



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORADO EN AGRONOMÍA

ECOLOGÍA DEL BANCO DE SEMILLAS DE *Lithospermum arvense* L.  
MODELADO DE LA DORMICIÓN Y GERMINACIÓN

GUILLERMO R. CHANTRE

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2010

## PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía, 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 y el Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS) durante el período comprendido entre Octubre de 2006 y Octubre de 2009, bajo la dirección compartida de los Dres. Mario Ricardo Sabbatini y Gustavo Adolfo Orioli.

Guillermo Rubén Chantre  
D.N.I: 27.292.042



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

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

*“Cuando llegue la inspiración, que  
me encuentre trabajando”*

*(Pablo Picasso)*

*A mi amor (Guada)*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer:

A mis directores Mario R. Sabbatini y Gustavo A. Orioli por la contribución académica y el apoyo humano ambos factores imprescindibles para el desarrollo y finalización de la presente tesis.

A mis padres (Osvaldo y Martha) por haberme estimulado y apoyado durante el largo camino recorrido.

A Diego Batlla por el aporte intelectual y la ayuda desinteresada durante la meticulosa tarea de construcción de los modelos.

A Jorge Irigoyen por la ayuda en la identificación de la problemática de la maleza en la región y también por el apoyo a nivel personal.

A María A. Burgos por la asistencia técnica y la excelente predisposición mostrada durante los ensayos de laboratorio.

Al Dpto. de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur y al CERZOS por otorgarme el espacio físico y las facilidades técnicas para el desenvolvimiento de las actividades.

Al CONICET por el otorgamiento de una beca doctoral durante el período completo dedicado a la investigación de la temática de la tesis.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b>	<b>VIII</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>X</b>
<b><u>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</u></b>	<b>1</b>
1.1 Descripción de la especie	<b>1</b>
1.2 Problemática de la región semiárida del sud-sudoeste bonaerense	<b>3</b>
1.2.1 Descripción general de la región	<b>3</b>
1.2.2 Zonas agroecológicas de la región	<b>4</b>
1.2.2.1 Zona Guaminí	<b>4</b>
1.2.2.2 Zona Puán	<b>5</b>
1.2.2.3 Zona Sierra de la Ventana	<b>5</b>
1.2.2.4 Zona Bahía Blanca	<b>5</b>
1.2.2.5 Zona Villarino y Patagones	<b>6</b>
1.2.3 Limitantes productivas edafoclimáticas y sistemas de labranza	<b>6</b>
1.2.4 Distribución y abundancia de <i>L. arvense</i>	<b>7</b>
1.3 Ecología del banco de semillas	<b>9</b>
1.4 Dormición y germinación	<b>12</b>
1.4.1 Definiciones y conceptos	<b>12</b>
1.4.2 Clasificación de la dormición e implicancias ecológicas	<b>13</b>
1.4.3 Efecto de los factores ambientales sobre los cambios en el nivel de dormición y la germinación	<b>15</b>
1.4.3.1 Factores modificadores del nivel de dormición: Temperatura y régimen hídrico del suelo	<b>15</b>
1.4.3.2 Factores terminadores de la dormición	<b>17</b>
1.4.3.3 Efecto de la temperatura sobre la germinación: concepto de tiempo-térmico	<b>18</b>
1.4.3.4 Efecto del potencial agua sobre la germinación: concepto de hidrotiempo	<b>22</b>
1.4.3.5 Construcción matemática de modelos de tiempo-térmico e hidrotiempo	<b>23</b>

1.4.4 Respuesta de las semillas a los cambios en el nivel de dormición de la población	24
1.4.4.1 Cambios en el rango térmico permisivo para la germinación	24
1.4.4.2 Cambios en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación	27
1.4.4.3 Aplicación de modelos predictivos para cuantificar los cambios en el nivel de dormición	28
1.5 Antecedentes de la especie	29
1.6 Hipótesis y Objetivos	30
<b><u>CAPÍTULO II: ECOLOGIA DEL BANCO DE SEMILLAS: EFECTO DE LA PROFUNDIDAD DE ENTERRAMIENTO Y DEL RÉGIMEN HÍDRICO DEL SUELO</u></b>	<b>33</b>
2.1 Introducción	33
2.2 Materiales y Métodos	34
2.2.1 Experimento a campo	35
2.2.2 Protocolo de germinación	37
2.2.3 Experimento en macetas	38
2.3 Resultados	39
2.3.1 Experimento a campo	39
2.3.2 Experimento en macetas	48
2.4 Discusión	49
<b><u>CAPÍTULO III: MODELADO DE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE UN MODELO DE TIEMPO-TÉRMICO PARA LA SALIDA DE LA DORMICIÓN BASADO EN LOS CAMBIOS DE LOS PARÁMETROS TÉRMICOS DE LA POBLACIÓN</u></b>	<b>52</b>
3.1 Introducción	52
3.2 Materiales y Métodos	54
3.2.1 Tratamientos de post-maduración	54
3.2.2 Test de germinación	54
3.2.3 Determinación de los rangos térmicos subóptimo y supraóptimo de germinación	55
3.2.4 Modelado de la germinación y obtención de los parámetros térmicos de la población	56
3.2.5 Bondad de ajuste y análisis estadístico de los modelos de germinación	58

3.2.6 Desarrollo del modelo de dormición	59
3.2.7 Validación del modelo	59
3.3 Resultados	61
3.3.1 Efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas	61
3.3.2 Bondad de ajuste y análisis estadístico de los modelos de germinación	64
3.3.3 Cambios en los parámetros térmicos de la población en función del tiempo y la temperatura de post-maduración	67
3.3.4 Desarrollo del modelo de dormición	69
3.3.5 Validación del modelo de dormición	73
3.4 Discusión	77
<b><u>CAPÍTULO IV: MODELO DE TIEMPO-TÉRMICO PARA LA SALIDA DE LA DORMICIÓN BASADO EN LOS CAMBIOS DE LOS PARÁMETROS DE HIDROTIEMPO DE LA POBLACIÓN</u></b>	<b>80</b>
4.1 Introducción	80
4.2 Materiales y Métodos	81
4.2.1 Tratamientos de post-maduración	81
4.2.2 Test de germinación	81
4.2.3 Cálculo de los parámetros de hidrotiempo de la población	82
4.2.4 Desarrollo del modelo de dormición	83
4.2.5 Validación del modelo	83
4.2.6 Determinación de la bondad de ajuste del modelo	85
4.3 Resultados	86
4.3.1 Efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas	86
4.3.2 Cambios en los parámetros de hidrotiempo de la población en función del tiempo y la temperatura de post-maduración	88
4.3.3 Desarrollo del modelo	91
4.3.4 Bondad de ajuste y validación del modelo	92
4.4 Discusión	97
<b><u>CAPÍTULO V: DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES</u></b>	<b>101</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>110</b>
<b>ANEXO</b>	<b>125</b>

## RESUMEN

*Lithospermum arvense* es una maleza anual facultativa de invierno de creciente importancia en sistemas agrícolas de la región semiárida del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Los mayores niveles de abundancia de *L. arvense* se han observado en las zonas de mayor aptitud agrícola donde los sistemas de labranza conservacionista alcanzan los más altos niveles de adopción y difusión. La implementación de prácticas de manejo conservacionista, como la labranza cero, produce cambios en el patrón de distribución vertical de las semillas en el suelo en relación con los sistemas de labranza convencional. Asimismo, el carácter estacional e irregular de las precipitaciones de la región afecta el patrón de germinación de las malezas. Los objetivos generales del presente trabajo de tesis consistieron en: (a) estudiar aspectos de la ecología del banco de semillas de *L. arvense* a fin dilucidar algunas de las causas del incremento de la abundancia de la especie en la región, y (b) comprender y modelar los cambios en el nivel de dormición de las semillas a fin de poder predecir la germinación y emergencia a campo con miras a instrumentar prácticas más eficientes y sustentables de control. Se llevaron a cabo experimentos a campo con la finalidad de estudiar la dinámica de la dormición, germinación y mortalidad de semillas en el banco bajo condiciones contrastantes de profundidad de enterramiento de semillas y de regimenes hídricos fluctuantes de suelo. Complementariamente, se estudió el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la germinación y la emergencia bajo condiciones controladas de laboratorio. Se observó una marcada reducción de la germinación y la emergencia con el incremento de la profundidad de enterramiento. Los cambios en el nivel de dormición en el banco de semillas estuvieron regulados por la temperatura del suelo, mientras que la profundidad de enterramiento o el régimen hídrico del suelo no ejercieron un efecto definido sobre dicho atributo poblacional. Se observó un incremento en la mortalidad de las semillas con el aumento de la profundidad de enterramiento. Los resultados obtenidos bajo las condiciones ambientales evaluadas sugieren que la proporción de semillas viables se reduciría luego de dos años de enterramiento a < 10 % de la población inicial. A fin de cuantificar los requerimientos térmicos para la salida de la dormición de *L. arvense*, las semillas fueron almacenadas a temperaturas constantes en condiciones de laboratorio

durante distintos periodos de tiempo. Los cambios en el nivel de dormición poblacional fueron adecuadamente descritos a través de un índice de tiempo-térmico que permitió establecer relaciones funcionales entre la acumulación de unidades de tiempo-térmico para la salida de la dormición y la tasa de cambio de los parámetros térmicos y de hidrotiempo de la población. Los modelos desarrollados fueron validados con datos independientes mostrando una aceptable capacidad para predecir los cambios en el nivel de dormición permitiendo estimar las distintas fracciones de la población de semillas capaces de germinar dada una determinada condición térmica o hídrica del ambiente.

## ABSTRACT

*Lithospermum arvense* is a facultative winter annual weed of increasing importance in agricultural systems of the semiarid region of the south-southwest area of the Buenos Aires province, Argentina. *L. arvense* higher abundance levels were observed in the areas of higher agricultural aptitude where conservationist tillage systems reach the highest adoption and diffusion levels. The implementation of conservationist tillage practices, such as non-tillage, produce changes on the vertical pattern of seed distribution in the soil in relation to conventional tillage systems. Likewise, the seasonal and irregular pattern of precipitation of the region affects the germination pattern of weeds. The main objectives of the present thesis were: (a) to study aspects of the seed bank ecology of *L. arvense* in order to elucidate some of the reasons of the abundance increment of this species in the region, and (b) to comprehend and model the changes in the level of seed dormancy in order to be able to predict seed germination and field emergence aiming to reach more efficient and sustainable weed control practices. Field experiments were conducted in order to study seed dormancy, germination and mortality dynamics in the seed bank under contrasting conditions of seed burial depth and fluctuating soil water regimes. Also, the effect of seed burial depth on seed germination and seedling emergence was studied under laboratory controlled conditions. A significant reduction of seed germination and seedling emergence was observed as seed burial depth increased. Dormancy changes in the seed bank were regulated by soil temperature, while the effect of seed burial depth or the soil water regime was not conclusive. An increment on seed mortality was observed as seed burial depth increased. Observed results under the evaluated environmental conditions suggest the amount of viable seed would be reduced to < 10 % of the initial population after two years of burial. In order to quantify the thermal requirements for *L. arvense* dormancy loss, seeds were stored at constant temperatures under laboratory conditions during different time periods. Changes in the dormancy level of the seed population were adequately described by means of a thermal-time index which allowed establishing functional relations between the accumulation of thermal-time units for seed dormancy release and the rate of change of thermal and hydrotime parameters of the population. Developed models were validated using independent data showing an acceptable capacity to predict

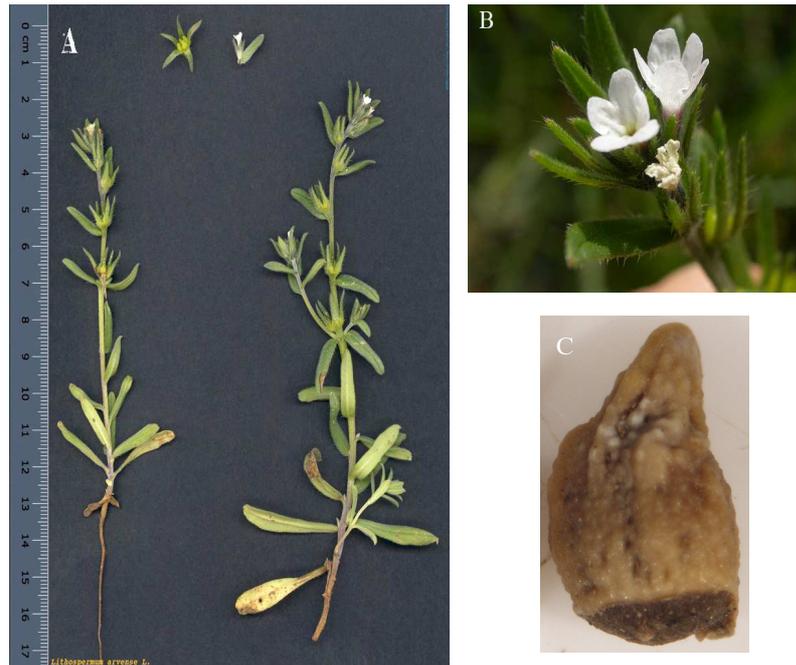
seed dormancy changes and allowing the estimation of the different fractions of the seed population which are able to germinate given a certain thermal or hydric environmental condition.

## CAPITULO I

### INTRODUCCIÓN

#### 1.1 Descripción de la especie

*Lithospermum arvense* L. (= *Buglossoides arvensis* (L.) I.M. Johnston) es una especie dicotiledónea anual facultativa de invierno perteneciente a la familia *Boraginaceae*. Es una hierba erecta de 15 a 70 cm de altura con pelos estrigosos, raíz pivotante y tallo ramificado desde la base (Fig. 1.1A). Presenta hojas alternas, simples, enteras, oblongo-lanceoladas a lineares de 2 a 5 cm de longitud, pilosas, sésiles o subsésiles. Las flores se disponen en cimas escorpioides muy cortas; corola sub-infundibuliforme, blanca, de 5 a 7 mm de largo; estambres inclusos (Fig. 1.1B). Fruto formado por cuatro núculas de aprox. 2,5 a 3 mm de largo, ovoide cónicas, gris parduscas, aquilladas, rugoso-tuberculadas y duras (Fig. 1.1C). *L. arvense* presenta un hábito de crecimiento indeterminado, florece desde principios a mediados de la primavera y los frutos alcanzan la madurez hacia fines de dicha estación (Marzocca *et al.*, 1976).



**Fig. 1** Planta de *L. arvense* en estado reproductivo (A), inflorescencia apical (B) y núcula.

Es una planta originaria de Eurasia encontrándose distribuida principalmente en Europa, América, centro y este de Asia, Irán, norte de África y oeste de Siberia (USDA, 2009). En América se la encuentra como especie adventicia en suelos modificados (orillas de caminos, vías férreas, etc.) y como maleza en cultivos de trigo, cebada y lino, principalmente asociada a suelos arenosos (Marzocca *et al.*, 1976). En Estados Unidos, es una maleza ampliamente distribuida y especialmente problemática en cereales de invierno (Whitson, 2004). En Argentina se la conoce con el nombre común de ‘yuyo moro’ o ‘mijo de sol’ y se encuentra citada como maleza en la región de Bahía Blanca (Lamberto *et al.*, 1997).

## 1.2 Problemática de la región semiárida del sud-sudoeste bonaerense

### 1.2.1 Descripción general de la región

La región del sud-sudoeste bonaerense se extiende desde el sur de la Sierra de la Ventana hasta el río Negro cubriendo una superficie de 6.424.688 ha. Dicha región se caracteriza por poseer un clima templado semiárido con gran variabilidad espacial en las temperaturas y espacio-temporal en las precipitaciones (Campo *et al.*, 2004).

La temperatura media anual oscila entre los 14 y 20 °C, aunque durante la estación cálida son frecuentes los registros que llegan a valores extremos superando los 40 °C. Las lluvias se reducen en sentido noreste-suroeste, siendo de aproximadamente 800 mm al norte y de 280 mm en el extremo sur. El régimen de precipitaciones presenta máximos en primavera y en otoño y mínimos en invierno. Sin embargo, en los últimos años se observó un incremento en las precipitaciones durante los meses de verano, mientras que en los meses de otoño el milimetraje tuvo una distribución irregular (Zapperi *et al.*, 2007). La gran variabilidad temporal en la distribución de las precipitaciones constituye una característica de las regiones áridas y semiáridas (Buschiazzo *et al.*, 2007).

Los suelos dominantes en la región pertenecen al orden Molisoles y Entisoles (Soil Taxonomy, 1999). Son suelos de textura gruesa variable, entre franco y franco-arenosos, de buen drenaje y permeabilidad. Sus principales limitaciones son la aridez, la presencia de tosca subyacente, la baja capacidad de retención hídrica y el riesgo de erosión eólica.

Los vientos predominantes de la región provienen del cuadrante noroeste durante las estaciones de otoño, invierno y primavera; en verano predominan los vientos de dirección sudeste y noreste (Sánchez *et al.*, 1998). La velocidad promedio anual del viento oscila entre 10 y 15 km h<sup>-1</sup>, con máximos en primavera. Durante los meses de primavera y verano es frecuente durante el día la combinación de vientos superiores a los 30 km h<sup>-1</sup> con temperaturas del aire mayores a los 25 °C. Así, el viento resulta el principal factor erosivo en los suelos

de la región, combinado con el aumento de las temperaturas primaverales que favorecen el secado del suelo. Los porcentajes de la superficie afectada por la erosión eólica oscilan entre el 8 y 36 % de la superficie total de cada partido de la región alcanzado intensidades de erosión moderadas a graves (Sánchez *et al.*, 1998).

## **1.2.2 Zonas agroecológicas de la región**

Dentro de la región se han definido cinco zonas agroecológicas (Fig. 1.2) de acuerdo a factores edáficos y de aptitud de uso de la tierra, establecidas por el proyecto RIAN (Red de Información Agropecuaria Nacional) del INTA (INTA, 2009).

### **1.2.2.1 Zona Guaminí**

Comprende los partidos de Guaminí, norte de Adolfo Alsina, parte del noroeste de Coronel Suárez y parte Saavedra abarcando un área de 991.865 ha. Los suelos predominantes presentan textura arenosa y estructura granular, por lo cual presentan alta susceptibilidad a la erosión eólica e hídrica. Los sistemas de producción predominantes en el área son ganadero-agrícolas. Los suelos con aptitud agrícola ganadera son poco profundos, medianamente bien provistos de materia orgánica con buen drenaje y buena estructura. Por su parte los suelos con aptitud ganadera presentan serias limitaciones, con severa susceptibilidad a la erosión, peligro de anegamiento e inundación, baja disponibilidad de nutrientes y alta probabilidad de sequía. La fase agrícola comprende la sucesión de cultivos de cosecha con intercalación de periodos de barbecho. Los cultivos anuales predominantes son girasol, maíz, sorgo y soja. También se cultivan trigo, avena y centeno. La fase ganadera bovina (invernada, tambo, recría) se desarrolla sobre la base de pasturas cultivadas plurianuales y verdes en rotación con ciclos cortos de cultivos de cosecha.

### **1.2.2.2 Zona Puán**

Esta zona comprende el centro del partido de Adolfo Alsina, norte del partido de Puán y el partido de Saavedra, totalizando 363.021 ha. Los suelos predominantes presentan textura franco-arenosa, donde la tosca varía entre los 15 y 60 cm de profundidad. En general presenta alto contenido de materia orgánica y buena estructura con baja susceptibilidad a la erosión hídrica. La aptitud general de este sector es ganadero-agrícola. Los cultivos principales son trigo, avena y en menor medida cebada cervecera. Los cultivos de verano son de escasa significación (girasol y sorgo forrajero) principalmente debido al marcado déficit hídrico estival. La producción ganadera principal es la bovina (invernada, recría, tambo) básicamente sobre pasturas cultivadas plurianuales y verdes.

### **1.2.2.3 Zona Sierra de la Ventana**

Esta zona cubre 1.361.950 ha y esta integrada por el partido de Coronel Suárez, Coronel Pringles, centro-este del partido de Saavedra y centro-oeste de Tornquist. Esta zona se caracteriza por una gran variabilidad en la aptitud de uso de los suelos debido a los accidentes geográficos propios del Sistema de Ventania. En general predominan los suelos de textura franco-arenosa, con fuertes limitaciones de profundidad por la presencia de tosca entre 15 y 60 cm. Sin embargo, en las pendientes y senos entre lomas se encuentran suelos profundos, de textura franca fina, con un espesor del horizonte superficial A1 de 20 a 30 cm, con alto contenido de materia orgánica y buena estructura. La limitante más importante de los suelos es la profundidad y el riesgo de erosión hídrica. Los principales cultivos del área son: trigo pan y candeal, girasol, maíz, soja, cebada cervecera, avena para forraje, avena para cosecha, centeno y alpiste.

