el uso de tratamientos de *priming* en prácticas agrícolas (Hussain *et al.*, 2015).

Posterior al tratamiento de acondicionamiento, es necesaria la deshidratación de las semillas para facilitar el manejo, la siembra mecánica o la prolongación del período de mantención de la viabilidad durante el almacenamiento. Sin embargo, el almacenamiento a largo plazo, particularmente en condiciones adversas, puede ser más perjudicial en las semillas acondicionadas en comparación a las no tratadas; esto debido a que las acondicionadas pueden presentar mayor sensibilidad a la desecación y menos tolerancia al almacenamiento, lo que puede provocar reducción de la germinación y el vigor (Nascimento, 2009).

Uno de los aspectos fundamentales para posibilitar la comercialización de las semillas acondicionadas es la reducción del tenor de agua después del tratamiento, hasta adquirir un nivel seguro para el almacenamiento. Un exceso de humedad incrementaría la actividad enzimática y la respiración lo que podría desencadenar la germinación. En ese sentido, es necesario un secado cuidadoso de las semillas porque, dependiendo de la manera cómo fue realizado, puede provocar reversión de los beneficios alcanzados durante el acondicionamiento. Las condiciones (temperatura y humedad relativa) del periodo de almacenamiento también son factores que pueden comprometer la calidad de las semillas acondicionadas. No hay, todavía, consenso en la literatura en cuanto a los efectos del secado y almacenamiento sobre el desempeño de las semillas sometidas al acondicionamiento fisiológico (Caseiro, 2003).

En el presente capítulo, fueron seleccionados los tratamientos de *priming* que obtuvieron los mejores resultados en el Capítulo III para evaluar la evolución de su calidad fisiológica a los 45, 90 y 135 días. Este período de tiempo se eligió teniendo en cuenta que si bien la temporada de siembra recomendada para esta pastura es la primavera, en la práctica es bastante usual que ante algún inconveniente que impida realizarla en esta fecha se realicen siembras de otoño. Por lo que resulta útil saber si se podría guardar semillas acondicionadas en primavera hasta el próximo otoño, sin que esto afecte su calidad.

En base al análisis precedente se plantea la siguiente:

HIPÓTESIS

- ✓ Las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' tratadas con *priming* mantienen su calidad fisiológica durante el almacenamiento.

Por lo expuesto se plantea el siguiente:

OBJETIVO

- ✓ Evaluar el efecto del almacenamiento en condiciones controladas y de ambiente natural sobre la calidad fisiológica de semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha sometidas a diferentes tratamientos de *priming*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de dos lotes cosechas 2016 y 2017, los cuales contaban con 24 y 12 meses de almacenamiento respectivamente al momento en que recibieron los tratamientos de *priming* T1, T2, T7, T8, T9, T10. Las semillas tratadas fueron posteriormente almacenadas en dos condiciones: a temperatura ambiente (TA) y bajo condiciones controladas, en heladera entre 5-10°C (CC). Todos los tratamientos fueron comparados con un testigo sin tratar T0.

Detalle de los tratamientos:

T1: inmersión en agua, hasta inicio de fase II

T2: inmersión en agua, hasta mitad de fase II

T7: inmersión en solución de GA₃ 0,05%, hasta inicio de fase II

T8: inmersión en solución de GA₃ 0,05%, hasta mitad de fase II

T9: inmersión en agua hasta inicio de fase II, 2 ciclos de hidratación

T10: inmersión en agua hasta mitad de fase II, 2 ciclos de hidratación

Metodología

A los 45, 90 y 135 días posteriores a la aplicación de los tratamientos de *priming* se extrajeron al azar de las muestras almacenadas (TA y CC) 8 repeticiones de 50 semillas de los tratamientos seleccionados y del testigo. De ellas, 4 repeticiones se utilizaron para el ensayo de germinación y 4 repeticiones para el análisis de viabilidad por Test de tetrazolio. Se evaluaron las variables Porcentaje de viabilidad (PV), Porcentaje de Germinación (PG), Primer recuento de germinación o Energía

germinativa (EG) e Índice de velocidad de emergencia (IVE) de forma idéntica a como se detalló en el Capítulo III, a fin de conocer su evolución durante el almacenamiento.

Diseño experimental y análisis estadístico

Tanto en el ensayo de germinación como en el de viabilidad por test de tetrazolio se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 4 repeticiones por tratamiento. Los datos fueron analizados mediante un Modelo Lineal Mixto (West *et al.*, 2015) que incluyó los efectos fijos de condición de almacenamiento, tiempo, año y sus interacciones y un efecto aleatorio de la unidad experimental para contemplar la correlación temporal entre las observaciones. La comparación de medias se realizó mediante la prueba DGC con un nivel de significación de $\alpha=0,05$. Todos los análisis se realizaron utilizando el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2017).

El cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los errores se verificó mediante la prueba de Shapiro Wilks y gráficos de dispersión de residuos vs predichos.

RESULTADOS

1. Porcentaje de viabilidad (PV)

En cuanto al PV se encontraron diferencias significativas en la interacción condición de almacenamiento y tiempo. Se observó una disminución en general en el tiempo para todos los tratamientos, incluyendo el testigo. Sin embargo, los T2, T8, T9 y T10 almacenados bajo CC se mantuvieron sin diferencias significativas hasta los 135 días post tratamiento (Tabla 4.1). El resto de los tratamientos tuvo una disminución significativa, siendo ésta mucho más marcada en los tratamientos almacenados a TA, especialmente los T2, T8 y T10 que junto al T0 disminuyeron su PV en aproximadamente un 50% respecto al valor inicial (Tabla 4.1). En la Figura 4.1 se puede observar que a partir de los 90 DPT hay una diferencia marcada entre los tratamientos almacenado bajo CC (cuadrados) y los almacenados a TA (triángulos).

