



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE MAGÍSTER EN CIENCIAS AGRARIAS

**Implantación de *Panicum coloratum*:
acondicionamiento pregerminativo,
tolerancia a la deficiencia de agua y salinidad,
evaluación de la maduración y retención de semillas.**

Lic. Sandra Sonia Baioni

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2020

Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Magíster en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Agronomía durante el período comprendido entre 2018 (Expte. Nº 1497/18) y 2020, bajo la dirección de los doctores Roberto E. Brevedan y Gustavo A. Orioli.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../..... , mercedo la calificación de(.....)

Sandra S. Baioni
(firma)

Dedico este trabajo

*a mi familia, por ser lo mejor de mi vida y su esencia misma,
a mi esposo Julián por su amor y apoyo incondicionales,
y por su tolerancia y paciencia infinitas,
y a mis amados hijos Consuelo y Emilio, a quienes deseo transmitirles
que “nunca es tarde” y que “el esfuerzo siempre vale la pena”;*

*a mis queridos padres, Marta y Juan, por su ejemplo de vida y por el amor que
me han dado. Este trabajo es una ofrenda a mi madre en su difícil condición
actual y a la memoria de mi padre, quien me acompañará eternamente;*

*a la memoria del Dr. Brevedan, mi Director y mentor, quien falleció
durante la etapa final de realización de este trabajo.*

Agradecimientos

- A mis Directores, los doctores Roberto Brevedan († 2020) y Gustavo Orioli, ambos Profesores Consultos de la Universidad Nacional del Sur, por su invaluable estímulo, su guía, generosidad académica y en especial por su ejemplo. Me honra haber contado con la guía de ambos en la elaboración de esta tesis.
- Al Departamento de Agronomía donde se realizó este trabajo, a sus autoridades actuales y personal administrativo quienes siempre han estado dispuestos a brindar su estímulo, apoyo y colaboración.
- A la Universidad Nacional del Sur, institución que posibilitó mi formación y la realización de esta investigación, y a la que me encuentro vinculada desde que empecé mis estudios primarios, razón por la cual ya somos parte una de la otra.
- A mis colegas de Fisiología Vegetal, Lic. María N. (Mariela) Fioretti y Dra. Ivana Fernández Moroni, con quienes compartimos la pasión por la docencia, los proyectos académicos y una amistad que nos ha enriquecido desde todo punto de vista. También a Pili (Ing. Agrónoma Irene Cibanal), nuestra nueva adquisición para el sano recambio generacional.
- Otra vez a Mariela, por su ayuda en la corrección del manuscrito y por estar siempre a mi lado. Contar con su compañía incondicional, su equilibrio y amistad es un privilegio que valoro enormemente no sólo desde lo académico sino especialmente desde lo personal.
- Al Dr. Carlos Torres Carbonell, de la EEA INTA Bahía Blanca, quien me propuso la idea de empezar a investigar “la problemática de las semillas del mijo perenne”, lo que concluyó en la elaboración de esta tesis. También a los Ingenieros Agrónomos Andrea Lauric y a Gerónimo de Leo, de la misma Agencia, por el trabajo, los viajes y charlas compartidas, y por sus inestimables aportes a la investigación de la cual se surgió este trabajo.
- A los estudiantes Melanie Orazi, Esteban Mengatto, Carla Di Paolo y Ximena Graff quienes, colaboraron conmigo en la puesta a punto de las técnicas y obtención de parte de los resultados de los Capítulos 2 y 3, durante el desarrollo de sus tesinas bajo mi dirección. A

María Belén Fernández con quien realicé los ensayos presentados en el Capítulo 4, a quien estoy dirigiendo actualmente en la realización de su tesina.

- A la Dra. Lorena Armando y al Dr. Antonio Garayalde por su colaboración en el análisis estadístico de datos.
- A Dra. Cecilia Pellegrini, por estar siempre disponible para mis consultas, brindarme su tiempo, conocimientos y especialmente su consejo.
- A las docentes del Laboratorio de Morfología Vegetal, en especial a la Dra. Lilia Ivonne Lindström, así como a la Mg. Andrea Flemmer, la Mg. María Clara Franchini y la Mag. Verónica Rosetti por toda la ayuda brindada y por permitirme utilizar el equipamiento de dicho Laboratorio.
- Al Dr. Luis F. Hernández por su gran disponibilidad para responder mis dudas y consultas, ofreciéndome sus conocimientos y su tiempo desinteresadamente.
- A la Dra. María Andrea Tomás por su diligencia y generosidad ante mis consultas, ya que es una referente de la especie estudiada en esta tesis a nivel nacional e internacional;
- A mi prima, Gabriela Pascolini, por su asesoramiento y ayuda en el diseño y edición de figuras.
- A la profesora Alejandrina Sánchez por su desinteresada colaboración, su apoyo y aliento;
- Y a todos mis afectos: familiares, amigos/os y compañeras/os de trabajo, por estar en mi vida, hacerme feliz y por alentarme cuando mis fuerzas flaquearon.

A todos: *Gracias totales!!!*

*Si en la lid el destino te derriba,
si todo en tu camino es cuesta arriba,
si tu sonrisa es ansia insatisfecha,
si hay faena excesiva y vil cosecha,
si a tu caudal se anteponen diques
date una trega ¡pero no claudiques!*

Dudyard Kipling

RESUMEN

Panicum coloratum var. *coloratum* (n.v. mijo perenne) es una forrajera con excelentes aptitudes para el Sudoeste Bonaerense, que aporta sustentabilidad a los sistemas agropecuarios en un ambiente con importantes limitaciones productivas y que permite realizar un planteo forrajero que aporte alimento en el período estival, cuando los rodeos demandan una mayor cantidad de forraje.

Esta especie aún ha tenido menor difusión que otras pasturas megatérmicas, y la causa de su baja adopción por los productores se debe a las dificultades que presenta la etapa inicial de su cultivo. Las características de las semillas de mijo perenne, como su pequeño tamaño - asociado a escasas reservas-, su maduración asincrónica, su elevada dehiscencia y la dormición primaria en semillas nuevas, causan una reducción en la calidad comercial, así como en la eficiencia de su implantación. Estos rasgos se asocian a caracteres silvestres que conserva la especie, debido a que aún ha tenido un menor mejoramiento que otras gramíneas.

El estudio de estos problemas y el desarrollo de técnicas que mejoren la performance de las semillas han sido objetivos de este trabajo. El aumento de la eficiencia durante la germinación e implantación se realizó mediante la aplicación de distintas técnicas de acondicionamiento de semillas (*priming*), que consiste en realizar una hidratación controlada, sin permitir que la semilla germine. Sus beneficios se reflejaron en aumentos muy significativos en el poder germinativo, el crecimiento y supervivencia de las plántulas mediante un proceso de invigorización. Además, otorgó mayor tolerancia a condiciones desfavorables durante el desarrollo, como la deficiencia hídrica y la salinidad. Los acondicionamientos que resultaron más efectivos fueron los de *hidropriming* (solo con agua destilada), *matripriming rápido* (con papel de filtro de baja retención de agua) y *osmopriming* con cloruro de calcio (CaCl_2) al 2%. Los tiempos y temperaturas con los que se obtuvieron los mejores resultados fueron cuando se aplicó *priming* durante 12 horas a 25 °C, aunque también con 24 horas y 30 °C se obtuvieron mejoras significativas.

Para entender el origen de la baja calidad de las semillas y la reducida eficiencia durante la implantación, se realizaron estudios en invernáculo sobre la maduración, dehiscencia y retención de semillas en las panojas. En los 3 años evaluados, aumentó gradualmente la

producción y retención de semillas. Además, se encontró que en la parte apical de las panojas era donde ocurría la abscisión más temprana, y que la parte basal retuvo un porcentaje muy bajo de semillas. La parte media de la inflorescencia fue la que tuvo mayor retención y cantidad de semillas. Luego de 5 semanas después de la antesis las semillas tenían un peso mayor, pero la máxima retención ocurrió entre 7 y 8 semanas después de la antesis. Estas evaluaciones pueden colaborar en la determinación del momento óptimo de cosecha, de modo de encontrar el período en el cual las semillas alcancen el máximo peso y estado de madurez, pero evitando una pérdida excesiva por dehiscencia.

ABSTRACT

Panicum coloratum var. *coloratum* (perennial millet) is a forage with excellent aptitudes for Buenos Aires Southwest, which provides sustainability to agricultural systems in an environment with important productive limitations and which provides food in the summer period, when the herds demand a greater amount of food.

This specie has still had less diffusion than other megathermic pastures, the cause of its low adoption by producers (farmers) is due to the difficulties of initial stages growth. The characteristics of perennial millet seeds, such as small size -associated with scarce reserves-, asynchronous maturaty, high dehiscence and primary dormancy in fresh seeds, cause a reduction in commercial quality, as well as the efficiency of their establishment. These traits are associated with the maintenance of wild genetics characters, because it has still undergone less improvement than other grasses.

The study of these problems and the techniques development to improve seed performance have been objectives of this work. The increase in efficiency during germination and establishment was carried out by applying different seed priming techniques, which consists of performing controlled hydration, without allowing seed germination. Its benefits were reflected in very significant increases in germination percentage, growth and seedling survival through an invigorization process. In addition, it granted greater tolerance to unfavorable development conditions, such as water deficiency and salinity. The most effective priming were hydropriming (only with distilled water), rapid matirpriming (with filter paper with low water retention) and osmopriming with 2% calcium chloride (CaCl₂). Best results were obtained were when priming was applied for 12 hours at 25 °C, although significant improvements were obtained 24 hours and 30 °C.

Seed maturity, dehiscence and seed panicles retention were carried out in greenhouse essays to understand low seed quality origin and low establishment efficiency. Seed production and retention gradually increased during the 3 years study. Furthermore, it was found that panicle apical part was where earliest abscission occurred, and that the basal part retained a very low seed percentage. The inflorescence middle part had the highest seed retention and seed number. Five weeks after anthesis, seeds had higher weight, but maximum retention occurred between 7

and 8 weeks after anthesis. These evaluations can help in determining the optimal harvest moment, in order to find the period in which seed reaches maximum weight and maturity state, but avoiding excessive loss due to dehiscence.

Certificación del Director

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridos por los jurados intervinientes.

Dr. Gustavo Orioli

ÍNDICE GENERAL

Prefacio	2
Dedicatoria	3
Agradecimientos	4
RESUMEN	6
ABSTRACT	8
CAPÍTULO 1. Introducción General	19
1. 1. La región semiárida bonaerense	20
1. 2. Pasturas megatérmicas	23
1. 3. Características de género <i>Panicum</i> L.	27
La especie <i>Panicum coloratum</i>	27
<i>Panicum coloratum</i> en Argentina	30
Características de las semillas de <i>Panicum coloratum</i> e implantación	35
Factores de estrés que afectan el crecimiento y desarrollo de <i>Panicum coloratum</i>	33
1. 4. Efectos del acondicionamiento sobre la germinación e implantación	37
1. 5. Problemas relacionados con la maduración y retención de las semillas	39
1. 6. Hipótesis general	40
1. 7. Objetivo General	40
CAPÍTULO 2. Efecto del acondicionamiento de semillas sobre la germinación del mijo perenne	41
2. 1. Introducción	42
2. 1. 1. Acondicionamiento de semillas	42
2. 1. 2. Efecto del acondicionamiento de las semillas sobre la germinación	47
2. 2. Hipótesis	53
2. 3. Objetivo	53
2. 4. Materiales y Métodos	54
Tratamientos de acondicionamiento o <i>priming</i>	54
Ensayos de germinación	59
Análisis estadístico	60
2. 5. Resultados y Discusión	61
2. 5. 1. Efecto del acondicionamiento sobre la germinación	61

2. 5. 2. Efecto del acondicionamiento sobre la germinación a lo largo del tiempo.....	68
2. 5. 3. Germinación acumulada parcial y total.....	74
2. 5. 4. Efecto del acondicionamiento en semillas de más de un año.	76
CAPÍTULO 3. Efecto del acondicionamiento de semillas de mijo perenne en la tolerancia al déficit de agua y a la salinidad durante la germinación e implantación.....	82
3. 1. Introducción.....	83
3. 1. 1. Efecto de la deficiencia de agua y salinidad en de <i>Panicum coloratum</i>	83
3. 1. 2. Efecto del acondicionamiento sobre la tolerancia al déficit de agua y la salinidad durante la germinación y la implantación de <i>Panicum coloratum</i>	86
3.2. Hipótesis.....	91
3.3. Objetivos	91
3. 4. Materiales y Métodos	92
3. 4. 1. Germinación	92
3. 4. 2. Implantación.....	94
3. 5. Resultados y Discusión	98
3. 5. 1. Efecto del acondicionamiento en la germinación y desarrollo de plántulas bajo condiciones de deficiencia de agua y salinidad.....	98
3. 5. 2. Efecto del acondicionamiento durante la implantación bajo condiciones de deficiencia de agua y salinidad. Ensayo realizado en 2016.	109
CAPÍTULO 4. Maduración y retención de semillas en mijo perenne	118
4. 1. Introducción	119
Características de semillas de mijo perenne: tamaño, maduración, retención y dormición.	121
4. 2. Hipótesis.....	128
4. 3. Objetivos	128
4. 4. Materiales y Métodos	129
Análisis de datos.....	133
4. 5. Resultados y Discusión	134
4. 5. 1. Retención y maduración de semillas.....	134
4. 5. 2. Determinaciones realizadas sobre las semillas recolectadas.....	139
4. 5. 3. Evaluación de panojas	143

CAPÍTULO 5. Consideraciones finales y perspectivas futuras	149
Bibliografía	156

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Detalle del Sudoeste Bonaerense (SOB) y partidos que lo integran	15
Figura 2. A: glumas con semillas inmaduras en su interior, anteras y estigmas. B: semillas con distinto grado de madurez, glumas y estigmas	29
Figura 3. Curva de hidratación y fases de la germinación en semillas con y sin priming	48
Figura 4. Muestras de semillas utilizadas en los ensayos (Agroempresa S.A.)	54
Figura 5. Cajas preparadas para aplicar los diferentes tratamientos de <i>matripriming</i>	59
Figura 6. Cámara de germinación con ensayos de <i>priming</i> . Laboratorio de Fisiología Vegetal. Depto. de Agronomía – UNS.	59
Figura 7. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de <i>priming</i> para la combinación de 12 horas de duración y 25 °C.	62
Figura 8. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de <i>priming</i> para la combinación de 12 horas de duración y 30 °C.	63
Figura 9. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de <i>priming</i> para la combinación de 24 horas de duración y 25°C.	64
Figura 10. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de <i>priming</i> para la combinación de 24 horas de duración y 30 °C.	65
Figura 11. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con <i>hidropriming</i> según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.	69
Figura 12. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con <i>matripriming</i> (MP) rápido según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.	70
Figura 13. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con <i>matripriming</i> (MP) medio según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.	71
Figura 14. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con <i>matripriming</i> (MP) lento según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.	71

- Figura 15.** Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con OP CaCl₂ al 2% para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.72
- Figura 16.** Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con PEG 6000, OP -0,50 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.73
- Figura 17.** Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con PEG 6000, OP -1,00 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura.73
- Figura 18.** Porcentaje de germinación en el tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con PEG 6000, OP -1,50 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.74
- Figura 19.** Porcentaje de germinación acumulado parcial y total en los conteos correspondientes a los 4, 7, 14 y 28 DDS para las distintas combinaciones tiempo-temperatura, en promedio para todos los tratamientos de *priming* aplicados a semillas de mijo perenne.75
- Figura 20.** Ensayo de germinación. A. Detalle de bandejas en la cámara. B. Bandeja sembrada con semillas de mijo perenne.93
- Figura 21.** Ensayo de implantación. A. Detalle de las macetas de los distintos tratamientos de deficiencia de agua y salinidad. B. Recipientes con plantas al finalizar el ensayo de implantación.94
- Figura 22.** Aplicación de riegos diferenciales de deficiencia de agua y salinidad en el ensayo de implantación en condiciones semicontroladas.95
- Figura 23.** Incubación de secciones de hoja en agua destilada para determinación de estabilidad de membranas celulares.97
- Figura 24.** Comparación de las plantas de los distintos tratamientos antes de finalizar y retirarlas de los recipientes (izquierda), y luego de retirarlas durante la evaluación (derecha).115
- Figura 25.** Relación de sodio intercambiable (RAS) (meq l⁻¹), porcentaje de sodio intercambiable (PSI) (%) y conductividad eléctrica (CE) (dS m⁻¹) a 25 °C de los extractos de suelos en los tratamientos regados con soluciones salinas, ensayo de implantación en invernáculo, año 2016.116
- Figura 26.** Ensayo de retención de semillas en invernáculo. A. Vista general del ensayo con las trampas colocadas. B. Recipiente conteniendo una panoja en su interior. C. Detalle de un recipiente con el paño de gasa en el pico para recolectar las semillas. 130

Figura 27. <i>Arriba:</i> colocación de trampas en el ensayo a campo. <i>Abajo:</i> Aspecto del lote implantado con <i>Panicum coloratum</i> var. <i>coloratum</i> en Bajo Hondo, Partido de Coronel Rosales, en el que se desarrollan estudios de retención de semillas en condiciones naturales.	132
Figura 28. Material recolectado en las dos primeras semanas de muestreo en las trampas. (A y B) a los 7 DDA, (C y D) a los 14 DDA.	134
Figura 29. Materiales recolectados a los 14 DDA en los que se observan semillas inmaduras y con falta de pigmentación en las cubiertas seminales.	135
Figura 30. (A y B) Semillas recolectadas a los 21 días DDA; (C y D) semillas recolectadas a los 28 DDA y (E y F) semillas recolectadas a los 35 DDA.	136
Figura 31. Promedio de semillas perdidas por panoja en cada una de las fechas muestreadas (días después de la antesis) para los tres años de ensayo. Las barras indican el promedio de semillas caídas en cada fecha, con sus correspondientes desvíos estándar, y las curvas punteadas se trazaron para indicar la dispersión en la caída de semillas a lo largo de las fechas de recolección de semillas en cada año.	136
Figura 32. Número de semillas retenidas por panoja, en las muestras herborizadas en cada fecha de recolección, para el período correspondiente desde los 28 a los 35 días después de la antesis (DDA) en los tres ciclos de crecimiento considerados. Las barras representan los desvíos estándar.	145
Figura 33. Sistema abierto para controlar la dehiscencia de semillas en panojas.	147

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Consumo (g forraje. kg peso metabólico ⁻¹ . día ⁻¹) y valor nutritivo de mijo perenne durante su ciclo productivo y como diferido. Tomado de Petruzzi <i>et al</i> , 2003.	31
Tabla 2. Comparación de digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca (DIVMS) (%) y contenido de proteína bruta (PB) (%) de pasto llorón y mijo perenne. Adaptado de Stritzler <i>et al.</i> , 2009.	32
Tabla 3: Detalle de los tratamientos de <i>osmopríming</i> aplicados.	56
Tabla 4: Detalle de los tratamientos de <i>matripríming</i> aplicados.	57
Tabla 5: Detalle de los tratamientos con uno y dos ciclos de <i>príming</i> aplicados en 2016.	58
Tabla 6. Efecto de distintos métodos de <i>príming</i> en el porcentaje de germinación en semillas de mijo perenne cosecha 2014, para diferentes combinaciones de tiempo y temperatura, aplicado en un único ciclo en el año 2016.	77
Tabla 7. Efecto de distintos métodos de <i>príming</i> en el porcentaje de germinación en semillas de mijo perenne para diferentes combinaciones de tiempo y temperatura, aplicados en 1 y 2 ciclos.	80
Tabla 8. Porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG), longitud aérea (LA), longitud radicular (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR) y peso seco de las plántulas para tratamientos sin <i>príming</i> (SP), con <i>hidropríming</i> (HP) durante 12 h a 25 °C, con <i>matripríming</i> rápido (MPR) durante 12 h a 25 °C y con <i>osmopríming</i> con cloruro de calcio (OP CaCl ₂) durante 24 h a 25 °C, en el ensayo en condiciones controladas, año 2015.	99
Tabla 9. Porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG), longitud aérea (LA), longitud radicular (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR) y peso seco de las plántulas para tratamientos sin <i>príming</i> (SP), con <i>hidropríming</i> (HP) durante 12 h a 25 °C, con <i>matripríming</i> rápido (MPR) durante 12 h a 25 °C y con <i>osmopríming</i> con cloruro de calcio (OP CaCl ₂) durante 24 h a 25 °C, en el ensayo en condiciones controladas, año 2016.	106
Tabla 10. Tiempo promedio de emergencia (TE), porcentaje de hojas vivas (HV), longitud aérea (LA), longitud radical (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR), peso seco aéreo (PSA), peso seco radical (PSR), relación entre el peso seco aéreo y radical (PSA/PSR), contenido relativo de agua (CRA) y estabilidad relativa de membranas celulares (ERM) para tratamientos con y sin acondicionar, correspondientes al ensayo del año 2016.	113
Tabla 11. Promedio de semillas producidas por panoja, cantidad promedio de semillas retenidas y caídas por panoja, y porcentajes de retención y de caída de semillas por panoja.	138

Tabla 12. Peso de 1000 semillas (mg), porcentaje de germinación (PG) y porcentaje de viabilidad en las semillas recolectadas en cada fecha después de la antesis (DDA), para los tres período analizados en el ensayo en invernáculo.141

CAPÍTULO 1.

Introducción General

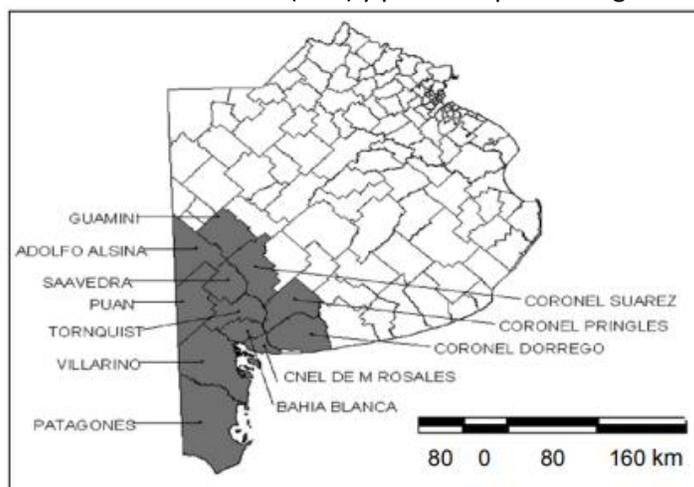
1. 1. La región semiárida bonaerense

Las regiones áridas, semiáridas y subhúmedas ocupan dos tercios del planeta (ICID, 2010). En el caso particular de la Argentina dichas zonas cubren el 75% de la superficie del país y un tercio corresponde a humedales, bosques o montes subtropicales, selvas y pastizales. Por otro lado, más del 85% de las tierras cultivables tienen condiciones de aridez o semiaridez (Bertonatti y Corcuera, 2000; INDEC, 2000;).

En nuestro país se registran importantes cambios en el sentido norte-sur y este-oeste que determinan una gran variabilidad climática y edáfica (Campo *et al*, 2009). El límite marítimo costero es extensode 4.725 km, las precipitaciones oscilan desde un mínimo apenas superior a los 200 mm en La Quiaca hasta más de 2.000 mm en Posadas, con un promedio anual de 515 mm en el territorio nacional. Además, las temperaturas medias van de 5,2 °C en Ushuaia a 22,2 °C en Posadas (INDEC, 2000).

En la Provincia de Buenos Aires el 25% del territorio integra las regiones semiárida, árida y subhúmeda-seca. Parte de estas ecoregiones conforman el Sudoeste Bonaerense (SOB), que posee particularidades climáticas y edáficas que lo diferencian del resto de la provincia en cuanto a sus potencialidades y limitantes productivas, de acuerdo a la Ley 13.647, del Plan de Desarrollo del Sudoeste Bonaerense, Honorable Cámara de Diputados de la Pcia. de Buenos Aires (2012) (Figura 1).

Figura 1. Detalle del Sudoeste Bonaerense (SOB) y partidos que lo integran. Tomado de Andrade et al, 2009



En el SOB las sequías e inundaciones provocan una alternancia entre situaciones de extrema sequía y de exceso de agua que complican la actividad agropecuaria y le otorgan al clima regional un carácter de transición (Casado y Campo, 2019). Es por ello que se registran ingresos de aire de distinta índole que conllevan inestabilidad en las precipitaciones a lo largo de todo el año (Campo *et al*, 2009; Scian, 2009). Esta situación repetida a lo largo de varios ciclos determina que el contenido de humedad del suelo se encuentre frecuentemente por debajo de lo ideal con las consecuencias productivas y socioeconómicas que conllevan (Taboada *et al*, 2009).

En particular, la concentración de precipitaciones en el SOB se produce durante dos estaciones bien definidas, otoño y primavera, con una estación seca a fines del invierno y otra semiseca de alta evapotranspiración a mediados de verano. Las precipitaciones medias varían entre 840 mm al este y 380 mm al oeste. Las lluvias, no siempre suficientes en los sectores occidentales de la región para el cultivo de secano, otorgan un carácter subhúmedo a esta variedad de clima templado (Campo *et al*, 2009).

El SOB ocupa una superficie estimada de 6,5 millones de hectáreas, de las cuales tres cuartas partes están destinadas a la actividad ganadera. Una de las mayores limitaciones que tienen dichos sistemas es que no disponen de un suministro continuo de forraje y adecuado a los requerimientos nutritivos a lo largo del año (Bertín, 2009).

Parte del SOB está ocupado por el ecotono de las regiones fitogeográficas del Caldenal y del Monte, caracterizadas por fachinales y pastizales. Las pasturas naturales de dichas regiones han sufrido un gran deterioro ecológico, producto del desmonte para la siembra de cultivos y del excesivo pastoreo por ganado ovino y vacuno. Estos manejos y las desfavorables condiciones climáticas sufridas en las últimas décadas (bajas precipitaciones, fuertes vientos y baja frecuencia de fuegos naturales) colaboraron para causar una situación de desertificación, con baja oferta de forraje. Las pasturas naturales presentes están representadas por especies como *Nassella tenuis*, *Piptochatium napostaense*, *Stipa clarazii*, *Stipa tenuis*, *Stipa tenuissima*, *Stipa gynerioides*, *Poa ligularis*, *Hordeum stenostachys* (Busso *et al*, 1993; Busso y Fernández, 2018; Peláez *et al*, 2018).

Por todo lo mencionado precedentemente, la alimentación ganadera se ha basado mayormente en cultivos anuales tales como avena, cebada y centeno, principales verdeos de invierno, junto con el sorgo como especie estival, y en menor proporción con pasturas naturales

y rastrojos de cosecha (Torres Carbonell, 2014). Como la disponibilidad de alimento es baja durante el verano, la siembra de especies estivales permitiría aumentar la oferta de forraje mientras que los lotes en los que predominan las especies de invierno podrían recuperarse (Bolleta, 2009).

Por otro lado, la incorporación de pasturas perennes mejora la productividad, rentabilidad y sustentabilidad de los sistemas productivos, y permiten aumentar la carga animal, con incrementos de hasta el 300 % de producción anual de carne. Además, debido a su prolongada perennidad (a veces superior a 20 años) disminuyen los costos de implantación del cultivo, ya que se amortizan a lo largo de extenso período. Además, dichas gramíneas se caracterizan por ser tolerantes a períodos de deficiencia de agua, muy frecuentes durante su ciclo de crecimiento (Veneciano, 2006). Sin embargo, sólo un reducido número de especies son capaces de tolerar las condiciones limitantes para su desarrollo que les impone la región del SOB (Bolleta, 2009).

Otro aspecto a considerar es que el corrimiento de la frontera agrícola, producto de la “sojización”, ha relegado a la ganadería hacia áreas cada vez menos productivas y marginales. Los suelos de la región tienen una gran fragilidad, altamente susceptibles a la erosión eólica e hídrica, a causa del sobrepastoreo, el desmonte y las técnicas de labranza poco apropiadas que han causado importantes pérdidas en la cobertura vegetal y alteraron las propiedades superficiales del suelo (Silenzi, 2011).

Por ello la búsqueda de especies forrajeras, destinadas a la alimentación ganadera, que presenten una baja mortandad de plántulas y buena productividad aún en años con escasas precipitaciones y suelos de baja fertilidad ha sido relevante.

En síntesis, la planificación de las actividades agropecuarias y la conservación del suelo deberían ser fundamentales en una región con tanta susceptibilidad edafo-climática y productiva. En tal contexto, en las últimas décadas, se ha difundido la siembra de pasturas perennes que tienen un comportamiento de mayor estabilidad a lo largo de los años, resultan más adecuadas para los suelos regionales de escasa estructuración y, al evitar el laboreo continuo, favorecen el uso conservacionista del recurso edáfico, con lo cual mejoran la sustentabilidad de los sistemas agropecuarios. Entre las pasturas perennes podemos encontrar

algunas de origen templado y otras tropicales o subtropicales, también denominadas megatérmicas (Veneciano, 2006).

1. 2. Pasturas megatérmicas

Varias especies de gramíneas perennes de crecimiento estival suelen denominarse *megatérmicas*, debido a que pueden tolerar elevadas temperaturas. Se caracterizan fisiológicamente por tener una primera fijación del CO₂ denominado ciclo C4 o ciclo de Hatch-Slack, para distinguirlo del proceso reductivo C3 o ciclo de Calvin-Benson. Este último es vía fotosintética universal por la cual las plantas reducen el carbono atmosférico y forman los esqueletos carbonados necesarios para todas las biomoléculas, la base bioquímica de la heterotrofia (Hayes, 1994). Las denominaciones C3 y C4 se deben a que los primeros compuestos estables en los que aparecía fijado el dióxido de carbono tenían cadenas carbonadas de 3 y 4 carbonos en cada uno de estos ciclos (Azcón Bieto y Talón, 2013).

Hace unos 2800 millones de años las plantas C3 ancestrales se desarrollaron en una atmósfera rica en CO₂ pero reducida en O₂. Posteriormente, unos 30 millones de años atrás, se redujo la concentración de CO₂ atmosférico por la acción fijadora de las plantas, pero esto trajo acarreado una reducción en la eficiencia fotosintética y en la absorción de carbono, en especial bajo elevadas temperaturas y deficiencia hídrica, condiciones que causan un mayor cierre estomático por lo que se reduce la captación del CO₂ (Edwards y Voznesenskaya, 2011).

Esta limitación encontró, en parte, una solución en la evolución convergente de más de 45 linajes independientes de plantas con flores, pertenecientes a la División Magnoliophyta. En ellos ocurrió la aparición de un sistema coordinado de características fisiológicas y anatómicas que concentraban el CO₂ (y consecuentemente aumenta la relación CO₂/O₂) alrededor de los tejidos donde funciona la maquinaria fotosintética, que mediante el uso de un ciclo bioquímico alimentado por energía solar reduce el carbono (Sage, 2004).

La aparición del ciclo C4, no alternativo sino complementario al ciclo C3, les otorgó a algunas plantas una mayor eficiencia en el proceso de fijación del carbono. Dichas especies tienen temperaturas óptimas de crecimiento más elevadas y toleran la salinidad y la deficiencia hídrica ya que poseen alta eficiencia en el uso del agua y del nitrógeno (Azcón Bieto y Talón, 2013).

Las plantas C4 presentan una clara evolución en la asimilación del CO₂ mediante dos carboxilaciones sucesivas que se separan espacial o temporalmente (Sage, 2004). Para que esto sea posible, el cambio evolutivo también se manifiesta en las diferencias anatómicas y morfológicas de las C4 respecto de las C3. En la hoja aparecen dos tipos de células que participan en la fotosíntesis: las células de la vaina y las células del mesófilo, conformando la anatomía *Kranz* o en corona, típica de las especies C4. Las células de la vaina se disponen rodeando los haces vasculares, como un anillo, y tienen paredes celulares más gruesas. Las células del mesófilo se disponen radialmente, rodeando a las de la vaina. En ambos tipos de células también aparecen dos tipos de cloroplastos con diferente estructura de grana y con distintas enzimas carboxilativas. Gracias a ello, en el mesófilo se produce la primera carboxilación y en las células de la vaina ocurre la reducción del carbono en el ciclo C3. Cabe mencionar, que existen especies C4 con diferente anatomía y ultraestructura cloroplástica de la referida precedentemente (Hatch, 1987).

Los ecosistemas dominados por plantas C4 han favorecido la transformación de la biósfera y, a pesar de que incluyen solo al 3% de las plantas vasculares, representan el 25% de la fotosíntesis terrestre (Raya-Pérez y Aguirre-Mancilla, 2008). Esto demuestra su éxito evolutivo y su gran capacidad de adaptarse a diferentes ambientes. Aunque la vía C4 puede aparecer en mono, dicotiledóneas, cactáceas y crasuláceas, el 60% de las plantas C4 son gramíneas originarias de regiones templadas o subtropicales, cuyas altas tasas de producción de follaje sostienen los mayores niveles de herbivoría del planeta (Edwards y Voznesenskaya, 2011). Taxonómicamente forman parte de la Familia Poaceae, con especies distribuidas en todas las latitudes del planeta, constituyendo una de las taxas más ricas del reino vegetal, que superan setecientos géneros y más de diez mil especies (Nicora y Rúgolo de Agrasar, 1987). Las distintas especies que integran dicha familia tienen distribución geográfica, épocas de crecimiento y composición química de los tejidos que las diferencia y que se utilizan taxonómicamente junto con sus rasgos morfológicos y filogenéticos (Melo y Boetto, 1993).

1. 2. 1. Características de las megatérmicas

Las principales características de las gramíneas megatérmicas son (Deregibus *et al.*, 1982; Hernández, 1985; Petruzzi *et al.*, 2003; Renolfi, 1989; Veneciano, 2006):

- las plantas forman matas que tienen crecimiento vigoroso y los tallos se elongan en forma continua,
- la temperatura óptima de crecimiento es 30 a 35° C y difícilmente se desarrollan por debajo de 15 °C,
- elevada tasa de fotosíntesis (50 - 70 mg CO₂ dm⁻² h⁻¹), que aumenta con mayor intensidad lumínica y sin mostrar síntomas de saturación,
- alta eficiencia en la producción de biomasa por carbono asimilado,
- crecimiento estival, luego del primer ciclo de crecimiento comienza el rebrote a partir de la primavera, con el aumento de la temperatura, y crecen durante todo el verano hasta el comienzo del otoño;
- la inducción de la floración ocurre cuando los días comienzan a acortarse (plantas de día corto),
- buena tolerancia a la sequía, incluso algunos autores las describen como resistentes al estrés hídrico,
- elevada eficiencia en el uso del agua (gramos de agua perdidos por transpiración/gramo de materia seca producida), que es aproximadamente la mitad de lo que necesita una especie templada C3,
- alto cociente fotosíntesis/transpiración (ligada al carácter anterior),
- elevada eficiencia en el uso del nitrógeno, lo que les permite prosperar en suelos con baja fertilidad. Dicho requerimiento también es la mitad del necesario para una planta C3,
- tienen una baja relación mesófilo/fibra, por lo cual su contenido proteico y la digestibilidad es inferior al de las pasturas y verdes C3,
- los hidratos de carbono que sintetizan y que constituyen las fuentes energéticas del forraje, están representados por almidón y sacarosa que se producen en las hojas, mientras que las forrajeras C3 aportan sacarosa y fructosanos, una combinación de mejor disponibilidad energética, y los sintetizan principalmente en los tallos verdes,
- las fibras que aportan las megatérmicas, en mayor proporción que las C3, también están constituidas por celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas, junto con lignina, proteínas,

minerales y taninos, pero su mayor contenido de lignina hace menos digerible estos tejidos en las pasturas C4.

Como se ha puntualizado, las especies megatérmicas son muy eficientes en la conversión del carbono, el uso del agua y del nitrógeno lo que les permite tener una buena producción de biomasa, pero como aspectos negativos su contenido proteico y su digestibilidad son menores que en las especies C3 (Melo y Boetto, 1993).

1. 2. 2. Megatérmicas forrajeras

Entre las megatérmicas de uso forrajero, y con una larga historia en el país, se encuentran el pasto llorón (*Eragrostis curvula* (Schrad) Nees) y la grama rhodes (*Chloris gayana* Kunth), dos especies con alta capacidad de adaptación y gran difusión. Distintas especies del género *Paspalum* se cultivan en el nordeste argentino hace más de 30 años (Quarin y Lombardo, 1986; Urbani, 1996). Otras forrajeras cultivadas con un desarrollo más reciente en la región templada son el *Panicum coloratum*, n.v. mijo perenne, *Digitaria eriantha*, n.v. digitaria, *Trypsacum dactyloides*, y *Tetrachne degreii* (Bandera et al, 2013).

En las últimas décadas la superficie sembrada con mijo perenne aumentó notablemente, producto del cambio que experimentó el agro por el avance de la llamada agricultura de labranza cero (Bandera et al, 2013). La ventaja de contar con esta pastura es que está disponible al final del verano cuando decae la calidad del resto de los forrajes. Así por ejemplo en los establecimientos del SOB que emplean gramíneas perennes, generalmente se pueden encontrar lotes sembrados con agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*), una especie templada, otros lotes con pasto llorón y finalmente otros con mijo perenne. La producción de biomasa de estas especies establece una secuencia, en la cual se dispone de forraje, que es: agropiro – pasto llorón – mijo perenne, este último tiene su pico de producción y aporta biomasa verde cuando las otras dos especies se encuentran diferidas (Torres Carbonell, 2012).

A pesar de esta ventaja y de la buena adaptación ecológica de esta especie a la región, los problemas asociados a la calidad de las semillas del mijo perenne han dificultado su completa adopción por parte de los productores del SOB. Estos problemas serán tratados en los próximos capítulos.

1. 3. Características de género *Panicum* L.

El género fue descrito por Linnaeus en 1754 y posteriormente reclasificado por Zuloaga en 1987 como *Panicum sensu lato* (s.l.), que comprendía 6 subgéneros, entre ellos el subgénero *Panicum* (Zuloaga *et al*, 200).

Pertenece a la familia Poaceae, subfamilia Panicoideae, tribu Paniceae, que cuenta con más de 500 especies, con amplia distribución mundial en especial en zonas tropicales y subtropicales pero con poca presencia en regiones templadas y templado-frías (Nicora y Rúgolo de Agrasar, 1987; Veneciano, 2006).

El origen de la especie es variable de acuerdo a la bibliografía. Veneciano (2006) la refirió como originaria de África, mientras que Zuloaga (1987) citó que podía provenir de distintas partes del mundo, tales como China, África y América, pero siempre procedente de regiones tropicales y subtropicales con precipitaciones moderadas (Whyte *et al.*, 1971).

Estudios moleculares y morfológicos confirman el origen polifilético del género *Panicum*, mientras que el subgénero *Panicum* tendría características monofiléticas (Valdés-Reyna *et al*, 2009).

El subgénero *Panicum* está representado por alrededor de 100 especies, todas con vía fotosintética C4, sub-tipo NAD-ME (Hattersley y Watson, 1992), entre las que se encuentran especies de importancia forrajera tales como *P. coloratum*, *P. maximum*, *P. virgatum*, *P. obtusum*, además de otras especies que crecen como pasturas naturales o que se emplean en la alimentación humana, avícola y porcina (Bhandari *et al*, 2011).

1. 3. 1. La especie *Panicum coloratum*

Es una especie que integra el subgénero *Panicum*, dentro de la sección Dichotomiflora, cuyo nombre vulgar puede ser mijo perenne, kleingrass, klinegrass, pasto klein, kleinpanic, pasto guinea, makarikari o pequeño panicum, entre otros, dependiendo de la variedad o de la región donde crezca. Es una gramínea perenne que cuenta con dos variedades botánicas, la variedad *makarikariense* Goossens (Goossens, 1934) y la variedad *coloratum* (Bogdan, 1977). A su vez se

clasifica en varios tipos, variedades y/o cultivares debido al elevado polimorfismo que presenta (Armando, 2014).

La especie es originaria del este del continente africano, de zonas tropicales y subtropicales, donde las precipitaciones varían entre 700 y 1250 mm anuales (Veneciano, 2006), pero que puede desarrollarse en regiones con menor disponibilidad hídrica, no inferior a 400-500 mm anuales, principalmente estivales. Sin embargo, tiene una buena tolerancia a la deficiencia hídrica, aunque es más sensible que otras como el pasto llorón y la digitaria (Ruiz *et al*, 2008). Respecto de su tolerancia a la salinidad la información es controvertida, aunque la variedad *coloratum* ha demostrado tener un buen desarrollo bajo una salinidad no muy severa en estudios en condiciones controladas (Taleisnik *et al*, 1998).

Como toda megatémica, crece mejor con elevadas temperaturas pero tiene una adecuada tolerancia a las bajas temperaturas, incluso a heladas. La var. *makarikariense* tiene menor tolerancia que la var. *Coloratum*, que se adapta mejor a clima templados y es capaz de mantenerse verde aún durante el invierno y con temperaturas de hasta -18°C (Petruzzi *et al*, 2003). En zonas templadas, con mayor incidencia de bajos registros térmicos temperaturas y riesgo de heladas, se ha difundido principalmente el cv. *Verde* de la variedad *coloratum*, obtenido en Estados Unidos (1981) a partir de germoplasma de origen sudafricano. Además de la tolerancia al frío, el mayor peso de sus semillas respecto de otras variedades, la capacidad de sus plántulas para crecer más vigorosamente y su palatabilidad para el ganado la hacen recomendable para regiones como el SOB (Veneciano, 2006). El cultivar *Bambatsii*, por su parte, pertenece a la var. *makarikariense* cuyo origen es australiano y su germoplasma es de Zimbabwe. Difiere del anterior en que sus matas son más altas, de coloración más azulada y tiene menor tolerancia al frío por lo cual en Argentina se cultiva principalmente en Córdoba (Petruzzi *et al*, 2003; Veneciano, 2006). Existe otro cultivar, el Selection 75, logrado en Estados Unidos en 1969, cuyo germoplasma también es originario de Sudáfrica. Es el menos difundido de los tres en la Argentina y se lo cultiva en la región centro-norte del país (Petruzzi *et al*, 2003).

La etapa vegetativa del mijo perenne, luego del rebrote primaveral, es más corta que en las gramíneas templadas, y rápidamente comienzan a aparecer tallos florales. Así, luego de aproximadamente 2 meses se alcanza cerca del 80 % de la biomasa aérea que acumulará en toda

la estación, con tasas máximas cercanas a 80 kg MS ha⁻¹ día⁻¹ (De León, 2004). Posteriormente se reduce la velocidad de crecimiento cuando el cultivo se encuentra en plena floración y hacia mediados de enero vuelve a aumentar la tasa de crecimiento que decae al comenzar el otoño cuando las hojas empiezan a mostrar signos de senescencia (Veneciano, 2006).

La planta es herbácea, con matas vigorosas verde-azuladas de aproximadamente 1 metro de altura, pero puede alcanzar hasta 2 metros. Forma macollos durante todo el ciclo de crecimiento y los tallos tienen 0,6 a 1 m de largo con estructura decumbente o erecta. Las raíces son profundas, a veces con rizomas cortos y poco desarrollados, que se vuelen leñosos a la madurez. Las hojas son lineales y planas, glabras o hispídas en una o ambas caras, y pueden alcanzar hasta 30 cm de longitud. Las vainas son más cortas que los entrenudos y las lígulas membranosas pueden alcanzar los 2 mm de longitud. Las inflorescencias son panojas terminales abiertas y laxas, multifloras con ramificaciones de primer orden de 3 a 14 cm de longitud, verdes o violáceas cuando se forman, pero adquieren una coloración amarillado claro a medida que maduran. Suelen formarse más de 50 panojas por planta, que miden de 8 a 25 cm de largo por 3 a 15 cm de ancho. Las glumas son glabras, tienen un tono castaño claro, son agudas y la superior es más larga que la inferior. Cada espiguilla contiene 2 flores, las anteras son de color amarillo o pardo y pueden alcanzar hasta 1,8 mm. La floración comienza entre principios y mediados de diciembre, la polinización es cruzada, mientras que la diseminación de semillas se inicia a campo en el mes de enero (Armando *et al*, 2013). Las semillas forman parte del cariopse, son pequeñas, su longitud no supera los 2 mm y su ancho es inferior a 1 mm (Valdés-Reyna *et al*, 2009; Veneciano, 2006; Zuloaga *et al*, 2003) (Figura 2).

Figura 2. **A:** glumas con semillas inmaduras en su interior, anteras y estigmas. **B:** semillas con distinto grado de madurez, glumas y estigmas.



1. 3. 2. *Panicum coloratum* en Argentina

En nuestro país 7,8 millones de hectáreas son sembradas con pasturas, de ellas 1,4 millones son cultivadas con gramíneas C4, de las cuales 130.500 ha tienen implantado *P. coloratum*. Esto indica que el mijo perenne representa 9,3% de las gramíneas estivales y 1,7% del área total dedicada al uso de pasturas (INDEC, 2015).

A diferencia de lo que ocurrió en Estados Unidos, donde su empleo inicial fue como alimento para aves (Holt *et al*, 1983, citado por Armando *et al*, 2013), en la Argentina el destino del mijo perenne fue como forrajera para el ganado vacuno.

La EEA INTA Anguil, conjuntamente con investigadores de la Universidad Nacional de La Pampa, comenzó a introducir nuevas especies C4 en la década del 80 entre las que se encontraba el mijo perenne, como forma de tener mayor aporte de forraje diferido (Strizler *et al*, 1996; Paredes, 2015). El mijo perenne se difundió a principios de la década del 90 en la Región Pampeana, principalmente el cv. 'Verde' de la var. *coloratum*, con mejor adaptación a condiciones de semiaridez y bajas temperaturas (Petruzzi *et al*, 2003).

La siembra se realiza desde mediados de octubre hasta fines de diciembre, con una densidad recomendada de 3 kg ha⁻¹ de semilla pura viable. La profundidad no debe exceder de 1 a 2 cm y se pueden utilizar sembradoras tradicionales de grano fino o la maquinaria para siembra tipo "labranza mínima" (Borrajo, 2015; Petruzzi *et al*, 2003).

Si bien se ha implantado mijo perenne en las provincias de Córdoba, Buenos Aires, Entre Ríos, La Pampa, San Luis y Santa Fe, su adopción aún es relativamente baja por los productores ganaderos, problema que se adjudica a la baja calidad de las semillas en el mercado comercial y a las dificultades en su implantación, situación que se repite en otros países con especies relacionadas (Baioni *et al*, 2015; Basra *et al*, 2004; ; Hardegree, 1994; Nouman *et al*, 2012; Orazi, 2014; Qadir *et al*, 2011; Young, 1986).

Los mejores suelos para esta especie son los francos o franco-arenosos, pero también tiene buen comportamiento en suelos pesados con encostramiento superficial manifestando una importante plasticidad y moderada tolerancia a salinidad y sodicidad (Bandera *et al*, 2013). Por eso tiene una zona de cultivo extensa y heterogénea, pero se localiza diferencialmente acorde a

su variedad: la var. *coloratum* es usada en zonas semiáridas en la región templada, con suelos franco-arenosos, mientras que la var. *makarikariense* es cultivada en regiones más cálidas, con suelos arcillosos pesados, caracterizados por alternancia de períodos de sequía y de inundación (Petruzzi *et al*, 2003).

El mijo perenne se puede cultivar en regiones con precipitaciones de 500 a 1200 mm año⁻¹ y se puede adaptar a una estación seca prolongada (Bryant, 1966). Hasta el momento no se conocen plagas o enfermedades que lo afecten (Ferri *et al*, 2003).

La productividad del mijo perenne es su principal característica, asociada al rendimiento forrajero y a su valor nutritivo, es una de las cualidades sobresalientes de la pastura. El cv. ‘*Bambats*’ puede producir hasta 10 toneladas de materia seca por hectárea por año, con valores de digestibilidad de hasta 63,8% y proteína bruta de 9,5%. El cv. ‘Verde’ puede llegar a producir hasta 7,5 toneladas de materia seca por hectárea por año (De León, 2009). Petruzzi *et al*. (2003) mencionan que la especie tiene cualidades sobresalientes como pastura ya que produce de 50 a 60 kg ha⁻¹ día⁻¹, con digestibilidad de hasta 64% de y de proteína bruta superior a 14% en el rebrote, y si bien a partir de febrero baja la calidad del forraje, el diferido conserva una buena calidad en términos comparativos. En la Tabla 1 se compara el consumo, la digestibilidad y el contenido de proteína de mijo perenne desde luego del rebrote y hasta el forraje diferido.

Tabla 1. Consumo (g forraje. kg peso metabólico⁻¹. día⁻¹) y valor nutritivo de mijo perenne durante su ciclo productivo y como diferido. Tomado de Petruzzi *et al*, 2003.

	Diciembre	Enero	Marzo	Mayo	Junio	Agosto
Consumo (g kg⁻¹ día⁻¹)	57,7	64,9	58,8	48,6	36,2	39,9
Digestibilidad (%)	62,1	64,3	59,8	55,2	47,1	50,9
Proteína (%)	14,3	10,8	9,2	8,9	7,8	7,7

La calidad nutritiva del pasto de mijo perenne en estado verde es muy buena durante los meses de diciembre y enero y la del forraje diferido es un poco superior al de otras pasturas megatérmicas (Paredes, 2015; Ferri, 2011). En la Tabla 2 se comparan los datos de digestibilidad

in vitro y el contenido proteico del mijo perenne y del pasto llorón (*Eragrostis curvula*), megatérmica más difundida en el SOB. La calidad del mijo perenne fue superior en las distintas estaciones del año, tanto en el forraje verde y el diferido (Stritzler, 2008).

Tabla 2. Comparación de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) (%) y contenido de proteína bruta (PB) (%) de pasto llorón y mijo perenne. Adaptado de Stritzler *et al.*, 2009.

ESPECIE	Primavera		Verano		Otoño		Invierno	
	DIVMS (%)	PB	DIVMS (%)	PB	DIVMS (%)	PB	DIVMS (%)	PB
pasto llorón	60,8	9,7	53,8	6,4	45,6	5,3	34,8	3,4
mijo perenne	67,1	14,3	65,7	9,4	60,3	8,2	50,2	4,5

En un trabajo realizado en la zona semiárida de La Pampa, en el que se evaluaron las características nutricionales de pasto llorón, mijo perenne y pasto verde (*Tetrachne degreii*) se observó que en primavera el mijo perenne tenía un menor contenido de fibra por lo cual su digestibilidad era mayor, al igual que su contenido proteico, respecto de las otras dos especies. Sin embargo, en dicha investigación no se corroboró que la calidad nutritiva del mijo perenne fuera superior durante los meses de verano (Ruiz *et al*, 2008).