### **1.2.2.4 Zona Bahía Blanca**

Abarca en la provincia de Buenos Aires el sur del partido de Adolfo Alsina, centro y sur del partido de Puán, oeste del partido de Tornquist, oeste del partido de Saavedra, partidos de Bahía Blanca y Coronel Rosales, cubriendo una superficie de 1.207.852 ha. Los suelos predominantes son de textura franco-

arenosa muy fina con bajos niveles de materia orgánica y limitaciones de profundidad por presencia de tosca. Poseen drenaje natural excesivo, baja capacidad de retención de agua que junto a las sequías estacionales prolongadas incrementan el riesgo de erosión eólica. Los sistemas preponderantes en la zona son mixtos, ganadero-agrícolas orientados a la cría e invernada según las zonas. El trigo es el principal recurso agrícola del área observándose un incremento significativo del área cultivada durante los últimos años, principalmente debido a factores económicos y climáticos. También es importante el cultivo de girasol y en menor escala la cebada cervecera.

#### **1.2.2.5 Zona Villarino y Patagones**

Abarca los partidos de Villarino y Patagones totalizando 2.500.000 ha. Presenta suelos de textura arenosa a arenosa-franca con escaso contenido de materia orgánica, muy sueltos y con alta susceptibilidad a la erosión eólica. Predominan los sistemas mixtos ganadero-agrícolas con preponderancia de la cría bovina. El cultivo de trigo se realiza en menor escala y se encuentra asociado al desencadenamiento de procesos graves de erosión eólica y de agotamiento de los nutrientes del suelo (Kruger *et al.*, 2005). Se estima que en dicha zona 190.000 ha están afectadas por erosión eólica moderada y unas 45.000 ha por grave (Sánchez *et al.*, 1998). En el valle irrigado del río Colorado predomina la actividad hortícola, principalmente el cultivo de cebolla.

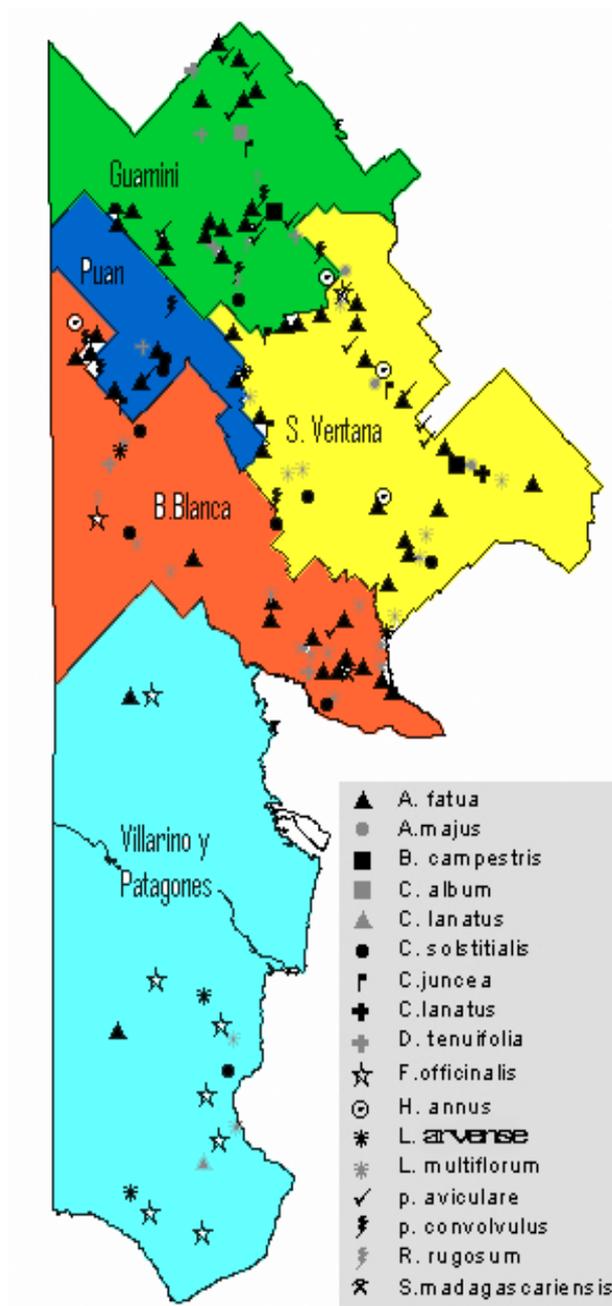
#### **1.2.3 Limitantes productivas edafoclimáticas y sistemas de labranza**

Las características edafoclimáticas que definen el potencial de rendimiento del trigo como cultivo preponderante en la región son la irregularidad climática con alternancia de años secos y húmedos, el déficit hídrico al final de la primavera y los suelos con escasa profundidad que limitan la capacidad de almacenamiento de agua (Galantini *et al.*, 2009). Al respecto, Kruger *et al.* (2005) indican que el advenimiento de sistemas de labranza conservacionista en la región semiárida redundaría en un mejoramiento progresivo de la productividad en comparación con sistemas de labranza convencional, principalmente debido a un manejo más eficiente del agua y a un mejor control de la erosión, tanto eólica como hídrica. La

implementación de sistemas de labranza conservacionista resulta aún de carácter incipiente, sin embargo se observa un aumento progresivo en la adopción de dicha tecnología. Un relevamiento reciente indica que aproximadamente el 30 % de la superficie cultivada en la región se encuentra bajo siembra directa (Gigón *et al.*, 2008).

#### **1.2.4 Distribución y abundancia de *L. arvense***

A partir de un relevamiento realizado sobre las comunidades de malezas de la región durante las campañas de trigo 2006/07 y 2007/08, Gigón *et al.* (2008) determinaron que *L. arvense* es una de las malezas más frecuentes (Fig. 1.2). La mayor frecuencia de aparición se registró en la zona de Villarino y Patagones (52,6 % de los lotes con presencia de *L. arvense*), seguida por Puán (16,7 %), Bahía Blanca (12,8 %), Guaminí (9,8 %) y Sierra de la Ventana (1,9 %). Asimismo, dichos autores determinaron que la mayor frecuencia de lotes de trigo con alta a muy alta infestación de la maleza se registraba en las zonas de Puán y Bahía Blanca, mientras que en Villarino y Patagones la severidad de las infestaciones resultaban bajas a moderadas. Dichas diferencias en los niveles de infestación entre las zonas de Puán-Bahía Blanca y Villarino-Patagones podrían deberse a diferencias en el nivel de agriculturización de las mismas. De hecho, los mayores niveles de infestación observados coinciden con las zonas de mayor aptitud agrícola de la región donde las nuevas tecnologías, entre ellas la labranza conservacionista alcanzan los mayores niveles de adopción y difusión.



**Fig. 1.2.** Distribución de las malezas de mayor importancia en las distintas zonas agroecológicas del sud-sudoeste bonaerense (tomado de Gigón *et al.*, 2008).

### 1.3 Ecología del banco de semillas

Según Baskin y Baskin (1998) el banco de semillas se define como la reserva de semillas viables no germinadas en un hábitat determinado. Henderson *et al.* (1988) desde un punto de vista más ecológico, definen al banco de semillas del suelo como el conjunto de semillas que representan el potencial regenerativo de las comunidades vegetales.

Thompson y Grime (1979) establecieron una clasificación basada en dos clases generales de bancos de semillas: transitorio y persistente. Según dichos autores un banco transitorio es aquel en el cual las semillas que lo componen presentan una viabilidad menor o igual a un año, mientras que un banco persistente está compuesto por semillas cuya viabilidad se extiende por uno o más años. A su vez, Thompson y Grime (1979) identificaron dos tipos de banco transitorio (tipo I y II) y dos de banco persistente (tipo III y IV). Los bancos transitorios tipo I y II corresponden a especies cuyas semillas germinan durante el otoño y la primavera luego de la dispersión natural, respectivamente. Por su parte, los bancos persistentes se diferencian según el tamaño de la reserva de semillas remanente luego del período de germinación que sucede a la dispersión natural de las semillas. En el banco persistente tipo III la mayoría de las semillas germinan en el otoño luego de la dispersión quedando una reserva menor de semillas viables sin germinar. Contrariamente, en el banco persistente tipo IV una fracción pequeña del banco germina luego de la dispersión quedando un gran reservorio de semillas para los años subsiguientes. Según una versión modificada de dicha clasificación propuesta por Bakker *et al.* (1996), los bancos persistentes se subdividen en dos categorías: de corta duración (entre 1 y 5 años) y de larga duración (5 o más años).

La formación de bancos persistentes constituye una importante vía de supervivencia para especies anuales en hábitats con condiciones ambientales poco predecibles (Cohen, 1966). De hecho, el banco de semillas del suelo constituye la principal forma de perpetuación de las malezas anuales en los agroecosistemas. Baskin y Baskin (2006) enfatizaron la importancia del estudio de la dinámica de las semillas en bancos persistentes a fin de poder comprender la ecología de la

germinación en las especies maleza. Schafer y Chilcote (1969) desarrollaron un modelo que describe tal dinámica sobre la base de los componentes que definen la persistencia de las semillas en el suelo:

$$S = P_{ex} + P_{end} + D_g + D_n \quad (\text{ec. 1.1})$$

donde  $S$  representa la proporción de semillas enterradas en el suelo en un momento determinado en el tiempo,  $P_{ex}$  es la proporción de semillas del banco persistente cuya germinación se encuentran impedida por la acción de factores exógenos o ambientales desfavorables,  $P_{end}$  representa la proporción de semillas incapaces de germinar por la acción de factores de tipo endógeno (dormición),  $D_g$  simboliza la proporción de semillas que germinan *in situ* y consecuentemente dejan de formar parte del banco y  $D_n$  representa la mortalidad de semillas por predación y envejecimiento.

Numerosos estudios han sido conducidos con la finalidad de obtener información sobre los componentes de dicho modelo (Zorner *et al.*, 1984; Jansen y Ison, 1995; Chauhan *et al.*, 2006; Mennan y Zandstra, 2006). Zorner *et al.* (1984) trabajando con semillas de *Avena fatua* enterradas a distintas profundidades en el perfil del suelo y exhumadas a intervalos regulares de tiempo observaron una reducción en la germinación *in situ* y un incremento en la mortalidad con el aumento de la profundidad de enterramiento. Contrariamente, Froud-Williams *et al.* (1984) observaron que el enterramiento de las semillas de *A. fatua* favorecía la germinación de dicha especie. Jansen y Ison (1995) determinaron que las principales fuentes de pérdida en los bancos de semillas de *Trifolium balansae* y *Trifolium resupinatum* se debían a la germinación *in situ* y a la predación. Chauhan *et al.* (2006) registraron mayores porcentajes de germinación *in situ* a partir de semillas de *Lolium rigidum* enterradas a 5 cm de profundidad respecto de semillas ubicadas sobre la superficie del suelo, atribuyéndole mejores condiciones térmicas e hídricas a las semillas enterradas superficialmente. Paralelamente, dichos autores atribuyeron los mayores porcentajes de mortalidad observados sobre la superficie del suelo a la exposición de las semillas a mayores fluctuaciones ambientales que podrían promover una falla en el metabolismo de las mismas. Grundy *et al.* (1996) reportaron una

reducción en la emergencia de las plántulas de diferentes especies maleza con el aumento de la profundidad de enterramiento de las semillas. Sin embargo, dichos autores no explicitan las causas de tal reducción, pudiendo deberse tanto a una reducción en la germinación *in situ* como a la incapacidad de las plántulas para alcanzar la superficie del suelo y fotosintetizar. La emergencia de las plántulas varía con la profundidad de enterramiento y el tamaño de las mismas, siendo éste último factor un indicador de la cantidad de reservas acumuladas (Baskin y Baskin, 1998). De hecho, el agotamiento de las reservas energéticas seminales ha sido indicado como el factor determinante de la muerte de las plántulas antes de alcanzar la superficie del suelo (Weaver y Cavers, 1979; Pierce y Cowling, 1991; Jansen y Ison, 1995).

Cousens y Moss (1990) aplicando un modelo matricial para predecir el movimiento de las semillas en suelos agrícolas determinaron que el patrón de distribución vertical de las mismas en la capa arable del suelo variaba con el sistema de labranza. Yenish *et al.* (1992) comparando el efecto de distintos sistemas de labranza sobre el patrón de distribución vertical de las semillas observaron que en condiciones de labranza cero el 60 % de las semillas se localizaba en el primer centímetro del perfil y luego la densidad se reducía en forma logarítmica. En el mismo estudio se determinó que en sistemas de labranza convencional la distribución vertical de las semillas seguía un patrón relativamente uniforme en la capa arable del suelo. Ghera y Martínez-Ghera (2000) aplicando los modelos de distribución vertical y longevidad de semillas desarrollados por Bekker *et al.* (1998) encontraron una relación inversa entre la proporción de semillas del banco ubicadas en los primeros 5 cm del suelo y la longevidad de dichas semillas. Por lo tanto, se podría hipotetizar que mientras en sistemas de labranza convencional la distribución vertical de las semillas sigue un patrón aleatorio (van Esso *et al.*, 1986), en sistemas de labranza cero se pueden establecer relaciones funcionales entre la distribución vertical y la persistencia de las semillas.

## 1.4 Dormición y germinación

La dormición es el atributo más importante de la dinámica del banco de semillas de malezas (Forcella *et al.*, 2000; Grundy, 2003) dificultando la predicción tanto del momento de germinación como de la fracción de semillas que van a germinar en dicho período de tiempo (Benech-Arnold y Sánchez, 1995).

### 1.4.1 Definiciones y conceptos

Los conceptos de dormición y germinación se encuentran ineludiblemente asociados debido a que la característica básica de la dormición es la ausencia de germinación. Sin embargo, la imposibilidad para germinar de una semilla se puede deber tanto a la existencia de un impedimento o bloqueo de carácter interno, como a la ausencia de los factores físicos ambientales (temperatura, humedad, luz, etc.) necesarios para cumplimentar el proceso de germinación.

Desde un punto de vista fisiológico, la germinación ha sido definida como la sumatoria de los procesos que van desde la iniciación del crecimiento del embrión hasta la penetración del mismo a través de las estructuras de protección seminal (Bradford, 2002). La capacidad potencial de una semilla para germinar bajo condiciones ambientales específicas ha sido definida con el término de *germinabilidad* (Hilhorst y Toorop, 1997).

Harper (1957, 1977) acuñó el término de “dormición forzada” para referirse a la imposibilidad para germinar de una semilla debido a condiciones ambientales desfavorables. Simpson (1990) definió el concepto de dormición como una falla temporaria en la germinación de una semilla viable dada una combinación de factores ambientales que *a posteriori* permitirían la germinación una vez superado el estado restrictivo por medios naturales o artificiales. Hilhorst y Toorop (1997) desde un punto de vista fenomenológico la definieron como la ausencia de germinación de una semilla viable bajo condiciones que en otra circunstancia resultarían óptimas para la germinación.

La primera definición claramente le atribuye a la dormición un origen exógeno impuesto por condiciones ambientales desfavorables a las cuales son expuestas semillas carentes de dormición. Como argumentan enfáticamente Thompson *et al.* (2003) el término “dormición forzada” propuesto por Harper (1957, 1977) no corresponde a un tipo genuino de dormición ya que hace referencia a la ausencia de la germinación causada por la falta de uno o más factores ambientales requeridos para cumplimentar dicho proceso. De acuerdo con Baskin y Baskin (1998, 2004) el término adecuado para describir el estado de una semilla sin dormición que se encuentra imposibilitada para germinar por la ausencia de dichos factores ambientales es el de *quiescencia*. Las anteriormente citadas definiciones de dormición (Simpson, 1990; Hilhorst y Toorop, 1997) aluden al efecto de factores de tipo endógeno y/o exógeno a las semillas que controlarían el proceso de dormición, sugiriendo que cambios internos en la dormición de las semillas conducirían a cambios en los requerimientos externos de germinación. Por su parte, Vleeshouwers *et al.* (1995) definen a la dormición como una característica de la semilla, cuyo nivel definirá los requerimientos de germinación. Bewley y Black (1982) la definen como una característica interna de la semilla que impide la germinación bajo condiciones ambientales, que en otras circunstancias hubieran resultado adecuadas para la germinación. Análogamente, Benech-Arnold *et al.* (2000) enfatizan el carácter intrínseco de la dormición, definiéndola como: ‘una condición interna de la semilla que impide la germinación bajo condiciones hídricas, térmicas y gaseosas, que en otras circunstancias hubieran resultado adecuadas para la germinación’. A partir de dicha definición se infiere que luego de ser removido el bloqueo interno de la semilla, la germinación ocurriría en un rango amplio de condiciones ambientales.

#### **1.4.2 Clasificación de la dormición e implicancias ecológicas**

Utilizando un criterio de clasificación temporal, se han definido dos tipos de dormición: primaria y secundaria (Amen, 1968; Karssen, 1982; Hilhorst, 1995). Al momento de la dispersión natural, las condiciones ambientales son frecuentemente inapropiadas para la supervivencia de las plántulas. Por lo tanto, muchas especies malezas dependen de mecanismos innatos para evitar la germinación inmediatamente luego de la dispersión (Nikolaeva, 1977; Baskin y

Baskin, 1989a; Schütz *et al.*, 2002). La dormición primaria hace alusión a la dormición innata que poseen las semillas al momento de la dispersión natural. La dormición secundaria se refiere a la inducción de una semilla quiescente al estado de dormición por efecto de factores ambientales adversos para la germinación, o a la reinducción a la dormición de una semilla con niveles suficientemente bajos de dormición (Benech-Arnold *et al.*, 2000).

Según Baskin y Baskin (1998), a medida que las semillas salen de la dormición entran en una fase de transición denominada dormición condicional que se extiende hasta el estado de quiescencia. Dicha transición se podría imaginar como un gradiente formado por distintos niveles que conforman una escala continua delimitada por dos extremos, los estados de dormición y quiescencia. El concepto de dormición condicional es análogo al de dormición relativa propuesto por Vegis (1963). Vegis (1964) propuso que el nivel de dormición de una población de semillas se relaciona con la amplitud del rango térmico permisivo para la germinación. Así, a medida que las semillas salen progresivamente de la dormición primaria presentan un rango térmico acotado para germinar, pero a medida que avanza el proceso de salida de la dormición dicho rango de temperaturas se va expandiendo hasta alcanzar la amplitud térmica máxima admisible para una población o taxón dado. Semillas quiescentes o con bajos niveles de dormición primaria pueden reinducirse a la dormición secundaria cuando se presentan condiciones ambientales desfavorables para la germinación estableciéndose ciclos estacionales de dormición (Baskin y Baskin, 1998). Durante la progresión del estado de quiescencia hacia el estado de dormición secundaria se produce un estrechamiento progresivo en el rango de condiciones favorables para la germinación hasta que dicho proceso resulta totalmente inhibido. La inducción a la dormición secundaria en especies que presentan ciclos estacionales de dormición se produce en un período anterior a la estación con condiciones ambientales desfavorables para la supervivencia de las plántulas (Karssen *et al.*, 1988). Contrariamente, la salida de la dormición en dichas especies se produce en la estación que precede al período del año con condiciones favorables para el reclutamiento de las cohortes.

### **1.4.3 Efecto de los factores ambientales sobre los cambios en el nivel de dormición y la germinación**

Los factores ambientales interactúan entre sí afectando el nivel de dormición y la germinación de las semillas en el suelo (Karssen *et al.*, 1988; Vleeshouwers *et al.*, 1995). Benech-Arnold *et al.* (2000) definieron dos categorías de factores ambientales que afectan la dormición: 1) aquellos que modifican el nivel de dormición de una población de semillas (ej: temperatura y sus interacciones con las condiciones hídricas del suelo), y 2) aquellos factores terminadores de la dormición o que remueven los últimos impedimentos para la germinación una vez que se han alcanzado niveles suficientemente bajos de dormición (ej: luz, fluctuaciones térmicas, concentración de nitratos).

La temperatura es considerada el factor ambiental de mayor importancia que regula tanto los cambios en el nivel de dormición como la germinación en el banco de semillas del suelo (Karssen, 1982; Roberts, 1988; Vleeshouwers y Kropff, 2000). Se han identificado dos efectos distintivos de la temperatura, el primero sobre la regulación de la salida de la dormición primaria y la reinducción a la dormición secundaria, y el segundo sobre la tasa de germinación en semillas sin dormición (Probert, 2000; Bradford, 2002). Por su parte, el régimen hídrico del suelo actuaría modulando el efecto de la temperatura como factor regulador de la dormición (de Miguel y Soriano, 1974; Bauer *et al.*, 1998; Batlla y Benech-Arnold, 2006) y la disponibilidad hídrica definirá la ocurrencia del proceso de germinación.