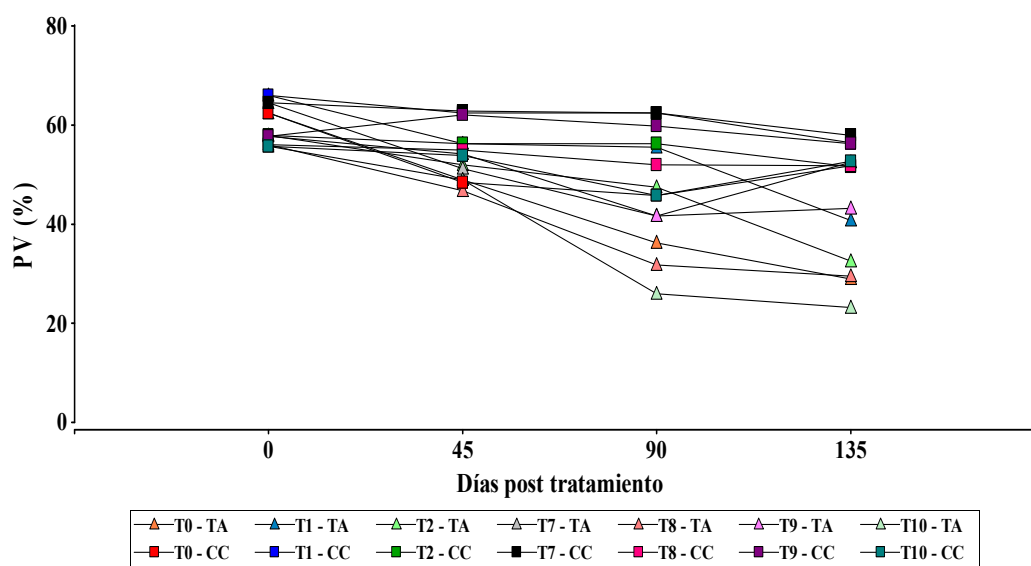


Figura 4.1: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' sometidas a diferentes tratamientos de *priming*, almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultado promedio entre cosecha 2016 y 2017.

Tabla 4.1: Porcentaje de viabilidad (PV) promedio de los dos lotes a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC), sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tratamiento	Condición de almacenamiento	PV (%)			
		0 DPT	45 DPT	90 DPT	135 DPT
T0	TA	62 A	49 B	36 D	29 D
	CC	62 A	49 B	46 B	52 B
T1	TA	66 A	56 B	56 B	41 C
	CC	66 A	63 A	63 A	57 B
T2	TA	58 B	52 B	48 B	33 D
	CC	58 B	56 B	56 B	52 B
T7	TA	65 A	51 B	42 C	53 B
	CC	65 A	63 A	63 A	58 B
T8	TA	56 B	47 B	32 D	30 D
	CC	56 B	55 B	52 B	52 B
T9	TA	58 B	54 B	42 C	43 C
	CC	58 B	62 A	60 B	56 B
T10	TA	56 B	49 B	26 D	23 D
	CC	56 B	54 B	46 B	53 B

Con respecto a la edad de las semillas se hallaron diferencias significativas en la interacción triple entre año de cosecha, condición de almacenamiento y tiempo (Figura 4.2), en el tiempo cero como se vio en el capítulo anterior el lote cosecha 2017 fue superior en valores de viabilidad, a los 45 DPT ya se observa el efecto de las

condiciones de almacenamiento siendo superior la viabilidad de las semillas en CC en relación a las que se encontraban a TA, independientemente del año de cosecha. A los 90 DPT persisten las diferencias a favor de las semillas en CC pero con diferencias significativas entre años. En tanto que a los 135 DPT se mantiene como la mejor opción el almacenamiento bajo CC para ambos lotes y se observa que para ese tiempo de almacenamiento a TA la caída de viabilidad fue más brusca para el lote cosecha 2017, el de mayor potencial fisiológico inicial, quedando en igualdad de condiciones con el lote cosecha 2016.

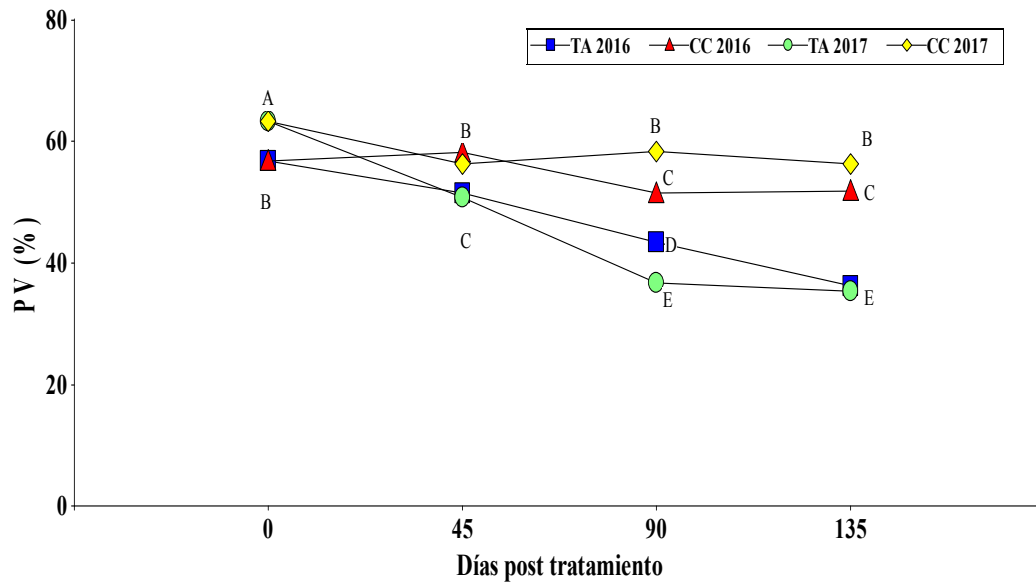


Figura 4.2: Porcentaje de viabilidad (PV) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*, almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultado promedio entre todos los tratamientos. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

2. Porcentaje de germinación (PG)

Como se vio en el capítulo anterior inmediatamente después de aplicados los tratamientos de *priming*, todos resultaron superiores al testigo aunque sin diferencia

significativa entre ellos. Al repetir el análisis a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) se encontró diferencia significativa entre tratamientos, entre condición de almacenamiento, entre años de cosecha y en el tiempo, mientras que al analizar las interacciones triples solo se halló diferencia en tratamiento \times año \times tiempo. En la Tabla 4.2 se puede apreciar el efecto de los tratamientos de *priming* al uniformizar el comportamiento germinativo de las semillas independientemente de su condición inicial y que los tratamientos fueron siempre superiores a los testigos. En la Figura 4.3 se puede observar claramente la diferenciación de los dos testigos y la paridad en el comportamiento de todos los tratamientos de *priming* aplicados.

