



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

**CALIDAD DE SEMILLAS DE
Lolium perenne L. OBTENIDAS EN DISTINTAS
FECHAS DE SIEMBRA Y DE COSECHA**

Rodrigo Fernández

**Tesis
Para Optar el Grado Académico de
Magister en Ciencias Agropecuarias
Mención: Tecnología de semillas**

Córdoba, 2023



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

CALIDAD DE SEMILLAS DE
***Lolium perenne* L. OBTENIDAS EN DISTINTAS FECHAS**
DE SIEMBRA-COSECHA

Rodrigo Fernández

Comisión Asesora de Tesis

Director: Ing. Agr. (Dr.) Juan Pablo Renzi

Asesores: Ing. Agr. (Mgter.) César Germán Agüero (Codirector)

Ing. Agr. (Dr.) Miguel Angel Cantamutto

Tribunal Examinador de Tesis

Ing. Agr. (Dr.) Miguel Ángel Cantamutto

Ing. Agr. (Dra.) Liliana Ferrari

Ing. Agr. (Mgter.) Jimena Elisa Martinat

Presentación formal académica

Octubre 2023

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Semillas (INASE) que me permitió y brindó los recursos financieros para realizar los estudios de posgrado.

A mi director de tesis, Juan Pablo Renzi por el acompañamiento, dedicación, entusiasmo y constante apoyo.

A mis asesores, César Germán Agüero y Miguel Ángel Cantamutto, por sus valiosos aportes, empeño y aliento para la culminación de esta tesis.

A Susana Aráoz por su acompañamiento y contribuciones en las primeras etapas de la tesis.

A la maestría que me permitió conocer personas maravillosas, mis amigas: Alejandra Bornard, Silvana Vélez y Yesmina Lescano.

A la familia Ducos.

A mi familia por ser guía y soporte a lo largo del camino.

RESUMEN

La fecha de siembra de los cultivos destinados para la producción de semillas define las condiciones agroclimáticas en las cuales la semilla germinará y se desarrollará la futura planta. La calidad de las semillas es afectada por las condiciones climáticas y nutricionales, principalmente durante su formación y maduración en la planta madre. Los objetivos del presente estudio fueron, determinar la fecha óptima de siembra de *Lolium perenne* L. para lograr la mejor calidad de semillas, relacionar dicha calidad de semillas con las condiciones ambientales durante su formación y desarrollo en la planta madre, estudiar distintos métodos de determinación de calidad de semillas en laboratorio y su relación con la emergencia a campo. Para determinar el efecto de las fechas de siembra sobre la calidad de las semillas cosechadas se realizaron ensayos a campo durante los años 2014 y 2015 con dos cultivares 'ULTRA' y 'RC' y cinco fechas de siembras realizadas aproximadamente cada 15 días desde marzo hasta junio. Durante el desarrollo y maduración de las semillas se registraron las precipitaciones y las temperaturas medias diarias. Luego de la cosecha, dentro de un periodo menor a 30 días, se evaluó la calidad de la semilla mediante ensayos de germinación. Las semillas cosechadas se almacenaron por 9 meses en condiciones controladas de temperatura y humedad; se realizaron ensayos de calidad en laboratorio y sus resultados fueron comparados con ensayos de emergencia a campo. Los resultados de los ensayos de germinación de las semillas de cosecha reciente resultaron variables debido principalmente a la presencia de semillas con dormición. El primer conteo de la prueba de germinación estándar y la longitud aérea de plántulas a los 10 días fueron los ensayos que mejor se relacionaron con la emergencia de las plántulas en el campo. No se encontraron resultados claros que permitan determinar una fecha de siembra óptima para lograr una mejor calidad de semilla, debido a que la misma estuvo influenciada por las condiciones ambientales durante la fase de formación y madurez de la semilla. El efecto de las condiciones ambientales a campo sobre la calidad de las semillas fue variable para los diferentes genotipos y fechas de siembra. El estrés por altas temperaturas (> 29 °C) durante el desarrollo de la semilla, medido como unidades de estrés térmico, redujo la dormición. El nivel de dormición aumentó con menores temperaturas medias y menores amplitudes térmicas diarias, durante el desarrollo de las semillas, a diferencia de lo hallado en la relación con las precipitaciones donde la dormición aumentó con su incremento.

Palabras claves: raigrás perenne; ambiente materno; dormición; vigor de semillas.

ABSTRACT

The sowing date of crops intended for seed production defines the agro-climatic conditions under which the seed will germinate and the future plant will develop. Seed quality is affected by climatic and nutritional conditions, mainly during seed formation and maturation on the mother plant. The objectives of the present study were to determine the optimum sowing time for *Lolium perenne* L. to achieve the best seed quality, to relate seed quality to environmental conditions during seed formation and development on the mother plant, to study different methods of determining seed quality in the laboratory and their relationship with emergence in the field. To determine the effect of sowing dates on the quality of harvested seeds, field trials were carried out during 2014 and 2015 with two cultivars 'ULTRA' and 'RC' and five sowing times carried out approximately every 15 days from March to June. During seed development and maturation, rainfall and average daily temperatures were recorded. After harvest, within a period of less than 30 days, seed quality was assessed by germination tests. The harvested seeds were stored for 9 months under controlled conditions of temperature and humidity; quality tests were carried out in the laboratory and their results were compared with field emergence tests. The results of germination tests on recently harvested seeds were variable, mainly due to the presence of dormant seeds. The first count of the standard germination test and the aerial length of seedlings at 10 days were the tests that were best related to seedling emergence in the field. No clear results were found to determine an optimal sowing date for better seed quality, because seed quality was influenced by environmental conditions during the seed formation and maturity phase. The effect of field environmental conditions on seed quality was variable for the different genotypes and sowing dates. High temperature stress ($> 29\text{ }^{\circ}\text{C}$) during seed development, measured as heat stress units, reduced dormancy. The level of seeds dormancy (SD) decreased with both, higher mean daily temperature, and thermal amplitudes ones during seed development. Unlike of that SD increased when rainfall increase.

Keywords: perennial ryegrass; maternal environment; dormancy; seed vigor.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
BIBLIOGRAFÍA	14
CAPÍTULO II	20
INFLUENCIA DE LAS FECHAS DE SIEMBRA-COSECHA SOBRE COMPONENTES DE CALIDAD DE SEMILLAS DE <i>Lolium perenne</i> L.	20
INTRODUCCIÓN	20
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Material vegetal y sitio experimental	24
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIÓN	36
BIBLIOGRAFÍA	37
CAPÍTULO III	41
EFECTO DEL AMBIENTE MATERNO SOBRE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS DE <i>Lolium perenne</i> L.	41
INTRODUCCIÓN	41
MATERIALES Y MÉTODOS	45
Material vegetal	45
Análisis estadístico	45
RESULTADOS	46
DISCUSIÓN	52
CONCLUSIÓN	55

CAPÍTULO IV	60
MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CALIDAD DE SEMILLAS DE <i>Lolium perenne</i> L. Y SU RELACIÓN CON LA EMERGENCIA A CAMPO	60
INTRODUCCIÓN	60
MATERIALES Y MÉTODOS	67
Material vegetal	67
Ensayos de laboratorio	67
Análisis y diseño estadístico	71
RESULTADOS	72
DISCUSIÓN	77
CONCLUSIÓN	80
BIBLIOGRAFÍA	81
 CAPÍTULO V	 85
CONCLUSIONES GENERALES	85
LINEAMIENTOS FUTUROS DE INVESTIGACIÓN	86

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Fechas de siembra, espigazón y cosecha de los ensayos a campo para ‘ULTRA’ y ‘RC’ en los años 2014 y 2015.....	26
Tabla 2.2. Porcentaje de plántulas normales al primer conteo (1 ^{er} C) y al conteo final (PN) del ensayo de germinación de semillas de <i>Lolium perenne</i> de cosecha reciente de los cv. ‘ULTRA y ‘RC’ para cinco fechas de siembra (FS1, FS2, FS3, FS4, FS5) de dos años de cosecha.....	30
Tabla 2.3. Peso de mil semillas promedio en cada fecha de siembra para los años 2014 y 2015 en <i>Lolium perenne</i> ‘ULTRA’ y ‘RC’.	34
Tabla 4.1. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el ensayo de germinación y otros ensayos de laboratorio para lotes de semillas de <i>Lolium perenne</i> en ‘ULTRA’ y ‘RC’.	72
Tabla 4.2. Número de grupos con diferencias significativas y estadísticos (promedio y rangos) de ensayos de calidad en lotes de semillas de <i>Lolium perenne</i> ‘ULTRA’ y ‘RC’. ..	74
Tabla 4.3. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre ensayos de laboratorio y plántulas emergidas a campo de todos los lotes de semillas de <i>Lolium perenne</i> de ‘ULTRA’ y ‘RC’ almacenadas luego de 9 meses.....	76

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1.1. <i>Lolium perenne</i> L. A: Plantas en estado vegetativo; B: Espiga; C: Antecios fértiles.	3
Fig. 1.2. Zona de producción de semillas de <i>Lolium perenne</i> en la República Argentina	5
Fig. 1.3. Evolución histórica de la superficie sembrada del cultivo de soja en la República Argentina	6
Fig. 1.4. Expansión geográfica del área sembrada con soja en la Argentina para la campaña 2021 – 2022.	6
Fig. 2.1. Ensayos de fechas de siembra de <i>L. perenne</i>	25
Fig. 2.2. Temperaturas medias (T° media) y precipitaciones acumuladas mensuales en los años 2014 y 2015 para la localidad de Coronel Suárez, pcia. de Buenos Aires, Argentina.	30
Fig. 2.3. Relación entre plántulas normales (PN) y semillas con dormición (SD) a los 10 días del ensayo de germinación de <i>Lolium perenne</i> en ‘ULTRA’ (gris) y ‘RC’ (negro) para todos los tratamientos (cosecha reciente)	31
Fig. 2.4. Semillas con dormición (valores promedio) halladas en el ensayo de germinación para cada fecha de siembra para los años 2014 y 2015 en <i>Lolium perenne</i> ‘ULTRA’ y ‘RC’.	32
Fig. 2.5. Peso de mil semillas promedio y desvío estándar para todos los tratamientos en <i>Lolium perenne</i> para ‘ULTRA y ‘RC’	33
Fig. 3.1. Ensayos a campo de <i>Lolium perenne</i> conducidos en el año 2014	47
Fig. 3.2. Temperaturas diarias promedio (máximas y mínimas en $^{\circ}$ C), precipitación (mm), duración (días) del periodo de desarrollo de las semillas de <i>Lolium perenne</i> en ‘ULTRA’ y ‘RC’ para las 5 fechas de siembra (1° – 5°) (barras horizontales) en Coronel Suárez.	48

Fig. 3.3. Temperatura media diaria (°C) y precipitación acumulada (mm) durante el desarrollo de las semillas de <i>L. perenne</i> para cada fecha de siembra (1°–5°) en Coronel Suárez en ‘ULTRA’ y ‘RC’.....	49
Fig. 3.4. Relación entre las semillas con dormición (promedio y desvío estándar) y las condiciones ambientales durante el desarrollo de semillas de <i>L. perenne</i> para ‘ULTRA’ y ‘RC’ en Coronel Suárez.....	51
Fig. 4.1. Temperaturas medias mensuales registradas durante los años 2015 y 2016 en la E. E. A. INTA de Hilario Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.	70
Fig. 4.2. Precipitaciones mensuales acumuladas registradas durante los años 2015 y 2016 en la E. E. A. INTA de Hilario Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.	70
Fig. 4.3. Emergencia promedio de plántulas a campo realizado con lotes de semillas de <i>Lolium perenne</i> ‘ULTRA’ y ‘RC’ provenientes de post-almacenamiento por 9 meses, en la E. E. A. INTA de H. Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.	75
Fig. 4.4. Relación entre dormición de semillas de <i>Lolium perenne</i> ‘ULTRA’ y ‘RC’ en post-almacenamiento (9 meses a 20 ± 2 °C, HR 40 %). A: Semillas con dormición post-cosecha (cosecha reciente) de ‘ULTRA’ y ‘RC’ y; B: Emergencia de plántulas a campo para ‘ULTRA’ y ‘RC’ (promedio y desvío estándar) en la E. E. A. INTA de H. Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.....	77

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

↔	Alternancia
ANOVA	Análisis de la varianza
ISTA	Asociación Internacional de Análisis de Semillas
cm	Centímetros
CT	<i>Cold Test</i>
CE	Conductividad eléctrica
cv.	Cultivar
DMS	Diferencia mínima significativa de la prueba LSD
Disp.	Disposición
EPC	Emergencia de plántulas a campo
G	Ensayo de germinación
FS	Fecha de siembra
Fig.	Figura
°C	Grados centígrados
°Cd	Grados días
g	Gramos
ha	Hectárea
h	Horas
HR	Humedad relativa
km.h ⁻¹	Kilómetros por hora
LAP	Longitud aérea de plántula
LRP	Longitud de raíz de plántula
LTP	Longitud total de plántula
>/<	Mayor/Menor

m	Metros
MAGYP	Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación Argentina
mg	Miligramos
ml	Mililitros
mm	Milímetro
KNO ₃	Nitrato de potasio
N°	Número
n	Número de registros de la muestra de estudio
ppm	Partes por millón
PN	Plántulas Normales
PA	Plántulas Anormales
PSP	Peso seco de plántula
PMS	Peso de mil semillas
p/vol	Peso/Volumen
%	Porcentaje
1 ^{er} C	Primer conteo de plántulas normales
pcia	Provincia
p	Probabilidad
LSD	Prueba estadística de Fisher
SD	Semillas con dormición
SNS	Servicio Nacional de Semillas
S.A.	Sociedad Anónima
t	Toneladas
U.E.	Unidades Experimentales
UET	Unidad de estrés térmico
T _{máx}	Temperatura máxima diaria
T _{mín}	Temperatura mínima diaria

INTRODUCCIÓN GENERAL

El género *Lolium* pertenece a la familia Poaceae e incluye numerosas especies templadas. Posee su centro de origen en el Norte de África, Asia templada, Asia tropical y Europa, pero se ha distribuido a lo largo del mundo; en Australia, Nueva Zelanda, Sud África, Sud América, América Central y América del Norte (Terrel, 1968; Cabrera, 1970; Cunningham, Blumenthal, Anderson, Prakash K y Leonforte, 1994; Balfourier, Imbert y Charmet, 2000; Inda Aramendía, 2005; López Díaz, 2009; USDA, 2015). Dentro de este género, Terrel (1966, 1968) clasificó ocho especies, de las cuales siete son anuales: *Lolium multiflorum* Lam., *Lolium rigidum* Gaudin, *Lolium temulentum* L., *Lolium remotum* Schrank, *Lolium canariense* Steud, *Lolium persicum* Boiss & Hohen ex Boiss, *Lolium subulatum* Vis.; y una perenne: *Lolium perenne* L.

Todas las especies del género *Lolium* son diploides con $2n = 2x = 14$ y en la naturaleza no se encuentran formas poliploides (Terrel, 1968). Sin embargo, en especies cultivadas de *L. multiflorum* y *L. perenne* pueden existir especies tetraploides (Beddows, 1967; Inda Aramendía, 2005).

L. multiflorum, *L. perenne* y *L. rigidum* son alógamas autoincompatibles, con fecundación anemófila y el resto de las especies son autógamas (Terrel, 1968; Balfourier *et al.*, 2000). Solo estas tres especies tienen impacto económico; *L. perenne* y *L. multiflorum* están destinadas para ensilaje, pastoreo y césped (López Díaz, 2009) mientras que *L. rigidum* es considerada como maleza, reduciendo la productividad de los cultivos (Inda Aramendía, 2005).

Lolium perenne fue citada por primera vez en la literatura agrícola, en Inglaterra en el año 1677 (Inda Aramendía, 2005). Se la conoce vulgarmente con los nombres de “ryegrass perenne”, “ryegrass inglés”, “césped inglés”, “ballico” y “ballica inglesa” (Inda Aramendía, 2005). La planta es laxamente cespitosa con rizomas breves formando matas densas y compactas, cañas floríferas glabras y lisas, gráciles, de 30 a 70 centímetros. Láminas estrechas, tiernas, lineales y lustrosas en la cara inferior. Espigas glabras, gráciles, de 10 a 20 centímetros de largo, con espiguillas 6-12 floras (antecios). Cada espiguilla está sostenida por una sola gluma, con excepción de la espiguilla terminal que tiene dos. El fruto es un carióspside y se encuentra fuertemente envuelto por las glumelas (lemma y palea) de 4 milímetros de largo, con lemma mútica (Parodi, 1959; Langer, 1990) (Figura 1.1). En los protocolos de análisis de las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA, 2023) se consideran como propágulos de *L. perenne* tanto a carióspsides vestidos o como a los sin cubiertas y todos ellos son considerados semillas desde el punto de vista agronómico.

La especie presenta una gran plasticidad, por lo que la morfología de las plantas se ve afectada por las condiciones ambientales en las que crece (Inda Aramendía, 2005). Se puede hibridar con *Festuca pratensis* Huds.: *x Festulolium loliaceum* (Huds) P. Fourn y más raramente con *Festuca arundinacea* Schreb: *x Festulolium holmberii* (Dbrfi.) P. Fourn., así como, con *Lolium multiflorum*: *Lolium x hybridum* Hausskn. Estos híbridos artificiales se utilizan para obtener plantas más resistentes a la sequía (*x Festulolium loliaceum*), más persistentes (*x Festulolium holmberii*) o más productivas (*Lolium x hybridum*; Terrel, 1968). Artificialmente, con la aplicación de colchicina, se han desarrollado cultivares tetraploides ($2n = 4x = 28$; Myers, 1939), que poseen una mayor adaptación y tolerancia a factores limitantes, aumento en la extensión del ciclo de producción, mayor rendimiento de materia seca y valor nutritivo (Castle y Watson, 1971; Hageman, Lantinga, Schlepers y Neuteboom, 1993; López Díaz, 2009).



Fig. 1.1. *Lolium perenne* L. **A:** Plantas en estado vegetativo; **B:** Espiga; **C:** Antecios fértiles.

Se la utiliza como forraje directo o ensilado en planteos ganaderos con elevados requerimientos nutricionales, debido a su alta digestibilidad (Frame, 1989). Produce altos rendimientos de materia seca por hectárea, tiene resistencia al estrés térmico, enfermedades y al pisoteo, posee menor crecimiento en altura y gran capacidad de macollaje, siendo ideal para su utilización en pastoreos (Wilkins, 1991). Posee una amplia aplicación en el establecimiento de céspedes, con intensa coloración foliar y se siembran puros o en mezcla con otras gramíneas, principalmente festucas finas y poas (Thorogood, 2002). Es utilizada en parques y jardines, canchas de golf, tenis y lugares de esparcimiento. Los cultivares para este fin suelen ser diploides y seleccionados para producir gran número de macollos lo que permite un rápido y completo recubrimiento del suelo y mayor persistencia. También se utilizan en la recuperación de espacios degradados, taludes, viñedos y como abonos verdes debido a su rápida implantación y a su sistema radicular extenso y poco profundo (Thorogood, 2002; López Díaz, 2009).

Actualmente en la República Argentina se encuentran inscriptas 120 cultivares en el Catálogo Nacional de Cultivares del Instituto Nacional de Semillas (INASE, 2021), donde un cuarto de las mismas han sido mejorados en nuestro país. El resto de los cultivares fueron introducidos principalmente de Estados Unidos y Nueva Zelanda (INASE, 2021). Según el Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2018 por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de la República Argentina (INDEC) se encontraban implantadas para uso forrajero 66.057 hectáreas de esta especie.

L. perenne se adapta a climas frescos y húmedos; no tolera temperaturas extremas, siendo el rango de temperatura óptima para su crecimiento entre 20 °C y 25 °C; su requerimiento hídrico anual varía entre 457 a 635 milímetros de agua y puede tolerar anegamientos de hasta 25 días. Se desarrolla mejor en suelos fértiles y bien drenados y se adapta a suelos tanto ácidos como alcalinos con pH entre 5,1 - 8,4 con un óptimo de 6,3 (Thorogood, 2002; Carrillo, 2003).

Nuestro país en los últimos años se convirtió en exportador de semillas de diversas especies debido a su extensión y diversidad de ambientes (Secretaría de Planeamiento y Políticas en Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, 2013). La producción de semillas se concentró y adaptó a determinadas regiones, de acuerdo a las especies que se cultivan (Picasso, 1994). Con respecto a la producción de semillas de *L. perenne* la zona más adecuada para ello se distribuye principalmente en el Sud-Oeste y Sud-Este de la provincia de Buenos Aires (Figura 1.2) con 528 hectáreas sembradas para la campaña 2020/2021 (INASE, 2020). Según estadísticas del Instituto Nacional de Semillas para la campaña agrícola 2019/2020 la producción de semilla fiscalizada nacional fue 1089 t y se exportaron 447 t. Toda la producción de semillas exportadas provino de lotes certificados bajo el sistema de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) de cultivares para césped y tuvieron como destino el mercado europeo.

El mercado está en paulatino incremento ya sea tanto para fines forrajeros como para céspedes; siendo muy exigente y demandante en productos de alta calidad ya que posee un elevado valor comercial (Ducos E.; Com. Pers.).



Fig. 1.2. Zona de producción de semillas de *Lolium perenne* en la República Argentina (área delimitada por círculo de línea roja).

Durante los últimos años en Argentina, el avance de los cultivos de verano, especialmente soja (Figura 1.3), provocó que la implantación de cultivos otoñales como trigo, avena y pasturas templadas tales como *L. perenne*, se realicen tardíamente respecto de su fecha óptima (Giancola, Salvador, Covacevich e Iturrio, 2009; Pincén, Viglizzo, Carreño y Frank, 2010; Bragachini *et al.*, 2011). En la Figura 1.4, para un mejor detalle, se observa la distribución en superficie del cultivo de soja sobre la zona de producción de semillas de *L. perenne* (INASE, 2022).

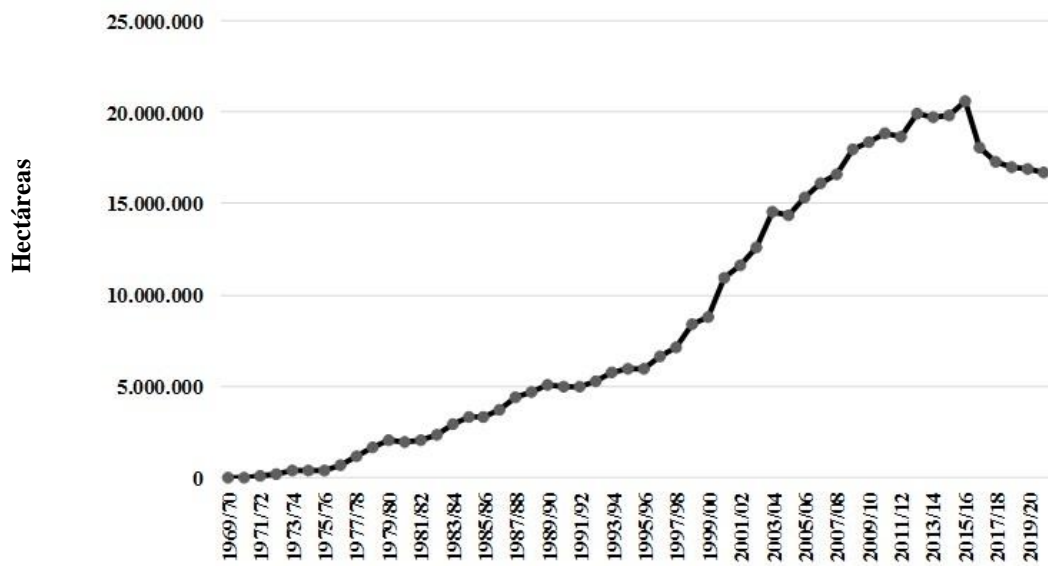


Fig. 1.3. Evolución histórica de la superficie sembrada del cultivo de soja en la República Argentina (Elaboración propia en base a datos del MAGYP, 2021).

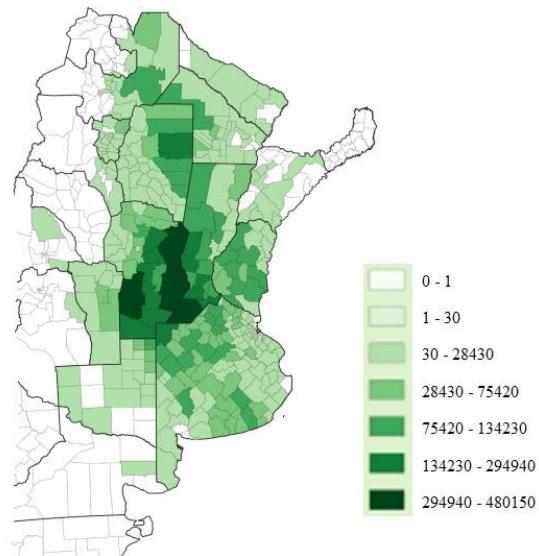


Fig. 1.4. Expansión geográfica del área sembrada con soja en la Argentina para la campaña 2021 – 2022. Escala de colores representan la cantidad de has por departamento/partidos. (Tomado de Informe SISA INASE, 2022).