No se recomienda el pastoreo del mijo en el primer año de su implantación, debido a su bajo vigor y lento crecimiento inicial, por lo que el primer brote conviene dejarlo crecer y diferir para acumular materia seca. En ciclos posteriores su uso forrajero puede comenzar con plantas que hayan alcanzado un rebrote de 30 cm de altura, pero el ganado se debe retirar cuando queden unos 10 cm de altura, para que no se dañen los meristemas que permitan su posterior rebrote (Petruzzi *et al*, 2003). La palatabilidad y consumo voluntario por parte del ganado del mijo perenne decae a medida que avanza el ciclo de crecimiento y las hojas maduran, y para mejorar este problema se la puede consociar con leguminosas para mejorar este problema (Cook *et al*, 2005).

Todas estas características hacen que *Panicum coloratum* sea considerado una alternativa interesante en el panorama forrajero de las empresas agropecuarias argentinas. Dependiendo del tipo de utilización, puede integrar cadenas de cría o de invernada, contribuyendo adicionalmente a la estabilidad de los suelos. Debido a que dicho material presenta resistencia a sequía y

moderada tolerancia a la salinidad las distintas variedades son promisorias para superar la escasez de la producción de forraje en ambientes poco productivos con suelos pobres y condiciones desfavorables (Stritzler, 2008).

1. 4. Factores de estrés que afectan el crecimiento y desarrollo de *P. coloratum*

Se define a los mismos como factores externos que actúan sobre un organismo y causan modificaciones de naturaleza física y/o química respecto de su funcionamiento normal (Levitt, 1980). Se estima que sólo el 10% de las tierras arables del mundo se encuentran libres de estrés (Blum, 1989). Estos factores, tanto bióticos como abióticos, alteran los procesos fisiológicos de las plantas, provocando un descenso en la tasa de crecimiento y, por lo tanto, una merma en la productividad (Hsiao, 1973).

El déficit hídrico es uno de los agentes naturales más comunes causantes de estrés abiótico y se lo considera como el principal agente que limita la distribución geográfica y el rendimiento de los cultivos. El déficit hídrico comienza a desarrollarse cuando la poca disponibilidad de agua en el suelo ocasiona que la transpiración exceda la absorción de agua por las raíces (Munns y Tester, 2008). En los sistemas naturales, un déficit de agua puede ser el resultado de bajas precipitaciones, falta de retención de agua del suelo, excesiva salinidad, temperaturas extremas frías o calientes, baja presión de vapor atmosférica o una combinación de estos factores (Nilsen y Orcutt, 1996).

Las medidas más utilizadas para estimar el estado hídrico en las plantas son el potencial hídrico (Ψ) y el contenido relativo de agua (CRA) (Golberg *et al*, 2011, Taiz y Zeiger, 2006).

Los efectos del estrés dependen de la intensidad y duración del mismo; en primer lugar, se produce una disminución del crecimiento de las hojas y del tallo producto de la pérdida de turgencia celular, con signos de marchitamiento y decoloración. Las consecuencias finales son: plantas de menor tamaño, menor número de macollas, menor cantidad de hojas vivas, y por ende menor producción de biomasa, de forraje y de grano (Hsiao, 1973).

Si bien la distribución y magnitud de las precipitaciones es la principal causa de estrés abiótico, otra de las formas limitante que enfrentan las pasturas se relaciona con la presencia de sales edáficas. Según FAO-UNESCO, Argentina es el tercer país con mayor superficie de suelos afectado por la salinidad en el mundo, más de 19 millones de hectáreas de la llanura chaco-pampeana se encuentran en esta situación.

La salinidad puede deberse a causas tales como propiedades del suelo, inadecuadas prácticas de irrigación, pobre drenaje y alta evaporación. Este problema puede ser atenuado a través de la recuperación de los suelos, pero dado el costo del proceso la utilización de especies y variedades resistentes resulta una solución más adecuada cuando la salinidad no es muy elevada. La alta concentración salina afecta el metabolismo, ocasionando un desequilibrio iónico y estrés osmótico. Un fuerte estrés salino rompe la homeostasis del potencial hídrico y la distribución de iones (Alcaraz Ariza, 2012). Como otros tipos de estrés, la salinidad inhibe el crecimiento de la planta por afectar la fotosíntesis y la transpiración, limitando el aporte de fotoasimilados y causando senescencia prematura de las hojas. Esto da por resultado rendimientos reducidos y, en casos severos, la pérdida total del cultivo (Golberg *et al*, 2011).

La implantación de pasturas en zonas cada vez más áridas se ha visto afectada en los últimos tiempos a causa del corrimiento de la frontera agrícola hacia el sur y el oeste del país (Bandera *et al*, 2013). El desplazamiento hacia zonas marginales afectadas no sólo por la escasez de precipitaciones sino por la salinidad y las elevadas temperaturas, es uno de los principales desafíos que debe afrontar el sector ganadero en Argentina (Cirelli y Volpedo, 2002).

Los procesos con los que inicia el desarrollo de una planta, la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas, constituyen dos etapas cruciales y durante las mismas los factores adversos como la salinidad y el estrés hídrico son críticos para la supervivencia (Khan, 1991). La germinación de las semillas depende principalmente de la disponibilidad de agua en el medio; en condiciones de estrés hay una disminución tanto del poder germinativo como la tasa o velocidad de germinación (Gorai y Neffati, 2007; Khan, 1991; Marañón *et al*, 1989). En los suelos salinos, la presencia de iones no sólo disminuye el potencial hídrico, sino que también provoca efectos tóxicos sobre las semillas (Bazzigaluppi *et al*, 2008; Khan *et al*, 2006).

Además del bajo poder germinativo, en general, las forrajeras perennes tienen un lento crecimiento inicial a causa de las escasas reservas en sus pequeñas semillas, lo que hace que el establecimiento de la plántula sea una etapa muy crítica del cultivo. Si a esto se suman condiciones adversas en el medio, como son la falta de agua o la presencia de sales en el perfil, la implantación de la pastura es aún más difícil (Taleisnik *et al*, 1998; Orazi, 2014; Piwowarczyk *et al*, 2016).

Dado que el tamaño de las semillas solo puede ser modificado por mejoramiento, y que el peso seminal es determinante de la capacidad de implantación de *Panicum colorum*, varios estudios se han orientado a la aplicación de diferentes técnicas para mejorar la performance de las semillas durante la germinación y la implantación (Basra *et al*, 2004; Qadir *et al*, 2011; Tomás *et al*, 2016).

1. 5. Características de las semillas de *P. coloratum* relacionadas con la implantación

La producción de semillas favorece la resiembra natural de la pastura, pero presenta como inconveniente que las semillas no son retenidas y su maduración no es uniforme en la panoja. Este tipo de maduración despareja suele definirse como asincrónica o diacrónica (Bewley *et al*, 2013, Romero-Murcia, 2019). El período en el cual se alcanza la madurez puede ser mayor a 2 semanas, luego la semilla cae casi inmediatamente, por lo cual al momento de la cosecha se obtiene un elevado porcentaje de semillas vanas e inmaduras (Cook *et al*, 2005; Petruzzi *et al*, 2003).

Definir el momento óptimo de cosecha es una de las condiciones más difíciles para la producción de semillas de mijo perenne (Petruzzi *et al*, 2003; Valdéz, 2020). Las semillas que no completaron su maduración tienen bajos porcentajes de germinación, y las plántulas que nacen de ellas presentan menor vigor que las originadas a partir de semillas maduras (Maina, 2012).

El sistema de cosecha de semillas de esta especie también es compleja, ya que si se realiza en forma directa se obtiene en promedio una producción de sólo el 19 % de la cosecha potencial. Por otro lado, con un sistema de corte, hilerado y posterior secado a galpón, la producción puede aumentar hasta el 42 %, mientras que el corte e hilerado y secado a campo permite lograr hasta un 49% de la semilla potencialmente disponible (Petruzzi *et al*, 2003).

La importancia de estos problemas se refleja en el hecho de que el Instituto Nacional de Semillas (INASE) permite la comercialización de mijo perenne con un poder germinativo mínimo de 15%, por eso muchas muestras comerciales tienen una baja calidad. En relevamientos realizados por el EEA INTA Bordenave sobre distintos lotes del cv “Verde” se comprobó que presentaban un bajo peso de mil semillas, que oscilaba entre 770 y 1150 mg en las semillas peleteadas (Lauric *et al*, 2014). Además, dichas muestras arrojaron valores de poder germinativo de 15 a 50%. La variabilidad estaría relacionada con la falta de uniformidad en el grado de maduración de las semillas que se mencionó anteriormente.

En la var. *makarikariense* se encontró que el porcentaje de germinación aumentaba linealmente con el peso de las semillas hasta los 1,34 g (peso de mil), mientras que en semillas más pesadas el porcentaje no superaba el 84% de germinación (Maina, 2012). En dicha variedad, semillas con mayor peso de mil fueron seleccionadas y reproducidas en el EEA INTA Rafaela, y se encontró que, en condiciones semicontroladas, si bien no aumentaba el poder germinativo ni el porcentaje de emergencia, dichas plántulas tenían un establecimiento más rápido y un mayor desarrollo posterior respecto de materiales no mejorados (Tomás *et al*, 2007; Tomás y Giordano, 2013).

Por todos los inconvenientes descriptos, relacionados con la maduración y falta de retención de las semillas, su pequeño tamaño, asociado a su bajo vigor y supervivencia a campo, a lo que se puede sumar la dormición de las semillas, la eficiencia de implantación del mijo perenne suele ser baja y dificultosa (Vasicek y Renzi, 2014).

Para la zona de influencia de Bahía Blanca se recomienda una densidad de 200.000 a 500.000 plantas ha⁻¹, pero el coeficiente de logro suele ser inferior al 10% (Lauric *et al*, 2014), lo que demandaría un aumento superior a 10 veces la dosis de siembra recomendada, de los 3 kg de semilla pura viable (Petruzzi *et al*, 2003). Actualmente el costo de las semillas de mijo perenne en el mercado local es de aproximadamente U\$ 7,5 (Ing. Agr. Emiliano Verniere, comunicación personal), por lo cual la dosis de siembra para alcanzar una adecuada densidad de plantas a campo, calculando un coeficiente de logro de al menos 10%, implicaría un costo aproximado de U\$ 225 ha⁻¹.

Si a las limitaciones que presenta la especie se suman condiciones adversas en el medio, como la falta de agua, temperaturas extremas y/o salinidad, la obtención de un buen stand de plantas resulta aún más difícil (Bazzigalupi *et al*, 2008; Orazi, 2014; Privitello *et al*, 2010).

1. 6. Efectos del acondicionamiento sobre la germinación e implantación

Los tratamientos pregerminativos o técnicas de acondicionamiento de semillas se han utilizado en especies en las que se buscó mejorar la uniformidad en la germinación. Son pretratamientos que se recomiendan para aumentar el vigor, en particular la energía germinativa (Bradford, 1986; Ely y Heydecker, 1981; Hardegree y Emmerich, 1992). El fundamento de la aplicación de estas técnicas consiste en que se podría mejorar la performance de semillas que presentan dificultad en su germinación debido a sus escasas reservas, pequeño tamaño y maduración despareja.

Dichos tratamientos consisten en hidratar las semillas en forma controlada, sin permitir que ocurra la germinación. Luego las semillas son secadas al aire hasta alcanzar su peso y humedad originales, y posteriormente se siembran.

Las técnicas empleadas para mejorar la germinación han sido denominadas de diferentes formas por distintos autores: *priming*, *hardening*, invigorización (*invigoration*). *Priming* es la forma más común de nombrar a este pretratamiento, y si bien su traducción es *preparación o cebado* de semillas, suele reemplazarse por *acondicionamiento o preacondicionamiento*. El vocablo inglés *hardening* es sinónimo de *endurecimiento* y *rusticación*, dado que en la semilla aumenta la tolerancia a condiciones desfavorables (Basra *et al*, 2006; Blunk *et al*, 2019; Farooq *et al*, 2004).

Esta preparación de las semillas mediante un tratamiento previo a la germinación debe realizarse de forma muy controlada, por lo cual puede aplicarse de distintas formas:

- mediante el establecimiento de distintas condiciones de la temperatura: al reducirla se demora la absorción de agua a la semilla, con la consecuente reducción en la velocidad de inicio del proceso de germinación;
- reduciendo el potencial agua del medio en el que se incuban las semillas, para lo cual se pueden utilizar distintos solutos para bajar el potencial osmótico o bien diferentes sustratos o

coloides para generar potenciales mátricos muy negativos. Así, la reducción en el potencial agua del medio restringe el ingreso de agua a la semilla y demora el comienzo de la germinación.

A fin de mejorar la performance de las semillas, se pueden combinar uno o más ciclos de acondicionamiento, iguales o diferentes.

Por lo tanto, la técnica de *priming* puede aplicarse bajo distintas condiciones y así adquiere diferentes denominaciones:

- *Hidropriming*: sólo se utiliza agua destilada para la imbibición que se controla mediante distintas temperaturas y/o diferentes tiempos de exposición;
- *Osmopriming*: se aplica una solución mediante la utilización de algún soluto que permita bajar el potencial osmótico del medio. Se emplean solutos como polietilenglicol 6000, manitol, cloruro de calcio, sulfato de potasio, etc., en altas concentraciones.
- *Matrimpriming*: se realiza la prehidratación sobre papeles de filtro con distinta velocidad de filtrado (rápido, medio y lento) o sustratos con diferente capacidad de liberación de agua.

En la naturaleza las semillas a menudo se rehidratan, aunque esa absorción de agua no alcance para desencadenar la germinación. Sin embargo, se ha observado que sucesivas y breves imbibiciones, aunque no provoquen la germinación, seguidas de secado de las semillas en el suelo, pueden darles ventaja para germinar posteriormente. Por ello el *priming* reproduce en forma artificial estos ciclos a los que las semillas están sometidas en forma natural (Mc Donald, 2000).

Otros beneficios que puede causar el acondicionamiento es favorecer la sobremaduración en algunas semillas y acelerar la salida de dormición de las semillas (Bradford *et al*, 1990; Heydecker y Coolbear, 1977; Sánchez *et al*, 2001; Hu *et al*; 2014), que en el caso del mijo perenne suele tener una duración de cinco a siete meses (Cecovich y Ruiz, 2011).

En relación a la tolerancia a condiciones desfavorables durante la germinación y la implantación hay muchos trabajos que relacionan las ventajas que dichos pre-tratamientos otorgan frente a estrés biótico y abiótico (Basra *et al*, 2004; Bray *et al*, 1989; Chen y Arora, 2013; Giordano *et al*, 2013; Hardegree, 1994; Hardegree y Emmerich, 1992; Ibrahim, 2016; Papparella *et al*, 2015; Pittaro *et al*, 2015; Qadir *et al*, 2011; Raj y Raj, 2019; Rehman *et al*, 2015).

Es decir que el acondicionamiento de semillas ha sido extensamente investigado y aplicado para mejorar la performance en especies hortícolas, en cultivos extensivos, sin embargo se dispone de menor cantidad de información acerca de los beneficios del *priming* en distintas especies de forrajeras (Qadir *et al*, 2011).

1. 7. Problemas relacionados con la maduración y retención de las semillas

La producción de semillas en las especies megatérmicas es muy compleja ya que conservan caracteres silvestres que dificultan la cosecha, como son el pequeño tamaño seminal (Young y Tischler, 1994), la maduración no uniforme (Tomás *et al*, 2016), la falta de retención (Burson *et al*, 1983; Petruzzi *et al*, 2003) y la dormición (Maina, 2012; Tischler y Young, 1983). Esto causa que el momento de cosecha resulte difícil de determinar y que la cantidad de semillas que se mantienen en las panojas sea menor que el total de semillas producidas (Valdéz, 2020).

Como se mencionó precedentemente, mijo perenne tiene una maduración de las semillas que no ocurre en forma uniforme (Maina, 2012; Moresco Lirusso *et al*, 2018, Petruzzi *et al*, 2003), rasgo que puede adjudicarse al bajo grado de domesticación de la especie (Bewley y Black, 2012; Valdéz, 2020).

Otro de los rasgos silvestres que se ha buscado mejorar es la eliminación de los mecanismos de dehiscencia, lo que no permite mantener las semillas en las panojas, causando una importante pérdida en la producción de semillas. Además, en cuanto se aproxima el estadio de madurez la semilla se cae, no es retenida, y eso ocasiona que no se alcance el máximo estado de madurez asociado al máximo peso posible (Burson y Young, 1983; Cook *et al*, 2005; Maina, 2012; Moresco Lirusso *et al*, 2018; Tomás *et al*, 2010; Young, 1981; 1986). Este tipo de maduración denominada asincrónica o diacrónica -porque ocurre a lo largo de un período- podría ser una de las causas de la baja calidad de las semillas de mijo perenne y es un aspecto que se aborda en el último capítulo del presente trabajo.

1. 6. Hipótesis general

El acondicionamiento de semillas de *Panicum coloratum* disminuye significativamente los efectos negativos de las características que determinan la baja calidad de las semillas mejorando sobre su germinación, vigor, dormición, capacidad de implantación, así como la tolerancia a sequía y salinidad. Durante el acondicionamiento la entrada de agua y de oxígeno a temperaturas óptimas posibilita el comienzo de las diferentes vías fisiológicas. La paralización, luego de un corto lapso de estos procesos, a causa de esa segunda deshidratación, implicaría que los mecanismos de protección, si bien efectivos, resulten en una semilla diferente en cuanto a su estado metabólico.

1. 7. Objetivos

Objetivos generales

- Evaluar el efecto de diferentes técnicas de acondicionamiento en semillas de mijo perenne que aumenten el porcentaje de germinación, el vigor y la tolerancia a condiciones de deficiencia hídrica y salinidad durante la germinación y la implantación.
- Analizar los procesos de maduración y retención de semillas que definen la baja calidad y performance de las semillas de mijo perenne.

Objetivos particulares

- Analizar la respuesta semillas de mijo perenne a tratamientos de acondicionamiento.
- Evaluar el crecimiento y desarrollo de plántulas de mijo perenne luego de aplicar tratamientos de acondicionamiento a las semillas.
- Comparar la respuesta diferencial de semillas y plántulas de mijo perenne acondicionadas ante condiciones de deficiencia de agua y salinidad durante la germinación y la implantación.
- Evaluar la maduración y dehiscencia de las semillas en las panojas de mijo perenne.

CAPÍTULO 2.

Efecto del acondicionamiento de semillas sobre la germinación del mijo perenne

2. 1. Introducción

2. 1. 1. Acondicionamiento de semillas

La necesidad de obtener lotes de semillas de calidad para su uso agronómico es una prioridad y una demanda de los actuales mercados que tienen cada vez estándares más elevados. Además, una emergencia rápida y uniforme a campo es la clave para un adecuado desarrollo de los cultivos, ya que las demoras en el establecimiento de las plantas puede someterlas a condiciones adversas y enfermedades (Papparella *et al*, 2015).

Los tratamientos pregerminativos o técnicas de acondicionamiento de semillas se han utilizado desde hace mucho tiempo para mejorar la calidad de los lotes destinados a la siembra. Son procedimientos que permiten lograr mayor uniformidad en la germinación y se recomiendan especialmente para aumentar el vigor, en particular la energía germinativa, por eso también se los ha denominado técnicas de invigorización (Blunk *et al*, 2019; Bradford, 1986; Ely y Heydecker, 1981; Farooq *et al*, 2004; Hardegree y Emmerich, 1992; Lutts *et al*, 2016).

Dichos tratamientos consisten en hidratar las semillas en forma controlada, sin permitir que ocurra la germinación. Posteriormente las semillas se secan y así pueden ser sembradas o conservadas (Yan, 2015). Lutts y sus colaboradores (2016) describen a esta metodología como “nuevos enfoques para una vieja técnica empírica” dado que el acondicionamiento de las semillas se conoce desde la antigüedad (Blunk *et al*, 2019).

En general se aplica el vocablo inglés “*priming*” a las técnicas de prehidratación controlada que mejoran la calidad de las semillas (Papparella *et al*, 2015). La tasa o velocidad de germinación aumenta en las semillas acondicionadas mediante diferentes variantes del *priming*, el desarrollo de la plántula es más vigoroso y la tolerancia a estrés biótico y abiótico es mayor (Chomontowski *et al*, 2019; González *et al*, 2005; Ibrahim, 2016; Montalvo *et al*, 2016; Sánchez *et al*, 2001; Singh *et al*, 2015)

Por la forma en que se aplica este procedimiento algunos autores también denominan en español al *priming* como “hidratación-deshidratación” en forma controlada, independientemente

del modo en que se realice el remojo de los propágulos (González *et al*; 2005; Sánchez *et al*, 2001).

Luego de la fecundación comienza la embriogénesis, proceso por el cual se forman todas las estructuras seminales, que comprende todos los pasos del desarrollo que permiten obtener una semilla madura. En dicho proceso se reconocen tres fases, la última de cuales es la *deshidratación*. Este fenómeno es necesario para que se complete el ciclo de vida en semillas ortodoxas y se considera un mecanismo de adaptación para asegurar la dispersión y supervivencia de la especie (Leopold, 1990).

La deshidratación de los tejidos seminales constituye uno de los procesos más severos que puede soportar un ser vivo, si se piensa que el contenido de humedad en la mayoría de las semillas baja hasta valores inferiores al 15%. Ello representa una pérdida de casi el 90% del contenido total de agua en la semilla al comienzo de la etapa de desecación (Adams y Rinne, 1980). Debe tenerse en cuenta que por debajo del 20% de contenido hídrico relativo ningún tejido puede respirar, dado que el agua está fuertemente retenida a las moléculas orgánicas y no está disponible para los procesos metabólicos (Lynch y Clegg, 1986).

Durante la deshidratación las semillas pueden sufrir daños, en especial a nivel de las membranas celulares, a causa de la alteración de la estructura molecular y por acumulación de radicales libres. Por otro lado, en las semillas secas, luego de perder semejante cantidad de agua, la imbibición posterior puede resultar dañina, ya que una rápida absorción de agua durante el primer minuto de rehidratación puede causar alteraciones deletéreas en las membranas celulares y como consecuencia de ello un descenso en la capacidad germinativa y en el vigor (Leprince *et al*, 1990; 1993).

De todos modos, la desecación es un proceso natural en la mayoría de las semillas, mediado por un sistema proteico que previene daños severos de los distintos componentes celulares como membranas, proteínas estructurales, enzimas, cromatina y citoplasma. Estos daños se reducen y controlan gracias a cooperación tres mecanismos bioquímicos básicos (Lane, 1991; Leprince, 1993, Sánchez *et al*, 2001, Santini y Martorell, 2013):

1. acumulación de hidratos de carbono no reductores,
2. eficiencia en la eliminación de radicales libres que aparecen durante la desecación,
3. aparición de proteínas LEA (*late embryogenesis abundant*), caracterizadas por estar intrínsecamente desordenadas y ser altamente hidrofílicas, cuya síntesis está inducida por el aumento del ácido abscísico (ABA), y desempeñan un rol importante en la desecación durante la etapa final de la embriogénesis. Estas proteínas son las responsables de proteger las membranas y proteínas de las alteraciones que causa la deshidratación, y a parecen al final del proceso de maduración.

Además, en la naturaleza, las semillas que se encuentran en el suelo a menudo se hidratan y deshidratan alternadamente (Lutts *et al*, 2016). Aunque esa absorción de agua no alcance para desencadenar la germinación, se ha observado que sucesivas y breves imbibiciones pueden mejorar las condiciones de la semilla para germinar posteriormente. De esta forma, al rehidratarse parcialmente los constituyentes celulares, las macromoléculas comenzarán a restaurarse, por lo que la semilla se encontrará con sus estructuras parcialmente reorganizadas al momento de comenzar la germinación. A eso se debe que, con el ingreso de agua se reanuda la actividad metabólica con mayor velocidad y que sea más eficiente y uniforme el establecimiento de la plántula. Por tal motivo los mecanismos artificiales de acondicionamiento tratan de imitar lo que ocurre en condiciones naturales con el fin de mejorar la calidad de las semillas (González *et al*, 2005; Hardegree y Van Vector, 2000; Sánchez *et al*, 2001; Yan, 2015; Ibrahim, 2016; Blunk *et al*, 2017 a y b, 2019; Chomontowski *et al*, 2019).

Se cree que el reacondicionamiento que permiten esos ingresos mínimos de agua sobre las macromoléculas deshidratadas en la semilla “seca” favorece su recomposición al momento de la imbibición que precede al proceso germinativo (Qadir *et al*, 2011, Hardegree y Emmerich, 1992), así como también puede contribuir a la rápida germinación de las semillas mediante la reducción de la restricción mecánica del endosperma en el desarrollo del embrión (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989).

Antecedentes de aplicación de acondicionamiento de semillas

Al filósofo Teofrasto (372-287 a.C.) se lo considera el fundador de la Botánica a partir de la publicación su primera obra *Sistema Naturae*. Fue discípulo en el Liceo de Atenas de Platón y luego de Aristóteles, con quien compartía su gran interés por la naturaleza. Posteriormente publicó: “*De historia plantarum*” (Sobre la historia de las plantas) y “*De causis plantarum*” (Sobre las causas de las plantas), en las que se recopilaba una importante cantidad de datos y una organización de colecciones botánicas. Entre sus aportes se destaca una referencia sobre la importancia de la imbibición en agua de semillas de pepino previamente a su germinación para aumentar la velocidad del proceso. Esta cita es considerada la piedra basal en la que se funda el concepto de acondicionamiento de semillas (Everari, 1984).

Posteriormente, en la Roma de comienzos de la era cristiana, Gayo Plinio Segundo (23-79 d. C.), conocido como Plinio el Viejo, también se dedicó al estudio de algunos fenómenos naturales y de las plantas que recopiló en su obra *Naturalis historia*, en la que referencia a fenómenos que hoy encuadramos dentro de Fisiología de semillas: En particular describió la importancia de la prehidratación de las semillas de pepino en agua y miel para que luego germinen adecuadamente (Papparella *et al*, 2015).

Darwin en 1855 publicó sus experimentos sobre prehidratación de semillas de berro y lechuga en soluciones salinas para mejorar la germinación (Darwin, 1855, a, b, c y d).

Ya en el siglo XX varios investigadores retomaron los conceptos darwinianos, tales como Kidd y West (1918/19) que denominaron a dichos tratamientos como *preimbibición*; luego Chippendale (1943) trabajó sobre la importancia de los procesos que nombró como *humedecimiento-desecación* en gramíneas y remarcó que los resultados no podían aplicarse a otras especies sin experimentar diferentes formas de aplicar dicha metodología (citados por Sánchez *et al*, 2001).

En 1943 Levitt y Hamm realizaron tratamientos de hidratación parcial empleando distintas diluciones salinas para acelerar la posmaduración en *Taraxacum* o diente de león, una planta ornamental, y postularon que con dicho procedimiento se activaban procesos metabólicos que permitían que las semillas terminaran su maduración.

Pasaron un par de décadas hasta que May *et al* (1962) retomaron un trabajo del investigador ruso Henckel e informaron que, si se secaban las semillas con distinto grado de humedad luego de ser remojadas, se aceleraba la germinación.

El concepto moderno de *priming* lo establecieron Ellis *et al* en 1963, que reportaron que la aplicación de soluciones nutritivas en el proceso de “pre-imbibición” aumentaba la tasa de germinación en semillas de tomate (Parera y Cantliffe, 1994).

La era moderna del *priming* se considera que comenzó en la década del '70 con los trabajos clásicos de Heydecker *et al* (1973, 1975) que además informaron que esta técnica implicaba “la puesta en marcha de un conjunto complejo de procesos fisiológicos en la semilla”. Las formas de aplicar el *priming* comenzaron a denominarse de acuerdo al objetivo que perseguían o de acuerdo a la forma en que se aplicaban, tales como *hidro, osmo, bio, o matipriming* (Khan, 1977).

Hacia fines de los 70s y hasta el año 2000, varios investigadores aportaron nueva evidencia sobre los beneficios de estas técnicas, denominándolas tratamientos pregerminativos, o procedimientos de hidratación-deshidratación, o métodos de invigorización, o de robustecimiento, *hardening*, osmo-acondicionamiento, etc. Entre los trabajos publicados se puede ver que aplicaban solamente agua, o bien mediante el empleo de soluciones minerales, soluciones bioactivas, peletizaciones, radiaciones, etc. (Khan *et al*, 1979; 1991; Mc Donald, 2000; Taylor *et al*, 1998; Welbaum *et al*, 1998).

Las posibles combinaciones para realizar los tratamientos pregerminativos son tantas que en la actualidad continúan publicándose artículos y probándose distintos productos, siempre con el fin de mejorar la calidad de las semillas, acelerar la germinación e implantación, aumentar el rendimiento y la tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Raj y Raj, 2019).

La aplicación en gran escala de esta metodología es dificultosa, aunque se ha aplicado en cereales, en maltería y varias especies hortícolas por algunas compañías comerciales que patentaron tratamientos de *priming* de semillas como Easy Prime (Atlas), Advance, Emergis y Xbeet (Germaines Seed Technology), Thermocure, Promoter e Improver (Incotec Europe BV) (Papparella *et al*, 2015),

2. 1. 2. Efecto del acondicionamiento de las semillas sobre la germinación

En semillas ortodoxas, es decir que toleran la desecación y conservación *ex situ* (Dona *et al*, 2013), la germinación es un proceso que suele dividirse en tres fases bien diferenciadas (Figura 1) (Lutts *et al*, 2016):

1. *Imbibición o ingreso de agua*: al comienzo es un fenómeno puramente físico que ocurre por difusión, por lo que no tiene una estrecha relación con la temperatura. La gran diferencia de potencial agua (ψ) entre el medio y la semilla (muy bajo) crea un gradiente de potencial mátrico que representa una gran fuerza de atracción hídrica por parte de los coloides seminales. El agua ingresa por el micrópilo y/o la cubierta seminal, y luego se mueve principalmente por vía apoplástica por los tejidos embrionales.

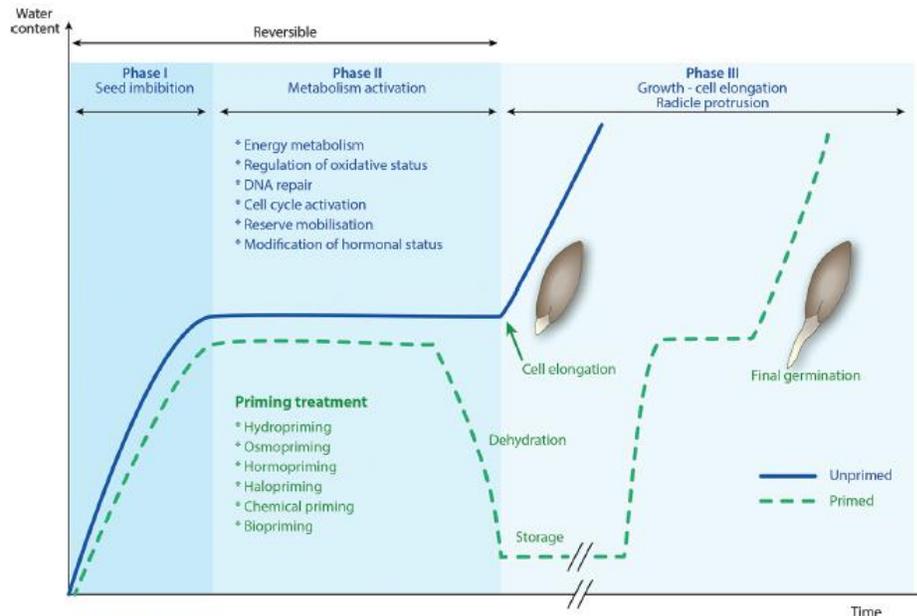
2. *Síntesis y activación de sistemas enzimáticos*: también denominada fase *lag* o de retardo. La hidratación de los tejidos seminales desencadena la reactivación de los sistemas enzimáticos presentes así como la síntesis de nuevas enzimas necesarias para llevar a cabo los procesos metabólicos, como la respiración. También comienzan los procesos de reparación de las estructuras celulares. Al finalizar esta fase comienza un importante aumento de volumen de la semilla que abre el suelo para permitir la emergencia.

3. *Inicio de la fase de crecimiento*: asociado a la elongación celular que permite la protusión de la radícula y de la plúmula, a causa del aumento del volumen y la turgencia celulares, provocados por una segunda entrada de agua. Algunos autores separan esta fase en otras dos, primero la aparición de la radícula y posteriormente de la plúmula.

Las fases 1 y 3 conllevan un importante aumento en el contenido hídrico, mientras que durante la fase 2 la hidratación no se modifica, como puede verse en la Figura 3 (Lutts *et al*, 2016). Las semillas acondicionadas pueden conservarse durante mucho tiempo luego de la deshidratación, manteniendo su capacidad de germinar siempre que el proceso de hidratación se frene antes de la finalización de la fase 2. En otras palabras, ya que la semilla germinante puede tolerar una severa desecación hasta dicho punto de avance del proceso (Leprince *et al*, 1993), ya que posteriormente pierde la capacidad de desecarse y germinar nuevamente. La comprensión de esta condición

seminal fue clave en la aplicación de los tratamientos de acondicionamiento (Papparella *et al*, 2015).

Figura 3. Curva de hidratación y fases de la germinación en semillas con y sin priming. Tomado de Lutts *et al*, 2016.



Las ventajas que otorgan los tratamientos pregerminativos frente a condiciones de estrés durante la germinación e implantación han sido extensamente estudiadas (Bradford, 2002; Bray *et al*, 1989; Farooq *et al*, 2004; Giordano *et al*, 2013; Harris, 1992; Heydecker *et al*, 1973, 1975; Heydecker y Coolbear, 1977; Papparella *et al*, 2015; Qadir *et al*, 2011; Sánchez *et al*, 2001; Toselli y Casenave, 2010). El principal objetivo fue acelerar y homogeneizar el proceso de germinación para lograr un cultivo bien establecido que permitiera conseguir rendimientos aceptables (Achakzai, 2011).

Al aumentar el vigor por medio de la reconstitución de las membranas, del aumento de la fluidez del citoplasma, la disminución de radicales libres y compuestos con efecto competitivo en las rutas metabólicas, el acondicionamiento resulta un método sencillo y económico para mejorar la performance seminal (Chomontowski *et al*, 2019; Papparella *et al*, 2015; Sánchez *et al*, 2001; Toselli y Casenave, 2010;). Tampoco se descarta que los efectos favorables del *priming* se alcancen durante la fase de secado, ya que las enzimas permanecen “activas” los primeros días de inicio del secado (Dell’Aquila y Tritto, 1990).

Otro aspecto favorable del acondicionamiento radica en que las plántulas originadas de semillas tratadas tienen mayor tolerancia a condiciones adversas del medio. Así por ejemplo durante las etapas iniciales y sensibles del desarrollo, como son la germinación y el establecimiento de la plántula (Ibrahim, 2016), se reduce el efecto del déficit de agua y de la salinidad (Papparella *et al*, 2019). El estrés hídrico causa un descenso en el potencial agua del medio lo que limita su absorción por parte de la semilla o la plántula en desarrollo (Fazlali *et al*, 2013; González *et al*, 2005; Hubbard *et al*, 2012) y la salinidad además demora o inhibe la germinación debido a que los iones salinos interfieren con procesos metabólicos (Ibrahim, 2016).

Lutts y sus colaboradores (2016) describieron en detalle el conjunto de fenómenos asociados a los beneficios causados por el *priming* o acondicionamiento de semillas, y mencionan que estos tratamientos involucran (Figura 3):

- *la movilización de reservas, al disparar el proceso de germinación hasta la segunda fase, con oxidación de hidratos de carbono, aumento de α -amilasa, invertasas, etc;*
- *la mejora en el estado oxidativo, por acción del ciclo glutatión-ascorbato, y por regulación de la actividad de enzimas como catalasa, peroxidasa, glutatión peroxidasa y otras proteínas antioxidantes.*
- *la reorganización de la ultraestructura celular, por el reacomodamiento de la estructura terciaria y cuaternaria de las biomoléculas que se encontraban fuertemente deshidratadas;*
- *el incremento y mejora en el estado hídrico de la semilla, ya que luego del proceso de hidratación-deshidratación el contenido de humedad no baja hasta el valor original, sino que paulatinamente lo incrementa.*
- *la regulación del ciclo celular, que se activa al reasumir los mecanismos fisiológicos que se encontraban totalmente deprimidos en la semilla deshidratada.*

Estos beneficios favorecen el aumento y la sincronización de la germinación, el aumento en la tolerancia y resistencia a factores bióticos y abióticos y una mayor eficiencia en la nutrición mineral en etapas tempranas. Estos procesos se controlarían a través de cambios en el perfil hormonal (por

incremento de la relación *giberelinas/ABA* ya que aumenta la concentración de giberelinas endógenas); se activa la expresión génica con lo cual se incrementa la síntesis de proteínas transportadoras (necesarias en la respiración y otras rutas metabólicas), de enzimas y de hormonas.

Papparela *et al* (2015) también recopilaron información publicada por otros científicos que citan que la rehidratación seminal favorece la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, la producción de ATP, la acumulación de lípidos (esteroles y fosfolípidos) la activación y reparación del ADN.

El estado actual del conocimiento ha recurrido a herramientas “ómicas”, ya que los beneficios de precondicionar semillas se explican a nivel de transcriptómica, proteómica y metabolómica, entendiendo que se optimiza la expresión génica (Galland *et al*, 2014). La reparación que conlleva la prehidratación, ya mencionada en párrafos previos, es a nivel de muchos constituyentes celulares, pero el efecto sobre la estructura del ADN parece ser el centro neurálgico del aumento del vigor de la semilla (Khan *et al*, 2017; Macovei y Tuteja, 2013; Marcovei *et al*, 2014).

Debido a todos los beneficios de precondicionar las semillas, las técnicas pregerminativas se han aplicado en una gran variedad de cultivos como algodón, maíz, trigo, cebada, arroz, soja, en muchas especies hortícolas, frutales, arbóreas y ornamentales, sin embargo es poco lo que se ha investigado sobre los beneficios de estos tratamientos en semillas de forrajeras (Qadir *et al*, 2011, Zhou y Jahufer, 2013).

Técnicas de aplicación de acondicionamientos o variantes del *priming*

Como se mencionó precedentemente existe una inmensa cantidad de combinaciones posibles para aplicar el acondicionamiento de las semillas. Dado que se ha generalizado el empleo de la palabra *priming* para referirse a la mayoría de estos procedimientos, existen variantes de este término para indicar la forma de aplicación de esta metodología pregerminativa.

La rehidratación de las semillas es conveniente realizarla en forma controlada porque, como ya se expuso, un ingreso brusco de agua no favorece la reorganización celular y reduce el vigor seminal. Para evitarlo, las rehidrataciones se realizan de distintas formas (Sánchez *et al*, 2001):

- mediante el control de la temperatura, bajándola de manera de demorar la entrada de agua a la semilla y reducir la velocidad de inicio del proceso de germinación;

- disminuyendo el potencial agua del medio en el que se incuban las semillas, para lo cual se pueden utilizar distintos solutos para bajar el potencial osmótico o bien diferentes sustratos para generar potenciales mátricos muy negativos. También así, la reducción en el potencial agua del medio, controla el ingreso de agua a la semilla y demora el comienzo de la germinación.

Por lo tanto, el *priming*, puede aplicarse de distintas maneras, con lo cual adquiere diferentes denominaciones (Sánchez *et al*, 2001):

- *Hidropriming*: si sólo se utiliza agua destilada para la imbibición, y se controla la rehidratación de las semillas combinando distintas temperaturas, tiempos de exposición, grado de hidratación que se quiere alcanzar, aireación o no del medio, etc, es la técnica más antigua y económica;

- *Osmopriming*: si se aplica una solución mediante la utilización de algún soluto que permita bajar el potencial osmótico del medio. Se emplean sustancias como polietilenglicol (PEG), de distintos pesos moleculares (de 2.000 a 8.000 Dalton), manitol, sacarosa o sales como cloruro de sodio o calcio, sulfato de potasio o de magnesio, fosfato de potasio, nitratos de amonio y de calcio, etc., en distintas concentraciones. Las sales de iones di y trivalentes, que aumentan el pH del medio, han sido más eficientes para incrementar el poder germinativo ya que producen una mayor actividad metabólica de las semillas. Cuando se usan sales también se ha denominado a este tratamiento como *halopriming*;

- *Matripriming*: se realiza la prehidratación sobre diferentes sustratos que permitan regular la provisión de agua a la semilla, como papeles de filtro de distinta porosidad, partículas sólidas como vermiculita, Micro Cel E (silicato de calcio sintético), o telas y fibras textiles (sisal, yute, algodón). La relación entre el soporte sólido, la cantidad de agua y el tamaño de las semillas debe ser determinado empíricamente. El acondicionamiento mátrico ha resultado de gran efectividad en varias especies en relación al *hidro* u *osmopriming* probablemente porque facilita la oxigenación de las semillas.

Incluso algunos autores han realizado experiencias con más de un ciclo de hidratación y deshidratación con el objeto de lograr que todas las semillas alcancen un porcentaje de humedad

interna similar y así homogeneizar el poder germinativo del lote (Henckel *et al*, 1982 -citado por Sánchez *et al*, 2001-, Orta *et al*, 1998).

Las combinaciones entre el estado hídrico del medio, la temperatura y el tiempo de aplicación del acondicionamiento han demostrado ser los aspectos más determinantes de esta metodología. Por ello Gummerson (1986) y posteriormente Bradford (1986, 1990) propusieron el Modelo de “tiempo de acondicionamiento hidrotermal” (*thermal priming time model*) que permitió relacionar la tasa de germinación con el potencial hídrico del medio. Pero más tarde Mc Donald (2000) demostró que el modelo no es suficiente para predecir el acondicionamiento de la mayoría de las especies ensayadas, debido a la complejidad de los procesos metabólicos involucrados en la etapa de reparación y a las condiciones en las cuales se aplican los tratamientos pregerminativos.

En conclusión, el *priming* es una técnica sencilla pero efectiva, conocida hace mucho tiempo, que mejora tanto el porcentaje como la velocidad de germinación, con lo cual se puede obtener un cultivo más uniforme y de mayor rinde, capaz de soportar condiciones desfavorables durante su desarrollo. Todo esto se logra gracias a la activación metabólica que confieren los tratamientos pregerminativos. Sin embargo, las diferencias en los protocolos aplicados han tenido distinta eficacia, ya que su resultado depende de una serie de condiciones multicausales, entre ellas mayormente el genotipo, las condiciones del medio en que aplica el tratamiento, la duración, etc. La adecuación a cada especie de la forma de aplicar el *priming*, en especial el frenado del proceso seguido de un secado rápido es clave para aumentar el vigor y permitir que las semillas puedan conservarse (Dutta, 2018).

2. 2. Hipótesis

Las semillas de *Panicum coloratum* acondicionadas mediante la técnica de prehidratación controlada o *priming* tienen una *performance* superior durante la germinación que aquellas no tratadas.

2. 3. Objetivo

Determinar el o los tratamientos de acondicionamiento más efectivos para mejorar la germinación de semillas de *Panicum coloratum*.

2. 4. Materiales y Métodos

Se emplearon semillas de *Panicum coloratum* cv *coloratum* var. Verde, provistas por la semillera Agroempresa S.A. (Córdoba), cosechadas en 2014, sin peletear (Figura 1). En el lote se determinó la pureza (94,9 %), el peso de mil semillas (P1000: 0,6608 g) y el poder germinativo inicial (20,55%).

Los ensayos fueron realizados durante los años **2015 y 2016** en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, con el equipamiento y facilidades disponibles en el Laboratorio de Fisiología Vegetal.

Los tratamientos de *priming* se llevaron a cabo en una cámara de germinación con control de luz y temperatura. Las condiciones de germinación se fijaron según lo establecido en las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas (ISTA, 2016).

Figura 4. Muestras de semillas utilizadas en los ensayos (Agroempresa S.A.).



Tratamientos de acondicionamiento o *priming*

Si bien la bibliografía es muy amplia sobre los beneficios del *priming* y sobre las formas de aplicarlo se dispone de escasa información sobre sus efectos en pasturas perennes. Por ello, previamente a la realización de este trabajo se pusieron a punto las técnicas de aplicación de *priming*, durante los años 2013 y 2014, para determinar el o los tratamientos más convenientes para las semillas de mijo perenne. La o las combinación/es más adecuada/s se obtuvieron de

forma empírica asociando tiempos de hidratación, temperaturas y formas de aplicarlas (continuas o alternas), medios, solutos, sustratos, etc. Como las posibles combinaciones son inmensas se seleccionaron los tratamientos con los que se obtuvieron mejores resultados y que operativamente fueran más sencillos de aplicar, dado que ambas características podrían resultar interesantes para su empleo en grandes volúmenes de semillas o a nivel industrial (datos no presentados).

Luego de la evaluación de distintas variantes se seleccionaron las temperaturas de 25 y de 30 °C, continuas, combinadas con tiempos de 12 h y 24 h, con luz, por resultar los más eficientes, que luego fueron combinadas con diferentes condiciones del medio de acondicionamiento. Además, la selección de la temperatura se realizó en base a lo recomendado por otros investigadores en relación a que el priming debe aplicarse a la temperatura óptima de germinación de la especie, que para el caso del mijo perenne es de 25 a 30 °C (Hardegree y Emmerich, 1992; Heydecker, 1977).

Se tomaron muestras de 1 g de semillas por tratamiento a las que se les aplicaron las distintas formas de *priming*. Las variantes resultaron de prehidratar las semillas en agua, en presencia de distintos solutos o mediante el empleo de soporte de distinta porosidad (papel de filtro). Se trabajó en cajas de plexiglas transparente, tipo Petri, de cada tratamiento e hicieron 4 repeticiones.

Los **tratamientos de acondicionamiento** aplicados fueron:

➤ ***Hidropriming (HP)***: Se prehidrataron las semillas con agua destilada, sin soporte papel.

Se aplicaron dos tiempos de pretratamiento: **12 y 24 h**

Las temperaturas aplicadas fueron: **25 y 30 °C**

Es decir que combinaciones de tiempo y temperatura dieron 4 tratamientos.

➤ ***Osmopriming (OP)***: Se realizaron dos variantes del pretratamiento de *priming* osmótico, bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura aplicadas para *hidropriming*:

- **Con polietilenglicol 6000 (PEG 6000)** Se hidrataron las semillas en soluciones con distintos potenciales osmóticos (π): -0.50, -1.00 y -1.50 MPa. Dichos valores se ajustaron con un

osmómetro Wescor modelo Vapro 5520. Se prepararon de acuerdo a la técnica propuesta por Michel y Kaufmann (1973).

- **Con cloruro de calcio (CaCl₂)**, utilizando soluciones al 2%.

Las combinaciones de solutos, potenciales osmóticos, tiempos y temperaturas de exposición para el tratamiento de *osmopriming* determinaron 16 tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3: Detalle de los tratamientos de *osmopriming* aplicados.

Temperatura (°C) \ Tiempo (h)	25	30
12	OP -0,50	OP -0,50
	OP -1,00	OP -1,00
	OP -1,50	OP -1,50
	OP CaCl ₂	OP CaCl ₂
24	OP -0,50	OP -0,50
	OP -1,00	OP -1,00
	OP -1,50	OP -1,50
	OP CaCl ₂	OP CaCl ₂

➤ **Matrimpriming (MP):** La hidratación se realizó mediante el empleo de papeles de filtro de distinta porosidad o velocidad de filtrado. A fin de generar distinta disponibilidad de agua a las semillas se emplearon papeles diferentes tipos: papel de filtrado rápido, Whatman N° 41 (que constituyó el tratamiento *matrimpriming rápido*, MP rápido), papel de filtrado medio, Whatman N° 40 (tratamiento denominado *matrimpriming medio*, MP medio) y papel de filtrado lento, Whatman N° 44 (*matrimpriming lento*, MP lento). Los papeles colocaron en cajas de plexigás tipo Petri, se saturaron con 10 ml de agua destilada, se escurrió es excedente, y luego se colocaron las semillas.

Al igual que en los pretratamientos descritos anteriormente, las variantes de *matrimpriming* se aplicaron durante 12 o 24 h, a 25 o 30°C, conformaron los 12 tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4: Detalle de los tratamientos de *matrimpriming* aplicados.

Temperatura (°C) \ Tiempo (hs)	25	30
12	MP rápido MP medio MP lento	MP rápido MP medio MP lento
24	MP rápido MP medio MP lento	MP rápido MP medio MP lento

- **Control:** Todos los tratamientos se contrastaron con un testigo, representado por semillas sin acondicionamiento previo.

Luego de aplicar los acondicionamientos descritos precedentemente, las semillas fueron secadas al aire sobre hojas de papel del filtro tamaño A4, durante una semana.

Los ensayos descritos precedentemente se realizaron en el año 2015, mientras que los que figuran a continuación (Tabla 5) se llevaron a cabo durante el segundo año de trabajo (2016). La diferencia fue que además de probar un único ciclo de *priming* se aplicó un segundo ciclo. Este procedimiento se realizó sobre las mismas semillas utilizadas en 2015 (cosecha 2014). Entonces, además de los tratamientos anteriormente (Tablas 3 y 4), se aplicaron los tratamientos que detallados en la Tabla 5, en los que los dobles *priming* se identifican anteponiendo el **número 2** a la denominación del tratamiento.

Tabla 5: Detalle de los tratamientos con uno y dos ciclos de *priming* aplicados en 2016.

Temperatura (°C) Tiempo (hs)	25	30	
	12	HP 2HP MP rápido 2MP rápido MP medio 2 MP medio MP lento 2MP lento OP -0,50 2OP -0,50 OP -1,00 2OP -1,00 OP -1,50 2OP -1,50 OP CaCl ₂ 2OP CaCl ₂	HP 2HP MP rápido 2MP rápido MP medio 2 MP medio MP lento 2MP lento OP -0,50 2OP -0,50 OP -1,00 2OP -1,00 OP -1,50 2OP -1,50 OP CaCl ₂ 2OP CaCl ₂
24		HP 2HP MP rápido 2MP rápido MP medio 2 MP medio MP lento 2MP lento OP -0,50 2OP -0,50 OP -1,00 2OP -1,00 OP -1,50 2OP -1,50 OP CaCl ₂ 2OP CaCl ₂	HP 2HP MP rápido 2MP rápido MP medio 2 MP medio MP lento 2MP lento OP -0,50 2OP -0,50 OP -1,00 2OP -1,00 OP -1,50 2OP -1,50 OP CaCl ₂ 2OP CaCl ₂

Las semillas se secaron a temperatura ambiente durante 1 semana entre el primero y el segundo ciclo de acondicionamiento, y luego del segundo secado (también de 1 semana) se hicieron germinar. El procedimiento realizado en todos los tratamientos fue igual al descrito para el año 2015.