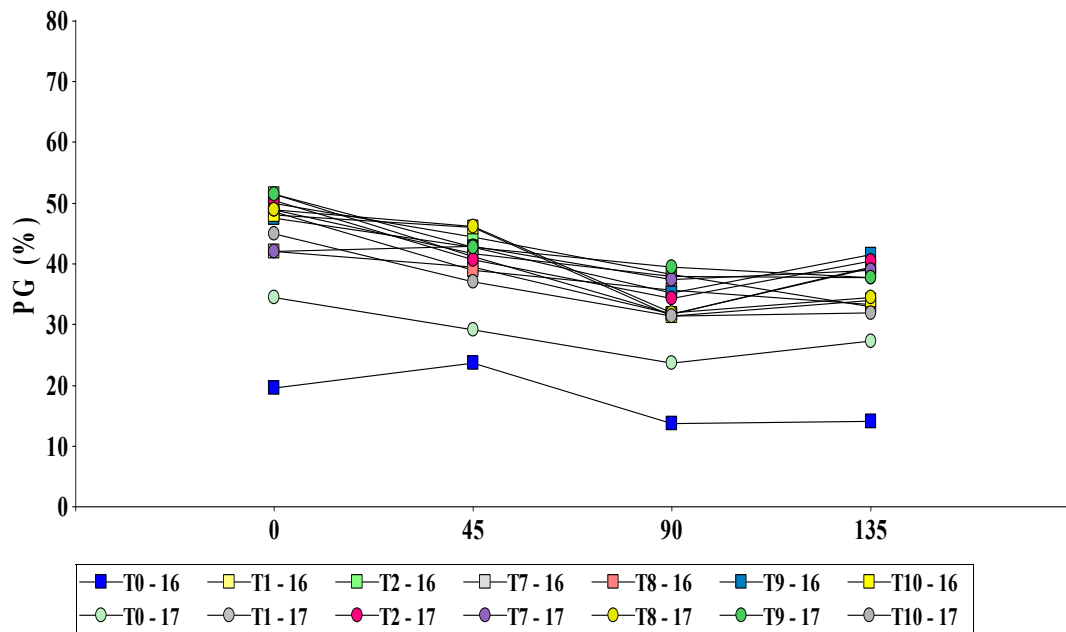


Figura 4.3: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.

Tabla 4.2: Porcentaje de germinación (PG) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tratamiento	Año de cosecha	PG (%)			
		0 DPT	45 DPT	90 DPT	135 DPT
T0	2016	20 C	24 C	14 D	14 D
	2017	35 B	29 B	24 C	27 B
T1	2016	42 B	40 B	32 B	39 B
	2017	49 A	42 B	38 B	38 B
T2	2016	50 A	45 A	38 B	33 B
	2017	51 A	41 B	34 B	41 B
T7	2016	52 A	41 B	32 B	40 B
	2017	42 B	43 B	38 B	39 B
T8	2016	49 A	39 B	36 B	33 B
	2017	49 A	46 A	32 B	35 B
T9	2016	48 A	43 B	35 B	33 B
	2017	52 A	43 B	40 B	38 B
T10	2016	48 A	46 A	32 B	34 B
	2017	45 A	37 B	32 B	32 B

La Tabla 4.3 muestra un detalle del comportamiento de la germinación en los diferentes tratamientos de *priming*, tiempos y condiciones de almacenamiento, considerando un promedio de ambas edades de semillas evaluadas. Hasta los 45 DPT todos los tratamientos almacenados tanto a temperatura ambiente (TA) como en condiciones controladas (CC) fueron superiores al testigo y sin diferencia entre ellos. A

partir de los 90 DPT hubo una disminución significativa del PG de todos los tratamientos almacenados a TA, igualando al testigo en el caso de los T2, T8 y T10. Sin embargo, todos los tratamientos almacenados en CC llegaron a los 135 DPT sin diferencias significativas con el PG inicial, presentando los mayores valores los T2 y T9 con un 44%. En condiciones de TA a los 135 DPT los mayores valores los presentaron los T1 y T7 con un 36%. En la Figura 4.4 donde se grafica la interacción doble condición del almacenamiento \times tiempo se destaca a partir de los 90 DPT el mayor PG de las semillas almacenadas en CC en relación a las almacenadas a TA, inclusive a los 135 DPT esa diferencia se hace aun mayor por un aumento en el PG de las que se encontraban bajo CC, aumento que se le podría atribuir a una menor cantidad de semillas que mueren por envejecimiento en el almacenamiento en frío.

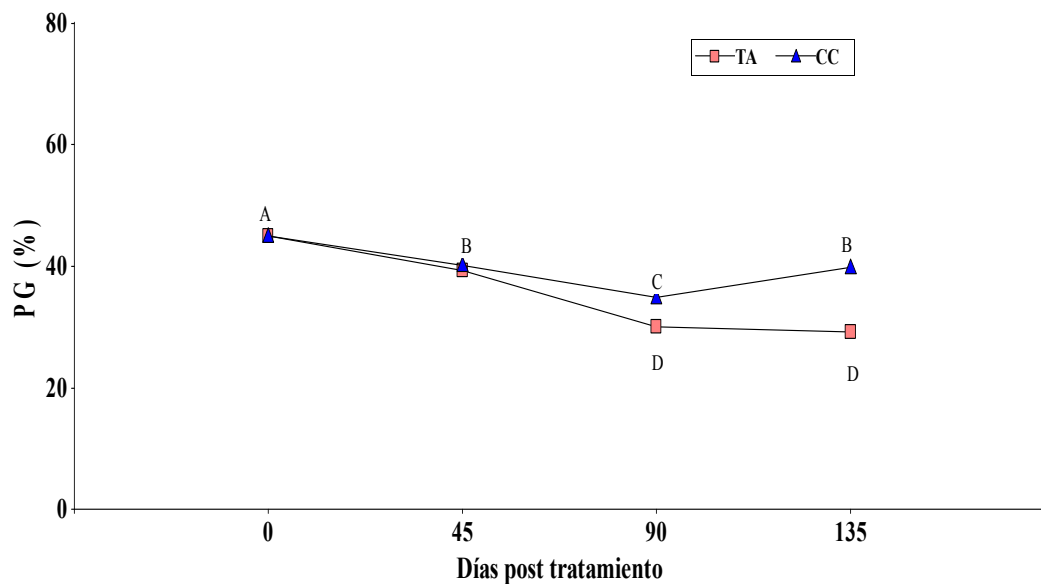


Figura 4.4: Porcentaje de germinación (PG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de *priming* y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tabla 4.3: Porcentaje de germinación (PG) promedio de los dos lotes a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y bajo condiciones controladas (CC) sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tratamiento	Condición de Almacenamiento	PG (%)			
		0 DPT	45 DPT	90 DPT	135 DPT
T0	TA	27 C	28 C	18 C	20 C
	CC	27 C	26 C	19 C	22 C
T1	TA	46 A	39 A	35 B	36 B
	CC	46 A	42 A	35 B	41 A
T2	TA	50 A	44 A	31 C	30 C
	CC	50 A	42 A	42 A	44 A
T7	TA	47 A	43 A	35 B	36 B
	CC	47 A	41 A	35 B	43 A
T8	TA	49 A	42 A	31 C	25 C
	CC	49 A	43 A	37 B	43 A
T9	TA	50 A	41 A	35 B	35 B
	CC	50 A	45 A	40 A	44 A
T10	TA	47 A	39 A	27 C	25 C
	CC	47 A	44 A	36 B	42 A

3. Primer recuento de germinación o Energía germinativa (EG)

En esta variable, al igual que en el PG inmediatamente después de aplicados los tratamientos de *priming*, todos los tratamientos fueron superiores al testigo, hallándose diferencias significativas entre tratamientos, año de cosecha, condición de

almacenamiento y tiempo. Al analizar las interacciones triples solo se observó diferencia significativa en la interacción triple de tratamiento \times año \times tiempo (Figura 4.5). Los distintos tratamientos tuvieron un comportamiento homogéneo entre ellos superando en todos los casos a los testigos hasta los 90 DPT, en tanto que a los 135 DPT los tratamientos cosecha 2017 tuvieron una fuerte caída igualando al testigo. Hasta los 90 DPT se observó una leve diferencia a favor del Lote 2017, sin embargo esa diferencia se revirtió a los 135 DPT a favor del Lote 2016 (Tabla 4.4).