La problemática de la producción eficiente de semillas comprende diferentes situaciones que deben ser atendidas. Una de ellas es la definición de la fecha de siembra. La fecha de siembra de un cultivo destinado a la producción de semillas define las condiciones agroclimáticas en las cuales la semilla germinará y se desarrollará la futura planta (Carámbula, 1982). La temperatura y la humedad al momento de la siembra deben ser adecuadas para que permitan su germinación y establecimiento (Zhang y Granger, 2013). *L. perenne* requiere un período de bajas temperaturas, inferiores a 10 °C (vernalización), para estimular la fase reproductiva y producir macollos fértiles (Langer, 1972; Macmillan, Blundell y King, 2005). Esto hace que las fechas de siembra temprana de otoño sean las más adecuadas tanto para el establecimiento del cultivo como para la producción de semillas (Castaño, 2005; Dell`Agostino, 2008). Además, tanto en esta especie y sus variedades, así como en otras Poáceas templadas, se encontraron diferencias en la producción de semillas de acuerdo al manejo de las fechas de siembra. Diversos autores afirman que a medida que se retrasa la fecha de siembra en otoño se reducen los rendimientos de semillas (Hill y Watkin, 1975; Hare, Rolston, Falloon y Hickson, 1988; Elgersma, 1990; Warringa y Kreuzer, 1996; Warringa, 1997; Kunelius, McRae, Dürr y Fillmore, 2004; Rolston y Archie, 2005; Hare, Tatsapong, y Saiprasert, 2007).

Además del establecimiento y el rendimiento de semillas, las fechas de siembra definen las condiciones climáticas durante la formación y maduración de las semillas en planta madre que impactan sobre la calidad de la semilla (Gutterman, 2000; Casini, 2007). Benech-Arnold, Fenner y Edwards (1992) demostraron que en semillas de *Sorghum halepense* desarrolladas en condiciones de sequía durante la maduración presentaban mayor poder germinativo. Del mismo modo, semillas de *Aegilops ovata* que se desarrollaron con temperaturas día/noche de 28/22 °C produjeron cariopsis con mayor poder germinativo que las de 15/10 °C (Datta, Evenari y Gutterman, 1972a). Asimismo, Komatsu, Shimizu y Suzuki (1980), en *L. perenne*, hallaron que con temperaturas día/noche de 25/10 °C durante el desarrollo y la maduración de semillas redujeron el peso unitario de las semillas en relación a las que maduraron a 20/10 °C. Las semillas desarrolladas con temperaturas bajas (20/10 °C) incrementaron el vigor, expresado en un mayor peso aéreo de las plántulas (Shimizu y Komatsu, 1980).

Estos factores climáticos, tales como temperatura, radiación, fotoperíodo y suministro de agua y nutricionales durante el desarrollo y maduración de la semilla influyen en la calidad de semilla, debido a la modificación del grado de dormición a cosecha (Fenner, 1991; Wulff, 1995; Baskin y Baskin, 1998; Gutterman, 2000; Steadman, Ellery, Chapman, Moore y Turner, 2004). Se define a la dormición como la imposibilidad de germinar que tiene una semilla intacta y viable en condiciones adecuadas de temperatura, aireación y disponibilidad hídrica (Baskin y Baskin, 1989; Hilhorst, 1995; Bewley, 1997). Según el Manual de Evaluación de Plántulas de ISTA (2018) la dormición puede definirse como un estado de crecimiento suspendido y de metabolismo reducido. Las semillas se encuentran en una fase de "descanso" debido a condiciones físicas o fisiológicas que impiden la germinación, incluso con ambientes favorables. La dormición es una característica que poseen las especies en la naturaleza para perpetuarse en el tiempo en respuesta a una amenaza ambiental inesperada, por ejemplo, sequía, inundación o incendio y a la competencia de otras semillas de la misma población. La dormición en los cultivos agrícolas es una característica indeseable ya que la tecnificación requiere de una germinación uniforme y una fructificación sincronizada (Simpson, 1990). La dormición, además de las condiciones climáticas y nutricionales, también depende del genotipo dentro de cada especie (Foley y Steven, 1998). Sin embargo, cierto grado de dormición es esencial para evitar la germinación en la planta madre.

La temperatura y las condiciones hídricas durante anthesis y formación de las semillas pueden producir cambios en la cantidad, la sensibilidad, la movilidad o la actividad de sustancias de crecimiento tales como el ácido abscísico, provocando variaciones en la dormición (Fenner, 1991; Hilhorst, 1995). La baja dormición se asocia generalmente a altas temperaturas, los días cortos, luz roja, la sequía y los altos niveles de nitrógeno durante la formación y desarrollo de la semilla (Fenner, 1991). En *Lolium* spp. se observó un incremento tanto en la cantidad de semillas con dormición como así también en el tiempo de dormición, cuando durante su maduración la temperatura disminuyó desde 27 °C a 15 °C (Wiesner y Grabe, 1972).

En otras forrajeras como *Festuca arundinacea* Schreb. y *Avena fatua* L. se encontraron comportamientos similares (Boyce, Cole y Chilcote, 1976; Peters, 1982 b). En *Avena fatua* L., *Lolium tectorium* L. y *Sorghum halepense* (L.) Pers., las plantas desarrolladas bajo condiciones de estrés hídrico mostraron bajo porcentaje de semillas con dormición en relación a las que no presentan estrés (Peters, 1982a; Benech-Arnold *et al.*, 1992; Meyer y Allen, 1999). Cuando la semilla recién cosechada presenta altos valores de dormición y es sembrada inmediatamente, es probable que se retrase o inhiba la germinación (Cardinali, 2004). Esto impide el establecimiento exitoso de una especie forrajera o mezclas en pasturas polifíticas (Simpson, 1990). Lotes recién cosechados de *L. multiflorum* poseen mejor calidad fisiológica para las siembras primaverales que las otoñales debido a que la dormición de las semillas disminuye con el tiempo de almacenamiento (Stanisavljevic *et al.*, 2011). Asimismo, puede clasificarse erróneamente la calidad de lotes de semilla al subestimarse la aptitud germinativa en pruebas de laboratorio (Cardoso, Alonso, Clausen y Castaño, 2007; Stanisavljevic *et al.*, 2011). Es por ello que en semillas recientemente cosechadas de *L. perenne* las reglas ISTA (2023) proponen como tratamientos pre-germinativos el pre-enfriamiento “*prechill*” y/o la aplicación de nitrato de potasio (KNO₃).

Según los antecedentes citados se observa la importancia que tiene el ambiente sobre la calidad de las semillas. La calidad de semillas es la sumatoria de atributos físicos, fisiológicos, sanitarios y genéticos (Popinigis, 1974). Craviotto (2006) la define como un conjunto de cualidades o atributos que pueden ser divididos en “componentes primarios” y “componentes secundarios”. Entre los primeros se encuentran la viabilidad, la germinación, el vigor y la sanidad, mientras que la pureza varietal, la pureza físico – botánica, el peso, densidad, la humedad, el tamaño, la integridad física son algunos de los atributos que se clasifican como componentes secundarios. Los componentes primarios son aquellos que definen el stand inicial de plántulas, mientras que los componentes secundarios de la calidad pueden condicionar la completa expresión de los primeros.

El atributo fisiológico es fundamental ya que está relacionado con la viabilidad, con la capacidad germinativa y con el vigor. La capacidad germinativa se evalúa mediante el ensayo de germinación que es mundialmente utilizado y que permite determinar la calidad de un lote de semilla en condiciones óptimas de temperatura, luz y humedad (Willan, 1991; ISTA, 2023). Se utiliza para clasificar la calidad de un lote de acuerdo a los estándares comerciales del país de producción o de valores preestablecidos según acuerdo entre partes (Servicio Nacional de Semillas Disposición 12, 1988; Ley nacional de semillas y de creaciones fitogenéticas N° 20.247, 1973), pudiendo detectarse problemas previos a la siembra. Sin embargo, los resultados de las pruebas de germinación estándar que son realizadas en condiciones óptimas y controladas pueden diferir, siendo mayor su valor, cuando las mismas semillas son sembradas en condiciones de campo bajo ciertos tipos de estrés (Hamptom y Hill, 1990; Hampton y Tekrony, 1995; Marcos Filho, 1999; Krzyzanowski, Vieira y França Neto, 1999). Estas diferencias en la calidad de lotes de semillas se atribuyen al vigor de la semilla.

El concepto de vigor de las semillas fue variando con los años, puede definirse como la suma total de aquellas propiedades que determina el nivel potencial de actividad y comportamiento de la semilla o lotes de semillas durante la germinación y/o emergencia de plántulas. Las semillas de buen comportamiento en condiciones ambientales diversas se denominan de alto vigor y aquellas de pobre comportamiento serán consideradas semillas de bajo vigor (Perry, 1978).

Las Reglas ISTA (2023) definen al vigor como la suma de aquellas propiedades que determinan la actividad y el comportamiento en un amplio rango de ambientes de lotes de semillas de germinación aceptable. En tanto que, para la Asociación Oficial de Analistas de Semillas (AOSA, 1983) son aquellas propiedades que determinan su potencialidad para una emergencia rápida, uniforme y para el desarrollo de plántulas normales bajo un amplio rango de condiciones de campo.

Semillas con alto vigor permiten un rápido establecimiento de los cultivos en el campo (Hampton y Hill, 1990). En el caso de céspedes, esto permite lograr una emergencia uniforme, un adelanto en la utilización del mismo y reducir los costos de implantación debido a las resiembras (Happ, McDonald y Danneberger, 1993). Existen diversos métodos de vigor aplicados a distintas especies para determinar su calidad fisiológica (Popinigis, 1985; ISTA, 1995). Los ensayos de vigor son análisis complementarios que permiten diferenciar más sensiblemente la calidad de los lotes y predecir la emergencia a campo (ISTA, 1995; Wang, Yu, Nan y Liu, 2004; Peretti de Molinuevo, 2007). Entre ellos se encuentran, la emergencia a campo (García y Lasa, 1991) aplicado en *Triticum aestivum* L. (Hampton, 1981), *Sorghum bicolor* (L.) Moench y *Elymus sibiricus* L. (Wang *et al.*, 2004) en *Lolium multiflorum* (Yan, Yu, Jia y Mao, 2016); la conductividad eléctrica (Popinigis, 1985; ISTA, 2023) aplicado en *Avena sativa*, *Lolium perenne*, *Elymus nutans* y *Leymus chinensis* (Lv, He, Hu y Wang, 2017); el ensayo de primer conteo en el ensayo de germinación, establecido por las Reglas ISTA (Matthews, 1980; Popinigis, 1985) aplicado en *Zea mays* (Van de Venter y Lock, 1991); el peso seco de plántulas (Popinigis, 1985) y longitud de partes de la plántula aplicado en *Dactylis glomerata* L y en *Phleum pratense* L. (Stanisavljevic *et al.*, 2011) y el ensayo de frío “*Cold test*” (AOSA, 1983; Peretti, 1994) en *Zea mays* (Noli, Casarini, Urso y Conti, 2008) y *Brachiaria brizantha* (Silva, Chalita Martins, Cruz, Jeromini y Bruno, 2017).

Existen antecedentes de la aplicación de estos ensayos de vigor en el género *Lolium*, por ejemplo, ensayos de conductividad eléctrica y emergencia a campo en *L. multiflorum* (Marshall y Naylor, 1985, Lopes y Brandão Franke, 2010); conductividad eléctrica, “*Cold Test*” y longitud de hoja (Happ *et al.*, 1993, Cookson, Rowarth y Sedcole, 2001); primer

conteo en *L. multiflorum* (Lopes y Brandão Franke, 2010) y longitud de plántula en *L. multiflorum* (Stanisavljevic *et al.*, 2011). Cookson *et al.* (2001) en *L. perenne* encontraron que el peso seco de plántulas correlaciona positivamente con la emergencia a campo, siendo

menor esta correlación para la conductividad eléctrica. Las semillas de mayor peso producen plántulas con mayor peso seco, debido a que poseen más reservas que las pequeñas y ello se correlaciona positivamente con el vigor (Austin y Longden, 1967; Hampton, 1986; Elliott, Mann y Olfert, 2006). En Argentina, diversos autores informaron deficiencias en la calidad de las semillas en *L. perenne* y en otras forrajeras, con valores de poder germinativo y pureza por debajo de las tolerancias establecidas por la legislación (Colabelli, Peretti, San Martino y Cendoya, 2001; Casini, 2007; Entío, Ixtaina y Mujica, 2008).

La calidad de la semilla depende de la especie, las condiciones de producción a campo (Walters, Wheeler y Stanwood, 2005) y de las del almacenamiento posterior (Walters, Wheeler y Stanwood, 2004).

Por lo expuesto, semillas de alta calidad serían un factor fundamental para el establecimiento de los cultivos, permitiendo una rápida y homogénea emergencia a campo, compitiendo en forma efectiva con las malezas. Como se mencionó anteriormente, diversos factores agroecológicos influyen en el rendimiento y la calidad final de las semillas. El ajuste de las técnicas de cultivo para la producción de semillas de alta calidad debería realizarse a nivel local.

En virtud de los antecedentes expuestos se plantea la siguiente hipótesis:

“Sembrar en la fecha adecuada permite obtener semillas de mayor calidad en *Lolium perenne* L.”

OBJETIVO GENERAL

Determinar la fecha óptima de siembra para lograr una alta calidad de semillas en *Lolium perenne*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la calidad fisiológica y física de semillas de *Lolium perenne* provenientes de parcelas de ensayo sembradas y cosechadas en distintas fechas (*CAPÍTULO II*).
- Relacionar la dormición de semillas de *Lolium perenne* con las condiciones ambientales durante su formación y desarrollo en la planta madre (*CAPÍTULO III*).
- Estudiar distintos métodos de determinación de calidad de semillas de *Lolium perenne* en laboratorio y su asociación con la emergencia a campo (*CAPÍTULO IV*).

BIBLIOGRAFÍA

- AOSA. (1983). Association of Official Seed Analysts. *Seed vigor testing handbook*. 88p.
- Austin, R. B. y Longden, P. C. (1967). Some Effects of Seed Size and Maturity on the Yield of Carrot Crops. *Journal of Horticultural Science*, 42, 339-353.
- Balfourier, F., Imbert, C. y Charmet, G. (2000). Evidence for phylogeographic structure in *Lolium* species related to the spread of agriculture in Europe: a cpDNA study. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 131-138.
- Baskin, J. M. y Baskin, C. C. (1989). Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. En: Leck, M. A., Parker, V. T. and Simpson R. L. (Eds.), *Ecology soil seed bank* (53-66). San Diego, California, EE.UU.: Academic Press Inc.
- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (1998). *Seeds. ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego, EE.UU.: Academic Press Inc.
- Beddows, A. R. (1967). Biological flora of the British Isles. *Lolium perenne* L. *Journal of Ecology*, 55, 567-587.
- Benech-Arnold, R. L., Fenner, M. y Edwards, P. J. (1992). Changes in Dormancy Level in *Sorghum halepense* Seeds Induced by Water Stress During Seed Development. *Functional Ecology*, 6 (5), 596-605.
- Bewley, J. D. (1997) a. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 9, 1055-1066.
- Bragachini, M., Casini, C., Saavedra, A., Méndez, J., De Carli, R., Behr, E., Errasquin, L. y Ustarroz, F. (2011). Evaluación del sistema productivo agropecuario argentino. *Actualización técnica N° 69*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Boyce, K. G., Cole, D. F. y Chilcote, D. O. (1976). Effect of temperature and dormancy on germination of tall fescue. *Crop Science*, 16, 15-18.
- Cabrera A. L. (1970). *Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte II Gramíneas*. Buenos Aires, Argentina: Colección científica del INTA.
- CSBC. (2014). Cámara de Semilleristas de la Bolsa de Cereales. *El mercado de semillas de especies y variedades*. Documento presentado en el XVIII Curso producción de semillas forrajeras templadas en Argentina. EEA INTA Balcarce, área de producción animal, Argentina.
- Carámbula, M. (1982). *Producción de semillas de plantas forrajeras*. Montevideo, Uruguay: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur.
- Cardinali, F. J. (2004). *Fundamentos fisiológicos de la germinación. Aspectos morfoanatómicos de las semillas*. Balcarce, Argentina: Asoc. Cooperadora Facultad de Ciencias Agrarias.
- Cardoso, M. L., Alonso, S. I., Clausen, A. M. y Castaño J. (2007). Dormición y germinación de semillas de agropiro alargado recientemente cosechadas. *Revista Argentina de Producción Animal*, 27(3), 159-167.
- Carrillo, J. (2003). *Manejo de pasturas*. Balcarce, Argentina: Ediciones INTA.
- Casini, C. (2007). Producción de semillas. Comunicación técnica. *Análisis de Semillas*, 1, 54-59.
- Castaño, J. (2005). Producción de semilla de gramíneas forrajeras en el sudeste bonaerense (2ª ed). Materiales didácticos N° 10. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

- Castle, M. E. y Watson, J. N. (1971). A comparison between a diploid and a tetraploid perennial ryegrass for milk production. *Journal of Agricultural Science*, 77, 69-76.
- Colabelli, M. N., Peretti, A., San Martino, S. y Cendoya, M. G. (2001). Calidad de semillas en partidas comerciales de raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) en la argentina comparada por los test de fluorescencia y de prefoliación. *Revista Brasileira de Sementes*, 23 (2), 268-274.
- Cookson, W. R., Rowarth, J. S. y Sedcole, J. R. (2001). Seed vigour in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): effect and cause. *Seed Science & Technology*. 29, 255-270.
- Craviotto, R. M. (2006). *Influencia de la condición de viabilidad de la capa de células de aleurona sobre la germinación y vigor de semillas híbridas de maíz (Zea mays L.)*. Tesis Ph.D. Pacific Western University, California, USA.
- Cunningham, P. J., Blumenthal, M. J., Anderson, M. W., Prakash, K. S y Leonforte, A. (1994). Perennial ryegrass improvement in Australia. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 37, 295-310.
- Datta, S. C., Evenari, M. y Gutterman, Y. (1972) a. Photoperiodic and temperature responses of plants derived from the various heteroblastic caryopses of *Aegilops ovata* L.. *Journal of the Indian Botanical Society*, 50(A), 546-559.
- Dell` Agostino, E. (2008). *Producción de semilla de especies forrajeras de clima templado*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA.
- Elgersma, A. (1990). *Genetic, cytological and physiological aspects of seed yield in perennial ryegrass (Lolium perenne L.)*. Ph.D. thesis, Wageningen Agricultural University, the Netherlands.
- Elliott, R. H., Mann, L. W. y Olfert, O. O. (2006). Effects of seed size and seed weight on seedling establishment, seedling vigour and tolerance of summer turnip rape (*Brassica rapa*) to flea beetles, *Phyllotreta spp.*. *Canadian Journal of Plant Science*, 87 (2), 385-393.
- Entío, L. J., Ixtaina, V. Y. y Mujica, M. M. (2008). Situación del uso de semilla fiscalizada y adopción de tecnología genética en especies forrajeras en el partido de Bolívar (provincia de Buenos Aires, Argentina) (Comunicación). *Revista Argentina de Producción Animal*, 28 (2), 69-76.
- Fenner, M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research*, 1, 75-84.
- Frame, J. (1989). Herbage productivity of a range of grass species under silage cutting regime. *Grass and forage science*, 44, 267-276.
- Foley, M. E. y Fennimore, S. A. (1998). Genetic basis for seed dormancy. *Seed Science Research*, 8, 173-18.
- García, A. y Lasa, J. M. (1991). *Ensayos de vigor de nascencia*. Boletín N°14. Zaragoza, España: Estación experimental de Aula DEI.
- Giancola, S. I., Salvador, M. L., Covacevich, M. e Iturrio, G. (2009). *Análisis de la cadena de soja. Estudios socioeconómicos de los sistemas agroalimentarios y agroindustriales*. N°3. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Gutterman, Y. (2000). *Maternal Effects on Seeds During Development. In the ecology of regeneration in plant communities*. En M. Fenner, (Ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities* (59-84). Wallingford, U.K.: C.A.B International.
- Hageman, I. W., Lantinga, E. A., Schlepers, H. y Neuteboom, J. A. (1993). *Herbage intake, digestibility characteristics of milk production of a diploid and two tetraploid*

- cultivars of perennial ryegrass. Proceedings of XVII International Grassland Congress*, (pp. 459-460), Palmerston North, New Zealand.
- Hampton, J. G. (1981). The relationship between field emergence, laboratory germination, and vigour testing of New Zealand seed wheat lines. *New Zealand journal of experimental agriculture*, 9, 191–197.
- Hampton, J. G. (1986). Effect of seed and seed lot 1000- seed weight on vegetative and reproductive yields of Grasslands “Moata” tetraploid Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 14, 13-18.
- Hampton, J. G. y Hill, M. J. 1990. Herbage seed lots: are germination data sufficient?. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 52, 59-64.
- Hampton, J. G. y Tekrony, D. M. (1995). *Handbook of Vigor Test Methods. (3ra Ed.)*. Zurich, Suiza: ISTA.
- Hampton, J. G. (1995). *Conductivity test*. En: Seed vigour testing seminar proceedings Copenhagen (p. 10-28). Zurich, Suiza: International Seed Testing Association.
- Happ, K., McDonald, y Danneberger, T. K. (1993). Vigour testing in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seeds. *Seed Science & Technology*, 21, 375-381.
- Hare, M. D., Rolston, M. P., Falloon, R. E. y Hickson, R. E. (1988). Autumn Sowing Date and Seeding Rate Affect Seed Production of Prairie Grass. *Journal of Applied seed production*, 6, 46-25.
- Hare, M. D., Tatsapong, P. y Saiprasert, K. (2007). Seed production of two Brachiaria hybrid cultivars in north-east Thailand. 1. Method and time of planting. *Tropical Grasslands*, 41, 26–34.
- Hilhorst, H. W. M. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 5, 61–73.
- Hill, M. J. y Watkin, B. R. (1975). Seed production studies on perennial ryegrass, timothy and prairiegrass. Effects of tiller age on tiller survival, ear emergence and seed head components. *Journal of the British Grasslands Society*, 20, 63-71.
- Inda Aramendía, L. A. (2005). El género *Lolium*; Claves dicotómicas. *Revista de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza*, 60, 143-155.
- INASE (2020). Instituto Nacional de semillas en Argentina Estadística - Certificación Internacional. Sistema OCDE. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ocde2020.pdf>
- INASE (2021). Instituto Nacional de semillas en Argentina. Catálogo nacional de cultivares. Recuperado 3 de octubre de 2021 desde <http://https://gestion.inase.gob.ar/consultaGestion/gestiones>
- INASE (2022). Instituto Nacional de semillas. Informe SISA campaña de soja 2021/2022 en Argentina. Recuperado de https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/informe_sisa_soja_inase_21_22.pdf
- INDEC (2018). Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Censo Nacional Agropecuario. Recuperado de https://www.indec.gob.ar/ftp/cuadros/economia/cna2018_resultados_definitivos.pdf
- ISTA (1995). International Seed Test Association. *Handbook of vigor test methods (3ra Ed.)*. Zurich, Switzerland.
- ISTA (2018). International Seedling Test Association). *Handbook on Seedling Evaluation (4ta Ed.)*. Zurich, Switzerland: ISTA.

- ISTA (2023). International Seedling Test Association. *International Rules for seed testing*. Zurich, Switzerland.
- Komatsu, T., Shimizu, N. y Suzuki, S. (1980). Studies on seed development and ripening in temperate grasses. Effects of temperature on seed development and ripening, and germination behaviour in perennial ryegrass. *Bulletin of the National Grassland Research Institute*, 16, 56-66.
- Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D. y França Neto, J. B. (1999). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina, Brasil: ABRATES.
- Kunelius, H. T., McRae, K. B., Dürr, G. H. y Fillmore, S. A. E. (2004). Management of Italian and Perennial Ryegrasses for Seed and Forage Production in Crop Rotations. *J. Agronomy & Crop Science*, 190, 130-137.
- Langer, R. H. M. (1972). *How grasses grow*. London, U. K.: Institute of Biology's studies in biology.
- Langer, R. H. M. (1990). Pasture plants. En Pastures, their ecology and management. Langer, R. H. M (ed). London, U.K.: Oxford Press.
- Ley Nacional de Semillas y Creaciones Fitogénéticas N° 20247 (1973). Argentina. Recuperado de <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/verNorma.do?id=34822>
- Lopes, R. R. y Brandão Franke, L. (2010). Teste de conductividade eléctrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 32 (1), 123-130.
- López Díaz, J. E. (2009). Estudios de los recursos fitogenéticos del complejo *Festuca - Lolium*. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Escola Politécnica Superior. Departamento de Producción Vegetal, Lugo, España.
- Lv, Y. Y., He, X. Q., Hu, X. W. y Wang, Y. R. (2017). The Seed Semipermeable Layer and Its Relation to Seed Quality Assessment in Four Grass Species. *Frontiers in plant science*. 8:1175.
- Macmillan, C. P., Blundell, C. A. y King, R. W. (2005). Flowering of the grass *Lolium perenne*: effects of vernalization and long days on gibberellin biosynthesis and signaling. *Plant physiology*, 138 (3), 1794 – 1806.
- Marcos Filho, J. (1999). Testes de vigor: importância e utilização. En Vigor de sementes: conceitos e testes, Krzyzanowski, F. C.; Vieira R. D., França Neto J. B. (eds.). Londrina, Brasil: ABRATES.
- Marshall, A. H. y Naylor, R. E. L. (1985). Seed vigor and field establishment in Italian ryegrass. *Seed Science & Technology*, 13, 781-794.
- Matthews, S. (1980). Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. En Seed production, Habbethwaite P.D (ed). London, U.K.: Butterworths.
- Meyer, S. E. y Allen, P. S. (1999). Ecological genetics of seed germination regulation in *Bromus tectorum* L.. *Oecologia*. 120 (1), 35-43.
- Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación Argentina (MAGYP) (2021). Estimaciones Agrícolas. Recuperado de <https://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>.
- Myers, W. M. (1939). Colchicine induced tetraploidy in perennial ryegrass. *Journal of Heredity*, 30, 499-504.
- Noli, E., Casarini, E., Urso, G. y Conti, S. (2008). Suitability of three vigour test procedures to predict field performance of early sown maize seed. *Seed Science and Technology*, 36, 168-176.