#### **1.4.3.1 Factores modificadores del nivel de dormición: Temperatura y régimen hídrico del suelo**

Los cambios estacionales en la temperatura del suelo constituyen un factor primordial en la regulación de los ciclos de dormición en especies maleza de ciclo anual (Hilhorst, 1998). Las semillas de especies invernales luego de ser dispersadas hacia fines de la primavera se encuentran en estado de dormición primaria o de dormición condicional requiriendo de un período de post-maduración (del inglés *after-ripening*) para la salida de la dormición. Según

Baskin y Baskin (1976, 1986, 1998), el proceso de post-maduración consiste en la exposición de las semillas a temperaturas cálidas durante un período de almacenamiento preferentemente en seco, al cabo del cual se produce la salida de la dormición. Dichos requerimientos son suplidos parcial o totalmente durante la estación estival permitiendo que las semillas germinen durante el otoño (especies obligadas y facultativas de invierno) y principios de la primavera (facultativas). Durante el período invernal, las semillas quiescentes pueden sufrir una reinducción a la dormición por efecto de las bajas temperaturas (Baskin y Baskin, 1984). Un ejemplo de tal situación lo constituye *Arabidopsis thaliana* cuyo ciclo anual de dormición se encuentra regido por los cambios térmicos estacionales, observándose un incremento en los porcentajes de germinación luego de la exposición de las semillas a las altas temperaturas del verano y una reducción en la germinación luego del período invernal (Derx y Karssen, 1994). Se han identificado ciclo estacionales de dormición en especies facultativas de invierno como *Capsella bursa-pastoris* (Baskin y Baskin, 1989b) y *Viola arvensis* (Baskin y Baskin, 1995). Contrariamente a lo descrito para las especies de invierno, las especies anuales de emergencia primavero-estival como *Ambrosia artemisiifolia* o *Polygonum persicaria* requieren de la exposición a bajas temperaturas para la salida de la dormición (Baskin y Baskin, 1980; Bouwmeester y Karssen, 1992). Los requerimientos de estratificación de dichas semillas son suplidos durante el invierno alcanzando niveles mínimos de dormición hacia comienzos de la primavera cuando las condiciones ambientales resultan favorables para la germinación. Aquellas semillas que se mantuvieron quiescentes durante el período de germinación pueden sufrir una reinducción a la dormición hacia fines de primavera y principios del verano, requiriendo de un nuevo período de estratificación a fin de reducir los niveles de dormición y así poder germinar en la primavera siguiente (Courtney, 1968). Cabe recalcar que no todas las especies cuyas semillas presentan dormición primaria o se encuentran en estado de dormición condicional al momento de la dispersión natural presentan ciclos estacionales de dormición. De hecho, especies invernales como *Anagallis arvensis* y *Carduus acanthoides* (Kruk y Benech-Arnold, 2000) o la especie primavero-estival *Datura ferox* (Botto *et al.*, 1998) no evidencian tal comportamiento cíclico en los niveles de dormición.

En condiciones naturales, las fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo determinarán cambios cíclicos en el contenido hídrico de las semillas pudiendo alterar el nivel de dormición de la población (Batlla y Benech-Arnold, 2004). Roberts y Lockett (1978) observaron que el enterramiento en el suelo de semillas de la especie invernal *Veronica hederifolia* resultaba más eficaz para promover la salida de la dormición respecto del almacenamiento en seco, presumiblemente debido al efecto de los ciclos de humedecimiento y secado. Gallagher *et al.* (2004) determinaron que un incremento en la frecuencia y/o en la duración del período de hidratación de semillas de *L. rigidum* producía un aumento en la tasa de salida de la dormición. Contrariamente, Bauer *et al.* (1998) asumieron que el proceso de post-maduración en semillas de *Bromus tectorum* ocurría únicamente a potenciales hídricos de suelo inferiores a -4 MPa. Bouwmeester y Karssen (1992) observaron que los cambios estacionales en el nivel de dormición de semillas de *P. persicaria* no se encontraban influenciados por el contenido hídrico del suelo. En condiciones de laboratorio, Foley (1994) observó que la tasa de salida de la dormición en semillas de *A. fatua* evidenciaba una relación inversa entre la temperatura de almacenamiento y el contenido hídrico de las semillas. A mayor temperatura, menor debía ser el contenido hídrico para lograr mayores porcentajes de germinación. Steadman *et al.* (2003b) evidenciaron un aumento significativo en la tasa de salida de la dormición de *L. rigidum* a medida que el contenido hídrico de las semillas se incrementaba de 6.5 a 18 %. Bair *et al.* (2006) desarrollaron un modelo conceptual que permite identificar cuatro regiones o rangos de contenido hídrico del suelo que influyen la tasa de salida de la dormición durante el proceso de post-maduración en semillas de *B. tectorum*.

#### **1.4.3.2 Factores terminadores de la dormición**

Varias especies de maleza requieren de un período de exposición a la luz y/o a fluctuaciones térmicas para poder germinar luego de alcanzar niveles suficientemente bajos de dormición. En el caso particular de la especie estudiada en la presente tesis (*Lithospermum arvense* L.), no se han encontrado evidencias de tales requerimientos en semillas sometidas a distintos tratamientos de post-maduración en seco (**punto 1.5**).

### 1.4.3.3 Efecto de la temperatura sobre la germinación: concepto de tiempo-térmico

Las temperaturas cardinales (mínima, óptima y máxima) permiten caracterizar el comportamiento germinativo de las semillas en respuesta a la temperatura. La temperatura mínima o base de germinación ( $T_b$ ) y la temperatura máxima de germinación ( $T_c$ ) representan los límites térmicos inferior y superior, respectivamente, dentro de los cuales queda definido el rango de temperaturas permisivas para la germinación. La temperatura óptima ( $T_o$ ) es aquella donde la velocidad o tasa de germinación se hace máxima. Dentro del rango térmico subóptimo de germinación comprendido entre  $T_b$  y  $T_o$  se ha asumido una relación lineal (Labouriau, 1970; Bierhuizen y Wagenvoort, 1974) entre la tasa de germinación de cada fracción de la población de semillas ( $TG_g$ ) y la temperatura de incubación ( $T$ ). Según el modelo de tiempo-térmico (García-Huidobro *et al.*, 1982), el comportamiento germinativo de las semillas dentro de dicho rango se define como:

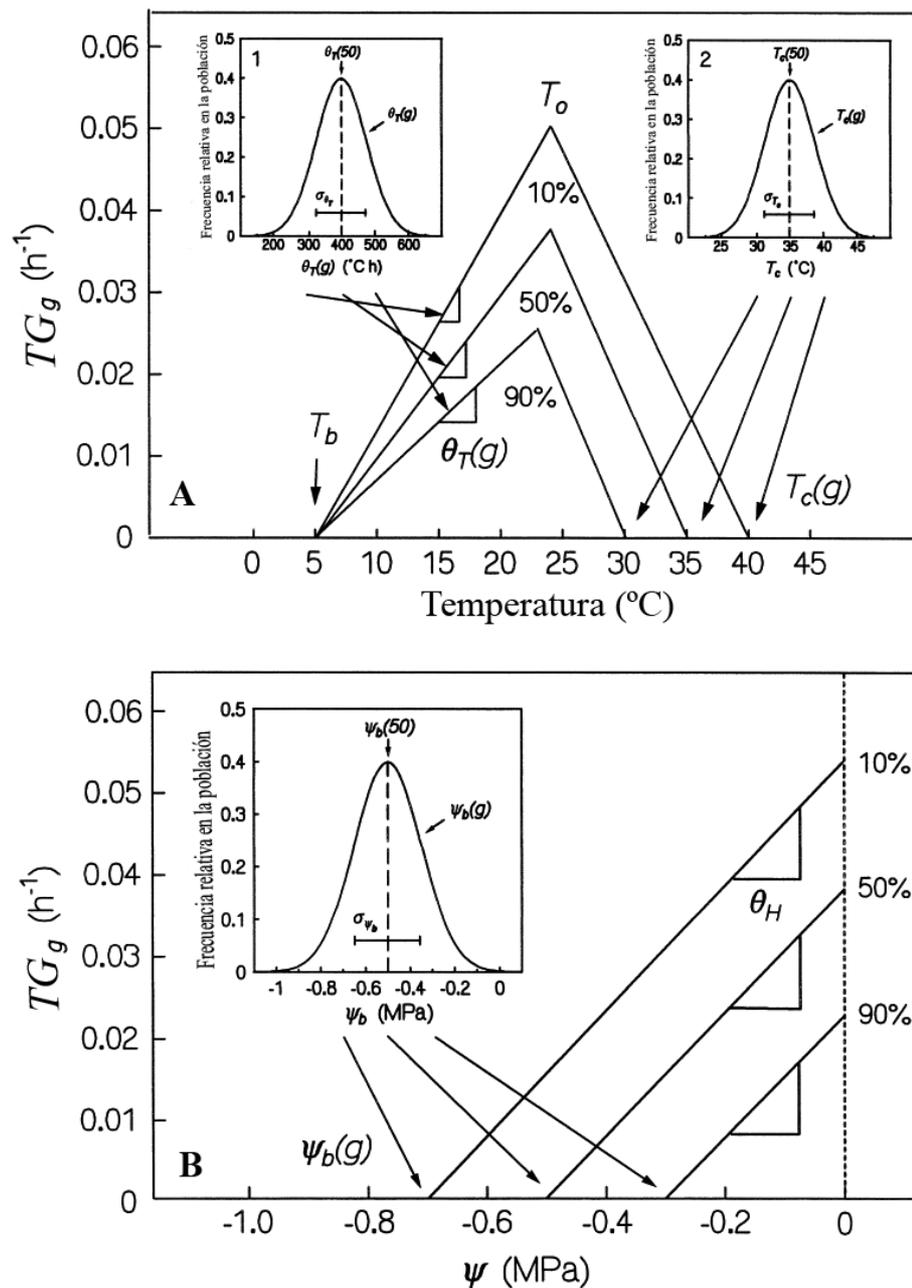
$$\theta_{1(g)} = (T - T_b)t_g \quad (\text{ec. 1.2})$$

donde  $\theta_{1(g)}$  es el tiempo-térmico subóptimo requerido para la germinación de una fracción  $g$  dada de la población,  $T$  es la temperatura de incubación,  $T_b$  es la temperatura base de germinación y  $t_g$  es el tiempo de germinación de dicha fracción  $g$ . El modelo asume un valor constante de  $T_b$  para toda la población de semillas (García-Huidobro *et al.*, 1982; Ellis *et al.*, 1987) aunque algunos estudios han evidenciado variaciones de distinta magnitud en  $T_b$  a nivel intrapoblacional (Fyfield y Gregory, 1989; Welbaum y Bradford, 1991a,b; Wang *et al.*, 2004). Bajo el supuesto de un valor único de  $T_b$  para las distintas fracciones de la población, el tiempo-térmico requerido para la germinación de una fracción dada  $g$  es constante. Sin embargo, las distintas fracciones de la población presentan distintos requerimientos de tiempo-térmico para germinar. Reescribiendo la ec. (1.2), las tasas de germinación correspondientes a las distintas fracciones de la población se describen como una familia de rectas con un punto común de intersección ( $T_b$ ) y distintas pendientes cuyos valores corresponden a la recíproca

del tiempo-térmico de germinación de cada fracción de la población ( $1/\theta_{1(g)}$ ). La tasa de germinación o recíproca del tiempo de germinación de cada fracción  $g$  se define como:

$$TG_g (= 1/t_g) = (T - T_b)/\theta_{1(g)}, \quad (\text{ec. 1.3})$$

$\theta_{1(g)}$  se asume como una variable de distribución normal (Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986, 1987) con media  $\theta_{(50)}$  y desvío estándar  $\sigma_\theta$  (Fig. 1.3A, fig. insertada 1).



**Fig. 1.3A)** Relación entre las tasas de germinación y la temperatura. A temperaturas subóptimas, las tasas de germinación ( $TG_g (= 1/t_g)$ ) para las distintas fracciones de la población de semillas se incrementan linealmente por encima de una temperatura base común ( $T_b$ ). Las pendientes de las rectas son iguales a la recíproca del valor correspondiente a los tiempos-térmicos de germinación ( $1/\theta_{1(g)}$ ) que varían en la población siguiendo una distribución normal (Fig. insertada 1). El valor máximo de  $TG_g$  se corresponde con la temperatura óptima de germinación ( $T_o$ ) y por encima de la misma  $TG_g$  declina linealmente. La

temperatura máxima de geminación ( $T_{c(g)}$ ) varía entre las distintas fracciones de la población siguiendo un patrón de distribución normal (Fig. insertada 2). **B)** Relación entre las tasas de germinación y el potencial agua del medio ( $\Psi$ ). A medida que  $\Psi$  se reduce, las tasas de germinación para las distintas fracciones de la población se reducen linealmente con una pendiente común de  $1/\Theta_H$ , interceptando el eje de las abscisas en diferentes umbrales o valores de potencial agua base ( $\Psi_{b(g)}$ ), los cuales se encuentran normalmente distribuidos en la población (adaptado de Bradford, 2002).

En el rango térmico supraóptimo comprendido entre  $T_o$  y  $T_c$  se observa una relación lineal negativa entre  $TG_g$  y  $T$  (Fig. 1.3A). A diferencia del rango térmico subóptimo, las distintas fracciones de la población presentan un único requerimiento de tiempo-térmico para germinar. A su vez,  $T_{c(g)}$  se encuentra normalmente distribuida en la población (Ellis et al., 1986, 1987; Ellis y Butcher, 1988) con media  $T_{c(50)}$  y desvío estándar  $\sigma_{Tc}$  (Fig. 1.3A, fig. insertada 2). El modelo de tiempo-térmico en el rango térmico supraóptimo queda definido a partir de las siguientes ecuaciones :

$$\theta_2 = (T_{c(g)} - T)t_g \quad (\text{ec. 1.4})$$

$$TG_g = (T_{c(g)} - T)/\theta_2 \quad (\text{ec. 1.5})$$

donde  $\theta_2$  representa el tiempo-térmico supraóptimo requerido para la germinación de las distintas fracciones de la población. Como se observa en la Fig. 1.3A, las ecuaciones predicen una reducción lineal en  $TG_g$  con el incremento de  $T$ , una pendiente común ( $1/\theta_2$ ) para las distintas tasas de germinación y una distribución normal de  $T_{c(g)}$ .

#### 1.4.3.4 Efecto del potencial agua sobre la germinación: concepto de hidrotiempo

El agua constituye un factor esencial para la germinación debido a que dicho proceso comienza con la imbibición de la semilla madura. En forma análoga al concepto de tiempo-térmico, Gummerson (1986) propuso el concepto de hidrotiempo para cuantificar la germinación en función de la diferencia entre un potencial agua base fisiológico para la emergencia radicular ( $\Psi_b$ ) y el potencial agua del medio ( $\Psi$ ).  $\Psi_b$  se puede definir como el valor umbral de  $\Psi$  por debajo del cual la germinación de una semilla dada se ve impedida. El modelo de hidrotiempo (Gummerson, 1986; Bradford, 1990) se define a través de las siguientes ecuaciones:

$$\Theta_H = (\Psi - \Psi_{b(g)})t_g \quad (\text{ec. 1.6})$$

$$TG_g = (\Psi - \Psi_{b(g)})/\Theta_H \quad (\text{ec. 1.7})$$

donde  $TG_g$  es la tasa de germinación correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $\Psi$  es el potencial agua del medio de incubación,  $\Psi_{b(g)}$  es el valor umbral o potencial agua base de la fracción  $g$ ,  $\Theta_H$  es la constante de hidrotiempo y  $t_g$  es el tiempo de germinación.

Como se observa en la Fig. 1.3B, las tasas de germinación para las distintas fracciones de la población decrecen linealmente con una pendiente común ( $1/\Theta_H$ ) a medida que se reduce el potencial agua del medio de incubación estableciéndose diferentes umbrales o valores de potencial agua base ( $\Psi_{b(g)}$ ).  $\Psi_{b(g)}$  ha sido considerada mayoritariamente como una variable de distribución normal o log-normal en la población (Bradford, 1990; Dahal y Bradford, 1990) donde  $\Psi_{b(50)}$  representa el potencial agua base medio de la población y  $\sigma_{\Psi_b}$  el desvío estándar de los valores de  $\Psi_{b(g)}$  (Fig. 1.3B).  $\Psi_{b(50)}$  es un indicador de la tolerancia media de la población al estrés hídrico, mientras que  $\sigma_{\Psi_b}$  es un estimador de la uniformidad en el tiempo de germinación entre semillas. Por su parte,  $\Theta_H$  es una medida intrínseca de la velocidad de germinación de la población de semillas (Bradford, 2002).

### 1.4.3.5 Construcción matemática de modelos de tiempo-térmico e hidrotiempo

Dado el carácter dicotómico de la probabilidad de germinación de una semilla (éxito o fracaso), el número de semillas germinadas en la población (o número de éxitos) se asume como una variable de distribución binomial. Por lo tanto, según el ‘teorema central del límite’ (Sokal y Rohlf, 1981) la probabilidad de germinación en la población se podría considerar como una variable de distribución aproximadamente normal. Utilizando como base la función de la distribución normal acumulada, el cálculo de la proporción de semillas germinadas dada una variable aleatoria  $X$  se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$p(X_{(g)}) = \Phi[(X_{(g)} - X_{(50)})/\sigma_X] \quad (\text{ec. 1.8})$$

donde  $p$  es la proporción de semillas germinadas dado un valor determinado de  $X$  correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $\Phi$  es la integral gaussiana o integral de probabilidad de la distribución normal,  $X_{(50)}$  y  $\sigma_X$  son la media y el desvío estándar de la distribución normal, respectivamente. Por su parte, el complemento de la distribución normal acumulada o “cola de probabilidad” de la distribución gaussiana se obtiene de la siguiente forma:

$$p(X_{(g)}) = 1 - [\Phi(X_{(g)} - X_{(50)})/\sigma_X] \quad (\text{ec. 1.9})$$

La aplicación de ambas funciones (ec. 1.8 y 1.9) en modelos de simulación de la germinación permite la estimación de los parámetros térmicos (ej:  $T_b$ ,  $\theta_{1(50)}$ ,  $\sigma_\theta$ ,  $T_{c(50)}$ ,  $\theta_2$ ,  $\sigma_{Tc}$ ) y de hidrotiempo ( $\Psi_{b(50)}$ ,  $\Theta_H$  y  $\sigma_{\Psi_b}$ ) de la población de semillas. El ajuste entre los datos experimentales y los predichos por un modelo de distribución normal se realiza mediante un procedimiento de regresión no lineal de mínimos cuadrados (Motulsky y Ransnas, 1987). Dicho método permite obtener los parámetros óptimos de los algoritmos de cada modelo a través de la maximización del ajuste entre los datos simulados y los observados experimentalmente.

Una alternativa muy difundida (Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986, 1987; Dahal *et al.*, 1990) para el análisis de los datos de germinación consiste en la aplicación de la función probit o función inversa de la distribución normal acumulada (inversas de las ecs. 1.7 y 1.8):

$$Probit(g) = (X_{(g)} - X_{(50)})/\sigma_X \quad (\text{ec. 1.10})$$

$$Probit(g) = 1 - [(X_{(g)} - X_{(50)})/\sigma_X] \quad (\text{ec. 1.11})$$

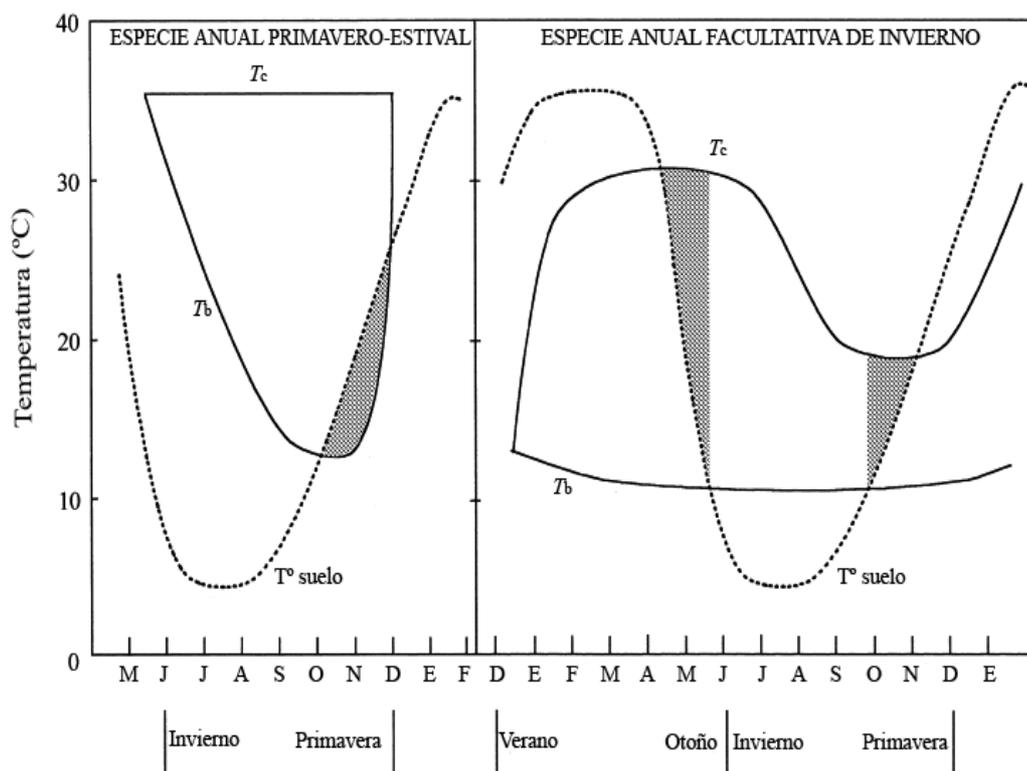
El análisis de regresión probit consiste en linearizar una distribución normal acumulada mediante la transformación de los porcentajes de germinación a valores de probit ( $g$ ), expresados como unidades de desvíos normal equivalente (Finney, 1971). Dicho método de análisis permite combinar datos provenientes de una serie de curvas de germinación acumulada obtenidas a distintas temperaturas o potenciales agua de incubación en una única función de regresión lineal. Los porcentajes de germinación de 0 y 100 % deben ser omitidos del análisis ya que corresponden a valores infinitos en la distribución normal. Los parámetros poblacionales que maximizan el ajuste de la función probit a los datos observados se obtienen mediante aproximaciones numéricas sucesivas.