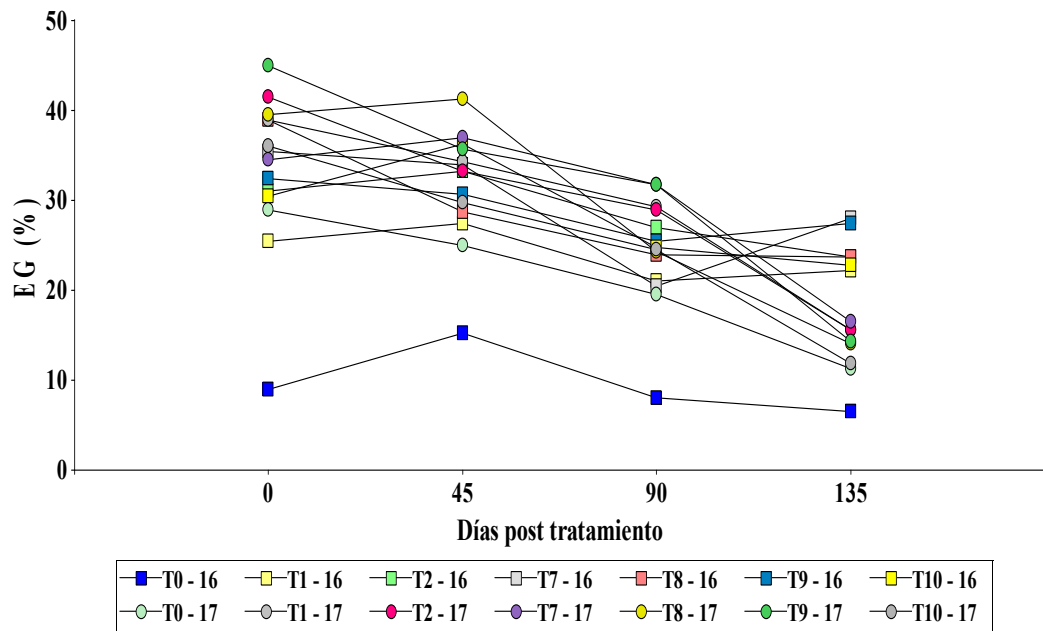


Figura 4.5: Porcentaje de energía germinativa (EG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.

Tabla 4.4: Porcentaje de Energía germinativa (EG) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tratamiento	Año de cosecha	EG (%)			
		0 DPT	45 DPT	90 DPT	135 DPT
T0	2016	9 D	15 D	8 D	7 D
	2017	29 B	25 C	20 C	11 D
T1	2016	26 C	28 B	21 C	22 C
	2017	39 A	34 B	29 B	16 D
T2	2016	31 B	33 B	27 B	24 C
	2017	42 A	33 B	29 B	16 D
T7	2016	36 B	34 B	21 C	28 B
	2017	35 B	37 B	32 B	17 D
T8	2016	39 A	29 B	24 C	24 C
	2017	40 A	41 A	24 C	14 D
T9	2016	33 B	31 B	26 C	28 B
	2017	45 A	36 B	32 B	14 D
T10	2016	31 B	36 B	25 C	23 C
	2017	36 B	30 B	25 C	12 D

Al analizar la interacción condición de almacenamiento \times tiempo, como se puede ver en la Figura 4.6, hasta los 45 DPT el porcentaje de EG se mantuvo y sin diferencias significativas entre las dos condiciones. A los 90 DPT se observa una disminución para esta variable en ambas condiciones pero con una diferencia a favor de las semillas almacenadas bajo CC. De modo similar a los 135 DPT, se mantiene esa caída con una diferencia a favor del almacenamiento bajo CC.

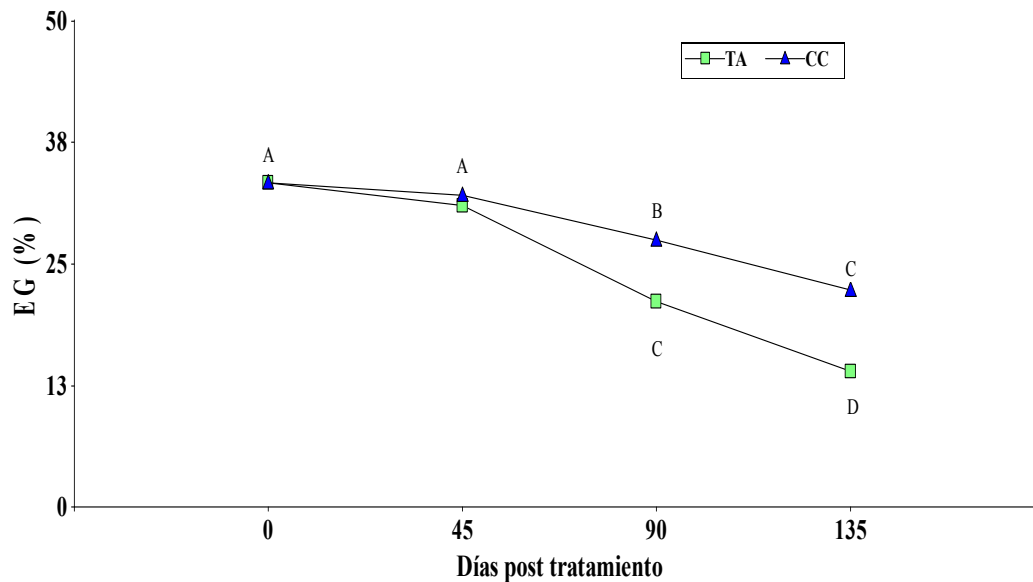


Figura 4.6: Porcentaje de energía germinativa (EG) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de *priming* y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

4. Índice de velocidad de emergencia (IVE)

En esta variable se hallaron diferencias significativas entre tratamientos, años, condición de almacenamiento y tiempo, mientras que al analizar las interacciones triples solo se observaron diferencias significativas en tratamiento \times año \times tiempo, tal lo demuestra la Tabla 4.5. Se puede apreciar que de manera general todos los tratamientos de *priming* fueron superiores al testigo hasta los 45 DPT, a partir de los 90 DPT se observó una disminución del IVE que en algunos casos igualó al testigo (Figura 4.7). Respetto al año de cosecha se vio una superioridad del Lote 2017 en relación al Lote 2016, excepto en el T10 en el cual a partir de los 90 DPT no presentaron diferencias.