- Parodi, L. (1959). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Vol I. Buenos Aires, Argentina: ACME.
- Peretti, A. (1994). *Manual para análisis de semillas*. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur.
- Peretti de Molinuevo, A. (2007). Hacia el vigor de las semillas en Argentina. Comunicación técnica. *Análisis de Semillas*, 1, 47-53.
- Peters, N. C. B. (1982 a). Production and dormancy of wild oat (*Avena fatua* L.) seed from plants grown under soil waterstress. *Annals of Applied Biology*, 100, 189-196.
- Peters, N. C. B. (1982 b). The dormancy of wild oat seed (*Avena fatua* L.) from plants grown under various temperature and soil moisture conditions. *Weed Research*, 22, 205-212.
- Picasso, R. A. (1994). *El mercado de semillas forrajeras*. En primeras Jornadas Nacionales de Producción de Semillas y Mejoramiento Genético de Especies Forrajeras. Buenos Aires, Argentina: Orientación Gráfica Editora S.R.L.
- Pincén, D., Viglizzo, E. F., Carreño, L. V. y Frank, F. C. (2010). La relación soja-ecología-ambiente. Entre el mito y la realidad. En *Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental*, Viglizzo, E.F. y Jobbágy, E. (eds.). Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
- Popinigis, F. (1974). Qualidades de sementes. *Lavoura arrozeira*, 282, 14-8.
- Popinigis, F. (1985). *Fisiología da semente*. Brasília, Brasil: AGIPLAN.
- Rolston, M. P. y Archie, W. J. (2005). Effect of late autumn sowing dates on ryegrass seed yields. *Agronomy Society of New Zealand*, 35, 97-103.
- Secretaría de Planeamiento y Políticas en Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (SPPCTIP) (2013). Plan Argentina Innovadora 2020, Programación 2013-2016. Mesa de Implementación del NSPE Mejoramiento de Cultivos y Producción de Semillas. Documento de Referencia. Ministerio de Ciencia y Tecnología e Innovación Productiva. Argentina. Recuperado de http://www.argentinainnovadora2020.mincyt.gob.ar/?wpfb_dl=71.
- Servicio Nacional de Semillas (SNS). Disposición N°12, 1988. Buenos Aires. Argentina. Recuperado de https://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_remository&Itemid=102&func=filinfo&id=533.
- Shimizu, N. y Komatsu, T. (1980). Studies on seed development and ripening in temperate grasses. 5. Seedling vigour in Italian ryegrass and perennial ryegrass seeds during development and ripening under different temperature conditions. *Bulletin of the National Grassland Research Institute*, 17,76-86.
- Simpson, G.M. (1990). *Seed Dormancy in Grasses*. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- Silva, G. Z. da, Chalita Martins, C., Cruz, J. de O., Jeromini, T. S. y Bruno, R. de L. A. (2017). Evaluation the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. BRS 'Piatã' seeds. *Bioscience Journal*, 33(3), 572–580.
- Stanisavljevic, R., Djokic, D. I., Milenkovic, J., Dukanovic, L., Stevovic, V., Simic, A. y Dodig, D. (2011). Seed germination and seedling vigour of italian ryegrass, cocksfoot and timothy following harvest and storage. *Ciênc. agrotec.*, 35(6): 1141-1148.
- Steadman, K. J., Ellery, A. J., Chapman, R. B., Moore, A. y Turner, N. C. (2004). Maturation temperature and rainfall influence seed dormancy characteristics of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(10), 1047–1057.

- Terrel, E. E. (1966). Taxonomic implications of genetics in ryegrasses. *Bot Rev.*, 66, 138-164.
- Terrel, E. E. (1968). A taxonomic revision of the genus *Lolium*. Tech. Bull. Washington, U.S.: Agric. Research Service.
- Thorogood, D. (2002). Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.). En: Turfgrass Biology, Genetics, and Breeding. Casler M. D., Duncan R.R. (ed). New York, EE.UU.: John Wiley & Sons.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2015. Agricultural Research. Area Germplasm Resources Information Network (GRIN). Recuperado de <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?22494#dist>.
- Van de Venter, H. A. y Lock, H. W. (1991). A comparison of seed vigour tests for maize (*Zea mays* L.). *South African Journal of Plant and Soil*, 8,1.
- Wang, R. Y., Yu, L., Nan, Z. B. y Liu, Y. L (2004). Vigor Tests Used to Rank Seed Lot Quality and Predict Field Emergence in Four Forage Species. *Crop Science*, 44 (2), 535-541.
- Warringa, J. W. (1997). Physiological constraints to seed growth in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Ph.D. thesis, Wageningen Agricultural University, the Netherlands.
- Warringa, J. W. y Kreuzer, A. D. H. (1996). The Effect of New Tiller Growth on Carbohydrates, Nitrogen and Seed Yield per Ear in *Lolium perenne* L.. *Annals of Botany*, 78, 749-757.
- Wiesner, L. E. y Grabe D. F. (1972). Effect of temperature preconditioning and cultivar on ryegrass (*Lolium* sp.) seed dormancy. *Crop Science*, 12,760-764.
- Wilkins, P. W. (1991). Breeding perennial ryegrass for agriculture. *Euphytica*, 52, 201-214.
- Willan, R. L. (1991). Guía para la manipulación de semillas forestales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Roma. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/ad232s/ad232s00.htm#TOC>.
- Wulff, R. D. (1995). *Environmental maternal effects on seeds quality and germination*. In seed Development and Germination, Kigel, J., Galili, G. (ed). New York, EE.UU.: Marcel Dekker.
- Yan, H., Yu, X.D., Jia, W., y Mao, P. S. (2016). Length of the lag period of germination predicts the vigour differences and field emergence potential in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) seed lots. *Seed Science and Technology*. 45,1-5.
- Zhang, R. y Granger, K. L. (2013). *Effect of climate change on regeneration by seeds (3a ed)*. Wallingford, U.K.: CABI.

INFLUENCIA DE LAS FECHAS DE SIEMBRA-COSECHA SOBRE COMPONENTES DE CALIDAD DE SEMILLAS DE *Lolium perenne* L.

INTRODUCCIÓN

La elección de la fecha de siembra de un cultivo destinado a la producción de semillas es una de las técnicas agronómicas de manejo más importantes que se debe tener en cuenta para su implantación. Esta práctica de manejo define las condiciones agroclimáticas en las cuales la semilla germinará y se desarrollará la futura planta (Carámbula, 1982). Una adecuada fecha de siembra para el cultivo destinado a la producción de semillas es aquella en la cual la temperatura y la humedad del suelo permiten una buena implantación y cumplimiento de su ciclo (Kelly, 2013). Según la zona geográfica, la determinación de la fecha óptima de siembra para un cultivo es de suma relevancia para la determinación del rendimiento y la calidad de semilla y su elección no implica realizar costos adicionales (Forsberg y Reeves, 1995). Este manejo junto con el nivel de nutrientes y agua disponible son de más fácil control por parte de los agricultores ya que les permite colocar el cultivo en condiciones favorables para su crecimiento y desarrollo (Culleton, Murphy y McGilloway, 1992; Gutterman, 2000). No obstante, su elección en muchos casos, depende de factores climáticos, rotación de cultivos, logística de siembra, cultivo antecesor, sistema de labranza y de la genética de la semilla utilizada (Delouche, 1980; Berti, Wilckens, Hevia y Montecinos, 2003; CSBC, 2010; Bobadilla Meléndez *et al.*, 2013).

En gramíneas forrajeras perennes de ciclo otoño-invierno-primaveral, tales como *Festuca arundinacea* Schreb, *Dactylis glomerata* L., *Elytrigia elongata* (Host) Nevski, *Lolium perenne* L. y *L. multiflorum* L. las siembras de otoño son las más adecuadas tanto para la producción de semilla como para la de forraje (Carámbula, 1982; Hamilton-Manns, Ritchie, Baker y Kemp, 1995; Castaño, 2005; Dell`Agostino, 2008; CSBC, 2010). En *L. perenne*, las siembras tempranas de otoño son las más adecuadas para un rápido establecimiento del cultivo, obteniendo así una mayor cobertura inicial del suelo para competir con las malezas y lograr una mayor intercepción de la radiación solar aumentando el periodo vegetativo (Aguila Castro, 1966; Carámbula, 1982; Hay y Walker, 1989).

Otra característica del *L. perenne* es que para el cambio de fase vegetativa a reproductiva requiere de una inducción primaria (acumulación de horas de frío) y de una inducción secundaria (días alargándose) (Cooper y Calder, 1964). Esto permite que la planta produzca macollos fértiles, los que posteriormente formaran las panojas y macollos estériles que no han cumplido con los requisitos de inducción (Carámbula, 1982). Por lo mencionado anteriormente las siembras de otoños son las más adecuadas para la producción de semillas (Cooper, 2006). Sin embargo, en *L. perenne*, la inducción floral no es estricta y puede variar por tratarse de una especie forrajera con menos domesticación, el genotipo y por el crecimiento asincrónico de los macollos (Cooper, 1957; Macmillan *et al.*, 2005).

En Canadá, Coulman, Loeppky y Entz (2015) observaron que plantas de *L. multiflorum* sembradas en primavera no producían semillas debido a no poseer la vernalización que indujera el paso a la etapa reproductiva, a diferencia de las siembras de otoño. Además, reportaron que el rendimiento de semilla en siembras de otoño fue variable entre cultivares y sitios de ensayo. Esto también fue evidenciado por Hill y Watkin (1975) que además observaron que a medida que se retrasa la fecha temprana de otoño, al no cumplir con el requerimiento de horas de frío, se reduce la cantidad de macollos fértiles. En tal sentido, Rolston y Archie (2005), en Nueva Zelanda, demostraron que, por cada día de retraso de la

fecha de siembra otoñal en el mes de marzo, el rendimiento relativo se reducía en 0,14 %. Aguila Castro (1966) concluyó que el retraso en la fecha de siembra, en las zonas de producción de *L. perenne*, coloca a las semillas en condiciones de suelo fríos que hacen más lenta su germinación, aumentando la presencia de malezas y disminuyendo el rendimiento de semillas por competencia.

Es abundante la información existente de la influencia de la fecha de siembra sobre el rendimiento de semilla, grano o forraje; sin embargo, son escasos los trabajos de dicho efecto sobre la calidad de ellas (Kunelius *et al.*, 2004; Islam y García, 2011; Gesch, 2014; Zeleke y Nendel, 2016). Varios autores observaron que distintas fechas de siembra, influyen de manera diversa sobre los componentes de calidad de las semillas en diferentes especies. Así, Castillo, Hampton y Coolbear (1994) en *Pisum sativum* L., encontraron que la fecha de siembra no influye sobre el poder germinativo, pero sí sobre el peso de mil semillas y la conductividad eléctrica de las mismas. Mendoza- Elos *et al.* (2011), en *x Triticosecale*, observaron que el primer conteo y el porcentaje de germinación varían entre fechas de siembra. Kundu, Roy, Hossain Khan, Parvin y Khairul Mazed (2010) en *Glicine max* (L.) Merr., encontraron efectos sobre el peso de mil de semillas y la germinación. Gusta, Johnson, Nesbitt y Kirkland (2004) observaron que, en semillas de *Brassica napus* L. obtenidas de siembras tempranas de otoño en Canadá, el peso y el porcentaje de germinación fueron inferiores a las obtenidas en primavera. Oskouei, Majidi Hervan, Hamidi, Moradi y Moghaddam (2014) informaron que el retraso de la siembra de maíz en el mes de mayo en Irán produjo un menor porcentaje de germinación. Mengistu y Yamoah (2010) hallaron que la variación en la fecha de siembra de *Daucus carota* L. en Etiopia producía cambios en el peso de mil semillas y el poder germinativo.

El desplazamiento de la fecha de siembra adecuada de un cultivo destinado para semillas, expone a las plantas madres a condiciones climáticas y nutricionales adversas durante la formación y maduración de las semillas, afectando su producción y calidad (Delouche, 1980;

Gutterman, 2000; Casini, 2007), incluyendo su vigor (Finch-Savage y Bassel, 2015).

En Dinamarca, la calidad de las semillas producidas de *L. perenne* se ve afectada por un hongo llamado *Gloeotinia temulenta* (Prill. & Delacr.) M. Wilson, Noble & E.G. Gray que se expresa de acuerdo a las condiciones climáticas presentes durante el periodo de antesis, infectando la semilla y provocando caídas en los valores de germinación. Por tal razón, un buen manejo de las fechas de siembra puede colocar al cultivo en condiciones menos predisponentes para dicha infección (Abel, Byrne, Asp y Boelt., 2018).

El peso de la semilla, expresado como peso de mil semillas (PMS), es un indicador de la calidad física de un lote de semillas y se encuentra relacionado con vigor y emergencia a campo. Las variaciones en el PMS también son atribuibles a las condiciones nutricionales del suelo donde crecen las plantas madres y al genotipo (Ambika, Manonmani y Sumansundaram, 2014). Ene y Bean (1975) encontraron diferencias en la calidad de lotes de semillas de *Lolium perenne* en cuanto al peso de mil semillas, peso seco de plántulas, porcentaje de plántulas al cuarto día de ensayo y porcentaje de germinación, cuando las plantas madres fueron sometidas a distintas condiciones de cultivo en invernáculo.

De acuerdo a la fecha de siembra será la duración del día, radiación solar y temperatura en la cual se desarrollará el cultivo. Por lo cual es importante poder identificar las zonas más adecuadas para cada especie y definir las en cada localidad (Berti *et al.*, 2003). Por lo expuesto anteriormente y ante la escasa bibliografía al respecto, el objetivo del presente capítulo es determinar la o las fechas de siembra más adecuadas que permitan obtener la mejor calidad de semillas de cultivos de *L. perenne*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y sitio experimental

Los experimentos a campo se realizaron en los años 2014 y 2015 con semillas de *L. perenne* de dos cultivares (cv) diploides, 'ULTRA' con precocidad en el inicio de floración (ciclo corto) y 'RC' de floración más tardía (ciclo largo). Las diferencias en los inicios de floración de los cultivares fueron observados en el lugar de su obtención, en la localidad de Coronel Suárez (Buenos Aires, Argentina), por el "Criadero El Cencerro S.A.". Ambos cv. fueron mejorados para su utilización como césped. La siembra de estos cultivares se realizó en el establecimiento "El Sendero" localizado en el partido de Coronel Suárez, S37°25'38,19"; O 61°51'37,99" (Buenos Aires, Argentina; Figura 2.1). El lugar de ensayo posee condiciones ambientales que corresponden a un clima subhúmedo a seco, mesotermal (Thornthwite, 1948), con leves excesos de agua (Burgos y Vidal, 1951). Durante el período de años comprendido entre 1979 y 1997 las precipitaciones medias anuales fueron de 914 mm, la temperatura media anual fue de 13,7 °C, la temperatura máxima media mensual fue de 22 °C (enero) y la mínima media mensual de 8,1 °C (julio). Las fechas medias de helada temprana y tardía son el 30 de abril y 15 de octubre respectivamente, habiéndose registrado heladas en los meses de marzo y noviembre, pero con una frecuencia de cada 7 años. La intensidad de los vientos oscila entre 8 y 20 km.h⁻¹.

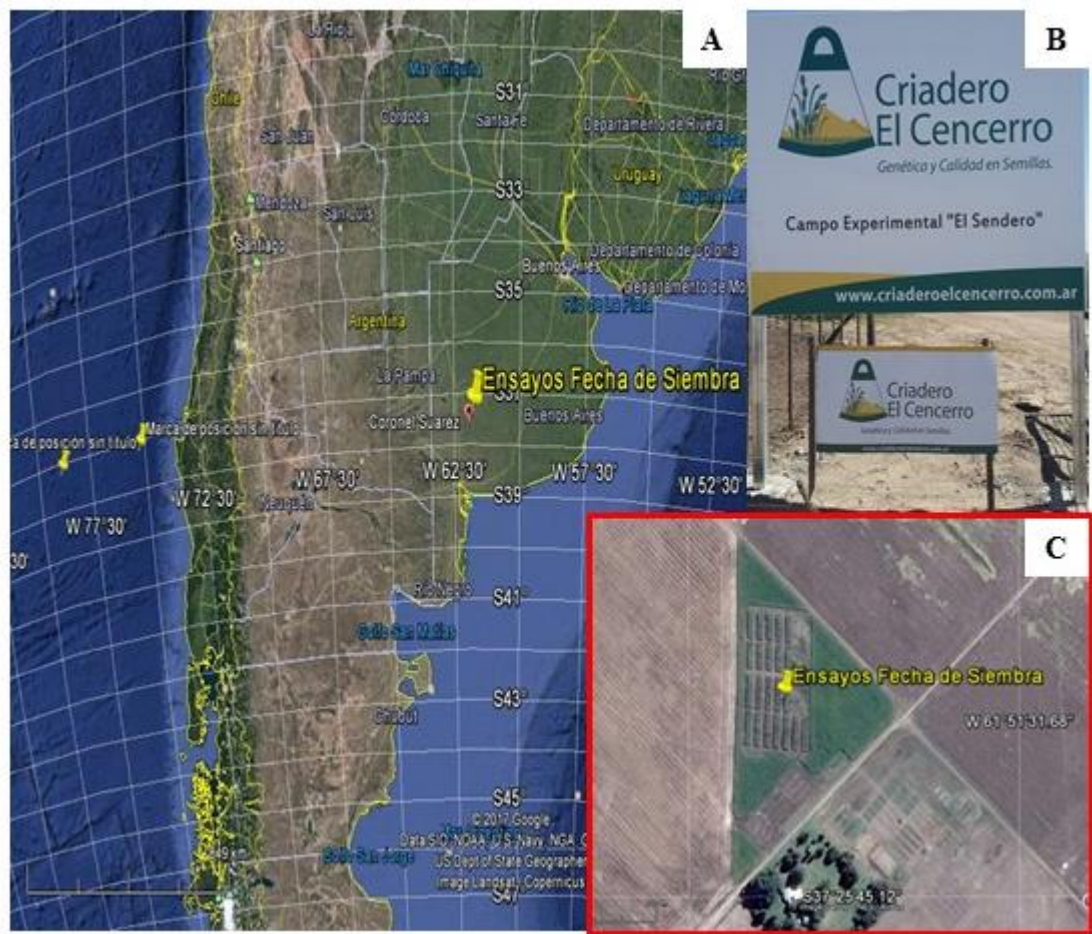


Fig. 2.1. Ensayos de fechas de siembra de *L. perenne*. **A:** Ubicación geográfica del sitio de los ensayos a campo; **B:** Fotografía del ingreso al establecimiento “El Sendero” del Criadero El Cencerro; **C:** Fotografía satelital de los ensayos de fechas de siembra de *L. perenne* en la localidad de Coronel Suárez, pcia. de Buenos Aires, Argentina.

El ensayo a campo del cual se cosecharon las semillas para realizar los análisis de calidad física-fisiológica, consistió en cinco fechas de siembras realizadas aproximadamente cada 15 días entre marzo y junio para los dos cultivares en el año 2014 y replicado en 2015 (Tabla 2.1). El diseño de los ensayos fue en bloques completos al azar con 3 repeticiones. Cada unidad experimental (U.E.) consistió de 6 surcos sembrados a una distancia entre sí de 0,15 m y 5 m de largo (4,5 m²) con una bordura de 6 surcos. Se utilizó una sembradora experimental tipo “cono” que se reguló para obtener una densidad de siembra de 20 kg.ha⁻¹.

Previamente a la siembra se realizaron los análisis de calidad de semillas para asegurar una buena implantación (germinación de las semillas: > 90 %). Los estados de crecimiento reproductivo se determinaron en intervalos diarios (Lancashire, 1991). En la tabla 2.1 se muestran, además, las fechas registradas de plena espigazón.

Tabla 2.1. Fechas de siembra, espigazón y cosecha de los ensayos a campo para ‘ULTRA’ y ‘RC’ en los años 2014 y 2015.

Año	Cultivar	Fecha de siembra	Fecha de espigazón	Fecha de cosecha	
2014	ULTRA	FS 1:	11-abr.	8-nov.	13-dic.
		FS 2:	30-abr.	9-nov.	16-dic.
		FS 3:	15-may.	10-nov.	20-dic.
		FS 4:	30-may.	12-nov.	20-dic.
		FS 5:	16-jun.	18-nov.	22-dic.
	RC	FS 1:	11-abr.	20-nov.	22-dic.
		FS 2:	30-abr.	22-nov.	23-dic.
		FS 3:	15-may.	24-nov.	24-dic.
		FS 4:	30-may.	25-nov.	27-dic.
		FS 5:	16-jun.	28-nov.	27-dic.
2015	ULTRA	FS 1:	21-mar.	10-nov.	14-dic.
		FS 2:	7-abr.	10-nov.	14-dic.
		FS 3:	24-abr.	11-nov.	16-dic.
		FS 4:	14-may.	12-nov.	19-dic.
		FS 5:	4-jun.	14-nov.	23-dic.
	RC	FS 1:	21-mar.	16-nov.	23-dic.
		FS 2:	7-abr.	16-nov.	23-dic.
		FS 3:	24-abr.	18-nov.	26-dic.
		FS 4:	14-may.	20-nov.	26-dic.
		FS 5:	4-jun.	21-nov.	28-dic.

Referencias: FS 1, FS 2, FS 3, FS 4, FS 5: primera, segunda, tercera, cuarta y quinta fecha de siembra. mar.: marzo; abr.: abril; may.: mayo; jun.: junio; nov.: noviembre; dic.: diciembre.

Al momento de corte y recolección de las semillas (cosecha), coincidente con el estado de madurez fisiológica, se consideró que la U.E. debería presentar el 90 % de espiguillas con antecios llenos. La cosecha se realizó cuando los cariopsis presentaron un contenido de humedad del 43 ± 2 %. Las fechas de cosecha se observan en la Tabla 2.1. Se cosechó toda la parcela excepto dos surcos de bordura. El método de cosecha fue indirecto, mediante el corte manual de las espigas, secado en galpón y posterior trilla manual en condiciones de laboratorio.

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de análisis de semillas del Instituto Nacional de Semillas en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. Luego de trilla, en un plazo menor a 30 días, se realizaron ensayos de germinación (G) en laboratorio de acuerdo a los protocolos de siembra de las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA, 2023). Para todos los ensayos de análisis de semillas y para la redacción del presente estudio, se tuvo en cuenta la definición de semilla pura indicada por ISTA (2023); donde para el género *Lolium*, considera y denomina “semilla” a los antecios con cariopsis que posean más de un tercio del largo de la palea medido desde la base de la raquilla, cariopsis desnudos y fragmentos de cariopsis desnudos de más de mitad de su tamaño original. Los ensayos de germinación se realizaron sin tratamientos pre-germinativos propuestos por ISTA (2023) para esta especie (Frío, KNO_3) con la finalidad de evaluar el nivel de dormición de las semillas. Se sembraron cuatro réplicas de 50 semillas en cajas plásticas transparentes de 15×25 cm sobre papel de filtro embebido con agua destilada (4,3 ml de agua. g de papel). La germinación se realizó en una cámara de germinación con alternancia de temperatura ($20 \Leftrightarrow 30$ °C) y luz (16 h de oscuridad/ 8 h de luz). Conjuntamente en el ensayo de germinación y como método para determinar el vigor de los lotes de semillas, fue realizado el primer conteo (1^{er} C) de plántulas normales al quinto día luego de la siembra. Luego de 10 días, se procedió a evaluar el ensayo y se realizó el recuento de las plántulas normales (PN), anormales (PA), semillas frescas (SF) y semillas muertas (SM). Los resultados se expresaron en porcentaje (%). Las plántulas se evaluaron según los criterios del Manual de Evaluación de Plántulas (ISTA, 2018). Dicho manual define a una plántula normal para el

género *Lolium*, como aquella que posee sus estructuras (brote aéreo y sistema radicular) intactas o con defectos leves y con solo un defecto grave o combinaciones de ellos la considera como una plántula anormal. La raíz primaria es considerada esencial y su longitud, en ausencia de raíces secundarias, debe ser al menos el 50 % de la longitud del brote aéreo. También considera una plántula normal, cuando la longitud de la raíz primaria representa al menos el 30 % de la longitud del brote aéreo, existan raíces secundarias y la longitud combinada de la raíz primaria y las raíces secundarias representa al menos el 60 % de la longitud del brote aéreo. Con respecto al brote aéreo, considera que el coleoptilo debe estar intacto o presente algunos defectos aceptables tales como manchas necróticas o decoloradas, se encuentre retorcido o con una hendidura menor a un tercio de su longitud medida desde su extremo superior. En el caso de la hoja primaria, ésta debe estar intacta, debe poseer un largo de más de la mitad de largo del coleoptilo y emerger por el extremo superior de este último.