#### **1.4.4 Respuesta de las semillas a los cambios en el nivel de dormición de la población**

##### **1.4.4.1 Cambios en el rango térmico permisivo para la germinación**

El carácter estacional de la emergencia en las especies maleza anuales resulta del efecto combinado de la periodicidad estacional de la temperatura del suelo y de la amplitud del rango de temperaturas permisivas para la germinación (Karssen, 1982). A su vez, la amplitud de dicho rango estará definida por el nivel de dormición de las semillas que dependerá de los cambios térmicos estacionales. Por lo tanto, la germinación a campo estará restringida al período de tiempo en el cual la temperatura del suelo se solape con el rango térmico permisivo para la

germinación. En las especies invernales, los cambios en el nivel de dormición de las semillas se evidencian a través de cambios en la temperatura máxima de germinación (Fig. 1.4). Luego de la dispersión natural hacia fines de primavera y principios del verano, la germinación se ve impedida debido a que  $T_c$  se encuentra muy por debajo de las condiciones térmicas del suelo (Probert, 1992). La exposición de las semillas a las altas temperaturas estivales provocará un ensanchamiento del rango térmico permisivo para la germinación a través del incremento de  $T_c$  (Fig. 1.4). A medida que las semillas salen de la dormición primaria se evidencia un incremento en los porcentajes y en las tasas de germinación (Allen *et al.*, 1995; Favier, 1995; Bauer *et al.*, 1998) y algunas especies pierden el requerimiento de luz para germinar (Corbineau *et al.*, 1992). Durante el otoño se registra el período de emergencia en las especies invernales debido al solapamiento que se produce entre la temperatura del ambiente y el rango de temperaturas favorables para la germinación (Fig. 1.4). Durante la estación invernal, la temperatura del suelo se encuentra generalmente por debajo de la temperatura base de germinación impidiendo dicho proceso. Aquellas especies maleza que presentan ciclos estacionales de dormición sufren una reinducción a la dormición secundaria caracterizada por una reducción de  $T_c$ . En especies anuales obligadas de invierno, como *A. thaliana*, el estrechamiento del rango térmico permisivo para la germinación se hace máximo hacia fines del invierno y principios de la primavera restringiendo la germinación estrictamente al período otoñal (Karssen, 1982). Contrariamente, en especies facultativas de invierno, como *V. arvensis*, la reducción de  $T_c$  es menos pronunciada durante el invierno permitiendo la germinación durante la primavera cuando la temperatura del suelo reingresa en el rango térmico permisivo para la germinación (Fig. 1.4).



**Fig. 1.4** Cambios estacionales en el rango térmico permisivo para la germinación y su relación con la dinámica de la temperatura del suelo. Las líneas llenas indican la temperatura máxima ( $T_c$ ) y base ( $T_b$ ) de germinación. La línea punteada representa la temperatura media diaria del suelo ( $T^\circ$  suelo). El área sombreada representa el período en el cual se produce la germinación a campo debido al solapamiento entre la temperatura del suelo y el rango térmico permisivo para la germinación. El panel izquierdo corresponde a una especie anual primavero-estival, y el panel derecho a una especie anual facultativa de invierno (adaptado de Probert, 1992).

En las especies anuales primavero-estivales, los cambios en el nivel de dormición de las semillas se evidencian a través de cambios en la temperatura base de germinación (Baskin y Baskin, 1998). Al momento de la dispersión natural, las semillas de dichas especies se encuentran generalmente en estado de dormición o de dormición condicional. Durante el invierno, la reducción en el nivel de dormición de las semillas se pone de manifiesto a través de una reducción de  $T_b$  (Bouwmeester y Karssen, 1992). Por lo tanto, hacia comienzos de la

primavera cuando el rango térmico permisivo para la germinación se encuentra en su máxima amplitud y se produce el aumento de la temperatura del suelo se generan condiciones térmicas favorables para la germinación (Fig. 1.4). Las semillas de especies con ciclos de dormición como *A. artemisiifolia* y *P. persicaria* sufren una reinducción a la dormición secundaria hacia fines de primavera observándose un incremento de  $T_b$  y la consecuente culminación del período de germinación. Contrariamente, especies como *Chenopodium album* y *Amaranthus hybridus* que no sufren dicha reinducción a la dormición son capaces de extender el período de germinación hasta el verano (Baskin y Baskin, 1977).

#### **1.4.4.2 Cambios en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación**

En forma análoga a lo descrito para el caso de la temperatura, los cambios en el nivel de dormición de una población de semillas se encuentran asociados a cambios en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación (Batlla *et al.*, 2004). Por lo tanto, a medida que las semillas salen de la dormición dicho rango sufrirá una expansión hasta alcanzar su máxima amplitud. Estudios previos han evidenciado una reducción progresiva de  $\Psi_{b(g)}$  hacia valores más negativos a medida que las semillas salían de la dormición durante el proceso de post-maduración (Bauer *et al.*, 1998; Meyer *et al.*, 2000; Bair *et al.*, 2006; Gianinetti y Cohn, 2007). Dicha reducción en los valores de  $\Psi_{b(g)}$  producirá un incremento en los porcentajes y las tasas de germinación y permitirá una germinación más sincrónica a valores de  $\Psi$  progresivamente más negativos (Bradford, 2002). Contrariamente, durante la reinducción a la dormición secundaria se producirá un incremento en los valores de  $\Psi_{b(g)}$  y el consecuente estrechamiento en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación (Kebreab y Murdoch, 1999; Alvarado 2000).

### 1.4.4.3 Aplicación de modelos predictivos para cuantificar los cambios en el nivel de dormición

La dormición en una población de semillas no es un atributo discreto, por el contrario las distintas semillas o fracciones de la población presentan distintos niveles de dormición que se traducen en distintos requerimientos o niveles de exposición a un factor ambiental dado para completar la salida de la dormición y poder germinar (Batlla *et al.*, 2004). Por lo tanto, como lo indican Batlla y Benech-Arnold (2007), la cuantificación del nivel de dormición debe contemplar tanto la respuesta media de la población (ej:  $\Psi_{b(50)}$ ,  $T_{c(50)}$ ) como la distribución de dichos requerimientos dentro de la misma (ej:  $\sigma_{\Psi_b}$ ,  $\sigma_{T_c}$ ). A tal efecto, los modelos umbral constituyen una herramienta de gran utilidad permitiendo cuantificar los cambios en la sensibilidad media de la población a los factores ambientales, al igual que la distribución de umbrales de sensibilidad entre semillas de la población (Bradford, 2005).

Existen numerosos ejemplos de la aplicación de modelos predictivos para describir los cambios en el nivel de dormición en poblaciones de especies maleza (Bouwmeester y Karssen, 1993a,b; Christensen *et al.*, 1996; Bauer *et al.*, 1998; Vleeshouwers y Kropff, 2000; Batlla y Benech-Arnold, 2003, 2004; Gianinetti y Cohn, 2007). Mayoritariamente dichos modelos han sido desarrollados con la finalidad de evaluar el efecto de la temperatura y en algunos casos su interacción con el potencial hídrico sobre los cambios en el nivel de dormición. Bouwmeester y Karssen (1993a,b) utilizando el concepto de tiempo-térmico desarrollaron modelos de regresión para describir los cambios estacionales en el nivel de dormición en función de la temperatura del suelo y poder predecir los patrones de emergencia en varias especies maleza. Christensen *et al.* (1996) observaron una reducción en el parámetro poblacional  $\Psi_{b(50)}$  a medida que las semillas de *B. tectorum* salían de la dormición primaria durante el proceso de post-maduración. Sobre la base de dichas observaciones, Bauer *et al.* (1998) desarrollaron un modelo de tiempo-térmico para cuantificar los cambios en el nivel de dormición de *B. tectorum* durante el proceso de post-maduración a campo. En dicho modelo se utiliza el  $\Psi_{b(50)}$  como un índice de dormición de la población estableciéndose una relación lineal entre la tasa de cambio de  $\Psi_{b(50)}$  y la acumulación de tiempo-

térmico de post-maduración. Kebreab y Murdoch (1999) describieron los cambios en la tasa de salida de la dormición de semillas de *Orobancha* spp como un función lineal positiva de la temperatura de post-maduración. Batlla y Benech-Arnold (2003, 2004) elaboraron modelos de tiempo-térmico capaces de describir los cambios en el nivel de dormición de semillas de *Polygonum aviculare* durante la estratificación a bajas temperaturas. Dichos autores establecieron relaciones funcionales que permiten calcular el rango térmico y de potenciales agua permisivos para la germinación a partir de un índice de tiempo-térmico de estratificación. Gianinetti y Cohn (2007) basándose en el concepto de hidrotiempo desarrollaron índices específicos basados en  $\Psi_{b(50)}$  como medida de la salida de la dormición primaria y de la susceptibilidad a la reinducción a la dormición secundaria en semillas de *Oryza sativa*.

El desarrollo de modelos predictivos que permitan cuantificar los cambios en el nivel de dormición del banco de semillas de malezas resulta una premisa insoslayable para poder instrumentar prácticas más eficientes y sustentables de control en sistemas agrícolas (Grundy, 2003; Batlla y Benech-Arnold, 2007).

### **1.5 Antecedentes de la especie**

Existe escasa información relacionada con la temática de estudio de la presente tesis. En estudios recientes tendientes a predecir las causas de la declinación de *L. arvense* en agroecosistemas europeos (Bischoff, 1999, 2005) se identificó como causa principal de tal situación el bajo potencial de recolonización de la especie. El elevado peso de las semillas y la carencia de estructuras morfológicas adaptadas para la dispersión (Bischoff y Mahn, 2000), conjuntamente con una corta longevidad de las semillas en el suelo inferior a 3 años (Svensson y Wigren, 1986), serían factores que limitarían tanto la dispersión espacial como temporal de la especie.

Al momento de la dispersión natural, las semillas de *L. arvense* presentan dormición condicional requiriendo de un período de post-maduración para la salida de la dormición (Baskin y Baskin, 1998). Chantre *et al.* (2008) observaron un incremento en las tasas y los porcentajes de germinación con el incremento de

la temperatura de almacenamiento de las semillas. Paralelamente, dichos autores evidenciaron un efecto promotor del ácido giberélico sobre la salida de la dormición primaria.

Según Baskin y Baskin (1988, 1998), el régimen térmico óptimo para la germinación de la especie es de 15/6 °C, habiéndose obtenido porcentajes similares de germinación tanto con luz como en oscuridad. Análogamente, resultados propios obtenidos a partir de semillas recién cosechadas incubadas bajo un régimen fotoperiódico de 12 horas y en oscuridad no evidenciaron diferencias significativas en los porcentajes y tasas de germinación entre tratamientos (Chantre *et al.*, no publicado). Chantre *et al.* (2005) trabajando con semillas almacenadas en condiciones de laboratorio durante distintos periodos de tiempo evidenciaron porcentajes similares de germinación tanto a temperaturas de incubación constantes como alternas. Resulta interesante destacar que se han encontrado diferencias importantes en la germinabilidad entre semillas de distinta fracción de masa a nivel intra e inter-poblacional (Milberg *et al.*, 1996).

El período de emergencia a campo en la región del sud-sudoeste bonaerense abarca desde el otoño hasta principios de la primavera y la distribución de los flujos de emergencia depende del patrón estacional de precipitaciones (Chantre *et al.*, 2005).

## **1.6 Hipótesis y Objetivos**

Como se mencionó anteriormente, los mayores niveles de abundancia de *L. arvense* observados a nivel de lote coinciden con las zonas de mayor aptitud agrícola de la región donde los sistemas de labranza conservacionista alcanzan los más altos niveles de adopción y difusión.

La implementación de prácticas de manejo conservacionista, como la labranza cero, produce cambios en el patrón de distribución vertical de las semillas en la capa arable del suelo en relación con los sistemas de labranza convencional. Dichos cambios se traducen en una alteración del microambiente de germinación pudiendo generar cambios en la dinámica poblacional de la especie.

Debido al carácter estacional y a la distribución irregular de las precipitaciones en la región semiárida, el patrón de germinación de *L. arvense* podría verse afectado por la frecuencia y la cantidad de aporte hídrico al suelo.

En función de la problemática planteada y en relación a la revisión bibliográfica y la experimentación previa efectuadas sobre *L. arvense* por el grupo de investigación al que pertenezco, se plantearon las siguientes hipótesis:

H<sub>1</sub>: La profundidad de enterramiento de las semillas afecta la dinámica de los procesos de dormición, germinación, emergencia y mortalidad del banco de semillas del suelo.

H<sub>2</sub>: Los cambios térmicos estacionales, en forma independiente o en interacción con las fluctuaciones en el régimen hídrico del suelo, modifican el nivel de dormición de las semillas.

H<sub>3</sub>: La salida de la dormición en semillas de *L. arvense* depende del efecto combinado del tiempo y la temperatura de post-maduración.

H<sub>4</sub>: La disponibilidad hídrica del suelo, condicionada por el régimen irregular de precipitaciones de la región, afecta el patrón de germinación de la especie a campo.

Los objetivos generales del presente trabajo de tesis consistieron en:

(a) estudiar aspectos de la ecología del banco de semillas de *L. arvense* a fin dilucidar algunas de las causas del incremento de la abundancia de la especie en la región, y (b) comprender y modelar los cambios en el nivel de dormición poblacional a fin de poder predecir la germinación y emergencia a campo con miras a instrumentar prácticas más eficientes y sustentables de control.

A partir de dichos objetivos generales surgen los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la dinámica temporal de los componentes de germinación, dormición y mortalidad del banco de semillas del suelo.
- Determinar el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la germinación y emergencia bajo condiciones controladas de laboratorio.
- Determinar el efecto de la temperatura y el régimen hídrico del suelo sobre los cambios en el nivel de dormición y la germinación de las semillas.
- Cuantificar el efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas a temperaturas constantes y desarrollar un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición basado en los cambios de los parámetros térmicos de la población.
- Cuantificar el efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas a distintos potenciales agua del medio y desarrollar un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición basado en los cambios de los parámetros de hidrotiempo de la población.
- Validar los modelos desarrollados con datos independientes obtenidos a partir de experimentos conducidos a campo.

## CAPITULO II

### ECOLOGIA DEL BANCO DE SEMILLAS: EFECTO DE LA PROFUNDIDAD DE ENTERRAMIENTO Y DEL RÉGIMEN HÍDRICO DEL SUELO (\*)

#### 2.1 Introducción

La distribución vertical de las semillas en suelos bajo labranza convencional (van Esso *et al.*, 1986) sufrirá cambios frente a la implementación de prácticas de manejo conservacionista como la labranza cero (Yenish *et al.*, 1992; Hoffman *et al.*, 1998; Cardina *et al.*, 2002). Dichos cambios en la distribución espacial de las semillas se traducen en una alteración del microambiente de germinación, como consecuencia de diferencias en la amplitud térmica, disponibilidad hídrica, exposición a la luz y/o actividad de predadores a distintas profundidades del perfil del suelo. De hecho, altas concentraciones de semillas en las capas superiores del suelo generan períodos de germinación y emergencia más sincrónicos comparativamente con semillas enterradas a mayor profundidad (Ghersa y Martínez-Ghersa, 2000). Por otra parte, las semillas ubicadas por encima o en cercanías de la superficie del mismo están sometidas a una mayor presión de predación (Louda, 1989) y se encuentran expuestas a mayores fluctuaciones en las condiciones ambientales incrementándose la probabilidad de muerte por decaimiento fisiológico (Taylorson, 1970). La persistencia de las semillas en los primeros centímetros del suelo depende de los mecanismos de dormición para reducir la probabilidad de germinación en condiciones ambientales desfavorables para el establecimiento de las plántulas (Baskin y Baskin, 1989a; Ghersa y Martínez-Ghersa, 2000). Por otro lado, semillas sin dormición pueden mantenerse viables en estado de quiescencia o

---

\* parte de la información incluida en este capítulo ha sido publicada: Chantre GR, Sabbatini MR y Orioli GA (2009) Effect of burial depth and soil water regime on the fate of *Lithospermum arvense* seeds in relation to burial time. *Weed Research* **49**, 81-89.

inducirse al estado de dormición secundaria al ser enterradas en capas más profundas del suelo (Popay y Roberts, 1970; Roberts y Feast, 1972; Mennan y Zandstra, 2006). El incremento en la longevidad de las semillas causado por el enterramiento producido por las labranzas del suelo ha sido documentado en muchas especies de malezas (Roberts y Feast, 1973; van Esso *et al.*, 1987; Ballaré *et al.*, 1988).

Debido al régimen irregular de precipitaciones de la región semiárida, las fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo podrían influenciar significativamente el patrón de germinación de *L. arvensis* (Chantre *et al.*, 2005).

El banco de semillas del suelo es la principal fuente de infestación de malezas anuales en sistemas de producción de cultivos (Buhler *et al.*, 1997). Por lo tanto, para mejorar las tácticas de manejo de malezas es de vital importancia incrementar el nivel de conocimiento sobre el comportamiento de las semillas en respuesta a cambios en el ambiente de germinación (Lutman *et al.*, 2002; Chauhan *et al.*, 2006).

El objetivo principal del presente capítulo consistió en estudiar a campo la dormición, germinación y mortalidad de las semillas de *L. arvensis* al cabo de distintos periodos de enterramiento, comparando dos situaciones contrastantes de: (1) profundidad de enterramiento de semillas, y (2) régimen hídrico del suelo. Complementariamente, se realizó un experimento con la finalidad de estudiar el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la germinación y la emergencia bajo condiciones controladas de laboratorio.

## **2.2 Materiales y Métodos**

El estudio del efecto de la profundidad de enterramiento y del régimen hídrico del suelo sobre el banco de las semillas de *L. arvensis* se llevó a cabo mediante un experimento conducido a campo en el sitio experimental del CERZOS (UNS/CONICET, 38°39'54''S 62°13'58''O) ubicado en Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires. El suelo del área experimental presentaba textura arenoso-franco con un contenido de materia orgánica de 1,4 %. Se seleccionaron

dos profundidades de enterramiento a fin de simular condiciones contrastantes de estratificación de semillas en el perfil del suelo, y se aplicaron dos regimenes hídricos diferentes a fin de reproducir posibles fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo como consecuencia del patrón irregular de precipitaciones de la región. Paralelamente, se llevó a cabo un experimento de laboratorio con la finalidad de estudiar el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la germinación y la emergencia. Las semillas de *L. arvense* fueron cosechadas al momento de la dispersión natural (fines de primavera) en diciembre de 2004 y 2005 de un campo de trigo localizado en las cercanías de Bahía Blanca. Para tal fin se cosecharon plantas maduras senescentes de *L. arvense* a partir de las cuales se separaron en forma manual las semillas maduras para luego ser almacenadas en laboratorio a  $20 \pm 3$  °C hasta el inicio de los experimentos. Ambos lotes de semillas fueron obtenidos de la misma población.