Tabla 4.5: Índice de velocidad de emergencia (IVE) a los 45, 90 y 135 días post tratamiento (DPT) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

Tratamiento	Año de cosecha	IVE			
		0 DPT	45 DPT	90 DPT	135 DPT
T0	2016	0,85 D	1,35 D	0,70 D	0,56 D
	2017	2,79 B	2,65 C	1,92 C	2,20 C
T1	2016	2,48 C	2,66 C	1,91 C	2,03 C
	2017	4,11 A	3,88 A	3,06 B	3,30 B
T2	2016	3,04 B	3,10 B	2,66 C	2,18 C
	2017	4,35 A	3,78 A	3,08 B	3,16 B
T7	2016	3,35 B	3,48 B	2,02 C	2,62 C
	2017	3,73 A	4,19 A	3,53 B	3,63 B
T8	2016	3,89 A	2,88 B	2,42 C	2,24 C
	2017	4,18 A	4,75 A	2,57 C	3,02 B
T9	2016	3,04 B	3,10 B	2,47 C	2,49 C
	2017	4,63 A	3,55 B	2,40 C	2,07 C
T10	2016	2,91 B	3,55 B	2,40 C	2,07 C
	2017	2,72 A	3,32 B	2,45 C	2,45 C

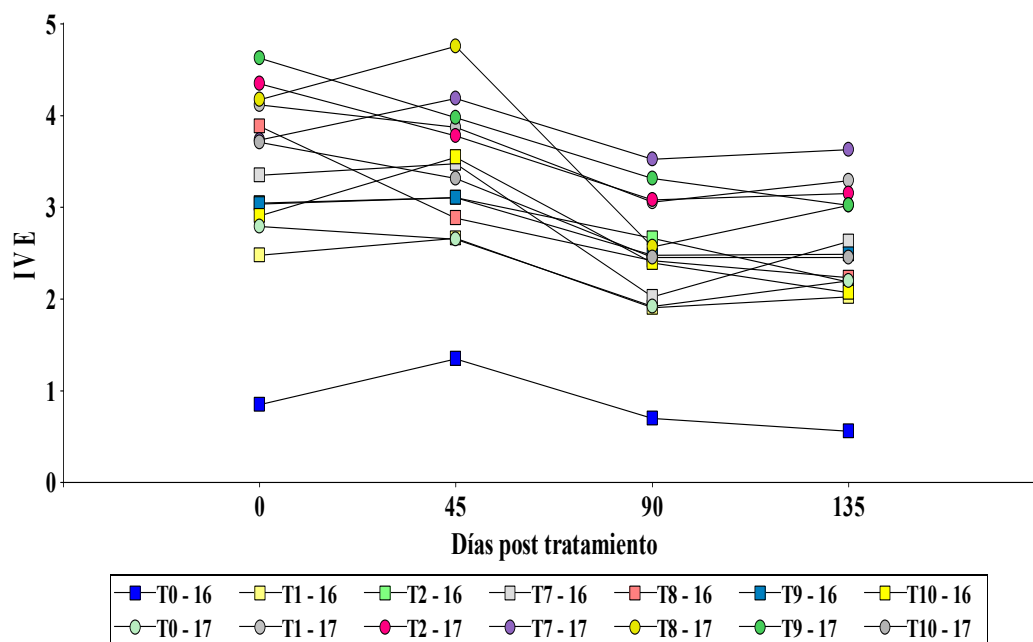


Figura 4.7: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017 sometidas a diferentes tratamientos de *priming*. Promedio de las dos condiciones de almacenamiento.

En cuanto a las condiciones de almacenamiento, tal se observa en la Figura 4.8, el análisis de la interacción condición de almacenamiento \times tiempo arrojó como resultado que hasta los 45 DPT el IVE se mantuvo y sin diferencias significativas entre las dos condiciones. A los 90 DPT se observa una disminución para esta variable en condiciones de TA, tendencia que continúa hasta los 135 DPT. Sin embargo las semillas almacenadas bajo CC mantienen su IVE original hasta los 135 DPT.

Las tendencias en el comportamiento del IVE observadas tanto en la Tabla 4,4; la Figura 4.7 y la Figura 4.8 responden a un patrón lógico en los procesos de deterioro y envejecimiento de semillas, los que normalmente son exacerbados cuando las condiciones de almacenamiento son infra óptimas (TA).