Las semillas frescas halladas al finalizar el ensayo de germinación fueron corroboradas mediante el ensayo topográfico de tetrazolio. Para ello, se cortó longitudinalmente el cariopsis desde el embrión y hasta las tres cuartas partes del endospermo. Posteriormente, se incubó en una solución de 2,3,5-trifenil cloruro de tetrazolio al 1 % (p/vol) durante 2 horas a 30 °C en oscuridad (ISTA, 2023). Las semillas con embriones teñidos de rosa o rojo se consideraron viables y fueron consideradas semillas frescas con dormición (SD).

Por otro lado, con semillas cosechadas de cada tratamiento, se determinó el peso de mil semillas (PMS) pesando 8 repeticiones de 100 semillas cada una con una balanza marca Mettler modelo H 80 (ISTA, 2023); el resultado se expresó en gramos.

Los tratamientos de laboratorio siguieron un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizó un modelo lineal mixto (MLM) utilizando la fecha de siembra y los

cultivares como factores fijos y el año como como factor aleatorio para cada uno de los ensayos realizados. El MLM se realizó con la versión 3.6.1 de R en la interfaz del software Infostat para R (Di Rienzo *et al.*, 2019). En todos los casos las comparaciones entre las medias se realizaron con la prueba LSD de Fisher con un nivel significación de 5 %. Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2019).

RESULTADOS

Para los primeros meses de implantación de los ensayos de fechas de siembra (marzo-junio) las temperaturas medias mensuales fueron mayores en el año 2015 que para el año 2014. En cambio, en el año 2015 para los meses de septiembre y octubre, se registraron valores de temperatura media mensual menores comparado con los mismos meses en el año 2014. Las precipitaciones acumuladas mensuales para el año 2014 a partir del mes de junio fueron mayores que para el año 2015, excepto para el mes de diciembre que duplicó su registro para el año 2015 (Figura 2.2).

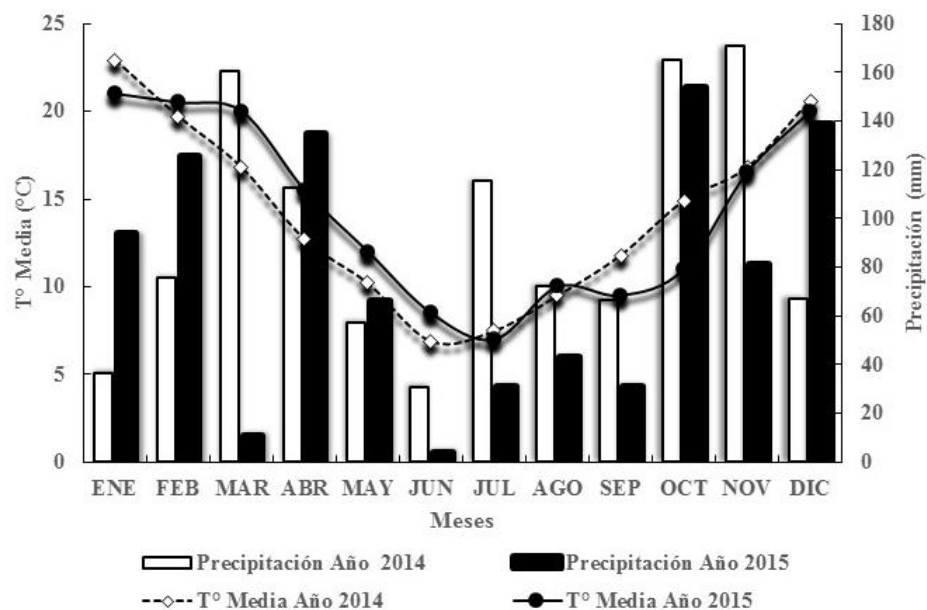


Fig. 2.2. Temperaturas medias (T° media) y precipitaciones acumuladas mensuales en los años 2014 y 2015 para la localidad de Coronel Suárez, pcia. de Buenos Aires, Argentina.

En la Tabla 2.2 se presentan los resultados del 1^{er}C y PN del ensayo de germinación discriminados por fecha de siembra para cada año y cultivar. Se observó interacción altamente significativa entre la fecha de siembra, el cultivar y el año para el 1^{er}C y las PN ($p < 0,001$).

En el año 2014 se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el 1^{er}C entre fechas de siembra y en ambos cultivares. Las FS1 y FS2 en ‘ULTRA’ presentaron mayores valores de 1^{er}C (58 % y 40 % respectivamente) que para las mismas fechas de siembra de ‘RC’ fueron de 10 % y 12 % respectivamente. En ‘RC’ a partir de FS3 se incrementaron los valores de 1^{er}C a diferencia de ‘ULTRA’ con el retraso de la fecha de siembra. Para el año 2015 no se encontraron diferencias significativas en el 1^{er}C entre las fechas de siembra y entre ambos cultivares, con valor promedio para todas las FS de 36 % tanto para ‘ULTRA’ como para ‘RC’.

Tabla 2.2. Porcentaje de plántulas normales al primer conteo (1^{er}C) y al conteo final (PN) del ensayo de germinación de semillas de *Lolium perenne* de cosecha reciente de los cv. ‘ULTRA y ‘RC’ para cinco fechas de siembra (FS1, FS2, FS3, FS4, FS5) de dos años de cosecha.

	Año	Cultivar	Fechas de Siembra					DMS ($p < 0,05$)
			FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	
1 ^{er} C (%)	2014	ULTRA	58	40	24	7	10	11
		RC	10	12	36	31	33	18
	2015	ULTRA	41	25	31	33	51	26
		RC	52	44	33	17	32	27
PN (%)	2014	ULTRA	81	81	84	82	77	10
		RC	79	85	85	86	88	9
	2015	ULTRA	71	68	72	80	80	14
		RC	83	80	72	68	70	11

1^{er}C: Interacción: Añoxcv.xFS ($p < 0,001$); PN: Interacción: Añoxcv.xFS ($p < 0,001$)

En las PN, evaluadas a los 10 días desde la siembra del ensayo de germinación, solo se observaron diferencias significativas entre las FS del año 2015 en ‘RC’, evidenciando una tendencia a disminuir los valores con el retraso de las fechas de siembra. Tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los cv., en promedio entre las FS y ambos años, siendo las PN en 2014, 85 % para ‘RC’ y 81 % para ‘ULTRA’ y para el año 2015 fueron 75 % para ‘RC’ y 74 % para ‘ULTRA’ (datos no mostrados). Luego de finalizados los ensayos de germinación, para todos los tratamientos, se obtuvieron bajos porcentajes de plántulas anormales y semillas muertas (menor al 7 % en total).

La variabilidad encontrada en los resultados de PN en los distintos tratamientos se debió principalmente a la fluctuación de los porcentajes de semillas con dormición que varió entre 3 y 37 %. Se encontró una asociación significativa entre PN y SD (Figura 2.3).

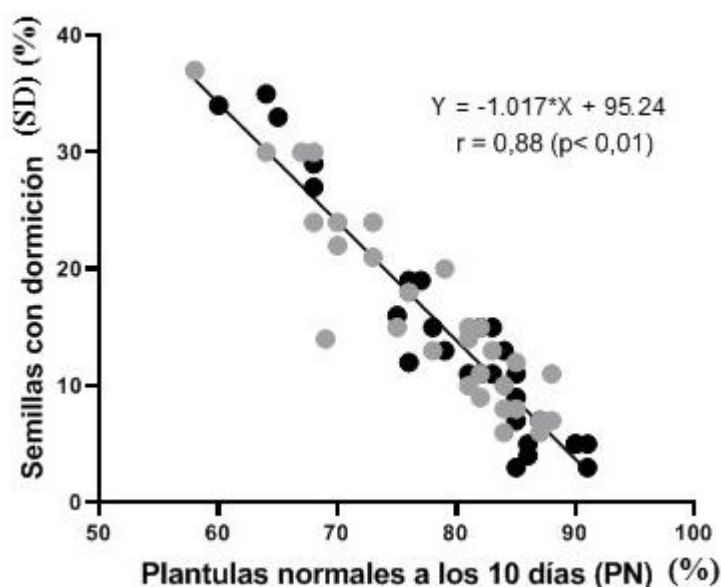


Fig. 2.3. Relación entre plántulas normales (PN) y semillas con dormición (SD) a los 10 días del ensayo de germinación de *Lolium perenne* en ‘ULTRA’ (gris) y ‘RC’ (negro) para todos los tratamientos (cosecha reciente).

En la Figura 2.4 se presentan los valores hallados de semillas con dormición (valores promedio) en cada fecha de siembra para los años 2014 y 2015 en ‘ULTRA’ y ‘RC’. Según se observa, para las distintas fechas de siembra y en ambos cv. el nivel de semillas con dormición resultó diferente. Las fechas de siembra no mostraron tendencias claras ante el comportamiento de los valores de SD. En el año 2015 fue mayor la proporción de SD que en el año 2014. Solo se vieron diferencias en las SD entre ‘ULTRA’ y ‘RC’ en las FS4 y FS5 del año 2014 y en la FS2 del año 2015. La variación de SD entre cultivares y en los dos años de ensayo varió entre el 6-37 % y el 3-35 % para ‘ULTRA’ y ‘RC’ respectivamente.

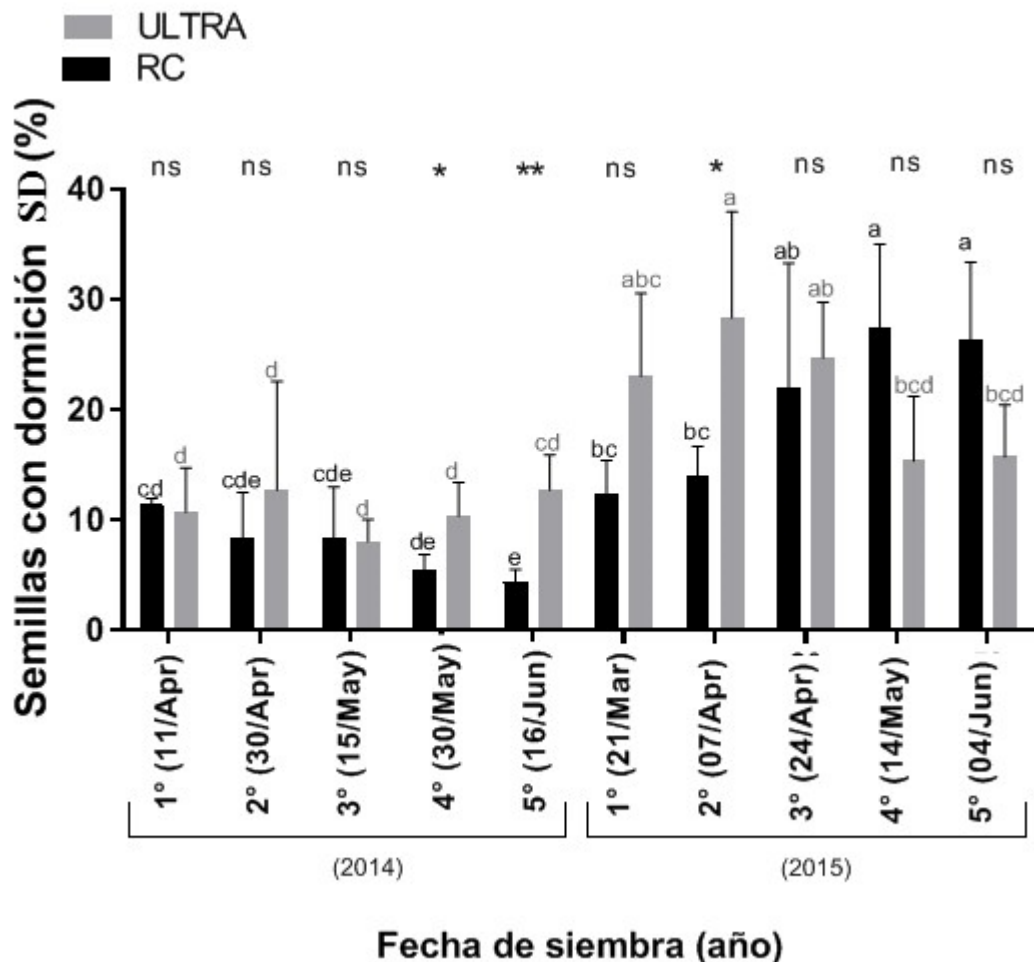


Fig. 2.4. Semillas con dormición (valores promedio) halladas en el ensayo de germinación para cada fecha de siembra para los años 2014 y 2015 en *Lolium perenne* ‘ULTRA’ y ‘RC’. Letras diferentes indican diferencias significativas para ULTRA (gris) y RC (negra) entre fechas de siembra x año. Referencias: ‘ns’: diferencias no significativas, ‘*’: diferencias

significativas $p < 0,05$ y ‘**’: diferencias significativas $p < 0,01$ entre cultivares para cada fecha de siembra x año.

El PMS varió significativamente entre los cultivares ($p < 0,01$), con $1,79 \pm 0,09$ g para ULTRA y $1,48 \pm 0,11$ g para ‘RC’ (Figura 2.5).

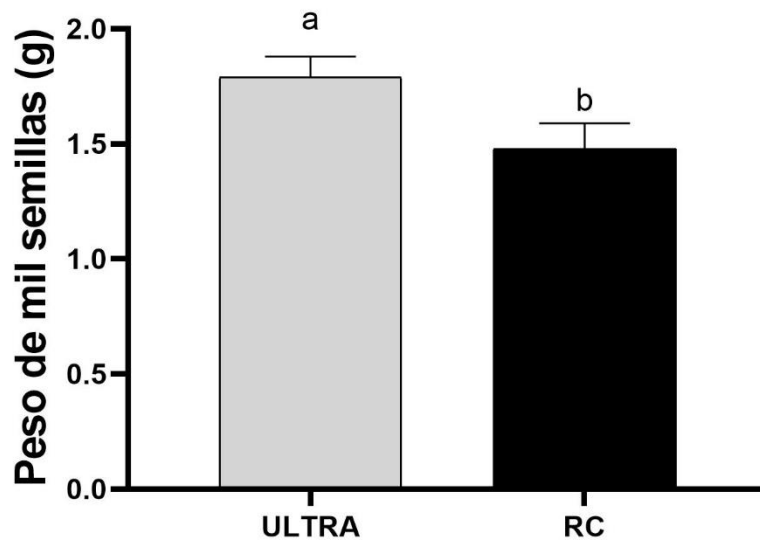


Fig. 2.5. Peso de mil semillas promedio y desvío estándar para todos los tratamientos en *Lolium perenne* para ‘ULTRA y ‘RC’. Letras diferentes entre valores medios indican diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Solo en el año 2015 se observaron diferencias significativas del PMS entre las fechas de siembra de ‘ULTRA’ y ‘RC’, ($p < 0,05$), con variaciones entre 1,66 a 1,84 g y 1,37 a 1,50 g respectivamente. Para ambos cultivares el mayor PMS se obtuvo en la FS5 (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Peso de mil semillas promedio en cada fecha de siembra para los años 2014 y 2015 en *Lolium perenne* ‘ULTRA’ y ‘RC’.

	Año	Cultivar	Fechas de Siembra					DMS ($p < 0,05$)
			FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	
Peso de mil semillas (g)	2014	ULTRA	1,75	1,84	1,88	1,86	1,80	0,14
		RC	1,44	1,49	1,6	1,59	1,55	0,22
	2015	ULTRA	1,69	1,66	1,74	1,83	1,84	0,08
		RC	1,37	1,41	1,46	1,37	1,50	0,05

DMS: Diferencia estadística mínima significativa del Test de Fisher con un nivel de significación de $p < 0,05$.

DISCUSIÓN

La siembra del cultivo en distintas fechas provoca que el periodo donde se desarrollan las semillas en la planta madre se exponga a diferentes condiciones climáticas. Al igual que lo observado en *x Triticosecale* por Mendoza-Elos *et al.* (2011) y en *Hordeum vulgare* L. por Benítez (1999), Castro, Benítez, Hayes, Viega y Wright (2010) y González Parodi, Viega Cazéres, Beretta, Córdoba y Rossi Rodríguez (2019), hubo una influencia significativa del año climático sobre calidad de las semillas. En coincidencia con Mendoza-Elos *et al.* (2011), el primer conteo del ensayo de germinación de las semillas cosechadas en 2014 de ‘ULTRA’ disminuyó con las fechas de siembra más tardías a diferencia de ‘RC’. Sólo en el año 2015 para ‘RC’ se observó una reducción en las plántulas normales con el retraso de las fechas de siembra coincidente con lo observado por Mendoza-Elos *et al.* (2011) y González Parodi *et al.* (2019). Los valores del ensayo de germinación fueron variables de acuerdo al nivel de semillas con dormición y genotipo. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por González Parodi *et al.* (2019).

Retrasar la siembra y así trasladar el periodo de llenado de semilla de los cultivos a ambientes con mayor temperatura podría originar semillas con menor peso de mil semillas (Fenner, 1991). Sin embargo, para el rango de fechas de siembra de este estudio, no se observaron efectos negativos en el peso de mil semillas como así tampoco tendencias relacionadas con las condiciones climáticas. Los valores registrados de peso de mil semillas coinciden con los hallados por Ene y Bean (1975) para lotes de semillas de *L. perenne*. Las variaciones del peso de mil semillas entre las fechas de siembra podrían deberse a las condiciones nutricionales del cultivo durante la antesis y formación de la de las semillas al igual que lo encontrado por Rowarth *et al.* (1999) en *L.perenne*.

El nivel de semillas con dormición fue variable entre las fechas de siembra tempranas o tardías y entre años y cultivares. Mientras que las fechas de siembra tardías redujeron los niveles de SD en ‘ULTRA’ durante 2014, lo contrario ocurrió en 2015 y a diferencia de ‘RC’ que no se observaron tendencias para ambos años.

Los resultados de los ensayos de germinación se vieron influenciados por las semillas con dormición al igual que lo observado por Cardozo, Alonso, Clausen, Castaño (2007) en semillas de cosecha reciente de *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & Dewey. Según lo expresado por Simpson (1990), las semillas recientemente cosechadas, en muchas especies forrajeras, presentan un elevado porcentaje de dormición. Si bien esto les permite mantener su calidad durante periodos de almacenamiento, es un inconveniente si son requeridos para su comercialización y siembra inmediata como, por ejemplo, para el comercio en contra-estación. Además, excepto para la segunda, tercera, cuarta y quinta fecha de siembra de ‘RC’ en el año 2014, ninguna de las semillas cosechadas del resto de los tratamientos cumplió con los estándares establecidos por el INASE para su comercialización (Poder germinativo ≥ 85 %).

En la mayoría de los casos los semilleros luego de la cosecha, realizan la limpieza, embolsado y rotulado de los lotes de semillas. En consecuencia, las semillas recién cosechadas de *L. perenne* pueden presentar menor calidad que la exigida por las normas nacionales (Dispos. 12/1988 SNS). Asimismo, para determinar el valor de poder germinativo de esos lotes se requiere someter a las semillas a tratamientos pre-germinativos, como el pre-enfriamiento indicado por ISTA (2023) para romper con la dormición, produciendo demoras en los resultados de los análisis. Asimismo, sembrar semillas con dormición aumenta el riesgo de que las mismas sufran el ataque de patógenos e insectos (Han, Baskin, Tan, Baskin y Wu, 2018). Esto puede provocar una baja implantación, con la necesidad de una nueva siembra y el costo que eso significa para el productor.

CONCLUSIÓN

En base de los resultados de este estudio, la calidad de las semillas de *L. perenne* varía cuando el cultivo es sembrado en distintas fechas. La calidad de las semillas es altamente influenciada por el año climático y el genotipo y no es posible establecer fechas óptimas de siembra. La germinación resulta variable de acuerdo a la presencia de semillas con dormición, mecanismo influenciado en gran parte por el año climático, por lo que resulta importante conocer qué factores ambientales durante la formación de la semilla son los que tienen mayor incidencia sobre la calidad de los lotes de semillas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abel, S., Byrne, S., Asp, T. y Boelt, B. (2018). Predicting anthesis date of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with growing degree-days at heading. *Grass and Forage Science*, 73, 233-238.
- Aguila Castro, H. (1966). *Producción de semillas forrajeras*. Santiago de Chile, Chile: Universitaria.
- Ambika, S., Manonmani, V. y Sumansundaram, G. (2014). Review on effect of size seed on seedling vigour and seed yield. *Research Journal of Seed Science*. 7 (2), 31-38.
- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (1998). *Seeds, ecology biogeography and evolution of dormancy and germination*. San Diego, U.S.A.: Academic press.
- Bazzigalupi, O. (1982). *Efeito da época de colheita sobre o rendimento e a qualidade de sementes de azevém-anual (Lolium multiflorum Lam.) cv. Comum-RS*. Disertación maestría en agronomía, Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil.
- Benítez, A. (1999). Dormancia en semillas de cebada cervecera. *Cangüé*, 16, 25-31.
- Berti, D. M., Wilckens, E. R., Hevia, H. F. y Montecinos, L. A. (2003). Influencia de la fecha de siembra y de la procedencia de la semilla en el rendimiento de capítulos de *Calendula officinalis* L., durante dos temporadas en Chillán. *Agric. Téc.*, 63(1), 3-9.
- Bobadilla Meléndez, M., Gámez Vázquez, A. J., Ávila Perches, M. A., García Rodríguez, J. J., Espitia Rangel, E., Moran Vázquez, N. y Covarrubias Prieto, J. (2013). Rendimiento y calidad de semilla de avena en función de la fecha y densidad de siembra. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(7), 973-985.
- Burgos, J. J. y Vidal, A. (1951). Los climas de la República Argentina según la nueva clasificación de Thornthwaite. *Meteoros* I, 1, 3-32.
- CSBC. (2010). Cámara de semilleristas de la bolsa de cereales . *Implantación*. Infortambo, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/166-luz_implantacion.pdf.
- Carámbula, M. (1982). *Producción de semillas forrajeras*. Montevideo, Uruguay: agropecuaria Hemisferio sur SRL.
- Cardozo, M., Alonso, S., Clausen, A. y Castaño, J. (2007). Dormición y ferminación de semilals de agropiro alargado recientemente cosechadas. *Rev. Arg. Prod. Animal*, 27(3), 159-167.
- Castaño, J. (2005). *Producción de semilla de gramíneas forrajeras en el sudeste bonaerense (2ª ed)*. Materiales didácticos N° 10. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Castillo, A. G., Hampton, J. G. y Coolbear, P. (1994). Effect of sowing date and harvest timing on seed vigour in garden pea (*Pisum sativum* L.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 22, 91-95.
- Castro, A., Benítez, A., Hayes, P., Viega, L. y Wright, L. (2010). Coincident quantitative trait loci effects for dormancy, water sensitivity and malting quality traits in the BCD47 × Baronesse barley mapping population. *Crop and Pasture Science*, 61 (9), 691-699.
- Cooper, J. P. (1957). Developmental analysis of populations in the cereals and herbage grasses. II. Response to low-temperature vernalization. *J. Agric. Sci.*, 47: 361–383.

- Cooper, J. P. y Calder, D. M. (1964). The inductive requirements for flowering of some temperate grasses. *Grass and Forage Science*, 19, 6–14.
- Cooper, J.P. (2006). Day-length and head formation in the ryegrasses. *Grass and Forage Science*. 5: 105 - 112.
- Coulman, B., Loeppky, H. y Entz, M. (2015). The effect of late fall seeding time on the seed production of Italian ryegrass. *Canadian Journal of Plant Science*, 95(4), 641-645.
- Culleton, N., Murphy, W. y McGilloway, D. (1992). A Note on the Effects of Date of Autumn Sowing on Establishment of *Lolium perenne* L. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 31(2), 185-187.
- Craviotto, R. M. (2006). *Influencia de la condición de viabilidad de la capa de células de aleurona sobre la germinación y vigor de semillas híbridas de maíz (Zea mays L.)*. Tesis Ph.D. Pacific Western University, California, USA.
- Dell'Agostino, E. (2008). *Producción de semilla de especies forrajeras de clima templado*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA.
- Delouche, J. C. (1980). Environmental Effects on Seed Development and Seed Quality. *Hort Science*,. 15(6), 13-18.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. INFOSTAT (2019). [Software de cómputo]. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Ene, B. N. y Bean, E. W. (1975). Variations in seed quality between certified seed lots of perennial ryegrass, and their relationship to nitrogen supply and moisture status during seed development. *Grass and Forage Science*, 30, 195–199.
- Fenner, M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research*, 1, 75–84.
- Finch-Savage, W. E. y Bassel, G. W. (2016). *Journal of Experimental Botany*, 67 (3), 567–591.
- Forsberg, R. A. y Reeves, L. D. (1995). Agronomy of oats. En Welch, R. W., 2a ed. (Ed). *The oat crop* (223-244). Londres, U. K.: Chaoman and Hall.
- Gesch, R. W. (2014). Influence of genotype and sowing date on camelina growth and yield in the north central U.S. *Industrial Crops and Products*, 54, 209–215.
- González Parodi, S., Viega Cazéres, L. M., Beretta, A., Córdoba, M. A., y Rossi Rodríguez, C. A. (2019). Efecto de la temperatura y la precipitación durante el llenado de grano sobre la dormición y sensibilidad al agua en granos de cebada (*Hordeum vulgare* L.). *AgriScientia*, 36(2), 19–27.
- Gupta, P. C. (1993). *Seed vigour testing. Handbook of seed testing*. Agrawal, P. K., (Ed). New Delhi, India: DAC, Ministry of Agriculture.
- Gusta, L. V., Johnson, E. N., Nesbitt, N. T. y Kirkland K. J. (2004). Effect of seeding date on canola seed quality and seed vigour. *Canadian Journal of Plant Science*, 84(2), 463-471.
- Gutterman, Y. (2000). Seeds Maternal effects on seeds during development.: the ecology of regeneration in plant communities. En *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, 2a ed. Fenner, M. (Ed). Wallingford, U.K.: CABI.
- Hamilton-Manns, M., Ritchie, W. R., Baker, C. y Kemp, P. D. (1995). Effects of sowing date on ryegrass and tall fescue establishment by direct-drilling. *Proceedings Agronomy Society of N.Z.*, 25, 43-46.
- Han, Y. J., Baskin, J. M., Tan, D. Y., Baskin C. C. y Wu, M. Y. (2018). Effects of predispersal insect seed predation on the early life history stages of a rare cold sand-desert legume. *Scientific reports*, 8(1), 3240.