### **2.2.1 Experimento a campo**

El estudio del efecto de la profundidad de enterramiento y del régimen hídrico del suelo sobre el banco de las semillas de *L. arvense* se llevó a cabo en un experimento conducido a campo durante 2005-2007 y repetido durante 2006-2007 pero utilizando una frecuencia diferente de exhumación. El experimento se llevó a cabo utilizando un diseño factorial completamente aleatorizado con tres repeticiones. Los tratamientos consistieron en semillas enterradas a 2 y 20 cm sometidas a dos regimenes hídricos fluctuantes, con precipitación natural (PREC) y con precipitación más riego (IRRIG), exhumadas del campo a diferentes intervalos de tiempo. Cada tratamiento o combinación entre niveles de los factores: profundidad, tiempo de enterramiento y régimen hídrico se aplicó a un grupo de 50 semillas de *L. arvense* contenidas dentro de una bolsa permeable de polietileno (unidad experimental).

El 20/02/2005, 108 bolsas conteniendo un total de 5400 semillas (50 semillas/bolsa) cosechadas en diciembre de 2004 fueron enterradas en un área delimitada dentro del campo experimental y luego exhumadas a intervalos de 75, 120, 180, 240, 330, 390, 480, 620 y 724 días. Las bolsas fueron separadas a 1,5 m entre sí, a fin de evitar posibles interferencias entre regimenes hídricos. El

24/01/2006, 60 bolsas conteniendo un total de 3000 semillas (50 semillas/bolsa) cosechadas en diciembre de 2005 fueron enterradas en otro sector del área experimental y luego exhumadas a intervalos de 70, 165, 307, 411 y 520 días.

Las bolsas de 10 x 10 cm fueron confeccionadas con una malla de polietileno permeable a fin de mantener las condiciones naturales de difusión de aire y agua del suelo y a su vez permitir la actividad de insectos y microorganismos. Se utilizó un sistema de riego por goteo para el suministro de agua a los tratamientos con riego complementario. La frecuencia de riego utilizada fue de 14 días adicionando una cantidad de agua que simulara un incremento promedio del 50 % del aporte hídrico de las precipitaciones registradas durante las dos semanas previas a cada riego.

Las semillas exhumadas fueron lavadas para remover las partículas de suelo y se contabilizó el número de semillas germinadas y no germinadas al momento del muestreo. Se determinó la proporción de semillas germinadas *in situ* a campo indistintamente de la emergencia de plántulas. Las semillas no germinadas a campo fueron incubadas (ver protocolo de germinación) y las semillas germinadas *a posteriori* fueron consideradas quiescentes. Al cabo del período de incubación y a fin de evaluar la viabilidad de las semillas no germinadas, se procedió a la disección de las mismas y al tratamiento en solución (0,1 %) de cloruro de tetrazolio (2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazolio Cloruro) durante 24 horas en oscuridad a 30 °C (International Seed Testing Association, 1999). Las semillas viables (aquellas cuyos embriones se tiñeron de rosado/rojo) se consideraron en estado de dormición, mientras que la ausencia de tinción en los embriones provenientes de semillas intactas fue indicativa de la pérdida de viabilidad por decaimiento fisiológico. Simultáneamente, las semillas fueron inspeccionadas visualmente utilizando un microscopio de disección a fin de determinar signos de predación por parte de insectos y mamíferos. La mortalidad de semillas de *L. arvensis* se determinó a partir de la sumatoria de la proporción de semillas con decaimiento fisiológico y la proporción de semillas inviables por efecto de la predación. Todas las proporciones se calcularon sobre el total de semillas colocadas en cada bolsa (50 semillas).

La diferenciación entre las categorías ‘germinación’ y ‘mortalidad’ luego de un prolongado tiempo de enterramiento se basó en las características visuales del pericarpio de las semillas (se observaron los pericarpios abiertos exclusivamente en semillas germinadas).

El registro de temperaturas del suelo se realizó a ambas profundidades con una frecuencia de 2 horas utilizando registradores térmicos digitales (Thermochron Ibuttons, Model DS1921G-F50, Maxim Integrated Products, Inc.). El registro pluviométrico se obtuvo a partir de una estación meteorológica ubicada en el sitio experimental.

El análisis estadístico se llevó a cabo en forma separada sobre la base del total de semillas para cada una de las siguientes categorías: (i) germinación; (ii) quiescencia (germinación en laboratorio a 15/6 °C); (iii) dormición (semillas viables no germinadas) y (iv) mortalidad (semillas inviables por decaimiento fisiológico y predación). La varianza de los datos fue inspeccionada en forma visual mediante el estudio del gráfico de residuales a fin de confirmar el supuesto de homocedasticidad (homogeneidad de varianzas). Se examinaron los datos sin transformar y mediante la transformación arcoseno. La transformación de los datos mejoró la homogeneidad de varianzas, por lo tanto, el test de ANOVA se realizó sobre los datos transformados mediante arcoseno  $\sqrt{x}$ , donde  $x$  es la proporción de semillas.

### **2.2.2 Protocolo de germinación**

Se colocaron en forma uniforme 50 semillas de *L. arvense* en una caja de petri de 9 cm de diámetro conteniendo 2 hojas de papel de filtro Whatmann No. 1 humedecidas con 5 ml de agua destilada. Las cajas de petri fueron selladas con parafilm y colocadas en una cámara de germinación a un régimen óptimo de temperaturas alternadas de 15/6 °C (Baskin y Baskin, 1988, 1998). La cámara de germinación se encontraba equipada con tubos fluorescentes de luz blanca (OSRAM 36W/760) que otorgaban una densidad de flujo fotónico fotosintético de  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  por  $12 \text{ h d}^{-1}$ . El número de semillas germinadas se contabilizó al

cabo de 21 días de iniciado el experimento, utilizando como criterio de germinación la aparición visible de la radícula ( $\geq 1$  mm).

### 2.2.3 Experimento en macetas

Semillas cosechadas en diciembre de 2004 fueron almacenadas en seco a 24 °C hasta alcanzar una reducción significativa en el nivel de dormición primaria de la población (98 % de germinación a 10 °C luego de 6 meses de almacenamiento). Dichas semillas fueron utilizadas para estudiar el efecto de la profundidad de enterramiento sobre la germinación y la emergencia de *L. arvense* bajo condiciones controladas de laboratorio.

Grupos de 25 semillas de *L. arvense* se sembraron a profundidades de 0, 1, 3, 5, 7 y 10 cm en macetas plásticas cónicas (10 cm de diámetro x 12 cm de altura) conteniendo un suelo de textura arenoso-franco. El suelo para el llenado de las macetas fue extraído del sitio experimental y previamente tamizado (1 mm) a fin de remover semillas preexistentes. Las macetas fueron colocadas en una cámara de crecimiento a 10 °C con un fotoperíodo de 12 horas durante un período de 30 días. Durante dicho lapso de tiempo las macetas fueron regadas diariamente a fin de mantener un adecuado nivel de humedad. Al final del experimento, se determinó la proporción de plántulas emergidas mediante la observación de la aparición de los cotiledones sobre la superficie del suelo. Posteriormente, el suelo fue cuidadosamente removido de las macetas y se contabilizó el número de semillas germinadas. Se tomaron medidas de longitud de las plántulas no emergidas de *L. arvense* con la finalidad de estimar la longitud promedio de los hipocótilos de dichas plántulas. Los porcentajes de germinación y emergencia acumulados fueron calculados sobre el total de semillas viables. Se utilizó el test de tetrazolio para determinar la viabilidad de las semillas no germinadas.

Se utilizó un diseño estadístico en bloques completos al azar con 5 repeticiones. Cada repetición se colocó en una bandeja distinta de la cámara de crecimiento considerándose como un bloque. Los datos de germinación y emergencia fueron transformados mediante arcoseno  $\sqrt{x}$  previamente al análisis estadístico a fin de mejorar la homogeneidad de varianzas. Se ajustó un modelo

sigmoidal para describir el patrón de reducción de la emergencia en función del incremento en la profundidad de enterramiento de las semillas. Los datos de emergencia sin transformar se ajustaron al modelo sigmoidal de Boltzmann:

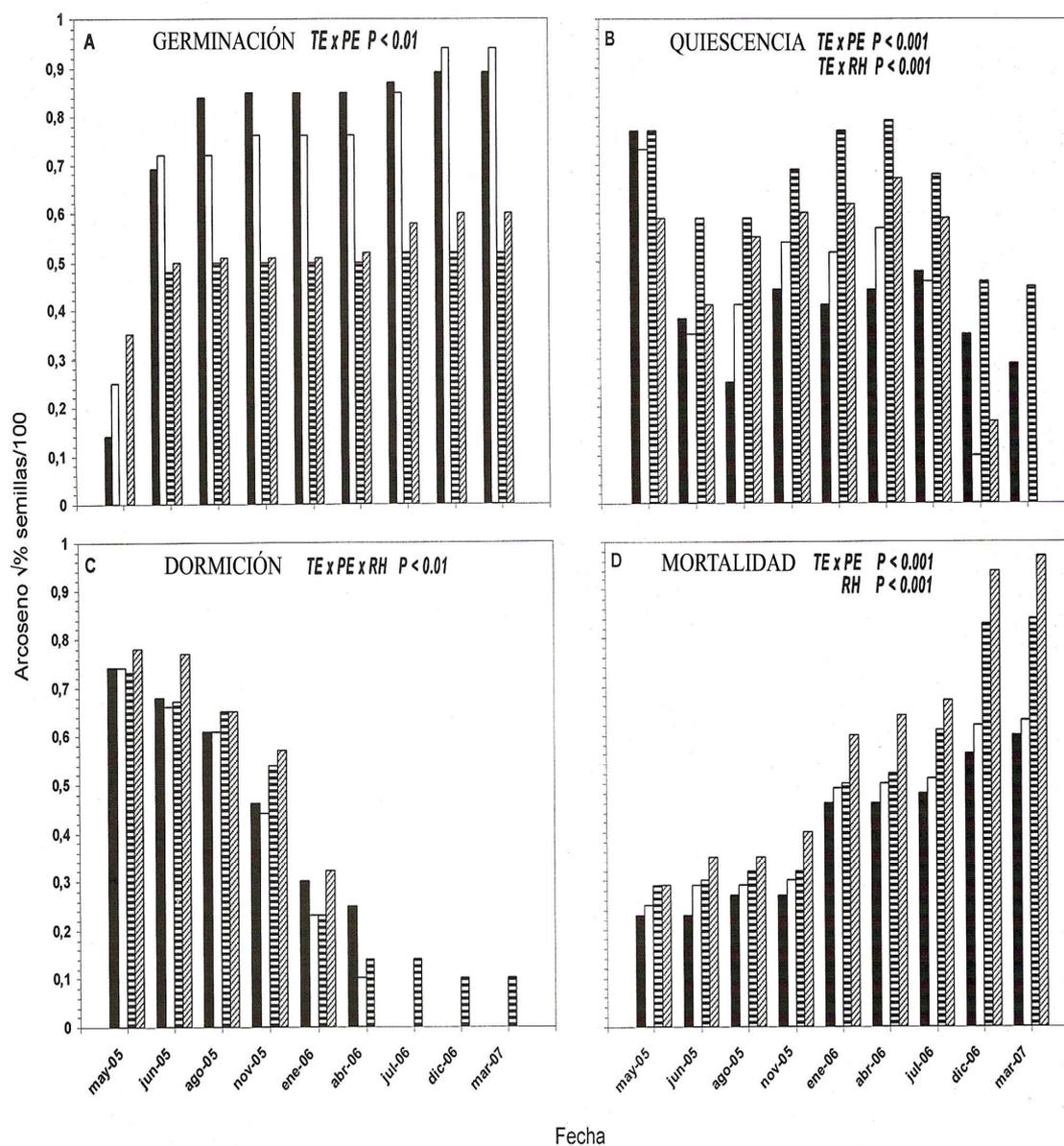
$$y = a + (b - a) / (1 + \exp (c - x) / d) \quad (\text{ec. 2.1})$$

donde  $y$  es el % de emergencia,  $x$  es la profundidad de enterramiento (cm),  $a$ ,  $b$ ,  $c$  y  $d$  son los parámetros del modelo.

## 2.3 Resultados

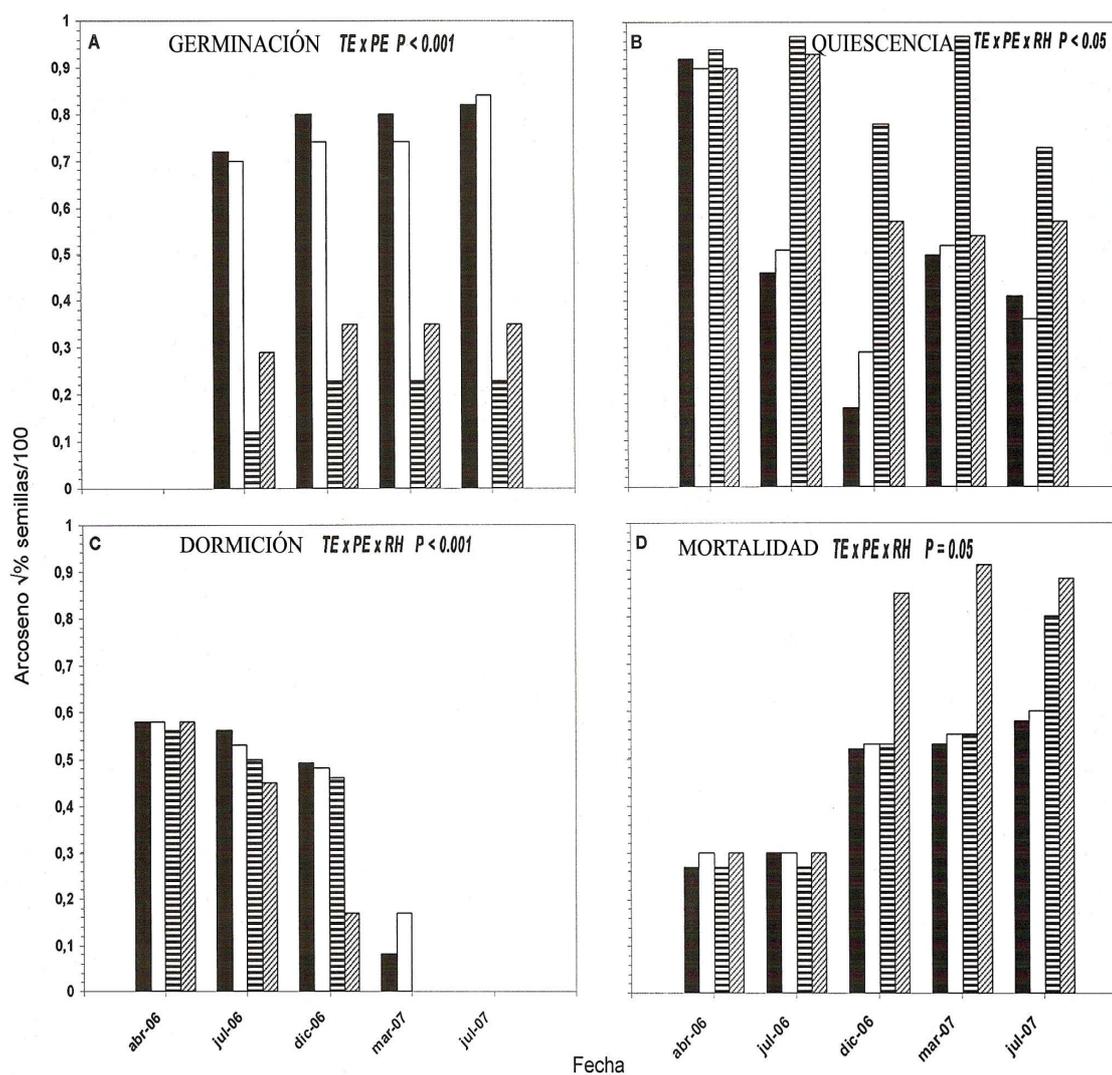
### 2.3.1 Experimento a campo

Los resultados estadísticos para el efecto de la profundidad de enterramiento y del régimen hídrico del suelo sobre la: (i) germinación; (ii) quiescencia; (iii) dormición y (iv) mortalidad de semillas de *L. arvensis* durante los periodos 2005-2007 y 2006-2007 (**anexo I**) se observan en las Figs. 2.1 y 2.2, respectivamente. Las tendencias porcentuales para los distintos componentes del banco de semillas se presentan en las Figs. 2.3 y 2.4.



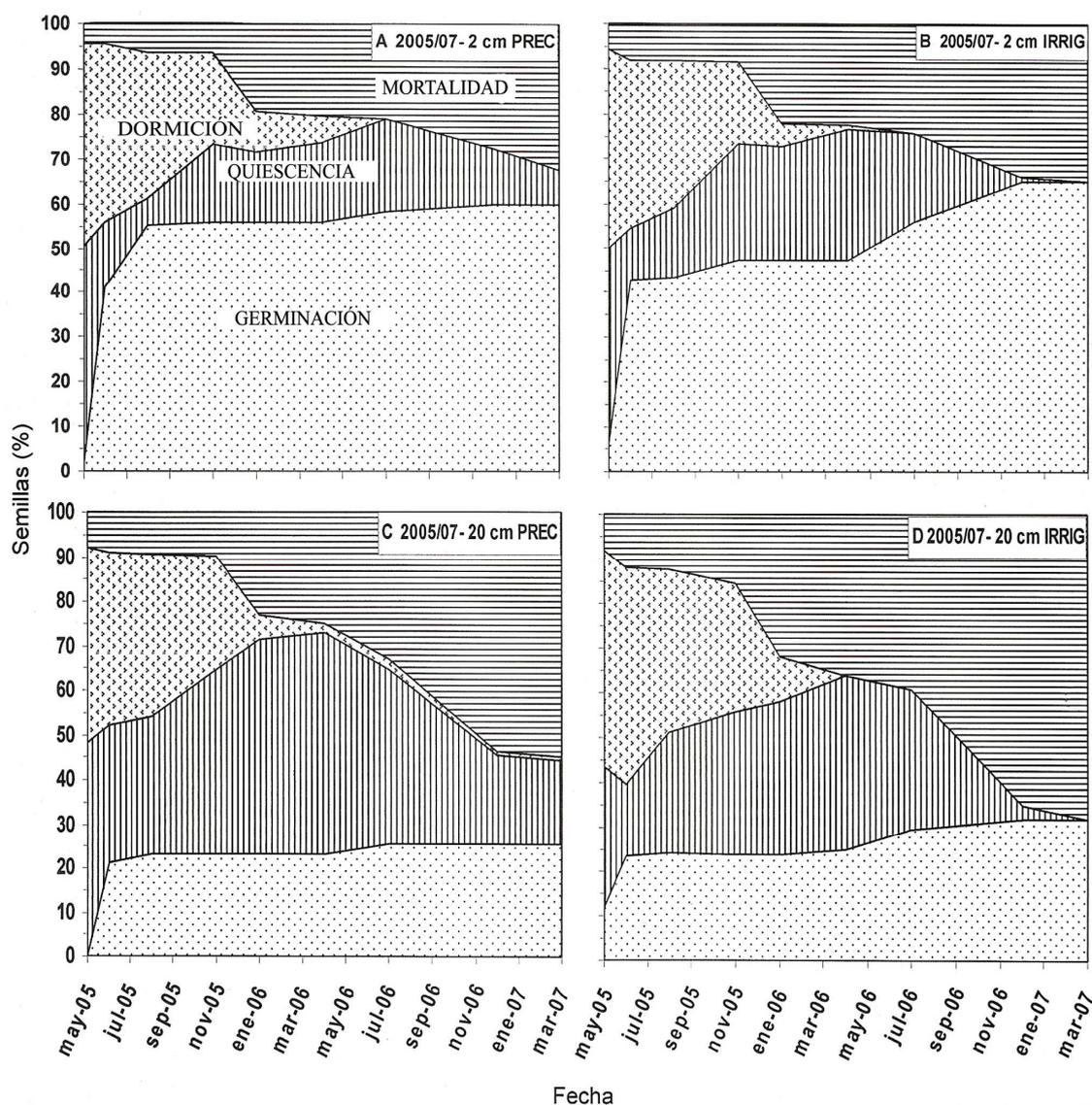
**Fig. 2.1** Datos transformados por arcoseno raíz cuadrada de la proporción de semillas de *L. arvensis* (% semillas/100) mostrando el efecto de la profundidad de enterramiento (PE), el tiempo de enterramiento (TE) y el régimen hídrico del suelo (RH) sobre los componentes del banco de semillas (germinación, quiescencia, dormición y mortalidad) durante el período 2005-2007. Las semillas fueron enterradas a 2 cm de profundidad, bajo dos regimenes hídricos: precipitación natural (barras llenas) y precipitación más riego (barra vacías), y a 20 cm bajo precipitación natural (barras con líneas horizontales) y precipitación más riego (barras con líneas diagonales). En la parte superior se indican las interacciones estadísticamente significativas y los efectos de los factores

principales a partir de los resultados de ANOVA para los distintos componentes. A continuación se indican los valores de SED (error estándar de diferencia de medias) y sus grados de libertad asociados para la comparación de medias. SED (73 g.l., para comparación de medias de germinación para la interacción TE x PE) = 0,07. SED (73 g.l., para comparación de medias de quiescencia para las interacciones TE x PE y TE x RH) = 0,06. SED (73 g.l., para comparación de medias de dormición para la interacción TE x PE x RH) = 0,04. SED (73 g.l., para comparación de medias de mortalidad para la interacción TE x PE) = 0,03. SED (73 g.l., para comparación de medias de mortalidad para el factor RH) = 0,01.