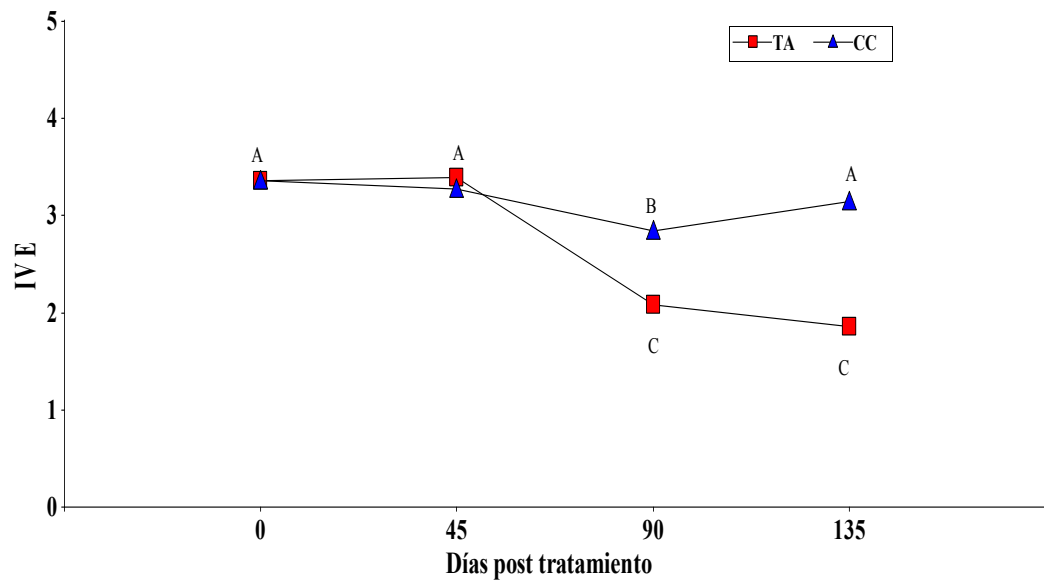


Figura 4.8: Índice de velocidad de emergencia (IVE) en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' almacenadas a temperatura ambiente (TA) y en condiciones controladas (CC). Resultados promedio de diferentes tratamientos de *priming* y años de cosecha. Letras distintas indican diferencia significativa al 5%.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, permiten confirmar la hipótesis presentada. Las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' tratadas con *priming* mantienen su calidad fisiológica durante el almacenamiento. En cuanto a la viabilidad medida por test de tetrazolio se vio que hasta los 45 DPT las condiciones de almacenamiento fueron neutras, pero que a partir de los 90 DPT hubo una diferencia marcada a favor de las semillas almacenadas en CC, las cuales llegaron a los 135 DPT en igualdad de condiciones o con una leve disminución en relación al inicio. Este comportamiento fue el mismo tanto para el testigo sin tratar como para los distintos tratamientos de *priming*. Resultados satisfactorios con el almacenamiento en frío fueron reportados por Alarcón, Lotero y Escobar (1969) en las especies forrajeras *Dichantium aristatum*, *Panicum maximum* e *Hyparrhenia rufa*, encontrando los mayores resultados de germinación para *Dichantium* a los 139 días, para *Panicum* a los 160 días y para *Hyparrhenia* a los 219 días de almacenamiento. También Betancourt y Bernal (1978) recomiendan un almacenamiento en frío entre 160 y 270 días para *Panicum maximum*.

Mientras que hasta los 135 DPT se mantiene como la mejor opción el almacenamiento bajo CC para ambos lotes, se observa que para ese tiempo de almacenamiento a TA la caída de viabilidad fue más brusca para el lote cosecha 2017, el de mayor potencial fisiológico inicial, quedando en igualdad de condiciones con el lote cosecha 2016. En ese sentido Powell *et al.* (2000) sugieren que el *priming* mejora el potencial de almacenamiento en semillas de bajo vigor mediante la reparación del deterioro previamente interrumpido durante el envejecimiento de la semilla. En contraste, el *priming* en semillas de alto vigor conduce al avance de la germinación y a la reducción de la longevidad.

Caseiro (2003) evaluó semillas de tres cultivares de *Allium cepa* y observó en semillas acondicionadas del cultivar 'Petroline' almacenadas a TA (promedio de 23°C y 79% HR) y en CC (20°C y 50% HR) que de manera general los efectos benéficos del acondicionamiento fisiológico persistían hasta los tres meses de almacenamiento, a partir de ese momento se constató una reversión del beneficio obtenido en el desempeño

de las semillas, de modo que las semillas acondicionadas pasaron a presentar comportamientos semejantes o inferiores al testigo. Mientras que para los cultivares Primavera y Crioula Mercosul los efectos benéficos se mantuvieron hasta los nueve meses de almacenamiento. Por lo que la autora concluye que el desempeño de las semillas durante el almacenamiento después del acondicionamiento fisiológico depende del genotipo utilizado y que en general el almacenamiento en condiciones controladas permite la conservación del potencial fisiológico de semillas después del acondicionamiento.

El comportamiento de la variable poder germinativo fue muy similar al de viabilidad. Hasta los 45 DPT las semillas almacenadas tanto en CC como a TA fueron superiores al testigo sin diferencia entre tratamientos, a partir de los 90 DPT se observa una disminución de los valores en las semillas almacenadas a TA. En la última evaluación a los 135 DPT esa diferencia a favor de los tratamientos almacenados en CC se hace aún mayor, probablemente debido a una disminución en el número de semillas muertas. De modo similar, Matías y Bilbao (1984) mostraron que *Cenchrus ciliaris* y *Chloris gayana* fueron favorecidas por el almacenamiento en frío, mostrando diferencias en la germinación de las semillas con relación al comienzo del experimento. Resultados similares fueron reportados por Febles y Padilla (1975) para *Panicum maximum*, Bilbao *et al.* (1978) para *Cenchrus ciliaris* y por Bilbao y Matías (1979) para *Chloris gayana*.

Para la variable EG o primer recuento de germinación se observó una disminución generalizada a partir de los 90 DPT, siendo ésta más pronunciada para los tratamientos almacenados a TA y perteneciente al lote cosecha 2017. La tendencia en la disminución de la EG observada en la Figura 4.6 responde al comportamiento fisiológico típico en semillas en proceso de envejecimiento en las que el vigor decae durante el almacenamiento pos cosecha, expresando además la condición más estresante que representa el almacenamiento natural (TA) en comparación al CC. Aunque no fuera objeto de estudio de esta investigación, sería posible inferir que las semillas más jóvenes desarrollaron procesos de dormición secundaria luego de los 90 DPT, atendiendo a un mecanismo natural de preservación de la viabilidad de las semillas ante condiciones estresantes pos cosecha. De todas maneras, tal comportamiento queda

enmascarado al observar el valor final de PG, razón por la cual adquiere importancia la valoración del IVE.

Sin embargo en el vigor medido a través del IVE solo se observó esa disminución en condiciones de TA, mientras que el almacenamiento en CC mantuvo los valores de IVE originales hasta los 135 DPT. Por otro lado, en esta variable el lote cosecha 2017 presentó mayores valores que el 2016 hasta la última evaluación. Durante el almacenamiento, al deterioro ocasionado por las transformaciones fisiológicas propias de la naturaleza biológica de las semillas (Peretti, 1994) se le puede añadir el efecto de diversas sustancias aplicadas durante el acondicionamiento (Mc Donald, 1999). Estos tratamientos, podrían acelerar o frenar el deterioro, dependiendo de su capacidad de respetar los atributos de calidad de las semillas (Peretti, 1994). Esta idea podría explicar el efecto negativo que se vio en el capítulo anterior de este trabajo de tesis, donde el uso de KNO_3 en los tratamientos de *priming* afectó la viabilidad de las semillas de *Setaria sphacelata*.

Malek *et al.* (2019) evaluaron el efecto de hidro y osmo *priming* sobre la longevidad de semillas de tres cultivares de *Brassica napus* almacenando las semillas a 15, 25, 35 y 45°C con 6 y 9% de humedad. El *hidropriming* mejoró la vida útil de las semillas de colza pero el efecto no fue consistente entre cultivares, contenido de humedad y temperatura. Sin embargo, el efecto del *osmopriming* perjudicó la longevidad de las semillas en comparación al control. Los beneficios del *priming* pueden deberse a las actividades de reparación, a crear “memoria de *priming*” para hacer frente al estrés posterior y al metabolismo activo, y los efectos nocivos pueden explicarse por la reducción de la tolerancia a la desecación, que finalmente conduce a la susceptibilidad del lote de semillas al envejecimiento (Ventura *et al.*, 2012; Chen y Arora, 2013). Malek *et al.* (2019) concluyen que la utilidad del *priming* para aumentar la longevidad de las semillas puede depender del cultivar y de la condición inicial del lote de semillas, en el caso de *Setaria sphacelata*, para el tiempo evaluado, se observó una mayor influencia de las condiciones de almacenamiento más que de la condición inicial de los lotes.