Ensayos de germinación:

Posteriormente a la aplicación de los tratamientos de acondicionamiento, las semillas no acondicionadas (Control) y las tratadas fueron puestas a germinar en cajas de pexiglás, en cámara de germinación, programada con 12 h de luz a 30 °C y 12 h de oscuridad a 20 °C (ISTA, 2016). Las cajas se rotaban en la fecha de cada conteo dentro de la cámara de germinación, para evitar el efecto del contacto con las paredes y homogeneizar la llegada de luz.

Para cada tratamiento se efectuaron 4 repeticiones con 100 semillas por caja. Se realizaron conteos de germinación con una frecuencia aproximada de 1 ó 2 días, estableciéndose el último conteo luego de 24 días después de la siembra (DDS). Los datos se expresaron en porcentaje como poder germinativo (PG) al final de cada ensayo.

Figura 5. Cajas preparadas para aplicar los diferentes tratamientos de *matrimpriming* (cajas con papel de filtro).



Figura 6. Cámara de germinación con ensayos de *priming*. Laboratorio de Fisiología Vegetal. Depto. de Agronomía - UNS.



Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al*, 2015) utilizando el test de ANOVA y pruebas de comparación de medias con el test de LSD Fisher al 5% y a 1% de significancia. Los datos fueron analizados tanto sin modificar como modificados mediante la raíz cuadrado del arco seno de aquellos que se expresaban en porcentaje, como los de germinación. Sin embargo, se presentan los datos puros, sin modificar, dado que no se encontraron diferencias en los resultados obtenidos en el ANOVA ni en el análisis de comparación de medias. Por otro lado, en la bibliografía consultada tampoco se modificaron los porcentajes de poder germinativo, se expresaron como datos puros y se analizaron mediante ANOVA y se contrastaron con tests de comparación de medias tales como Tuckey, SNK o LSD (Basra *et al*, 2006; Bradford, 1990; Bush *et al*, 2000; Casenave y Toselli, 2007; Farooq *et al*, 2006; Giordano *et al*, 2013; González *et al*, 2005; Nouman *et al*, 2014), tal como se hizo en este trabajo.

2. 5. Resultados y Discusión

Previamente a la realización de los tratamientos pre-germinativos se evaluó el poder germinativo (PG) del lote de semillas no peleteadas, para el que se obtuvo un valor inicial de 19%. Cabe mencionar que dicho PG fue bajo sin embargo el INASE permite comercializar esta especie con valores no inferiores al 15%.

El PG obtenido se corresponde con lo informado en otros trabajos (Bush *et al*, 2000; Qadir *et al*, 2011) y se debe al poco mejoramiento que han tenido las forrajeras perennes hasta el momento cuyos procesos de maduración en las estructuras reproductivas reduce la calidad de las semillas (Giordano *et al*, 2013, Tomás, 2020). Además, el bajo poder germinativo podría deberse al estado de dormición de las semillas, cosechadas en 2014. Esta condición ha sido informada por investigadores que han trabajado con mijo perenne y otras especies del género *Panicum* (Armando *et al*, 2019; Duclos *et al*, 2013; Petruzzi *et al*, 2003; Tischler y Young, 1987; Zhou *et al*, 1980).

En el primer año de trabajo (2015) la aplicación de los tratamientos de *priming* evidenció un incremento muy significativo respecto del PG del Control. La germinación se incrementó en forma muy significativa, logrando valores absolutos de PG que oscilaron entre 40 y 69% de para las distintas variantes de *priming* (Figuras 7 a 10 y Tabla 1, Anexo).

Todos los tratamientos ensayados superaron ampliamente al Control, independientemente de las combinaciones aplicadas, sin embargo, ninguno de los tratamientos fue igualmente efectivo para los temperaturas o tiempos seleccionados.

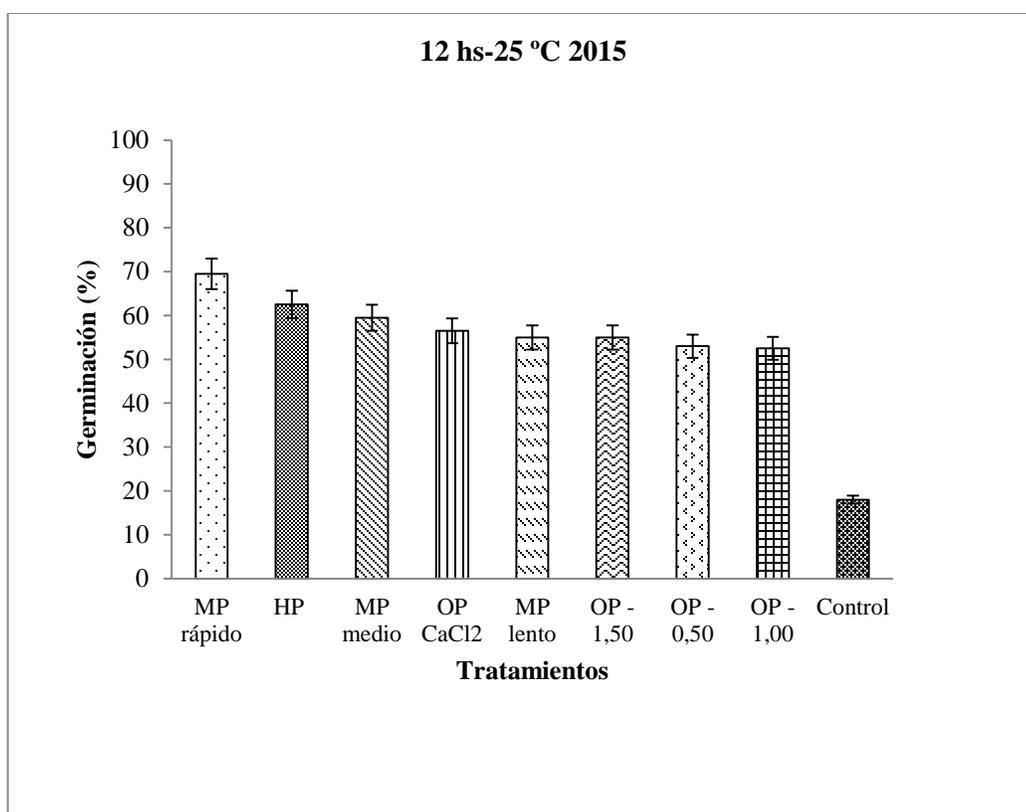
A continuación, se presentan los resultados de la aplicación de los distintos tratamientos de *priming* para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura.

2. 5. 1. Efecto del acondicionamiento sobre la germinación

El acondicionamiento durante 12 h a 25 °C (Figura 7) fue muy efectivo, ya que todos los tratamientos superaron el 52 % de PG, con lo cual la capacidad germinativa se aumentó en más de 30 puntos porcentuales. El tratamiento que mayor incremento produjo fue el MP

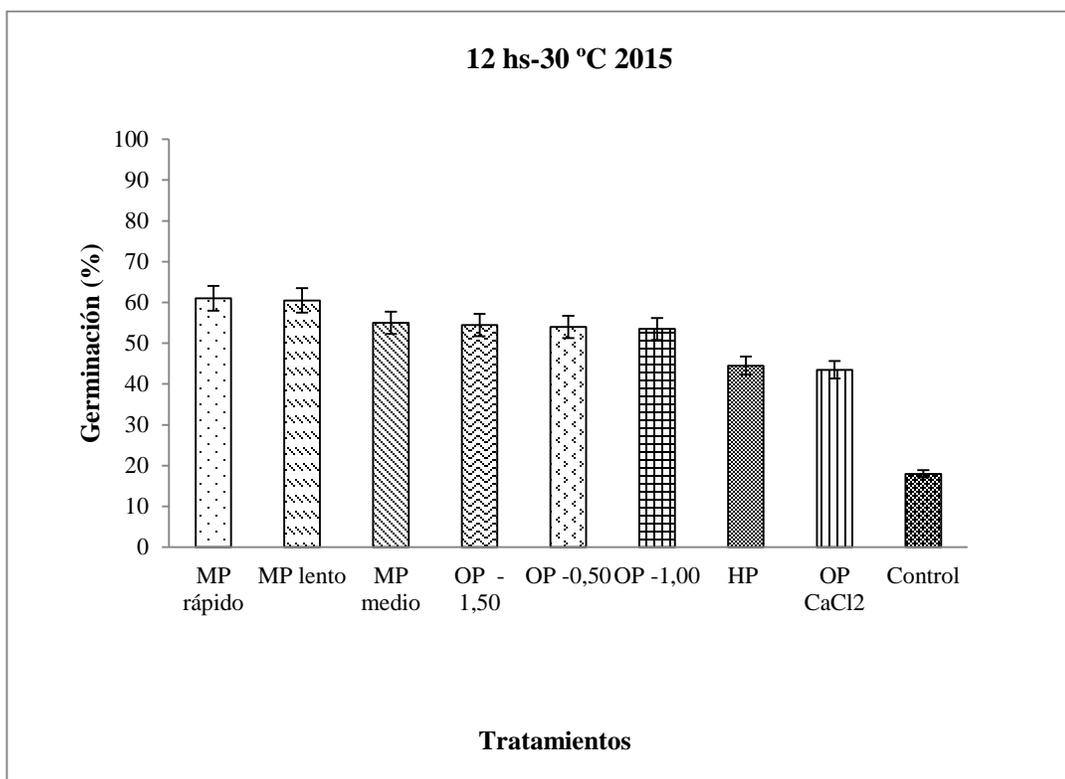
rápido (PG 68,99%), que representó un incremento de 3,8 veces el PG del Control. Por su parte, el acondicionamiento con HP también superó el 67% de PG, con lo cual se observó que la hidratación en agua o con un soporte papel de baja retención (similar al efecto del HP), para dicha combinación tiempo-temperatura, fue muy adecuada. El acondicionamiento con soluciones (*osmopriming*) arrojó muy buenos valores del PG pero inferiores a los mencionados precedentemente. La aplicación de CaCl_2 fue más efectiva que el empleo de PEG a distintos potenciales hídricos (Figura 7).

Figura 7. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de *priming* para la combinación de 12 horas de duración y 25 °C.



Cuando los tratamientos de *priming* se aplicaron durante 12 h pero a 30 °C los porcentajes de germinación obtenidos tuvieron diferencias altamente significativas cuando se compararon con el Control, ya que permitieron alcanzar germinaciones del orden de 43,5 a 61%, siendo el MP rápido el de mayor PG (Figura 8).

Figura 8. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de *priming* para la combinación de 12 horas de duración y 30 °C.

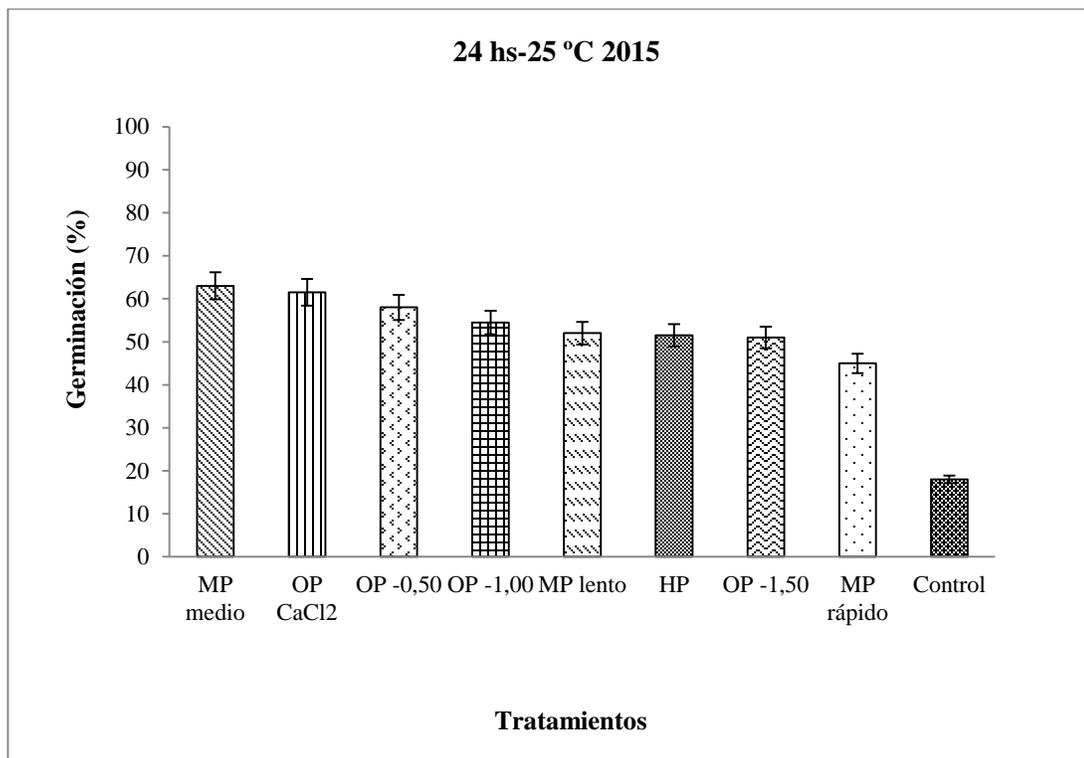


El *matrimpriming* en sus tres variantes fue más efectivo para esta combinación tiempo-temperatura. Por su parte el tratamiento de HP mostró una tendencia menos efectiva pero no significativa respecto de la que tuvo a 25°C.

En general, para la mayor temperatura ensayada se observó una tendencia a generar un menor incremento en el PG respecto del que produjo cada tipo de *priming* aplicado a menor temperatura. Es decir que la exposición a la temperatura de 30 °C no resultaría tan beneficiosa, y las diferencias en el PG fueron entre 1 y 11,5% más bajas que para los acondicionamientos aplicados durante 12 h a 25 °C.

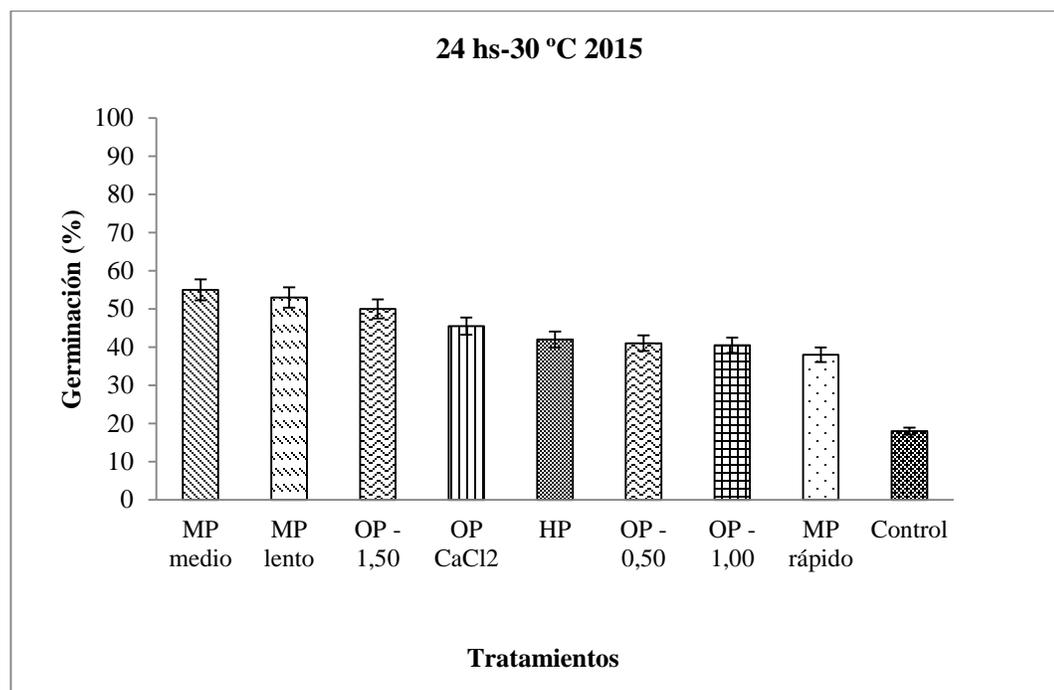
Cuando los distintos acondicionamientos se realizaron durante un período de 24 h, los resultados no fueron significativamente diferentes a los anteriores, salvo para MP rápido que disminuyó en forma significativa con respecto al tratamiento de 12 h. Los tratamientos con MP medio y OP CaCl₂ fueron los que permitieron conseguir altos valores de PG (Figura 9).

Figura 9. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de *priming* para la combinación de 24 horas de duración y 25°C.



Tratar las semillas durante un período de 24 h a la mayor temperatura, es decir a 30 °C, resultó la combinación menos efectiva de todas las probadas en este trabajo (Figura 10). Aun así, con MP medio y MP lento se obtuvieron valores de germinación similares a los obtenidos en otros tratamientos, al igual que *osmoprimering* con menor potencial osmótico (OP -1,5 MPa). Es decir que, al tener mayor retención de agua y ser aplicados durante un período más prolongado y a mayor temperatura, tuvieron más efectividad para aumentar el PG de las semillas, poco mayor al 50% para estos tres tratamientos.

Figura 10. Porcentaje de germinación de semillas de mijo perenne para distintos métodos de priming para la combinación de 24 horas de duración y 30 °C.



En las figuras anteriores puede verse la similitud en la respuesta germinativa que produjo el acondicionamiento con algunas de las variantes probadas de *matrimpriming* con algunos de los tratamientos de *osmopriming*. Hardegree y Emmerich (1992) postularon que el tratamiento con soluciones osmóticas de PEG (de peso molecular mayor de 4000 Dalton) actuaría de modo equivalente al acondicionamiento sobre una matriz del mismo potencial. Por ello, se puede suponer que si bajo una condición tiempo-temperatura la respuesta del OP con PEG y del MP son similares, el potencial mátrico en ese caso sería similar al potencial osmótico de la solución aplicada.

En general se observó un mayor efecto del *priming* sobre el PG cuando se aplicó a menor tiempo (12 h) y menor temperatura (25 °C), que fueron aproximadamente 3 veces superiores al testigo. Los resultados de PG más bajos obtenidos con semillas acondicionadas, que igualmente fueron de 2 a 2,5 veces superiores al de las semillas sin tratar, se obtuvieron al aplicar mayor tiempo y mayor temperatura, es decir períodos de 24 h a 30 °C.

El tratamiento de *hidropriming* incrementó el PG muy significativamente, con valores mínimos de 40,26% (24 h a 30 °C) y máximos de 63,15% (12 h a 25 °C), este último representó un aumento absoluto de 42,6% respecto del testigo.

El acondicionamiento con *matrimpriming* se posicionó como el tratamiento más efectivo en general y en especial cuando se aplicó durante 12 h, ya que permitió obtener valores de PG que alcanzaron casi 69%, independientemente de la velocidad de filtrado del papel, de los tiempos de exposición y temperaturas de prehidratación. El mayor PG se obtuvo con el *matrimpriming* rápido (MP rápido) durante 12 h a 25 °C, lo que representó un incremento de 3,35 veces el PG del Control. Es decir que la mayor disponibilidad de agua que permitió el papel de filtrado de mayor velocidad (mayor disponibilidad de agua) combinado con la menor temperatura durante el lapso más breve de acondicionamiento fue la condición más adecuada para rehidratar las semillas. El tratamiento de *matrimpriming* medio (MP medio) funcionó mejor si se aplicaba menor temperatura pero mayor tiempo y, contrariamente el *matrimpriming* lento (MP lento), que ofrece una menor disponibilidad de agua, necesitó mayor temperatura y menor tiempo para arrojar un PG superior a 60%.

Con *osmopriming* se obtuvieron valores de PG que en la mayoría de los casos superaron en 30 puntos porcentuales al poder germinativo del testigo. Los PG fueron similares o superiores a los conseguidos con *hidropriming*, pero menores respecto del *matrimpriming* si se aplicaba durante 12 h. El osmoacondicionamiento mostró mejor resultado cuando se realizó bajo la combinación de 24 h y 25 °C, tanto con PEG 6000 como con CaCl₂. Para dicha condición los PGs obtenidos fueron similares o superiores al *priming* mátrico.

El tratamiento de *osmopriming* con CaCl₂ al 2% arrojó mejores resultados que con PEG 6000, y claramente la menor temperatura (25 °C) permitió incrementar mucho el PG de las semillas, tanto durante 12 como durante 24 h. Se han publicado resultados similares en los que las soluciones de CaCl₂ han sido beneficiosas para aumentar la germinación y el establecimiento de las plántulas (Rehman *et al*, 2015).

Para diferentes especies se ha reportado el beneficio del osmoacondicionamiento con CaCl₂, así por ejemplo se ha ensayado en maíz (Kulkarni y Eshanna, 1988), en maní (Sashidhar

et al, 1977), en trigo (Bhati y Rathore, 1988), en sorgo (Kadiri y Hussaini, 1999), en col (Yan, 2015), así como en pasturas (Qadir *et al*, 2011; Raj y Raj, 2019).

El *osmopriming* con PEG 6000 incrementó el PG salvo cuando se aplicó a mayor tiempo y a mayor temperatura. Para las distintas combinaciones de tiempo - temperatura - potenciales osmóticos los porcentajes de germinación oscilaron entre 40 y 60%.

Las soluciones de PEG 6000 no mostraron un patrón consistente sobre la germinación, y no permitieron alcanzar los máximos incrementos de PG que se obtuvieron con otros métodos de acondicionamiento. Esto puede deberse a la actividad del soluto de alto peso molecular cuando se utiliza a alta temperatura (Michel y Kaufman, 1973) y a la elevada viscosidad del medio puede dificultar la difusión de oxígeno a las pequeñas semillas de *Panicum*.

Algunos de estos resultados concuerdan con publicaciones que citan que el acondicionamiento mátrico o *matrimpriming* parece tener un efecto más positivo sobre la germinación de distintas especies, en comparación con el beneficio del *hidropriming* o del *osmopriming* (Bradford, 1986; Parera y Cantliffe, 1994; Raj y Raj, 2019; Sánchez *et al*, 2011). Sin embargo, también se ha mencionado que las condiciones óptimas deben determinarse empíricamente ya que la duración del acondicionamiento y la relación entre la semilla y el soporte sólido es diferente en cada especie (Sánchez *et al*, 2001).

Con estos resultados se observó que la aplicación de los tratamientos durante 12 h a 25 °C tuvo un mayor efecto para aumentar el PG, comparado con las combinaciones aplicadas durante 24 h o a 30 °C. Por otro lado, así como algunos trabajos se han llevado a cabo con gran control de temperatura, en baños termostatzados, otros investigadores testearon el acondicionamiento realizándolo a “temperatura ambiente”, sin un control tan estricto de las condiciones térmicas del tratamiento. Esto tuvo como finalidad simular lo que podría ocurrir en forma natural con las semillas, aunque aumentos de temperatura podrían causar daño a nivel de las membranas celulares, provocar una hidratación despareja y reducir así la capacidad germinativa (Suzuki y Khan, 2001).

Luego de analizar los gráficos anteriores (Figuras 7 a 10) se puede inferir en general que la combinación de menor tiempo (12 h) junto con la menor temperatura ensayada (25 °C) fueron buenas condiciones de acondicionamiento para aumentar en forma más homogénea el poder

germinativo de las semillas de mijo perenne (Figura7). Además, se advirtió la ventaja de realizar el acondicionamiento con papeles de filtro rápidos (*MP rápido*), que ofrecen una alta disponibilidad de agua, o directamente en agua destilada (*hidropriming*), que resultan métodos sencillos y que demostraron tener alta eficiencia bajo a combinación de 12 h - 25 °C.

Estos datos resultan consistentes con lo informado en diversas publicaciones respecto a que períodos cortos de aplicación de tratamientos pre-germinativos, tales como 4, 8 y 10 h, fueron más efectivos que lapsos prolongados para diversas especies (Bhati y Ratthore, 1988; Kadiri y Hussaini, 1999; Kulkarni y Eshanna, 1988; Sashidhar *et al*, 1977).

Asseffa (2008), que aplicó acondicionamientos durante períodos de 2 hasta 24 h, determinó que la conductividad eléctrica de los lixiviados de semillas de soja fue significativamente influenciada por la duración del *priming*, es decir que lapsos más prolongados atentaban contra la conservación de electrolitos en los tejidos seminales.

Por otro lado, también se ha reportado el beneficio de prehidratar semillas durante tiempos extensos, incluso de hasta 4 días, pero en ese caso se realizaron en medios de muy bajo potencial hídrico (inferior a -1,0 MPa) a fin de controlar el ingreso de agua a la semilla (Hardegree y Emmerich, 1992; Hardegree y Van Vector, 2000).

En relación a la temperatura del medio, se ha informado que la aplicación de temperaturas elevadas puede causar daños debido a una rápida y desigual imbibición de los tejidos seminales producida por la mayor energía cinética del agua, y además puede favorecer la pérdida de electrolitos esenciales, lo que se reflejaría en una disminución de la germinación (Suzuki y Khan, 2001). Por tal razón, varios trabajos realizados en semillas de mayor tamaño que las de mijo perenne han aplicado *priming* trabajando en baños termostatzados o directamente bajo refrigeración (Blunk *et al*, 2017a; 2017b; 2019; Dutta, 2018).

2. 5. 2. Efecto del acondicionamiento sobre la germinación a lo largo del tiempo.

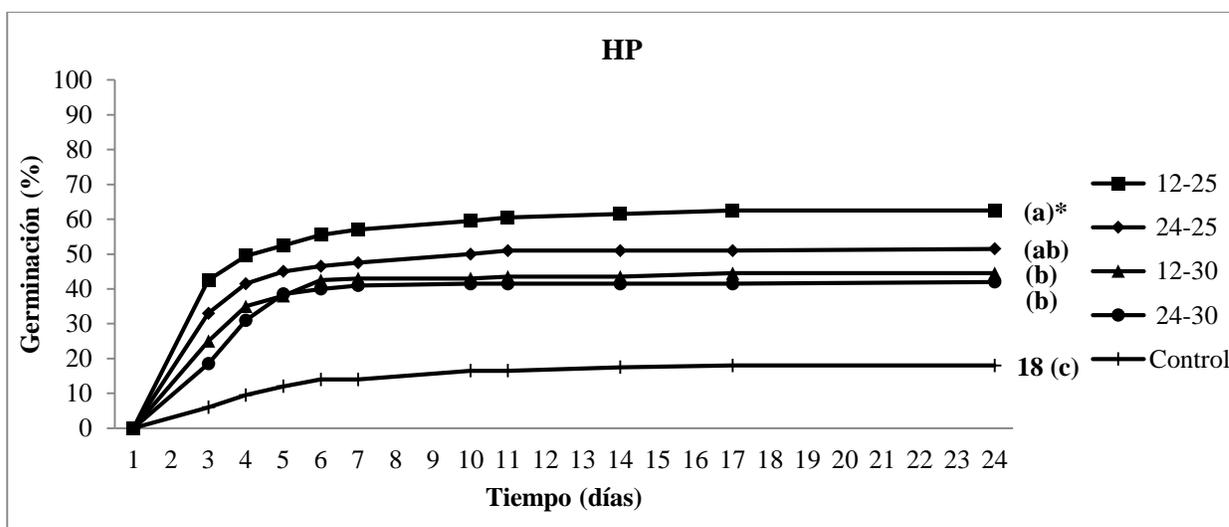
En el año 2015, cuando se analizó la respuesta de la germinación a lo largo del tiempo para los diferentes tratamientos pregerminativos se observó que las diferentes variantes del *priming* alcanzaron valores de más del 80% del PG final a los 2 ó 3 DDS, mientras que el

tratamiento Control alcanzó el máximo porcentaje luego de aproximadamente 10 días. Es decir que, independientemente del incremento en el PG registrado para todos los pretratamientos, en todas sus variantes probadas, la velocidad de germinación se incrementó en forma significativa. Por eso las curvas de los acondicionamientos que generaron mayor aumento de germinación tuvieron pendientes positivas y marcadas en los primeros días de ensayo, mientras que la curva de las semillas testigo mostró una curva con muy poca pendiente (Figuras 11 a 18).

Cuando se analizaron las curvas para los tratamientos en forma separada pudo visualizarse mejor el comportamiento de cada combinación de tiempo y temperatura a lo largo del ensayo. En los siguientes gráficos, las letras indican las diferencias estadísticas en el conteo correspondiente a los 24 días DDS, cuando finalizó el ensayo.

Así, por ejemplo, el *HP* (Figura 11) fue más efectivo cuando se aplicó durante 12 h a 25 °C desde el inicio del ensayo y hasta el final, seguido de la otra variante a dicha temperatura, es decir 24 h a 25°C, no sólo porque produjo el mayor PG sino porque además aceleró mucho la velocidad de germinación. Las otras combinaciones tuvieron una evolución similar, aunque la mayor temperatura (30°C) no permitió incrementar tanto la germinación ni la velocidad.

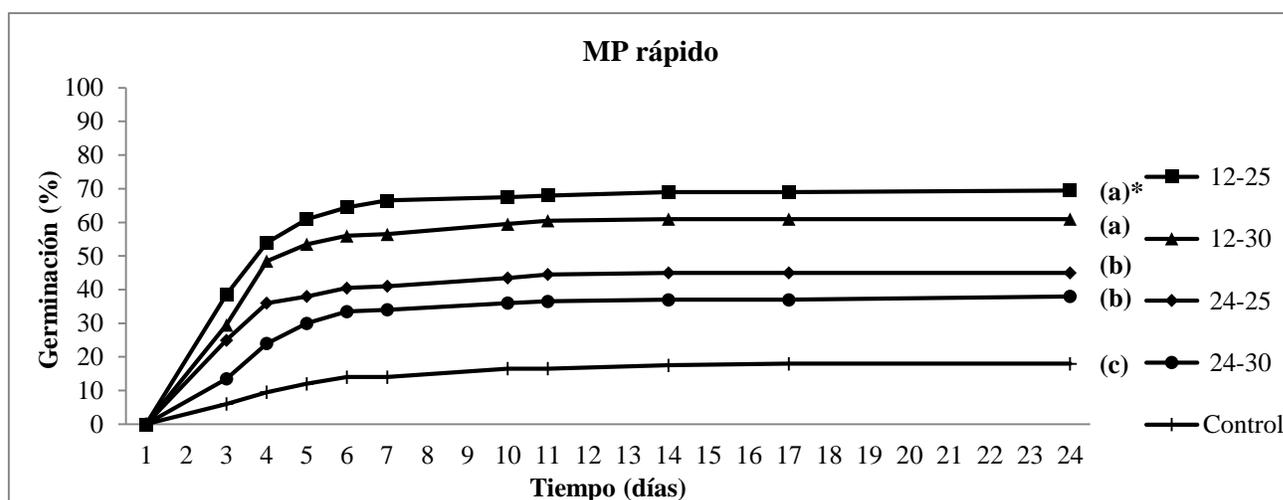
Figura 11. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con *hidropriming* (HP) según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



* Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Los tratamientos de acondicionamiento mátrico, también fueron más efectivos bajo la combinación 12 h-25 °C, tanto en el valor de PG máximo que permitieron obtener como en su comportamiento a lo largo del tiempo (Figuras 10, 11 y 12). Para el tratamiento de **MP rápido** (Figura 12) se vio una buena segregación de las curvas, las que corresponden a 12 h de *priming* permitieron observar que se alcanzaron PG superiores a 60% mientras que cuando se realizó el tratamiento durante más tiempo (24 h) los porcentajes fueron significativamente menores. Las combinaciones más efectivas, aplicadas durante 12 h, tuvieron diferencias estadísticas respecto de las aplicadas durante 24 h, y ambas respecto del Control.

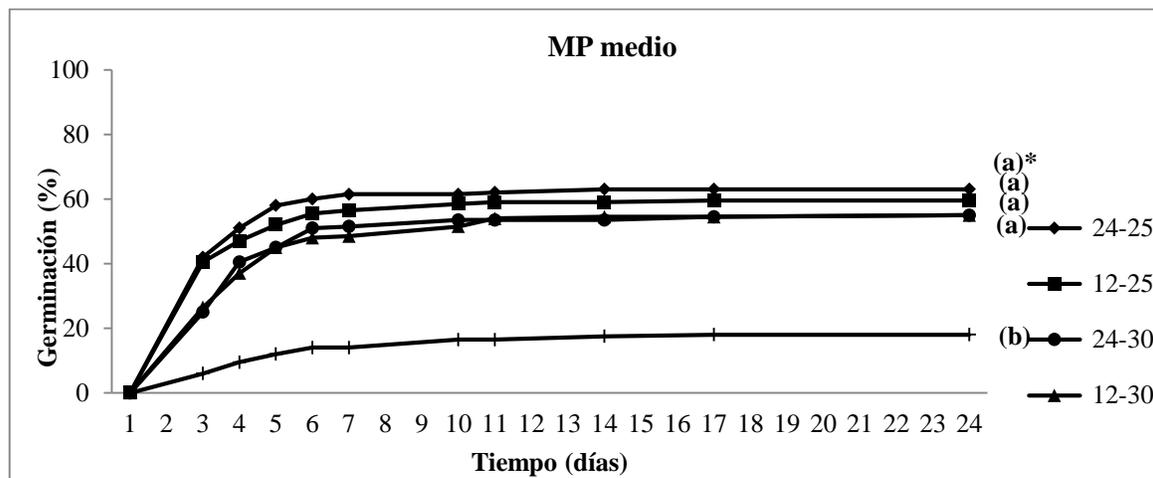
Figura 12. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con *matripriming* (MP rápido) según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



*Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Para el tratamiento de **MP medio** (Figura 13) los valores de germinación fueron bastante similares para todas las variantes aplicadas, por lo que no se observaron diferencias estadísticas para las distintas condiciones de tiempo-temperatura. A pesar de que no se alcanzaron valores tan altos como con MP rápido, la respuesta del MP medio fue muy efectiva, superando todas las combinaciones el 55% de PG.

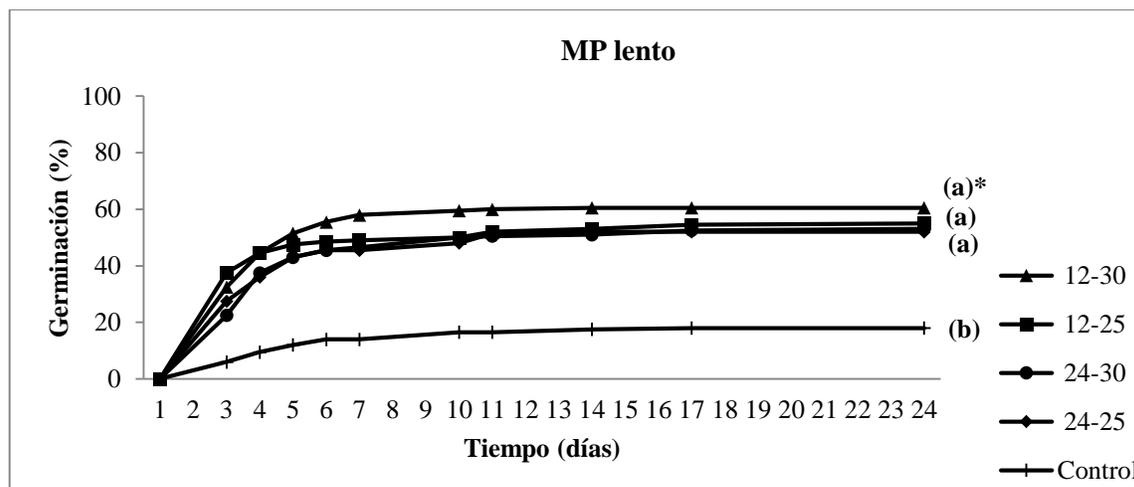
Figura 13. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con *matrimpriming* (MP) medio según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



* Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Con el tratamiento de **MP lento** (Figura 14) no se obtuvieron diferencias entre las combinaciones de tiempo y temperatura y los valores de PG obtenidos oscilaron entre 50 y 60%, que resultaron significativamente mayores que el Control.

Figura 14. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con *matrimpriming* (MP) lento según las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



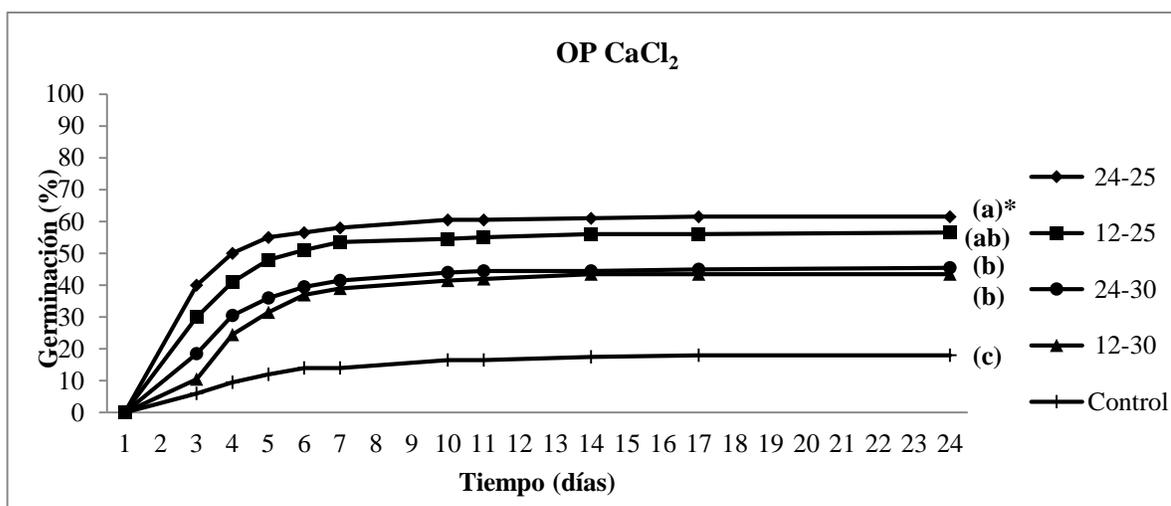
*Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Con los tratamientos de osmoacondicionamiento, tanto con CaCl_2 al 2% como con PEG 6000 (Figuras 15 a 18), se obtuvieron porcentajes de germinación algo inferiores que con *matrimpriming* e *hidropriming*. La tendencia de las curvas de las distintas combinaciones de tiempo

y temperatura a lo largo del tiempo fue similar en los tratamientos de acondicionamiento osmótico.

La solución de CaCl_2 (**OP CaCl_2**) (Figura 15) en el medio permitió que las semillas se prehidrataran de forma que luego su germinación fuera mayor que aquellas tratadas con las distintas disoluciones de PEG 6000. Para la combinación 24 h-25 °C se obtuvo el mayor PG, que superó el 60%, y que del obtenido a 12h-25°C. La aplicación de la temperatura de 30 °C durante el *priming* causó germinaciones estadísticamente menores que a 25 °C y además redujo mucho la velocidad inicial de germinación.

Figura 15. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con OP CaCl_2 al 2% para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.

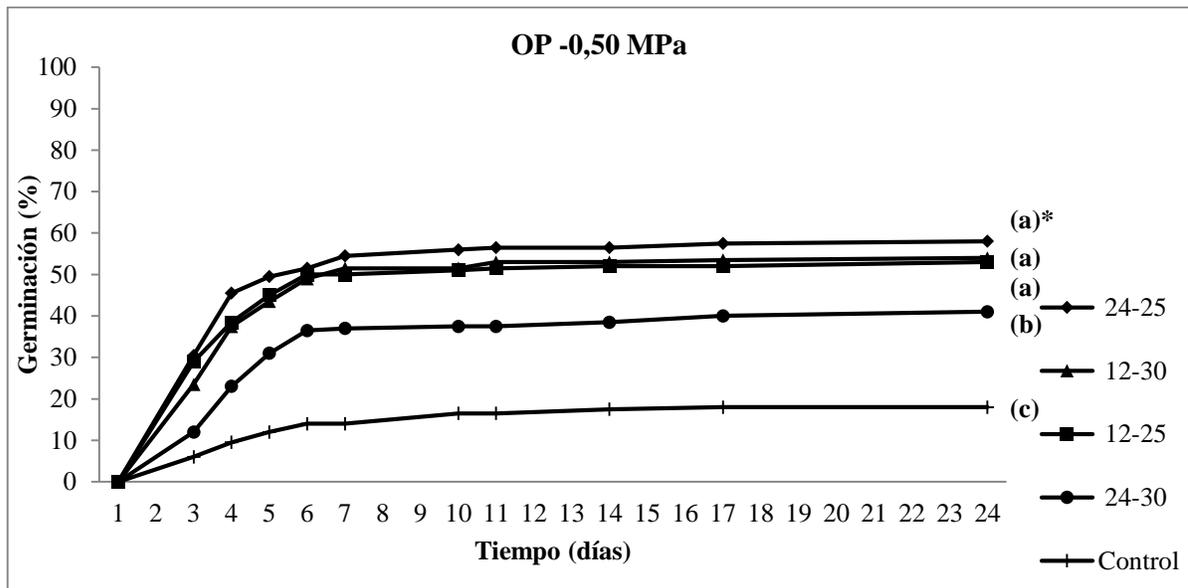


*Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Tanto con CaCl_2 como con PEG 6000 se observó que los pretratamientos realizados a 24 h durante 25 °C permitieron alcanzar los mayores porcentajes germinativos. Con el CaCl_2 se superó el 40% de PG al tercer día, mientras que el PEG redujo un poco la velocidad inicial de germinación, y dicho valor se alcanzó luego 4 ó 5 DDS.

La aplicación de **soluciones de PEG 6000** fue adecuada para aumentar el PG, pero no se superó el 60% de germinación. Este soluto fue más eficiente a menor concentración, es decir a un potencial osmótico más elevado, de -0,50 MPa, por las razones mencionadas precedentemente, referidas a la actividad, viscosidad del PEG y la difusión de oxígeno en el medio (Figura 16).

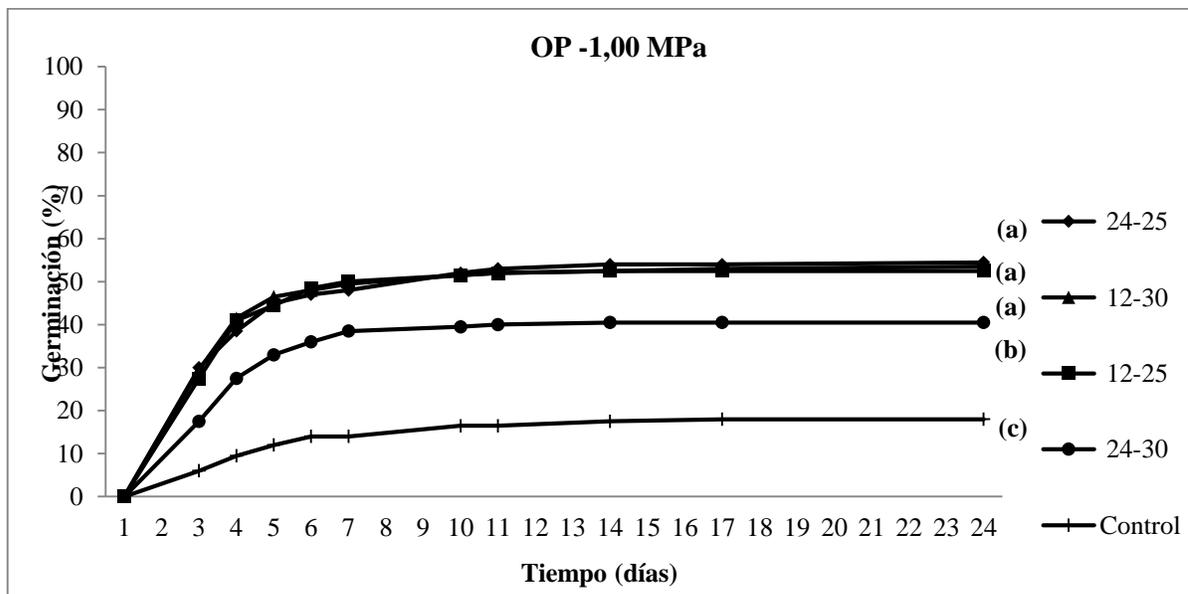
Figura 16. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con PEG 6000, OP -0,50 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



*Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

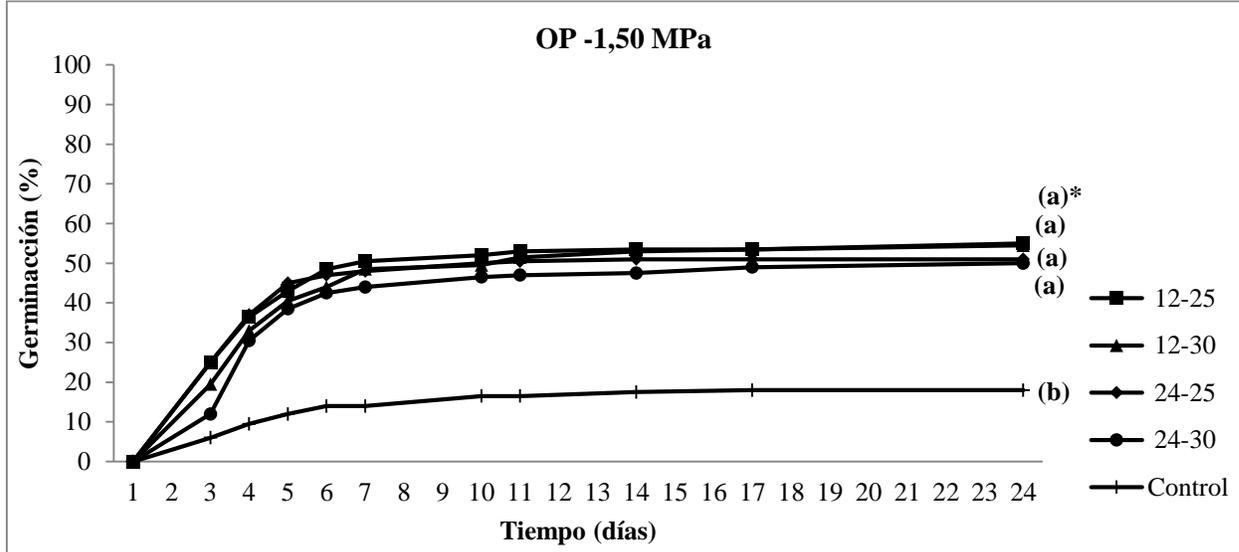
En cambio, a medida que se redujo el potencial osmótico del medio de acondicionamiento el PG máximo decayó y las combinaciones de tiempo y temperatura no difirieron entre sí (Figuras 17 y 18).

Figura 17. Porcentaje de germinación a lo largo del tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas PEG 6000, OP -1,00 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



*Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Figura 18. Porcentaje de germinación en el tiempo en semillas de mijo perenne acondicionadas con PEG 6000, OP -1,50 MPa, para las distintas combinaciones de tiempo y temperatura aplicadas.



* Letras distintas indican diferencias significativas con el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

Nuevamente se puede puntualizar que el efecto de la temperatura de 30 °C aplicada en el acondicionamiento fue menos beneficioso que cuando se realizó a 25°C, ya que al aumentar la permeabilidad de las membranas se pudo favorecer la pérdida de electrolitos con lo que se reduce el vigor de las semillas y ello se refleja en un menor poder germinativo, en especial cuando se prehidratan las semillas durante un día entero (tratamiento de 24 h).

2. 5. 3. Germinación acumulada parcial y total

Cuando las semillas tienen bajo poder germinativo (PG), como en el caso del mijo perenne, en condiciones ambientales normales son objeto del ataque de agentes patógenos y compiten deficientemente con las malezas en la ocupación de la superficie. Por ello es importante aumentar la velocidad de germinación de los lotes, además de su PG total, tal como han postulado distintos autores (Raj y Raj, 2019; Snap, 2017).

En este trabajo se comprobó que, partiendo de una baja germinación de origen (en el año 2015, ver 2.1), la aplicación del *priming* causaba que aproximadamente el 75% del PG máximo se obtuviera en 4 a 6 días de ensayo, mientras que en semillas no tratadas dicha proporción se alcanzaba alrededor de los 10 DDS (Figuras 11 a 18). Es decir que además de aumentar

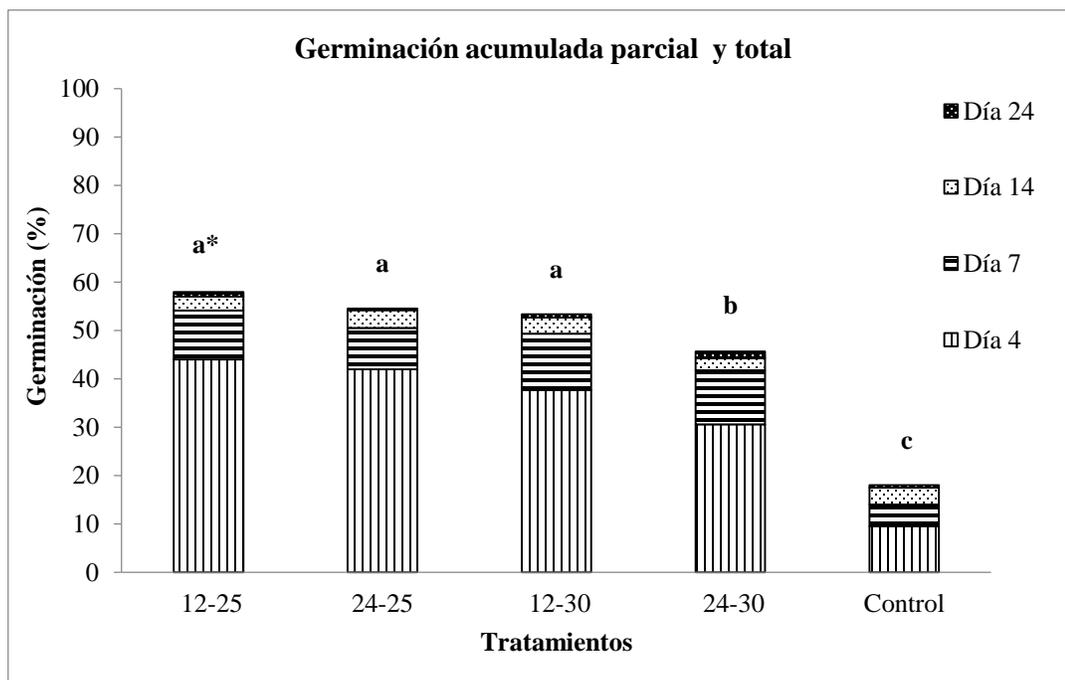
significativamente el PG del lote, se aumentó marcadamente la tasa o velocidad de germinación. Este aspecto será discutido en el próximo capítulo.