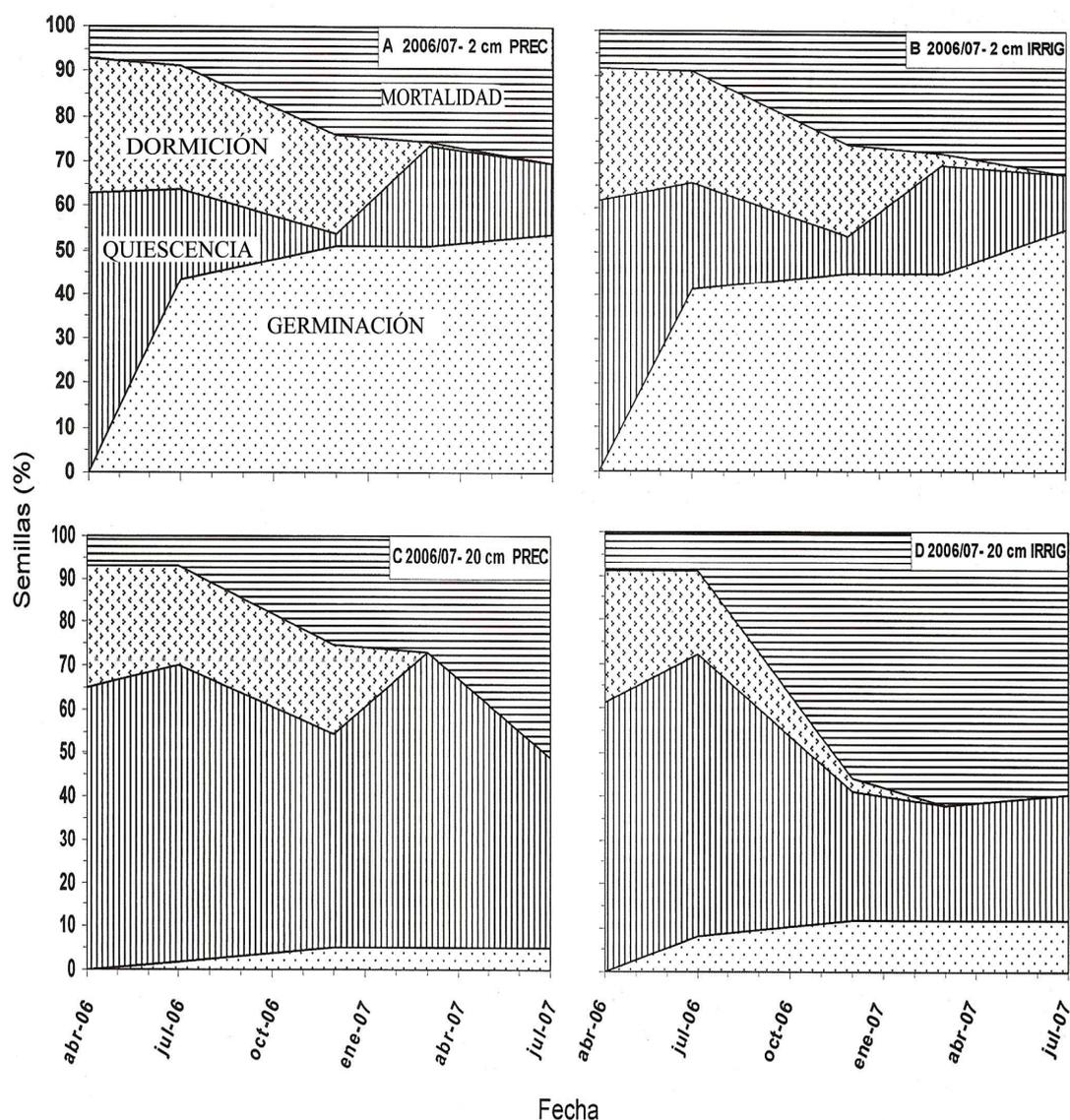


**Fig. 2.2** Datos transformados por arcoseno raíz cuadrada de la proporción de semillas de *L. arvensis* (% semillas/100) mostrando el efecto de la profundidad de enterramiento (PE), el tiempo de enterramiento (TE) y el régimen hídrico del suelo (RH) sobre los componentes del banco de semillas (germinación, quiescencia, dormición y mortalidad) durante el período 2006-2007. Las semillas fueron enterradas a 2 cm de profundidad, bajo dos regimenes hídricos: precipitación natural (barras llenas) y precipitación más riego (barra vacías), y a 20 cm bajo precipitación natural (barras con líneas horizontales) y precipitación más riego (barras con líneas diagonales). En la parte superior se indican las interacciones estadísticamente significativas y los efectos de los factores principales a partir de los resultados de ANOVA para los distintos componentes. A continuación se indican los valores de SED (error estándar de diferencia de

medias) y sus grados de libertad asociados para la comparación de medias. SED (41 g.l., para comparación de medias de germinación para la interacción TE x PE) = 0,08. SED (41 g.l., para comparación de medias de quiescencia para la interacción TE x PE x RH) = 0,08. SED (41 g.l., para comparación de medias de dormición para la interacción TE x PE x RH) = 0,03. SED (41 g.l., para comparación de medias de mortalidad para la interacción TE x PE x RH) = 0,10.

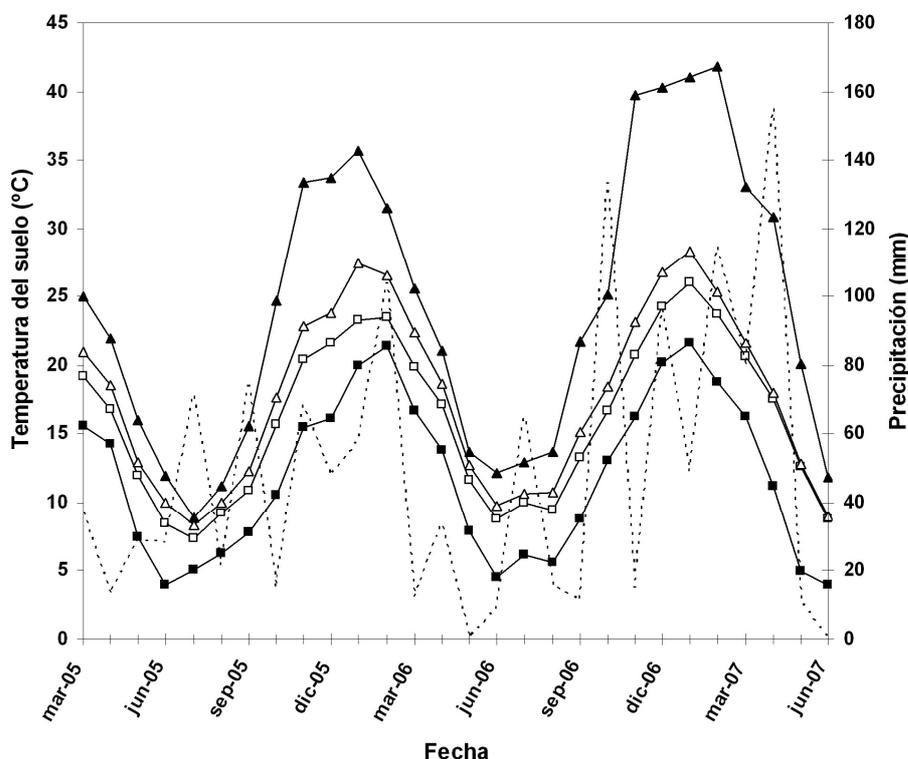


**Fig. 2.3** Composición porcentual relativa de cada componente del banco de semillas de *L. arvensis* (germinación: línea punteada; quiescencia: línea vertical; dormición: flechas; mortalidad: línea horizontal) en función de la profundidad de enterramiento (2 y 20 cm) y el régimen hídrico del suelo (PREC: precipitación natural; IRRIG: precipitación más riego) durante el período 2005-2007.



**Fig. 2.4** Composición porcentual relativa de cada componente del banco de semillas de *L. arvense* (germinación: línea punteada; quiescencia: línea vertical; dormición: flechas; mortalidad: línea horizontal) en función de la profundidad de enterramiento (2 y 20 cm) y el régimen hídrico del suelo (PREC: precipitación natural; IRRIG: precipitación más riego) durante el período 2006-2007.

La germinación a campo resultó influenciada significativamente por la interacción entre el tiempo y la profundidad de enterramiento (Figs. 2.1A y 2.2A). La proporción de semillas germinadas *in situ* fue marcadamente superior a 2 cm de profundidad respecto de semillas enterradas a 20 cm (Figs. 2.3 y 2.4). Como es de prever para una especie invernal, a medida que la temperatura se redujo hacia fines de otoño y principios del invierno (Fig. 2.5), se observó un incremento marcado en la germinación a campo de *L. arvense* (Figs. 2.1A y 2.3). A mediados del invierno (agosto 2005), con una temperatura promedio de 9 °C, la germinación acumulada fue de 49 y 24 % para las semillas enterradas a 2 y 20 cm, respectivamente, en promedio para ambos regimenes hídricos. En julio de 2006, durante el período 2006-2007, se obtuvieron porcentajes similares de germinación a partir de semillas enterradas a 2 cm de profundidad (Fig. 2.4A,B), pero solamente un promedio de germinación del 5 % a partir de semillas enterradas a 20 cm (Fig. 2.4C,D).



**Fig. 2.5** Temperaturas máximas (triángulos) y mínimas (cuadrados) medias mensuales registradas a 2 cm (símbolos llenos) y 20 cm (símbolos vacíos) profundidad en el suelo. Los datos pluviométricos (línea punteada) fueron registrados en el sitio experimental desde marzo de 2005 hasta junio de 2007.

El componente de quiescencia del banco de semillas evidenció interacciones altamente significativas entre el tiempo y la profundidad de enterramiento y entre el tiempo de enterramiento y el régimen hídrico de suelo durante el período 2005-2007 (Fig. 2.1B). La proporción de semillas quiescentes a 2 cm de profundidad se redujo aproximadamente de 45 a 10 % entre mayo y agosto de 2005, principalmente debido a un pico de germinación a campo (Fig. 2.3A,B). Indistintamente del régimen hídrico, a 20 cm de profundidad se observó una mayor proporción de semillas quiescentes como lo evidencian los menores porcentajes de germinación observados (Fig. 2.3C,D). A fines de primavera (diciembre 2006), la proporción de semillas quiescentes representaban el 15 y 2 % del total de semillas PREC e IRRIG, respectivamente, en promedio para ambas profundidades de enterramiento (Fig. 2.3). Los resultados obtenidos a partir de las semillas enterradas en enero de 2006 (Figs. 2.2B y 2.4) también evidenciaron una mayor proporción de semillas quiescentes a una mayor profundidad de enterramiento, principalmente bajo el régimen de precipitación natural.

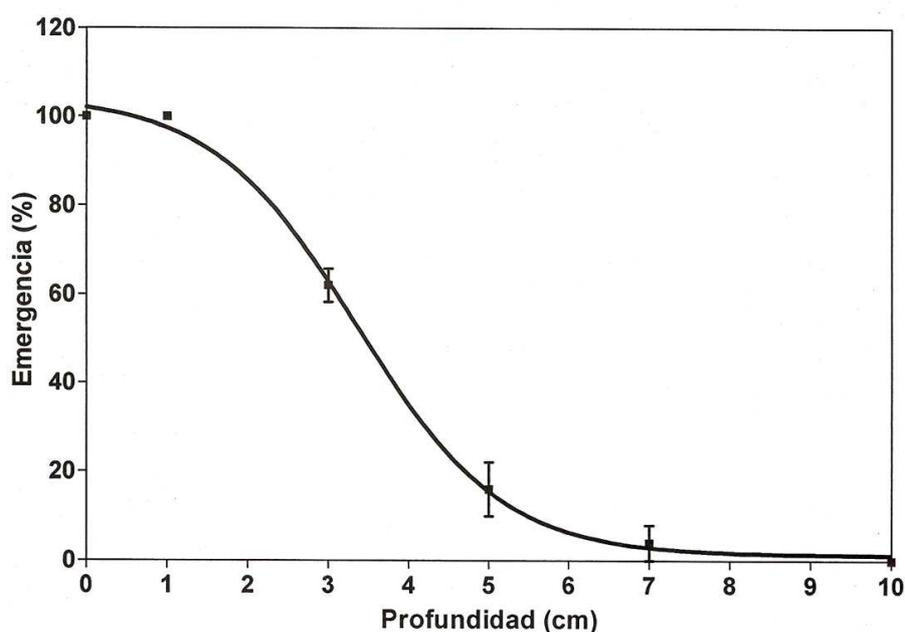
El componente de dormición del banco de semillas resultó influenciado significativamente por una interacción de segundo orden entre el tiempo de enterramiento, la profundidad y el régimen hídrico del suelo (Figs. 2.1C y 2.2C). Para las semillas enterradas en febrero de 2005, 6 meses después (para mediados del invierno), la proporción de semillas con dormición promediaba el 35 % de la población (Fig. 2.3). A medida que la temperatura del suelo se incrementaba durante la primavera y luego de la exposición a las altas temperaturas estivales (Fig. 2.5), los niveles de dormición sufrieron una drástica reducción y para julio de 2006 solamente el 2 % de las semillas PREC enterradas a mayor profundidad presentaban dormición (Fig. 2.3C). Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las combinaciones de ambos niveles de enterramiento y regímenes hídricos de suelo luego de 330 días de enterramiento (enero 2006) para cada fecha de exhumación, no se evidenció un efecto definido de ambas variables sobre el nivel de dormición del banco de semillas. Los resultados obtenidos para las semillas enterradas en enero de 2006 indican un porcentaje promedio de dormición del 25 % para la exhumación invernal realizada en dicho año. Como se observó anteriormente, los niveles de dormición se redujeron marcadamente luego de la exposición de las semillas a las altas

temperaturas estivales, siendo casi imperceptibles para marzo de 2007 (Fig. 2.4). Análogamente a lo observado durante el período 2005-2007, no se observó un efecto concreto de la profundidad de enterramiento y del régimen hídrico aplicado sobre el componente de dormición del banco de semillas.

La mortalidad de semillas en el banco fue influenciada significativamente por la interacción entre el tiempo y la profundidad de enterramiento durante el período 2005-2007 y también por el régimen hídrico aplicado (Fig. 2.1D). La mortalidad de las semillas se debió en gran medida al deterioro por senescencia y probablemente también por la acción de los microorganismos del suelo. No se observaron indicios de predación por insectos o mamíferos al realizar la inspección visual bajo microscopio de disección. Indistintamente de la profundidad de enterramiento o el régimen hídrico aplicado, la mortalidad de semillas de *L. arvense* se incrementó con el tiempo de enterramiento. Desde los 480 días de enterramiento (julio 2006) hasta la finalización del período de evaluación, la mortalidad fue significativamente mayor a 20 cm de profundidad respecto de las semillas enterradas cerca de la superficie del suelo (Figs. 2.1D y 2.3). A su vez, entre diciembre de 2006 y marzo de 2007, los porcentajes de mortalidad en semillas enterradas a mayor profundidad fueron entre 15 y 20 % más altos en semillas IRRIG respecto de semillas PREC (Fig. 2.3C,D). Durante 2006-2007, la mortalidad de semillas fue influenciada significativamente por la interacción entre el tiempo, la profundidad y el régimen hídrico (Fig. 2.2D). Una mayor tasa de mortalidad fue observada luego de julio de 2006 (165 días de enterramiento) en semillas IRRIG enterradas a 20 cm en relación con el resto de los ambientes comparados (Fig. 2.4). De hecho, la mortalidad de semillas al cabo de 307 días de enterramiento (diciembre 2006) fue de aproximadamente 55 % para semillas IRRIG a 20 cm de profundidad y de 25 % para el resto de los ambientes (Fig. 2.4).

### 2.3.2 Experimento en macetas

La germinación de *L. arvensis* no fue afectada por la profundidad de enterramiento de las semillas ( $P > 0,05$ ) observándose una germinación promedio del 98 % al cabo de 30 días de incubación. Contrariamente, la emergencia de las plántulas fue sustancialmente afectada por el incremento en la profundidad de enterramiento ( $P < 0,001$ ). Sobre la superficie del suelo o en sus cercanías (0 y 1 cm de profundidad) la totalidad de las plántulas lograron emerger, mientras que a 5 cm se observó una reducción en la emergencia del 84 % (Fig. 2.6). El patrón de reducción de la emergencia con la profundidad de enterramiento fue adecuadamente descrito mediante el modelo sigmoideal de Boltzmann (Fig. 2.6).



**Fig. 2.6** Efecto de la profundidad de enterramiento sobre la emergencia de *L. arvensis*. Los símbolos representan los valores observados de emergencia; las barras verticales representan el error estándar ( $n = 5$ ). La línea sólida corresponde al ajuste de un modelo sigmoideal de Boltzmann [ $y = a + (b - a)/(1 + \exp((c - x)/d))$ ] cuyos parámetros estimados son:  $a = 104,50 \pm 3,736$ ;  $b = 1,19 \pm 2,644$ ;  $c = 3,35 \pm 0,144$ ;  $d = 0,90 \pm 0,145$ ;  $R^2 = 0,975$ .

Según el modelo, una reducción del 50 % en la emergencia se alcanzaría a una profundidad de 3,5 cm. A 7 cm de profundidad la emergencia estimada es del 3 %. De hecho, en promedio solamente un 4 % de las plántulas de *L. arvensis* lograron emerger desde dicha profundidad (Fig. 2.6). No se registraron plántulas emergidas desde 10 cm de profundidad siendo el valor promedio de la longitud de los hipocótilos de  $4,5 \pm 2,3$  cm ( $n = 25$ ).

## 2.4 Discusión

Los cambios observados en el nivel de dormición del banco de semillas estuvieron claramente regulados por la temperatura del suelo. La alta tasa de salida de la dormición observada durante la estación estival sugiere una correlación positiva entre la velocidad de dicho proceso y la temperatura del suelo. Estos resultados concuerdan con observaciones previas que indican un incremento en las tasas y los porcentajes de germinación con el aumento de la temperatura de post-maduración en semillas de *L. arvensis* (Chantre *et al.*, 2006) y otras especies anuales de invierno (Foley, 1994; Allen *et al.*, 1995; Christensen *et al.*, 1998). No se observaron ciclos estacionales de dormición en dicha especie (Figs. 2.1C, 2.2C, 2.3 y 2.4). Similarmente, Kruk y Benech-Arnold (2000) no detectaron variaciones estacionales en el nivel de dormición de las malezas anuales facultativas de invierno *A. arvensis* y *C. acanthoides*. Por otra parte, la exposición de las semillas de *L. arvensis* a condiciones contrastantes de profundidad de enterramiento y régimen hídrico de suelo, no permitió evidenciar un efecto concluyente de ambas variables sobre la dinámica de la salida de la dormición. Aunque para algunas fechas de exhumación se observaron diferencias significativas en el nivel de dormición entre las combinaciones de ambas profundidades de enterramiento y ambos regímenes hídricos de suelo, una vez alcanzados niveles bajos de dormición (luego de un año de enterramiento y dos periodos estivales) dichas diferencias resultaron exiguas (< 5 %).