- Hay, R. K. M. y Walker, A. J. (1989). *An introduction to the physiology of crop yield*. Longman Scientific and Technical. New York, U.S. A.: Longman.
- Hill, M. J. y Watkin, B. R. (1975). Seed production studies on perennial ryegrass, timothy and prairie grass. Effects of tiller age on tiller survival, ear emergence and seed head components. *Journal of the British Grasslands Society*, 20, 63–71.
- ISTA (2018). International Seedling Test Association. *Handbook on Seedling Evaluation (3a ed)*. Ronnie Don (Ed). Zurich, Switzerland: ISTA.
- ISTA (2023). International Seedling Test Association . International Rules for seed testing. Zurich, Switzerland.
- Isely, D. (1957). Vigor test. *Proc. Assoc. Off. Seed Analysts*, 47, 176-182.
- Islam, M. R. y García, S. C. (2011). Effects of sowing date and nitrogen fertilizer on forage yield, nitrogen- and water-use efficiency and nutritive value of an annual triple-crop complementary forage rotation. *Grass and Forage Science*, 67, 96–110.
- Kelly, A. F. (2013). *Seed production of agricultural crops (1a ed.)*. India: Scientific Publishers.
- Kundu, P. K., Roy, T. S., Hossain Khan, M. S., Parvin, K. y Khairul Mazed, H. E. M. (2010). Effect of Sowing Date on Yield and Seed Quality of Soybean. *JAERI*, 9(4), 1-7.
- Kunelius, H. T., McRae, K. B., Dürr, G. H. y Fillmore, S. A. E. (2004). Management of Italian and Perennial Ryegrasses for Seed and forage Production in Crop Rotations. *J. Agronomy & CropScience*, 190, 130-137.
- Lancashire, P. D. (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology*, 119, 561–601.
- Macmillan, C. P., Blundell, C. A. y King, R. W. (2005). Flowering of the grass *Lolium perenne*: effects of vernalization and long days on gibberellin biosynthesis and signaling. *Plant physiology*, 138 (3), 1794 – 1806.
- Mendoza-Elos, M., Cortez-Baheza, E., Rivera-Reyes, J. G., Rangel-Lucio, J. A., Andrijo-Enríquez, E., Cervantes-Ortiz, F. (2011). Época y densidad de siembra en la producción y calidad de semilla de triticale (x Triticosecale Wittmack). *Agronomía Mesoamericana*. 22(2), 309-316.
- Mengistu, T. y Yamoah, C. (2010). Effect of sowing date and planting density on seed production of carrot (*Daucus carota* var. sativa) in Ethiopia African. *Journal of Plant Science*, 4(8), 270-279.
- Nakagawa, J. (1999). Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. En Krzyzanowski, F.C., Vieira R. D.; França-Neto, J. B. (Ed), *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina, Brasil: ABRATES.
- Oskouei, B., Majidi Hervan E., Hamidi, A., Moradi, F. y Moghaddam, A. (2014). Effect of planting date on yield and germination indices of different shapes of hybrid maize seeds (*Zea mays* L. cv. Single cross 704). *IJB*, 5 (12), 512-517.
- Rolston, M. P. y Archie, W. J. (2005). Effect of late autumn sowing dates on ryegrass seed yields. *Agronomy N.Z.*, 35, 97-103.
- Rowarth, J., Archie, W., Cookson, W., Hampton, John G., Saunders, C. M.; Silberstein, T. y Young, W. (1999). The link between nitrogen application, concentration of nitrogen in herbage, and seed quality in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *J. Appl. Seed Prod.* 17, 1-6.
- Servicio Nacional de Semillas (SNS). Disposicion N°12, 1988. Buenos Aires. Argentina. Recuperado de https://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_remository&Itemid=102&func=fileinfo&id=533.

- Simpson, G. (1990). *Seed Dormancy in Grasses*. Cambridge, U. K. Cambridge: University Press.
- Thornthwaite, C. W. (1948). An Approach toward a Rational Classification of Climate. *Geographical Review*, 38 (1), 55-94.
- Zelege, K. T. y Nendel, C. (2016). Analysis of options for increasing wheat (*Triticum aestivum* L.) yield in south-eastern Australia: The role of irrigation, cultivar choice and time of sowing. *Agricultural Water Management*, 166, 139–148.

CAPÍTULO III

EFECTO DEL AMBIENTE MATERNO SOBRE LA DORMICIÓN DE SEMILLAS DE *Lolium perenne* L.

INTRODUCCIÓN

La calidad de las semillas puede variar de acuerdo a las zonas geográficas de producción, estaciones climáticas donde se producen, condiciones de cosecha, acondicionamiento y almacenamiento. Las condiciones agroclimáticas locales imperantes durante la formación y desarrollo de las semillas en la planta madre son uno de los factores más importantes que influyen sobre la calidad de las semillas (Peacock y Hawkins, 1970; Datta *et al.*, 1972; Gutterman, 2000; Casini, 2007). La posición de las semillas en la planta madre y los factores abióticos, tales como temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes, entre otros, pueden alterar la capacidad de germinación, viabilidad y vigor de los lotes de semillas (Fenner, 1991; Wulff, 1995; Baskin y Baskin, 1998). Desde el punto de vista agronómico, es importante conocer cuáles son los principales factores ambientales y cómo influyen en las plantas madres para la producción de semillas de alta calidad, ya que el éxito del establecimiento posteriores cultivos depende en gran medida de la capacidad germinativa de las semillas obtenidas de ellas (Larsen, Bailly, Côme, y Corbineau, 2004). Por ello, y según la especie y el ambiente, se han seleccionado áreas de producción óptimas para la obtención de semillas de calidad.

Los factores ambientales con mayor impacto en la calidad de semillas son los producidos por el estrés hídrico (Dornbos, 1995; Ghassemi-Golezani, Soltanii y Atashi, 1997), las deficiencias nutricionales y las temperaturas extremas (França-Neto, Krzyzanowski, Henning, West y Miranda, 1993; Grass y Burris, 1995).

Dentro del estrés hídrico, es importante la ocurrencia, intensidad y frecuencia, además de la especie y genotipo, que influyen en el impacto del mismo (Baskin y Baskin, 1998). En estudios realizados en gramíneas, en especies como *Avena fatua* L., *Bromus tectorum* L. y *Sorghum halepense* (L.) Pers., las plantas sometidas a estrés por sequía presentaron menor cantidad de semillas con dormición que las plantas sin estrés (Peters, 1982a; Benech-Arnold *et al.*, 1992; Meyer y Allen, 1999). Además, Benech Arnold *et al.* (1992) en *Sorghum halepense*, halló que las semillas con dormición presentaron una alta dormición impuesta por las glumas.

Las deficiencias hídricas durante el llenado de grano pueden disminuir significativamente su peso y reducir la germinación de la semilla (Dornbos, Mullen y Shibles, 1989; Heatherly, 1993) y posteriormente el vigor (França-Neto *et al.*, 1993). La sequía durante la maduración de la semilla puede afectar la germinación de las semillas al cambiar las propiedades del tejido materno que rodea a la semilla (Benech Arnold *et al.*, 1992).

La temperatura durante el desarrollo y maduración de las semillas también puede influir sobre la dormición. Generalmente, las semillas desarrolladas en ambientes cálidos presentan a maduración una menor dormición que aquellas desarrolladas con temperaturas más bajas (Fenner, 1991; Baskin y Baskin, 1998). En tal sentido, Wiesner y Grabe (1972) encontraron que la reducción de la temperatura, desde los 27 °C hasta los 15 °C durante la maduración de semillas de *Lolium multiflorum* L., se asoció a incrementos en el peso de las semillas y la dormición de las mismas. Similar comportamiento encontraron Boyce *et al.* (1976) y Peters (1982b) en *Festuca arundinacea* Schreb. y *Avena fatua* L. Steadman *et al.* (2004) observaron en plantas de *Lolium rigidum* Gaudin cultivadas con temperaturas cálidas producían menor cantidad de semilla, con menor peso y menor dormición, que aquellas cultivadas a temperatura más frías. Además, aquellas semillas que se desarrollaron en condiciones de temperatura fría y estrés hídrico perdieron la dormición más rápidamente que las semillas de plantas sin restricciones hídricas.

La calidad en semillas de especies herbáceas es sumamente variable y frecuentemente está asociada con el grado de inmadurez, la dormición y el deterioro que ocurre durante el almacenamiento (Clements y Cameron, 1980). La dormición de las semillas es una adaptación muy útil para la sobrevivencia de una especie en su ambiente natural (Simpson, 1990). Impide la germinación inmediata de las semillas cuando ellas aún se encuentran en la planta madre. Además, permite a la planta perpetuarse en el tiempo ya que las semillas quedan latentes en el suelo por largos periodos de tiempo y hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su desarrollo (McIvor y Howden, 2000). Sin embargo, y particularmente en lotes que se siembran inmediatamente después de cosechadas, la presencia de semillas con dormición para las empresas semilleras es una característica indeseable porque dificulta la evaluación de su calidad fisiológica e impide su inmediata utilización para la siembra exitosa de un cultivo (Simpson, 1990).

La dormición de las semillas está controlada por múltiples genes, es una característica de rasgos hereditarios complejos, gobernada por hormonas como el ácido abscísico, giberelina y el etileno e influenciada tal como se concluyó en el capítulo II del presente estudio, por diversos factores ambientales durante la formación de la semilla (Koornneef, Bentsink y Hilhorst, 2002; Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006).

Baskin y Baskin (2004) plantearon un sistema de clasificación de la dormición agrupándolas en cinco clases. Estas corresponden a la dormición fisiológica, morfológica, morfo-fisiológica, física y combinada (dormición física y dormición fisiológica). Dentro de cada clase, puede haber diferentes niveles y tipos de dormición. Otra forma de clasificarla, es según el momento en la cual se presenta. De esta manera, cuando se origina durante la formación de la semilla, se denomina dormición primaria o innata y si es causada por alguna condición del ambiente en particular, luego de la dispersión de la semilla, se la llama dormición secundaria o impuesta (Benech-Arnold, Sanchez, Forcella, Kruk y Ghera, 2000).

La dormición fisiológica es frecuente dentro del género *Lolium*, y muy variable dependiendo del ambiente y del año climático (Steadman *et al.*, 2004; Goggin, Steadman, Emery, Farrow, Benech-Arnold, y Powles, 2009; Owen, Michael, Renton, Steadman y Powles, 2010). Esta variabilidad es probablemente que se deba al resultado de cambios en la cantidad, movilidad o actividad de las fitohormonas (Fenner 1991; Hilhorst, 1995; Goggin *et al.*, 2009). Es por ello que, para evaluar la calidad fisiológica de las semillas en laboratorio, las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA, 2023) proponen tratamientos para superar la dormición. Para *Lolium* se menciona la pre-refrigeración (5 - 10 °C; > 7 días) o la aplicación de nitrato de potasio (0,2 %) en el sustrato.

Por otro lado, Supiciche (2020) en *L. perenne* halló que las cubiertas seminales de sus cariopsis cumplían un rol en la dormición, probablemente bloqueando la llegada de oxígeno al embrión por la presencia de inhibidores en las mismas.

En el caso de las especies herbáceas de la familia de las poáceas, el desarrollo y maduración de sus semillas se extiende durante largo tiempo, ocasionando que las semillas previo a su cosecha se encuentren bajo la influencia de diferentes condiciones ambientales (Warringa, De Visser y Kreuzer, 1998). Por lo planteado anteriormente, el objetivo del presente capítulo fue relacionar la dormición de semillas de *Lolium perenne* con las condiciones ambientales durante su formación y desarrollo en la planta madre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El origen y material vegetal fue descrito en el capítulo II. En los dos años se realizaron 5 fechas de siembra de *L. perenne* 'RC' y 'ULTRA' (Tabla 2.1), obteniendo 10 lotes de semillas. Sobre las semillas obtenidas de cada tratamiento y antes de los 30 días desde su cosecha, se condujeron los ensayos de germinación en laboratorio. La metodología y los resultados del ensayo de germinación, en relación a los valores de dormición fueron tomados y detallados en el capítulo II.

Los datos climáticos de temperaturas máximas, mínimas y precipitaciones diarias fueron registrados por la estación Coronel Suárez del Servicio Meteorológico Nacional (SMN) situada a 600 metros del sitio experimental.

Análisis estadístico

Los niveles de SD de cada fecha de siembra y ambos cultivares (equivalente a 10 lotes), se graficaron en función de las condiciones climáticas locales: precipitación, temperatura media diaria, amplitud térmica diaria y las unidades de estrés térmico (UET) durante el periodo de desarrollo de las semillas (espigazón – cosecha). Las UET se calcularon con la sumatoria de las temperaturas máximas diarias por encima de 29 °C mediante la siguiente ecuación modificada de Teasdale y Cavigelli (2017) y sus unidades se expresaron en grados día (°Cd):

$$\text{UET (°Cd)} = \sum_{i=1,n} (T_{max} - 29^{\circ}\text{C})$$

Se realizó el análisis de regresión lineal utilizando GraphPad Prism Software versión 6.0 (Motulsky, 2012).

RESULTADOS

En la Figura 3.1 se puede observar el diferente comportamiento de ‘ULTRA’ y ‘RC’ en las distintas fechas de siembra (FS), registrado el 20 de noviembre del año 2014. Se advirtió la precocidad para florecer de ‘ULTRA’ (cultivar de ciclo corto) que para todas las FS se encontraba espigado a diferencia de ‘RC’ (cultivar de ciclo largo) que solo lo estaba en las sembradas en 1° y 2° FS. En el año 2014 la plena espigazón de ‘ULTRA’ varió entre los 155 días y los 211 días luego de la siembra (desde el 8 de noviembre para FS1, hasta el 18 de noviembre para FS5). En el caso de ‘RC’ la espigazón se alcanzó entre los 165 días y 223 días luego de la siembra (desde el 20 de noviembre al 28 de noviembre para FS1 y FS5 respectivamente). Similar comportamiento se observó para el año 2015, donde ‘ULTRA’ espigó entre los 163 días y los 234 días luego de la siembra (desde el 10 de noviembre al 14 de noviembre para FS1 y FS5 respectivamente), mientras que ‘RC’ lo hizo entre los 170 días y los 240 días desde la siembra (desde el 16 de noviembre para FS1, al 21 de noviembre para FS5).

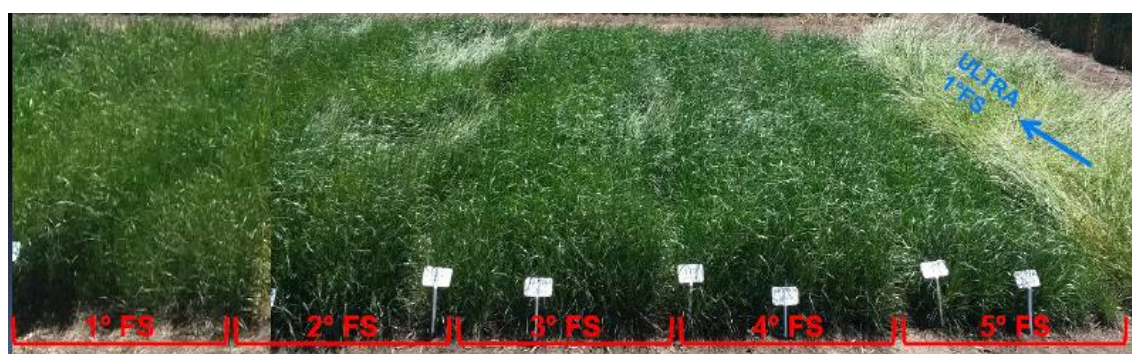
Las distintas fechas de siembra de las plantas madre en ambos cultivares produjeron que el inicio y final del periodo de desarrollo de las semillas fuera escalonado y con una duración variable de 29 a 40 días (Figuras 3.2 A y B). En las figuras 3.3 A y B se observan las precipitaciones acumuladas y temperaturas medias para cada fecha de siembra, cultivar y año de cultivo. Las precipitaciones registradas en 2014 y 2015, de 227 y 229 mm, y las temperaturas medias diarias, de $18,4 \pm 3,9$ °C y $18,8 \pm 3,4$ °C respectivamente, durante el periodo de desarrollo de las semillas para ambos años de cultivo fueron similares.

A



'ULTRA'

B



'RC'

Fig. 3.1. Ensayos a campo de *Lolium perenne* conducidos en el año 2014, registro del 20 de noviembre. **A:** *L. perenne* 'ULTRA'; **B:** *L. perenne* 'RC'. FS: fecha de siembra, desde la 1° a la 5°.

Aunque las temperaturas máximas medias fueron similares en ambos años, de $26,0 \pm 5,4$ °C y $26,1 \pm 3,5$ °C, respectivamente, el número de días con registros de temperaturas máximas superiores a 29 °C durante el desarrollo de las semillas fue mayor en el año 2014 ($n = 18$) que en el año 2015 ($n = 6$; Figura 3.2 A y B). Estas diferencias se cuantificaron con las unidades de estrés térmico (UET) (Teasdale y Cavigelli, 2017).

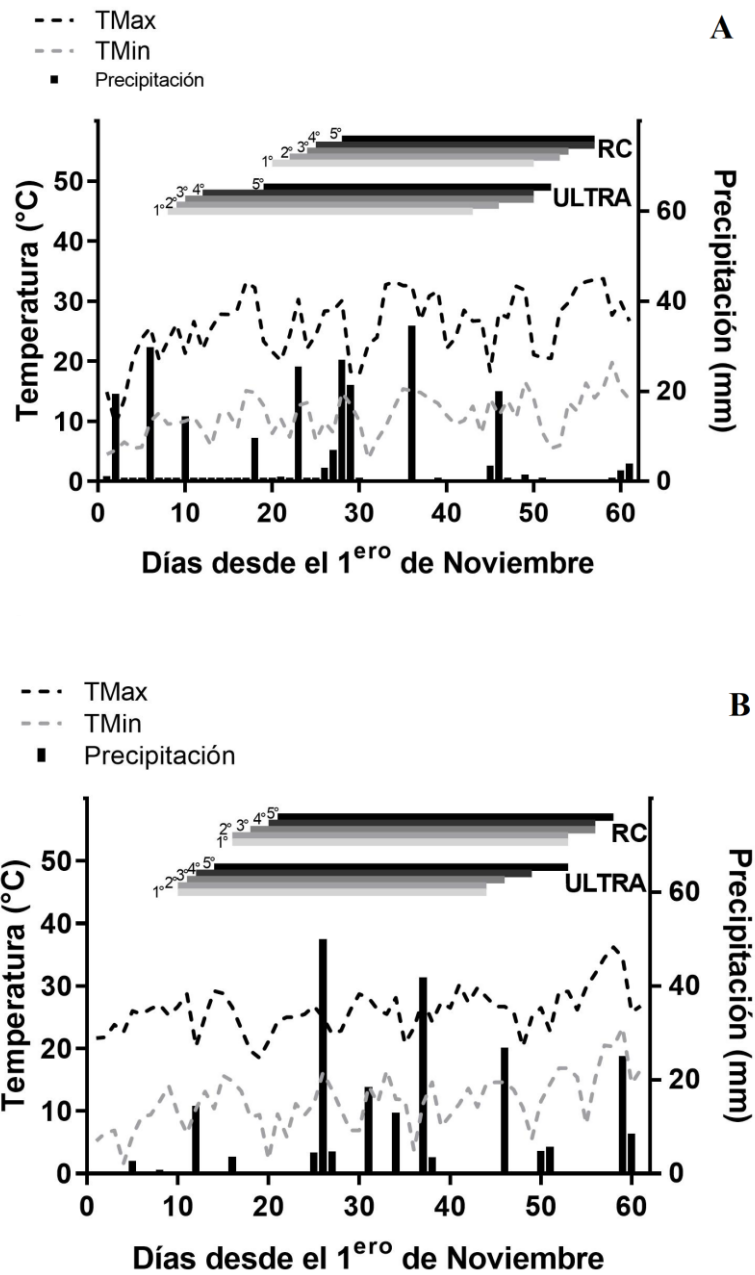


Fig. 3.2. Temperaturas diarias promedio (máximas y mínimas en °C), precipitación (mm), duración (días) del periodo de desarrollo de las semillas de *Lolium perenne* en ‘ULTRA’ y ‘RC’ para las 5 fechas de siembra (1°–5°) (barras horizontales) en Coronel Suárez. **A:** año 2014; **B:** año 2015.

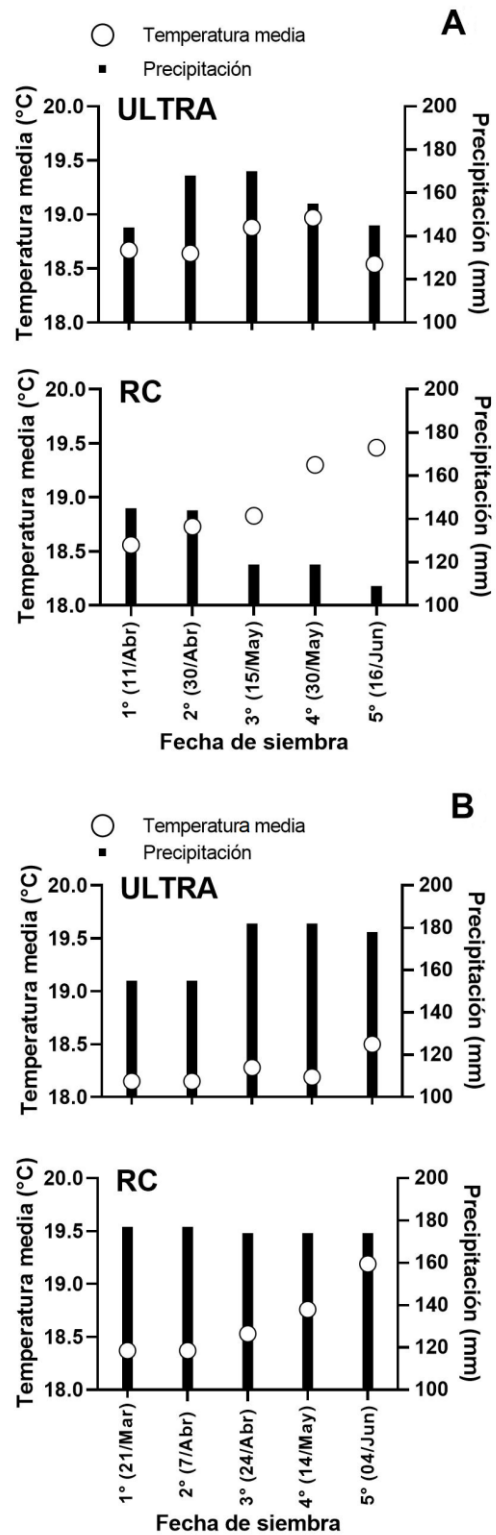


Fig. 3.3. Temperatura media diaria (°C) y precipitación acumulada (mm) durante el desarrollo de las semillas de *L. perenne* para cada fecha de siembra (1°–5°) en Coronel Suárez en ‘ULTRA’ y ‘RC’. **A:** año 2014; **B:** año 2015.

Las condiciones ambientales afectaron los niveles de dormición en ambos cultivares. Solo en 'RC' se observó una correlación significativa entre las precipitaciones y la dormición, con un aumento de las SD concordante con el incremento de las precipitaciones durante el desarrollo de las semillas (Figura 3.4 A). Solo en 'ULTRA' se halló una correlación significativa entre las temperaturas medias y la dormición, incrementos en los niveles de SD se observaron con menores temperaturas medias (Figura 3.4 B). Se obtuvo una correlación significativa entre la SD y la amplitud térmica diaria, la SD disminuyó con el aumento de la amplitud térmica diaria (Figura 3.4 C), pero solo en 'RC'.

La regresión entre UET y SD fue significativa en ambos cultivares. Los días con temperaturas máximas superiores a 29 °C reducen los niveles de SD (Figura 3.4 D). Además, y sólo con valores de UET <12 °Cd, una mayor amplitud térmica diaria (máxima-mínima) aumentó el nivel de SD (Figura 3.4 E). Condiciones con temperaturas máximas < 29 °C (bajos valores de UET) y elevadas amplitudes térmicas diarias aumentaron los niveles de SD en ambos cultivares.