Algo similar encontraron Demir y Mavi (2004) en semillas de sandía, ya que sin *priming* la germinación ocurría 4 días más tarde que en las semillas acondicionadas.

Cuando se analizó el efecto de las distintas combinaciones sobre la germinación acumulada de todos los tratamientos, se comprobó que aquellos con *priming* lograron superar el PG del Control entre 3 y 4 veces en el primer conteo de germinación que fue a las 4 DDS (Figura 19).

Casi el 90% del PG máximo en semillas acondicionadas se obtuvo al finalizar la primera semana de ensayo. Además, se puso de manifiesto la disminución en el PG que causó la aplicación del *priming* a la mayor temperatura de 30 °C, en relación con el resultado obtenido a 25 °C, tanto cuando se aplicaron durante 12 como 24 h. En particular, todos los tratamientos realizados bajo la condición de 24 h a 30 °C tuvieron una respuesta significativamente menor a la de los otros tratamientos, con una energía germinativa (conteo al 4to día) también inferior.

Figura 19. Porcentaje de germinación acumulado parcial y total en los conteos correspondientes a los 4, 7, 14 y 28 DDS para las distintas combinaciones tiempo-temperatura, en promedio para todos los tratamientos de *priming* aplicados a semillas de mijo perenne.



*Letras distintas indican diferencias significativas según el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

2. 5. 4. Efecto del acondicionamiento en semillas de más de un año

Cuando se realizaron los ensayos durante el segundo año de trabajo (2016), con semillas cosechadas en 2014 y conservadas durante año en el laboratorio (luego de las primeras experiencias de *priming*), se comprobó que el PG del lote había aumentado significativamente, ya que pasó de 20,55 % a 51,50 %, es decir se registró un incremento absoluto de 30,95 % (Tablas 1 y 2). Dicho incremento en el PG pudo deberse a la superación de la dormición propia de las semillas de estas pasturas, que aún mantienen caracteres silvestres porque han tenido poco mejoramiento (Giordano *et al*, 2013, Tomás, 2020; Valdéz, 2020), y mostraron un menor grado de dormición luego de ser conservadas durante aproximadamente 2 años.

En el segundo año de trabajo se logró aumentar la germinación pero no de forma tan significativa como se había conseguido cuando se partió de un PG mucho menor (2015). De todos modos, se obtuvieron incrementos de hasta 33 puntos porcentuales. Los resultados de los tratamientos aplicados en 2016, con las variantes de tiempo y temperatura en las que se los combinó, tanto en 1 como en 2 ciclos de *priming*, se presentan en la Tabla 6.

Si bien varios de los acondicionamientos tuvieron un efecto importante para aumentar el PG de las semillas, aunque no todos tuvieron un efecto positivo de hecho, algunos tratamientos redujeron la germinación respecto del Control, aunque en forma estadísticamente no significativa.

El *hidropriming* (HP) provocó aumentos de 10 a 15 puntos porcentuales respecto del Control, que no resultaron de significación estadística, excepto para la combinación de 12 h a 30°C. Este tipo de acondicionamiento, cuando fue aplicado con combinación de 12 h a 25 °C en ensayos del año previo había resultado altamente efectivo (semillas más nuevas), sin embargo, en las semillas de más edad no tuvo la misma respuesta en el incremento del PG.

Al igual que en 2015, el acondicionamiento mátrico fue el que resultó más eficiente para aumentar el PG de las semillas de mijo perenne, siendo el tratamiento con papel de filtrado rápido (MP rápido) el que causó el mayor incremento, alcanzando un PG de 83,5%, o sea 32 puntos porcentuales mayor que el Control. Dicho tratamiento permitió obtener los porcentajes de germinación más altos cuando se llevó a cabo bajo la condición de 25°C, independientemente del tiempo de hidratación.

El *osmopriming* en general, tuvo resultados variables. La presencia de CaCl₂ en el medio y las soluciones más diluidas de PEG 6000 favorecieron el acondicionamiento. El OP CaCl₂ fue efectivo, y al igual que en 2015 resultó tratamiento con el que se alcanzó un PG, aproximadamente del 67% en promedio, con un valor máximo de 70%. (en realidad 70,08%)

Para los ensayos del segundo año, el osmocondicionamiento realizado con el uso de PEG 6000 con potenciales altos nuevamente mostró una mejor performance que cuando se usaron altas concentraciones del soluto, aunque su efecto no resultó de significación estadística. Por eso se testeó el efecto de una solución más diluida de PEG 6000, con un potencial osmótico de -0,25 MPa, que no se había probado en los ensayos de *priming* del año previo. Dicho tratamiento fue el de mejor performance, incluso cuando se aplicó a 25 °C (tanto para 12 como para 24 h) no tuvo diferencias estadísticas con otros tratamientos que permitieron obtener los mayores PG, arrojando valores de PG superiores al 70 %. Los tratamientos con menores potenciales osmóticos (-1,00 y -1,50 MPa) no incrementaron tanto el PG como las mayores presiones, y en general no difirieron estadísticamente del Control, excepto para algunas combinaciones.

Tabla 6. Efecto de distintos métodos de *priming* en el porcentaje de germinación en semillas de mijo perenne cosecha 2014, para diferentes combinaciones de tiempo y temperatura, aplicado en un único ciclo en el año 2016

TRATAMIENTOS	Tiempos - Temperaturas			
	12 h - 25°C	12 h - 30°C	24 h - 25°C	24 h - 30°C
Control	51,50 ij			
HP	61,51 defghi	68,12 bcdefg	62,02 defghi	53,16 hij
MP rápido	83,56 a	68,52 bcdefgh	78,00 ab	51,02 ij
MP medio	74,17 abcd	60,22 efghi	74,32 abcd	63,50 cdefghi
MP lento	76,00 abc	71,53 abcdef	72,06 abcde	51,51 ij
OP -CaCl ₂	70,08 bcdefg	67,46 bcdefg	69,51 bcdefg	60,52 efghi
OP -0,25	72,25 abcdef	68,11 bcdefg	71,20 abcde	64,04 cdefg
OP -0,50	69,66 bcdefg	66,73 bcdefg	68,83 bcdefg	61,40 efghi
OP -1,00	58,54 fghi	62,57 defghi	50,97 ij	41,78 j
OP -1,50	55,32 ghi	65,52 bcdefgh	65,23 bcdefgh	63,50 cdefghi

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas según el test LSD Fisher ($p > 0,05$).

La mayoría de los tratamientos de *priming* tuvieron un efecto positivo menor cuando fueron realizados a 30 °C y durante 24 h, por las mismas razones que se explicaron precedentemente, en

relación al efecto del lixiviado de solutos que causan las mayores temperaturas durante períodos prolongados.

Los resultados obtenidos con el MP rápido y el OP a -0,25 MPa demostrarían que las semillas sin dormición responden mejor al ingreso de agua más rápido que las más nuevas, es decir que la pérdida de dormición también estaría asociada a una mayor tolerancia a la reorganización de las estructuras seminales en semillas más viejas. Varios autores han citado al acondicionamiento mátrico (MP) y osmótico con soluciones diluidas como los más efectivos para diferentes especies (Khan, 1991; Trigo *et al*, 1999; Tarquis, 1990; Qadir *et al*, 2011; Nimesha *et al*, 2016; Raj y Raj, 2019).

Cuando se aplicaron dos ciclos consecutivos de *priming* a las semillas más maduras, se pudo observar que varios de los tratamientos no generaban incrementos significativos en el PG, y que incluso el doble *priming* no ofrecía beneficios en la germinación respecto del ciclo simple. Para facilitar la comparación, en la Tabla 7 se presentan los PG obtenidos con un solo ciclo de acondicionamiento (que se habían presentado en la Tabla 6) comparados con los correspondientes a dos ciclos.

En relación al efecto de los distintos acondicionamientos aplicados en dos ciclos se observó que:

- **Hidropriming** (HP) generó aumentos en el PG en las varias combinaciones, aunque la mayoría no difirió estadísticamente del Control. Por otro lado, el doble *priming* no incrementó el PG más de lo que se consiguió con 1 solo ciclo, por lo cual una segunda hidratación de las semillas no resultó conveniente, incluso se observó una tendencia a reducir el PG al aplicarlo 2 veces.
- **Matrimpriming** (MP) fue un tratamiento efectivo en sus distintas formas (rápido, medio y lento), excepto cuando se aplicó durante 24 h a 30 °C, ya que todas las variantes de este acondicionamiento bajo dicha condición no difirieron del PG de las semillas testigo. El MP rápido fue con el que se obtuvo el mayor aumento de PG (mayor al 83%; 32 puntos porcentuales más alto que el Control) cuando se realizó durante 12 h a 25 °C. También cuando se aplicó durante 24 h a 25 °C causó un aumento importante de la germinación (PG:78%). La duplicación del tratamiento también mostró leves reducciones, que no tuvieron significación estadística. El tratamiento de MP medio también arrojó mejores resultados con un ciclo que con dos, aunque en general los PG que se obtuvieron con este acondicionamiento fueron inferiores a los que se consiguieron con MP rápido. Contrariamente a los tratamientos mátricos anteriores, la doble aplicación de MP lento fue mejor cuando realizó a 25°C para aumentar el PG respecto del Control, con el que se

obtuvieron porcentajes superiores al 70%. *Matrimpriming* resultó efectivo porque pudo haber facilitado la oxigenación de las semillas durante la hidratación, respecto de la inmersión que causan otros tratamientos como el *hidropriming* y el *osmopriming*, en los que no se emplean soportes sólidos (Parera y Cantliffe, 1991; Raj y Raj, 2019; Taylor *et al*, 1988).

- El doble acondicionamiento mediante ***osmopriming con CaCl₂ (OP CaCl₂)*** causó incrementos cercanos y mayores a 20 puntos porcentuales en el PG respecto del Control, ya que varias de las combinaciones aplicadas con este soluto superaron el 70% de PG, excepto cuando se aplicó durante 24 h a 30 °C. Fue el único tratamiento que con el doble ciclo causó mejores resultados (2 a 10% mayor) que con 1 único ciclo de acondicionamiento.
- El *osmopriming* con PEG 6000, que generó beneficios germinativos con el mayor potencial osmótico (**OP -0,25 MPa**), vio reducido el incremento del PG cuando se aplicó por segunda vez. Al probar el efecto de presiones más bajas (**OP -0,50, OP -1,00 y OP -1,50 MPa**) no se observó una respuesta consistente. En general se puede decir que dichos tratamientos mostraron una tendencia a reducir el PG respecto del Control en algunas de las combinaciones, aunque no de forma significativa tanto con uno como con dos ciclos de acondicionamiento. De todas maneras, el *osmopriming* con PEG 6000 en soluciones más diluidas mejoró levemente el PG respecto de lo que provocó el *hidropriming*, en especial cuando se realizó a 25°C, indicando algún beneficio de la aplicación del soluto.

Se han reportado resultados similares en semillas de tomate, pimiento, cebada, trigo, sandía para las que los tratamientos de *osmopriming* eran más efectivos cuando se aplicaban con soluciones de potenciales osmóticos no excesivamente bajos (Al-Karaki, 1998; Sánchez *et al*, 1999; Farooq *et al*, 2005). Soluciones más diluidas de PEG simularían la imbibición que ocurre en condiciones edáficas normales, cuando las semillas alcanzan un cierto contenido de humedad antes de comenzar a germinar, situación en la que el oxígeno ingresa disuelto en el agua y difunde por los tejidos seminales permitiendo la respiración aeróbica (Ogawa *et al*, 2016). El PEG 6000 al ser un polímero de alta viscosidad podría dificultar la oxigenación y eso podría ser uno de los efectos que causan los bajos valores de PG registrados cuando se aplican al medio soluciones de alta concentración. En el caso de las semillas de *Panicum coloratum* esta situación podría ser más severa debido al pequeño tamaño de las semillas.

Tabla 7. Efecto de distintos métodos de *priming* en el porcentaje de germinación en semillas de mijo perenne para diferentes combinaciones de tiempo y temperatura, **aplicados en 1 y 2 ciclos.**

TRATAMIENTOS	12 h - 25°C	12 h - 30°C	24 h - 25°C	24 h - 30°C
Control	51,50 ij*			
HP	61,51 defghi	68,12 bcdefg	62,02 defghi	53,00 hij
2 HP	56,11 ghi	66,10 bcdefgh	61,12 defghi	53, 16 hij
MP rápido	83,56 a	68,52 bcdefgh	78,00 ab	51,02 ij
2 MP rápido	80,02 ab	66,11 bcdefgh	71,26 abcdef	54,20 hij
MP medio	74,17 abcd	60,22 efghi	74,32 abcd	63,50 cdefghi
2 MP medio	62,55 cdefghi	61,8 cdefghi	66,56 bcdefg	55,55 ghi
MP lento	76,00 abc	71,53 abcdef	72,06 abcde	51,51 ij
2 MP lento	78,12 abc	54,71 hij	74,06 abcd	62,00 efghi
OP –CaCl ₂	70,08 bcdefg	67,46 bcdefg	69,51 bcdefg	60,52 efghi
2 OP –CaCl ₂	77,57 abc	74,15 abcd	71,51 abcdef	70,06 bcdefg
OP -0,25	72,25 abcdef	68,11 bcdefg	71,20 abcde	64,04 cdefg
2 OP -0,25	70,11 bcdefg	61,80 defghi	67,86 bcdefg	59,14 defghi
OP -0,50	69,66 bcdefg	66,73 defghi	68,83 bcdefg	61,40 efghi
2 OP -0,50	62,60 efghi	62,12 efghi	61,70 efghi	60,02 efghi
OP -1,00	58,54 fghi	62,57 defghi	50,97 ij	41,78 j
2 OP -1,00	54,05 ghi	60,00 efghi	51,21 ij	50,66 ij
OP -1,50	55,32 ghi	65,20 bcdefgh	65,23 bcdefgh	63,50 cdefghi
2 OP -1,50	56,18 ghi	65,52 bcdefgh	62,00 efghi	63,03 cdefghi

*Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas según el test LSD Fisher ($p > 0,05$)

Los resultados presentados (Tabla 7), correspondientes a semillas de aproximadamente 2 años de antigüedad, son similares a los encontrados en diversas publicaciones en las que se ha reportado que la edad de las semillas influye seriamente en la efectividad del acondicionamiento (Oluoch y Welbaum, 1996; Bradford, *et al*, 1990). La razón de que semillas

frescas, con bajo poder germinativo, respondan en mayor medida puede deberse a que el *priming* no sólo favorece la activación de los mecanismos germinativos y reparadores de membranas, sino que además involucra procesos relacionados con la maduración fisiológica de las semillas (Bray, 1995; Chojnowski *et al*, 1997, Valdéz, 2020).

Además de la dormición típica de estas forrajeras, otros rasgos asociados a su bajo grado de domesticación que caracteriza a las especies megatérmicas, es su elevada dehiscencia y la maduración “asincrónica” de las semillas en las panojas. Esta última característica se manifiesta en los lotes de semillas con una gran variabilidad y/o lentitud al germinar por el desigual grado de madurez de las semillas. El *priming* permitiría completar fuera de la planta madre los procesos madurativos que algunas semillas no hubieran concluido a causa su dehiscencia desapareja (Moore, 1995; Murphy y Lusk, 1961; Valdéz, 2020).

Dado que en el lapso durante el cual ocurre el acondicionamiento de las semillas, tanto tengan dormición o no, se reactivan muchos procesos metabólicos (Figura 3), no es de extrañar que variaciones en el tiempo, temperatura, ritmo de entrada de agua y oxígeno se vean traducidas en diferentes valores de PG. Así por ejemplo la actividad de las enzimas es dependiente de la temperatura, y las distintas enzimas tienen temperaturas óptimas diferentes, lo que podría causar que los tratamientos ensayados hayan causado resultados diferentes. Lo mismo podría argumentarse en relación a los efectos el agua y del oxígeno, asociados a las temperaturas aplicadas. Esto podría justificar que algunos tratamientos den resultados que no tengan relación entre sí, o al menos que no sean los predecibles. Sin embargo, independientemente del resultado obtenido con cada tipo de acondicionamiento, todos los métodos ensayados superaron al testigo, al menos en semillas nuevas. En el caso de aquellos tratamientos que no resultaron tan efectivos sobre la germinación, igualmente podrían resultar beneficiosos para “invigorizar” las semillas, y dicha respuesta podría verse reflejada en el desarrollo de las plántulas y en la tolerancia de éstas a factores ambientales limitantes, aspectos que se analizarán en el próximo capítulo.

En base a los resultados expuestos precedentemente se acepta la hipótesis propuesta (pág. 53) en la que se postuló que las semillas acondicionadas mediante la técnica de *priming* tienen una performance superior durante la germinación.

CAPÍTULO 3.

**Efecto del acondicionamiento de semillas
de mijo perenne en la tolerancia
al déficit de agua y a la salinidad
durante la germinación e implantación**

3. 1. Introducción

3. 1. 1. Efecto de la deficiencia de agua y salinidad en *P. coloratum*

Durante las últimas décadas el corrimiento de la frontera agrícola hacia el sur y al oeste de la provincia de Buenos Aires desplazó a la ganadería hacia una zona con suelos menos productivos y con alto riesgo de sufrir eventos climáticos desfavorables, como temperaturas extremas, fuertes vientos y escasas precipitaciones (De León, 2004, Silenzi *et al*, 2011). Dentro de esa parte de la provincia se encuentra el Sudoeste Bonaerense (SOB), con clima semiárido caracterizado por sus escasas precipitaciones y vastas áreas con problemas de salinidad. La escasez de lluvias no aporta suficiente agua para barrer las sales alrededor de las raíces o también puede ser a causa del escaso drenaje de suelos con capa freática elevada (Galantini *et al*, 2006).

La productividad de las pasturas, que sostienen la actividad ganadera extensiva del SOB, depende de la combinación de condiciones ambientales, en especial la disponibilidad de agua y la temperatura, asociadas a las condiciones del suelo, como fertilidad y salinidad (Ruiz y Terenti, 2012). Esto ha impulsado la búsqueda de especies forrajeras tolerantes a condiciones climáticas y edáficas desfavorables, ya que es un problema asociado al desplazamiento de la actividad ganadera, por lo que la investigación del efecto de las limitantes ambientales sobre la productividad de especies forrajeras es clave para lograr incrementos de la productividad en los sistemas en la región semiárida (Bazzigalupi *et al*, 2008).

Entre los factores abióticos, el estrés por déficit hídrico es considerado uno de los más relevantes, tanto desde una perspectiva ecológica como agronómica y el más determinante en la producción de los cultivos, ya que la disponibilidad de agua es la que muestra la mayor correlación con el rendimiento (Blum, 2009). La sequía es un período prolongado con precipitaciones inferiores a las normales, y por ende las plantas sufren a causa del déficit hídrico, que se desarrolla cuando la pérdida de agua por evapotranspiración excede a la absorción por las raíces (Farooq *et al*, 2012). La sequía altera las relaciones hídricas y reduce la eficiencia del uso del agua en las plantas, lo que afecta procesos fisiológicos tales como apertura

estomática, fotosíntesis y principalmente el crecimiento, aún con descensos no demasiado severos (Hsiao, 1973; Blum, 2009).

Los efectos producidos por el déficit hídrico dependen de la intensidad y duración del mismo, y de la capacidad de las plantas para tolerarlo (Hsiao, 1973). Una sequía severa provoca daños en las membranas y reducción en la actividad enzimática, especialmente de las ATPasas. Si el estrés persiste, en primer lugar, se produce una disminución del crecimiento de las hojas y del tallo producto de la pérdida de turgencia celular, con signos de marchitamiento y clorosis. Los principales efectos del estrés hídrico sobre el crecimiento se manifiestan a través de una reducción en la altura de la planta, área foliar, peso foliar específico y biomasa de la planta (Farooq *et al*, 2012; Mishra Vija y Singh, 2010). Del mismo modo, la longitud de las raíces puede verse reducida por el déficit de agua aunque en algunas especies la deficiencia de agua puede estimular su crecimiento (Golberg *et al*, 2011). Asimismo, la eficiencia de uso de agua en la productividad (EUAp) también puede verse alterada debido a los cambios en la biomasa total y en la evapotranspiración (Turner, 1986).

La relación entre la productividad y el déficit hídrico se debe a que la tasa de fotosíntesis se reduce a causa del cierre de los estomas, para evitar la pérdida de agua por transpiración. Sin embargo, las plantas pueden desarrollar una variedad de mecanismos morfológicos y fisiológicos que les permiten tolerar la falta de agua (Farooq *et al*, 2012; Turner, 1996).

Por otro lado, el exceso de sales edáficas es uno de los factores limitantes más comunes de la productividad de los cultivos, ya que los suelos salinos constituyen un problema creciente a nivel mundial, con más de 800 millones de hectáreas afectadas por salinidad, lo que representa más del 6% del área total de la superficie terrestre (Golberg *et al*, 2011). La sal más común en los suelos es el cloruro de sodio (Salomón y Samudio, 2015; Ungar, 1978). En Sudamérica aproximadamente 129 millones de hectáreas son consideradas salinas (Szalbolcs, 1991). Según FAO-UNESCO, Argentina es el tercer país con mayor superficie de suelos afectados por sales en el mundo, después de Rusia y Australia (Golberg *et al*, 2011). Por tal motivo, la investigación de los aspectos relacionados con la tolerancia al estrés salino es un importante desafío para la agricultura sostenible.

La salinidad causa una respuesta en la que está implicado un componente iónico y otro osmótico, y muchos de los iones salinos son tóxicos para las células vegetales cuando se presentan en altas concentraciones externas e internas (Bradford, 1995).

El agua es el recurso fundamental desde el inicio del desarrollo de una planta, ya que permite la germinación y supervivencia de las plántulas en el campo, etapa crítica para la implantación de los cultivos forrajeros con lento crecimiento inicial (Khan, 1991; Salomón y Samudio, 2015). El ingreso de agua a la semilla permite desencadenar todos los procesos metabólicos en la fase II (Ver Figura 3 del Capítulo 2) que preparan al embrión para la germinación (Bewley, 2001; Bewley y Black, 1994).

La deficiencia de agua durante la germinación, causada por un bajo potencial hídrico del suelo, conlleva un descenso tanto en el porcentaje como en la tasa de germinación (Gorai y Neffati, 2007; Marañón *et al*, 1989; Ungar, 1995). La salinidad en el medio también causa un descenso en el potencial agua, ya que disminuye el componente osmótico del mismo, pero si los solutos que ingresan durante la imbibición y se acumulan en los tejidos embrionarios causan un efecto tóxico al interferir con los procesos metabólicos y alterar la homeostasis celular (Camejo y Torres, 2000; El-Keblawy, 2004). El cloruro de sodio, soluto de mayor presencia en suelos, causa un efecto combinado, es decir osmótico y tóxico (Khan y Rizvi, 1994; Khan *et al*, 2006).

Las especies forrajeras tienen semillas pequeñas, con escasas reservas y bajo vigor, por lo que su crecimiento inicial es lento y el establecimiento de las plántulas es muy dificultoso (Ruiz y Terenti, 2012). Si además la germinación y la implantación ocurren bajo condiciones adversas del medio, como déficit de agua y salinidad, dichos procesos se ven aún más perjudicados (Bazzigalupi *et al*, 2008). El incremento de la salinidad genera reducción de la germinación en las plantas glicófitas y afecta en menor grado a las halófitas; incluso puede aumentar el grado de dormición (secundaria) de las semillas demorando aún más la germinación (Ruiz y Parera, 2013).

3. 1. 2. Efecto del acondicionamiento sobre la tolerancia al déficit de agua y la salinidad durante la germinación y la implantación de *P. coloratum*

Uno de los problemas que se deberá enfrentar en un futuro no muy lejano es garantizar la seguridad alimentaria de la creciente población mundial, que dependerá de nuestras limitadas tierras cultivables y de la capacidad productiva de los cultivos extensivos. Por ello la investigación está poniendo sus esfuerzos en aumentar el rendimiento con los recursos existentes. En este contexto, el acondicionamiento de semillas puede considerarse una herramienta prometedora, eficiente y de bajo costo, que permite aumentar la germinación, el crecimiento y la capacidad productiva de los cultivos, así como su tolerancia a condiciones desfavorables sobre todo en etapas tempranas del desarrollo de los cultivos (Sánchez *et al*, 2001; Sher *et al*, 2019).

Las ventajas del acondicionamiento es que la germinación resulta más uniforme al aumentar el vigor, con el consecuente incremento de la velocidad de germinación e implantación. Una emergencia más uniforme optimiza la eficiencia de cosecha que permite expresar el potencial del cultivo aún en ambientes limitantes (Raj y Raj, 2019)

El estrés causado por sequía y salinidad es responsable tanto de la inhibición como del retardo en la germinación y en el establecimiento de la plántula (Abdel-Ghani, 2009, Guan *et al*, 2009; Moosavi *et al*, 2009) y se ha demostrado que el acondicionamiento de las semillas mejora su performance durante la germinación y emergencia aún bajo condiciones limitantes (Farooq *et al*, 2008; Khajeh-Hosseini *et al*, 2003; Parera y Cantliffe, 1994; Raj y Raj, 2019).

Desde hace varias décadas, se ha reportado el beneficio del acondicionamiento de semillas en la germinación y la emergencia de distintas especies, particularmente en semillas de hortalizas y pasturas (Bradford, 1986; Heydecker y Coolbear, 1977), así como en cultivos extensivos como trigo, girasol, maíz, soja y remolacha azucarera (Khajeh-Hosseini *et al*, 2003; Parera y Cantliffe, 1994; Sadeghian y Yavari, 2004; Singh, 1995). Como se ha explicado extensamente en el capítulo anterior, el acondicionamiento de semillas, definido como una hidratación parcial y controlada y un posterior secado (Chen y Arora, 2013), permite reorganizar los componentes y estructuras embrionales, por lo cual la semilla se encuentra “mejor preparada” para germinar (Ingram y Bartels, 1996; Raj y Raj, 2019).

El *hidropriming* es una técnica aconsejada por muchos autores dado que es económico, fácil de aplicar y sus beneficios se reflejan en un aumento en el porcentaje y en la tasa de germinación, en el vigor de las plántulas y su supervivencia a campo, aunque el abrupto ingreso de agua que causa este tipo de acondicionamiento puede dañar a algunas semillas (Caseiro *et al*, 2004; Ibrahim, 2016; Kaya *et al*, 2006; Khalid *et al*, 2019; Sadeghian y Yavari, 2004;).

El acondicionamiento osmótico u *osmopriming*, puede aplicarse tanto con soluciones cuyos solutos no pueden ingresar a las células, como el polietilenglicol (PEG) de peso molecular mayor de 4000 Dalton (Singh *et al*, 1995; Balestrazzi *et al*, 2011), o con soluciones salinas de cloruro de sodio, nitrato de potasio, cloruro de calcio, etc. (Amjad *et al*, 2007; Moosavi *et al*, 2009; Raj y Raj, 2019). La utilización de sales osmóticamente activas ha demostrado mejorar el crecimiento y el índice de vigor en plántulas que crecen en ambiente bajo estrés salino (Singh y Rao, 1993; Rehman *et al*, 2015). Los inconvenientes del hidro y del *osmopriming* es que necesitan aireación del medio donde se sumergen las semillas si se aplican períodos prolongados (por ejemplo, mayores a 24 hs). El *osmopriming* además requiere un frecuente recambio de la solución y posterior enjuagado de las semillas (Taylor *et al*, 1988), asociado al elevado costo de los solutos empleados (Raj y Raj, 2019).

El acondicionamiento con el uso de soportes sólidos, denominado *matripriming* o *priming* con soportes mátricos (*solid matrix priming*), es una alternativa que disminuye los costos del *osmpriming* y evita la necesidad de aireación en el medio de acondicionamiento (Papparella *et al*, 2015). El soporte sólido permite que las semillas se hidraten moderadamente, y se ha considerado la técnica de acondicionamiento que actúa de modo más parecido al suelo durante la imbibición de las semillas (Raj y Raj, 2019). Tal vez por esto es que distintos autores mencionan la mayor efectividad del acondicionamiento mátrico en comparación con otros métodos de preparación de semillas (Basra *et al*, 2003; Bradford, 1995; Hardegree y Emmerich, 1992; Nouman *et al*, 2012a; Raj y Raj, 2019, Sher *et al*, 2019; Taylor *et al*, 1988).

Esta es la razón por la que algunas técnicas de acondicionamiento de semillas se aplican limitando el ingreso de agua, mediante diferentes estrategias, ya que una entrada lenta y progresiva permite el acomodamiento gradual de las macromoléculas estructurales y funcionales necesarias para la puesta en marcha de los procesos germinativos. Sin embargo, a

veces dichas estrategias suelen resultar restrictivas y constituyen condiciones estresantes durante la imbibición. Las condiciones del acondicionamiento pueden ser similares a las de una germinación en condiciones normales, sin embargo, en algún momento del proceso de *priming* se frena la cascada de eventos germinativos, antes de finalizar la fase II (Figura 3 del Capítulo 2), por lo que este tratamiento puede ser considerado como una situación o estrategia de estrés para la semilla (Chen y Arora, 2013).

Esos antecedentes de haber sufrido algún tipo de estrés durante el acondicionamiento generan en las semillas un antecedente que ha sido definido como un cierta “*capacidad de memoria*” por parte de la semilla. Claro que estos mecanismos de memoria nada tienen que ver con los que están presentes en los seres humanos o aún los animales, sino que se relacionan con modificaciones en procesos fisiológicos o mecanismos moleculares, causando alteraciones en metabolitos de señalización o factores de transcripción que estarían asociados a respuestas a diversas tensiones (Bruce *et al*, 2007).

Chen y Arora (2013) postularon que los mecanismos celulares que involucra la exposición al *priming* y que se relacionan con mejoras en la germinación y en la tolerancia al estrés aún no están totalmente dilucidados. Sin embargo, consideraron al *priming* como una experiencia temprana frente al estrés que prepara a la semilla para tolerar condiciones desfavorables cuando se reanuda la actividad metabólica. Estos autores también definen el concepto de “*tolerancia cruzada*” o asociada (*cross-tolerance*) ya que aumenta la tolerancia al factor aplicado y a otro/s diferentes. Así por ejemplo el *priming* de las semillas de caña de azúcar con soluciones de cloruro de sodio mejoró la tolerancia de las plántulas a la salinidad pero también a altas temperaturas. Sobre la base de esos resultados propusieron que los dos procesos sobre los que tiene mayor efecto el acondicionamiento, como son la mejora en la germinación y la exposición temprana al estrés, otorgan a las semillas una mejor performance general que no se elimina aún cuando se las vuelve a secar hasta su contenido de humedad original.

Ibrahim (2016), propuso que el estrés salino durante el acondicionamiento fue un método de mejora de la performance de semillas que también aumentó la tolerancia a distintas condiciones de estrés en distintas especies. Las semillas podrían desarrollar diferentes mecanismos de respuesta, como el sistema de defensa antioxidante y el ajuste osmótico. Estos

mecanismos conforman lo que se describió anteriormente como “memoria de *priming*”, que permite que las semillas se vean menos afectadas por diversos factores de estrés, y aunque se han dilucidado algunas vías de respuesta relacionadas con el *priming* aún falta investigar mucho más para obtener una adecuada germinación en numerosas especies afectadas por condiciones sub o supraóptimas durante las etapas iniciales del desarrollo. Este autor puntualiza que los esfuerzos deben orientarse a esclarecer los cambios moleculares, fisiológicos, metabólicos y genéticos inducidos por agentes primarios de estrés en la semilla.

Si bien los agentes químicos empleados en el acondicionamiento pueden causar un estrés osmótico o toxicidad que dejen algún tipo de señalización o alerta posterior, el *hidropriming* también ha sido mencionado como un tratamiento estresante para las semillas, ya que se ha demostrado que una rápida imbibición se asocia a un mayor estrés oxidativo por elevar en forma significativa las especies reactivas al oxígeno (Bailly, 2004; Bailly *et al*, 2008).

Se ha citado que la influencia del acondicionamiento osmótico en la tolerancia a estreses abióticos podría deberse a que este tratamiento provoca aumento de la concentración de proteínas, de aminoácidos libres y de azúcares solubles, y también porque estimula la síntesis o reactivación de enzimas como fosfatasa ácida, fitasa, nitrato reductasa, así como la acumulación de prolina, de giberelinas, de antioxidantes protectores de las membranas, todas sustancias necesarias y beneficiosas para la germinación y el desarrollo de la plántula (Ibrahim, 2016). Un efecto similar al del *osmopriming* también fue observado cuando se realizó el acondicionamiento en presencia de melatonina (Dawood y El-Awadi, 2015), ácido ascórbico (Fazlali *et al*, 2013), giberelinas (Hela *et al*, 2012), glutatión (Chen *et al*, 1999) y colina (Salama y Mansour, 2015), y extractos foliares (Nouman *et al*, 2012 b, c, d).

La exposición al acondicionamiento y a los agentes empleados para tal fin podrían causar la activación de genes, pero en lugar de volver al estado transcripcional inactivo una vez que finaliza el proceso, dichos genes podrían actuar dejando una marca epigenética, manteniendo la región del genoma en un estado 'permissivo' y dando respuestas posteriores más potentes. Este principio de “*huella de estrés*” (“*stress imprint*”) se ha utilizado en plantas a fin de aumentar la respuesta defensiva a patógenos (Baldwin y Schmelz, 1996), al estrés hídrico (Goh *et al*, 2003), así como en la concentración de iones calcio que actúan como segundos mensajeros

(Knight *et al*, 1998). Sin embargo, aún no es claro el mecanismo por el cual las plantas almacenan la información cuando son expuestas a distintos tipos de estrés biótico o abiótico (Bruce *et al*, 2007).

Este mismo principio se aplica una vez que las semillas reasumen la actividad metabólica, luego de ser acondicionadas. Si durante el *priming* se expone a la semilla a solutos para reducir el potencial osmótico del medio, los tejidos sometidos a la presencia de dichas sales desarrollan una mayor tolerancia a la presencia de tales sustancias o a fenómenos osmóticos causados por ellas (Shao *et al*, 2006). Pero además el acondicionamiento de las semillas también resulta efectivo para tolerar otro tipo de estreses ambientales, como la baja temperatura, lo que indica que las vías metabólicas por las que se consigue la tolerancia a condiciones desfavorables durante las primeras etapas del desarrollo no son únicas ni claras (Blunk *et al*, 2019; Hardegree, 1996; Iqbal *et al*, 2006; Yan, 2015).

El desarrollo de la plántula es una de las etapas más sensibles del desarrollo (Rouhi *et al*, 2011), y en particular la deficiencia hídrica y la salinidad afectan la absorción de agua necesaria para el aumento de la turgencia celular que produce el crecimiento (Bewley *et al*, 2013). Dicho crecimiento se puede evaluar en base a parámetros tales como la longitud radicular, la altura, el peso fresco y seco, o bien pueden calcularse índices de eficiencia de implantación, de velocidad de crecimiento, vigor, etc. (Eskandari, 2012; Raj y Raj, 2019; Rouhi *et al*, 2011), en el porcentaje de plántulas anormales o e mortandad de plántulas (Kaya *et al*, 2006). Los factores ambientales estresantes durante la implantación son mejor tolerados por aquellas semillas acondicionadas previamente a su germinación (Raj y Raj, 2019; Sánchez-Rendón y Muñoz García, 2002). El *priming* asegura la uniformidad de la germinación y la eficiencia durante la implantación del cultivo, lo que incrementa su rendimiento potencial desde las etapas iniciales del crecimiento (Rehman *et al*, 2015; Rouhi *et al*, 2011; Raj y Raj, 2019).

En este capítulo se aborda el efecto del acondicionamiento de semillas de mijo perenne sobre la germinación y la implantación bajo condiciones limitantes de disponibilidad de agua y salinidad, enfocando en especial aspectos sobre el crecimiento que permitan comparar el beneficio del acondicionamiento en esas etapas tempranas del desarrollo.

3.2. Hipótesis

Dado que el acondicionamiento activa mecanismos que crean una memoria de estrés, cuando las semillas son expuestas a condiciones desfavorables (estrés) están en mejores condiciones para tolerarlas. Por ello, las plantas de mijo perenne originadas de semillas previamente acondicionadas logran un mayor crecimiento y tienen una mejor tolerancia a la deficiencia hídrica y a la salinidad durante la germinación y la implantación.

3.3. Objetivos

- Determinar si el acondicionamiento de semillas de mijo perenne otorga una mayor tolerancia a la deficiencia hídrica y salinidad durante la germinación y la implantación.
- Evaluar parámetros de crecimiento en plántulas y en plantas de mijo perenne, hasta el estado de 4-5 hojas, sometidas a deficiencia hídrica y a salinidad durante la germinación e implantación.

3. 4. Materiales y Métodos

Se realizaron ensayos de germinación durante 2015 y 2016 y de implantación en 2016 utilizando el mismo lote de semillas de *Panicum coloratum* var. *coloratum* cv. Verde (Agroempresa S.A., cosechadas en 2014), tal como se describió en el apartado de Materiales y Métodos del Capítulo 2.

3. 4. 1. Germinación

3. 4. 1. 1. Tipos de acondicionamiento aplicados

El efecto de distintos métodos de acondicionamiento sobre la performance de las plántulas durante la germinación e implantación, se analizó sobre aquellos tratamientos que permitieron obtener los porcentajes de germinación (PG) más altos. Estos fueron los tratamientos de *hidropriming* (HP) 12 h a 25 °C, *matripriming* rápido (MP rápido) 12 h a 25 °C y *osmopriming* con CaCl₂ (OP CaCl₂) durante 24 h a 25 °C (detallados en el Capítulo 2). En el caso del HP se lo seleccionó tanto por los resultados que arrojó su aplicación en el acondicionamiento como por su practicidad y economía, tal como se mencionó en la Introducción de esta sección. El Control consistió en semillas sin ningún tipo de acondicionamiento (SP).

3. 4. 1. 2. Germinación y desarrollo hasta plántula

Con el fin de evaluar la germinación y el desarrollo de las plántulas, originadas a partir de semillas sin y con *priming*, se realizó un ensayo de germinación en bandejas descartables de 30 x 20 cm (Figura 20). Se sembraron 50 semillas por bandeja, que se dispusieron en 5 líneas de 10 semillas para facilitar los conteos. Las bandejas se colocaron en bolsas plásticas cerradas a fin de mantener la humedad del medio. Se realizaron 4 repeticiones de cada tratamiento, que se ubicaron en una cámara de germinación con control de temperatura (30°C ± 2 diurna y 20°C ± 2 nocturna) y fotoperíodo (12 h). Las condiciones de germinación se fijaron según lo establecido en las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas (ISTA, 2016). Dentro de la cámara el diseño fue totalmente aleatorizado y las bandejas se rotaron de lugar después de efectuar los conteos.

Figura 20. Ensayo de germinación. A. Detalle de bandejas en la cámara. B. Bandeja sembrada con semillas de mijo perenne.



3. 4. 1. 3. Deficiencia de agua y salinidad

Para analizar el efecto de la deficiencia de agua sobre el desarrollo de las plántulas durante la germinación se agregaron soluciones de polietilenglicol 6000 (PEG 6000) a las bandejas, con el fin de establecer potenciales osmóticos de -0,25; -0,50; -0,75; -1,0 MPa y -1,5 MPa, que se prepararon de acuerdo a la fórmula de Michel y Kauffman (1973) y se ajustaron con un osmómetro VAPRO 5520 (Wescor, Inc.).

Para evaluar la respuesta a la salinidad sobre el crecimiento de las plántulas, se agregaron soluciones de cloruro de sodio (NaCl) al medio de germinación, que tenían diferentes conductividades eléctricas (3; 6; 9 y 12 dS m^{-1}), las que se determinaron con un conductímetro digital EC-CO Leitfähigkeit.

3. 4. 1. 4. Evaluaciones durante la germinación

Los conteos se realizaron en forma diaria durante un período de 14 días, las plántulas no se retiraron de las bandejas y su desarrollo se evaluó al finalizar el ensayo. Se determinó el PG final y la tasa del proceso. Para ello se calculó el tiempo medio de germinación (TMG) como un parámetro estimativo de la velocidad de germinación (Bradford *et al*, 1990, Mavi *et al*, 2010; Romero-Murcia, 2019), mediante la fórmula $[\text{TMG} = \sum ni \times ti / \sum nk]$, donde **ti** es el tiempo en días transcurrido para la germinación en el día **i**-ésimo, **ni** es el número de semillas germinadas en el **i**-ésimo día y **k** es la última germinación registrada (Tompsett y Pritchard, 1998). Con los mismos datos se calculó el T50, definido como el tiempo en el que el 50% de las semillas

germinaron, y considerado otro indicador de la tasa de germinación. El cálculo de este índice se realizó ingresando por las curvas de germinación a lo largo del tiempo realizadas a tal fin e ingresando por el 50% sobre el eje y, donde se representó el PG.

Al finalizar el ensayo, 14 días después de la siembra, se retiraron todas las plántulas y en 10 de ellas por bandeja, tomadas al azar, se midió la longitud aérea y radicular, su relación y se registró el peso seco, luego de secarlas durante 48 h en estufa a 60 °C. También se determinó el porcentaje de mortandad plántulas.

3. 4. 2. Implantación

Por otro lado, se realizó un **ensayo de implantación**, llevado a cabo en condiciones semicontroladas en invernáculo (Departamento de Agronomía, UNS, Bahía Blanca). Se emplearon recipientes de 600 ml de capacidad con suelo estéril de un horizonte A de la zona, seco y tamizado, para el que se determinó la capacidad de campo (Laboratorio de Análisis de Suelo, LANAIS, UNS-CONICET). Se sembraron 10 semillas en cada recipiente, tanto sin acondicionar (testigo) como semillas previamente sometidas a los tratamientos de *priming* seleccionados. Se realizaron 6 repeticiones por tratamiento y luego de la emergencia se dejaron dos plántulas por recipiente (Figura 21).

Figura 21. Ensayo de implantación. **A.** Detalle de las macetas de los distintos tratamientos de deficiencia de agua y salinidad. **B.** Recipientes con plantas de mijo al finalizar el ensayo de implantación



El ensayo se consideró finalizado cuando las plántulas tenían al menos cuatro hojas (Ries y Svejcar, 1991), luego de aproximadamente 24 días después de la siembra, realizada el 15 de octubre de 2015 y el 20 de octubre en 2016.

3. 4. 2. 1. Disponibilidad de agua y salinidad

Con el fin de evaluar la tolerancia de las plántulas de mijo perenne a condiciones limitantes se establecieron distintos niveles de disponibilidad de agua y de salinidad, aplicando riegos diferenciales. Los niveles de disponibilidad de agua se aplicaron agregando el agua necesaria para mantener el suelo del recipiente a capacidad de campo (CC), y dos niveles con menor disponibilidad hídrica, con la mitad (50%CC) y un cuarto (25%CC) del volumen necesario para llevar el suelo a capacidad de campo, respectivamente. Para aplicar los tratamientos de salinidad, otros recipientes fueron regados con soluciones de cloruro de sodio, cuyas conductividades eléctricas fueron 3; 6 y 9 dS m⁻¹; se aplicó el mismo volumen que en el tratamiento mantenido a capacidad de campo (Figura 22). Estos tratamientos han sido aplicados en otras investigaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo en la UNS (Achilli *et al*, 2017; Baioni *et al*, 2017b; Comezaña, 2014; Comezaña *et al*, 2017; Graff, 2019; Graff *et al*, 2017; Mengato, 2014; Mengato *et al*, 2015a, b, c, d; Orazi, 2014; Orazi *et al*, 2017a, b, c; Zuain, 2016).

Figura 22. Aplicación de riegos diferenciales de deficiencia de agua y salinidad en el ensayo de implantación en condiciones semicontroladas.



3. 4. 2. 2. Evaluaciones realizadas sobre las plantas

En cada tratamiento se registró el tiempo de inicio de la emergencia, y se llevó un registro diario de la aparición y supervivencia de plántulas. Al finalizar se extrajeron las plantas y se determinó el número de hojas (vivas y muertas), la longitud aérea y radical, el peso seco aéreo y radical y su relación. Además, se evaluó el contenido relativo de agua (CRA) y la estabilidad relativa de membranas celulares (ERM) en las plantas, así como la conductividad eléctrica (CE) y relación de absorción de sodio en el suelo.

Para evaluar el efecto de los tratamientos de riego se determinó el estado hídrico de las plantas mediante el contenido relativo de agua (CRA), que es un indicador del grado de saturación hídrica de los tejidos (Barrs y Weatherley, 1962). Se procedió cortando una lámina de la anteúltima hoja expandida, de 10 a 15 cm de longitud, de 4 plantas por tratamiento. Luego del corte, se tomó inmediatamente el peso fresco (PF) en una balanza analítica y luego se hidrató en agua destilada manteniendo los recipientes en oscuridad y en heladera, durante 24 hs, para obtener el peso turgente (PT) o a máxima turgencia del tejido. Posteriormente, las muestras se colocaron en sobres de papel y se secaron en estufa a 60 ± 5 °C hasta peso constante, luego de lo cual se determinó su peso seco (PS). El contenido relativo de agua de la hoja se calculó utilizando la fórmula:

$$\text{CRA} = [(\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS})] \times 100.$$

A fin de analizar el grado de daño causado por los tratamientos sobre los tejidos se evaluó la estabilidad relativa de las membranas celulares (ERM) que expresa la pérdida de solutos en secciones de hoja. Para ello se cortan láminas foliares de los distintos tratamientos, que son seccionadas en segmentos, se colocan en agua destilada durante 4 hs a Baño María (adaptado de Bajji *et al*, 2001), se realiza una medición de la conductividad eléctrica del medio donde están los segmentos foliares luego de 1 hora y luego de 4 horas. Con esta determinación se evalúa el deterioro en las membranas celulares causado por el estrés hídrico y la salinidad, ya que una menor integridad de las membranas se reflejará en una mayor pérdida de solutos por parte del tejido, con el consecuente aumento de la conductividad eléctrica del agua donde se incubaron. La estabilidad de las membranas se expresó de acuerdo a la siguiente ecuación: **ERM (%) = $[\text{CE}_i \cdot 100] / \text{CE}_f$** , donde **ERM** es la estabilidad relativa de membranas, **CE_i** es la conductividad eléctrica inicial y **CE_f** es la final (Figura 23).

Figura 23. Incubación de secciones de hoja en agua destilada para determinación de estabilidad de membranas celulares.



Para determinar el efecto acumulativo de solutos causado por los riegos con soluciones salinas al finalizar el ensayo se determinaron la conductividad eléctrica (CE) y la relación de absorción de sodio (RAS) del suelo en el tratamiento testigo (riego a CC) y en los distintos tratamientos regados con soluciones de NaCl.

Para la determinación de la CE se tomaron muestras del suelo homogeneizadas y tamizadas. Posteriormente se les agregó agua destilada hasta formar una pasta saturada, en cuyo extracto de saturación fue medida la CE con un conductímetro. Los valores obtenidos fueron corregidos a 25°C. La determinación del RAS fue realizada por el Laboratorio de Análisis Químico LANAQUI (CERZOS-CONICET-UNS). Con el objetivo de comparar los valores obtenidos con los de referencia de la FAO para suelos sódicos, los valores de RAS fueron llevados a porcentaje de sodio intercambiable (PSI) con la siguiente fórmula (Badia Villas, 1992):

$$PSI = \frac{100(-0.0126 + 0.01475RAS)}{1 + (-0.0126 + 0.01475RAS)}$$

Análisis estadístico

Se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilks (modificada) ($p \leq 0,05$) y se analizaron estadísticamente utilizando el tests de ANOVA. La comparación de medias se realizó mediante el test de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher 5%. Se utilizó el programa informático InfoStat (Di Renzo *et al*, 2015).

3. 5. Resultados y Discusión

3. 5. 1. Efecto del acondicionamiento en la germinación y desarrollo de plántulas de *P. coloratum* bajo condiciones de deficiencia de agua y salinidad

3. 5. 1. 1. Ensayo realizado en 2015

A lo largo del ensayo se evaluó la capacidad germinativa mediante la determinación del poder germinativo (PG) y del tiempo medio de germinación (TMG), que es uno de los índices con el que se puede evaluar de la velocidad y grado de dispersión de la germinación de un lote de semillas, expresado en días.

En el capítulo anterior, al analizar los gráficos de germinación a lo largo del tiempo (Figuras 11 a 18), se observó que la pendiente inicial de las curvas correspondientes a los acondicionamientos era muy pronunciada en los primeros días de evaluación, reflejando un gran vigor de los lotes y una rápida respuesta germinativa en los primeros conteos. También se discutió que el PG obtenido con los diferentes tratamientos de *priming* superó de 3 a 4 veces el correspondiente al tratamiento testigo (sin acondicionamiento) en el conteo del cuarto día, que podría considerarse como el correspondiente a la energía germinativa, tal como se comprobó al evaluar la germinación acumulada (Figura 23). Claramente estos beneficios que genera el *priming* en el tiempo requerido para germinar deberían verse reflejados en el TMG como indicador de la velocidad del proceso.

Al analizar los valores calculados para el TMG se observó que en las semillas sin acondicionamiento previo (SP) el valor de este este indicador superó los ocho días y llegó a más de 13 en la condición más limitante de -1,5 MPa (Tabla 8). Cabe recordar que las semillas eran nuevas y, tal como se mencionó en el capítulo anterior, tenían un alto grado de dormición que también puede haber sido una de las causas en la demora de la germinación. En semillas acondicionadas del mismo lote dicho período se redujo a la mitad o menos del TMG requerido por el tratamiento SP. Así, por ejemplo, en el medio con 0 MPa para los tratamientos de HP y

OP se obtuvieron valores de TMG que fueron 50% más bajos que el calculado para el SP y en el caso del MPr fue un 60% menor.