El experimento a campo demostró que la germinación *in situ* resultó significativamente reducida en semillas enterradas a 20 cm de profundidad, no siendo afectada por el régimen hídrico del suelo. En relación con lo argumentado en el párrafo anterior, no podría desestimarse un posible requerimiento

insatisfecho de temperaturas alternadas para permitir la germinación en semillas enterradas a mayor profundidad y con bajos niveles de dormición. Por otro lado, los datos obtenidos indican un incremento significativo en la proporción de semillas quiescentes con el aumento de la profundidad de enterramiento. Por lo tanto, considerando que el efecto de la alternancia térmica ha sido caracterizado como un factor terminador de la dormición encontrándose desacoplado del proceso de germinación (Benech-Arnold *et al.*, 2000), la mayor proporción de semillas quiescentes a 20 cm permiten inferir la existencia de algún otro factor restrictivo o requerimiento insatisfecho para la germinación. Benvenuti (2003) relacionó la reducción de la germinación a medida que se incrementaba la profundidad de enterramiento de semillas de *Datura stramonium* con un deficiente intercambio gaseoso en el ambiente edáfico que rodeaba a las mismas. De hecho, se ha demostrado que factores como la compactación del suelo, un alto contenido de humedad, una elevada actividad microbiana o una estructura de suelo deficiente pueden reducir la concentración de oxígeno o inhibir la difusión de gases en el suelo (Ishii y Kadoya, 1991; Drew, 1992). En dicha situación se vería favorecida la acumulación alrededor de las semillas de sustancias volátiles tóxicas producto de la fermentación pudiendo verse inhibida la germinación (Wesson y Wareing, 1969; Benvenuti y Macchia, 1995). Por lo tanto, la inhibición de la germinación a campo con el aumento de la profundidad de enterramiento, podría estar asociada a una situación de restricción en el intercambio gaseoso del suelo circundante a las semillas de *L. arvense*.

Contrariamente a lo observado a campo, los altos porcentajes de germinación obtenidos en laboratorio permitieron confirmar la ausencia de un requerimiento específico de alternancias térmicas o de exposición a la luz para permitir la germinación en semillas sometidas a post-maduración en seco. Dichos resultados son coincidentes con estudios previos de laboratorio realizados sobre *L. arvense* (ver **punto 1.5**). Claramente, dichos resultados no son extrapolables a la condición de campo, donde las semillas fueron sometidas a condiciones variables de temperatura y humedad durante el proceso de post-maduración.

El experimento de laboratorio demostró que la reducción en la emergencia de las plántulas de *L. arvense* a causa del incremento en la profundidad de enterramiento se debió principalmente al agotamiento de las reservas antes de alcanzar la superficie del suelo (Zorner *et al.*, 1984; Pierce y Cowling, 1991; Jansen y Ison, 1995). De hecho, se ha determinado que la emergencia de plántulas desde distintas profundidades es proporcional a la reserva energética de las semillas (Lafond y Baker, 1986).

El incremento en la tasa de mortalidad observado en semillas de *L. arvense* enterradas a mayor profundidad podría deberse fundamentalmente al deterioro fisiológico de la fracción de semillas quiescentes del banco, como consecuencia del envejecimiento y/o la actividad de los microorganismos del suelo (Kremer, 1993). A su vez, dichos procesos podrían verse promovidos por un incremento en el contenido hídrico del suelo, como se infiere de la Fig. 2.4D. Análogamente, estudios previos en otras especies como *A. fatua* (Zorner *et al.*, 1984) y *Mimosa pigra* (Lonsdale *et al.*, 1988) han evidenciado una disminución en la longevidad de las semillas con el aumento de la profundidad de enterramiento en el perfil del suelo.

## CAPITULO III

### MODELADO DE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE UN MODELO DE TIEMPO-TÉRMICO PARA LA SALIDA DE LA DORMICIÓN BASADO EN LOS CAMBIOS DE LOS PARÁMETROS TÉRMICOS DE LA POBLACIÓN (\*)

#### 3.1 Introducción

Como ya se indicó en el **punto 1.5**, al momento de la dispersión natural, las semillas de *L. arvense* presentan dormición condicional requiriendo de un período de post-maduración para la salida de la dormición (Baskin y Baskin, 1998). La temperatura es el principal factor ambiental que regula los cambios en el nivel de dormición en ambientes templados (Benech-Arnold *et al.*, 2000). En general, para especies anuales de invierno se ha observado un incremento en la tasa de salida de la dormición con el aumento de la temperatura de post-maduración (Thompson, 1973; Bell, 1993; Murdoch y Ellis, 2000). Allen *et al.* (1995) y Bauer *et al.* (1998) observaron un incremento en los porcentajes y las tasas de germinación en semillas de *B. tectorum* sometidas a distintos tratamientos de post-maduración. Favier (1995) propuso un modelo para la salida de la dormición de *Hordeum vulgare* donde la tasa de cambio del tiempo medio de germinación se describe como una función de la temperatura de post-maduración. Steadman *et al.* (2003a,b) utilizando un modelo de tiempo-térmico demostraron que la tasa de salida de la dormición en semillas de *L. rigidum* se incrementaba linealmente con el aumento de la temperatura.

A fin de poder caracterizar el comportamiento germinativo de una población de semillas en relación con la temperatura se han desarrollados modelos de tiempo-térmico contruidos sobre la base de la variación en la respuesta intrapoblacional a dicho factor ambiental. La mayoría de dichos modelos de germinación utilizan las temperaturas cardinales ( $T_b$ ,  $T_o$  y  $T_c$ ) y los tiempos-

---

\* parte de la información incluida en este capítulo ha sido publicada: Chantre GR, Batlla D, Sabbatini MR y Orioli GA (2009) Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. *Annals of Botany* **103**, 1291-1301.

térmicos de germinación, subóptimo ( $\theta_1$ ) y supraóptimo ( $\theta_2$ ), para cuantificar dicha variación (García-Huidobro *et al.*, 1982; Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986, 1987; Ellis y Butcher, 1988; Murdoch *et al.*, 1989; Bradford, 1996; Hardegree *et al.*, 1999). El modelo de germinación más difundido asume un valor constante de  $T_b$  para toda la población, y una distribución normal o log-normal de  $\theta_1$  en el rango térmico subóptimo de germinación (Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986; Benech-Arnold *et al.*, 1990; Steinmaus *et al.*, 2000; Alvarado y Bradford, 2002). En el rango térmico supraóptimo, se asumen generalmente un valor único de  $\theta_2$  y una distribución normal o log-normal de  $T_c$  (Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986; Ellis y Butcher, 1988). Sin embargo, Hardegree (2006) obtuvo un mejor ajuste de su modelo de germinación asumiendo un valor constante de  $T_c$  y una distribución log-normal de  $\theta_2$ . Grundy *et al.* (2000) trabajando con semillas de *Stellaria media* propusieron un modelo basado en el concepto de los umbrales térmicos de germinación, como complemento de las temperaturas cardinales. Según dicho modelo, cada semilla posee un umbral de temperatura inferior y otro superior para la germinación, los cuales se encuentran normalmente distribuidos en la población y definen el rango térmico dentro del cual cada semilla puede germinar. Batlla y Benech-Arnold (2003) asociaron el concepto de los umbrales térmicos de germinación con el nivel de dormición de una población de semillas de *P. aviculare* y desarrollaron un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición.

La implementación de modelos de tiempo-térmico resulta de gran utilidad para la cuantificación de los cambios en la distribución de los parámetros térmicos de la población (temperaturas cardinales, umbrales térmicos, tiempos térmicos de germinación) en función de los factores ambientales que modifican el nivel de dormición. Los objetivos del presente capítulo consistieron en: (1) cuantificar el efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas de *L. arvense* a un rango de temperaturas constantes, (2) determinar la capacidad relativa de distintos modelos de tiempo-térmico para predecir el comportamiento germinativo de la población, (3) desarrollar un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición primaria basado en los cambios de los parámetros térmicos de la población durante el proceso de post-maduración, y

(4) validar el modelo de dormición desarrollado con datos independientes obtenidos de un ensayo de emergencia a campo.

## **3.2 Materiales y Métodos**

### **3.2.1 Tratamientos de post-maduración**

Plantas maduras senescentes de *L. arvense* fueron cosechadas al momento de la dispersión natural de las semillas a fines de primavera (Diciembre 2005) de un campo de trigo localizado en las cercanías de Bahía Blanca (latitud 38°44'S, longitud 62°16'O). Las semillas fueron separadas manualmente y acondicionadas en bolsas de papel previamente a su almacenamiento en seco dentro de cámaras de crecimiento a temperaturas constantes de 5, 15 y 24 °C durante un período máximo de 210 días. Se evaluó la germinabilidad de las semillas recién cosechas y al cabo de 45, 100, 150 y 210 días de almacenamiento. El contenido hídrico de las semillas al momento de la cosecha fue de 8-10 % (base peso seco).

### **3.2.2 Test de germinación**

Los ensayos de germinación se llevaron a cabo utilizando una barra de gradiente térmico diseñada según Chatterton y Kadish (1969). Grupos de 50 semillas fueron incubados a regimenes de temperatura constante de 5, 8, 10, 13, 15, 17, 20 y 25 °C durante un período de 30 días. Se aplicó un régimen fotoperiódico de 12 horas por medio de tubos fluorescentes de luz blanca que otorgaban una densidad de flujo fotónico fotosintético de 80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Diariamente se monitoreó el número de semillas germinadas utilizando como criterio la aparición visible de la radícula ( $\geq 1$  mm). Los porcentajes de germinación se calcularon sobre la fracción viable de la población de semillas. A fin de evaluar viabilidad, las semillas no germinadas de *L. arvense* fueron disectadas longitudinalmente y tratadas en solución (0,1 %) de cloruro de tetrazolio (2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazolio Cloruro) durante 24 horas en oscuridad a 30 °C (International Seed Testing Association, 1999). Las semillas cuyos embriones tiñeron de rosado/rojo fueron consideradas viables.

### 3.2.3 Determinación de los rangos térmicos subóptimo y supraóptimo de germinación

Las curvas de germinación acumulada obtenidas a partir de los distintos tratamientos de post-maduración fueron utilizadas para estimar el tiempo requerido para alcanzar la germinación de los percentiles de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 % de la población. Dichas estimaciones se obtuvieron mediante la interpolación lineal entre los porcentajes diarios de germinación registrados a cada temperatura de incubación. Las tasas de germinación para cada percentil (recíproca del tiempo estimado de germinación de cada fracción de la población) graficadas en función de la temperatura de incubación, permitieron estimar la temperatura óptima de germinación (tasa máxima de germinación) por medio del ajuste de funciones de regresión lineal. Se asumió una relación lineal entre las tasas de germinación y la temperatura de incubación dentro de cada rango térmico de germinación (Garcia-Huidobro *et al.*, 1982; Covell *et al.*, 1986). Para el rango térmico subóptimo de germinación:

$$TG_g = (T - T_{b(g)})/\theta_{1(g)}, \quad (\text{ec. 3.1})$$

para el rango térmico supraóptimo,

$$TG_g = (T_{c(g)} - T)/\theta_{2(g)} \quad (\text{ec. 3.2})$$

donde  $TG_g$  es la tasa de germinación o recíproca del tiempo de germinación correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $T$  es la temperatura de incubación,  $T_{b(g)}$  y  $T_{c(g)}$  son las temperaturas base y máxima de germinación de cada fracción, respectivamente.  $\theta_{1(g)}$  y  $\theta_{2(g)}$  son el tiempo-térmico subóptimo y supraóptimo de germinación de cada fracción, respectivamente.

El valor estimado de  $T_o$  para cada percentil fue calculado a partir de la intersección de las funciones lineales ajustadas a los rangos térmicos subóptimo y supraóptimo (Hardegree, 2006). Dichas funciones fueron recalculadas para los distintos percentiles y obligadas a converger a un valor promedio de  $T_o$  a fin de identificar los rangos térmicos subóptimo y supraóptimo de la población.

### 3.2.4 Modelado de la germinación y obtención de los parámetros térmicos de la población

Las curvas de germinación acumulada obtenidas en forma experimental fueron analizadas mediante un procedimiento de regresión no lineal a fin de determinar la capacidad relativa de distintos modelos de tiempo-térmico para predecir el comportamiento germinativo de la población.

*Modelo 1.* En el presente modelo se asumió un valor constante de  $T_b$  para toda la población y una distribución normal de  $\theta_1$  (Covell *et al.*, 1986; Ellis *et al.*, 1986, 1987). En el rango térmico supraóptimo,  $T_c$  se consideró normalmente distribuida mientras que  $\theta_2$  se asumió constante (Ellis *et al.*, 1986, 1987). Para el rango térmico subóptimo  $\theta_1 \sim N(\theta_{(50)}, \sigma_\theta^2)$ , por lo tanto la proporción de semillas germinadas se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$p(\theta_{1(g)}) = \Phi[(\theta_{1(g)} - \theta_{(50)})/\sigma_\theta] \quad (\text{ec. 3.3})$$

donde  $p$  es la proporción de semillas geminadas dado un valor determinado de  $\theta_1$  correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $\Phi$  es la integral gaussiana o integral de probabilidad de la distribución normal,  $\theta_{(50)}$  y  $\sigma_\theta$  son la media y el desvío estándar de la distribución normal, respectivamente.

Para el rango térmico supraóptimo, la predicción de la germinación basada en  $T_c \sim N(T_{c(50)}, \sigma_{Tc}^2)$  resultó de la siguiente ecuación:

$$p(T_{c(g)}) = 1 - [\Phi(T_{c(g)} - T_{c(50)})/\sigma_{Tc}] \quad (\text{ec. 3.4})$$

donde  $p$  es la proporción de semillas geminadas dado un valor determinado de  $T_c$  correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $\Phi$  es la integral gaussiana o integral de probabilidad de la distribución normal,  $T_{c(50)}$  y  $\sigma_{Tc}$  son la media y el desvío estándar de la distribución normal, respectivamente.

*Modelo 2.* Las temperaturas cardinales  $T_b$  y  $T_c$  se asumieron normalmente distribuidas en la población mientras que  $\theta_1$  y  $\theta_2$  se consideraron constantes para las distintas fracciones de la población. La ecuación aplicada para la predicción de la germinación en el rango subóptimo de temperaturas fue la siguiente:

$$p(T_{b(g)}) = \Phi[(T_{b(g)} - T_{b(50)})/\sigma_{Tb}] \quad (\text{ec. 3.5})$$

donde  $T_{b(50)}$  y  $\sigma_{Tb}$  son la media y el desvío estándar de la distribución normal, respectivamente. Para el rango supraóptimo se aplicó la ec. (3.4).

*Modelo 3.* El modelo de umbrales térmicos de germinación propuesto por Grundy *et al.* (2000) se utilizó para estimar los porcentajes máximos de germinación en relación con los tratamientos de post-maduración. De acuerdo a dicho modelo, cada semilla de la población es capaz de germinar dentro de un rango de temperaturas comprendido entre un umbral térmico inferior y otro superior, los cuales se asumen normalmente distribuidos en la población. La proporción de semillas germinadas a una temperatura dada se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$p(T) = \{ \Phi[(T - m_L)/S_L] - \{ 1 - \Phi[(T - m_u)/S_u] \} \} \quad (\text{ec. 3.6})$$

donde  $p(T)$  es la proporción de semillas germinadas a la temperatura  $T$ . Las medias y los desvíos estándar de las distribuciones de los umbrales térmicos inferior y superior son  $m_L$ ,  $S_L$  y  $m_u$ ,  $S_u$ , respectivamente.

Las curvas de germinación obtenidas a partir de los distintos tratamientos de post-maduración fueron simuladas dentro de los límites definidos por ambos umbrales térmicos (fracción de la población en condiciones de germinar) asumiendo una distribución normal de los parámetros  $\theta_1$  y  $\theta_2$ . Las temperaturas base y máxima de germinación fueron estimadas a partir de las ecs. (3.1) y (3.2).

Los parámetros térmicos óptimos de la población para cada modelo de germinación fueron obtenidos mediante un método de regresión no lineal de mínimos cuadrados utilizando un programa de optimización numérica (Premium

Solver Platform 7.0; Frontline systems, Inc.). El máximo ajuste entre los datos experimentales y los simulados se logró mediante una técnica de aproximación numérica utilizando un algoritmo quasi-Newton.

### 3.2.5 Bondad de ajuste y análisis estadístico de los modelos de germinación

La evaluación de la bondad de ajuste de los modelos de germinación se realizó mediante el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). La fracción de la varianza explicada por el modelo de simulación se calculó como:

$$R^2 = 1 - [\Sigma(y_{\text{obs}} - y_{\text{sim}})^2 / \Sigma(y_{\text{obs}} - \bar{y}_{\text{obs}})^2] \quad (\text{ec. 3.7})$$

donde  $y_{\text{obs}}$  son los valores de germinación observados,  $y_{\text{sim}}$  los valores simulados. Un valor de  $R^2 = 1$  indica un ajuste perfecto del modelo a los datos observados.

La capacidad relativa de los distintos modelos para predecir el comportamiento germinativo de la población de semillas de *L. arvense* fue evaluada a través de la significancia estadística de la comparación de los coeficientes de ajuste  $R^2$ . Se utilizó el siguiente test-F (Vohnout, 2003):

$$F = [(n - p - 1)(R^2 - *R^2)] / [q(1 - R^2)] \quad (\text{ec. 3.8})$$

donde  $R^2$  es el coeficiente del modelo con la mayor bondad de ajuste,  $*R^2$  es el coeficiente del modelo a comparar,  $n$  es el número total de casos del modelo,  $p$  es el número de variables relacionadas con  $R^2$  y  $q$  es el número de variables relacionadas con  $*R^2$ . La significancia estadística se obtuvo de la distribución  $F$  con  $q$  y  $n-p-1$  grados de libertad.

### 3.2.6 Desarrollo del modelo de dormición

La secuencia de desarrollo del modelo se resume a continuación:

- (1) Determinar los parámetros térmicos de la población que maximicen el ajuste entre las curvas de germinación acumulada obtenidas experimentalmente de semillas almacenadas en seco a 5, 15 y 24 °C durante distintos periodos de post-maduración y las curvas predichas por cada modelo de germinación.
- (2) Determinar la bondad de ajuste de los distintos modelos de germinación y evaluar la capacidad relativa de los mismos para predecir el comportamiento germinativo de las semillas a través de la significancia estadística de la comparación de los coeficientes  $R^2$ .
- (3) Seleccionar el modelo de germinación con mayor ajuste a los datos observados.
- (4) Caracterizar los cambios en los parámetros térmicos de la población en función del tiempo de post-maduración y la temperatura de almacenamiento de las semillas, y derivar ecuaciones que relacionen la tasa de cambio de dichos parámetros con el tiempo-térmico de post-maduración.
- (5) Predecir los cambios en los parámetros térmicos de la población para semillas almacenadas en laboratorio y posteriormente enterradas a campo, utilizando las ecuaciones desarrolladas en (4).
- (6) Utilizar los parámetros térmicos predichos para simular las curvas de germinación acumulada y comparar con datos independientes de emergencia a campo.