En base a los resultados obtenidos en este capítulo surgen las siguientes:

CONCLUSIONES

La viabilidad por tetrazolio en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes años de cosecha almacenadas en condiciones controladas se mantuvo hasta los 135 días. En condiciones de almacenamiento en ambiente natural, se observa una disminución generalizada en los todos tratamientos de *priming* ensayados.

El poder germinativo de las semillas cosecha 2016 y 2017 tratadas con agentes imbibitorios seleccionados y luego almacenadas en condiciones controladas fue superior al testigo, manteniéndose esa tendencia hasta los 135 días. El almacenamiento a temperatura ambiente tiene un comportamiento similar al indicado para viabilidad por tetrazolio.

El vigor medido a través del primer recuento o energía germinativa evidenció una disminución generalizada en todos los tratamientos y condiciones de almacenamiento. Pese a la disminución del primer conteo en condiciones controladas, los tratamientos probados superaron al testigo.

Las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' de diferentes cosechas, almacenadas en condiciones controladas mantuvieron el IVE hasta los 135 días de almacenamiento para todos los tratamientos probados, superando siempre al testigo. A temperatura ambiente, las semillas almacenadas disminuyeron su IVE a los 135 días en la mayoría de los tratamientos considerados. En ambas condiciones de almacenamiento, el lote 2017 mostró superior IVE que el lote 2016.

Se concluye que todos los tratamientos de *priming* con agua y GA₃ ensayados en este capítulo fueron eficientes para mantener la viabilidad y mejorar la respuesta germinativa en los dos lotes de *Setaria sphacelata* evaluados. Todos los tratamientos tuvieron un comportamiento homogéneo, y al no hallarse diferencias significativas entre ellos, el *hidropriming* resulta el más promisorio debido a su bajo costo, sencillez de aplicación y la factibilidad de llevarlo a la práctica a campo. Si fuera necesario un

almacenamiento post tratamiento, hacerlo bajo condiciones controladas sería lo más recomendable, ya que hasta los 135 días se mantendría la calidad de las semillas.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alarcón M. E., Lotero C. and Escobar R. 1969. Production of seed from Angleton grass, Jaragua grass and Guinea grass. *Agricultura tropical*, 25: 206-14.
- Betancourt L. y Bernal E. T. 1978. Efecto de las zonas ecológicas y del almacenamiento en la germinación de las semillas de pasto guinea (*Panicum maximum*, Jacq.) y puntero (*Hyparrhenia rufa*) Semillas. 3:37.
- Bewley J. D. and Black M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Springer Verlag, New York. 375p.
- Bilbao B., Gómez M. E., Matías C. y Santana G. 1978. Efecto del método, tiempo de secado y almacenamiento sobre la germinación de la semilla de *Cenchrus ciliaris* (L) cv. Biloela. *Pastos y Forrajes*, 1 (3): 381- 395.
- Bilbao B. y Matías C. 1979. Efecto de las temperaturas alternas en la germinación de las semillas de *Cenchrus ciliaris* cv. Biloela. *Pastos y Forrajes*, 2 (3): 411- 419.
- Butler L. H., Hay F. R., Ellis R. H., Smith R. D. and Murray T. B. 2009. Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. *Annals of Botany*, 103: 1261-1270.
- Caseiro R. 2003. Métodos para acondicionamiento fisiológico de semillas de cebolla e influencia del secado y almacenamiento. Tesis Doctoral. Escuela superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidad de San Pablo. Estado de San Pablo, Brasil. 22-35 pp.
- Carpenter W. J., Ostmark E. R. and Cornell J. A. 1995. Evaluation of temperature and moisture content during storage on the germination of flowering annual seed. *HortScience*, 30(5): 1003-1006.
- Chen K. and Arora R. 2013. Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 94: 33-45.
- Dearman J., Brocklehurst P. A. and Drew R. L. K. 1986. Effects of osmotic priming and ageing on onion seed germination. *Annals of Applied Biology*, 108: 639-648.
- Di Rienzo J. A., Casanoves F., Balzarini M. G., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C. W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Febles G. y Padilla C. 1975. Efecto del almacenamiento y las temperaturas alternas sobre la germinación de hierba guinea. 1er. Simposio Nacional de Semillas. La Habana, Cuba.
- Gurusinghe S., Powell A. L. T. and Bradford K. J. 2002. Enhanced expression of BiP is associated with treatments that extend storage longevity of primed tomato seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 528-534.
- Hill H. J, Cunningham J. D., Bradford K. J. and Taylor A. G. 2007. Primed lettuce seeds exhibit increased sensitivity to moisture content during controlled deterioration. *HortScience*, 42: 1436-1439.
- Hussain S., Zheng M., Khan F., Khaliq A., Fahad S., Peng S. and Nie L. 2015. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. *Scientific Reports* 5, Article number 8101.
- Kim D. H., Pavon M. M. and Cantliffe D. J. 2000. Germination of primed, pelleted, and film-coated lettuce seeds before and after storage. In *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 113: 256-259.

- Liu Y., Bino R. J., Van Der Burg W. J., Groot S. P. C. and Hilhorst W. M. 1996. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Seed Science Research*, New Zealand, 6: 49-55.
- Malek M., Ghaderi-Far F., Torabi B., Sadeghipour H. R. and Hay F. R. 2019. The influence of seed priming on storability of rapeseed (*Brassica napus*) seeds. *Seed Science and Technology*, 47(1): 87-92.
- Matías C. y Bilbao B. 1984. Influencia del almacenamiento sobre la germinación de las semillas de algunos pastos tropicales. I. Almacenamiento al frío. *Pastos y Forrajes*, 7(1): 59-68.
- Mc Donald M. B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed science and Technology*, 27: 177-237.
- Nascimento W. M. 2009. Condicionamiento osmótico de sementes de hortaliças. Ed. *Tecnologia de Sementes de Hortaliças*. Brasília, Embrapa Hortaliças, 345-396 pp.
- Peretti A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed Hemisferio Sur. Buenos aires, Argentina. 197-216 pp.
- Powell A. A., Yule L. J., Jing H. C., Groot S. P., Bino R. J. and Pritchard H. W. 2000. The influence of aerated hydration seed treatment on seed longevity as assessed by the viability equations. *Journal of Experimental Botany*, 51: 2031-2043.
- Savino G., Haigh P. M. and Leo P. 1979. Effects of presoaking upon seed vigour and viability during storage. *Seed Science and Technology*, 7: 57-64.
- Schwember A. R. and Bradford K. J. 2005. Drying rates following priming affect temperature sensitivity of germination and longevity of lettuce seeds. *HortScience*, 40: 778-781.
- Ventura L., Donà M., Macovei A., Carbonera D., Buttafava A., Mondoni A., Balestrazzi A. 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 196-206.
- West T. B., Welch K. B., Galecki A. T. 2015. *Linear mixed models: a practical guide using statistical software*. 2 ed. Chapman & Hall/CRC.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES GENERALES