Tabla 8. Porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG), longitud aérea (LA), longitud radicular (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR) y peso seco de la plántulas para tratamientos sin *priming* (SP), con *hidropriming* (HP) durante 12 h a 25 °C, con *matripriming* rápido (MPr) durante 12 h a 25 °C y con *osmopriming* con cloruro de calcio (OP CaCl₂) durante 24 h a 25 °C, en el ensayo en condiciones controladas, año 2015.

TRATAMIENTOS	PG (%)	TMG (días)	LA (cm)	LR (cm)	LA / LR	PS (mg)	
SP	0 MPa	20,55 c*	8,6 bc	8,2 ab	7,0 bc	1,2**	20 b
	-0,25 MPa	19,71 c	8,8 bc	9,2 ab	8,0 bc	1,1	19 b
	-0,50 MPa	15,23 cd	7,9 b	7,1 b	6,7 bc	1,1	19 b
	-0,75 MPa	10,77 cd	10,2 bc	7,0 b	7,9 bc	0,9	12 bc
	-1,00 MPa	8,93 d	10,5 bc	5,4 c	6,5 c	0,8	11 bc
	-1,50 MPa	8,44 d	13,5 d	5,0 c	6,2 c	0,8	7 c
	3 dS m ⁻¹	20,46 c	8,4 bc	8,5 ab	8,2 b	1,0	21 b
	6 dS m ⁻¹	18,07 c	8,6 bc	8,0 ab	10,2 ab	0,8	18 ab
	9 dS m ⁻¹	16,28 c	9,9 bc	7,6 ab	8,6 b	0,9	16 bc
	12 dS m ⁻¹	11,40 cd	10,2 bc	6,7 b	7,2 bc	0,9	10 c
HP 12 h 25 °C	0 MPa	63,12 a	4,2 a	11,5 a	16,1 a	0,7	31 ab
	-0,25 MPa	63,33 a	4,4 a	11,5 a	17,8 a	0,6	31 ab
	-0,50 MPa	59,44 ab	5,7 ab	10,8 a	15,5 a	0,7	25 ab
	-0,75 MPa	54,16 ab	5,5 ab	10,8 a	13,1 ab	0,8	24 ab
	-1,00 MPa	48,91 ab	7,8 b	8,4 ab	8,5 b	1,0	19 b
	-1,50 MPa	43,07 b	9,6 bc	7,7 ab	7,3 bc	1,0	18 b
	3 dS m ⁻¹	62,20 a	3,8 a	11,7 a	15,8 a	0,7	30 ab
	6 dS m ⁻¹	60,84 a	4,7 a	11,1 a	15,0 a	0,7	28 ab
	9 dS m ⁻¹	56,77 ab	5,7 ab	10,0 a	8,8 b	1,1	28 ab
	12 dS m ⁻¹	49,62 ab	7,9 b	8,8 ab	9,3 b	0,9	25 ab
MPr 12 h 25 °C	0 MPa	68,99 a	3,3 a	16,2 a	14,0 a	1,2	45 a
	-0,25 MPa	68,02 a	3,6 a	12,6 a	10,1 ab	1,2	40 a
	-0,50 MPa	65,12 a	4,2 a	10,9 a	10,8 ab	1,0	40 a
	-0,75 MPa	60,74 a	4,1 a	11,6 a	12,0 ab	1,0	35 ab
	-1,00 MPa	54,23 ab	5,6 ab	9,0 ab	8,5 b	1,1	34 ab
	-1,50 MPa	51,75 ab	8,8 bc	8,5 ab	7,2 bc	1,2	29 ab
	3 dS m ⁻¹	68,10 a	3,9 a	15,8 a	12,3 ab	1,3	41 a
	6 dS m ⁻¹	66,43 a	5,0 a	13,2 a	15,1 a	0,9	39 a
	9 dS m ⁻¹	60,39 a	4,8 a	10,6 a	10,0 ab	1,1	35 ab
	12 dS m ⁻¹	56,33 a	7,6 b	10,4 a	10,2 ab	1,0	34 ab
OP CaCl ₂ 24 h 25 °C	0 MPa	62,61 a	4,5 a	12,6 a	11,3 ab	1,1	34 ab
	-0,25 MPa	60,80 a	4,3 a	11,8 a	11,0 ab	1,1	31 ab
	-0,50 MPa	56,37 ab	4,5 a	11,0 a	11,0 ab	1,0	28 ab
	-0,75 MPa	50,05 ab	6,2 ab	11,1 a	12,3 ab	0,9	27 ab
	-1,00 MPa	46,86 b	8,5 bc	8,1 ab	8,0 b	1,0	27 ab
	-1,50 MPa	40,50 b	8,3 bc	7,1 b	8,5 b	0,8	20 b
	3 dS m ⁻¹	60,70 a	4,6 a	13,1 a	10,1 ab	1,3	30 ab
	6 dS m ⁻¹	58,45 a	4,8 a	12,8 a	10,5 ab	1,2	30 ab
	9 dS m ⁻¹	57,30 a	5,5 ab	11,1 a	10,0 ab	1,1	26 ab
	12 dS m ⁻¹	48,88 ab	8,3 bc	10,6 a	9,1 b	1,2	24 ab

*Promedio en una columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente con la prueba de LSD al 5%.

** Promedios no seguidos por letras no difirieron entre si con la prueba de LSD al 5%.

Mc Donald (2000) menciona que el *priming* puede romper la dormición en varias especies, en especial aquellas que tienen embriones inmaduros, lo que podría explicar los resultados obtenidos en semillas acondicionadas.

Por otro lado, cuando se registró el efecto de la deficiencia hídrica o la salinidad durante la germinación, se observó un incremento en el TMG tanto en semillas acondicionadas como sin acondicionar, sin embargo, dicho efecto fue mucho más marcado en semillas sin *priming* (SP). La deficiencia hídrica llegó a posponer la germinación en más de 50% del tiempo requerido en el medio sin restricciones de agua (en 0 MPa), como se observó para la condición de estrés hídrico severo con -1,5 MPa, que fue el tratamiento en el que se notó la demora más importante. La salinidad también produjo un aumento en el TMG, aunque menor que los causados por los tratamientos de deficiencia de agua con PEG 6000 en el medio.

Respecto a la eficiencia de los tratamientos de acondicionamiento sobre el TMG se pudo observar que no hubo diferencias estadísticas entre los mismos y que mostraron mayor tolerancia ante deficiencias hídricas como a salinidades leves y moderadas respecto de los mayores TMG registrados para el tratamiento testigo (SP). Condiciones comparables a los bajos potenciales hídricos aplicados, de -1,0 y en especial de -1,5 MPa se corresponden a condiciones de sequía severa, que dificultan la germinación y el crecimiento de especies mesófitas. Sin embargo, se notó que en dichas condiciones, aún con la duplicación del TMG y reducciones del orden del 50% en el PG, el acondicionamiento proporcionó una ventaja frente a condiciones limitantes respecto de las semillas sin *priming* (SP), que germinaron en bajo porcentaje y en un período mucho más extenso de tiempo, como indican sus valores de PG y TMG calculados (Tabla 8).

Estas observaciones concuerdan por la informado en diferentes publicaciones respecto a que el acondicionamiento de las semillas reduce el TMG y que dicho período se correlaciona estrecha y directamente con el tiempo de implantación a campo (Amjad *et al*, 2007; Hacisalihoglu y Ross, 2010; Mauromicale y Cavallaro, 1995; Mavi *et al*, 2010; Soltani *et al*, 2015). Lograr una germinación rápida y uniforme es uno de los desafíos más importantes en el establecimiento de pasturas, por lo cual la reducción en el TMG y en el período de emergencia

es una de las principales ventajas de la aplicación de acondicionamiento de semillas (Hacisalihoglu y Ross, 2010).

El TMG es un parámetro ampliamente utilizado para comparar la respuesta germinativa de semillas bajo diferentes condiciones, y es similar en su forma de calcularlo al IVG (índice de velocidad de germinación) propuesto por Maguire (1962). Sin embargo, se ha señalado que no representa el tiempo real del proceso sino solo un indicador de su velocidad (Soltani *et al*, 2015). Desde el punto de vista estadístico el TMG ha tenido críticas porque puede acarrear problemas de interpretación, ya que no informa el tiempo desde el inicio de la imbibición hasta un porcentaje específico de germinación. La distribución de los datos ocasiona que el uso del TGM no se ajuste totalmente a los supuestos para aplicar ANOVA, post-ANOVA u otras pruebas de comparación, justamente porque no muestra el tiempo para alcanzar porcentaje de germinación fijo. De allí que otros trabajos citan que el tiempo de germinación de la media del lote (T50) es un parámetro que se ajusta mejor para evaluar la duración del proceso de germinación. El T50 expresa el tiempo requerido para que germine la mitad de las semillas viables del lote, es decir que se refiere a un porcentaje fijo y no a un tiempo, que siempre es variable cuando la semilla es sometida a distintas situaciones.

Cuando se analizó el T50 con los datos obtenidos en el presente ensayo, la tendencia de los resultados no cambió significativamente, y tampoco se modificó la interpretación de la respuesta de dicho índice por aplicación de la deficiencia de agua y la salinidad respecto de lo analizado para el TMG. Es decir que TMG y el T50 fueron muy similares (datos no presentados) y se modificaron de manera casi idéntica al aplicar los distintos tratamientos hídricos y salinos en los medios de germinación. Por otro lado, en la bibliografía consultada sobre investigaciones donde se desarrollaron estudios similares a los descritos en este ensayo, solo se calculó el TMG ya que se considera un indicador adecuado de la tasa o velocidad del proceso germinativo (Bradford *et al*, 1990, Hameed *et al*, 2013; Hacisalihoglu y Ross, 2010, Khajeh Hosseini *et al.*, 2003; 2009; Matthews y Khajeh Hosseini, 2007; Mavi *et al*, 2010; Romero-Murcia, 2019). Mavi *et al* (2010) sostienen que el TMG se correlaciona con el tiempo de emergencia en laboratorio y a campo y con la edad del lote de semillas por lo cual refleja adecuadamente la performance de las semillas en distintas especies hortícolas. Otros autores indicaron que TMG demuestra el

comportamiento de la implantación del cultivo, tanto en términos de la tasa de emergencia, el recuento final y el tamaño de la plántula (Ellis y Roberts, 1980; Guy y Black, 1998; Bailly *et al.*, 2002).

3. 5. 1. 2. Efecto del acondicionamiento y las condiciones de deficiencia de agua y salinidad sobre el crecimiento de las plántulas de *P. coloratum*

Otros parámetros evaluados en el mismo ensayo fueron la longitud aérea y radical de las plántulas, como medidas del crecimiento en relación a los acondicionamientos y a los tratamientos de deficiencia de agua y salinidad, luego de 14 días de comenzado el ensayo.

En relación al crecimiento de la parte aérea (LA) los mayores valores se lograron con el tratamiento de MPr, aunque no difirieron de los obtenidos con los otros acondicionamientos, posiblemente porque el análisis estadístico incluyó los valores del tratamiento testigo (SP), muy inferiores a los demás, lo que aumentó la dispersión de los datos. Cuando se contrastaron las mediciones de LA sin incluir al tratamiento SP, se puso de manifiesto la ganancia generada en la longitud aérea por el MPr, que superó con diferencias significativas a los tratamientos de HP y OP (datos no presentados). Con HP y OP el crecimiento de los epicótilos o coleótilos no mostró diferencias significativas cuando se compararon los diferentes medios de germinación entre sí. En todos los casos la deficiencia de agua siempre causó una reducción del crecimiento más severa que la salinidad, aunque la misma no fue significativa en varios casos. En los medios con -1,0 y -1,5 MPa las reducciones observadas en la LA fueron importantes, con una altura 30 a 50% menor por la baja disponibilidad de agua. La salinidad elevada también provocó descensos en el crecimiento, que como máximo fueron del 30% respecto del medio con 0 MPa. En base a estos resultados se puede suponer que, en suelos con conductividades eléctricas no demasiado elevadas (por ejemplo, de hasta 6 dS m⁻¹), no se observarían descensos significativos en el crecimiento aéreo de las plántulas si las semillas hubieran sido previamente acondicionadas. Las reducciones causadas por las concentraciones salinas más elevadas (como 9 y 12 dS m⁻¹) permitieron que los brotes aéreos crecieran de 10 a 30% más que aquellos sometidos a condiciones de restricción hídrica muy severa (-1,0 y -1,5 MPa), lo que indicaría una mayor tolerancia a una salinidad alta que a un déficit hídrico severo.

Cuando se analizó el crecimiento de la radícula (LR) se encontró que con HP se habían obtenido las mayores longitudes, que superaban de 10 a 30% los valores alcanzados por los otros acondicionamientos en el medio con 0 MPa. El descenso en el crecimiento causado por la deficiencia hídrica fue mayor en las radículas que en los brotes aéreos. Cuando el potencial hídrico fue de -0,75 MPa o mayor los valores de LR obtenidos no difirieron de los registrados en el medio testigo (0 MPa), pero mayores restricciones de agua que -0,75 MPa tuvieron su correlato en radículas con menor longitud, con descensos de casi 50% en la LR. Por su lado, salinidades leves y moderadas (3 y 6 dS m⁻¹) causaron una leve reducción en el crecimiento de la radícula (de aproximadamente 10%), mientras que mayores conductividades provocaron mermas del 10 al 50%, siendo el MPr el tratamiento menos afectado.

El tratamiento en el que se registraron las menores longitudes aéreas y radicales fue en el SP, que tuvo LA y LR 30 a 50% menores que los otros tratamientos, lo que pudo deberse al retraso en la germinación, ya que como se mencionó el TMG fue más del doble para las semillas sin acondicionar. Por otro lado, la reducción provocada por la menor disponibilidad de agua y de la salinidad no fue muy marcada, tal vez también a causa del retraso en el inicio de la germinación. Las condiciones más restrictivas que se impusieron claramente retrasaron la germinación, pero luego afectaron marcadamente el crecimiento de las plántulas, y esto fue más evidente en el tratamiento sin acondicionamiento previo (SP).

La relación entre la longitud aérea y la radical (LA/LR) suele calcularse como indicador de la partición de reservas en la plántula, es decir cuál es de destino de los compuestos de reserva. Lo que se observó en este ensayo fue que en las plántulas del tratamiento SP se redujo el cociente LA/LR por efecto de la restricción hídrica y de la salinidad, es decir que -si bien ambas partes tuvieron un menor crecimiento- la parte aérea se vio más afectada porque aunque se reduce la velocidad de crecimiento se priorizó el crecimiento radicular. Las plántulas originadas luego de aplicar los tratamientos de MPr y OP produjeron plántulas con similar desarrollo aéreo y radical, ya que sus cocientes fueron cercanos a 1, mientras que el HP también favoreció el crecimiento de la raíz, como en SP.

Luego de la germinación, se observa un rápido crecimiento de la radícula, que asegura la implantación y posteriormente aparecen el coleoptile y el epicótile (Bewley, 2001). En

ambientes con restricciones hídricas, un mayor crecimiento radical puede resultar una ventaja adaptativa, ya que la planta que logre desarrollar un sistema radical más profundo y de mayor superficie tiene más posibilidad de captar el agua edáfica (Golberg *et al*, 2011). En esta experiencia el acondicionamiento con HP mostró una tendencia a favorecer en mayor medida el crecimiento radicular, con una raíz que a los 14 DDS llegó a ser hasta un 50% más extensa que el de plántulas en el tratamiento SP y de 10 a 30% más extensas que las de los otros acondicionamientos.

En la última columna de la Tabla 8 se presenta el peso seco (PS) de las plántulas, en el que puede verse que el peso alcanzado en el tratamiento sin *priming* (SP) fue un 50 a 60% menor a los correspondientes a los tratamientos acondicionados. Las plántulas en SP fueron de menor longitud y peso seco, en especial cuando se aplicaron los tratamientos de estrés hídrico y salinidad. Así por ejemplo el descenso en el PS a causa de la deficiencia más severa (-1,5 MPa) fue del 65% en el peso de la plántula, sin embargo, hasta -1,0 MPa las reducciones en el PS no mostraron diferencias significativas. El *priming* permitió un menor efecto del déficit hídrico en el peso de la plántula, siendo el OP el que menos redujo el peso de las plántulas (42% en HP; 35% en MPr y 12% en OP) cuando el potencial fue muy negativo (en -1,5 MPa). La aplicación de salinidad en el medio siempre afectó menos el PS que un bajo potencial agua cuando las semillas se habían acondicionado, demostrando nuevamente la mayor tolerancia ante esta condición que a la restricción de agua durante las etapas tempranas del desarrollo.

Los aspectos mencionados anteriormente, en relación al efecto de las condiciones limitantes como déficit hídrico y salinidad, sobre el crecimiento de las plántulas de mijo perenne han sido mencionados en estudios y publicaciones realizados por integrantes de nuestro equipo de investigación de la Universidad Nacional del Sur (Achili, 2017; Baioni *et al*; 2017a; Baioni *et al*, 2017b; Di Paolo, 2019; Mengatto, 2014; Mengatto *et al*, 2015a; Mengatto *et al*, 2015b, Mengatto *et al*, 2015c, Mengatto *et al*, 2015d; Orazi, 2014; Orazi *et al*, 2015a; Orazi *et al*, 2015b; Orazi *et al*, 2015c; Zuain; 2016). Incluso otras especies megatérmicas han mostrado respuestas similares en cuanto a la mayor tolerancia a la salinidad respecto de la deficiencia hídrica durante etapas iniciales del desarrollo (Comezaña *et al*, 2017; Fioretti *et al*, 2017).

3. 5. 1. 2. Ensayo realizado en 2016

Cuando este ensayo se realizó en 2016 con semillas que tenían un menor grado de dormición se observó que además de aumentar su PG se registró un incremento en la velocidad de germinación, evaluada a través del TMG. Este índice se redujo en forma significativa aún en las semillas sin acondicionamiento (SP) (Tabla 9), ya que en todos los tratamientos se obtuvo un TMG que fue de 2 a 3 días menor que en 2015. Aún en el medio sin limitación hídrica (0 MPa) las semillas SP tardaron casi el doble de tiempo para germinar que las semillas pretratadas. El acondicionamiento no produjo diferencias de significación entre HP, MPr y OP. Tal vez lo más destacable fue el efecto positivo del *osmopriming* con CaCl_2 en la tolerancia al déficit de agua, que permitió obtener valores de TMG más bajos, 1 y 2 días menores que con MPr y HP respectivamente, aún cuando se sometió a las semillas al potencial agua más negativo (-1,5 MPa).

Al igual que se mencionó en el análisis de los resultados de la Tabla 8, al comparar todos los datos de la columna del TMG de la Tabla 9, los correspondientes al tratamiento SP generaron una mayor dispersión de los datos, que aumentó la varianza y por eso los valores correspondientes a los tratamientos de *priming* no difirieron entre sí.

La reducción en el tiempo medio de germinación (TMG) de las semillas más maduras refleja su aumento de vigor o invigorización (Blunk *et al*, 2019) en comparación con las semillas nuevas y dormantes testeadas en 2015. Ese menor tiempo requerido para reorganizar las estructuras seminales y comenzar a germinar se vio reflejado en el mayor tamaño de las plántulas que se registró en este segundo ensayo. La longitud aérea (LA) se incrementó en 2 cm en promedio respecto del año anterior, que en plántulas de aproximadamente 10 a 16 cm representó un aumento del 10 al 20 %. El tratamiento de OP fue para el que se calcularon los TMG más bajos (no significativos), que con bajas limitaciones del medio fue inferior a 3 días; ese menor TMG se reflejó en el tamaño de las plántulas, cuyos brotes fueron un 10 a 15% más largos, sin embargo, esa ganancia en LA tampoco resultó significativa, por lo que no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos de *priming*.

Tabla 9. Porcentaje de germinación (PG), tiempo medio de germinación (TMG), longitud aérea (LA), longitud radicular (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR) y peso seco de las plántulas para tratamientos sin *priming* (SP), con *hidropriming* (HP) durante 12 h a 25 °C, con *matripriming* rápido (MPr) durante 12 h a 25 °C y con *osmopriming* con cloruro de calcio (OP CaCl₂) durante 24 h a 25 °C, en el ensayo en condiciones controladas, año 2016.

TRATAMIENTOS	PG (%)	TMG (días)	LA (cm)	LR (cm)	LA / LR	PS (mg)	
SP	0 MPa	51,50 bc*	6,0 cd	10,3 b	11,8 bc	0,9**	27 b
	-0,25 MPa	50,66 bc	5,8 cd	9,9 b	12,0 bc	0,8	28 b
	-0,50 MPa	48,27 bc	6,7 cd	9,1 bc	9,7 bc	0,9	23 bc
	-0,75 MPa	36,93 cd	9,0 de	8,4 bcd	10,9 bc	0,8	20 bc
	-1,00 MPa	30,14 d	10,1 e	5,8 d	9,5 c	0,6	14 c
	-1,50 MPa	25,00 d	10,6 e	6,0 d	8,6 c	0,7	12 c
	3 dS m ⁻¹	50,15 bc	6,0 cd	10,5 b	8,2 b	1,0	25 bc
	6 dS m ⁻¹	48,10 bc	6,0 cd	8,9 bc	10,2 ab	0,8	26 bc
	9 dS m ⁻¹	42,03 c	7,5 cde	8,6 bc	8,6 b	0,9	18 bc
12 dS m ⁻¹	30,60 d	8,1 cde	7,4 cd	7,2 bc	0,9	14 c	
HP 12 h 25 °C	0 MPa	68,50 b	3,3 a	14,9 a	15,2 a	1,0	45 ab
	-0,25 MPa	66,00 b	3,0 a	13,9 ab	15,6 a	0,9	43 ab
	-0,50 MPa	65,43 b	4,0 a	12,8 ab	14,5 a	0,9	38 ab
	-0,75 MPa	54,22 bc	4,0 a	12,0 ab	13,1 ab	0,9	35 ab
	-1,00 MPa	49,66 bc	5,5 c	9,8 b	9,2 b	1,1	35 ab
	-1,50 MPa	46,98 bcd	7,2 cde	8,8 bc	8,7 bc	1,0	28 b
	3 dS m ⁻¹	68,11 b	2,9 a	15,0 a	13,5 a	1,1	41 a
	6 dS m ⁻¹	67,27 b	3,0 a	15,3 a	15,0 a	1,0	38 a
	9 dS m ⁻¹	56,08 bc	4,5 b	13,0 ab	10,8 b	1,2	36 ab
12 dS m ⁻¹	45,63 bcd	3,9 ab	11,3 ab	9,4 b	1,2	31 ab	
MPr 12 h 25 °C	0 MPa	83,56 a	3,0 a	17,7 a	14,0 a	1,3	51 a
	-0,25 MPa	80,16 a	2,8 a	17,6 a	13,7 ab	1,1	46 a
	-0,50 MPa	73,08 ab	3,3 a	13,0 ab	13,3 ab	1,0	49 a
	-0,75 MPa	66,27 b	3,8 ab	13,2 ab	12,8 ab	1,0	42 a
	-1,00 MPa	51,04 bc	4,5 b	10,0 b	10,4 b	1,0	40 a
	-1,50 MPa	53,15 bc	6,6 cd	9,6 b	9,6 b	1,0	32 ab
	3 dS m ⁻¹	81,10 a	2,8 a	16,8 a	12,3 ab	1,4	50 a
	6 dS m ⁻¹	80,68 a	3,0 a	16,2 a	15,1 a	1,1	49 a
	9 dS m ⁻¹	71,61 ab	3,5 a	15,4 a	10,1 ab	1,5	42 a
12 dS m ⁻¹	59,87 b	3,9 ab	13,0 ab	10,2 ab	1,3	40 a	
OP CaCl ₂ 24 h 25 °C	0 MPa	74,32 ab	2,7 a	18,2 a	14,6 ab	1,2	50 a
	-0,25 MPa	70,11 ab	2,7 a	18,8 a	16,2 ab	1,2	46 a
	-0,50 MPa	60,13 b	3,6 ab	17,6 a	15,0 ab	1,2	45 a
	-0,75 MPa	56,50 bc	3,7 ab	11,5 abc	14,5 ab	0,8	40 a
	-1,00 MPa	40,00 cd	4,8 b	12,1 ab	11,0 b	1,1	36 ab
	-1,50 MPa	35,21 cde	5,4 c	11,2 abc	9,6 b	1,2	33 ab
	3 dS m ⁻¹	68,24 b	2,5 a	17,8 a	15,1 ab	1,2	47 a
	6 dS m ⁻¹	58,88 b	2,5 a	16,8 a	14,7 ab	1,1	50 a
	9 dS m ⁻¹	47,30 bcd	3,2 ab	16,1 a	13,8 ab	1,2	44 a
12 dS m ⁻¹	39,16 cd	4,5 b	12,6 ab	10,8 b	1,2	40 a	

*Promedio en una columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente con la prueba de LSD al 5%.

** Promedios no seguidos por letras no difirieron entre si con la prueba de LSD al 5%

Al igual que se mencionó para el ensayo del año previo, los diferentes acondicionamientos generaron importantes incrementos de PG y reducciones del TMG, pero además uno de los principales beneficios del *priming* se manifiesta en la mayor tolerancia a las condiciones limitantes de estrés hídrico y salino, ya que las mayores diferencias en ambos se observaron al comparar la respuesta de semillas con y sin *priming* (SP) cuando se compararon los mismos medios de germinación.

También en este segundo análisis de las semillas se comprobó el acondicionamiento mejoró la respuesta a la salinidad más que a la limitación de agua, con un crecimiento que en promedio fue un 20% mayor en la parte aérea (LA) en los medios con salinidad respecto de los que tuvieron déficit de agua.

Algo llamativo fue que cuando se comparó la LR entre las plántulas de 2015 y 2016 se observó que el tratamiento que mayor ganancia había tenido era el sin acondicionar (SP), mientras que las semillas acondicionadas produjeron plántulas con radículas sin grandes diferencias con las del año anterior (diferencia de aproximadamente 10%). Esto podría deberse al mayor grado de madurez de las semillas en el segundo año de análisis, también con un menor grado de dormición, que al germinar más rápidamente alcanzaron un mayor tamaño al momento de la evaluación. En 2016 la tendencia de los resultados favoreció al HP, que fue el acondicionamiento con el que se obtuvieron radículas de mayor longitud, pero este mayor crecimiento no fue suficiente para que las diferencias se manifestaran en el análisis estadístico de los datos.

La relación LA/LR tampoco mostró tendencias de interés en 2016, y los cocientes que se obtuvieron fueron cercanos a 1 en todos los casos, demostrando un crecimiento similar entre las partes aérea y la radical de las plántulas, sin que una de ellas traccione más las reserva hacia dicho sector. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, sin embargo, se comprobó que las plántulas del segundo ensayo fueron mucho más vigorosas que las de 2015.

Lo mismo se comprobó cuando se registraron los pesos de las plántulas en 2016, que fue de 15 a 35% superior a sus correspondientes del año previo. También se observó menor reducción en el PS a causa de la salinidad respecto de la deficiencia de agua. Las plantas que crecen con una baja disponibilidad de agua reducen el crecimiento, que puede ser explicado a través de parámetros como la longitud o el peso. La menor turgencia celular reduce la expansión mientras que la menor apertura estomática se relaciona con una reducida ganancia de peso por asimilación de fotoasimilados (Chaves *et al*, 2002; Hsiao, 1973; Turner 1996). Es por eso que las plántulas sometidas a condiciones limitantes tuvieron menor longitud tanto aérea como radical (crecimiento) y menor peso (PS), a causa de una limitación en la tasa fotosintética incipiente de sus nuevas láminas foliares (el ensayo se realizó en cámara con 12 hs de luz).

3. 5. 1. 3. Efecto del acondicionamiento sobre la mortandad de plántulas

Otro aspecto importante que se comparó entre ambos años de ensayos fue el porcentaje de mortandad de plántulas a causa de las condiciones limitantes impuestas. En el primer año de evaluaciones, en los tratamientos regados con los menores potenciales agua (-1,0 y -1,5 MPa) y con la mayor conductividad eléctrica (12 dS m^{-1}) se registró una pérdida del 12 al 15% por la mortandad de plántulas que no toleraron esas severas condiciones. En los demás tratamientos el promedio de pérdida de plántulas fue menor al 5%. Por su parte, en 2016 la mortandad no superó el 5% en ninguno de los tratamientos, y los medios que establecían las condiciones de mayor estrés no tuvieron más plántulas afectadas que los demás tratamientos.

3. 5. 2. Efecto del acondicionamiento durante la implantación bajo condiciones de deficiencia de agua y salinidad. Ensayo realizado en 2016

Con el fin de evaluar el efecto de la deficiencia hídrica y la salinidad sobre el desarrollo de las plántulas originadas de semillas con y sin *priming* se condujo un ensayo en condiciones semicontroladas. Las semillas fueron acondicionadas con tratamientos idénticos a los examinados en el ensayo de germinación antes descrito, es decir: *hidropriming* (HP) durante 12 h a 25 °C, *matriming* rápido (MPr) durante 12 h a 25 °C, osmopriming con CaCl₂ al 2% (OP) durante 24 h a 25 °C. Los niveles de disponibilidad de agua se aplicaron mediante 3 niveles de riego: a capacidad de campo (CC), con la mitad (50% CC) y con la cuarta parte (25% CC).

Los resultados de cada uno de los puntos que se describen a continuación se presentan en la Tabla 10.

3. 5. 2. 1. Emergencia

En los diferentes tratamientos con y sin *priming* el tiempo promedio de emergencia (TE) (Tabla 10) se correlacionó con el tiempo medio de germinación (TMG) que figura en la Tabla 9, pero las semillas sembradas en suelo tardaron entre 1 y 2,5 días más que en condiciones controladas (ensayo anterior). Las semillas SP tardaron aproximadamente una semana en emerger cuando la disponibilidad de agua fue adecuada (CC), una deficiencia severa (50% CC) causó una demora de 1 día y medio más que no resultó significativa, mientras que con una deficiencia muy severa (25% CC) se necesitó cinco días y medio más para lograr la emergencia. Las semillas acondicionadas emergieron más rápidamente, así por ejemplo bajo condiciones de capacidad de campo (CC) el tiempo requerido por las semillas acondicionadas fue de cuatro días y medio en promedio, no se encontraron diferencias entre los tratamientos. El déficit de agua también causó demoras en el tiempo de emergencia en los tratamientos de acondicionamiento, pero de menor magnitud que el observado en semillas sin acondicionar. Por ejemplo, las semillas con *priming* tardaron en promedio ocho días para emerger en los recipientes regados con el 25% CC, es decir aproximadamente lo mismo que tardaron las semillas SP cuando no tuvieron déficit hídrico (CC). Para semillas pretratadas, cuando el riego se realizó al 50% CC la emergencia solo demoró 1 día y medio más respecto de la registrada con el riego a CC.

Estas observaciones demuestran que el acondicionamiento generó en las semillas el desarrollo de mecanismos que les permitieron por un lado aumentar la velocidad de germinación y emergencia, y además tolerar una menor disponibilidad de agua con un impacto mucho menor sobre dichos procesos. Bruce *et al* (2007) han señalado que el *priming* genera en las semillas una “*capacidad de memoria*”, como se mencionó en Introducción de este capítulo, y que estaría relacionada con modificaciones fisiológicas en rutas de señalización (o alerta) o en el aumento de factores de transcripción que sólo aparecerían bajo ciertas condiciones, como un estrés. Esa capacidad de memoria podría aumentar la tolerancia a limitantes ambientales como el déficit hídrico y la salinidad.

3. 5. 2. 2. Longitud aérea y radical

En las plántulas se observó que la longitud de la parte aérea (LA) superó a la radical (LR) en 40% en promedio, las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos con y sin *priming*. En las raíces se encontraron diferencias entre los tratamientos, pero lo más destacable fue que en los tratamientos con *priming* la menor disponibilidad de agua y la salinidad mostraron una tendencia a aumentar la longitud de la raíz, aunque en algunos casos el incremento no fue significativo (Tabla 10).

Al comparar el desarrollo de las plántulas en los dos ensayos realizados en 2016, se advirtió que las obtenidas en el ensayo de germinación en bandejas tuvieron un crecimiento radical (LR) mayor o igual al de la parte aérea (LA). Esto puede explicarse porque en la primera etapa del desarrollo posterior a la germinación las plántulas priorizan el desarrollo radical, mientras que luego comienza a crecer más la parte aérea. El ensayo de germinación se condujo durante 14 días mientras que el de implantación tuvo 24 días de duración, y esos 10 días más de crecimiento junto con las condiciones bajo las cuales se realizó cada ensayo causaron las diferencias observadas. También ese mayor crecimiento de LA se reflejó en la relación LA/LR, que en este ensayo (implantación) tuvo valores superiores a 1 (uno), mientras que en condiciones controladas solo se superó cuando el acondicionamiento estimuló el crecimiento de toda la plántula, en especial en los tratamientos de MPr y OP (Tabla 10). Las plántulas de los tratamientos con *priming* tuvieron cocientes LA/LR casi siempre mayores que 1.

3. 5. 2. 3. Peso seco aéreo y radical

El peso seco de la parte aérea (PSA) (Tabla 10) de las plántulas en los tratamientos de acondicionamiento superó significativamente al del tratamiento sin priming (SP). Cuando se comparó la reducción que causaba el déficit de agua en el PSA se pudo comprobar que las plantas del tratamiento sin *priming* (SP) con el menor riego (25% CC) pesaron un 60% menos que las regadas a capacidad de campo (CC), mientras que en los tratamientos acondicionados dicho descenso fue de 30% por la falta de agua.

La salinidad también redujo el PSA, en el caso del tratamiento SP la diferencia fue de 50% entre los tratamientos regados a CC y con 9 dS m^{-1} , pero el acondicionamiento permitió que esa reducción fuera cercana a 30% en promedio (Tabla 10).

Por su parte el peso seco radical (PSR) mostró menor reducción que el de la parte aérea a causa del estrés hídrico y la salinidad, cuando se compararon los mismos tratamientos. El PSR de las plantas del tratamiento sin *priming* (SP) fue un 30% menor aún con buen riego (CC) y 50% menor cuando se limitó el riego. El PSR en el tratamiento SP fue similar al que tuvieron las plantas de los tratamientos con *priming* en la condición de 25% CC: Es decir que el *priming* favoreció el peso del sistema radical aun con limitación en el riego, ya que las plantas de los tratamientos acondicionados fueron dos (2) veces más pesadas que las SP para la condición hídrica de 25% CC. Esa duplicación en el PSR en los tratamientos con *priming*, respecto del tratamiento sin *priming* (SP), no se correspondió con un aumento en la longitud radical de la misma magnitud, lo que indicaría que el sistema radical es más desarrollado por tener mayor peso (mayor densidad de raíces) y no por ser más profundo, al menos en esta etapa temprana del desarrollo (24 DDS). Gracias a ello las plantas originadas de semillas acondicionadas podrían tener una ventaja competitiva al presentar sistemas radicales con mayor superficie y capacidad de absorción de agua y, por tanto, un potencial de desarrollo mayor que si no se acondicionan previamente las semillas.

Los cocientes PSA/PSR no difirieron entre los distintos tratamientos de riego ni de acondicionamientos, sin embargo, se observó que la relación descendía cuando se aplicaba restricción o cuando aumentaba la salinidad en el riego. Dicha disminución indica que bajo condiciones limitantes se destinan más fotoasimilados y reservas para asegurar el desarrollo radical

en la etapa inicial de crecimiento luego de la implantación. Por otro lado, un mayor desarrollo radical también garantiza el que pueda crecer adecuadamente la parte aérea de la planta, como ya se discutió cuando se analizaron los datos de LA y PSA.

3. 5. 2. 4. Contenido hídrico

El estado hídrico de las plantas, evaluado a través del contenido relativo de agua (CRA) (Tabla 10) fue óptimo en el tratamiento control, regado a capacidad de campo (CC) para cada tipo de acondicionamiento (con y sin *priming*), ya que superaron contenidos del 93%. La restricción en el riego causó descensos significativos en el estado hídrico en todos los tratamientos; así por ejemplo, en el tratamiento no acondicionado (SP) el riego mínimo (25% CC) provocó que el CRA bajara un 20% (17 puntos porcentuales) y la mayor salinidad (9 dS m⁻¹) lo redujo 18% (más de 10 puntos porcentuales). Por su parte el CRA en los tratamientos regados con contenido salino bajo (3 dS m⁻¹) y medio (6 dS m⁻¹) nunca difirió del riego a CC. En todos los tratamientos se observó un leve descenso en el CRA por efecto de la salinidad hasta 6 dS m⁻¹, pero la caída en el valor fue menor en los tratamientos con acondicionamiento pregerminativo respecto del sin acondicionar (SP). Sin embargo, el riego con 9 dS m⁻¹ causó un descenso del contenido hídrico que en algunos casos resultó significativo, excepto en el tratamiento de *osmopriming*.

Tabla 10. Tiempo promedio de emergencia (TE), porcentaje de hojas vivas (HV), longitud aérea (LA), longitud radical (LR), relación entre longitud aérea y radical (LA/LR), peso seco aéreo (PSA), peso seco radical (PSR), relación entre el peso seco aéreo y radical (PSA/PSR), contenido relativo de agua (CRA) y estabilidad relativa de membranas (ERM) de las plántulas para tratamientos sin acondicionar (SP). con *hidropriming* (HP) durante 12 h a 25 °C, con *matrimpriming* rápido (MPr) durante 12 h a 25 °C y con *osmopriming* con cloruro de calcio (OP CaCl₂) durante 24 h a 25 °C, en el ensayo en condiciones controladas, año 2016.

Acondicionamiento	Riegos	TE (días)	HV (%)	LA (cm)	LR (cm)	LA/LR	PSA (mg)	PSR (mg)	PSA/PSR	CRA (%)	ERM(%)
SP	Control	7,6 b*	100,0 a	22,2 ab	13,0 b	1,7 a	39 bc	31 b	1,3	93,25 a	33,25 a
	50% CC	9,0 bc	100,0 a	19,1 b	11,3 bc	1,7 a	22 cd	19 c	1,2	82,34 b	48,47 c
	25% CC	13,0 c	70,6 c	11,0 c	9,0 c	1,2 a	15 d	18 c	0,8	76,10 c	61,02 d
	3 dS m ⁻¹	7, 2 b	100,0 a	22,2 ab	12,7 b	1,7 a	30 c	26 bc	1,2	91,11 a	33,11 a
	6 dS m ⁻¹	9,2 bc	95,5 a	20,5 ab	14,0 ab	1,5 a	22 cc	27 bc	0,8	85,56 ab	35,44 a
	9 dS m ⁻¹	10,5 bc	77,5 c	16,2 bc	11,3 bc	1,4 a	20 cd	19 c	1,0	82,87 b	43,80 b
HP	Control	4,4 a	100,0 a	26,4 a	16,3 ab	1,6 a	57 a	41 ab	1,4	94,55 a	30,10 a
	50% CC	5,9 ab	97,8 a	22,8 ab	18,2 a	1,3 a	43 bc	39 ab	1,1	88,00 ab	33,25 a
	25% CC	8,4 b	88,8 b	20,4 ab	15,6 ab	1,3 a	40 bc	40 ab	1,0	81,26 b	40,98 b
	3 dS m ⁻¹	4,5 a	100,0 a	25,7 a	16,6 ab	1,5 a	52 ab	35 b	1,5	95,05 a	31,10 a
	6 dS m ⁻¹	5,5 ab	97,5 a	24,0 ab	15,4 ab	1,6 a	49 abc	43 ab	1,1	90,12 ab	29,42 a
	9 dS m ⁻¹	6,7 ab	90,1 ab	21,1 ab	15,0 ab	1,4 a	41 bc	39 ab	1,1	87,94 b	37,21 ab
MPr	Control	4,2 a	100,0 a	26,6 a	16,4 ab	1,6 a	67 a	52 a	1,3	95,20 a	30,22 a
	50% CC	5,5 a	98,0 a	23,5 ab	19,5 a	1,2 a	55 ab	40 ab	1,4	89,26 ab	35,10 ab
	25% CC	8,1 b	85,7 b	21,0 ab	17,0 ab	1,2 a	48 abc	42 ab	1,1	82,40 b	40,00 ab
	3 dS m ⁻¹	4,1 a	100,0 a	26,4 a	15,6 ab	1,7 a	64 a	39 ab	1,6	93,00 a	31,41 a
	6 dS m ⁻¹	5,3 a	97,4 a	25,5 a	17,2 a	1,5 a	61 a	39 ab	1,6	91,70 a	33,50 a
	9 dS m ⁻¹	7,4 b	92,0 ab	22,0 ab	14,1 ab	1,6 a	50 ab	45 ab	1,1	85,03 b	36,88 ab
OP	Control	5,2 a	94,5 a	25,2 a	14,1 ab	1,8 a	60 a	40 ab	1,5	94,66 a	29,80 a
	50% CC	6,0 ab	100,0 a	21,7 ab	16,6 ab	1,3 a	50 ab	41 ab	1,1	88,80 ab	36,70 ab
	25% CC	8,6 b	88,6 b	20,0 ab	14,3 ab	1,4 a	43 bc	40 ab	1,0	84,33 b	41,50 b
	3 dS m ⁻¹	5,5 a	100,0 a	24,0 a	16,8 ab	1,4 a	64 a	45 ab	1,4	96,00 a	30,70 a
	6 dS m ⁻¹	6,8 ab	97,6 a	22,6 ab	20,5 a	1,1 a	52 ab	49 a	1,1	92,13 a	32,45 a
	9 dS m ⁻¹	8,0 b	89,2 ab	20,2 ab	16,4 ab	1,2 a	48 abc	49 a	1,0	87,90 ab	36,22 ab

*Promedio en una columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente con la prueba de LSD al 5%.

** Promedios no seguidos por letras no difirieron entre si con la prueba de LSD al 5%.

3. 5. 2. 5. Estabilidad de las membrans plasmáticas

La estabilidad de membranas se utiliza en tejidos vegetales y en semillas como un indicador de la integridad del plasmalema. Bajji *et al* (2001) proponen que el mantenimiento de la integridad de las membranas bajo condiciones de estrés hídrico puede considerarse un rasgo asociado a la tolerancia de las plantas a dicha condición. El grado de daño causado por distintos agentes o de la capacidad de reorganizar tejidos deshidratados en semillas puede evaluarse estimando la pérdida de electrolitos con la determinación de la conductividad eléctrica del medio en el que se incuban secciones de tejido estudiado. Esta técnica ha sido aplicada para evaluar el efecto de distintos factores abióticos, entre ellos el estrés salino (Chen *et al*, 1999; Sreenivasulu *et al*, 2000). La adaptación de la técnica propuesta por Bajji *et al* (2001) y empleada en este ensayo ha sido utilizada en otros trabajos (Comezaña, 2014; Fernández Moroni, 2016) y consiste en evaluar la pérdida de electrolitos en secciones de hojas para los distintos tratamientos (Figura 25).

La estabilidad de las membranas celulares (ERM) se expresó en porcentaje comparando dos mediciones consecutivas de conductividad eléctrica (CE) luego de 4 horas de incubación del tejido en agua destilada (Tabla 24). El déficit de agua más severo causó aumentos significativos de la CE. Las lecturas tomadas en plantas del tratamiento SP regadas con 50% CC y 25% CC fueron significativamente mayores que las obtenidas para dicho tratamiento cuando se regó a CC, indicando un alto grado de pérdida de integridad de membranas en esos tejidos a causa del estrés hídrico. El efecto de la salinidad tuvo un impacto menor sobre la estabilidad de las membranas, con diferencias no significativas en general. Los acondicionamientos permitieron obtener plantas con tejidos más tolerantes al déficit de agua y a la salinidad, ya que en la mayoría de los casos los aumentos registrados en la CE no resultaron de significación estadística. En las plantas de los tratamientos con *priming* el mayor efecto perjudicial sobre las membranas lo causó el riego con el 25% CC.

3. 5. 2. 6. Mortandad de plántulas

En el ensayo en invernáculo no se registró mortandad de plántulas por efecto del déficit hídrico o la salinidad. Probablemente las semillas menos vigorosas de cada tratamiento no pudieron germinar y las que lo hicieron se mantuvieron vivas todo el ensayo, aunque se observó que el crecimiento y la ganancia de peso fue más reducido en condiciones limitantes y en el tratamiento sin *priming* (SP). De todos modos, aunque las plantas sobrevivieron a los tratamientos aplicados, las que se regaron con 25% CC tuvieron un crecimiento muy limitado, sus hojas no se expandieron y se encontraban muy deshidratadas (Figura 24).

Figura 24: Comparación de las plantas de los distintos tratamientos antes de finalizar y retirarlas de los recipientes (izquierda), y luego de retirarlas durante la evaluación (derecha).

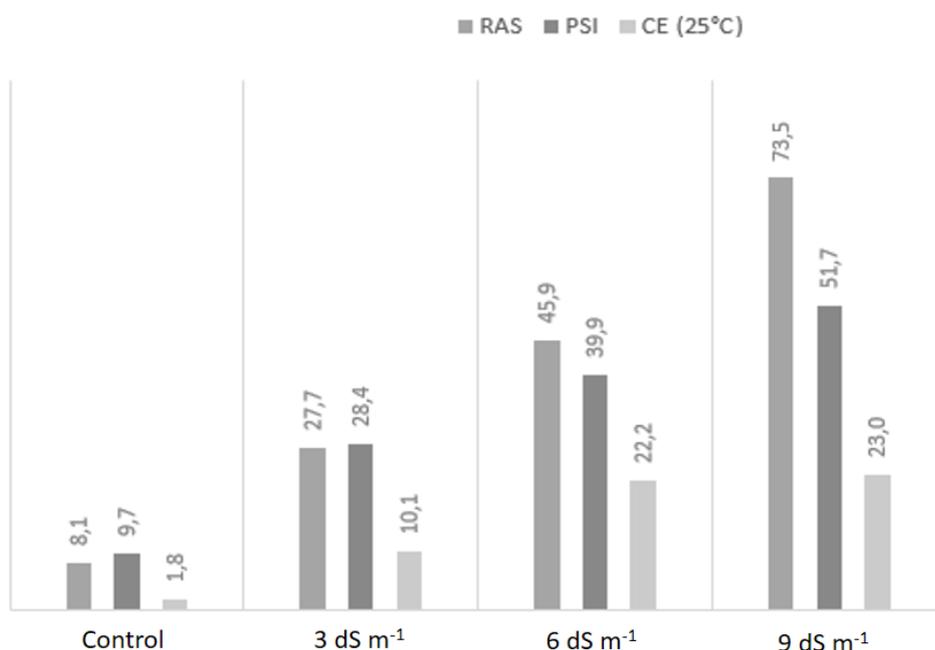


3. 5. 2. 7. Efecto del riego sobre RAS, PSI y CE

Cuando finalizó el ensayo, se extrajeron las plantas de los recipientes y en el suelo se evaluaron: la relación de adsorción de sodio intercambiable (RAS) (en miliequivalentes l⁻¹) en el extracto (solución), el porcentaje de sodio intercambiable (PSI) (en %) (que representa la proporción de sodio respecto de los demás cationes adsorbidos) y la conductividad

eléctrica (CE) de dicho extracto. Se comprobó que la RAS y el PSI aumentaron en forma significativa por efecto de los riegos con soluciones salinas (Figura 25). En el suelo regado con 3 dS m^{-1} ambas determinaciones triplicaron su valor respecto del suelo regado a capacidad de campo (CC) mientras que la CE se incrementó cinco veces. El riego con soluciones sódicas de 6 dS m^{-1} causó aumentos de: 5 veces en la RAS, 4 veces en el PSI y 10 veces en la CE cuando se lo comparó con el suelo regado a CC. Obviamente los mayores incrementos se encontraron con el riego que tuvo 9 dS m^{-1} , que incrementó 9 veces la RAS, 5 veces el PSI y casi 13 veces la CE. Los valores de PSI y de CE obtenidos se explican por el tipo de suelo utilizado, correspondiente a un horizonte A de la zona -donde los suelos son mayormente arenosos-, ya que si se hubiera trabajado con un suelo más pesado la cantidad de sodio retenido hubiera causado incrementos mayores en las lecturas de todos los parámetros.

Figura 25. Relación de sodio intercambiable (RAS) (meq l^{-1}), porcentaje de sodio intercambiable (PSI) (%) y conductividad eléctrica (CE) (dS m^{-1}) a 25°C de los extractos de suelos en los tratamientos regados con soluciones salinas, ensayo de implantación en invernáculo, año 2016.



Los suelos sódicos son aquellos que tienen valores de PSI superiores a 15 (Massoud, 1971), por lo que se puede decir que luego de regar con soluciones de NaCl las macetas de los tratamientos de salinidad todos superaron ampliamente dicho límite, y podrían

encuadrarse en las categorías de fuertemente sódicos (PSI de 20 a 30%) o extremadamente sódicos (PSI > 30%), como se encontró para los riegos con 6 y 9 dS m⁻¹, respectivamente.

Aun con esos valores tan elevados de sodicidad las plantas de mijo perenne sobrevivieron y crecieron no sin impacto en los parámetros evaluados para comparar el crecimiento y la tolerancia a dichas condiciones. Se pudo comprobar el mijo perenne tiene una buena tolerancia a la salinidad, aunque por lo expuesto cuando se discutieron los datos de la Tabla 10, no sería conveniente que la conductividad eléctrica supere los 6 dS m⁻¹. La salinidad del agua subterránea de perforación recomendada para riego es de 2,25 dS m⁻¹ por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, *United States Department of Agriculture*). En experiencias que se están realizando en la zona de CORFO- Río Colorado (Corporación de Fomento del Valle del Río Colorado) se aplica riego con agua cuya conductividad eléctrica es de 3 dS m⁻¹ para comparar la tolerancia de diferentes cultivos (Ing. Agr. Pablo Zalba, *comunicación personal*). Si en un futuro se tuviera que ampliar el área de cultivo del mijo perenne hacia zonas muy marginales y fuera necesario aplicar riego, se puede pensar que dichos niveles de salinidad serían tolerables para esta pastura, aunque la respuesta a campo debería estudiarse más profundamente a nivel experimental.