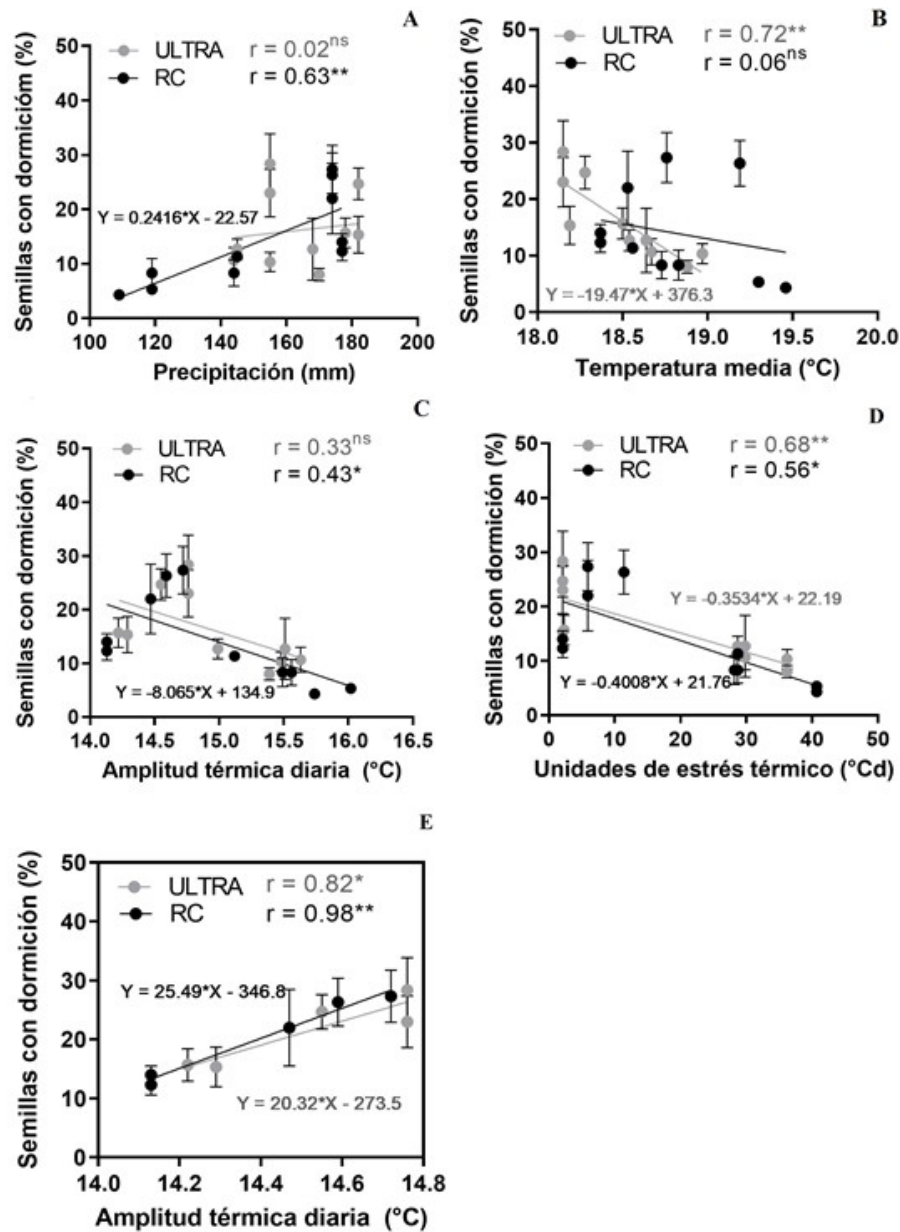


Fig. 3.4. Relación entre las semillas con dormición (promedio y desvío estándar) y las condiciones ambientales durante el desarrollo de semillas de *L. perenne* para ‘ULTRA’ y ‘RC’ en Coronel Suárez. **A:** precipitación (mm); **B:** temperatura media diaria (°C); **C:** amplitud térmica diaria (°C); **D:** UET (temperatura máxima diaria acumulada por encima de 29 °C (°Cd); **E:** relación entre la amplitud térmica diaria y SD para las UET < 12 °Cd.. Coeficiente de correlación: ns: no significativo diferencias, ‘*’: significativo $p < 0,05$ y ‘**’: significativas $p < 0,01$.

DISCUSIÓN

En este estudio, durante el desarrollo de las semillas, sobre la SD sólo se observó una relación estadísticamente significativa de la temperatura media en ‘ULTRA’ (Figura 3.4 B) y de la precipitación en ‘RC’ (Figura 3.4 A). Probablemente e igual que lo hallado por Wiesner y Grabe (1972) el nivel de SD está determinada por las condiciones locales ambientales, la interacción y la variabilidad, además del genotipo. Coincidente con los resultados en *Triticum aestivum* observados por Tan, Sharp, Lu y Howes (2006) existe una fuerte interacción entre los genotipos y el ambiente que impactan en la SD, posiblemente por estar gobernada por diferentes genes (Foley *et al.*, 1998; Goggin, Emery, Powles y Steadman, 2010).

A diferencia de nuestros estudios, en ambientes más estables y bajo condiciones controladas, la baja dormición está generalmente asociada a las altas temperaturas, días cortos, sequía y altos niveles de nitrógeno durante el llenado de la semilla (Fenner, 1991). Ensayos a mayor escala realizados en cámaras de crecimiento o en invernadero demostraron que altas temperaturas y precipitaciones durante el desarrollo de la semilla se correlacionan con una menor SD inicial en *L. multiflorum* y *L. perenne* (Wiesner y Grabe, 1972; Steadman *et al.*, 2004; Goggin *et al.*, 2009). En climas templados, las temperaturas en condiciones de campo varían diariamente e incrementan durante el crecimiento y el desarrollo de las semillas (Egli, Tekrony, Heitholt y Rupe, 2005). Estos antecedentes, se cumplen parcialmente en este estudio, con relaciones significativas de la temperatura media para ‘ULTRA’ y de la precipitación para ‘RC’. Tendencias más claras podrían estar enmascaradas por el efecto de la interacción entre las condiciones ambientales locales.

Al igual que lo observado por Owen *et al.* (2010) en semillas de *L. rigidum* cosechadas en varios sitios, la SD se asoció a las condiciones climáticas locales de producción. En el cultivar de ciclo corto (ULTRA) se observó, de la ecuación de la Figura 3.4 B, que semillas desarrolladas con temperaturas medias de 18 °C presentarían un 26 % de SD a diferencia de las desarrolladas a 19 °C que produjeron 6 % de semillas con dormición. Similares resultados fueron hallados por Steadman *et al.* (2004) y Owen *et al.* (2010) en poblaciones de semillas de *L. rigidum* recolectadas en distintos sitios de Australia donde la SD fue variable según el sitio de origen y se incrementó cuando las semillas se desarrollaron en ambientes frescos (20 ⇔ 15 °C). En coincidencia con lo expresado por Wiesner y Grabe (1972) en el cual las semillas desarrolladas con temperaturas a 15 °C presentaron mayor SD que las desarrolladas a 21 °C o 27 °C. Similar comportamiento encontró Boyce *et al.* (1976) en *Festuca arundinacea* Schreb. A su vez dicha respuesta resultó coincidente con lo observado en *Hordeum vulgare* L. por Benítez (1999) donde halló que, por cada grado de incremento en la temperatura por arriba de los 16 °C, durante el desarrollo de las semillas, el nivel de SD se redujo un 30 %.

Para el cultivar de ciclo largo (RC) el aumento de las precipitaciones durante el periodo de desarrollo de las semillas produjo incrementos en la SD a diferencia de lo hallado por Steadman, Ellery, Chapman, R., Moore y Turner (2004) que no encontraron diferencias en la SD con la variación de las condiciones hídricas de las plantas madres de *L. rigidum*. Sin embargo, estos resultados son coincidentes a los encontrados en *Avena fatua*, *Bromus tectorum* L. y *Sorghum halepense* (L.) Pers. en el cual las plantas madres sometidas a estrés por sequía produjeron semillas con menor porcentaje de dormición que las plantas con condiciones hídricas adecuadas (Peters 1982a; Benech-Arnold *et al.*, 1992; Meyer y Allen 1999). Además, este comportamiento fue opuesto con los resultados hallados por Aspinall (1966) y Biddulph, Plummer, Setter y Mares (2007) quienes indicaron que el déficit hídrico durante el llenado de grano aumentó la SD de las semillas de cebada y trigo respectivamente.

En relación a ello y para ambos genotipos, las UET se comportarían como una herramienta útil y sencilla para estimar el posible nivel de SD de la semilla recién cosechada, a diferencia de la temperatura media, la amplitud térmica diaria y la precipitación. No es claro cómo el estrés por altas temperaturas fisiológicamente reduciría el nivel de SD, y se necesitan más estudios en el futuro.

Si bien el retraso de las fechas de siembra coloca al cultivo en condiciones de mayores temperaturas, las UET son poco útiles para determinar las fechas óptimas de siembra para lograr la mejor calidad de semillas, al igual que lo hallado por Teasdale y Cavigelli (2017) en maíz.

Simpson (1990) y Gutterman (2000) observaron que otros factores ambientales, como el fotoperiodo, la calidad de la luz o la radiación solar interceptada durante el llenado de la semilla en la planta madre, pueden afectar también los niveles de dormición. El análisis de dichas variables motiva futuros estudios en *L. perenne*. A campo, algunos factores se pueden controlar más fácilmente que otros, tales como el nivel de nutrientes, el suministro de agua y la elección de una fecha de siembra.

Retrasar la siembra o trasladar la producción de semillas a regiones más cálidas podría aumentar la temperatura durante el llenado de las semillas y resultar en una menor dormición de las semillas. Aunque, una menor dormición debido a temperaturas más altas puede ser ventajosa, las semillas desarrolladas en estas condiciones podrían repercutir en un menor peso unitario (Fenner, 1991). Es por ello, que la utilización de las UET podría predecir y dar información útil para determinar niveles de SD en semillas de *Lolium perenne* en pre-cosecha. El desarrollo de modelos para predecir los niveles de dormición ofrece un enorme potencial dentro de los sistemas de apoyo en la toma de decisiones de gestión para los agricultores y profesionales.

Al igual que los modelos generados para estimar las tasas de liberación de dormición en semillas de malezas (Forcella *et al.*, 2000; Renzi, Chantre y Cantamutto, 2018). Estos modelos deberían ajustarse en función de las condiciones ambientales de la estación de crecimiento, ya que es probable que el nivel de dormición esté determinado por las condiciones ambientales locales durante el desarrollo de la semilla y no por factores climáticos a largo plazo (Goggin *et al.*, 2010).

Por otro lado, es importante destacar que la cosecha de semillas con bajos niveles de SD también impactará en las rotaciones posteriores. Es conocido que los cultivos de raigrás presentan pérdidas de semillas importantes en el momento de la cosecha, llegando a valores promedio de 20 % (Rolston, Chynoweth, Vreugdenhil y Gunnarsson, 2018). Una SD elevada puede aumentar la persistencia de semillas en el suelo, contaminando los cultivos posteriores y limitando la secuencia de cultivos en la rotación (Steadman *et al.*, 2004). Para elevados niveles de SD, rotaciones más prolongadas antes de volver a sembrar la misma especie en el lote, podría servir de estrategia de manejo. Considerando los niveles de dormición de las semillas y su viabilidad, podrían determinarse tiempos variables sin cultivo de *L. perenne* en la rotación para asegurar la pureza genética de los lotes de producción (Wiesner y Grabe, 1972).

CONCLUSIÓN

Este estudio demostró que la variación en las fechas de siembra en *L. perenne* influye sobre las condiciones ambientales que reciben las semillas durante su desarrollo, afectando su calidad. El nivel de dormición disminuye con mayores temperaturas medias diarias y mayores amplitudes térmicas a diferencia de la relación con las precipitaciones donde la dormición aumenta con su incremento. No obstante, esto varía dependiendo del factor genotipo.

En las condiciones de estudio, la utilización de las UET, calculadas durante el desarrollo de las semillas, podrían ser aplicables para establecer posibles rangos de SD en ambos cultivares. En estudios futuros, el desarrollo de modelos predictivos que consideren la UET en interacción con otros parámetros ambientales podrían ser de utilidad para predecir con mayor seguridad los niveles de SD en diferentes genotipos de *L. perenne*.

Los modelos matemáticos pueden ser útiles para definir, de acuerdo al nivel de SD, las técnicas que serán utilizadas en los ensayos de germinación para la ruptura de la dormición. En aquellos casos que no se necesiten pretratamiento, por el bajo nivel de SD estimado, se podrá reducir el tiempo de emisión de certificados de calidad de los lotes de semillas. También podría aplicarse al establecimiento de normas de cultivo en los programas de certificación de semillas de *L. perenne*.

BIBLIOGRAFÍA

- Aspinall, D. (1966). Effects of the soil moisture stress on the growth of barley. III. Germination of grain from plants subjected to water stress. *Journal of the Institute of Brewing*, 72, 174-176.
- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (1998). *Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego, EE.UU.: Academic Press.
- Baskin, J. y Baskin, C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16.
- Benech - Arnold, R. L., Fenner, M. y Edwards, P. J. (1992). Changes in dormancy level in *Sorghum halepense* seeds induced by water stress during seed development. *Functional Ecology*, 6, 596-605.
- Benech - Arnold, R. L., Sanchez, R. A., Forcella, F., Kruk, B. y Ghera, C. M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed soil banks. *Field Crops Res.*, 67, 105-122.
- Benítez, A. (1999). Dormancia en semillas de cebada cervecera. *Cangüé*, 16, 25-31.
- Biddulph, T., Plummer, J., Setter, T. y Mares, D. (2007). Influence of high temperature and terminal moisture stress on dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research*, 103(2), 139-153.
- Boyce, K. G., Cole, D. F. y Chilcote, D. O. (1976). Effect of temperature and dormancy on germination of tall fescue. *Crop Science*, 16, 15-18.
- Casini, C. (2007). Producción de semillas. Comunicación técnica. *Análisis de Semillas*, 1, 54-59.
- Clements, R. J. y Cameron, D. J. (1980). *Collecting and Testing Tropical Forage Plants*. Melbourne, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.
- Datta, S. C., Gutterman, Y. y Evenari, M. (1972). The influence of the origin of the mother plant on yield and germination of their caryopses in *Aegilops ovata*. *Planta*, 105, 155-16.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. INFOSTAT (2019). [Software de cómputo]. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Dornbos, D. L. (1995). Production environment and seed quality. En *Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications*, Basra A. S. (Ed.). New York, EE.UU.: Food Products Press.
- Dornbos, D. L., Mullen, R. E. y Shibles, R. E. (1989). Drought stress effects during seed fill on soybean seed germination and vigor. *Crop Science*, 29(2), 476-480.
- Egli, D. B., Tekrony, D. M., Heitholt, J. J. y Rupe, J. (2005). Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. *Crop Science*, 45, 1329-1335.
- Fenner, M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research*, 1, 75-84.
- Finch-Savage, W. E. y Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New phytologist*, 171(3), 501-523.

- França Neto, J. B., Krzyzanowski, F. C., Henning, A. A., West S. H. y Miranda L. C. (1993). Soybean seed quality as affected by shiveling due to heat and drought stress during seed filling. *Seed Science and Technology*, 21 (1), 107-116.
- Foley, M. E. y Fennimore, S. A. (1998). Genetic basis for seed dormancy. *Seed Sci. Res.*, 8, 173–182.
- Forcella, F., Benech-Arnold, R. L., Sanchez, R. y Ghera, C. M. (2000). Modelling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67, 123–139.
- Ghassemi-Golezani, K., Soltanii, A. y Atashi, A. (1997). The effect of water limitation in the field on seed quality of maize and sorghum. *Seed Science and Technology*, 25(2), 321-323.
- Goggin, D. E., Steadman, K. J., Emery, R. J. N., Farrow, S. C., Benech-Arnold, R. L. y Powles, S. B. (2009). ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. *Journal of Experimental Botany*, 60, 3387–3396.
- Goggin, D. E., Emery, R. J. N., Powles, S. B. y Steadman, K. J. (2010). Initial characterisation of low and high seed dormancy populations of *Lolium rigidum* produced by repeated selection. *J. Plant Physiol.*, 167, 1282–1288.
- Gutterman, Y. (2000). Maternal effects on seeds during development. En Fenner, M. (Ed.), *The ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, U. K.: CABI.
- Grass, L. y Burris, J. S. (1995). Effect of heat during seed development and maturation on wheat (*Triticum durum*) seed quality. I. Seed germination and seedling vigor. *Can. J. Plant Sci.*, 75(4), 821-829.
- Hampton, J. G. y Hill, M. J. (1990). Herbage seed lots: are germination data sufficient?. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 52, 59–64.
- Heatherly, L. G. (1993). Drought stress and irrigation effects on germination of harvested soybean seed. *Crop Sci.*, 33, 777-781.
- Hilhorst, H. W. M. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 5, 61–73.
- Koornneef, M., Bentsink, L. y Hilhorst, H. (2002). Seed dormancy and germination. *Current opinion in plant biology*, 5, 33-36.
- Larsen, S. U., Bailly, C., Côme, D. y Corbineau, F. (2004). Use of the hydrothermal time model to analyse interacting effects of water and temperature on germination of three grass species. *Seed Science Research*, 14, 35 - 45.
- McIvor, J. G. y Howden, S. M. (2000). Dormancy and germination characteristics of herbaceous species in the seasonally dry tropics of northern Australia. *Austral ecology*, 25(3), 213-222.
- Meyer, S. E. y Allen, P. S. (1999). Ecological genetics of seed germination regulation in *Bromus tectorum* L. *Oecología*, 120(1), 27-34.
- Motulsky, H. J. (2012). GraphPad Prism (Version 6.0) [Software de cómputo]. San Diego, C.A., USA: GraphPad Software.
- Owen, M. J., Michael, P. J., Renton, M., Steadman, K. J. y Powles, S. B. (2010). Towards large-scale prediction of *Lolium rigidum* emergence. I. Can climate be used to predict dormancy parameters?. *Weed Research*, 51, 123-132.
- Peacock, H. A. y Hawkins, B. S. (1970). Effect of seed source on seedling vigor, yield, and lint characteristics of upland cotton, *Gossypium hirsutum* L. *Crop Sci.*, 10, 667-670.
- Peters, N. C. B. (1982) a. Production and dormancy of wild oat (*Avena fatua*) seed from plants grown under soil water stress. *Annals of Applied Biology*, 100, 189-196.

- Peters, N. C. B. (1982) b. The dormancy of wild oat seed (*Avena fatua* L.) from plants grown under various temperature and soil water conditions. *Weed Research*, 22, 205-212.
- Renzi, J. P., Chantre, G. y Cantamutto, M. A. (2018). *Vicia villosa* ssp. *Villosa* Roth field emergence model in a semiarid agroecosystem. *Grass and Forage Science*, 73, 146-158.
- Rolston, M. P., Chynoweth, R. J., Vreugdenhil, S. R. y Gunnarsson, A. M. (2018). Ryegrass seed production in New Zealand: achieving 3000+ kg/ha yields. *Agronomy New Zealand*, 48, 115-123.
- Simpson, G. M. (1990). *Seed dormancy in grasses*. Cambridge, U. K.: Cambridge University Press.
- Supiciche, M. L. (2020). Germinabilidad de biotipos de *Lolium perenne* L. susceptibles y resistentes a glifosato [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional el Sur]. Repositorio Digital Institucional de la Universidad Nacional del Sur (RID-UNS).
- Stanisavljevic, R., Djokic, D. I., Milenkovic, J., Dukanovic, L., Stevovic, V., Simic, A. y Dodig, D. (2011). Seed germination and seedling vigour of Italian ryegrass, cocksfoot and timothy following harvest and storage. *Ciência Agrotechnica*, 35, 1141–1148.
- Steadman, K. J., Ellery, A. J., Chapman, R., Moore, A. y Turner, N. C. (2004). Maturation temperature and rainfall influence seed dormancy characteristics of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 55, 1047-1057.
- Tan, M. K., Sharp, P.J., Lu, M.Q. y Howes, N. (2006). Genetics of grain dormancy in a white wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, 57, 1157-1165.
- Teasdale, J. R. y Cavigelli, M. A. (2017). Meteorological fluctuations define longterm crop yield patterns in conventional and organic production systems. *Scientific Report*, 7, 688.
- Warringa, J. W., De Visser, R. y Kreuzer, A. D. H. (1998). Seed Weight in *Lolium perenne* as Affected by Interactions among Seeds within the Inflorescence. *Annals of Botany*, 82(6):835–841.
- Wiesner, L. E. y Grabe, D. F. (1972). Effect of temperature preconditioning and cultivar on ryegrass (*Lolium* sp.) seed dormancy. *Crop Science*, 12,760–764.
- Wulff, R. D. (1995). Environmental maternal effects on seed quality and germination. En Kigel, J. y Galilli G. (Eds.). *Seed development and germination*. New York, EE.UU.: Marcel - Dekker Inc.

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CALIDAD DE SEMILLAS DE *Lolium perenne* L. Y SU RELACIÓN CON LA EMERGENCIA A CAMPO

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mayoría de las producciones agrícolas, para ser rentables, sostenibles y competitivas, deben hacer un uso eficiente de los insumos utilizados. La semilla es uno de los insumos fundamentales y contar con semillas de alta calidad permite lograr un establecimiento y una producción exitosa de los cultivos (Finch-Savage y Bassel, 2016).

La capacidad germinativa es uno de los atributos de calidad más importantes y se evalúa rutinariamente por medio de ensayos de germinación que permiten caracterizar la calidad fisiológica de lotes de semillas para su comercialización y cuyos resultados pueden ser comparables. Según las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas (ISTA, 2023), el objetivo del ensayo de germinación es determinar el máximo potencial de germinación de un lote de semillas, pudiendo ser utilizado para comparar la calidad de diferentes lotes y también para estimar la emergencia a campo.

Lotes de semillas con un porcentaje de germinación semejante pueden diferir en su compartimento a campo. Estas diferencias pueden deberse a que las primeras alteraciones en los procesos bioquímicos asociados al deterioro ocurren, generalmente, antes que se verifiquen disminuciones en la capacidad germinativa (Delouche y Baskin, 1973). Estas diferencias en la calidad de los lotes se atribuyen al vigor de la semilla. Como consecuencia, las pruebas de vigor se han incluido cada vez más en los ensayos de rutina para el control interno de la calidad de las semillas, determinando la calidad fisiológica y complementando la información proporcionada por la prueba de germinación estándar. En la actualidad, la industria semillera ha adoptado las pruebas de vigor en sus programas de control de calidad internos como garantía de la calidad de la semilla a comercializar (Hampton y Hill, 1990). En la mayoría de los cultivos, en especial los que poseen semillas pequeñas, es necesario que posean alto vigor y emerjan uniformemente (Arnott, 1969; Hampton, 1986).

El vigor se puede evaluar por métodos de análisis directos, que reproducen en el laboratorio, las condiciones de estrés ambientales u otras condiciones y se expresa en porcentaje y/o tasa de emergencia de las plántulas o por métodos de análisis indirectos que miden otras características de las semillas que han demostrado estar asociadas con algún aspecto del desempeño de las plántulas (ISTA, 2023).

De acuerdo a AOSA (2002), las pruebas de vigor se pueden clasificar en tres categorías: 1) pruebas de crecimiento de plántulas, donde se evalúan y clasifican las plántulas en fuertes y débiles, por tasa de crecimiento, velocidad de germinación, primer conteo, peso seco y longitud total de plántulas o de alguna de sus partes; 2) pruebas de estrés, que simulan las condiciones desfavorables a las cuales están sometidas las semillas en el campo, entre ellas se incluyen las pruebas de envejecimiento acelerado, ensayos de frío y de estrés osmótico y por último 3) pruebas bioquímicas, que se basan en los cambios bioquímicos que se producen con la germinación de las semillas, tales como los ensayos de conductividad eléctrica y ensayos de tetrazolio.

De acuerdo a los estudios realizados por Isely (1957) las semillas más vigorosas son capaces de movilizar eficazmente las reservas de los tejidos de almacenamiento al embrión, provocando un mayor crecimiento de las plántulas. Lotes de semillas almacenadas durante largo tiempo o fisiológicamente deterioradas, cuando son puestas a germinar, muestran un aumento del período de tiempo desde el inicio de la absorción de agua hasta la emergencia de la raíz primaria. Se sabe que el retraso en la protrusión de la raíz después de la madurez fisiológica de la semilla es un síntoma de su deterioro (Matthews, Noli, Demir, Khajeh-Hosseini y Wagner, 2012). Este retraso está ligado directamente a la duración de la fase II de la germinación de las semillas donde intervienen los mecanismos de reparación metabólica (Matthews y Khajeh-Hosseini, 2007) y el grado de deterioro de las semillas es directamente proporcional a la duración de este periodo.