Sobre el efecto de distintos tratamientos de *priming* y del posterior almacenamiento sobre la calidad fisiológica de dos lotes de *Setaria sphacelata* 'Narok'

- La germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok' mostró un patrón de absorción de agua característico a una curva trifásica, en la que se distinguen las tres etapas del modelo teórico.
- La incorporación de KNO₃ 0,2% y GA₃ 0,02% y 0,05% como agentes imbibitorios no modificó el comportamiento de la curva trifásica de germinación de *Setaria sphacelata* 'Narok'.
- Las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' evaluadas en el presente trabajo respondieron satisfactoriamente a los distintos tratamientos de *priming* con agua y GA₃, manteniendo su viabilidad y mejorando su desempeño en los atributos poder germinativo, energía germinativa e índice de velocidad de emergencia, superando en todos los casos al testigo sin tratar en pruebas de laboratorio.
- El uso de KNO₃ 0,2% no es recomendable en tratamientos de *priming* en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok'. La inmersión de las semillas en solución de KNO₃ 0,2% por más de 24 horas produjo la muerte de embriones, lo que se visualizó con niveles de viabilidad prácticamente nulos en ambos lotes evaluados.
- La variante de las técnicas de HD que implican dos ciclos de hidratación para que las semillas alcancen un nivel homogéneo de humedad no sería necesaria en *Setaria*

sphacelata 'Narok', ya que no se hallaron diferencias significativas respecto a un único ciclo de hidratación.

- El almacenamiento de las semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' post tratamientos de *priming* en condiciones controladas (5-10°C) mantuvo la calidad de las mismas en cuanto a su viabilidad, poder germinativo e índice de velocidad de emergencia hasta los 135 días post tratamiento.
- Los satisfactorios resultados de laboratorio obtenidos en este trabajo de tesis señalan que los tratamientos de *priming* con agua serían los más adecuados para semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok'. El relativo bajo costo de implementación y la factibilidad de extender su aplicación a la práctica agrícola convierten a estos tratamientos en una innovación en la implantación de pasturas.

FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Dada la importancia de desarrollar innovaciones que permitan mejorar los procesos de implantación de pasturas perennes, y a partir de los hallazgos de esta tesis, se proponen como futuras líneas de investigación

a) La aplicación de tratamientos de *priming* con agua en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' utilizando métodos idénticos a los desarrollados en este estudio que permitan visualizar el comportamiento de la germinación en condiciones de siembra a campo.

b) El desarrollo de prototipos de equipamientos que permitan replicar las condiciones de los tratamientos de hidratación deshidratación con agua en semillas de *Setaria sphacelata* 'Narok' a escala comercial.

ANEXO 1: Resolución N° 350 de INASE

Estándar de comercialización de especies forrajeras subtropicales



Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca
Instituto Nacional de Semillas

"2011 - Año del Trabajo Decente, la Salud y Seguridad de los Trabajadores"

ANEXO

Especie	% SP	% SE	% PG	Plántulas germinadas/kg	% Viabilidad (TZ)
<i>Chloris gayana</i> Kunth (Grama rhodes)	80	5	20	400.000	---
<i>Cenchrus ciliaris</i> L. (Fascicles) (Buffel grass)	80	5	20	---	35
<i>Setaria sphacelata</i> (Schumach.) Stapf & C. E. Hubb (=Setaria anceps) (Setaria)	70	5	40	---	50
<i>Panicum maximum</i> Jacq (Gatton panic)	90	5	15	---	25
<i>Panicum coloratum</i> L.(Panicum)	80	5	15	---	25
<i>Digitaria eriantha</i> Steud	80	5	15	---	25
<i>Brachiaria brizantha</i> (Hochst ex A. Rich) Stapf	80	5	40	---	60
<i>Brachiaria humidicola</i> (Rendle) Schweick	80	5	25	---	50
<i>Brachiaria decumbens</i> Stapf	80	5	35	---	50
<i>Dichantium aristatum</i> (Poir.) C.E. Hubb.	40	5	30	---	---
<i>Urochloa mosambicensis</i> (Hack.) Dandy	40	5	15	---	---
<i>Leucaena leucocephala</i> (Lamb) de Witt (Leucaena)	60	5	20	---	---

Nota: La incorporación de las categorías "Plántulas germinadas por Kg" y "% Viabilidad (TZ)" no reemplaza al valor de poder germinativo, pero ofrecen valores de referencia a tener en cuenta para estimar la calidad de la semilla contenida en el envase cuando esta presente problemas de dormancia.

000350

ANEXO 2: obtención de las curvas de imbibición de *Setaria sphacelata* 'Narok' cosecha 2016 y 2017. Seguimiento del incremento de peso

	Peso en gramos Lote cosecha 2016			
Tiempo (horas)	Agua	KNO₃ 0,2%	GA₃ 0,02%	GA₃ 0,05%
0	1,0024	1,0023	1,0033	1,0026
4	1,0680	1,0660	1,0703	1,0751
8	1,0933	1,0864	1,0905	1,0972
12	1,1160	1,0976	1,1041	1,1078
24	1,1691	1,1492	1,1532	1,1561
36	1,1780	1,1550	1,1566	1,1624
48	1,1782	1,1554	1,1605	1,1617
60	1,1790	1,1532	1,1630	1,1581
72	1,1783	1,1560	1,1470	1,1596
84	1,1700*	1,1557	1,1732	1,1890*
96	1,2088	1,1690*	1,1805*	1,2046
108	1,2338	1,1985	1,2177	1,2480
120		1,2396	1,2538	

*Momento en que se observaron las primeras radículas

ANEXO 2: continuación

Tiempo (horas)	Peso en gramos Lote cosecha 2017			
	Agua	KNO ₃ 0,2%	GA ₃ 0,02%	GA ₃ 0,05%
0	1,0028	1,0026	1,0030	1,0025
4	1,0894	1,0979	1,0923	1,1036
8	1,1072	1,1154	1,1178	1,1262
12	1,1242	1,1282	1,1287	1,1351
24	1,1560	1,1585	1,1578	1,1560
36	1,1507	1,1566	1,1560	1,1600
48	1,1520	1,1568	1,1550	1,1590
60	1,1500	1,1551	1,1552	1,1596
72	1,1750*	1,1620	1,1738*	1,1785*
84	1,1795	1,1830*	1,2166	1,2150
96	1,2220	1,2294	1,2327	1,2425
108		1,2330		

*Momento en que se observaron las primeras radículas