La información obtenida en este capítulo permite la aceptación de la hipótesis propuesta (pág. 91) referida a que el acondicionamiento de las semillas mediante *priming* activa mecanismos que otorgan tolerancia a condiciones desfavorables durante la germinación e implantación, tales como el déficit hídrico y la salinidad. El *priming* provoca un conjunto de los cambios fisiológicos denominado memoria de estrés que no sólo se expresa en una mejor performance durante la germinación sino en etapas posteriores del crecimiento, por lo cual sus beneficios no son exclusivamente a nivel germinativo.

CAPÍTULO 4.

Maduración y retención de semillas en mijo perenne

4. 1. Introducción

A medida que las sociedades humanas evolucionaron desde los albores de la aparición del hombre sobre la tierra, las plantas de su entorno evolucionaron a par. La transición de la recolección de plantas silvestres a su cultivo implicó una creciente interacción entre los humanos y las plantas. Los cambios originados en las especies utilizadas por el hombre dieron como resultado la domesticación de algunos cultivos, lo que demuestran el ingenio de aquellos primeros agricultores convertidos así en fitomejoradores. Sin embargo, a lo largo de una historia de miles de años muchas especies mantienen rasgos de acervo genético silvestre (Vaughan *et al*, 2007).

Cuando los hombres se hicieron sedentarios y comenzaron a cultivar plantas y criar animales en el Período Neolítico, empezaron a seleccionar cultivos cuyas semillas se mantuvieran en la planta hasta que pudieran ser recolectadas. A eso debe que la historia misma de la humanidad esté asociada a la selección de especies que tengan una elevada retención de sus semillas, que aún hoy tiene tanta importancia (Kadkol *et al.*, 1989).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha establecido que, de los 22 alimentos más importantes para la humanidad, los tres principales son cultivos de cosecha: el arroz, el trigo y el maíz, los que en conjunto superan a los 19 restantes, entre los que se encuentran alimentos de origen animal y vegetal. La selección de los cereales ha generado gran interés por su aporte de calorías en la dieta humana (Emiliy *et al*, 2013), pero los forrajes también han sido de importancia en la selección porque son la base para la alimentación del ganado doméstico (Purugganan y Fuller, 2009).

La domesticación de las especies ha causado cambios morfológicos y fisiológicos que dieron lugar a modificaciones genéticas, estructurales y funcionales de las formas domesticadas. Al conjunto de dichos cambios Hammer (1984) los denominó "*síndrome de domesticación*" (en alemán, citado por Di Vittori *et al*, 2019). Entre los cambios que se logran con este síndrome, uno de los más deseados constituye la reducción en la caída de semillas, aunque se debe entender que la dispersión lejos de la planta madre permite aumentar la aptitud de la especie para colonizar del ambiente, en términos de espacio y tiempo. Por ello, uno de los eventos más importantes en la domesticación de cultivos de semillas es la retención de semillas hasta la

madurez de cosecha, y constituye una característica crítica que distingue a los cultivos modernos de sus progenitores silvestres (Li y Olsen, 2016).

La caída de semillas es un ejemplo de evolución fenotípica convergente y, al igual que otros caracteres del síndrome de domesticación, ocurrió en muchas especies de forma independiente, en distintos lugares y momentos, pero coincidieron en las modificaciones funcionales obtenidas (Di Vittori *et al*, 2019).

La retención de semillas está determinada por distintas estructuras florales cuya maduración y cambios anatómicos parecen estar controlados por diferentes genes que a su vez se fueron modificando a lo largo de muchos eventos de domesticación. Este proceso consiste en el pasaje de las formas silvestres a las domesticadas, producto de una modificación larga y compleja (Hu *et al*, 2018). Así, por ejemplo, en varias especies del género *Paspallum* la formación de una zona de abscisión en el pedicelo, justo debajo de las glumas, parece ser la causa de la caída de semillas luego de 8 a 10 días después de la antesis (Burson *et al*, 1978).

En una publicación muy reciente se examinan las respuestas evolutivas de varias especies y se concluye que los primeros rasgos que evolucionaron en los parientes silvestres de los actuales cultivos domesticados están fundamentalmente relacionados con la dispersión de semillas (Spengler, 2020). Algunos de los rasgos adquiridos que se mencionan son: raquis más resistentes, semillas con cubiertas más delgadas y frutos no dehiscentes que aumentaron la aptitud de las plantas para que sean los humanos sus dispersores.

En el camino de la domesticación, las gramíneas utilizadas como forraje y césped tienen una historia relativamente corta, a pesar de que la dehiscencia o pérdida de semillas en esas especies suele ser importante, lo que causa rendimientos bajos y variables (Lee, 2007; Vaughan *et al*, 2007). En un estudio realizado en *Setaria* (Hu *et al*, 2018), que se propone como modelo para las plantas C4, se mencionó que varios autores coinciden en que existen regiones genómicas comunes asociadas a rasgos de domesticación, y que la conservación de genes responsables de esta capacidad puede ser el indicio del mecanismo genético para lograr cambios en los rasgos silvestres. En pasto gama oriental (*Tripsacum dactyloides* L.) se ha observado que su crecimiento reproductivo indeterminado, con la aparición de espigas en la misma planta durante un período extendido de tiempo, es la causa de los bajos rendimientos en la producción de semillas, que se desprenden fácilmente a la madurez y maduran durante

varias semanas (Lemke *et al*, 2003). Otro caso es el de *Panicum maximum* (n.v. gatton panic o pasto guinea) que tiene problemas muy severos, ya que sus semillas caen cuando aún están inmaduras, a causa de la formación precoz de una zona o capa de abscisión, tal como se ha encontrado en otras especies (Burson *et al*, 1983). Es decir que muchas forrajeras tienen el mismo problema que el mijo perenne (Burson *et al*, 1983; Tomás *et al*, 2010).

Otro de los rasgos silvestres que mantienen las pasturas con poco mejoramiento es el elevado grado de dormición de sus semillas (Giordano *et al*, 2013, Valdéz, 2020), que constituye un mecanismo adaptativo para asegurar la supervivencia de las especies y que demuestra el alto grado de adaptación al ambiente

Características de semillas de mijo perenne: tamaño, maduración, retención y dormición

Las semillas de mijo perenne tienen varios problemas relacionados con (1) su pequeño tamaño, (2) su maduración no uniforme o asincrónica, (3) la falta de retención y (4) la dormición en semillas nuevas (Burson, 1980, Tomás *et al*, 2010; Maina *et al*, 2012). A continuación, se discute cada uno de estos aspectos.

1. Tamaño de las semillas

El pequeño tamaño de las semillas de *Panicum*, que determina la baja cantidad de reservas presentes, es una de las causas de su reducida eficiencia al momento de germinar y desarrollarse la plántula. Un mayor tamaño de las semillas puede ser uno de los determinantes de la eficiencia de implantación del mijo perenne (Young y Tischler, 1994). Esto ha justificado que distintos proyectos de mejoramiento se hayan enfocado sobre el desarrollo de caracteres de la semilla asociados a aumentar su performance durante la implantación, en especial el peso seminal y en la eliminación de mecanismos de dehiscencia propios de las especies silvestres (Armando, 2014; Tomás *et al*, 2016). Sin embargo, se ha encontrado que el rendimiento en mijo perenne está más relacionado con el número de semillas que con el peso de las mismas, tomando a dicho parámetro como un indicador del tamaño seminal (Maina *et al*, 2012), por lo cual parece que la estrategia de la especie sería producir mayor cantidad de semillas en lugar de producir semillas más pesadas. Esta estrategia es compartida con el girasol (Cardinali *et al*, 1985; Hernández y Orioli, 1992) y otras especies (Milthorpe and Moorby, 1979).

2. Maduración asincrónica

La maduración no uniforme o asincrónica de semillas en las panículas causa una dehiscencia extendida (Bewley *et al*, 2012, Romero-Mucia, 2019). El desarrollo de inflorescencias en la mayoría de las gramíneas ocurre de forma basípeta (Gould y Shaw, 1983; Moore *et al*, 1991) pero la antesis puede ocurrir durante varios días para una sola inflorescencia y en muchas especies ocurre a lo largo de períodos extensos (Burson, 1980). La maduración asincrónica de semillas también podría tener su origen en la formación asincrónica de macollos fértiles (Berdahl y Frank, 1998). A causa de la falta de sincronización en el crecimiento vegetativo, la floración y luego en la maduración, las semillas caen antes de estar completamente maduras, por lo que es difícil maximizar el rendimiento a la cosecha y obtener semillas con un grado de madurez similar (Maina, 2012; Tomás *et al*, 2016). La dehiscencia puede comenzar apenas 2 semanas luego de la antesis y durar varias semanas, por lo cual las semillas perdidas prematuramente a veces son vanas o se encuentran inmaduras (Matilla *et al*, 2005; Petruzzi *et al*, 2003).

Cuthbertson (1970) estableció que las semillas de *Chondrilla juncea* (Asteraceae) con diferente grado de madurez se podían identificar porque su coloración cambiaba luego de alcanzar la madurez fisiológica, de blanco a verdoso y luego a amarronado. Este trabajo sentó las bases para que muchos otros autores usaran la coloración como parámetro asociado a la madurez de las semillas; además, demostró que cuando se alcanzaba el color característico de la madurez era mayor poder germinativo. Posteriormente, Berdahl y Frank (1998) mencionaron que algunos aspectos visuales eran de utilidad determinar el grado de madurez de las semillas de pasturas, como la pérdida del color verde en semillas, raquis y glumas. Este primer indicador, que comienza a partir de la madurez fisiológica, cuando la semilla deja de recibir fotoasimilados de la planta madre, y su contenido de humedad alcanza alrededor del 30% en la mayoría de las gramíneas. También se han reportado que algunas características en la coloración que fueron de utilidad para determinar el momento adecuado de cosecha de las semillas, pero esas características pueden variar de un año a otro (Hill y Watkin, 1975). Matilla *et al* (2005) mencionan diferentes parámetros de heterogeneidad seminal, entre los que también indican la coloración, el tamaño, la forma y otras características diferenciales del desarrollo de las semillas. Incluso la dormición puede variar mucho en las semillas de una misma inflorescencia, lo que también puede estar asociado a la coloración de la cubierta seminal.

3. Retención de semillas

El carácter dehiscente que mantienen algunas especies demuestra que poseen complejos mecanismos para dispersar sus semillas, a pesar de ser un rasgo no deseado desde el punto de vista productivo (Dong y Wang, 2015). Por otro lado, las especies indehiscentes necesitan de la colaboración humana para su propagación. En mijo perenne es, como se mencionó, un carácter que perdura de su estirpe silvestre (Burson *et al*, 1983; Petruzzi *et*, 2003). La fácil dehiscencia de las semillas especie está asociada a la formación temprana de una zona de abscisión en el pedicelo de las espiguillas, caracterizadas por la aparición 5 a 7 capas de células con paredes engrosadas (Burson *et al*, 1983). El desarrollo de la inflorescencia es indeterminado y la dehiscencia generalmente es basípeta, es decir que las semillas que primero se caen son las superiores. La pérdida de semillas puede ocurrir cuando se alcanza la madurez fisiológica o antes, si las condiciones ambientales lo favorecen (Tischler & Ocumpaugh, 2004).

Los precursores del estudio de la retención de semillas en *Panicum coloratum* var. *coloratum* en Estados Unidos fueron Burson (en los '70s) y Young (en los '80s). Burson *et al* (1983) concluyeron que el principal problema de esta forrajera era que sus semillas caían de la inflorescencia en cuanto maduraban, además de no madurar de manera uniforme, por lo cual se cosechaba una importante cantidad de semillas inmaduras, lo que reducía la calidad y provocaba un aumento del costo de las mismas. Por su parte, Young (1986) estudió la retención de semillas en diferentes poblaciones de *Panicum coloratum*, recolectándolas en trampas luego de la antesis. Comparó dos cultivares con diferente retención, a los 49 días uno perdió el 74% mientras que el otro (de origen sudafricano) perdió solo el 34% de las semillas. Dicho cultivar era el que tenía la menor dehiscencia entre los conocidos hasta ese momento. Posteriormente el mismo autor demostró que no sólo la genética de las poblaciones podía explicar las diferencias observadas en la retención de semillas, sino que las condiciones ambientales jugaban un papel muy importante, ya que bajo condiciones de campo la pérdida ocurría más rápidamente (Young, 1991).

Burson *et al* (1983) realizaron estudios anatómicos para determinar la formación de la zona de abscisión en mijo perenne. Demostraron que comienza en el estado de bota, es decir cuando la inflorescencia se encuentra embuchada dentro de la vaina de la hoja bandera, y observaron al octavo día luego de la antesis la laminilla media de las células de capa de abscisión se había reabsorbido o disuelto. Poco después las membranas celulares habían perdido integridad y por

último se desintegraban todas las capas de células que formaban ese tejido de unión al raquis de la panoja, por lo que las flores solo se mantenían sostenidas por la epidermis y los tejidos vasculares. A los 14 días después de la antesis las células epidérmicas no podían continuar sosteniendo las flores por lo que ocurría la dehiscencia. A los 12 a 15 días después de la antesis identificaron una capa secundaria de células esclerificadas en la raquilla de cada flor, que se rompería por acción mecánica. Con este estudio se demostró que las flores no podrían mantenerse en las inflorescencias mucho más allá de 2 semanas después de la floración a causa del colapso celular de estos tejidos especializados en la dehiscencia.

Estudios realizados en el INTA Rafaela (Argentina) demostraron que el pico de caída de semillas fue a los 15 días y 28 días luego de la antesis cuando se compararon dos años de ensayos a campo (Dreher *et al*, 2008). Como no se encontraron diferencias entre distintos materiales en cada año, se postuló que las poblaciones evaluadas sincronizaron el proceso de caída de semillas y las diferencias en los períodos observados se atribuyeron a la variabilidad en las condiciones climáticas entre los años de ensayos (Tomás *et al*, 2010). Estas investigaciones realizadas en el INTA Rafaela, evaluaron la pérdida de semillas de *Panicum coloratum*, si bien se enfocaron mayormente sobre la variedad *makarikariense*. Otras investigaciones sobre maduración y retención de semillas se realizaron en la variedad Kapivera, obtenida mediante mejoramiento del cultivar Bambatsi de la variedad *makarikariense*, por el grupo encabezado por la Dra. Tomás en la misma Experimental (<https://www.boletinoficial.gob.ar/pdf/linkQR/Qnk5c3pXRVM0QIErdTVReEh2ZkU0dz09>). Esta última variedad, cuyo nombre en guaraní significa “*pasto brillante*” es muy promisoría por su tolerancia a condiciones desfavorables (salinidad, anegamiento, bajas temperaturas), el mayor peso de sus semillas y longitud de sus láminas foliares, en comparación a otras variedades empleadas en el país. Ello justifica los esfuerzos para solucionar los problemas causados por la falta de retención de sus semillas.

Algunas investigaciones se han enfocado al rol de hormonas que favorezcan la formación de la zona de abscisión (reducción en la síntesis de auxinas, aumento en la síntesis de etileno, reducción de la actividad de las citocininas) y de enzimas encargadas de digerir las paredes celulares (celulasas, poligalacturonasas, pectinasas, etc.) necesarias para que las partes florales y las semillas o frutos se desprendan (Ferrandiz, 2002, Liu *et al*, 2019, Malaviya *et al*, 2014).

Varios trabajos demuestran el origen genético de la dehiscencia de frutos y semillas. En *Arabidopsis thaliana*, se encontró que la formación de una zona de abscisión era la responsable de dicho evento, y que numerosos genes y factores de transcripción controlan la dinámica hormonal que causan el cambio en ese tejido (Dong y Wang, 2015). Lin *et al* (2006) demostraron que el cambio de un solo aminoácido en el dominio del ADN estaba asociado con la reducción de la dehiscencia en el arroz domesticado respecto del salvaje. También en sorgo la retención de semillas está controlada por un solo gen, es decir que el carácter indehisciente se puede haber adquirido por alguna mutación que implicó la pérdida de función de dicho gen (Lin *et al*, 2012).

4. Dormición de las semillas

La dormición, es un bloqueo de la germinación que puede tener causas endógenas o exógenas; es una condición que impide que la semilla germine cuando las condiciones para el desarrollo de la plántula pueden resultar poco adecuadas (Bewley, 2012). Es un rasgo adaptativo que resulta importante para la supervivencia de la especie, pero poco conveniente desde el punto de vista agronómico, ya que provoca que la germinación se demore y disperse, no permitiendo una adecuada implantación (Voight y Tischler, 1997).

Como en la mayoría de especies que integran la familia Poaceae que mantienen caracteres silvestres, mijo perenne presenta dormición en sus semillas recién formadas (Delouche *et al*, 2007). Así por ejemplo, en *Panicum virgatum* se halló que la principal causa de dormición estaba asociada al pericarpio y la testa, y en forma secundaria a las glumas y brácteas (Duclos *et al*, 2013), ya que pueden reducir el ingreso del oxígeno al embrión y más tarde convertirse en un impedimento mecánico para la protrusión de la radícula.

Las semillas de gatton panic (*Panicum maximum* Jacq.) tienen los mismos inconvenientes que las de mijo perenne, la baja calidad se debe a la maduración desigual, la dehiscencia y la dormición, esta última causada por la forma en la que se disponen las glumelas, pálea y lema (Harty *et al*, 1983). La dormición de las semillas en esta especie se basa principalmente en limitaciones físicas, debido a una estructura en forma de cerrojo que une la lema y la pálea, y que dificultan la germinación en forma mecánica (Who *et al*, 1991).

La dormición de *Panicum coloratum* que desaparece luego de un almacenamiento de 6 meses a temperatura ambiente (Conrad, 1976, citado Tischler y Young, 1983), aunque el bajo poder germinativo de muestras comerciales podría ser un indicador de que dicha condición tarda más tiempo en desaparecer (Lauric *et al*, 2014). Aparentemente las semillas nuevas de mijo perenne pueden presentar distintos niveles de dormición.

Lodge *et al* (2009) establecieron que la semilla nueva y “desnuda” de *Panicum coloratum* germinaba con mayor velocidad que aquellas que mantenían las glumelas, indicando el efecto de dichas estructuras sobre la dormición; además postularon que puede aparecer dormición secundaria en las semillas fisiológicamente inmaduras o por condiciones inapropiadas de almacenamiento.

Cecovich y Ruiz (2011) determinaron que la dormición en *Panicum coloratum* cosechado manualmente se perdía luego de cinco a siete meses de almacenamiento a temperatura ambiente. Las semillas cosechadas con maquinaria perdían la dormición luego de solo un mes posterior a la cosecha, lo que fue atribuido a un escarificado mecánico que podría haber ocurrido durante la trilla. También hallaron que la baja temperatura de conservación mantuvo el estado dormante en más del 50% de las semillas viables durante el período de 7 meses que fueron guardadas.

La dormición es heterogénea en las semillas, puede variar entre individuos de la misma población, incluso dentro de la misma inflorescencia, ya que puede estar asociada a otras características seminales, como su posición en la inflorescencia, su tamaño, color, etc. Varios de estos rasgos se asocian al estado de madurez, y dado que la dormición es además cuantitativa, una semilla puede estar más o menos dormante, y dicha condición puede estar asociada al grado de madurez (Matilla *et al*, 2005).

Consideraciones sobre los aspectos discutidos previamente

Es evidente que, luego de la discusión de los diferentes problemas que pueden presentar las semillas de *Panicum coloratum*, las dificultades para su adecuada germinación e implantación son múltiples y provienen de sus características silvestres ancestrales. Los programas de

mejoramiento que están generando mayor información en Argentina se orientan a la búsqueda de semillas de mayor peso, aunque también se incluyen otros caracteres morfológicos para mejorar la calidad y performance (Tomás *et al*; 2010; 2016; Maina *et al*, 2012). La dormición es un carácter difícil de erradicar, sin embargo no constituye el peor obstáculo dado que en algún momento desaparece. Por eso, la retención y maduración de las semillas de mijo perenne es el problema más serio que determina su escaso rendimiento para la producción de semillas, la baja calidad de las mismas y consecuentemente sus problemas para implantarse (Petruzzi *et al*, 2003).

En este trabajo se presentan algunos resultados de una investigación en curso sobre dicha problemática en *Panicum coloratum* var. *coloratum*. En base a la información obtenida en experiencias y ensayos previos, se realizaron evaluaciones de retención y maduración de semillas que permitieran explicar la baja calidad de los lotes comerciales, cuya germinación e implantación fueron analizadas en los capítulos anteriores.

4. 2. Hipótesis

La baja calidad de semillas en *Panicum coloratum* var. *coloratum*, que mantiene caracteres silvestres, está causada por el pequeño tamaño de sus semillas, la maduración asincrónica de las panojas, la elevada dehiscencia y la dormición de las semillas nuevas. La determinación del momento óptimo de recolección de semillas está asociada a conservar la mayor cantidad de semillas.

4. 3. Objetivos

- Analizar el proceso de la maduración de las estructuras reproductivas en *Panicum coloratum* var. *coloratum*, para determinar la secuencia temporal de dehiscencia de semillas y su porcentaje de retención de semillas
- Evaluar las panojas de *Panicum coloratum* var. *coloratum* durante la maduración para determinar los sectores que mantienen retenidas las semillas y la calidad de las mismas.

4. 4. Materiales y Métodos

Diseño del ensayo para evaluar retención de semillas: El ensayo para evaluar la retención de semillas de mijo perenne (*Panicum coloratum* var *coloratum*) se realizó en el invernáculo del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca, Argentina), entre 2017 y 2020. La siembra se efectuó el 11 de septiembre de 2017 en recipientes plásticos de 20 litros que contenían suelo de un horizonte A de la zona, secado al aire y tamizado. Las semillas empleadas provenían del semillero Agroempresa S.A. (Córdoba), cosechadas en 2016 y sin peletear, cuyo poder germinativo (PG) fue del 44%. Se sembraron de 10 a 15 semillas por maceta, que se mantuvieron regadas a capacidad de campo durante la etapa de germinación e implantación. Luego se raleó dejando 2 ó 3 plantas en cada uno de los 36 recipientes empleados.

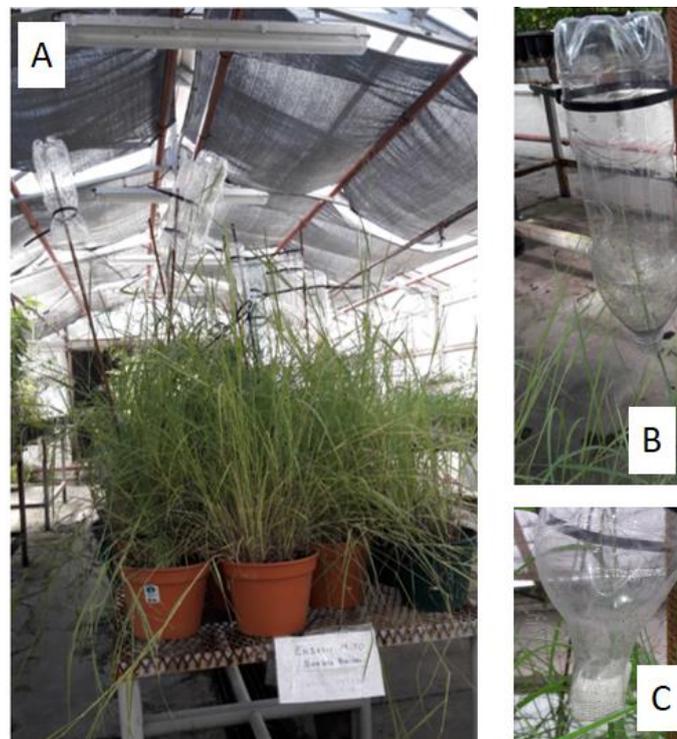
Cuando las plantas comenzaron a encañar se controlaron en forma diaria hasta determinar el estado de antesis. Se consideró el inicio del proceso cuando las anteras comenzaron a desprender polen de la porción estaminada de la inflorescencia (Lemke *et al*, 2003), y se consideró que se había alcanzado el estado de antesis cuando el 50% o más de las plantas se encontraban en floración, en cada uno de los años en los que se realizó el ensayo de recolección de semillas (2017-18, 2018-19 y 2019-20). Cuando se alcanzó dicho estado se favoreció cuidadosamente la polinización cruzada en forma manual, dado que dentro del invernáculo podría no haber ocurrido por falta de polinizadores y de viento.

Colocación de trampas: A partir del momento en que se consideró que la polinización podía estar asegurada, se seleccionaron las panojas del macollo central de cada planta y se ubicaron dentro de recipientes plásticos de 1,5 L sostenidos con precintos a una varilla de hierro torsionado que se enterró en el suelo, que funcionaron como trampas (Figura 26). Se seleccionaron las panojas del macollo central de cada planta; se colocaron un total de 15 trampas. A cada envase se le realizaron una serie de cortes, de forma rectangular, dejando la cara superior adherida a fin de favorecer la ventilación para que no aumentara excesivamente la temperatura, pero que no permitieran la pérdida de semillas desde el interior del mismo. En la base del recipiente, que quedaba invertido, también se efectuaron cortes y aberturas con la misma finalidad. Finalmente, en una de las caras del recipiente se realizaba un corte longitudinal incluyendo el pico del mismo. Por dicha abertura se introducía una panoja,

cuidando que el raquis no se quebrara. Para finalizar, el pico o boca del recipiente invertido era cubierto por un pequeño cuadrado de gasa de 10 x 10 cm, que se sostenía con una banda elástica y se colocaba la tapa del mismo recipiente. De ese modo, las panojas quedaban encerradas en los recipientes y las semillas que caían dentro de los mismos eran recolectadas semanalmente en la gasa.

Recolección de semillas: Luego de colocación de las trampas se retiraron semanalmente los paños de gasa para separar las semillas que se hubieran caído. En caso de que quedaran semillas adheridas al recipiente, se las extrajo mediante la ayuda de un pincel fino o por arrastre enjuagando cuidadosamente con una piseta, introducida por alguna de las aberturas laterales. La colecta de semillas se realizó semanalmente, desde los 7 hasta los 98 días después de anthesis (DDA), pero en los tres años de se comprobó que luego de 84 DDA no se registraba más pérdida de semillas. Para evaluar el estado de madurez de las semillas se comparó el tamaño y la coloración de la cubierta seminal a lo largo de las diferentes colectas realizadas, tal como propusieron Cuthbertson (1970) y Matilla *et al* (2015).

Figura 26. Ensayo de retención de semillas en invernáculo. A. Vista general del ensayo con las trampas colocadas. B. Recipiente conteniendo una panoja en su interior. C. Detalle de un recipiente con el paño de gasa en el pico para recolectar las semillas



Análisis de las semillas recolectadas: En cada fecha de muestreo se determinó el número de semillas caídas. Posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente, sobre papel de filtro, y luego se pesaron. En las fechas en las que se recolectaron suficientes semillas, se realizaron ensayos de germinación, a fin de determinar el poder germinativo (PG). Los mismos se condujeron en una cámara con control de luz y temperatura. Las condiciones aplicadas fueron de 30 °C diurnos y 20 °C nocturnos, de 12 h en cada caso (ISTA, 1976); se trabajó en cajas de plexiglás, tipo Petri. La germinación se determinó a los 24 días después de la siembra (DDS). Debido a que las semillas de mijo perenne recién cosechadas tienen un alto grado de dormición, las semillas que no germinaron fueron sometidas a tinción con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) para determinar su viabilidad y descartar que fueran semillas dormantes o vanas. Las semillas recolectadas fueron observadas en un microscopio estereoscópico NIKON MSZ800a lupa de alta resolución con cámara fotográfica (Laboratorio de Morfología Vegetal, UNS) para realizar un registro del material obtenido en cada fecha de recolección.

Evaluación de panojas: También en forma semanal, se cortaron y herborizaron panojas que no estaban encerradas en los recipientes con el fin determinar el sector en el que se encontraban retenidas las semillas y el número y porcentaje de retención remanente en cada fecha. En estas panojas se determinaron los sectores de retención de semillas en cada fecha. Finalmente se trillaron cuidadosamente, se contabilizaron las semillas obtenidas, se pesaron y se determinó su PG y porcentaje de viabilidad.

Conservación de las plantas: Después de finalizar la recolección de semillas (98 DDA), las plantas fueron cortadas dejando un remanente de 10 a 15 cm de altura, a fin de no dañar los meristemas y permitir su posterior rebrote. Luego las plantas fueron dejadas fuera del invernáculo hasta la primavera siguiente, cuando fueron nuevamente cultivadas bajo cubierta para repetir el ensayo de retención de semillas.

Los ensayos de retención de semillas tuvieron como finalidad conocer la dinámica de caída de semillas en condiciones controladas, su maduración cronológica y comparar entre años dichos procesos. Para ello se registraron evaluaciones que permitieran explicar los fenómenos de dehiscencia y maduración. Cabe señalar que aún se continúa con esta investigación como parte de un proyecto (PGI, UNS), en el que se propone avanzar en el estudio de aspectos relacionados con la retención de semillas en *Panicum coloratum* var. *coloratum*, que incluyen

experiencias a campo para correlacionar con las observaciones realizadas en invernáculo (Figura 28). Los datos de campo corresponden a una investigación en curso y no son presentados.

Figura 27. Arriba: colocación de trampas en el ensayo a campo. **Abajo:** Aspecto del lote implantado con *Panicum coloratum* var. *coloratum* en Bajo Hondo, Partido de Coronel Rosales, en el que se desarrollan estudios de retención de semillas en condiciones naturales.



Análisis de datos

Los datos de dehiscencia, comparación de las semillas recolectadas por fecha, fueron analizados mediante un ANOVA con dos factores, fechas y panojas, en el que las fechas fueron el factor fijo (repetido en los tres años) y las panojas se consideraron como un bloque, ya que la panoja de cada planta es una medida repetida. Además, los resultados se compararon con los obtenidos a partir de Modelos Mixtos, modelando correlación autorregresiva de orden 1. Debido a que el supuesto de homocedasticidad no se cumplía en varias fechas, el registro de semillas recolectadas fue cero por lo cual no existía varianza, esas fechas no fueron consideradas en el análisis. Los datos de recolección fueron transformados aplicando la raíz cuadrada para ajustarlos a los supuestos de normalidad y homocedasticidad de ANOVA. La comparación de medias se realizó con el LSD Fisher al 5% y al 1%, ya que realiza la comparación con un alfa individual para cada par. Para realizar todos los análisis se utilizó el programa Infostat (Di Rienzo *et al*, 2015). El análisis de los datos de este capítulo se realizó con la colaboración de la Dra. Lorena V. Armando, del Dr. Antonio Garayalde y de la estudiante María Belén Fernández.

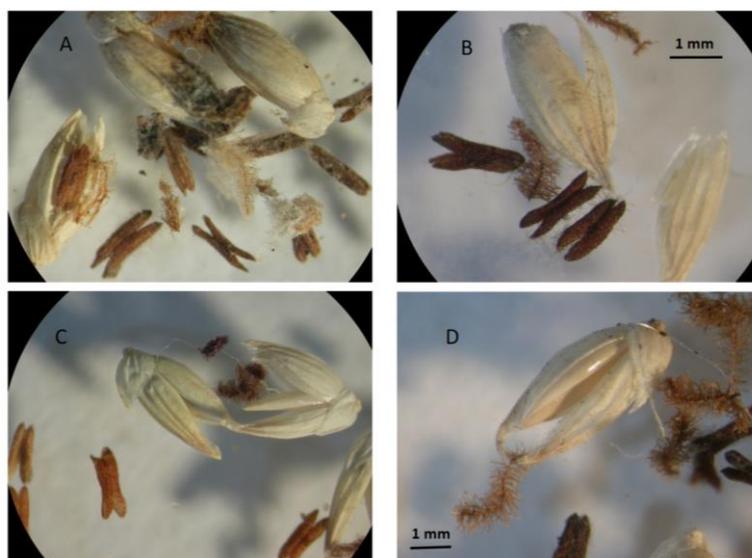
4. 5. Resultados

4. 5 1. Retención y maduración de semillas

Las recolecciones realizadas en las trampas durante los tres años de ensayos permitieron tener un registro de la cantidad de semillas que fueron cayendo semanalmente luego de la antesis.

Se comprobó que, durante los tres años evaluados, en la primera colecta correspondiente a los 7 días después de la antesis (DDA), no se encontraron semillas en las trampas, sino solamente anteras, estigmas y glumas vacías (Figura 28).

Figura 28. Material recolectado en las dos primeras semanas de muestreo en las trampas. (A y B) a los 7 DDA, (C y D) a los 14 DDA.



A partir de los 14 días después de antesis (DDA) se empezaron a aparecer algunas semillas con diferente estado de desarrollo en las trampas, aunque el porcentaje acumulado apenas alcanzó el 1% en 2019-20, cuando se registró la mayor dehiscencia. Tomando los parámetros de madurez sugeridos por Cutherson (1970) y Matilla *et al* (2015) se compararon el tamaño y color de las semillas a lo largo de las distintas colectas. A los 14 DDS las semillas aún estaban inmaduras, debido a que eran delgadas, ya que no se había completado el llenado del grano, y en particular tenían las cubiertas con menor pigmentación, algunas semillas eran completamente blancas y otras tenían una coloración castaño claro (Figura 29).

Algunos autores mencionaron que, en mijo perenne la caída de semillas comenzaba a partir de los 14 DDA (Burson, 1980; Young, 1986; Petruzzi *et al*, 2003), debido a la formación temprana de la zona de abscisión durante las dos semanas posteriores a la antesis. En este trabajo, al haberse realizado el ensayo en condiciones de invernáculo, el menor disturbio que tuvieron las panojas probablemente permitió retener las semillas durante más tiempo.

Figura 29. Materiales recolectados a los 14 DDA en los que se observan semillas inmaduras y con falta de pigmentación en las cubiertas seminales.



A los 21 DDA la pérdida fue menor a 5% sobre el total de semillas caídas en los años evaluados, sin embargo, a partir de esa fecha comenzó a aumentar la dehiscencia (Figura 30). Las semillas recolectadas en esa fecha también presentaron distinto grado de madurez (Figura 31, A y B), en relación a su coloración y ancho a nivel ecuatorial –por mayor acumulación de sustancias de reserva- sin embargo, tenían un mayor desarrollo que las recolectadas a los 14 DDA. En la Figura 30 se observa que algunas semillas correspondientes a los 21 DDA (A y B) tenían una forma más ahusada que las correspondientes a 28 (C y D) y 35 DDA (E y F), pero en todas las fechas se obtuvieron semillas con distinto grado de madurez.

Esta diferencia en el grado de madurez observado en las distintas muestras recolectadas se puede justificar por la maduración asincrónica de las semillas en las panojas, característica de esta especie y citada por varios autores (Maina, 2012; Moresco Lirusso *et al*, 2018; Petruzzi *et al*, 2003); y es un rasgo que puede adjudicarse al bajo grado de domesticación de la especie (Bewley y Black, 2012; Valdés, 2020). Esta particularidad dificulta establecer el período óptimo de cosecha de semillas en mijo perenne (Petruzzi *et al*, 2003) y las semillas inmaduras son las

responsables del bajo poder germinativo y del reducido vigor de las plántulas originadas de ellas (Maina, 2012).

Figura 30. Promedio de semillas perdidas por panoja en cada una de las fechas muestreadas (días después de la antesis) para los tres años de ensayo. Las barras indican el promedio de semillas caídas en cada fecha, con sus correspondientes desvíos estándar, y las curvas punteadas se trazaron para indicar la dispersión en la caída de semillas a lo largo de las fechas de recolección de semillas en cada año.

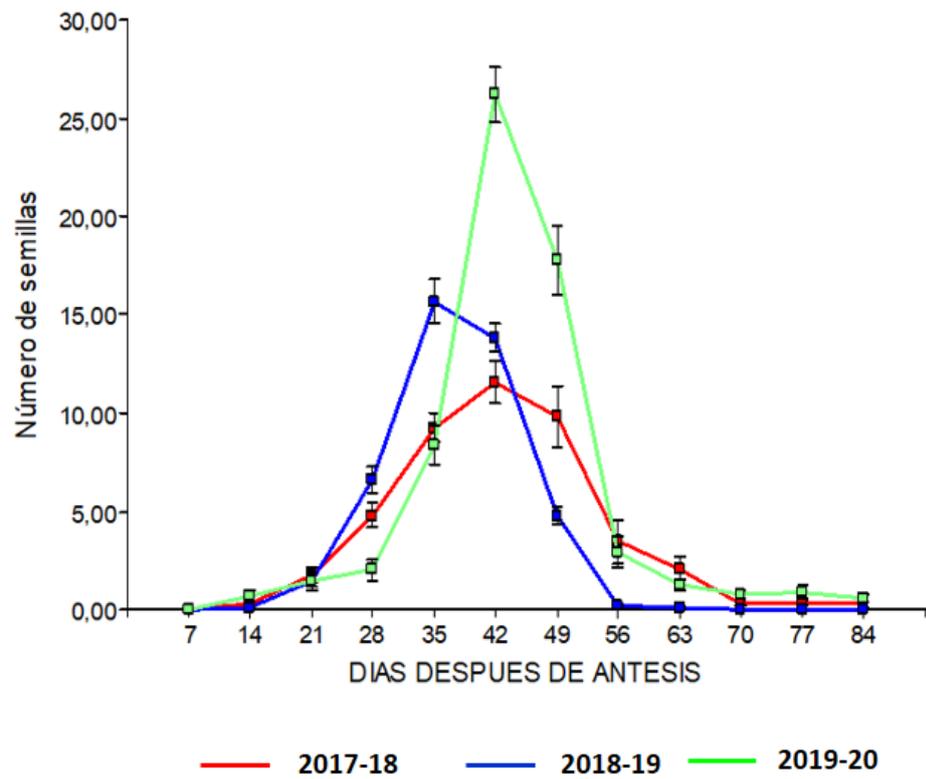
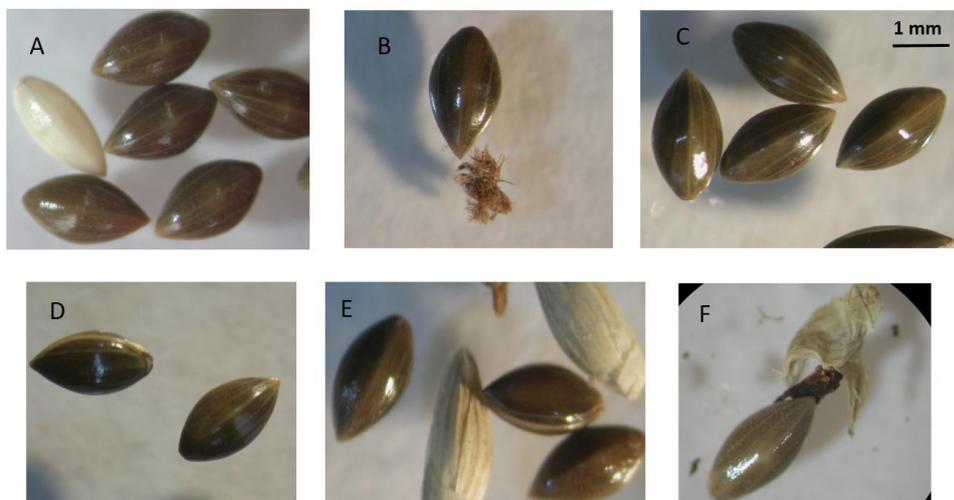


Figura 31. A y B: semillas recolectadas a los 21 días DDA; C y D: semillas recolectadas a los 28 DDA, E y F: semillas recolectadas a los 35 DDA.



La dehiscencia fue muy elevada a partir de los 28 y hasta los 49 DDA (Figura 30); en ese período de 3 semanas se registró el mayor porcentaje (promedio) de caída de las semillas: en 2017-18 fue del 80%; en 2018-19 fue superior al 90% y en 2019-20 fue del 83%, respecto del total de las semillas no retenidas.

A pesar de los porcentajes mencionados, cabe señalar que las semillas desprendidas por panoja en el periodo desde los 28 a los 49 DDA tuvo una gran variación entre años (Figura 30), ya que en el período 2017-18 se desprendieron en promedio 35 semillas por panoja, en 2018-19 el promedio fue de 22 semillas y en 2019-20 la media fue de 54 semillas. También se observó que en el período y en el último, la mayor dehiscencia fue más dispersa, desde los 21 hasta los 63 DDA, mientras que en 2018-19 la caída de semillas se concentró entre los 28 y los 49 DDA. En los tres años en que se realizó el ensayo, luego de los 63 DDA cada panoja perdía en promedio menos de una semilla por semana, y para ese momento ya se habían alcanzado porcentajes acumulados de dehiscencia superiores al 96%, incluso en 2018-19 se había desprendido el 100% de las semillas no retenidas por las panojas.

Cuando se analizó la secuencia que tuvo la caída de semillas en los tres años, se pudo observar que siguió un patrón similar al de una campana gaussina (de distribución Normal) (Figura 30). Para el primer período, la curva fue bastante aplanada y con pendientes suaves, ya que la dehiscencia comenzó a los 21 DDA y se extendió hasta los 63 DDA, con un pico máximo a los 42 DDA de alrededor de 12 semillas (en promedio por panoja). Para 2018-19 la curva tuvo pendientes más pronunciadas ya que la cantidad de semillas perdidas por panoja se concentró entre los 35 y los 42 DDA, con casi de 15 semillas desprendidas por panoja en cada fecha. En 2019-20 la caída se demoró un poco más y fue más concentrada que en los períodos anteriores, encontrándose la máxima dehiscencia a los 42 DDA con más de 25 semillas desprendidas por panoja. La dehiscencia registrada entre los 42 y 49 DDA en 2019-20 fue dos veces mayor que en 2017-18 y 2018-19, que resultó altamente significativa ($p < 0,01$). Las diferencias en el tiempo en el que ocurrió la máxima dehiscencia entre años no fue significativa ($p < 0,05$).

Evaluación sobre las panojas al finalizar el ensayo de retención de semillas

Cuando se terminó de recolectar semillas en las trampas, las panojas fueron cortadas, retiradas cuidadosamente de los recipientes y trilladas para determinar la cantidad de semillas retenidas en cada una. Luego de determinar la cantidad total de semillas producidas por panojas, resultado de las obtenidas en la trilla más las recogidas en las trampas, se comparó la retención a lo largo de los tres años (Tabla 11). Pudo determinarse que a lo largo de los tres años analizados hubo un aumento tanto en la producción como en la retención de semillas, que porcentualmente fue más elevado en el último año. Se observó que en el primer período (2017-18) la cantidad promedio y porcentaje de semillas retenidas fueron bajos, con diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) respecto de los dos años posteriores, probablemente debido a que las plantas eran pequeñas, recientemente implantadas. En los dos últimos años, la retención de semillas fue aumentando gradualmente, tanto en cantidad por panoja como en porcentaje respecto de total producido. En efecto, la cantidad de semillas producidas por panoja un tuvo un incremento 2,5 y 4 veces mayor en 2018-19 y en 2019-20, respectivamente, en comparación con el del primer año.

Tabla 11. Promedio de semillas producidas por panoja (total), cantidad promedio de semillas retenidas y caídas por panoja, y porcentajes de retención y de caída de semillas por panoja.

AÑO	Promedio semillas producidas panoja ⁻¹	Promedio semillas retenidas panoja ⁻¹	Promedio semillas caídas panoja ⁻¹	% semillas retenidas panoja ⁻¹	% semillas caídas panoja ⁻¹
2017-18	37,26 a*	14,33 a	22,93 a	38,46 a	61,54 a
2018-19	93,80 b	51,33 b	42,60 b	54,70 b	45,41 b
2019-20	149,02 c	86,24 c	62,81 c	57,86 b	42,14 b

*Promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente con la prueba de LSD al 1%.

Aunque la dehiscencia fue disminuyendo, en los dos últimos períodos las panojas tuvieron un porcentaje de semillas retenidas poco mayor al 50% del total producido, a pesar de que las condiciones fueron óptimas para la retención: el ensayo se llevó a cabo en invernáculo, en condiciones semicontroladas, y las panojas, protegidas dentro de los recipientes, no estuvieron expuestas a los efectos de factores ambientales como viento, lluvia, ect., que podrían haber aumentado la dehiscencia. La característica observada en mijo perenne en relación al bajo porcentaje de retención de semillas, demuestra que aún conserva rasgos silvestres,

caracterizados justamente por una importante pérdida de semillas antes de alcanzar la madurez en forma sincrónica (Li y Olsen, 2016).

Burson *et al* (1983) determinaron la histogénesis secuencial de formación de la zona de abscisión en el género *Panicum*, responsable de la dehiscencia de las semillas. La abscisión fue explicada por la formación de una zona primaria en el pedicelo cercano a la base de las glumas y una secundaria a lo largo de la raquilla que soporta las inflorescencias fértiles. Además, encontraron que cuando se alcanzaba la antesis dichas zonas ya podían identificarse y que luego de 8 ó 9 DDA las células de la zona de abscisión primaria comenzaban a desintegrarse, lo que causaba que a partir de los 14 DDA las semillas se desprendieran. Esta fue identificada como la principal causa de pérdida de semillas en *Panicum coloratum*. La esclerificación celular de la zona secundaria en la raquilla estaría relacionada con una dehiscencia de carácter mecánico y ocurría entre 12 y 15 DDA. Estos hallazgos contribuyen a esclarecer las observaciones descriptas en este trabajo, ya que en los tres años del ensayo se encontró que luego de los 14 DDA comenzaron a recolectarse semillas, a pesar de que los máximos desprendimientos ocurrieron 3 ó 4 semanas después, ya que las panojas se encontraban muy protegidas en los recipientes, como se comentó anteriormente.

4. 5. 2 Determinaciones realizadas sobre las semillas recolectadas

En las semillas caídas y recolectadas en cada fecha en las trampas se evaluó: el peso (luego de secarlas al aire y conservarlas en el laboratorio durante al menos 1 mes); el poder germinativo (PG) y la viabilidad, luego de aproximadamente 6 meses posteriores a la finalización del ensayo, para evitar la interferencia de la dormición en la germinación.

Tal como se mencionó previamente, la mayor dehiscencia de semillas en los tres años correspondió al período entre los 35 y los 49 DDA, sin embargo las semillas que tuvieron un desprendimiento más tardío pudieron alcanzar un mayor peso, como se comprobó en las semillas recolectadas en las fechas correspondientes a los 49 y 56 DDA (Tabla 12). En el período 2017-18 se observó que la abscisión más demorada (posterior a los 56 DDA) correspondió a semillas que tenían menor peso, en algunos casos significativamente menor, mientras que en los dos períodos siguientes no se encontraron diferencias estadísticas entre los pesos de las semillas en cada año luego de los 56 DDA. Cuando se compararon los tres períodos para cada

fecha de recolección, se encontró que el peso de las semillas fue aumentando progresivamente, lo que puede atribuirse al mayor estado de desarrollo de las plantas con el consecuente aumento en la eficiencia en la asimilación y distribución de carbono.

Los datos presentados en la Tabla 12 fueron analizados como un diseño desbalanceado, debido a la cantidad de semillas recolectadas que en cada fecha fue diferente. En algunos casos la falta de diferencias encontradas pudo deberse a esta condición. Se podrían haber modificado los valores y presentar “promedios ajustados”, sin embargo la utilización de los datos sin modificar permitió tener una idea general del comportamiento de los parámetros evaluados, pero debe reconocerse que el grado de precisión es menor que cuando se emplean medias ajustadas (Di Rienzo y Romero, 2012).

Otra de las evaluaciones realizadas en las semillas recolectadas fue el poder germinativo (PG), que superó el 20% a partir de los 35 ó 42 DDA y no tuvo diferencias significativas con las fechas posteriores (Tabla 12), así como tampoco entre los tres períodos considerados. El poder germinativo encontrado hasta la cuarta y quinta fechas muestreadas (28 y 35 DDA) fue poco menor debido a la presencia de semillas vanas, sin completar su desarrollo, que no germinaron. Cabe mencionar que el ensayo de germinación se realizó alrededor de 6 meses luego de la recolección de las semillas, para que la dormición tuviera menor incidencia en la germinación. Como se ha discutido en otros capítulos de este trabajo, el PG de las semillas de *Panicum* recientemente cosechadas suele ser muy bajo a causa de la dormición primaria, como parte de su acervo silvestre, junto con la elevada dehiscencia (Giordano *et al*, 2013, Valdéz, 2020). El PG obtenido para las semillas recolectadas no difirió del que se ha determinado en muestras comerciales en otros trabajos por nuestro grupo de investigación (Graff *et al*, 2017; Graff, 2019; Mengatto, 2014; Orazi, 2014).

Tabla 12. Peso de 1000 semillas (mg), porcentaje de germinación (PG) y porcentaje de viabilidad en las semillas recolectadas en cada fecha después de la antesis (DDA), para los tres período analizados en el ensayo en invernáculo.

DDA	Peso de 1000 semillas (mg)			PG (%)			Viabilidad (%)		
	2017-18	2018-19	2019-20	2017-18	2018-19	2019-20	2017-18	2018-19	2019-20
7	--	--	--	--	--	--	--	--	--
14	102 c* A**	125 c A	114 d A	11,33 b A	9,00 b A	10,25 b A	75,25 b A	66,66 b A	60,14 b A
21	354 bc A	342 bc A	432 c A	13,50 b A	12,33 b	11,50 b	70,33 b B	73,60 b B	100,00 a A
28	457 b A	450 b A	505 c A	13,02 b A	18,85 a A	15,26 ab A	100,00 a A	97,25 a A	85,20 ab B
35	501 b A	515 b A	576 bc A	12,00 b B	20,03 a A	21,40 a A	100,00 a A	100,00 a A	100,00 a A
42	620 ab A	703 ab A	726 b A	19,05 a A	20,55 a A	22,33 a A	100,00 a A	100,00 a A	100,00 a A
49	812 a A	870 a A	1055 a A	20,20 a A	21,11 a A	22,05 a A	98,60 a A	100,00 a A	95,50 a A
56	795 a B	890 a AB	1113 a A	22,66 a A	20,45 a A	21,21 a A	100,00 a A	100,00 a A	98,66 a A
63	663 ab B	815 a A	1010 a A	20,30 a A	22,33 a A	19,66 a A	99,00 a A	94,06 a A	100,00 a A
70	714 ab B	865 a A	914 a A	20,50 a A	20,45 a A	21,07 a A	100,00 a A	97,00 a A	100,00 a A
77	576 b B	860 a A	805 ab A	21,00 a A	21,00 a A	21,75 a A	94,60 a A	100,00 a A	85,22 ab B
84	602 ab B	814 a A	808 ab A	20,36 a A	20,87 a A	20,87 a A	100,00 a A	100,00 a A	100,00 a A

* Promedios en una columna seguidos por la misma letra minúscula no difieren significativamente con la prueba de LSD al 5%.