Dentro del grupo de pruebas basadas en el crecimiento de las plántulas, entre otras, se incluyen la prueba de germinación, el primer conteo, la longitud y el peso seco de las plántulas. El primer conteo es uno de los ensayos de vigor mayormente empleados, donde se clasifican lotes de semillas de acuerdo al porcentaje de semillas germinadas en un análisis de germinación estándar (Gupta, 1993; Peretti, 1994; Nakagawa,1999). El porcentaje obtenido en el primer conteo indica el número de semillas vigorosas, que fueron capaces de desarrollar plántulas normales en un corto período de tiempo especificado para cada especie. Esta prueba evalúa indirectamente la velocidad de germinación (Nakagawa,1999). Según Matthews (1980), las muestras que germinan más rápidamente y presentan valores de germinación más altos en el primer conteo, pueden considerarse más vigorosas que las de germinación más lenta. La velocidad de germinación es un parámetro más sensible para detectar el deterioro de lotes que las pruebas de germinación estándar (Delouche y Baskin, 1973). Esta es una prueba fácil de realizar, ya que se obtienen los resultados durante la prueba de germinación y proporciona estimaciones confiables del vigor de la semilla (Moore, 1962; Edje y Burris, 1970; Pederson, Jorgensen y Poulsen,1993).

Para determinar la longitud y peso seco de plántulas se hacen germinar las semillas en condiciones de laboratorio, en invernadero o campo. En laboratorio, se siguen los protocolos de siembra y evaluación tenidos en cuenta para la realización de un ensayo de germinación estándar. Luego, finalizado el ensayo de germinación de acuerdo a los días establecidos por los protocolos para la especie, se mide la longitud total de las plántulas normales o alguna de sus partes y se calcula la longitud media. Los lotes de semillas que producen las plántulas de mayor longitud son considerados más vigorosos que los lotes de semillas que producen plántulas con menor longitud (Gupta, 1993). Para la determinación del peso seco, las plántulas al finalizar el ensayo de germinación, se secan en estufa a temperatura constante durante un determinado tiempo establecido de acuerdo al método empleado por su autor y según la especie. Semillas que producen plántulas con mayor peso son más vigorosas que las producen plántulas con menor peso (Gupta, 1993).

El ensayo de frío, comúnmente llamado por su expresión en idioma inglés “*Cold Test*”, se considera el método de prueba de vigor más antiguo y ampliamente utilizado por los semilleros para la evaluación del vigor de las semillas de híbridos de maíz, pero también se ha empleado en otras especies tales como soja y sorgo (Tekrony, 1983; Ferguson, 1990; Hampton, 1992; Gupta, 1993). Fue desarrollada para simular condiciones adversas de campo, cuando las semillas son sembradas con bajas temperaturas y alta humedad en el suelo. El procedimiento tiene como objetivo evaluar la respuesta de muestras de semillas sometidas a una combinación de baja temperatura y alto contenido de agua en el sustrato. En esta prueba prevalecen dos tipos de estrés; (i) la temperatura subóptima favorece la fuga de solutos celulares durante la absorción de agua de las semillas debido a la configuración desorganizada de los sistemas de membrana. En esta situación, la reparación de las membranas es relativamente lenta, lo que aumenta la liberación de lixiviados, incluidos los azúcares y (ii) la presencia de microorganismos cuando el sustrato incluye suelo, que se incrementa no sólo como consecuencia de la exposición a la baja temperatura, sino también es estimulada por la liberación de azúcares, de modo que potencia el deterioro de las semillas.

Estas condiciones contribuyen a reducir la velocidad y el porcentaje de germinación o de emergencia de las plántulas, según el procedimiento adoptado para realizar la prueba. En consecuencia, el vigor de un lote de semillas es proporcional al grado de supervivencia de las mismas cuando se exponen a un entorno tan desfavorable (Hampton y Tekrony, 1995).

Según Hampton y Coolbear (1990) los ensayos que consideran las propiedades fisiológicas y bioquímicas de las semillas son de potencial interés como indicadores de vigor debido al menor tiempo requerido para realizarlos en comparación a la prueba estándar de germinación. La prueba de conductividad eléctrica (CE), al igual que la prueba de viabilidad por tetrazolio, se clasifica como prueba bioquímica. Fick y Hibbard (1925) observaron en lotes de semillas de *Phleum pratense* L. que su baja germinación estaba asociado a la alta liberación de solutos durante su imbibición. Posteriormente, Priestley (1958) encontró que la CE de la solución luego de colocar en remojo semillas de algodón era inversamente proporcional a la germinación. Matthews y Bradnock (1967) propusieron una metodología detallada para esta prueba, estableciendo un procedimiento básico para estimar el porcentaje de emergencia de las plántulas en legumbres. Esta técnica se ha difundido ampliamente y es utilizada en diversas especies (Hampton y Tekrony, 1995). El principio de la prueba de CE es que las semillas menos vigorosas o más deterioradas muestran una menor velocidad de reparación de la membrana celular durante la absorción de agua de la semilla para la germinación y por tanto liberan mayores cantidades de solutos al medio externo (Marcos-Filho, Cícero y Silva, 1987). La pérdida de estos lixiviados incluye azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, proteínas, enzimas e iones inorgánicos (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , Mn^{2+}); esta prueba evalúa la concentración de iones (Marcos-Filho, 2015). Ching y Schoolcraft (1968) confirmaron que el aumento de la fuga durante la imbibición de las semillas estaba directamente relacionado con la alteración de los sistemas de membranas celulares y la pérdida de control de la permeabilidad. En condiciones de campo, la pérdida de la organización de la membrana celular, junto con la fuga de exudados y la permeabilidad selectiva, pueden estimular el crecimiento de microorganismos patógenos y perjudicar la emergencia de las plántulas.

La prueba de CE es ventajosa debido a su rapidez, objetividad, bajo costo y es capaz de identificar el deterioro inicial de las semillas (AOSA, 1983; Hampton y Tekrony, 1995). Por ello, el uso de esta prueba se ha incrementado con el tiempo y es ampliamente utilizada a nivel mundial (Heydecker, 1969; Gill y Delouche, 1973; Marcos-Filho, Carvalho, Cícero y Demétrio, 1985); Marcos-Filho, Komatsu, Novembre, Fratin y Demétrio, 1986; Loeffler, TeKrony y Egli, 1988; Marcos-Filho, 2015). En gramíneas forrajeras, esta técnica ha sido estudiada y probada por varios autores (Hall y Wiesner, 1990; Wang *et al.*, 2004). Happ *et al.* (1993) demostró en *Lolium perenne* L. que la CE pudo diferenciar lotes de semillas por su calidad al igual que Ramos Lopes y Brandão Franke (2010) en *L. multiflorum* L.

Por otro lado, el peso de la semilla es uno de parámetros de calidad física que la industria semillera tiene en cuenta al momento de comercializarlas. Diversos autores han indicado que existe una relación entre el peso de las semillas y el comportamiento de las plántulas. Thomas (1966) observó que el peso de las semillas de *L. perenne* se correlacionó positivamente con el largo de la hoja y peso seco de las plántulas, al igual que lo hallado por Bean (1973) y Brown (1977) en *L. multiflorum*. Evans (1973) demostró en *L. perenne*, *Dactyis glomerata* L., *Phleum pratense* y *Agrostis tenuis* Sibth., que el tamaño de la plántula y la longitud de la raíz estaban relacionadas con el peso de las semillas. Resultados semejantes ha obtenido Hayes (1975) para *Festuca arundinacea* Schreb. y *Holcus lanatus* L.. Scott (1980) añade que el peso de la semilla también varía de acuerdo al nivel de ploidía de la especie.

Los ensayos de vigor, para ser empleados, no solo deben cumplir ciertos requisitos tales como poseer más sensibilidad que el ensayo de germinación para la determinación de la calidad, poder separar lotes de acuerdo a su calidad, ser rápidos, simples y económicos, poseer repetitividad, reproducibilidad, sino que también deben poseer una buena correlación con la emergencia a campo (Mc Donald, 1980; Perry, 1984; Gupta, 1993).

Por lo tanto, y dadas las numerosas interacciones que existen entre las semillas y el ambiente que las rodea, un ensayo de vigor debe ser capaz de estimar el comportamiento a campo de las semillas y se requieren estandarizar sus metodologías y la interpretación de sus resultados (Marcos-Filho, 2015). Sin embargo, la utilización de un ensayo de vigor, por sí solo, para evaluar el potencial de desempeño de semillas bajo diferentes condiciones ambientales, puede generar informaciones incompletas (Hampton y Coolbear, 1990). Por lo tanto y según Marcos-Filho (1999), una combinación de resultados de diferentes pruebas puede ser más conveniente para la evaluación de la calidad de un lote de semillas, siempre teniendo en consideración la finalidad del uso de los resultados y sus limitaciones.

En las últimas décadas, una de las principales demandas de las empresas semilleras se ha relacionado con el desarrollo de técnicas eficaces y rápidas para la evaluación y la determinación de la calidad de las semillas. Esto haría más ágil la toma de decisiones en relación con las operaciones de cosecha, procesamiento y comercialización de las semillas (Ramos Lopes y Brandão Franke, 2010). Debido a que los valores de referencia para los ensayos de calidad de semillas son variables según la especie, es necesario realizar ensayos a campo para conocer las respuestas de las semillas de *L. perenne*, conducentes a la estandarización de ensayos en condiciones locales de siembra. Las condiciones de laboratorio en las cuales se llevan adelante los análisis de calidad son muy diferentes a las que se desarrollan en condiciones de campo.

En vista de las consideraciones anteriores, se plantea el siguiente objetivo:

Evaluar el comportamiento de diversos métodos para diferenciar lotes de semillas por su calidad y su relación con la emergencia a campo de *Lolium perenne*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal y su origen fue descrito en el Capítulo II. Se utilizaron semillas de *L. perenne* cosechadas de las siembras realizadas en los años 2014 y 2015. Las semillas cosechadas de cada año se colocaron en sobres de papel y fueron almacenadas por un periodo de 9 meses en condiciones de oscuridad, temperatura de 20 ± 2 °C y HR ambiental del 40 %. Para el presente estudio fueron considerados “lotes de semillas” a las semillas cosechadas de las distintas FS y años provenientes de los cultivares ULTRA y RC. (10 lotes de semillas por cada cv.) y sobre ellos se realizaron pruebas de laboratorio y ensayos de emergencia a campo.

Ensayos de laboratorio

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de análisis de semillas del Instituto Nacional de Semillas en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina.

- **Ensayos de germinación (G)**, se llevaron a cabo de la misma forma que la descrita para las semillas recién cosechadas en el capítulo II. Sus valores se expresaron en porcentaje.

- **Ensayos de vigor**

- a) **Primer conteo (1^{er}C)**, se realizó un conteo de plántulas normales al quinto día del ensayo de germinación, según las recomendaciones de ISTA (2023) para *L. perenne*. Sus valores se expresaron en porcentaje.
- b) **Longitud aérea de plántula (LAP), longitud de raíz (LRP) y longitud total de plántula (LTP)**, las mediciones se tomaron a los 10 días del ensayo de germinación en las plántulas normales siguiendo la metodología propuesta por Cookson *et al.* (2001) para *L. perenne*. Sus valores se expresaron en centímetros.
- c) **Peso seco de plántulas (PSP)**, las plántulas normales provenientes de los ensayos de germinación fueron dispuestas sobre papel de aluminio para luego ser secadas en estufa a 60 °C hasta peso constante; se determinó el peso seco promedio por plántula para cada tratamiento siguiendo la metodología propuesta por Cookson *et al.* (2001) para *L. perenne*. Su resultado se expresó en gramos.
- d) **Prueba de frío “Cold Test” (CT)**, se realizó en 4 réplicas de 50 semillas en cajas de germinación (15 × 25 × 3,5 cm) en un sustrato de arena humedecido al 70 % de su capacidad de retención de agua (CR). La cantidad de agua necesaria para alcanzar la CR se determinó mediante la diferencia del peso de la arena seca al aire y húmeda (saturada y escurrida durante 12 h = CR) según las recomendaciones de ISTA (2023). Las semillas fueron sembradas a 1 cm de profundidad y las cajas de germinación envueltas con bolsas de nylon transparente. A continuación, las cajas se colocaron a 5 °C durante 7 días en condiciones de oscuridad. Después de ese período, las cajas se transfirieron directamente a una cámara de germinación con condiciones idénticas a las del ensayo de germinación estándar (30 ⇔ 20 °C; 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad). Luego de 10 días, se realizó el conteo de plántulas normales y el resultado se expresó en porcentaje (%).
- e) **Conductividad eléctrica (CE)**, se realizó según la metodología aplicada por Happ *et al.* (1993) en *L. perenne*. Para ello, se midió la electroconductividad masal con un conductímetro Modelo Altronix CTXII. Se emplearon 3 réplicas de 50 semillas por cada cultivar y tratamiento. Se añadió 50 ml agua desionizada en un Beaker de 200 ml y se dejó en remojo a cada repetición a 20 °C durante 24 h. Luego del remojo, las muestras

se agitaron ligeramente y se procedió a realizar la lectura de conductividad. El valor de conductividad obtenido se dividió por el peso de las 50 semillas, y los resultados se expresaron en $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

- **Peso de mil semillas (PMS)**, se realizó según la metodología descrita por ISTA (2023) para *L. perenne*. El resultado se expresó en gramos.

Ensayos de emergencia a campo

Los ensayos se realizaron en los años 2015 y 2016 con semillas provenientes de las campañas 2014 y 2015 respectivamente, correspondiente a los 10 lotes de semillas por cv. (5 FS por año por cada cv.:10 lotes de semillas). Se llevaron a cabo en la Estación Experimental Agrícola (EEA) INTA Hilario Ascasubi ($39^{\circ}22'S$, $62^{\circ}39'W$), en la provincia de Buenos Aires, Argentina. El clima predominante en esta localidad es templado semiárido con 489 mm de precipitación media anual y $14,8^{\circ}\text{C}$ de temperatura media anual (EEA INTA H. Ascasubi, 1966-2018). Los datos meteorológicos de cada año fueron registrados en la estación meteorológica de la EEA INTA Hilario Ascasubi a menos de 400 metros de distancia del lugar del ensayo.

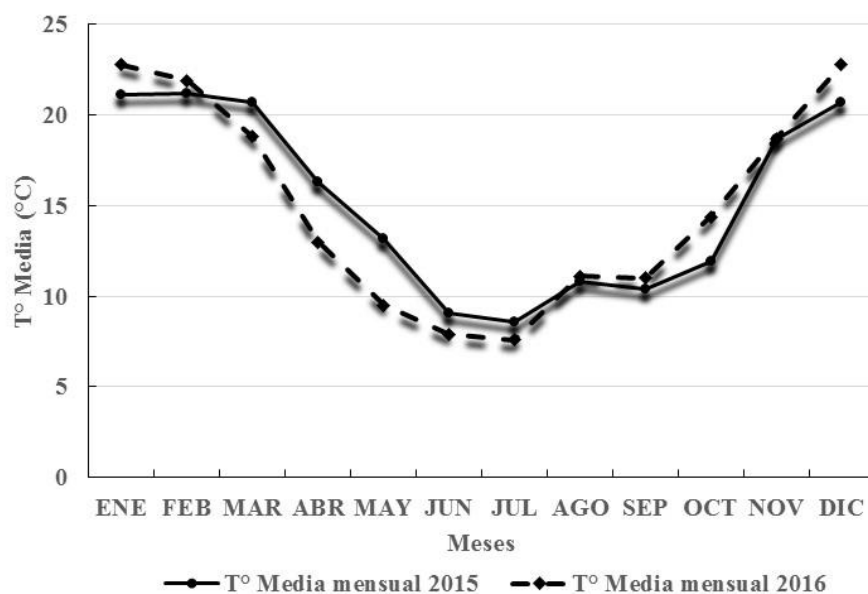


Fig. 4.1. Temperaturas medias mensuales registradas durante los años 2015 y 2016 en la E. E. A. INTA de Hilario Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.

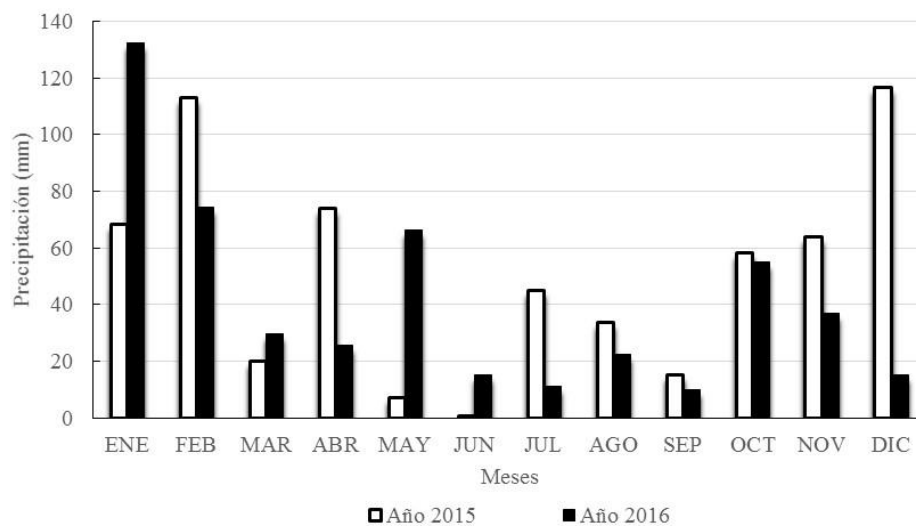


Fig. 4.2. Precipitaciones mensuales acumuladas registradas durante los años 2015 y 2016 en la E. E. A. INTA de Hilario Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.

El ensayo se implantó sobre suelo haplustol éntico, franco arenoso, ligeramente alcalino ($\text{pH} \approx 7,5$), con alto contenido de fósforo (P) (≈ 20 ppm P Bray & Kurtz) y bajo contenido en materia orgánica a 20 cm ($\approx 1,5\%$).

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Para la preparación de la cama de siembra se pasó una rastra de discos y se niveló el suelo de las parcelas. Cada unidad experimental estuvo formada por 1 surco de 2 metros lineales sembrado con 100 semillas cada uno. Las fechas de siembra fueron el 9 y 11 de septiembre de 2015 y 2016 respectivamente. Las semillas se sembraron a mano con una separación de 2 m de distancia entre surcos y una profundidad de siembra a 1,25 cm (Arnott, 1969). Inmediatamente después de la siembra, las parcelas experimentales fueron regadas por gravedad con una lámina de agua de aproximadamente 20 mm para asegurar un establecimiento exitoso. Se registró la temperatura del suelo con una frecuencia de 2 horas a 2 cm de profundidad utilizando registradores térmicos digitales (*Thermochron Ibuttons, Model DS1921G-F50, Maxim Integrated Products, Inc.*). Se realizaron conteos diarios (al mismo horario) y hasta los 30 días luego de la siembra para determinar la emergencia final de las plántulas (EPC). Se consideraron como plántulas emergidas aquellas con 10 mm o más por encima del suelo.

Análisis y diseño estadístico

Los tratamientos de laboratorio siguieron un diseño experimental completamente aleatorizado. Se realizaron los ANOVA para cada uno de los ensayos realizados. En todos los casos las comparaciones entre las medias se realizaron con la prueba LSD de Fisher con un nivel significación de 5 %. Además, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los resultados de los ensayos de germinación y los de vigor con 9 meses de almacenamiento para ambos cultivares y el porcentaje de emergencia de plántulas a campo, utilizando el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2019).

Se realizaron análisis de regresión lineal, utilizando el software de cómputo *GraphPad Prism versión 6.0* (Motulsky, 2012), entre las semillas con dormición al momento de la cosecha y luego del periodo de almacenamiento y entre estas últimas y la emergencia de las plántulas a campo.

RESULTADOS

En la Tabla 4.1 se muestra la correlación entre el ensayo de germinación y otros ensayos de laboratorio realizados sobre los lotes de semillas en ‘ULTRA’ y ‘RC’. Se observó que el 1^{er}C, LTP y LAP correlacionaron de manera altamente significativa con el ensayo de germinación para ambos cultivares.

Tabla 4.1. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el ensayo de germinación y otros ensayos de laboratorio para lotes de semillas de *Lolium perenne* en ‘ULTRA’ y ‘RC’.

Ensayo de Laboratorio	Ensayo de germinación (r)	
	ULTRA	RC
Primer conteo (%)	0,83***	0,95***
Longitud total de plántula (cm)	0,76***	0,73***
Longitud radícula plántula (cm)	0,66***	0,36
Longitud aérea plántula (cm)	0,72***	0,81***
Peso seco plántula (g)	-0,2	-0,28
Cold test (%)	-0,29	0,61***
Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$)	-0,21	-0,22
Peso de mil semillas (g)	0,02	0,46**

Nivel de significancia ‘**’ $p < 0,01$; ‘***’ $p < 0,001$.

Según se observa en la Tabla 4.2 los valores promedio de germinación de lotes de semilla fueron para 'ULTRA' de 84 % y de 81 % para RC. Dichos valores se encontraron por debajo de las tolerancias de los estándares de comercialización establecidos por el INASE (\geq al 85 %; Disposición SNS, 1988), al igual que los resultados obtenidos para las semillas de los tratamientos de cosecha reciente (Tabla 2.2 del capítulo II). Estos bajos valores de germinación se debieron a la presencia en mayor proporción de semillas frescas (con dormición) y en menor proporción a semillas muertas.

Los ensayos realizados permitieron diferenciar grupos de calidad dentro de los diferentes lotes de semillas, siendo las pruebas más potentes aquellas que identificaron mayor cantidad de grupos de calidad (Wang *et al.*, 2004). Si bien la cantidad de lotes por cultivar fue reducida, algunos ensayos permitieron diferenciar entre dos y ocho grupos de calidad. Para el cultivar ULTRA los ensayos de emergencia a campo, de germinación, la longitud total de plántula, peso de mil semillas, primer conteo, aérea longitud de raíz y parte aérea de plántulas pudieron dividir grupos de calidad, siendo este último ensayo el que mayor número de grupos diferenció.

Por su parte, para 'RC', la emergencia de plántulas a campo, el ensayo de germinación, primer conteo, la longitud aérea y total de plántula, el ensayo de "Cold Test" y el peso de mil semillas, pudieron dividir grupos de calidad de semillas.

La longitud aérea y total de plántula, el peso de mil semillas y el primer conteo fueron los ensayos más sensibles para diferenciar lotes por su calidad a diferencia de lo observado para la conductividad eléctrica y el peso seco de plántulas en todos los lotes (Tabla 4.2).

En los ensayos de emergencia a campo, la interacción entre lotes y años no fue significativa. Se encontraron diferencias significativas entre las cultivares; teniendo ‘ULTRA’ una mayor emergencia promedio que ‘RC’ (Figura 4.3).

Tabla 4.2. Número de grupos con diferencias significativas y estadísticos (promedio y rangos) de ensayos de calidad en lotes de semillas de *Lolium perenne* ‘ULTRA’ y ‘RC’.

Cultivar	N° de Lotes	Ensayo de calidad	Promedio	Rango Mín-Máx	N° Grupos
ULTRA	10	Germinación (%)	84	56-98	4**
		Primer conteo (%)	68	20-92	6**
		Longitud de raíz de plántula (cm)	4	2,9-4,7	6**
		Longitud aérea de plántula (cm)	6,1	4,3-7,2	8**
		Longitud total de plántula (cm)	10,1	7,17-11,73	5**
		Peso seco de plántula (g)	1,34	1,26-1,52	-
		<i>Cold Test</i> (%)	85	70-92	-
		Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	296,51	224,70-468,60	-
		Emergencia de plántula a campo (%)	78	62-92	2**
		Peso de mil semillas (g)	1,79	1,62-1,96	6**
RC	10	Germinación (%)	81	56-98	3**
		Primer conteo (%)	59	20-92	3**
		Longitud de raíz de plántula (cm)	3,3	2,9-4,6	-
		Longitud aérea de plántula (cm)	5,1	3,5-6,6	4**
		Longitud total de plántula (cm)	8,3	6,0-10,2	5**
		Peso seco de plántula (g)	1,12	0,95-1,29	-
		<i>Cold Test</i> (%)	76	54-94	7**
		Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	331,29	277,60-443,70	-
		Emergencia de plántula a campo (%)	66	25-89	2**
		Peso de mil semillas (g)	1,48	1,32-1,88	7*

Número de grupos divididos por *test* LSD de Fisher, asteriscos indican el nivel de significancia (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

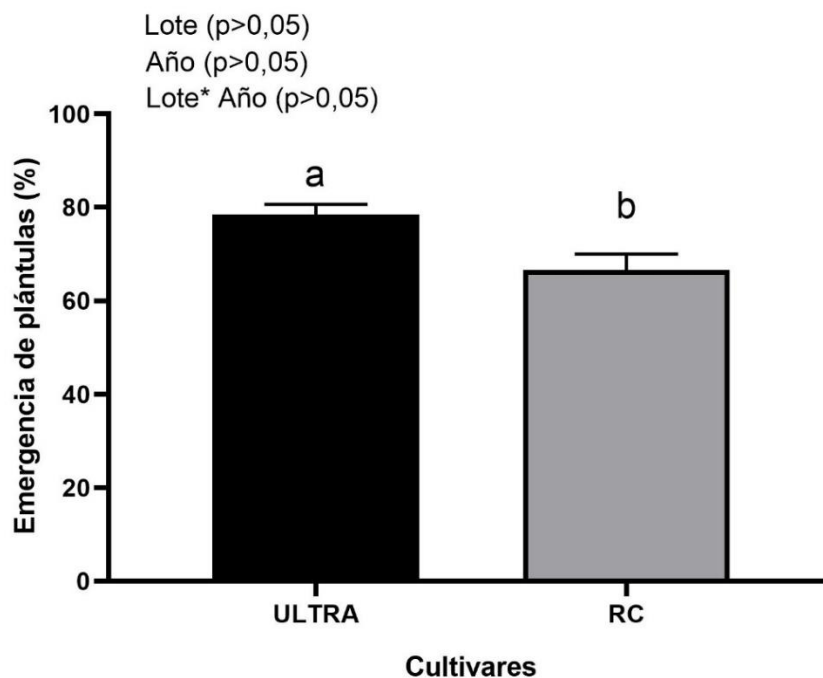


Fig. 4.3. Emergencia promedio de plántulas a campo realizado con lotes de semillas de *Lolium perenne* 'ULTRA' y 'RC' provenientes de post-almacenamiento por 9 meses, en la E. E. A. INTA de H. Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.