** Promedios en una columna seguidos por la misma letra mayúscula no difieren significativamente con la prueba de LSD al 5%.

La viabilidad de las muestras permitió entender los valores de PG obtenidos, ya que las semillas que no germinaron fueron evaluadas con cloruro de tetrazolio (TTC), debido a que la dormición también podía generar falsas interpretaciones en los ensayos de germinación (Tabla 12). Los valores de viabilidad determinados a los 14 y 21 DDA también se justifican por la presencia de semillas vanas en las muestras recolectadas, tal como se explicó al describir las Figuras 29 y 30 (A y B). Luego, la viabilidad de las semillas aumentó, alcanzando el 100% de viabilidad luego de los 28 DDA y no se encontraron diferencias estadísticas hasta que finalizó la recolección de semillas, en los tres períodos analizados.

La dormición no estuvo relacionada con los picos de dehiscencia sino con el estado de madurez de las semillas. Si las semillas eran viables casi en su totalidad a partir de los 28 DDA, pero su germinación fue significativamente menor al máximo PG obtenido, entre los 42 a los 56 DDA (recuadro rojo en la Tabla 12), puede inferirse que las semillas recogidas a los 14 y 21 DDA tenían un mayor grado de dormición que las que fueron cayendo posteriormente, ya que difirieron en su PG. Así, el menor estado de desarrollo y/o madurez de las semillas puede estar asociado a un menor PG pero también a un mayor grado de dormición, ya que la dormición es un carácter cuantitativo (Bewley, 2012). Para asegurar esta hipótesis deberían realizarse ensayos con una mayor cantidad de observaciones, dado que en las primeras colectas de semillas se recogió muy poco material. También deberían realizarse ensayos bajo diferentes condiciones de crecimiento, porque la dormición está asociada a las condiciones en que se encontraba la planta previamente al desarrollo de la semilla y, en especial, a las imperantes durante la embriogénesis (Battla y Benech-Arnold, 2003). Así, por ejemplo, las altas temperaturas sostenidas en verano, sin alternancia con descensos térmicos nocturnos, podrían causar que las semillas presenten un elevado estado de dormición que, tanto como los otros parámetros evaluados cronológicamente, también puede variar de acuerdo al momento de dehiscencia de las semillas.

En base a lo discutido sobre los datos presentados en la Tabla 12 podría pensarse que las semillas retenidas durante más tiempo seguían ganando peso por acumulación de reservas, o que las semillas más pesadas se retuvieron más. Sin embargo, la explicación que se ha mencionado sobre la formación temprana de las dos zonas de abscisión indicaría que, cuando el tejido primario se desarrolló precozmente, no permitió el llenado ni la retención de semillas que cayeron en las primeras fechas (por ejemplo, con anterioridad a los 42 DDA), para las que

se encontraron diferencias altamente significativas por su menor peso seminal ($p < 0,01$) (Tabla 12). En las semillas más pesadas, la transformación celular en la zona primaria de abscisión debe haberse demorado, razón por la que se continuaron acumulando reservas, lo que explicaría su mayor peso. Y las que se desprendieron más tardíamente (después de los 56 DDA), en las que se registró su disminución progresiva en el peso de 1000, podría haber ocurrido que la zona de abscisión primaria se formara tempranamente, desconectando a la semilla de la planta madre, lo que podría haber causado sus pesos más bajos, pero que reabsorción o colapso de la zona de abscisión fue más tardía, o que la participación de ambas zonas, primaria y secundaria, ocurre en alguna secuencia o combinación que aún desconocemos.

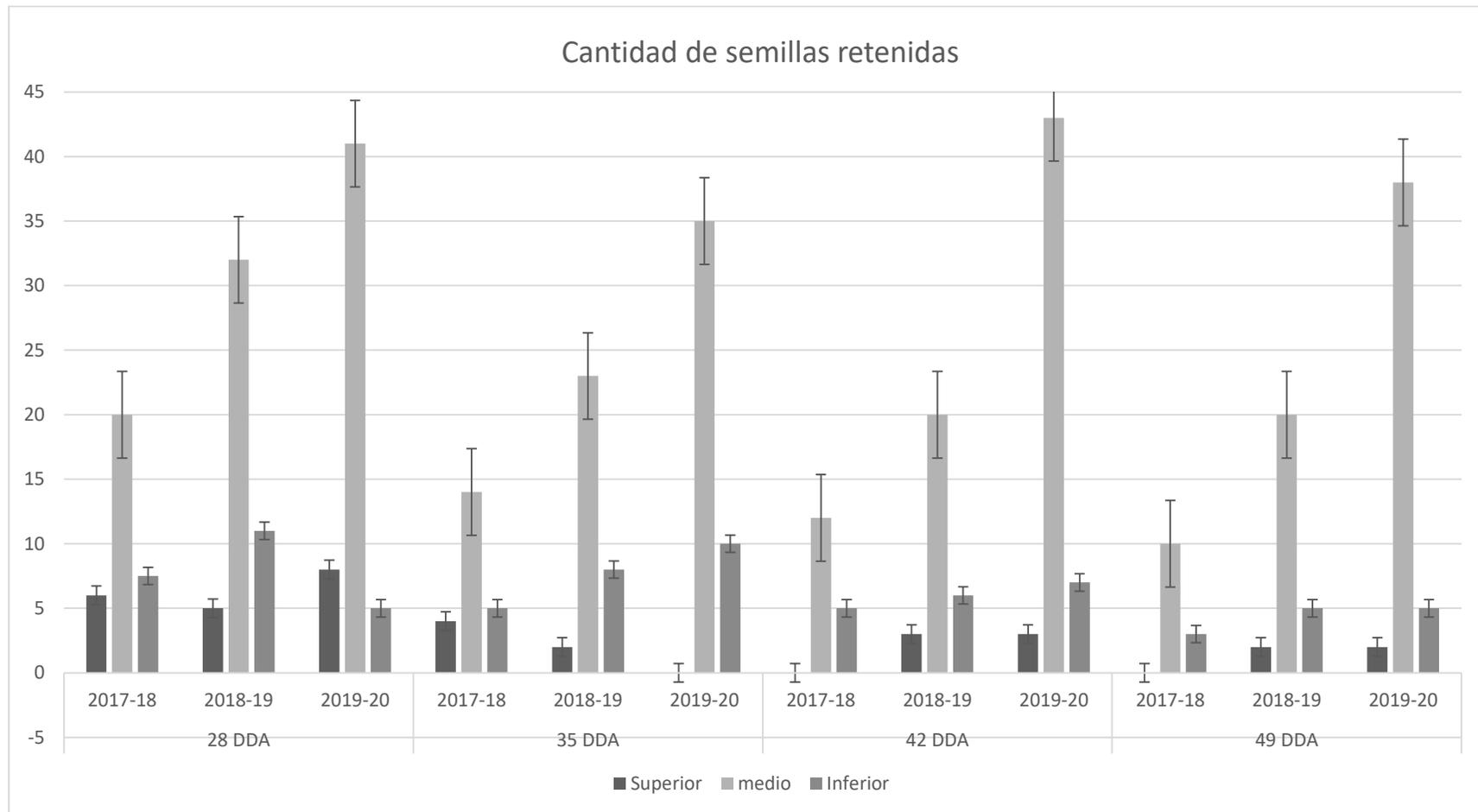
En mijo perenne es difícil determinar el momento en el cual la semilla alcanza la madurez fisiológica, a diferencia de otras especies (*Elymus lanceolatus*, *Elymus trachycaulus*, *Lolium perenne*, *Psathyrostachys juncea*) en las que se ha investigado el proceso de maduración y dehiscencia (Berdahl y Frank, 1998), y su relación con el cambio de coloración de las semillas, en especial la pérdida del color verde y su posterior amarronamiento. Este constituye otro de los problemas que tienen las semillas de mijo perenne, junto con ya descritos como el bajo peso, la maduración asincrónica, la baja retención de semillas y la dormición. Si a todas estas últimas condiciones complejas de las semillas se le suma la dificultad para determinar el momento o período más adecuado para la cosecha, es lógico pensar que la producción de semillas es el aspecto más complejo en esta especie, mucho más que su cultivo, y uno de los determinantes de la baja calidad de las semillas.

4. 5. 3. Evaluación de panojas

Paralelamente al ensayo de recolección de semillas, se herborizaron panojas que no se encontraban encerradas en las trampas, a fin de evaluar los sectores donde permanecían retenidas las semillas. Como se había encontrado que hasta los 21 DDA la cantidad de semillas desprendidas fue muy baja, menos de 2 semillas por panoja (Tabla 11), no se pudo determinar el o los sectores desde donde había ocurrido la dehiscencia. A partir de los 28 y hasta los 49 DDA se desprendió mayor cantidad de semillas (de 2 a 26 semillas por panoja), por lo que en la mayoría de los casos resultó posible identificar los sectores de dehiscencia -con ayuda de una lupa binocular-, ya que quedaban espacios vacíos o cicatrices. Luego de los 49 DDA se cayeron

3 o menos semillas por semana, y nuevamente se dificultó la determinación de los sectores de los que provenían las semillas desprendidas. En base a estas observaciones, y a la posibilidad de adjudicar la abscisión de las semillas a algún sector de la panoja, se evaluaron solamente las fechas entre los 28 a los 49 DDA. Además, para facilitar la identificación de las distintas zonas, y tomando como referencia la longitud del raquis principal, cada panoja se dividió en tres sectores aproximadamente similares, que se denominaron: superior, medio e inferior.

Figura 32. Número de semillas retenidas por panoja, en las muestras herborizadas en cada fecha de recolección, para el período correspondiente desde los 28 a los 49 días después de la antesis (DDA) en los tres ciclos de crecimiento considerados. Las barras representan los desvíos estándar.



En todas las fechas evaluadas se halló que el sector medio fue donde se encontraba la mayor cantidad de semillas retenidas dado que, por la forma romboidal de las panojas, es la parte donde se encuentra la mayoría de las estructuras florales con espiguillas fértiles (Figura 32). La parte superior de la panoja perdió casi todas las semillas alrededor de los 35 DDA, aunque en las fechas posteriores (42 y 49 DDA) se encontraron panojas con una ínfima cantidad de semillas (2 o 3 semillas en el tercio apical). La parte inferior retuvo una pequeña cantidad de semillas, pero fue disminuyendo en el período considerado -desde los 28 a los 49 DDA-.

En las fechas analizadas, la parte media de la panoja aportó más del 80% de las semillas retenidas en las panojas. Comparando entre períodos, se encontró que desde 2017-18 a 2019-20 aumentó en forma altamente significativa la cantidad de semillas retenidas, ya que las plantas habían crecido mucho y producían panojas con mayor cantidad de semillas, es decir que el porcentaje de retención encontrado estuvo asociado a panojas con mayor desarrollo. Esto sería una indicación de que un cultivo de mijo perenne, luego de su implantación, debería dejarse crecer por al menos tres años antes de cosechar las semillas, no solo por la cantidad que pudieron retener sino también porque tuvieron un mayor peso de 1000, como se discutió al analizar los datos presentados en la Tabla 12. Otro aspecto destacable fue que cuando el cultivo alcanzó un mayor desarrollo (en 2019-20) la retención de semillas de la parte media de las panojas no tuvo diferencias estadísticas entre años para el período 28 a 42 DDA.

Por lo discutido anteriormente se puede concluir que la parte apical de las panojas es la que tuvo menor retención, perdió casi la totalidad las semillas, debido a que la maduración es basípeta, como de describió en la Introducción de este capítulo. La parte basal también aportó buena parte del material recolectado a partir de los 42 DDA, y la región media tuvo una pérdida progresiva, pero de menor magnitud relativa a los otros sectores.

A fin de comparar la dehiscencia en las panojas “encerradas” versus las “no encerradas”, se colocaron en otras 10 panojas, unos embudos de papel de filtro para recolectar semillas en las fechas (Figura 33). Se observó que la cantidad de semillas recolectadas en cada fecha fue mayor en estas panojas que en los que se encontraban en los recipientes (datos no presentados), por lo cual mínimos disturbios que pudo haber dentro del invernáculo -como corrientes de aire-

pueden haber favorecido una mayor abscisión. Sería de suponer que, en condiciones naturales de cultivo a campo, la retención descrita precedentemente fuera significativamente menor.

Figura 33. Sistema abierto para controlar la dehiscencia de semillas en panojas.



El momento óptimo de cosecha debería ser cuando haya mayor cantidad de semillas retenidas junto con semillas de mayor peso, porque de esa forma se podría maximizar el rendimiento a cosecha. De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 12, el mayor peso se obtuvo entre los 42 y los 56 DDA, y en especial a los 42 y 49 DDA en 2019-20, cuando sería recomendable comenzar la producción de semillas. Para esas fechas la retención fue elevada (Figura 33), por lo cual, en base a estos resultados la ventana con condiciones óptimas de cosecha se daría luego de 6 a 7 semanas (42 a 49) después de la antesis, ya que además para esas fechas el PG fue significativamente mayor (recuadro rojo en la Tabla 12).

Debe aclararse que estas observaciones se realizaron bajo condiciones especiales de crecimiento y no debe hacerse una extrapolación directa de lo que podría ocurrir a campo, dado que la dehiscencia está influenciada por los factores ambientales, por lo cual la retención y otras características evaluadas podrían comportarse diferente bajo otras condiciones menos controladas.

Como el mijo perenne tiene una buena capacidad de resiembra, la dehiscencia de los primeros años podría colaborar para alcanzar una adecuada densidad de plantas a campo que

permita tener una buena producción de semillas. De todos modos, esa resiembra causará que todos los años haya plantas nuevas, que tendrán menor producción y retención de semillas, lo que reducirá los rendimientos y la calidad, debido a que en la ventana donde se debe cosechar habrá una mezcla de semillas procedentes de plantas de distinta edad (como se indica con el recuadro verde en la Tabla 12).

Por todo lo expuesto precedentemente, es posible aceptar la hipótesis propuesta (pág. 128) en la que se postuló que la baja calidad de semillas en *Panicum coloratum* var. *coloratum* está relacionada con la maduración asincrónica de sus panojas, la elevada dehiscencia durante dicho proceso y el pequeño tamaño seminal, sumado a la dormición primaria de las semillas nuevas. Todos estos rasgos tienen su origen en caracteres genéticos silvestres que aún se mantienen en la especie debido a su escaso mejoramiento.

La información obtenida puede resultar de utilidad para determinar el momento óptimo de cosecha está asociado a obtener la mayor cantidad posible de semillas con el mayor estado de desarrollo.

CAPÍTULO 5.

Consideraciones finales

y perspectivas futuras

Consideraciones finales

Las semillas de *Panicum coloratum* var. *coloratum*, forrajera megatérmica con un bajo grado de domesticación y mejoramiento, conservan muchos caracteres de sus ancestros silvestres, por lo cual presentan algunos problemas mencionados en la bibliografía citada *in extenso* en los capítulos de este trabajo. Dichos problemas se refieren a características tales como el pequeño tamaño, la maduración asincrónica, la elevada dehiscencia y la dormición de las semillas nuevas. Estos rasgos dificultan no sólo la producción de semillas sino también su performance a campo, razón por la cual su cultivo es complejo hasta lograr lotes bien implantados, lo que ha obstaculizado su completa adopción por parte de productores ganaderos en el Sudoeste Bonaerense.

La baja calidad de los lotes comerciales se expresa en una pobre performance durante la germinación e implantación, por ello la obtención de un cultivo bien establecido demora a veces varios años (Petruzzi *et al*, 2003). Estos inconvenientes se pueden solucionar de dos formas, mediante el mejoramiento genético o mejorando la performance de las semillas. El mejoramiento genético escapa a los alcances de este trabajo, pero tal como se discutió en el Capítulo 2, en el que se presentaron los resultados de las ventajas que otorga acondicionamiento de semillas sobre la germinación e implantación, es posible aumentar la eficiencia de implantación aplicando tratamientos pregerminativos mediante distintos métodos de *priming*. Dicho acondicionamiento, que consiste en una prehidratación controlada sin permitir que se alcance la fase de protrusión radicular (Fase III de la germinación, Figura 3), prepara a la semilla tanto desde el punto de vista estructural como fisiológico, por lo que la germinación y establecimiento de la plántula ocurre posteriormente con mayor velocidad y más uniformemente. Es por eso que algunos autores refieren a las técnicas de acondicionamiento como de “invigorización”, ya que la mejora en la performance de las semillas se asocia al aumento en el vigor (Raj y Raj, 2019).

La prehidratación debe ocurrir en forma gradual, debido a que la semilla puede sufrir daños por un ingreso rápido de agua a causa de su bajo potencial hídrico (Hardegree y Emmerich, 1992; Hardegree y Van Vector, 2000). Los resultados obtenidos demostraron que, de los

acondicionamientos aplicados, la mayor efectividad se obtuvo trabajando con temperaturas de 25 °C durante 12 h cuando se realizó mediante *hidropriming* (utilizando solamente agua destilada) y *matripriming* con papel de filtro rápido (de baja retención de agua). Solo el tratamiento de *osmopriming* con cloruro de calcio (CaCl₂) al 2%, también de elevada efectividad, resultó más adecuado cuando se realizó durante 24 h, pero igualmente a 25 °C. Estos datos resultaron consistentes con los informados en diversas publicaciones respecto a que períodos cortos de acondicionamiento fueron más efectivos que lapsos prolongados (de varios días) para diversas especies (Bhati y Ratthore, 1988; Kadiri y Hussaini, 1999; Kulkarni y Eshanna, 1988; Sashidhar *et al*, 1977). Respecto a la temperatura, hay discrepancia si debe hacerse a una menor que la adecuada para la germinación, de forma de demorar esta primera imbibición, o si es conveniente realizarla bajo condiciones térmicas similares a las óptimas de germinación (Hardegree y Emmerich, 1992; Qadir *et al*, 2011; Sánchez *et al*, 2001). En el caso del mijo perenne las temperaturas más adecuadas para germinación son 30 °C diurnos y 20 °C nocturnos, y en nuestro caso se obtuvo que el *priming* fue más efectivo cuando se aplicó a 25 ó 30 °C.

Además, se demostró que la efectividad del acondicionamiento es mucho mayor en semillas nuevas. Como una de las características conservadas de su acervo genético silvestre se expresa en el elevado estado de dormición de las semillas recientemente cosechadas, al acondicionamiento permitiría superar el bajo poder germinativo en especial en semillas frescas. En efecto, el *priming* aumentó muy significativamente el bajo poder germinativo causado por la dormición primaria, llegando a triplicar la capacidad germinativa de las semillas de menos de un año de cosechas cuando fueron acondicionadas respecto de aquellas no acondicionadas (Figura 19).

Tal como se abordó en el Capítulo 3, el *priming* genera una “*memoria de estrés*” o “*memoria de priming*”, activando genes y mecanismos que otorgan a la semilla mayor tolerancia a condiciones desfavorables durante la germinación, la implantación e incluso en etapas posteriores del desarrollo. Así se considera que esta primera experiencia frente al estrés, que constituye la hidratación-deshidratación que implica el *priming*, le brinda a la semilla una “tolerancia cruzada” que la posiciona en mejores condiciones para tolerar cualquier estrés

biótico o abiótico (Bruce *et al*, 2007; Chen y Arora, 2013; Ibrahim, 2016). Sobre la base de estos principios se evaluó la respuesta de semillas de mijo perenne previamente acondicionadas a deficiencia hídrica y de salinidad durante la germinación e implantación, dado que son condiciones frecuentes que podrían ocurrir en el Sudoeste Bonaerense durante el cultivo. Se encontró que el *priming* mejoró la tolerancia a dichas condiciones de estrés, ya que el efecto del déficit hídrico y de la salinidad afectó en forma significativamente menor a las semillas acondicionadas, y las plántulas originadas de ellas también tuvieron una respuesta superior cuando se evaluaron parámetros de crecimiento, mortandad de plántulas, de estabilidad de membranas celulares y estado hídrico. Si bien el *Panicum coloratum* var. *coloratum* es una forrajera apropiada para ser cultivada en ambientes con moderada restricción hídrica -incluso superior a la de otras variedades de la especie-, los resultados encontrados demostraron que la tolerancia al estrés hídrico fue menor que a la salinidad, al menos dentro de los rangos ensayados. Resultados similares se habían encontrado en otros trabajos llevados a cabo por investigadores de la Universidad Nacional de La Pampa y el INTA (Ruiz y Terenti, 2012) y por nuestro grupo de investigación.

En pos de buscar el origen de la baja calidad de las semillas, durante los últimos años de este trabajo se llevaron a cabo ensayos en invernáculo para estudiar cronológicamente los procesos de maduración, dehiscencia y retención, presentados en el Capítulo 4. La información obtenida permitió entender que durante los dos primeros años la cantidad de semillas producidas es muy baja, así como su retención en las panojas. Recién a partir del tercer año las plantas producen inflorescencias con mayor capacidad de producción y retención de semillas. A pesar de que estos parámetros aumentaron, la maduración asincrónica se mantuvo como un rasgo establecido en la especie, lo que explica la presencia de semillas vanas e inmaduras que reducen la calidad comercial a cosecha (Tischler y Ocumpaugh, 2004).

Por un lado, la elevada dehiscencia favorece la resiembra natural, lo cual podría contribuir a obtener lotes con una adecuada densidad de plantas, pero por otro, la aparición secuencial de nuevas plantas, con baja capacidad productiva, siempre va a causar que se produzcan semillas con distinto grado de madurez y panojas con pocas semillas que reducirán el rendimiento y la calidad. Asimismo, la elevada dehiscencia en los primeros años podría favorecer el aumento de

la cobertura del suelo con la resiembra natural, solucionando posibles defectos de la maquinaria durante la siembra (Petruzzi *et al*, 2003).

Otro aspecto que se pudo establecer fue que luego de 7 a 8 semanas después de la antesis se desprendieron las semillas con mayor peso y que las retenidas en las panojas habían alcanzado un peso significativamente mayor luego de 5 semanas (35 días) después de la antesis. Si bien el peso de las semillas puede aumentarse por mejoramiento, la determinación del momento más adecuado para la cosecha, en relación al mayor peso y cantidad de las semillas, es importante a fin de maximizar los rendimientos (Tomás *et al*, 2016). También se encontró que la parte media de la panoja es la que aporta la mayor cantidad de semillas, debido a su forma y a la cantidad de espiguillas fértiles presentes, pero una mayor permanencia de las semillas en las panojas no asegura la retención ni el aumento de peso, por lo que no cosechar en la ventana adecuada aumenta el riesgo de pérdidas. Esto permite conocer la “ventana” más adecuada para determinar el momento de cosecha de esta especie, para la que no se han establecido parámetros claros y objetivos de cosecha.

Si la tendencia de los resultados obtenidos en este trabajo, realizado en condiciones controladas de laboratorio y semicontroladas en invernáculo, fuera aplicable a lo que ocurre en condiciones naturales, se puede concluir que para disminuir los costos de siembra y asegurar una mejor implantación, sería conveniente aplicar alguno de los métodos de acondicionamiento, ya que al aumentar la eficiencia de las semillas permitiría reducir la densidad de siembra, en particular cuando las semillas tengan bajo poder germinativo y/o elevada dormición. El acondicionamiento además otorgaría mayor tolerancia a eventos ambientales desfavorables, lo que aseguraría una mayor supervivencia y desarrollo de plántulas bajo dichas condiciones.

Perspectivas futuras

Este trabajo es parte de una investigación llevada adelante por un equipo de docentes investigadores en el marco de un Proyecto de Grupos de Investigación (PGI) financiado y

desarrollado en la Universidad Nacional del Sur. A partir de la información generada hasta el momento surge la necesidad de profundizar el conocimiento de los efectos del acondicionamiento aplicado a semillas de mijo perenne e incluso desarrollar protocolos para probar otros procedimientos de *priming* aún no estudiados. Por ejemplo, *osmopriming* con extractos orgánicos, como los hojas de moringa (Basra *et al*, 2009; Nouman *et al*, 2012a; 2012b; Yasmeen *et al*, 2013), u otros *osmobiopriming*, también mediante agregados de inóculos bacterianos o fúngicos (Bisen *et al*, 2015; Raj y Raj, 2019); incluso podría ensayarse la aplicación de estimulantes o de hormonas (*hormopriming*), como giberelinas, citocininas, ácido ascórbico, ácido jasmónico, poliaminas, vitaminas, o bien con soluciones con micronutrientes (Basra *et al*, 1997; Kasinathan y Wingler, 2004, Zapata *et al*, 2003), que es la tendencia actual sobre el acondicionamiento (Hussain *et al*, 2019).

Aún faltan dilucidar muchos de los efectos fisiológicos causados por el acondicionamiento sobre rutas metabólicas (Ashraf y Wahid, 2000; Blunk *et al*, 2019; Ingam y Bartel, 1996; Kamboh *et al*, 2000; Salam, 1999), procesos de señalización (Al-Harbi, 1995; Franco *et al*, 1999) y modificaciones en la expresión génica (Salam, 1999; Shinokazi y Yamaguchi- Shinokazi, 2000), que podrían ser la base de las respuestas observadas a campo en semillas acondicionadas (Cassaro-Silva, 2002; Harris *et al*, 1999; Ingram y Bartel, 1996; Kumar *et al*, 2002). Recientemente se ha orientado la búsqueda de beneficios no solo a nivel fisiológico sino también otros de tipo morfológico, ya sea en la semilla misma luego del acondicionamiento como posteriormente durante el desarrollo de la plántula y de la planta adulta (Blunk *et al*, 2019; Raj y Raj, 2019). Todos estos procesos han sido citados en abundante bibliografía, pero sería importante conocer si las observaciones realizadas en otras especies bajo distintas condiciones de acondicionamiento operan en el mijo perenne y de qué manera se expresan.

Como las combinaciones para aplicar el acondicionamiento de semillas son incalculables, aún quedan mucho por analizar sobre los efectos de esta técnica en mijo perenne, así como los beneficios que genera tanto en etapas tempranas como en el rendimiento final, aunque habría que definir qué resultados se buscan para acotar y orientar mejor la investigación. Ya que el cultivo de esta especie puede tener doble propósito, producción de forraje y de semillas, convendría evaluar el efecto del acondicionamiento sobre su calidad forrajera, su capacidad de

rebrote, etc., y por otro lado si existe un correlato entre los beneficios del acondicionamiento sobre la etapa vegetativa que se exprese en la producción y calidad de las semillas al momento de cosecha. También sería importante continuar con el estudio de la maduración y dehiscencia seminales, dos de los principales problemas de la especie. Algunos de estos hallazgos pueden ser de importancia para mejoradores y genetistas, que aún tiene muchos aspectos en los cuales enfocarse para el mejoramiento de la especie.

Por último, la información obtenida sobre el acondicionamiento de semillas, realizado en este trabajo sobre pequeñas muestras y en condiciones de laboratorio, podría resultar la base de una tecnología para aplicar en mayor escala, como ha ocurrido con otras tales como el peleteado, incorporación de inoculantes, fungicidas, etc. También es un aspecto que escapa los alcances de esta tesis, pero si se quieren trasladar los resultados obtenidos para la siembra a campo, se debería formalizar algún tipo de vinculación con laboratorios de semillas o con la industria semillera, que tengan capacidad de aplicar y ofrecer los beneficios del acondicionamiento en una especie que aún requiere mucho esfuerzo para mejorar su performance.

Bibliografía

- Abdel-Ghani, A.H. 2009. Response of wheat varieties from semi-arid regions of Jordan to salt stress. *J. Agron.Crop Sci.* 95, 55-65.
- Achakzai, A.K.K. 2011. Effect of water stress on imbibition, germination and seedling growth of sorghum cultivars. *Sarhad J. Agric.* 27(4): 603-610.
- Achilli, A. L., Baioni, S. S.; Graff, X.; Fioretti, M. N.; Brevedan, R. E. y Goñi, M. 2017. Pregerminative treatments effects on *Panicum coloratum* L. cultivar Bambatsi - Makarikariense seeds. 9th International Herbage Seed Group (IHSG) Conference. Pergamino, Argentina.
- Adams, C. A y Rinne, R. W. 1980. Moisture content as a controlling factor in seed development and germination. *Int. Rev. Cytology* 68, 1–8.
- Alcaraz Ariza, F. J. 2012. Salinidad y vegetación. Geobotánica, tema 18 (versión 11 de marzo de 2012). Universidad de Murcia, España.
- Al-Harbi, A. R. 1995. Growth and nutrient composition of tomato and cucumber seedlings as affected by sodium chloride salinity and supplemental calcium. *J. Plant. Nutr.* 18, 1403–1416.
- Al-Karaki, G.N. 1998. Response of wheat and barley during germination to seed osmopriming at different water potential. *J. Agron. Crop Sci.* Vol. 181 (4): 229-235.
- Amjad, M., Ziaf, K.; Iqbal, Q.; Ahmad, I.; Atif Riaz, M. y Saqib, Z. A. 2007. Effect of seed priming on seed vigour and salt tolernace in hot pepper. *Pak. J. Agri. Sci.* Vol. 44(3): 408.
- Andrade, M. I., Laporta, P. y Iezzi, L. 2009. Sequías en el Sudoeste Bonaerense: vulnerabilidad e incertidumbre. *Geograficando* 5 (5), 213-233.
- Armando L.V. 2014 Caracterización morfológica y molecular de *Panicum coloratum* var. *makarikariense* Goossens. Tesis Doctoral. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, 193 pp.
- Armando, L.V., Carrera, A.D. & Tomás, M.A. 2013. Collection and morphological characterization of *Panicum coloratum* L. in Argentina. *Genet. Resour. Crop Evol.* 60,1737–1747 Disponible en URL: <https://doi.org/10.1007/s10722-013-9982-3>
- Armando, L. V. 2014. Caracterización morfológica y molecular de *Panicum coloratum* var. *makarikariense* Goossens. Tesis doctoral, UNS. 193 pp.
- Ashraf, M.; Wahid, S. 2000. Time-course changes in organic metabolites and mineral nutrients in germinating maize seeds under salt (NaCl) stress. *Seed Sci Technol.* 28, 641–656.

- Assefa, M. K. 2008. Effect of seed priming on storability, seed yield and quality of soybean [*Glycine max* (L.) Merill]. Department of seed science and technology college of agriculture, dharwad university of agricultural sciences, Dharwad – 580 005.
- Azcón Bieto, J. y Talón, M. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2da Edición. 2013. McGraw-Hill Interamericana de España, S. L. Publicacions I Edicions de la Universitat de Barcelona. 669 pp.
- Badia Villas, D. 1992. Suelos afectados por sales. *Bull. Soc. Cat. Cien.* Barcelona, Vol. XIII.
- Baily, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.* 14: 93-107.
- Baily C, El-Maarouf-Bouteau H, Corbineau F. 2008. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes Rendus Biologies* 331 (10):806-814.
- Baioni, S.S., M.N. Fioretti y R.E. Brevedan. 2017a. Tratamientos para mejorar la performance de semillas de pasturas: una herramienta tecnológica para el aumento de la sustentabilidad agropecuaria. Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales Argentinos y Latinoamericanos. UBA, Buenos Aires, Argentina.
- Baioni, S. S.; Fioretti, M. N.; Brevedan, R. E; Torres Carbonell, C.; Lauric, A. y Marinissen, A. 2015a. Implantación sustentable de pasturas megatérmicas en el sudoeste bonaerense. Actas de IV Congreso Internacional del Agua.
- Baioni, S. S.; Fioretti, M. N.; Brevedan; R. E.; Fernández Moroni, I.; Goñi, M. y Orazi, M. D. 2017b. Germination and establishment of perennial millet (*Panicum coloratum* L. var Verde) under water deficit and salinity. 9th International Herbage Seed Group (IHSB) Conference. Pergamino, Argentina.
- Bajji, M.; Kinet, J. M. y Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 00: 1–10.
- Baldwin, I. T. y Schmelz, E. A. 1996. Immunological “memory” in the induced accumulation of nicotine in wild tobacco. *Ecology* 77, pp.236-246.
- Balestrazzi, A.; Confalonieri, M.; Marcovei, A. y Carbonera, D. 2011. Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn. Expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress. *J. Plant Physiol.* 168: 706-713.
- Bandera, R.; Bertram, N.; Bolleta, A.I.; Chiacchiera, S.; Ferri, J. M.; Galíndez, G.; Lauric, M. A.; Malagrina, G. M.; Otondo, J.; Petrucci, H. J.; Stritzler, N. P. y Torres Carbonell, C. 2013. Las gramíneas forrajeras megatérmicas en la región templada de Argentina. *Cuadernillo Técnico INTA*.

- Barrs, H. D. y Weatherley, P. E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15: 413-428.
- Basra, R. K.; Basra, A. S., Malik, C. P. y Grover, I. S. 1997. Are polyamines involved in the heat-shock protection of mung bean seedlings? *Bot Bull Acad Sin.* 38, 165–169.
- Basra, S. M. A., Pannu, I. A. y Afzal, I. 2003. Evaluation of Seedling Vigor of Hydro and Matriprimed Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Seeds Int. J. Agric. Biol.* 121–123.
- Basra, S. M. A.; Farooq, M.; Hafeez, K y Ahmad, N. 2004. Osmohardening: a new technique for rice invigorization. *Int. Rice Res. Notes* 29, 74–75.
- Basra, S. M. A.; Farooq, M.; Hafeez, K. y Ahmad, N. 2006. Osmohardening: a new technique for rice invigoration. *Seed Sci Tech.* 34: 507-512.
- Basra, S. M. A, Zahar M., Rehman H., Yasmin A., Munir H. 2009. Evaluating the response of sorghum and moringa leaf water extracts on seedling growth in hybrid maize. In: Proceedings of the International Conference on Sustainable Food Grain Production: Challenges and Opportunities. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, pp. 22.
- Batlla, D. y Benech-Arnold, R. L. 2003. A quantitative analysis of dormancy loss dynamics in *Polygonum aviculare* L. seeds: Development of a thermal time model based on changes in seed population thermal parameters. *Seed Sci. Res.* 13: 55–68
- Bazzigalupi, O.; Pistorale, S. M. y Andrés, A. N. 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). *Cien. Inv. Agr.* 35(3): 277-285.
- Berdahl, J. D. y Frank, A. B. 1998. Seed Maturity in Four Cool-Season Forage Grasses. *Agronomy J.*, Vol. 90: 483-488.
- Bertín, O.D. 2009. Diagnóstico y prospectiva de los forrajes y pasturas en Argentina. *Producir XXI*.
- Bertonatti, C. y Corcuera, J. 2000. Situación Ambiental Argentina 2000. *Fundación Vida Silvestre Argentina*. Buenos Aires. 437 pp.
- Bewley J. D. 2001. Seed: germination and reserve mobilization. En: Nature Publishing Group. Encyclopedia of Life Sciences. Washington Wiley.
- Bewley, J. D. 2012. Dormancy and the Control of Germination. En: Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy, 3ra Edición. Derek Bewley, Kent Bradford, Henk Hilhorst, Hiroyuki Nonogaki (Eds). Springer. pp.: 247-297.
- Bewley, J. D. y Black, M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. V. 2. Viability, dormancy and environmental control. Berlín, Springer-Verlang. 375 pp.

- Bewley, J. D. y Black, M. 1985. Seeds: physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1985. 367 pp.
- Bewley J. D. y Black M. 1994. Seeds: germination, structure and composition. En: J.D. Bewley y M. Black, Eds, Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, W. M., Nonogaky, H. 2013. Seed. Physiology of development, germination and dormancy. Third Edition. Springer. New York, U.S.A. 392 p.
- Bhandari, H. S.; Ebina, M.; Bouton, J. H.; Rudrabhatla, S. V. y Goldman, S. L. 2011. *Panicum*. In: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Millets and Grasses. C. Kole (Ed.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 11: 175-196
- Bhati, D. S. y Rathore, S. S. 1988, Effect of agrochemicals as seed soaking treatment and foliar spray on nutrient content and uptake in late sown wheat. *Madras Agric. J.* 75 (9/10): 362-364.
- Blum, A. 1989. Osmotic adjustment and growth of barley genotypes under drought stress. *Crop. Sci.* 29, 230-235.
- Blum, A. 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Res.* 112: 119–123
- Blunk, S., Malik, A. H., de Heer, M. I., Ekblad, T., Bussell, J., Sparkes, D., Fredlund, K., Sturrock, C. J., y Mooney, S. J., 2017. Quantification of seed–soil contact of sugar beet (*Beta vulgaris*) using X-ray Computed Tomography. *Plant Methods* 13, 71. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0220-4>.
- Blunk, S., Malik, A.H., de Heer, M.I., Ekblad, T., Fredlund, K.e., Mooney, S.J. y Sturrock, C.J., 2017b. Quantification of differences in germination behaviour of pelleted and coated sugar beet seeds using x-ray computed tomography (x-ray CT). *Biomed. Phys. Eng. Express* 3, 1–11. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aa7c3f>
- Blunk, S.; de Heer, M. I.; Malik, A. H. Fredlund, K.; Ekblad, T. Sturrock, C. J. y Mooney, S. J. 2019. Seed priming enhances early growth and improves area of soil exploration. *Environ. Experm. Botany* 158: 1-11.
- Bogdan A. V. 1977. Tropical pasture and fodder plants. Tropical Agriculture Series. Longman, London. 475 pp.
- Bolleta, A. 2009. Producción forrajera de especies megatérmicas en el Sudoeste de la Provincia de Buenos Aires. INTA EEA Bordenave. *Revista Acción Rural*, Año 16, N° 77.

- Borrajo, C. I. 2015. Impacto de las fechas de siembra en la implantación de megatérnicas. *INTA Informa* N° 34.
- Bradford, K. J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming improve germination under stress conditions. *HortScience* 21: 1105-1112.
- Bradford, K. J. 1990. A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiol.* 94: 840-849.
- Bradford, K. J. 1995. Water relations in seed germination. En: Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Eds.). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp: 351-396.
- Bradford, K. J., Steiner, J. J. y Trawatha, S. E. 1990. Seed priming influence on germination and emergence of pepper lots. *Crop Sci.* Vol. 30: 718-721.
- Bradford, K. J. 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Sci.* 50: 248-260.
- Bray, C. M., Kigel, J. y Gali, G. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. En: Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA, p. 767-789.
- Bray, C.M., Davison, P.A., Ashraf, M. y Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. *Ann Bot.* 63: 185-193.
- Brecke, B. J. y Duke, W. B. 1980. Dormancy, Germination and Emergence Characteristics of Fall *Panicum* (*Panicum dichotomiflorum*) Seed. *Weed Sci.* Vol. 28 (6): 683-685.
- Bruce, T. J. A.; Matthes, M. C.; Napier, J. A. y Pickett, J. A. 2007. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science* Vol. 173 (6): 603–608
- Bryant, W. G. 1966. Interim Assessment of Introduced Plants - N°1 *Panicum coloratum*. *Plant Introd. Rev.* 3: 18-33.
- Burson, B. L. 1980. Warm-season grasses. p. 695-708. In W.R. Fehr and H.H. Hadley (Ed.) Hybridization of crop plants. CSSA and ASA, Madison, WI
- Burson, B. L. y Young, B. A. 1983. Pollen-pistil interactions and interspecific-incompatibility among *Panicum antidotale*, *P. coloratum*, and *P. deustum*. *Euphytica* 32:397-405.
- Burson, B. L., Correa, J. y Potts, H. C. 1978. Anatomical study of seed shattering in bahiagrass and dallisgrass. *Crop Sci.* 18 (1): 122-125.
- Burson, B. L.; Correa, J. y Potts, H. C. 1983. Anatomical basis for seed shattering in kleingrass and guineagrass. *Crop Sci.* 23: 747-751.

- Bush, E.W.; Wilson, P.; Dennis, P. Shepard, D.P. y Mc Clure, G. 2000. Enhancement of seed germination in common carpetgrass and centipedegrass seed. *Hort Sci.* 35 (4): 769-770.
- Busso C. A., Fernández O. A. 2018. Arid and Semiarid Rangelands of Argentina. En: *Climate Variability Impacts on Land Use and Livelihoods in Drylands*, Gaur M. y Squires V. (Eds.), pp: 261-295.
- Busso, C. A.; Montani, T.; Becker, G. F y Orchansky, A. L. 1993. Fenología y crecimiento de *Stipa tenuis* y *Piptochaetium napostaense*. Efectos de la defoliación. Reunión Argentina de Ecología, Puerto Madryn, Argentina.
- Camejo, D. y Torres, W. 2000. La salinidad y su efecto en los estadios iniciales del desarrollo de dos cultivares de tomate. *Cultrop (Hav)*. 21 (2): 23 - 26.
- Campo, A.M.; Ramos, M.B. y Zapperi, P.A. 2009. Análisis de las variaciones anuales de precipitación en el suroeste bonaerense, Argentina. Disponible en URL: <http://observatoriogeografico.americalatina.org.mx/egal12/Procesosambientales/Climatologia/16>.
- Cardinali, F. J., Orioli, G. A. y Pereyra V. R. 1985. Comportamiento de dos híbridos de girasol a bajas densidades de siembra. *Rev. Fac. de Agronomía* 6: 131-139.
- Casado, A.; Campo A. M. 2019. Extremos hidroclimáticos y recursos hídricos Cuadernos Geográficos 58 (1). Extremos hidroclimáticos y recursos hídricos: estado de conocimiento en el suroeste bonaerense, pp. 6-26
- Caseiro, R., Bennett, M. A. y Marcos-Filho, J. 2004. Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. *Seed Sci. Technol.* 32: 365–375.
- Casenave, E. C. y Toselli, M. E. Hydropriming as a pre-treatment for cotton germination under thermal and water stress conditions. *Seed Sci. Technol.* 35: 88-98
- Cassaro-Silva, M. 2002. Pre-hydration and dehydration effect on *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn. (Caesalpinaceae) seed germination under saline stress. *Rev Agr.* 77, 231–242.
- Chaves, M. M.; Pereira, J. S.; Maroco, J.; Rodrigues, M. L.; Ricardo, C. P; Osorio, M. L.; Carvalho, I.; Faria, T y Pinheiro, C. 2002. How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Ann. Bot.* Vol. 89 (7): 907–916.
- Checovich, M. L. y Ruiz, M. A. 2011. Dormición de la semilla en diferentes lotes de *Panicum coloratum* cv. Verde; Estudio Rolando. *Análisis de Semillas* 18 (4): 58-61.
- Chen Q., Zhang W. H. y Liu Y.L. 1999. Effect of NaCl, glutathione and ascorbic acid on function of tonoplast vesicles isolated from barley leaves. *J. Plant Physiol.* 155: 685–690.

- Chen, K. y Arora, R. 2013. Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Env. Exp. Bot.* 94: 33-45.
- Chojnowski, M., Corbineau, F. y Côme, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. *Seed Sci. Res.* Vol. 7: 323-331.
- Chomontowski, C.; Wzorek, H. y. Podlaski, S. 2019. Impact of sugar beet seed priming on seed quality and performance under diversified environmental conditions of germination, emergence and growth. *J. Plant Growth Reg.* <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09973-2>.
- Cirelli, A. y Volpedo, A. 2002. Las tierras secas de Iberoamérica. El agua en Iberoamérica; De la escasez a la desertificación. CYTED XVII, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Aprovechamiento y gestión de recursos hídricos. Disponible en URL: http://www.produccion-animal.com.ar/agua_cono_surde_america/31tierras_secas_iberamerica.htm
- Comezaña, M. M. 2014. Evaluaciones fisiológicas en *Gramma rhodes*: un recurso forrajero para suelos salinos y sódicos. Trabajo de Intensificación Profesional. UNS.
- Comezaña, M. M., Baioni, S. S.; Fioretti, M. N.; Bredan, R. E.; Orazi, M. D. y Fernández Moroni, I. 2017. Tolerance to salinity and water deficiency of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth). 9th International Herbage Seed Group (IHSG) Conference. Pergamino, Argentina. 31 de octubre al 2 de noviembre de 2017.
- Cook, B.; Pengelly, B.; Brown, S.; Donnelly, J.; Eagles, D.; Franco, M.; Hanson, J.; Mullen, B.; Partridge, I., Peters, M. y Schultze-Kraft, R. 2005. Tropical forages: an interactive selection tool (CD room), CSIRO, DPI&F (Qld) and ILRI, Brisbane, Australia.
- Cuthbertson, E. G. 1970. *Chondrilla juncea* in Australia. 3. Seed maturity and other factors affecting germination and establishment. *Aust. J. Exp. Agric. An. Husb.* 10 (42): 62 – 66.
- Darwin, C. 1855a. Vitality of seeds. *Gardeners' Chronicle and Agricultural Gazette* 46: 758
- Darwin, C. 1855b. Longevity of seeds. *Gardeners' Chronicle and Agricultural Gazette* 52: 854.
- Darwin, C. 1855c. Effect of salt-water on the germination of seeds. *Gardeners' Chronicle and Agricultural Gazette* 47: 773
- Darwin C. 1855 d. Does sea water kill seeds? *Gardeners' Chronicle and Agricultural Gazette* 15 and 21, 242: 356–357

- Dawood, M. G. y EL-Awadi M. E. 2015. Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with melatonin. *Acta B. Colombiana* 20: 223-35. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n2.43291>.
- De León M. 2004. Ampliando la frontera ganadera. De León, M. Ed. Proyecto Ganadero Regional. *Informe Técnico* N° 1. INTA Manfredi, Córdoba. 29 pp.
- De León, M. 2009. Utilización de pasturas megatérmicas. *Rev. Braford* 25 (61): 66-69.
- Dell' Aquila, A. y Tritto, V. 1990. Ageing and osmotic priming wheat seeds: Effects upon certain components of seed quality. *Annals of Botany* 65: 21-26.
- Delouche, J. C.; Burgos, N. R.; Gealy, D. R.; Zorrilla de San Martín, G. y Labrada, R. 2007. Weedy rices – origin, biology, ecology and control. Chapter 4. Seed shattering and dormancy in weedy rices. FAO Plant Production and Protection, Rome. Paper N° 188. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. 144 pp.
- Demir, I. y Mavi, K. 2004. The effect of priming on seedling emergence of differentially matured watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds. *Scientia Hort.* 102, 467-473. doi:10.1016/j.scienta.2004.04.012.
- Deregibus, V. A., Doll, U.; D'angela, E.; Kropfl, A. y Frascina, A. 1982. Aspectos ecofisiológicos de dos forrajeras estivales de los pastizales de la depresión del Salado (*Paspalum dilatatum*, Poir. y *Bothriochloa laguroides*, D.C.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, Universidad de Buenos Aires. Tomo 3. N° 1, p 57-74.
- Di Paolo, C. 2019. Evaluaciones del mijo perenne durante la germinación, implantación y maduración de las semillas. Tesina de grado o trabajo de Intensificación Profesional, UNS.
- Di Rienzo, J. A. y Romero, M. C. 2012. LSMeans 2.0. Un paquete R para el cálculo de medias ajustadas para Modelos Lineales y Lineales Generalizados Mixtos. *X Congreso Latinoamericano de Sociedades de Estadística*. Disponible en URL: <http://conferencias.unc.edu.ar/index.php/xclatse/clatse2012/paper/viewPaper/86>. Última modificación 18/08/2012.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C. W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar>
- Di Vittori, V.; Gioia, T.; Rodriguez, M.; Bellucci, E.; Bitocchi, E.; Nanni, L.; Attene, G.; Rau, D. y Papa, R. 2019. Convergent evolution of the seed shattering trait. *Genes* (Basel) 10: 68. (Hammer, K. 1984. *Das Domestikations syndrom. Die Kulturpflanze* 32, 11–34: citado en esta publicación).
- Dona, M.; Balestrazzi, A.; Mondoni, A.; Rossi, G.; Ventura, L.; Buttafava, A.; Marcovei, A. Sabatini, M.E.; Valassi, A. y Carbonera, D. 2013. DNA prolifing, telomere analysis and

antioxidant properties as tool for monitoring ex situ seed longevity. *Ann. Bot.* 1111: 987-998.

- Dong, Y. y Wang, Y. 2015. Seed shattering: from models to crops. *Front. Plant Sci.* N° 24.
- Dreher, N.; Pisani, M.; Tomás, M. A. y Berone, G. D. 2008. Producción y dinámica de la dehiscencia de semillas de poblaciones de *Panicum coloratum* var *makarikariense*. *Rev. Arg. Prod. An.* 28 (1): 349-543.
- Duclos, D. V.; Dennis T. Ray, D. T.; Johnson, D. J. y Taylor, A. G. 2013. Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): understanding the physiology and mechanisms of coat-imposed seed dormancy. *Ind. Crops and Products* Vol. 45: 377-387.
- Durán, D. 1998. Las sequías como riesgo natural. En: La Argentina ambiental. Naturaleza y Sociedad. Buenos Aires, Lugar Editorial. pp. 71-138.
- Dutta, P. 2018. Seed priming: New vistas and contemporary perspectives. En: Advances in Seed Priming. Rakshit, Amitava, Singh, Harikesh Bahadur (Eds.). Springer Nature. pp: 3-22.
- Edwards, G. E. y Voznesenskaya, E.V. 2011. C4 Photosynthesis: Kranz Forms and Single-Cell C4 in Terrestrial Plants (Capítulo 4). En: C4 Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating mechanisms, A. S. Raghavendra y R.F. Sage Eds. Advances in Photosynthesis and Respiration Book Series (AIPH, volume 32). Springer Verlag.
- El-Keblawy, A. 2004. Salinity effects on seed germination of the common desert range grass, *Panicum turgidum*. *Seed Sci. Technol.* Vol. 32(3): 873-878.
- Ellis, R. H. y Roberts, E. H. 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. En: Seed Production, P.D. Hebblethwaite Ed., pp. 605-635, Butterworths, London
- Ellis, R. H.; Osei-Bonsu, K. y Roberts, E. H. 1982. Dissection and germination of seeds of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Seed Sci. Technol.* 10: 509-515.
- Ely, J. E. 1963. The influence of treating tomato seed with nutrient solutions on emergence rate and seedling growth. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 83: 684-687.
- Ely, P. R. y Heydecker, W. 1981. Fast germination of parsley seeds. *Scientia Hort.* 15: 127-136.
- Eskandari, H. 2012. Germination and field performance of differentially maturity seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum*) as affected by seed priming. *Int. J. Agric. Res. Rev.* 2 (6): 857-861.
- Everari, M. 1984. Seed physiology: its history from antiquity to the beginning of the 20th century. *Bot. Rev.* 50: 119-142.

- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/statistics/es/> (consultado en marzo de 2017).
- Farooq, M., Irfan, M.; Ahmad, I y Cheema, S. A. 2013. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance in wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 199: 12-22
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Rehman, H. y Saleem, B. A. 2008. Seed priming enhances the performance of wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving chilling tolerance late sown. *J. of Agronomy and Crop Science*, 94, 55-60.
- Farooq, M.; Basra, S. M. A.; Saleem, B. A.; Nafees M. y Chishti, S. A. 2005. Enhancement of tomato seed germination and seedling vigor by osmopriming. *Pak. J. Agri.* Vol. 42 (3-4): 36-41.
- Farooq, M.; Hussain, M.; Wahid, A. y Siddique; K. H. M. 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. En: *Plant Responses to Drought Stress*. pp 1-33.
- Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D. y Basra, S. M. A. 2009. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. *Sustainable Agric.* pp. 153-188.
- Farooq, M.; Basra, S. M. A.; Hafeez, K. y Ahmad, N. 2004. Optimization of seed hardening techniques for rice seed invigoration. *Emir. J. Food Agric.* 16 (2): 48-57. Doi: 10.9755/ejfa.v12il.5019.
- Fazlali, R.; Asli, D. E. y Moradi, P. 2013. The effect of seed priming by ascorbic acid on bioactive compounds of naked seed pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) under salinity stress. *Int. J. Farm. Alli. Sci.* 2: 587-90.
- Fernández Moroni, I. 2016. *Helianthus annuus* L. naturalizados en Argentina con atributos de interés para la mejora del girasol. Tesis de Doctorado, UNS. Argentina. 233 pp.
- Ferrándiz, C. 2002. Regulation of fruit dehiscence in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* Vol. 53 (377): 2031–2038.
- Ferri, C. M. 2011. The seasonal and inter-annual patterns of biomass accumulation and crude protein in kleingrass (*Panicum coloratum*) in the semiarid Pampean region of Argentina. *Ciencia e Investigación Agraria* 38: 191-198.
- Ferri, C. M., Stritzler, N.P., Brizuela, M. A. y Petrucci, H. J. 2003. In vivo digestibility of kleingrass from fecal nitrogen excretion. *J. of Range Man.* 56: 52-55.
- Fioretti, M. N., Baioni, S. S.; Fernández Moroni; I. y Brevedan, R. E. 2017. Temperature, water deficiency and salinity in germination and early growth of *Digitaria eriantha* cv. Irene. 9th International Herbage Seed Group (IHSG) Conference. Pergamino, Argentina. 31 de octubre al 2 de noviembre de 2017.

- Franco, O. L., Filho, J. E., Prisco, J. T., Filho, E. G. 1999. Effects of CaCl₂ on growth and osmoregulator accumulation in NaCl stressed cowpea seedlings. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 11, 145–151.
- Galantini, J. A.; Iglesias, J. O.; Maneiro, C.; Santiago, L.; Kleine, C. 2006. Sistemas de labranza en el Sudoeste Bonaerense. Efectos a largo plazo sobre las fracciones orgánicas y el espacio poroso del suelo. *RIA*, 35 (1): 15-30.
- Galland, M.; Huguet, R.; Arc, E.; Cueff, G.; Job, D. y Rajjou, L. 2014. Dynamic proteomics emphasizes the importance of selective mRNA translation and protein turnover during *Arabidopsis* seed germination. *Mo. Cell Proteomics* 13: 252-268.
- Giordano, M.; Berone, G. y Tomás, M. A. 2013. Selection by seed weight improves traits related to seedling establishment in *Panicum coloratum* L. var. *makarikariense*. *Plant Breeding* 1-5.
- Girolamo, G. y Barbanti, L. 2012. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming. *Ital. J. Agron.* 7(2): e25-e25
- Goh, C. H.; Gil Nam, H. y Park, S. 2003. Stress memory in plants: a negative regulation of stomatal response and transient induction of rd22 gene to light in abscisic acid-entrained *Arabidopsis* plants. *Plant J.* 36, pp. 240-255.
- Golberg, A. D.; Ruiz, M.; Quiroga, A. y Fernández, O. A. 2011. ¿Qué le sucede a un cultivo cuando no llueve? *Ediciones INTA*. 93 pp.
- González, Y.; Reino, J.; Sánchez, J. A.; Fung, C. y Machado, R. 2005. Validación de la técnica de hidratación-deshidratación en semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. *Pastos y Forrajes*, 28 (2): 117-126.
- Goossens, A. P. 1934. Notes on African grass XVI. En: Bull. of miscellaneous information, *Royal Gardens, Kew*, 5: 195-202.
- Gorai, M. y Nefatti, M. 2007. Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperatura. *Annals of Applied Biology* 151; 53-59.
- Gould, F. W. y Shaw, R. B. 1983. Grass systematics, 2nd Ed. Texas A&M University Press, College Station.
- Graff, X. Y. 2019. Implantación de mijo perenne: evaluación de estrategias de tolerancia a deficiencia de agua y salinidad, y precondicionamiento de semillas. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. Trabajo de intensificación.
- Graff, X.; Baioni, S. S.; Fioretti, M. N.; Bredan, R. E.; Fernández Moroni, I.; Achili, A.L. y Goñi, M. 2017. Preconditioning of perennial millet (*Panicum coloratum* L. var Verde) seeds. 9th International Herbage Seed Group (IHSG) Conference. Pergamino, Argentina. 31 de octubre al 2 de noviembre de 2017.

- Grunberg, K., Bollati, G. P. y Biderbost, E. B. 2010. *Mejoramiento genético de especies forrajeras para ambientes diversos*. Proyecto de investigación INTA. URL: <http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/446/> y <https://inta.gob.ar/proyectos/AEFP-261001>.
- Guan, B., Zhou, D. H., Zhang, T. Y., Japhet, W. y Wang, P. 2009. Germination responses of *Medicago ruthenica* seeds to salinity, alkalinity, and temperature. *J. Arid Envir.* 73: 135-138.
- Gummerson, R. J. 1986. The Effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *J. of Experimental Botany*, Vol. 37 (179): 719-741.
- Guy, P. A. y Black, M. 1998. Germination-related proteins in wheat revealed by differences in seed vigour. *Seed Sci. Res.* 8: 99-111.
- Hacisalihoglu, G. y Ross, Z. 2010. The influence of priming on germination and soil emergence of non-aged and aged annual ryegrass sedes. *Seed Sc. and Tech.*, Vol. 38 (1): 214-217.
- Hameed, A.; Sheikh, M. A.; Jamil, A. y Basra, S. M. A. 2013. Seed priming with sodium silicate enhances seed germination and seedling growth in wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit stress induced by polyethylene glycol. *Pak. J. of Life and Social Sciences* 11 (1): 19-24.
- Hardegree, S. 1994. Drying and storage effects on germination of primed grass seeds. *J. Range Manage.* 47: 196-199.
- Hardegree, S. P. 1996. Optimization of seed priming treatments to increase low-temperature germination rate. *J. Range Manage.* 49: 87-92.
- Hardegree, S. P. y Emmerich, W. E. 1990. Partitioning Water Potential and Specific Salt Effects on Seed Germination of Four Grasses. *Annals of Bot.*, Vol. 66 (5): 587-595.
- Hardegree, S. y Emmerich, W. E. 1992. Effect of Matric-priming duration and priming water potential on germination of four grasses. *J. Exp. Bot.* 43 (247): 233-238.
- Hardegree, S. P. y Emmerich, W. E. 1992. Effect of matric-priming duration and priming water potential on germination of four grasses. *J. Exp. Bot.* 43: 233-238.
- Hardegree, S. P. y Van Vector, S. 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and stimulated-fiel temperature regimes. *Annals of Botany* 85: 379-390.
- Harris, D. 1992. Staying in control of rainfed crops. In "Proceedings of the First Annual Scientific Conference of the SADCC/ODA Land and Water Management Programme": 257-262. Gaborone, Botswana.

- Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. y Sodhi, P. S. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: Development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Exp. Agr.* 35, 15–29.
- Harris, D.; Tripathi, R. S. y Joshi, A. 2002. On-farm seed priming to improve crop seed priming to improve crop establishment and yield in dry direct-seeded rice. En: Pandey, S.; Mortimer, M.; Wade, L.; Tuong, T.P.; López, K. y Hardy, B. Eds. *Direct Seeding Research Strategies and Opportunities. Int. Rice Research Inst. Manila, Filipinas*, pp 231-240.
- Harty, R. L.; Hopkinson, J. M.; English, B. H. y Alder, J. 1983. Germination, dormancy and longevity in stored seed of *Panicum maximum*. *Seed Sci. Tech.* 11 (2): 341-351.
- Hatch, M. D. 1987. C4 photosynthesis; a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochem. Biophys. Acta*, 895, 81-106.
- Hattersley, P. W. y Watson, L. 1992. Diversification of photosynthesis. En: Chapman, G.P. Grass evolution and domestication. Disponible en URL: <https://books.google.com.ar/books?pg=PA116&lpg=PA116&dq=Grass+Systematics+and+Evolution+pp+287-306.&source=bl&ots=pmeGWkzpwL&sig=ACfU>
- Hayes, J. M. 1994. Global methanotrophy at the Archean-Proterozoic transition. En: Bengtson S, Ed. Early life on Earth. New York, NY, USA: Columbia University Press, 220–236.
- Hela, M.; Zargouni, H.; Tarchoune, I.; Baatour, O.; Nasri, N. y Ben Massoud, R. 2012; Combined effect of hormonal priming and salt treatments on germination percentage and antioxidant activities in lettuce seedlings. *Afr. J. Biotechnol.* 11: 10373-80.
- Henckel, P. A. 1982. Fisiología de la resistencia de las plantas al calor y la sequía (en ruso). *Nauka*, Moscú, 280 pp.
- Hernández, L. F. y Orioli, G. A. 1992. Incidencia del número de frutos cosechables en la determinación del potencial de rendimiento del cultivo de girasol. *Proceder Agrotecnológico* 4: 56-63.
- Hernández, O. A. 1985. Avances en el conocimiento de algunos factores que afectan la producción de las pasturas cultivadas (Conf.). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 5 (1-2): 4166.
- Heydecker, W. 1973. Germination of an Idea: The Priming of Seeds, School of Agriculture Research, University of Nottingham, Nottingham, pp. 50-67.
- Heydecker, W. y Coolbear, P. 1977. Seed treatments for improved performance: Survey and attempted prognosis. *Seed Sci. Technol.* 5: 353-425.

- Heydecker, W., Higgins, J. y Gulliver, R. L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* Vol 246: 42-44.
- Heydecker, W., Higgins, J., and Turner, Y.J. 1975. Invigoration of seeds? *Seed Sci. and Technol.*, 3 (3/4): 881-888.
- Honorable Consejo de Diputados de la Pcia. de Buenos Aires. 2012. Opinión Consultiva sobre Proyecto de Ley D-3151/11-12. Creación del Plan de Desarrollo del Sudoeste Bonaerense.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Of Plant Phys.* 24: 519-570.
- Hu, H.; Mauro-Herrera, M. y Doust, A. N. 2018. Domestication and Improvement in the Model C4 Grass, *Setaria*. *Front. Plant Sci.* 29 Disponible en URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00719>
- Hu, X. W., Wu, Y. P. y Ding, X. Y. 2014. Seed dormancy, seedling establishment and dynamics of the soil seed bank of *Stipa bungeana* (*Poaceae*) on the Loess Plateau of northwestern China. *PLoS One*. 9 (11): e112579. doi:10.1371/journal.pone.0112579.
- Hubbard, M.; Germida, J. y Vujanovic, V. 2012. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. *Botany* 90: 137-149
- Hussain, S.; Hussain, S.; Khaliq, A.; Ali, S. y Khan, I. 2019. Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects of Seed Priming. En: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. M. Hasanuzzaman y V. Fotopoulos Eds. Springer. pp 43-62.
- Ibrahim, E. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *J. Plant Phys.* 192: 38-46.
- ICID 2010 (Conferencia Internacional sobre Clima, Sostenibilidad y Desarrollo de las Regiones Semiáridas). Conclusiones Ceremonia de Apertura, Fortaleza, Brasil
- INDEC. 2015. Instituto Nacional de Estadística y Censos de Argentina. Disponible en URL: http://www.indec.gov.ar/agropecuaria/cna_principal.asp
- Ingram, J. y Bartels, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Ann. Rev Plant Mol Biol* 47: 377-403.
- Iqbal, M.; Ashraf, M.; Jamil, A. y Rehman, S. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plants under salt stress? *J. of Integrative Plant Biol.* 48 (2): 181-189.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2016. Reglas internacionales para ensayos de semillas. Disponible en URL: <https://www.seedtest.org/en/international-rules-content-1-1083.html>

- Kadiri, M. y Hussaini, M. A. 1999. Effect of hardening pretreatments on vegetative growth, enzyme activities and yield of *Pennisetum americanum* and *Sorghum bicolor*. *Global J. Pure Appl. Sci.* 5: 179–183.
- Kadkol, G. P., Halloran, G. M. y MacMillan, R. H. 1989. Shatter resistance in crop plants. *Critical Rev.Plant Sci.* 8: 169-188.
- Kamboh, M. A., Oki, Y. y Adachi, T. 2000. Effect of pre-sowing seed treatments on germination and early seedling growth of wheat varieties under saline conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.* 46: 249– 255.
- Kasinathan, V. y Wingler, A. 2004. Effect of reduced arginine decarboxylase activity on salt tolerance and on polyamine formation during salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* 121: 101–107.
- Kaya, M. D.; Okcu, G.; Atak, M.; Cikili, Y. y Kolsarici, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Europ. J. Agronomy*: 291–295.
- Kermodé, A R. y Bewley, J. D. 1989. Developing seeds of *Ricinus communis* L. when detached and maintained in an atmosphere of high relative humidity, switch to a germinative mode without the requirement for complete desiccation. *Plant Physiol.* 90: 702–707.
- Kermodé, A. R. y Bewley, J. D. 1985. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. *J. Exp. Botany* 36: 1906–191.
- Khajeh-Hosseini, M., Lomholt, A. y Matthews, S. 2009. Mean germination time in the laboratory estimates the relative vigour and field performance of commercial lots of maize. *Seed Sc. Technol.* 37: 446-461.
- Khajeh-Hosseini, M., Powell, A. A. y Bingham, I. J. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. *Seed Sci. Technol.* 31: 715–725.
- Khalid, M. F.; Hussain, S.; Anjum, M.; Ejaz, S.; Ahmad, M.; Jan, M.; Zafar, S.; Zakir, I.; Ali, M. I.; Ahmad, N.; Rao, M.J. y Ahmad, S. 2019. Hydropriming for plant growth and stress Tolerance. En: Hasanuzzaman M., Fotopoulos V. (eds) *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Springer, Singapore. pp 373-384.
- Khan, A. A. 1977. Preconditioning, germination and performance of seeds. En: *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. Khan, A.A. Ed. Elsevier/North Holland, Amsterdam, pp. 283-316.
- Khan, A. A. 1991. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 13: 131-181.

- Khan, A. A.; Karsen, C. M.; Leve, E. F. y Roe, C. H. 1979. Preconditioning of seeds to improve performance. In: Plant regulation and world agriculture. T.K. Scott Ed. Plenum, New York, pp. 395-413.
- Khan, F. A.; Bhat, S. A.; Narayan, S.; Maqbool, R.; Murtuza, I. y Khan, F. U. 2017. Seed deterioration and priming – An Overview. *SKUAST J. of Res.* 19 (1): 12-21.
- Khan, M. A. 1991. Studies on germination of *Cesca cretica*. *Pak. J. Weed Sci. Res.* 4: 89-98.
- Khan, M. A. y Rizvi, Y. 1994. Effect of salinity, temperatura and growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Canadian J. Bot.* 72 (4): 475-479.
- Khan, M. A.; Zaheer, A. y Hameed, A. 2006. Effects of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *J. of Arid Envir.* 67: 535-540.
- Knight, H.; Brandt, S. y Knight, M. R. 1998. A history of stress alters drought calcium signalling pathways in *Arabidopsis*. *Plant J.* 16 () 681–687.
- Kulkarni, N. G. y Eshanna, M. R. 1988. Effect of pre-soaking of maize seeds on seed quality. *Seed Res.* 16 (1): 37-40.
- Kumar, A; Gangwar, J. S.; Prasad, S. C. y Harris, D. 2002. On-farm seed priming increases yield of direct-sown finger millet in India. *Int Sorghum Millets Newsl.* 43, 90–92.
- Lane, B. G. 1991. Cellular desiccation and hydration: developmentally regulated proteins, and the maturation and germination of seed embryos. *FASEB Journal* 5, 2893–2901
- Lauric, A.; Torres Carbonell, C.; De Leo, G.; Marinissen, A.; Cerdá, C.; Baioni, S.; Fioretti, M. y Comezana, M. 2014. Relevamiento de la calidad de semilla de mijo perenne (*Panicum coloratum*) en la zona de Bahía Blanca para el ajuste de las densidades de siembra en los sistemas regionales. INTA. (Boletín) Agencia de extensión Bahía blanca. EEA Bordenave.
- Lee, S. 2007. Plant growth regulators and shattering control in cool-season perennial grasses. *Tesis de Master of Science (M.S.)*, Oregon State University. Disponible en URL: https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate_thesis_or_dissertations/8623j082j.
- Lemke, B. M.; Gibson, L. R.; Knapp, A. D.; Dixon, P. M. Moore, K. J. y Hintz, R. 2003. Maximizing seed production in Eastern gamagrass. *Agronomy J.* Vol. 95 (4): 863-869.
- Leopold, A. C. 1990. Coping with desiccation. Pp 57–86. En: Alscher, R G and Cumming, J R (Eds). *Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms*. New York, Wiley-Liss, Inc.
- Leprince, O.; Hendry, G. y McKersie, B. 1993. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Sci. Res.* 3 (4), 231-246.

- Leprince, O., Deltour, R., Thorpe, P. C., Atherton, N. M. y Hendry, G. A. F. 1990. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays*) L. *New Phytologist* 116, 573–580.
- Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Second Edition, Vols. I-II. Academic Press, New York & London. 497 pp.
- Levitt, J. y Hamm, P. C. 1943. A method of increasing the rate of seed germination of *Taraxacum* KOK- SAGHYZ. *Plant Physiol.* 1943 Apr; 18 (2): 288–293.
- Lin, Z. Griffith, M. E.; · Li, X.; · Zhu, Z.; Tan, L.; · Fu, Y.; · Zhang, W.; Wang, X.; Xie, D. y Sun, C. 2007. Origin of seed shattering in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* 226, 11–20.
- Lin, Z., Li, X. y Shannon, L. 2012. Parallel domestication of the shattering genes in cereals. *Nat. Genet.* 44, 720–724.
- Liu, X.; Tu, B.; Zhang, Q. y Herbert, S. J. 2019. Physiological and molecular aspects of pod shattering resistance in crops. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 55: 87-92.
- Lodge, G. M.; McCormick, L. H. y Roworth, B. R. 2009. Seed yield, dormancy and seedling survival of some perennial tropical grasses in northern New South Wales. *Proceedings of the 24th Annual Conference of the Grassland Society of NSW.*
- Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Kubala, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., Garnczarska, M. 2016. Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique. In: Susana Araujo S, Balestrazzi A (eds) New Challenges in Seed Biol. - *Basic Transl. Res. Driv. Seed Technol.* pp. 1–49.
- Lynch, R. M. y Clegg, J. S. 1986. A study of metabolism in dry seeds of *Avena fatua* L. evaluated by incubation with ethanol 1-¹⁴C. In: “Membranes, metabolism and dry organisms”, A.C- Leopold, ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York.
- Maguire, J. D. 1962 Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2, 176-177.
- Mahajan, G.; George-Jaeggli, B.; Walsh, M. y Chauhan, B. S. 2018. Effect of soil moisture regimes on growth and seed production of two Australian biotypes of *Sisymbrium thellungii*. *Front. Plant Sci.* Disponible en URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01241>.
- Maina, M. 2012. Variabilidad en caracteres relacionados a la producción de semilla en poblaciones de *Panicum coloratum* var. makarikariense. Tesis de Magister. UNR-INTA. 82 pp.
- Maina, M., Armando, L., Tomás, M. A. y Berone, G. 2012. Efectos directos e indirectos de caracteres morfológicos sobre la producción de semillas en *Panicum coloratum* var. makarikariense. *Jornadas Latinoamericanas de Recursos Genéticos, Mejoramiento y Biotecnología de Especies Forrajeras.* Pergamino, Buenos Aires, Argentina. P48, p. 129.

- Maki, T. E. 1940. Significance and Applicability of Seed Maturity Indices for Ponderosa Pine. *J. Forestry*, Vol. 38 (1): 55–60. Disponible en URL: <https://doi.org/10.1093/jof/38.1.55>
- Malaviya, D. R.; Vijay, D.; Gupta, C. K.; Roy, A. K. y Kaushal, P. 2013. Quality seed production of range grasses – A major constraint in revitalizing tropical pastures. *Trop. Grass*. Vol. 1: 97–98.
- Marañón, T.; García, L. V. y Toncoso, A. 1989. Salinity and germination of annual Melilotus from Guadalupe Delta (SW). *Plant Soil* 119: 223-228.
- Marcovei, A. y Tuteja, N. 2013. Different expression of miRNA targeting helicases in rice in response to low dose rate γ -ray treatments. *Plant Sign. Behaviour* 8: e25128.
- Marcovei, A.; Garg, B.; Raikwar, S.; Balestrazzi, A.; Confalonieri, M.; Carbonera, D.; Buttafava, A.; Bremont, J. F. J.; Gil, S. S. y Tuteja, N. 2014. Synergistic exposure of rice seeds to different doses of gamma ray and salinity stress resulted in increases antioxidant enzyme activities and gene specific modulation of TC-NER pathway. *Biomed Res. Int.* 2014: 676934.
- Massoud, F. I. 1971. A note on the need for accented definitions and methods of characterization of salts affected soils. In: Reunión de la Subcomisión de Suelos Salinos. Sevilla, España. Libro de Resúmenes, pp. 8-13.
- Matilla, A.; Gallardo, M. y Puga-Hermida, M. I. 2005. Structural, physiological and molecular aspects of heterogeneity in seeds: a review. *Seed Sci. Res.* 15: 63-76.
- 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 (*Zea mays*). *Seed Sci. Technol.*, 35, 200-212.
- Mauromicale, G. y Cavallaro, V. 1995. Effects of seed osmoconditioning on germination of tomato at different water potentials. *Seed Sci. Technol.* 23: 393-403.
- Mavi, K.; Demir, I. y Matthews, S. 2010. Mean germination time estimates the relative emergence of seed lots of three cucurbit crops under stress conditions K. *Seed Sci. Technol.*, 38, 14-25.
- May, L. H.; Milthorpe, E. J. y Milthorpe, F. L. 1962. Pre-sowing hardening of plants to drought. *Field Crop Abstr.* 15: 93-98.
- Mayer, A. M y Poljakoff-Mayber, A. 1989. *The Germination of Seeds*, 4 edn. Pergamon Press, Oxford. 285 pp.
- McDonald, M. B. 2000. Seed priming. En: *Seed Technology and its Biological Basis*, M. Black y J. D. Bewley, Eds., pp. 287–325. SheYeld Academic Press Ltd., SheYeld.

- McKimmie, T. y Dobrenz, A. K. 1987. A method for evaluation of salt tolerance during germination, emergence, and seedling establishment. *Agron. J.* 79, 943–945.
- Melo, O. y Boetto, C. 1993. Gramíneas tropicales y templadas. Características y zonas de adaptación. 1ª Ed. Córdoba. Hemisferio Sur. 32 pp.
- Mengatto, E. A. 2014. Estudio de las estrategias de implantación y de la calidad forrajera en pasto llorón y mijo perenne. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. Trabajo de intensificación.
- Mengatto, E. A.; Orazi, M.D.; Baioni, S.S.; Fioretti, M.N. y Brevedan, R.E. 2015a. *Priming*: germinación de semillas osmoacondicionadas de *Panicum coloratum*. Actas de XIX Congreso Brasileiro de Sementes. Foz de Iguazú. Octubre 2015.
- Mengatto, E. A.; Orazi, M. D. y Baioni, S. S. 2015b. Tratamientos pregerminativos de *priming* en semillas de *Panicum coloratum*. Actas de XV Congreso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Foz de Iguazú. Octubre 2015.
- Mengatto, E. A.; Orazi, M. D. y Baioni, S. S. 2015c. Germinación de *Panicum coloratum* con acondicionamiento de priming. Actas de III Jornadas Patagónicas de Biología, II Jornadas Patagónicas de Ciencias Ambientales y V Jornadas Estudiantiles de Ciencias Biológicas.
- Mengatto, E. A.; Orazi, M. D. y Baioni, S. S. 2015d. Efecto de *priming* en la implantación de mijo perenne. Actas de III Jornadas Patagónicas de Biología, II Jornadas Patagónicas de Ciencias Ambientales y V Jornadas Estudiantiles de Ciencias Biológicas.
- Michel, B. E. y Kaufmann, M. R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916.
- Milthorpe, F. L. y Moorby, J. 1979. An introduction to crop physiology. 2nd. Edition. Cambridge University Press, N.Y.
- Mishra Vija, A. K. y Singh, P. 2010. A review of drought concepts. *J. Hydrology*, Vol. 391 (1–2): 202-216.
- Mohammed, S. y Sen, D. 1990. Germination behavior of some halophytes in Indian desert. *J. Exp. Biol.* 28: 545-549.
- Montalvo; D; Degryse, F.; da Silva, R. C.; Baird, R. y McLaughlin, M. J. 2016. Agronomic effectiveness of Zinc sources as micronutrient fertilizer. *Advances in Agronomy*, 139: 215-267.
- Moore, K. J. 1995. Quantifying Developmental Morphology of Perennial Grasses. *Crop Science*, Vol. 35 (1): 37-43.

- Moore, K. J.; Moser, L. E.; Vogel, K. P.; Waller, S. S.; Johnson, B. E. y Pedersen, J. F. 1991. Describing and quantifying growth stages of perennial forage grasses. *Agron. J.* Vol. 83 (6): 1073-1077.
- Moosavi, A.; Tavakkol-Afshari, R.; Sharif-Zadeh, F. y Ayneband, A. 2009. Seed priming to increase salt and drought stress tolerance during germination in cultivated species of Amaranth. *Seed Sci. Technol.* 37: 781-785.
- Moresco Lirusso, M. F.; Castagnani, L.; Cicetti, G.; Pratta, G.; Sacido, M. B. y Felitti, S. A. 2018. *Panicum coloratum* var. *makarikariense* cv. Kapivera y *Panicum coloratum* var. *makarikariense* cv *Bambatsi*: evaluación de la producción estacional de forraje y análisis de pérdida de semilla. XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores, U.N. de Cuyo, Mendoza, Argentina.
- Munns, R. y Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Murphy, A. H. y Lusk, W. C. 1961. Timing medusahead burns: To destroy more seed - save good grasses. *California Agriculture* 15 (11):6-7.
- Nicora, E. G. y Rúgolo de Agrasar, Z. E. 1987. Los géneros de gramíneas de América austral. Ed. Hemisferio Sur. 611 pp.
- Nilsen, E. T. y Orcutt, D. M. 1996. Physiology of plants under stress. Abiotic factors. John Wiley and Sons, New York, NY. 351 pp.
- Nimesha, F.; Humphries, T.; Florentine, S. K. y Chauhan, B.S. 2016. Factors affecting seed germination of feather fingergrass (*Chloris virgata*). *Weed Science* 64: 605-612.
- Nouman, W., Basra, S. M. A.; Siddiqui, M. T.; Khan, R. A. y Mehmood, S. 2012 a. Seed priming improves the growth and nutritional quality of rangeland grasses. *Int. J. Agric. Biol.*, 14: 751–756
- Nouman, W.; Siddiqui, M. T. y Basra, S. M. A. 2012b. *Moringa oleifera* leaf extract: An innovative priming tool for rangeland grasses. *Turk. J. Agric. For.* 36: 65-75. doi:10.3906/tar-1009-1261.
- Nouman, W.; Siddiqui, M. T.; Basra, S. M. A.; Afzal, I. y Rehman, H. 2012d. Enhancement of emergence potential and stand establishment of *Moringa oleifera* Lam. by seed priming. *Turk J Agric For* 36:227-235
- Nouman, W.; Basra, S. M. A.; Yasmeen, A.; Gull, T.; Hussain, S. B. Zubair, M. y Rehman, G. 2014. Seed priming improves the emergence potential, growth and antioxidant system of *Moringa oleifera* under saline conditions. *Plant Growth Regul.* Vol 73 (3): 267-278.

- Ogawa, N. S., Seneme, A. M.; Mendonca, C.; Ferriani, A. P. 2016. Submersão de sementes de feijão do grupo preto e desenvolvimento inicial de plântulas. *Nucleus*, Vol. 13 (2): 283-290.
- Oluoch, M. O. y Welbaum, G. E. 1996. Effect of postharvest washing and post-storage priming on viability and vigour of sixyear- old muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds. *Seed Sci. Technol.* Vol. 24, p. 195-206.
- Orazi, M. D. 2014. Eficiencia en la implantación de mijo perenne (*Panicum coloratum* L.) en el sudoeste bonaerense bajo deficiencia hídrica y salina. Depto. de Agronomía. Universidad Nacional del Sur. Trabajo de Intensificación profesional.
- Orazi, M. D.; Mengatto, E. A.; Baioni, S. S. y Comezaña, M. M. 2015a. Germinación de *Panicum coloratum* y *Chloris gayana* bajo deficiencia hídrica y salinidad. Actas del XIX Congresso Brasileiro de Sementes. Foz de Iguazú. Octubre 2015.
- Orazi, M. D.; Mengatto, E. A.; Baioni, S. S. 2015b. Eficiencia en la implantación de *Panicum coloratum* bajo déficit hídrico y salinidad. Actas del XV Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal - I Conferência Brasil-Israel de Ciências de Plantas. Foz de Iguazú. Brasil. Noviembre 2015.
- Orazi, M. D.; Mengatto, E. A. y Baioni, S. S. 2015c. Implantación de *Panicum coloratum* en el sudoeste bonaerense bajo estrés hídrico y salino. Actas de III Jornadas Patagónicas de Biología, II Jornadas Patagónicas de Ciencias Ambientales y V Jornadas Estudiantiles de Ciencias Biológicas.
- Orta, R.; Pozo, L.; Pérez, E. y Espinosa, I. 1983. Aplicación de tratamientos pregerminativos a semillas de siratro *Macroptilium atropurpureum* (Moc & Sessé) Urb. Memorias del I Simposio de Botánica. La Habana, Cuba. Tomo V, p. 251
- Orta, R.; Sánchez, J. A.; Muñoz, B.; Calvo, E. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana* 121: 1-8.
- Paparella, S., Araújo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Rep.* 34, 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>.
- Paredes, S. S. 2015. Evaluación de biomasa aérea y subterránea en pasturas megatérmicas creciendo con limitaciones edáficas en la región pampeana semiárida. Tesis de Magister. 85 pp.
- Parera, C. A. y Cantliffe, D. J. 1994. Presowing Seed Priming. *Hortic. Rev.* Vol. 16: 109- 141.
- Patade, V. Y.; Maya, K. y Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. *Res. J. Seed Sci.* 4: 125-136.

- Peláez, D. V.; Blázquez, F. R. y Tizón, F. R. 2018. Consideraciones para el manejo y restauración de pastizales naturales. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Presidencia de la Nación. 27 pp.
- Petruzzi, H. J.; Strizler, N. P.; Adema, E. O; Ferri, C. M y Pagella, J. H. 2003. Mijo perenne. *Publicación Técnica N°51*. EEA Anguil. Ediciones INTA. 28 pp.
- Pittaro, G.; Cáceres, L.; Bruno, C.; Tomás, A.; Bustos, D.; Monteoliva, M.; Ortega, L. y Taleisnik, E. 2015. Salt tolerance variability among stress-selected *Panicum coloratum* cv. Klein plants. *Grass and Forage Science* 1-16.
- Piwowarczyk, B.; Tokarz, K. y Kamińska, I. 2016. Responses of grass pea seedlings to salinity stress in *in vitro* culture conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 124: 227–240.
- Privitello, L. M. J.; Orive, J. y Rosa, S. T. 2010. Implantación de especies perennes megatérmicas en un pastizal natural del área medanosa de San Luis, Argentina. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas* 44 (2): 179-184.
- Purugganan, M. y Fuller, D. 2009. The nature of selection during plant domestication. *Nature* 457: 843–848. <https://doi.org/10.1038/nature07895>.
- Qadir, I.; Khan, Z. H.; Khan, R. A. y Afzal, I. 2011. Evaluating the potential of seed priming techniques in improving germination and early seedling growth of various rangeland grasses. *Pak. J. Bot.* 43 (6): 2797-2800.
- Qi, M. Q. y Redmann, R. E. 1993. Seed germination and seedling survival of C3 and C4 grasses under water stress. *J. Arid Envir.* Vol. 24 (3): 277-285
- Quarín, C. y Lombardo, E. P. 1986. Niveles de ploidía y distribución geográfica de *Paspalum quadrifarium* (Gramineae). *Mendeliana* 7: 101-107.
- Raj, A. B. y Raj, S. K. 2019. Seed priming: An approach towards agricultural sustainability. *J. Appl. Nat. Sci.* 11 (1): 227-234.
- Raya-Pérez, J. C. y Aguirre-Mansilla, C. L. 2008. Aparición y evolución de la fotosíntesis C4. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(1): 45-50, 2008.
- Rehman, H. U.; Kamran, M.; Basra, S. M. A.; Afzal, I. y Farooq, M. 2015. Influence of seed priming on performance and water productivity of direct seeded rice in alternating wetting and dryin. *Rice Science* 22 (4): 189-196.
- Renolfi, R. 1989. Producción y manejo de forrajeras introducidas y nativas en el Chaco semiárido. Forrajeras y cultivos adecuados para la región chaqueña semiárida. *FAO-Chile*, pp. 59-69.

- Ries, R. E. y Svejcar, T. J. 1991. The grass seedling: *when it is established?* *J. Range Man.* 44 (6): 574-576.
- Romero-Murcia, J. E. 2019. Propagation and seed conservation potential of *Symplocos theiformis* (L. f.) from Bogotá. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* 43 (169): 653-660.
- Rouhi, H. R.; Aboutalebian, M. A. y Sharif-Zadeh, F. 2011. Effects of hydro and osmopriming on drought stress tolerance during germination in four grass species. *International Journal of AgriScience* Vol. 1 (2): 701-774. *Int. J. AgriScience* Vol. 1(2): 701-774.
- Ruiz, M. A., Golberg, A. D. y Martínez, O. 2008. Water stress and forage production in *Tetrachne dregei* Nees, *Panicum coloratum* L. and *Eragrostis curvula* (Schrad) Nees. *Phyton* Vol. 77: 7-20, Disponible en URL: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S185156572008000100002&lng=es&nrm=iso.
- Ruiz, M. y Terenti, O. 2012. Evaluación comparativa de cuatro especies forrajeras bajo condiciones de estrés hídrico y salino durante la germinación. *Agriscientia*, Vol. 29 (2): 91-97.
- Ruiz, M. B. y Parera, C. A. 2013. Efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación de *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae). *Acta Biol. Colombiana*, Vol. 18 (1): 99 -106.
- Sadeghian, S. Y. y Yavari, N. 2004. Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *J. Agron. Crop Sci.* 190: 138–144.
- Sage, R. F. 2004. The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytol.* Vol. 161 (2): 341-370.
- Salama, K. H. A. y Mansour, M. M. F. 2015. Choline priming-induced plasma membrane lipid alterations contributed to improved wheat salt tolerance. *Acta Physiol. Plant.* 37: 1-7. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-015-1934-4>
- Sallam, H. A. 1999. Effect of some seed-soaking treatments on growth and chemical components on faba bean plants under saline conditions. *Ann. Agr. Sci.* 44, 159–171
- Salomon, J. y Samudio, A. 2015. Efecto del estrés salino en la germinación y vigor de las semillas de *Panicum maximum* Jacq. Variedades Tanzania y Mombasa. *Compend. Cienc. Vet. [online]*, Vol. 5 (2): 23-31. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2015.05.02.23-31>.
- Sánchez Rendón, J. A. y Muñoz García, B. 2002. Tratamientos pregerminativos de hidratación parcial de las semillas. Una vía para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación. *Acta Bot. Cubana* N°163-167, 7 pp.
- Sánchez, J. A.; Calvo, E.; Muñoz, B. C. y Orta, R. 1999. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. *Cultivos Tropicales* 20 (4): 51-56.

- Sánchez, J. A.; Orta, R. y Muñiz, B. C. 2001. Tratamiento pregerminativo de hidratación-deshidratación y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agr. Costarr.* 25 (1): 67-92.
- Santini, B. y Martorell, C. 2013. Does retained-seed priming drive the evolution of serotiny in drylands? An assessment using the cactus *Mammillaria hernandezii*. *Am. J. of Bot.* 100: 365-373.
- Sashidhar, V. R., Mekhri, A. A., y Krishna Sastry, K. S. 1977. Proline accumulation in relation to seed hardening in groundnut genotypes. *Indian J. Agric. Sci.* 47: 595-598.
- Scian, B. 2009. Clima, Bahía Blanca y Sudoeste Bonaerense. En: Paoloni, J.D. Ambiente y recursos naturales del partido de Bahía Blanca. EdiUNS, 240 pp.
- Shao, H. B.; Chu, L. Y.; Zhao, C. X.; Guo, Q. J.; Liu, X. A y Ribaut. J. M. 2006. Plant gene regulatory network system under abiotic stress, *Acta Biol. Szegediensis* 50: 1–9.
- Sher, A.; Sarwar, T.; Nawaz, A.; Ijaz, M.; Sattar, A. y Ahmad, S. 2019. En: Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings. M. Hasanuzzaman y V. Fotopoulos Eds. Springer. pp 1-10. Disponible en URL: https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1_1.
- Shinokazi, K. y Yamaguchi- Shinokazi, K. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Current Opinion Plant Biol.* Vol. 3 (3): 217-223
- Silenzi, J. C.; Echeverría, N. E.; Bouza, M. y De Lucía, M. 2011. Degradación de suelos en el SO bonaerense y su recuperación. En: Evolución y Futuro del Desarrollo de las Producciones Agrícola-Ganaderas en el S.O. Bonaerense. *Actas de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria* (ISSN: 0327-8093), pp. 382-404.
- Singh, B. G. 1995. Effect of hydration-dehydration seed treatments on vigour and yield of sunflower. *Indian J. Plant Physiol.* 38: 66–68.
- Singh, B. G. y Rao, G. 1993. Effect of chemical soaking of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed on vigour index. *Indian J. Agric. Sci.* 63: 232–233.
- Singh, V.; Upadhyay, R. S.; Sarma, B. K. y Singh H. B. 2015. Seed bio-priming with *Trichoderma asperellum* effectively modulate plant growth promotion in pea. *Int. J. Agric. Env. Biotech.* 9 (3): 361-365.
- Snapp, S. 2017. Agroecology: Principles and Practice. En: Agricultural Systems. Agroecology and Rural Innovation for Development. 2nd Edition. Elsevier, pp. 33-72.
- Soltani, E.; Ghaderi-Far, F.; Baskin, C. y Baskin, J. M. 2015. Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination. *Australian J. Bot.* 63(8).
- Spengler. R. N. 2020. Anthropogenic seed dispersal: Rethinking the origins of plant domestication. *Trends in Plant Science*, DOI: [10.1016/j.tplants.2020.01.005](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.005).

- Sreenivasulu, N.; Grimm, B.; Wobus, U. y Weshke, W. 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.* 109: 435–442.
- Stritzler N. P., Pagella, J. H., Jouve, V. V. y Ferri, C. M. 1996. Semi-arid warm-season grass yield and nutritive value in Argentina. *J. Range Man.* 49: 121-125.
- Stritzler N. P.; Petruzzi, H.; Rabotnikof, C. y Quiroga, A. 2009. Valor nutritivo y producción de forraje de especies megatérmicas. *Revista Técnica AAPRESID* (marzo 2009).
- Stritzler, N. P. 2008. Producción y calidad nutritiva de especies forrajeras megatérmicas. *Rev. Arg. Prod. An.* 28: 165-168.
- Suzuki, H. y Khan, A. A. 2001. Effective temperatures and duration for seed humidification in snapbean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Sci. Technol.* 28 381-389.
- Szalbolcs, I. 1991. Desertification and salinization. En: Choukr-Allah, R. (Ed.) Plant Salinity Research. New Challenges. pp. 3–18. (Institut Agronomique et Veterinaire Hassan II: Agadir).
- Taboada, M. A., Damiano, F. y Lavado, R. S. 2009. Inundaciones en la región pampeana. Consecuencias sobre los suelos. En: Alteraciones de la fertilidad de los suelos: el halomorfismo, la acidez, el hidro-morfismo y las inundaciones. Buenos Aires: EFA-INTA, 103-127.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. Plant Physiology, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 764 pp.
- Taleisnick, E., Pérez, H., Córdoba, A., Moreno, H., García Seffino, L., Arias, C., Grunberg, K., Bravo, S. y Zenoff, A. 1998. Salinity effects on the early development stages of *Panicum coloratum*: cultivar differences. *Grass and Forage Sci.* 53:270-278.
- Tarquis, A. M. 1990. Efecto del pretratamiento de semillas (*Lactuca sativa* L.) sobre la germinación y vigor. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica, Madrid.
- Taylor, A. G.; Klein, D. E. y Whitlow, T. H. 1988. SMP: Solid matrix priming of seeds. *Scientia Hort.* 37: 1-11.
- Taylor, A. G. Allen, P.S. Bennet, M.A.; Bradford, K.J. Burris, J.S. y Misra, M.K. 1998. Seed Enhancement. *Seed Sci. Res.* 8: 245-256.
- Tischler, C. R. y Young, B. A. 1983. Effects of chemical and physical treatments on germination of freshly harvested kleingrass seed. *Crop Sci.* 23:789-792.
- Tischler, C. R. y Young, B. A. 1987. Development and Characteristics of a Kleingrass Population with Reduced Post-Harvest Seed Dormancy. *Seed Phys. Prod. Tech.* Vol 2 (6): 1238-1241.

- Tischler, C. R. y Ocumpaugh, W. R. 2004. Kleingrass, blue panic and vine mesquite. En: Warm-season (C4) grasses. Agronomy Monograph. L. E. Moser, B. L. Burson y L. E. Sollenberger Eds. pp. 623–649. American Society of Agronomy: Madison, WI, USA.
- Tomás, M. A.; Berone, G.; Dreher, N.; Barrios C. y Pisani, M. 2010. Variation in seed shattering in a germplasm collection of *Panicum coloratum* L. var. *makarikariense* Goossens. *7th International Herbage Seed Conference, Dallas, Texas, 11-13 Abril 2010*, p. 152-158.
- Tomás, M. A.; Dreher, N.; Pisani, M.; Ribotta, A. y Biderbost, E. 2008. Estudio de la retención de semillas en materiales selectos de *Panicum coloratum* L. *Actas del 37º Congreso Argentino de Genética*. Tandil (Buenos Aires) (2008). Pág. S-167.
- Tomás, M. A.; Berone, G.; Dreher, N.; Barrios, C. y Pisani, M. 2010. Variation in seed shattering in a germplasm collection of *Panicum coloratum* L. var. *makarikariensis* Goossens. *Conference: 7th International Herbage Seed Conference*. Dallas, USA.
- Tomás, M. A.; Giordano, M. C. ; Cardamone, L. ; Pilatti, V. y Armando, L. 2016. Mejoramiento genético de *Panicum coloratum* var. *makarikariense*. Editorial: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Santa Fe. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. *Revista de Información Técnica de Producción Animal*. ISSN: 2314-3126.
- Tomás, M. A. 2020. Seminario on line: Producción y calidad de semillas forrajeras megatérmicas (22/7/2020). Disponible en URL: <https://www.youtube.com/watch?v=FPHYxpG8Ky0>
- Tomás, M. A. y Giordano, M. C. 2013. Aumento del vigor de plántula por incremento del tamaño de semilla de *Panicum coloratum* var. *makarikariense*. INTA – Estación Agropecuaria Rafaela. *Informe Técnico N° 58*. pp. 56-59.
- Tomás, M. A.; Berone, G.; Pisani, M.; Ribotta, A. y Biderbost, E. 2007. Relación entre peso de semillas, poder germinativo y emergencia de plántulas de clones de *Panicum coloratum* L. *30º Congreso Argentino de Producción Animal, Santiago del Estero, Argentina*.
- Torres Carbonell, C. 2012. Cómo producir carne en regiones semiáridas? Disponible en URL: <http://www.pregonagropecuario.com/cat.php?txt=3437> (24/11/2014)
- Torres Carbonell, C. 2014. Boletín Informativo Programa Forrajero Campaña 2010-2011, *Plan de Desarrollo del Sudoeste Bonaerense*.
- Toselli, M. E. y Casenave, E. C. 2010. Germination of melon seeds under water and heat stress: Hydropriming and the hydrotime model. *Seed Sci. Technol.* 38: 409-420.

- Trigo, M. F. O. O.; Nedel, J. L. y Trigo, L. F. N. 1999. Condicionamento em sementes de cebola: Efeitos sobre a germinação. *Scientia Agrícola* 56: 1059-1067.
- Turner, N. C. 1996. Further Progress in Crop Water Relations. *Adv. Agron.* Vol. 58: 293-338.
- Turner, N. C. 1986. Crop Water Deficits: A Decade of Progress. *Adv. Agron.* Vol. 39:1-51.
- Ungar, I. A. 1978. Halophyte seed germination. *The Botanical Review*, Vol. 44: 233–264.
- Urbani, M. 1996. Estudios sobre citología, sistema reproductivo y compatibilidad polen-pistilo de *Panicum dichotomiflorum* y *Paspalum fasciculatum* (Gramineae: Paniceae). *Darwiniana* 34 (1-4): 193-198.
- Valdés-Reyna, J.; Zuloaga, F. O.; Morrone, O. Aragón L. 2009. El género *Panicum* (Poaceae: Panicoideae). Disponible en URL: https://www.researchgate.net/profile/F_Zuloaga/publication/299021622Taxonomic_treatment_of_Panicum_Poaceae_Panicoideae_from_North_eastern_Mexico/links/570fc72408ae19b186938321.pdf.
- Valdéz, H. 2020. Manejo y prácticas agronómicas para la producción de semillas forrajeras subtropicales. Disponible en URL: <https://www.youtube.com/watch?v=B73ae5M4ggA&t=26s>
- Vasicek, J. P. y Renzi, J. P. 2014. Situación actual y manejo de agropiro, pasto llorón y mijo perenne en Villarino y Patagones. *Publicación INTA. EEA H. Ascasubi*. UNS-Departamento de Agronomía.
- Vaughan, D. A.; Balázs, E. y Heslop-Harrison, J. S. 2007. From Crop Domestication to Super-domestication. *Ann. Bot.* 100 (5): 893–901.
- Velasco, I.; Ochoa, L. y Gutiérrez, C. Sequía, un problema de perspectiva y gestión. Región y sociedad [online]. 2005, Vol. 17 (34):35-71. Disponible en URL: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-39252005000300002 &lng=es&nrm=iso.
- Veneciano, J. H. 2006. Gramíneas estivales perennes para ambientes semiáridos: Características y productividad. EEA San Luis. *Información Técnica N° 171*. 84 pp.
- Voigt, P. W. y Tischler, D. C. R. 1997. Effect of seed treatment on germination and emergence of 3 warm-season grasses. *J. Range Man.* 50 (2): 170-174.
- Wellbaum, G. E.; Shen, Z. Oluoch, M. O. y Jatt, L. W. 1998. The evolution and effect of priming vegetable seed. *Seed Tech.* 20: 209-235.
- Who, E.; Kuiters, A. T.; Tolsma, D. J. 1991. Dormancy of annual and perennial grasses from a savannah of southeastern Botswana. *Acta Oecologica* (Paris) Vol 12: 727-739.
- Whyte, R. O.; Moir, T. R. y Cooper, J. P. 1971. Las gramíneas en la agricultura. FAO, *Estudios agropecuarios* 42 (3° Ed).

- Yan, M. 2015. Priming stimulate germination and early seedling growth of Chinese cabbage under growth stress. *South African J. Bot.* 99: 88-92.
- Yasmeen, A.; Basra, S. M. A.; Wahid, A.; Nouman, W. y Rehman, H. 2013. Exploring the potential of *Moringa oleifera* leaf extract (MLE) as a seed priming agent in improving wheat performance. *Turk. J. Bot.* 37: 512-520
- Young, B. A. 1981. Variation for seed shattering in kleinrass (*Panicum coloratum*). *Agronomy Abstract*, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. pp. 77.
- Young, B. A. 1986. A source of resistance to seed shattering in kleingrass, *Panicum coloratum* L. *Euphytica* 35: 687-694.
- Young, B. A. 1991. Heritability of resistance to seed shattering in kleingrass. *Crop Sci.* 31: 1156-1158.
- Young, B. A. 1993. Registration of TEM-SRI kleingrass germplasm. *Crop Sci.* 33: 14- 23.
- Young, B. A. y Tischler, C. R. 1994. Recurrent selection for greater shoot mass modifies seed mass and seedling vigour in kleingrass. *Seed Sci. Tech.* 22: 467-475
- Zapata, P. J.; Serrano, M; Pretel, M. T., Amoroso, A., Botella, M. A. 2003. Changes in ethylene evolution and polyamine profiles of seedlings of nine cultivars of *Lactuca sativa* L. in response to salt stress during germination. *Plant Sci.* 164: 557–563.
- Zhou, J.; Wang, Y. y Jahufer, Z. 2013. Location and chemical composition of semi-permeable layer of forage seeds. *Bangladesh J. Bot.* 42: 23-29.
- Zuain, J. I. 2016. Respuestas fisiológicas de semillas de pasturas megatérmicas durante la germinación e implantación. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. Trabajo de Intensificación profesional.
- Zuloaga F. O. 1987. Systematics of new world species of *Panicum* (Poaceae: Paniceae). En: Soderstrom, T. R.; Hilu, K. W., Campbell, C. S., Barkworth M.E. (Eds), *Grass Systematics and Evolution*. pp. 287-306.