En la Tabla 4.3 se muestran las correlaciones entre los ensayos de laboratorio y la emergencia a campo; encontrándose en ambos cultivares correlaciones altamente significativas ($p < 0,001$) con el primer conteo, el ensayo de germinación y la longitud aérea de la plántula. De todos los ensayos realizados el primer conteo pudo predecir mejor la emergencia a campo a diferencia del ensayo de conductividad eléctrica, la longitud de la radícula de la plántula y el peso seco de plántula que fueron los de menor correlación.

Tabla 4.3. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre ensayos de laboratorio y plántulas emergidas a campo de todos los lotes de semillas de *Lolium perenne* de ‘ULTRA’ y ‘RC’ almacenadas luego de 9 meses.

Ensayo de Laboratorio	Emergencia de plántulas a campo (r)	
	ULTRA	RC
Germinación (%)	0,48**	0,84***
Primer conteo (%)	0,69***	0,85***
Longitud total de plántula (cm)	0,46*	0,75***
Longitud radícula de plántula (cm)	0,04	0,39*
Longitud aérea de plántula (cm)	0,62***	0,77***
Peso seco de plántula (g)	-0,14	-0,17
Cold Test (%)	0,11	0,53**
Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$)	-0,11	-0,18
Peso de mil semillas (g)	0,18	0,50**

Los asteriscos indican la significancia de los coeficientes de correlación (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Luego del periodo de almacenamiento de 9 meses, se observó que la tasa de liberación de la dormición de las semillas (SD) fue mayor en ‘RC’ que en ‘ULTRA’ (Figura 4.4 A). La menor emergencia de las plántulas a campo se asoció con los mayores porcentajes de semillas con dormición. Por ejemplo, para semillas con 20 % de SD el porcentaje de emergencia al campo fue sólo del 50 % (Figura 4.4 B).

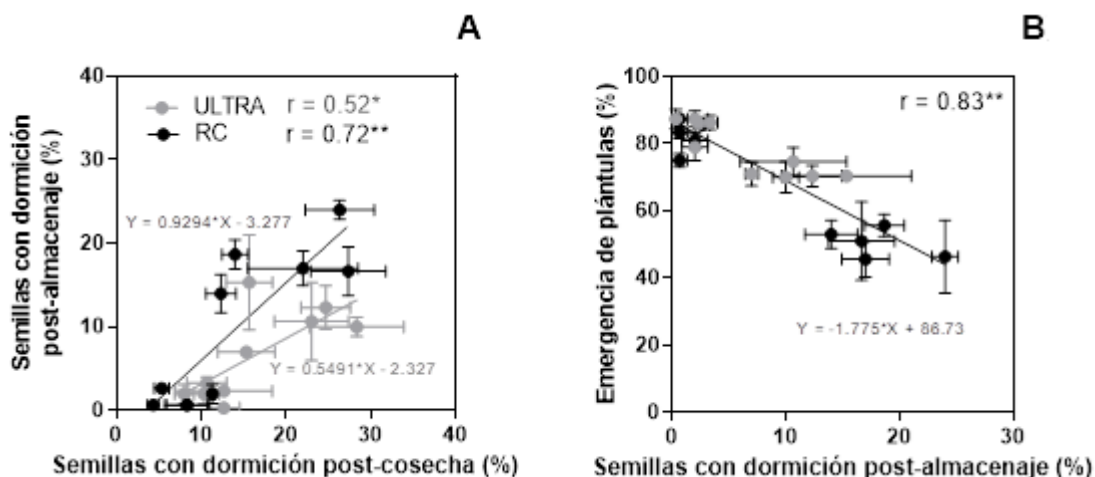


Fig. 4.4. Relación entre dormición de semillas de *Lolium perenne* ‘ULTRA’ y ‘RC’ en post-almacenamiento (9 meses a 20 ± 2 °C, HR 40 %). A: Semillas con dormición post-cosecha (cosecha reciente) de ‘ULTRA’ y ‘RC’ y; B: Emergencia de plántulas a campo para ‘ULTRA’ y ‘RC’ (promedio y desvío estándar) en la E. E. A. INTA de H. Ascasubi, pcia. Buenos Aires, Argentina.

DISCUSIÓN

El ensayo de conductividad eléctrica no permitió diferenciar lotes de semillas por su calidad (Tabla 4.2) ni estuvo correlacionado con la emergencia a campo (Tabla 4.4), como tampoco se correlacionó significativamente con el ensayo de germinación (Tabla 4.1). Hallazgos reportados por Bennett, Rowarth y Jin (1998), Ching y Schoolcraft (1968) y Cookson *et al.* (2001) quienes trabajaron en *L. perenne*; Marshall and Naylor (1985) en *L. multiflorum*; Hall y Wiesner (1990) en *Bromus biebersteinii*; y Wang *et al.* (2004) en *Elymus sibiricus* L. y *Sorghum bicolor* son similares a los del presente trabajo, donde la CE fue poco sensible para diferenciar lotes por su calidad. Sin embargo, Happ *et al.* (1993) pudo, con esta técnica, separar lotes por su calidad, al igual que Han *et al.* (1995) en *Festuca arundinacea* Schreber quienes encontraron que la CE correlacionó significativamente con la emergencia en invernáculo ($r: -0,950$) y a campo ($r: -0,934$) y Ramos Lopes y Brandão Franke (2010) en *L. multiflorum*.

La elevada variabilidad de los resultados de la CE y la falta de asociación con el ensayo de germinación puede deberse a la presencia de una capa semipermeable situada en la cubierta de la semilla adyacente al endosperma. Esta capa hallada por Lv, He, Hu y Wang (2017) reduce la velocidad de pasaje de electrolitos y su perforación permite el pasaje de los mismos produciendo valores más confiables para la medición de la CE.

La correlación significativa del ensayo de germinación con la emergencia a campo para ambos cv. concuerda con los resultados obtenidos por Hall y Wiesner (1990) para esta especie, por Wang *et al.* (2004) en *Elymus sibiricus* L., por Ramos Lopes y Brandão Franke (2010), por Marshall y Naylor (1985) en *L. multiflorum* y por Hampton (1981) en *Triticum aestivum* L.; aunque el ensayo de germinación tuvo muy baja capacidad para la separación de lotes por calidad, los resultados fueron coincidentes con lo observado por Happ *et al.* (1993).

El primer conteo, pudo diferenciar lotes por su calidad en los de semillas de 'ULTRA' y 'RC' y posee una alta correlación con la emergencia a campo para ambos cultivares. Resultados similares encontraron en *L. multiflorum* Ramos Lopes y Brandão Franke (2010) y Araujo Cavalcante *et al.* (2017).

En este estudio, el peso seco de la plántula no fue un método suficiente para evaluar el vigor de lotes de semillas, a diferencia de lo hallado para esta misma especie por Cookson *et al.* (2001), en *Lotus spp.* por Rowarth y Sanders (1996) y en *L. multiflorum* por Brown (1977). La falta de coincidencia de los resultados obtenidos en este trabajo con otros autores podría deberse al tipo y humedad del medio de crecimiento y la temperatura utilizada para la realizar la germinación (García y Lasa, 1991).

El rango observado de PMS de los lotes de semillas se encontró dentro del hallado por Naylor (1980). El PMS permitió separar lotes de calidad en ambos cultivares y con una baja pero significativa y positiva correlación con la emergencia a campo en 'RC', hallazgos similares fueron reportados por Brown (1977) para *L. multiflorum* y Cookson *et al.* (2001) para *L. perenne*. Resultados opuestos fueron observados para *L. perenne* (Naylor, 1980), *Triticum aestivum* (Hampton, 1981) y *L. multiflorum* (Marshall y Naylor, 1985). Esto puede deberse a que semillas más pesadas poseen más carbohidratos y permitirían un crecimiento más rápido aumentando su vigor (Warringa *et al.*, 1998).

El "Cold Test" es el ensayo de vigor más utilizado para evaluar la calidad de semillas de *Zea mays* "maíz" (AOSA, 1983), sin embargo, en este estudio solo pudo separar lotes por su calidad y correlacionó significativamente con la emergencia a campo en 'RC'. Happ *et al.* (1993) reportaron que el "Cold Test" no permitió separar lotes por calidad ya que *L. perenne* es una especie poco sensible al frío como si lo es una especie tropical como el maíz.

La LAP permitió separar lotes por su calidad al igual que lo observado por Happ *et al.* (1993) y además tuvo una buena correlación con el análisis de germinación y la emergencia de plántulas a campo, similar a los resultados encontrados en *Zea mays* por Adebisi *et al.* (2012) y en *Triticum aestivum* por Hampton (1981).

La emergencia de plántulas a campo se produjo en condiciones ambientales adecuadas (Cookson *et al.*, 2001), con una temperatura media del suelo de 10,4 °C (9,6 - 11,2 °C) y 11,0 °C (10,2 - 11,9 °C), y precipitación de 15,2 y 10,0 mm, durante el mes de evaluación en 2015 y 2016, respectivamente. Sin embargo, observamos que para las semillas con 20 % de dormición, la emergencia en el campo fue solo del 50 % (Figura 4.1 B) demostrando que la emergencia a campo tuvo valores por debajo de lo obtenido en los ensayos de germinación (Tabla 4.2).

La mayoría de las especies forrajeras con un tamaño de semillas pequeño presenta dormición y los resultados coinciden con otros autores en *Elymus sibiricus* L. (Wang *et al.*, 2004), *L. multiflorum* L. (Marshall y Naylor, 1985) y en *Bromus biebersteinii* Roemer & Schultes (Hall y Wiesner, 1990). Estos valores de emergencia en campo son mucho más bajos que los esperados para las condiciones óptimas del semillero. Aunque la dormición de la semilla podría ser la causa principal de la baja emergencia a campo, no se descartan otros factores como la depredación por artrópodos y patógenos del suelo o de roedores (Egli *et al.*, 2005).

Stanisavljevic *et al.* (2011), realizando ensayos a campo, observaron para *L. multiflorum* un peso de mil semillas de 2,14 g y en las semillas recién cosechadas un alto porcentaje de semillas con dormición (42 %). Luego del almacenaje de 270 días la germinación llegó a máximo de 93 % y a los 990 días luego de la cosecha su valor disminuyó al 69 %. Entre los 200-300 días posterior a la cosecha las plántulas alcanzaron el máximo largo de raíz, de largo de tallo y de peso fresco de plántula, 7,15 cm, 8,5 cm y 13,5 mg respectivamente. Por consiguiente, un valor elevado de germinación y un desarrollo rápido de las plántulas son requisitos necesarios para lograr el éxito del establecimiento en céspedes (Madsen *et al.*, 2016).

CONCLUSIÓN

Los ensayos de germinación, el primer conteo del ensayo de germinación, la longitud aérea de plántula y la longitud total de plántula correlacionan significativamente con la emergencia a campo y permiten separar lotes por su calidad. Estos ensayos poseen potencial para su utilización como indicadores del vigor de lotes de semilla de *L. perenne*. La selección de lotes con alto vigor reduciría el riesgo de fallos en la implantación, permitiría un rápido establecimiento del cultivo y evitar las consecuentes resiembras.

BIBLIOGRAFÍA

- Adebisi, M., Kehinde, T., Porbeni, J., Oduwaye, O., Biliaminu, K. y Akintunde, S. (2012). Seeds and seedlings vigour in tropical maize inbred lines. *Plant Breeding and Seed Science*, 67, 87-102.
- Araujo Cavalcante, J., Miotto Ternus, R., Lopes de Almeida, T., Reolon, F., De Sousa Araújo, Á., Gadotti, G. I. y Munt de Moraes, D. (2017). Ethanol vigor test to assess physiological quality of annual ryegrass seeds. Teste de vigor pelo etanol para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de azevém. *Revista Espacios*, 38 (47), 10.
- Arnott, R. A. (1969). The Effect of Seed Weight and Depth of Sowing on the Emergence and Early Seedling Growth of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*). *Journal of the British Grassland Society*, 24, 104-110.
- AOSA. (1983). *Seed vigor testing handbook*. (Association of Official Seed Analysts, USA). Lincoln, U.S A.: AOSA.
- AOSA. (2002). *Seed vigor testing handbook No. 32*. Association of Official Seed Analysts. Stillwater, U.S.A.: AOSA.
- Bean, E. W. (1973). Seed quality: its variation, control and importance in breeding and varietal assessment. *Report of the Welsh Plant Breeding Station*, 1972, 194-208.
- Bennett, J. S., Rowarth, J. S. y Jin, Q. F. (1998). Seed nitrogen and potassium nitrate influence browntop (*Agrostis capillaries* L.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) vigour. *J. Appl. Seed Prod.*, 16, 77-81.
- Brown, K. R. (1977). Parent seed weight, plant growth, and seeding in 'Grasslands Tama' Westerwolds ryegrass. *New Zealand journal of experimental agriculture*, 5, 143-146.
- Ching, T. M. y Schoolcraft, I. (1968). Physiological and chemical differences in aged seeds. *Crop Science*, 8, 407-409.
- Cookson, W. R., Rowarth, J., y Sedcole, J. R. (2001). Seed vigour in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): Effect and cause. *Seed Science and Technology*, 29, 255-270.
- Delouche, J. C. y Baskin, C. C. (1973). Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. Technol*, 1(2), 427-452.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. INFOSTAT (2019). [Software de cómputo]. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Edje, O. T. y Burris, J. S. (1970). Seedling vigor in soybeans. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 60, 149-157.
- Egli, D. B., TeKrony, D. M., Heitholt, J. J. y Rupe, J. (2005). Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. *Crop Science*, 45, 1329-1335.
- Evans, P. S. (1973). Effect of seed size and defoliation at three development stages on root and shoot growth of seedlings of some common pasture species. *New Zealand journal of agricultural research*, 16, 389-394.
- Ferguson, J. (1990). Report of seed vigour subcommittee. *Journal of seed Technology*, 14, 182-184.
- Fick, G. L. y Hibbard, R. P. (1925). A method for determining seed viability by electrical conductivity measurements. *Michigan Academy of Sciences, Arts and Letters*, 5, 95-103.

- Finch-Savage, W. E. y Bassel G. W. (2016). *Journal of Experimental Botany*, 67 (3), 567–591.
- García, A. y Lasa, J. M. (1991). *Ensayos de vigor de nascencia*. Boletín N°14. Zaragoza, España: Estación experimental de Aula DEI.
- Gill, N. S. y Delouche, J. C. (1973). Deterioration of seed corn during storage. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 63, 35-50.
- Gupta, P. C. (1993). *Seed vigour testing. Handbook of seed testing*. Agrawal, P. K., (Ed). New Delhi, India: DAC, Ministry of Agriculture.
- Hall, R. D. y Wiesner, L. E. (1990). Relationship between Seed Vigor Tests and Field Performance of “Regar” Meadow Bromegrass. *Crop Science*, 30(5), 967.
- Hampton, J. G. (1981). The relationship between field emergence, laboratory germination, and vigour testing of New Zealand seed wheat lines. *New Zealand journal of experimental agriculture*, 9, 191–197.
- Hampton, J. G. (1986). Effect of seed and seed lot 1000- seed weight on vegetative and reproductive yields of Grasslands “Moata” tetraploid Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 14, 13-18.
- Hampton, J. G. y Coolbear, P. (1990). Potential versus actual seed performance - can vigour testing provide an answer?. *Seed science and technology*, 18, 215-228.
- Hampton, J. C. y Hill, M. J. (1990). Herbage seed lots: are germination data sufficient?. *Proceeding of the New Zealand Grassland Association*, 52, 59-64.
- Hampton, J. G. (1992). Vigour testing within laboratories of the International Seed Testing Association: a survey. *Supplement to Seed Science and Technology*, 20, 199-203.
- Hampton, J. G. y Tekrony, D. M., (1995). *Handbook of vigour test methods. 3a ed.* Zurich, Suiza: The International Seed Testing Association.
- Han, J. G., Mao, P. S., Pu, X. C. y Li, M. (1995.) A study on the seed vigour of tall fescue. *Acta Agrestia Sinica* 3(4):269–275.
- Happ, K., McDonald, M. B. y Danneberger, T. K. (1993). Vigour testing in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seeds. *Seed Sci. Technol*, 21,375–381.
- Hayes, P. (1975). The influence of seed weight on seedling growth in perennial ryegrass, tall fescue and Yorkshire fog. *Record of agricultural research*, 23, 33-43.
- Heydecker, W. (1969). The vigour of seeds: a review. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, 34, 201-219.
- Isely, D. (1957). Vigor tests. *Proceedings of Association of Official Seed Analyst*, 47, 176-182.
- ISTA (2023). International Seedling Test Association. *International Rules for seed testing*. Zurich, Switzerland:
- Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D. y França-Neto, J. B. (1999). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina, Brasil: ABRATES.
- Loeffler, T. M., TeKrony, D. M. y Egli, D. B. (1988). The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. *Journal of Seed Technology*, 12, 37-53
- Lv, Y. Y., He, X. Q., Hu, X. W. y Wang, Y. R. (2017). The Seed Semipermeable Layer and Its Relation to Seed Quality Assessment in Four Grass Species. *Front. Plant Sci.*, 8, 1175.
- Madsen, M. D., Fidanza, M. A., Barney, N. S., Kostka, S. J., Badrakh, T. y McMillan, M. F. (2016). Low-dose Application of Nonionic Alkyl Terminated Block Copolymer Surfactant Enhances Turfgrass Seed Germination and Plant Growth. *Hort Technology*. 26(4), 379-385.

- Marcos-Filho, J., Carvalho, R. V., Cícero, S. M. y Demétrio, C. G. B. (1985). Relationship between seed quality, storability and field performance of soybean. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"*, 42, 195-249.
- Marcos-Filho, J., Komatsu, Y. H., Novembre, A. D. L. C., Fratin P. y Demétrio, C. G. B. (1986). Seed size and performance of sunflower (*Helianthus annuus* L.). II. Vigor. *Revista Brasileira de Sementes*, 8,21-32.
- Marcos-Filho, J., Cícero, S. M. y Silva, W. R. (1987). *Avaliação da qualidade das sementes*. Piracicaba, San Pablo, Brasil: Fealq.
- Marcos-Filho, J. y McDonald, M. B. (1998). Sensitivity of RAPD analysis, germination and vigour tests to detect the intensity of deterioration of naturally and artificially aged soybean seeds. *Seed Science and Technology*, 6,141-147.
- Marcos-Filho, J. (1999). Testes de vigor: importância e utilização. En Krzyzanowski F. C., Vieira, R. D. y França Neto, J. B. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina, Brasil: Abrates.
- Marcos-Filho, J. (2015). Seed vigor testing: An overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72, 363-374.
- Marshall, A. H. y Naylor, R. E. L. 1985. Seed vigor and field establishment in Italian ryegrass. *Seed Sci. Technol.*, 13, 781-794.
- Matthews, S. y Bradnock, W. T. (1967). The detection of seed samples of wrinkle-seeded peas (*Pisum sativum* L.) of potentially low planting value. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, 32, 553-563.
- Matthews, S. (1980). Controlled deterioration: A new vigour test for crop seeds. En *Seed Production*, Hebblethwaite P. D (Ed). London, U. K.: Butterworths
- Matthews, S. y Khajeh-Hosseini, M. (2007). Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize. *Seed Science and Technology*, 35, 200-212.
- Matthews, S., Noli, E., Demir, I., Khajeh-Hosseini, M. y Wagner, M. H. (2012). Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research*, 1, 69-73.
- Motulsky, H. J. (2012). GraphPad Prism (Version 6.0) [Software de cómputo]. San Diego, C.A., USA: GraphPad Software.
- McDonald, M. B. (1980). Assessment of seed quality. *Hort Science*, 15, 784-788.
- Moore, R. P. (1962). Tetrazolium as a universally acceptable quality test of viable seed. *Proceedings of the International Seed*, 27, 795-805.
- Nakagawa, J. (1999). Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. En Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D. y França Neto, J. B. (Eds.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina, Brasil: ABRATES.
- Naylor, R. E. (1980). Effects of seed size and emergence time on subsequent growth of perennial ryegrass. *New Phytologist*, 84(2), 313-318.
- Pederson, L. H., Jorgensen, P. E. y Poulsen, I. (1993). Effect of seed vigour and dormancy on field emergence, development and grain yield of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and winter barley (*Hordeum vulgare* L.). *Seed Science and Technology*, 21 (1), 159-178.
- Peretti, A. (1994). *Manual de Análisis de semillas*. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur S.A.
- Perry, D. A. (1978). Report of the Vigour Test Committee 1974-1977. *Seed Science and Technology*, 6, 159-181.

- Perry, D. A. (1984). Commentary on ISTA Vigour Test Committee collaborative trial. *Seed Sci. Technol.*, 12, 301–308.
- Priestley, J. T. (1958). Relation of protoplast permeability to cotton seed viability and predisposition to seedling disease. *Plant Disease Reporter*, 42, 852.
- Ramos Lopes, R. y Brandão Franke, L. (2010). Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 32 (1),123-130.
- Rowarth, J. S. y Sanders, K. J. (1996). Relationship between seed quality tests and field emergence for *Lotus pedunculatus* (Cav.), *L. corniculatus* (L.) and *L. tenuis* (Willd). *Journal Applied Seed Production*, 14, 87-89.
- Scott, D. J. (1980). The role of seed testing. En Lancashire, J. A. (Ed), *Herbage seed production* (103-109). Palmerston North, New Zealand: New Zealand Grassland Association (INC).
- Servicio Nacional de Semillas (SNS). Disposicion N°12, 1988. Buenos Aires. Argentina. Recuperado de https://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_remository&Itemid=102&func=fileinfo&id=533
- Stanisavljevic, R., Djokic, D. I., Milenkovic, J., Dukanovic, L., Stevovic, V., Simic, A. y Dodig, D. (2011). Seed germination and seedling vigour of Italian ryegrass, cocksfoot and timothy following harvest and storage. *Ciência Agrotechnica*, 35,1141–1148.
- Tekrony, D. M. (1983). Seed vigour testing. *Journal of Seed Technology*, 8, 55-60.
- Thomas, R. L. (1966). The Influence of Seed Weight on Seedling Vigor in *Lolium Perenne*. *Annals of Botany*, 30(1), 111–121.
- Wang, Y. R., Yu, L., Nan, Z. y Liu, Y. L. 2004. Vigor Tests Used to Rank Seed Lot Quality and Predict Field Emergence in Four Forage Species. *Crop Science*. 44 (2): 535- 541.
- Walters, C., Wheeler, L. M. y Stanwood, P. C. 2004. Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology*, 48 (2):229-244.
- Walters, C.; Wheeler, L. M. y Grotenhuis, J. M. 2005. Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. *Seed Science Research*, 15 (1):1-20.
- Warringa, J. W., De Visser, R. y Kreuzer, A. D. H. 1998. Seed Weight in *Lolium perenne* as Affected by Interactions among Seeds within the Inflorescence. *Annals of Botany*, 82(6):835–841.

CONCLUSIONES GENERALES

- En *Lolium perenne* y de acuerdo a los resultados de este estudio no se encontraron tendencias claras que permitan determinar una fecha de siembra óptima para lograr una mejor calidad de semilla.
- La variación en las fechas de siembra en *L. perenne* coloca al cultivo en diferentes condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas afectando su calidad.
- La calidad de las semillas es altamente influenciada por el año climático y el genotipo.
- El nivel de dormición de las semillas es afectado por las condiciones climáticas durante su desarrollo en la planta madre. La dormición disminuye con mayores temperaturas medias diarias y mayores amplitudes térmicas, a diferencia de lo hallado en la relación con las precipitaciones donde la dormición aumenta con su incremento.
- La utilización de las unidades de estrés térmico (UET) pueden ser de utilidad para establecer posibles rangos de dormición.
- Los ensayos de germinación, el primer conteo del ensayo de germinación, la longitud aérea de plántula y la longitud total de la plántula se correlacionan significativamente con la emergencia a campo y permiten separar lotes de semillas por su calidad.

LINEAMIENTOS FUTUROS DE INVESTIGACIÓN

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se podrían establecer las siguientes futuras líneas de investigación:

- Profundizar el estudio de los factores agroclimáticos sobre la calidad de semillas de *Lolium perenne*. Motivando la realización de mayor número de años de ensayos a campo y el registro de otras variables no tenidas en este estudio como, por ejemplo, la radiación solar, agua disponible y nutrientes del suelo.
- Diseñar modelos matemáticos que tengan en cuenta las UET junto con otros parámetros ambientales que permitan un mejor ajuste y así poder predecir con mayor seguridad los niveles de dormición de diferentes genotipos de *L. perenne*.
- Validar los protocolos de ensayos para el primer conteo del ensayo de germinación, la longitud aérea de plántula y la longitud total de la plántula mediante determinaciones interlaboratorios para su posterior propuesta de inclusión como metodologías de vigor, para *L. perenne*, en las Reglas Internacionales de Análisis de Semillas de ISTA.