### 3.2.7 Validación del modelo

A fin de evaluar la capacidad predictiva del modelo de dormición se utilizaron datos independientes obtenidos de un experimento de emergencia a campo. Para tal fin, plantas maduras senescentes de *L. arvense* fueron cosechadas al momento de la dispersión natural de las semillas (enero 2005) de un campo de trigo localizado en las cercanías de Bahía Blanca. Luego de la cosecha, las semillas fueron separadas manualmente y acondicionadas en bolsas de papel previamente a su almacenamiento en seco en cámaras de crecimiento a

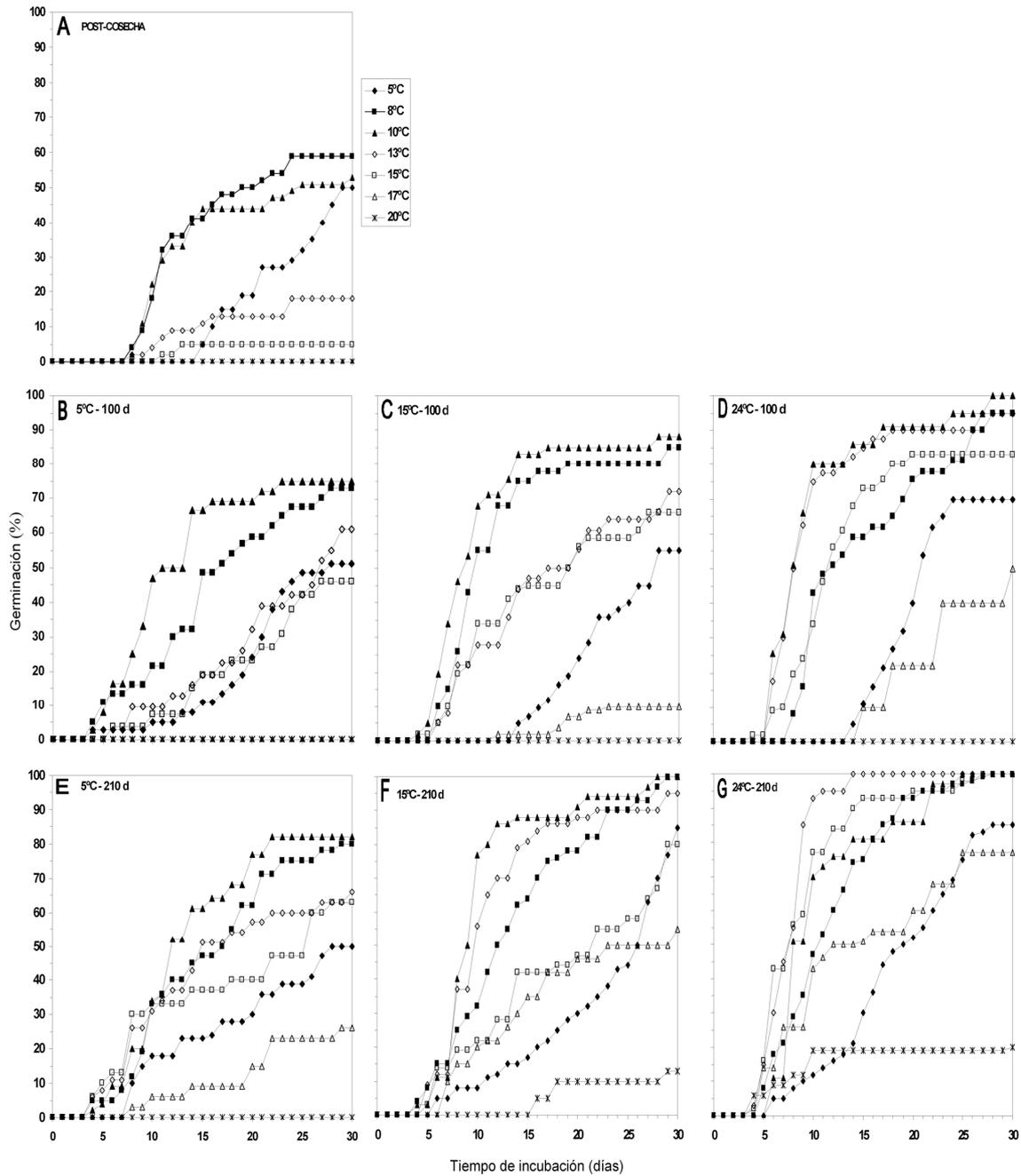
temperaturas constantes de 20 y 40 °C. El contenido hídrico de las semillas al momento de la cosecha fue de 6-8 % (base peso seco). Las semillas de *L. arvense* fueron divididas en tres lotes (lote 1, lote 2 y lote 3), los cuales fueron expuestos a distintos tratamientos de post-maduración. El lote 1 fue almacenado a 20 °C durante 33 días, el lote 2 fue almacenado inicialmente a 20 °C durante 20 días y posteriormente a 40 °C durante 30 días, el lote 3 fue expuesto a un régimen térmico constante de 40 °C durante 70 días. Posteriormente, las semillas de *L. arvense* fueron sembradas a 1 cm de profundidad en el campo experimental del CERZOS (38°39'54''S 62°13'58''O), Universidad Nacional del Sur y CONICET, localizado en Bahía Blanca. Las semillas pertenecientes a cada lote fueron sembradas en parcelas de 0,8 x 0,8 m siguiendo un diseño factorial completamente aleatorizado con tres repeticiones (80 semillas/parcela). La fecha de siembra de las semillas varió de acuerdo a la duración de cada uno de los tratamientos previos de post-maduración en laboratorio; por lo tanto, las semillas fueron sembradas el 24/02/2005 (lote 1), 11/03/2005 (lote 2) y 30/03/2005 (lote 3).

La emergencia de las plántulas se registró cada dos semanas desde comienzos del otoño a comienzos de la primavera, a fin de incluir el período completo de emergencia de la especie. Las plántulas fueron contabilizadas e inmediatamente removidas al observarse los cotiledones. Las parcelas fueron regadas periódicamente mediante un sistema de riego localizado por goteo, a fin de evitar posibles situaciones de déficit hídrico a causa del patrón irregular de precipitaciones. Las temperaturas del suelo fueron registradas cada 2 horas a 1 cm de profundidad utilizando registradores térmicos digitales (Thermochron Ibuttons, Model DS1921G-F50, Maxim Integrated Products, Inc.).

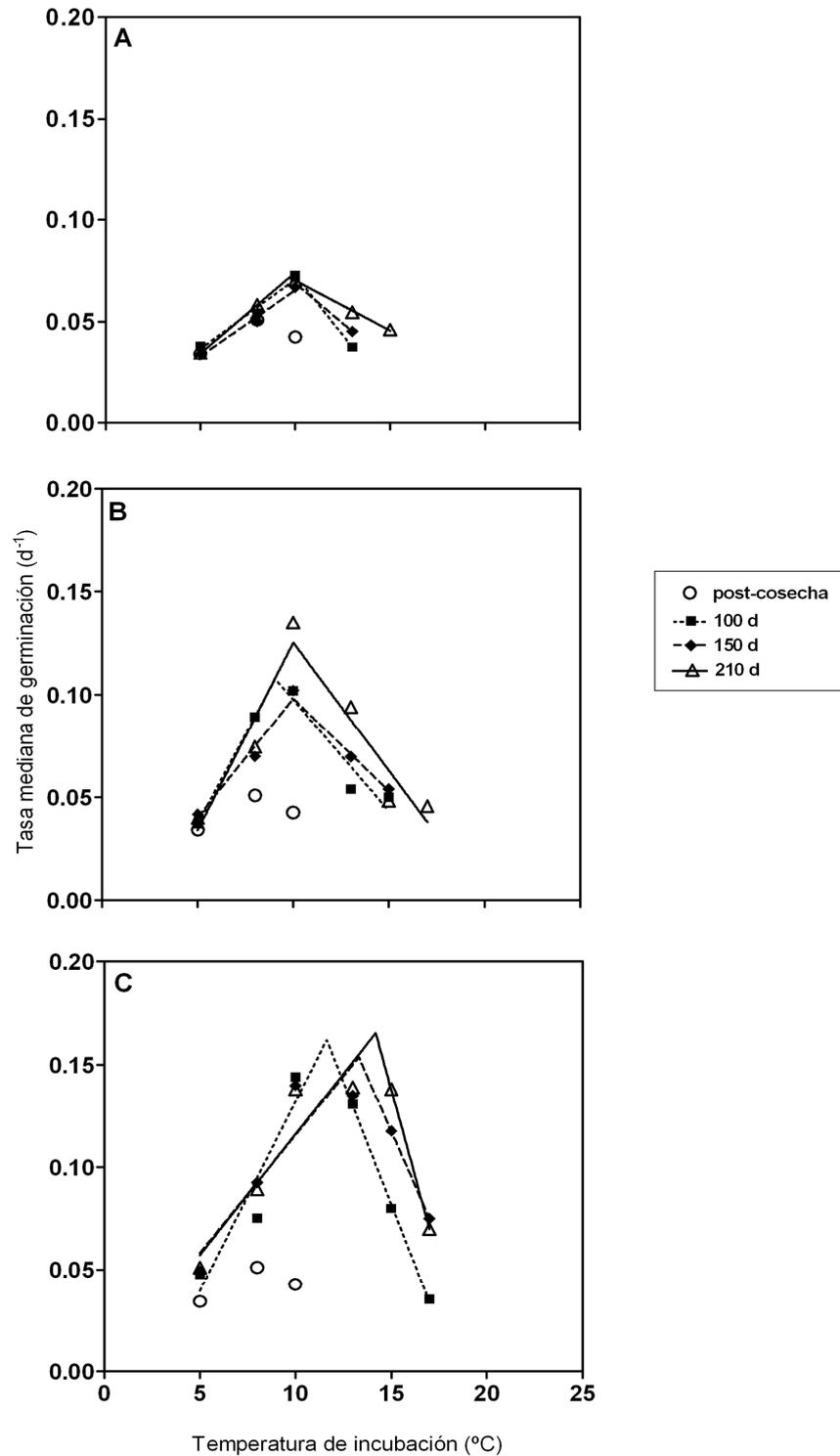
### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas

Semillas recién cosechadas de *L. arvense* evidenciaron porcentajes máximos de germinación de 50-60 % a bajas temperaturas de incubación (5-10 °C), mientras que a temperaturas mayores de 13 °C la germinación se redujo drásticamente (Fig. 3.1A). Con el avance del tiempo de post-maduración, las semillas fueron capaces de germinar progresivamente a temperaturas mayores (comparar filas en Fig. 3.1). Los porcentajes de germinación al cabo de un determinado período de post-maduración también resultaron influenciados por la temperatura de almacenamiento. De hecho, se observó un aumento en los porcentajes de germinación y las semillas fueron capaces de germinar a temperaturas mayores a medida que se incrementaba la temperatura de post-maduración (comparar columnas en Fig. 3.1). Paralelamente, se observó un aumento en la tasa mediana de germinación (recíproca del tiempo de germinación para el percentil 50) con el avance del tiempo de post-maduración y el incremento de la temperatura de almacenamiento (Fig. 3.2). Las tasas de germinación más bajas fueron obtenidas a partir de semillas almacenadas a 5 °C (Fig. 3.2A) registrándose un incremento significativo en la velocidad de germinación a temperaturas de almacenamiento más elevadas (Fig. 3.2B,C).



**Fig. 3.1** Curvas de germinación acumulada obtenidas a partir de semillas de *L. arvense* almacenadas a 5, 15 y 24 °C durante (A) 0, (B-D) 100 y (E-G) 210 días de post-maduración. Al cabo de los distintos tratamientos de post-maduración las semillas fueron incubadas a temperaturas constantes de 5, 8, 10, 13, 15, 17 y 20 °C durante 30 días. No se registró germinación a 25 °C en ninguno de los tratamientos de post-maduración evaluados.



**Fig. 3.2** Tasa mediana de germinación (recíproca del tiempo de germinación para el percentil 50) en función de la temperatura de incubación para semillas de *L. arvense* almacenadas a (A) 5, (B) 15 y (C) 24 °C durante 100, 150 y 210 días de post-maduración. Los valores de  $R^2$  para semillas almacenadas en seco durante 100, 150 y 210 días, respectivamente, fueron los siguientes: (A) 0,98, 0,98 y 0,99; (B) 0,94, 0,98 y 0,90; (C) 0,94, 0,87 y 0,91. La tasa mediana de germinación

correspondiente a semillas recién cosechadas de *L. arvense* (post-cosecha) no pudo ser ajustada mediante funciones lineales debido a un rango térmico de germinación muy restringido.

Como se observa en las Figs. 3.1 y 3.2, los porcentajes máximos de germinación y la mayor tasa mediana de germinación se obtuvieron a partir de semillas sometidas a un tratamiento de post-maduración de 210 días a una temperatura de almacenamiento de 24 °C. Los porcentajes acumulados de germinación para dichas semillas fueron de 85 % a 5 °C, 100 % entre 8 y 15 °C, 77 % a 17 °C, 20 % a 20 °C y 0 % a 25 °C (Fig. 3.1G), mientras que la mayor velocidad de germinación se registró a temperaturas de incubación de 10, 13 y 15 °C (Fig. 3.2C).

A partir de los resultados expuestos se evidencia que las semillas de *L. arvense* presentan un patrón de salida de la dormición caracterizado por un incremento en la tasa mediana de germinación y un aumento progresivo en la temperatura máxima de germinación, como es de prever para una especie anual de invierno (Foley, 1994; Allen *et al.*, 1995; Baskin y Baskin, 1998).

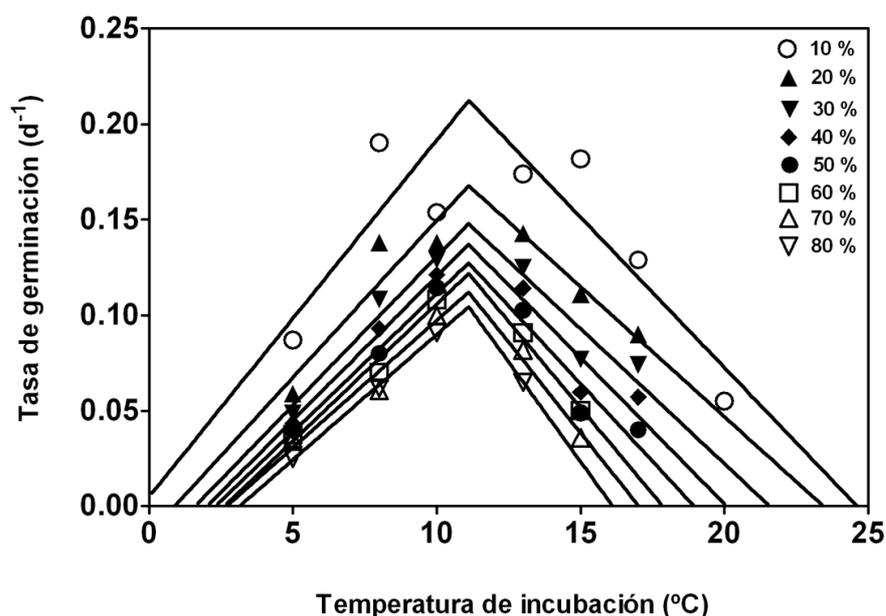
### 3.3.2 Bondad de ajuste y análisis estadístico de los modelos de germinación

El mejor ajuste a los datos experimentales se logró asumiendo una distribución normal de  $T_b$  y  $T_c$  en la población de semillas (*Modelo 2*; Tabla 3.1). Se obtuvo un valor de  $R^2 = 0,956$  al ajustar el modelo seleccionado a los valores de germinación observados considerando el rango térmico completo (global) de germinación. Se observaron diferencias altamente significativas entre los valores de  $R^2$  del *Modelo 2* y el resto de los coeficientes obtenidos bajo los supuestos de los *Modelos 1* y *3* (Tabla 3.1). No se encontraron evidencias de falta de homocedasticidad o normalidad en el modelo seleccionado de acuerdo al diagnóstico visual de los gráficos de probabilidad normal y de residuales.

**Tabla 3.1** Resultados comparativos del ajuste de distintos modelos de tiempo-térmico a los datos experimentales de germinación. Se calcularon la suma de cuadrados residual ( $SC_{RES}$ ) y total ( $SC_{TOTAL}$ ) para los rangos térmicos parciales (subóptimo y supraóptimo) y para el rango térmico completo de germinación (global). Se utilizaron los coeficientes  $R^2$  del *Modelo 2* como valores indicativos del máximo ajuste a los datos experimentales ( $R^2$  de la ec. 3.8). La significancia estadística de la comparación entre coeficientes surgió de comparar el resultado del test- $F$  con un valor crítico  $F_{0.01} \sim (q, n-p-1)$ .

Modelo de germinación	Rango térmico	$SC_{RES}$ $\sum(y_{obs} - y_{sim})^2$	$SC_{TOTAL}$ $\sum(y_{obs} - \bar{y}_{obs})^2$	$R^2$	Significancia estadística
<i>Modelo 1</i>	Subóptimo	71.749,9	1.045.581,5	0,931	**
	Supraóptimo	49.642,4	1.246.363,2	0,960	—
	Global	121.392,3	2.568.344,4	0,953	**
<i>Modelo 2</i>	Subóptimo	61.423,7	959.252,9	0,936	—
	Supraóptimo	49.642,4	1.246.363,2	0,960	—
	Global	111.066,1	2.523.758,4	0,956	—
<i>Modelo 3</i>	Subóptimo	69.983,2	1.023.260,7	0,932	**
	Supraóptimo	65.413,1	1.127.764,0	0,942	**
	Global	135.396,3	2.494.402,2	0,946	**

Al establecer una relación lineal entre la tasa de germinación de cada percentil y la temperatura de incubación dentro de cada rango térmico de germinación se infiere una distribución normal de  $T_b$  y  $T_c$  en la población, como lo sugiere el *Modelo 2* (Tabla 3.1). Un ejemplo de dicho atributo poblacional se muestra para semillas de *L. arvense* almacenadas durante de 210 días a 15 °C (Fig. 3.3).



**Fig. 3.3** Tasas de germinación para los distintos percentiles de la población descritas como funciones lineales de la temperatura de incubación. Se muestran los percentiles de 10 % ( $R^2 = 0,74$ ), 20 % ( $R^2 = 0,88$ ), 30 % ( $R^2 = 0,91$ ), 40 % ( $R^2 = 0,91$ ), 50 % ( $R^2 = 0,93$ ), 60 % ( $R^2 = 0,98$ ), 70 % ( $R^2 = 0,95$ ) y 80 % ( $R^2 = 0,99$ ) obtenidos de semillas de *L. arvense* almacenadas a 15 °C durante un período de post-maduración de 210 días.

Las tasas de germinación para las distintas fracciones de la población dentro del rango térmico subóptimo podrían ser descritas como una serie de funciones lineales positivas con diferentes valores de  $T_{b(g)}$  o puntos de intersección en el eje  $x$ . Análogamente, dentro del rango térmico supraóptimo, el ajuste de funciones lineales negativas con distintos valores de  $T_{c(g)}$  logran describir adecuadamente el comportamiento de las tasas de germinación. Las pendientes de las funciones lineales fueron relativamente similares para los distintos percentiles dentro de cada rango térmico de germinación, indicando una pequeña variación en los valores de  $\theta_1$  y  $\theta_2$  entre las distintas fracciones de la población (Fig. 3.3).

Debido a la presencia de un *plateau* de temperaturas óptimas en los percentiles de 10 y 20 % (Fig. 3.3), las tasas de germinación de las distintas fracciones de la población fueron ajustadas a funciones cuadráticas y gaussianas a fin de determinar si se podría mejorar la bondad de ajuste mediante la utilización de modelos no lineales. Sin embargo, el mejor ajuste global de las tasas de germinación se logró mediante funciones de regresión lineal.

### **3.3.3 Cambios en los parámetros térmicos de la población en función del tiempo y la temperatura de post-maduración**

Se observó un notorio incremento en la temperatura máxima media de germinación ( $T_{c(50)}$ ) con el avance del tiempo de post-maduración y el aumento de la temperatura de almacenamiento (Tabla 3.2; Fig. 3.4A). El incremento térmico estimado entre semillas recién cosechadas y semillas almacenadas a 24 °C durante 210 días fue de 8 °C.

**Tabla 3.2** Parámetros térmicos estimados para semillas de *L. arvense* almacenadas a 5, 15 y 24 °C. Las semillas fueron incubadas a 5, 8, 10, 13, 15, 17, 20 y 25 °C luego de 0, 45, 100, 150 y 210 días de post-maduración. Los parámetros fueron obtenidos mediante simulación de las curvas experimentales de germinación asumiendo una distribución normal de  $T_b$  (ec. 3.5) y  $T_c$  (ec.3.4) en la población. Se incluyen los coeficientes  $R^2$  para los distintos tratamientos de post-maduración, al igual que los coeficientes de variación (CV) de los distintos parámetros térmicos.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de post-maduración (días)	$T_{b(50)}$ (°C)	$\sigma_{T_b}$	$\Theta_1$ (°Cd)	$R^2$	$T_{c(50)}$ (°C)	$\sigma_{T_c}$	$\Theta_2$ (°Cd)	$R^2$
-	0	2,11	4,64	114,67	0,90	11,64	3,07	39,70	0,99
5	45	1,51	7,33	82,70	0,88	12,44	4,07	30,79	0,95
	100	1,79	4,01	104,42	0,94	15,15	3,44	61,65	0,93
	150	2,11	6,30	103,05	0,93	15,54	3,26	44,89	0,94
	210	1,70	4,78	98,23	0,97	16,18	3,60	44,27	0,92
15	45	1,87	4,96	95,34	0,94	12,45	2,56	36,37	0,99
	100	2,11	2,50	72,10	0,89	16,75	3,33	54,93	0,92
	150	1,79	2,71	82,36	0,90	18,42	3,49	54,01	0,91
	210	2,11	2,42	70,53	0,96	18,56	2,97	54,00	0,94
24	45	1,51	2,62	79,51	0,92	13,98	2,18	47,34	0,99
	100	1,95	2,65	70,97	0,94	18,07	1,55	39,36	0,98
	150	1,51	1,94	74,81	0,89	19,62	2,62	33,56	0,98
	210	1,51	2,65	71,76	0,94	19,52	2,24	31,39	0,97
CV		13,81	44,24	17,54		17,28	23,50	22,56	

La temperatura base media de germinación ( $T_{b(50)}$ ) no evidenció cambios consistentes con el incremento del tiempo de post-maduración (regresión lineal,  $r^2 = 0,02$ ,  $P = 0,68$ ) o la temperatura de almacenamiento ( $r^2 = 0,07$ ,  $P = 0,42$ ). En el rango térmico subóptimo, se observó una reducción en los valores de  $\theta_1$  con el incremento de la temperatura de almacenamiento ( $r^2 = 0,57$ ,  $P < 0,01$ ), indistintamente del tiempo de post-maduración. En promedio los valores de  $\theta_1$  se redujeron en 17,6, 34,6 y 40,4 °Cd cuando las semillas fueron almacenadas a 5, 15 y 24 °C, respectivamente, en comparación con semillas recién cosechadas (Tabla 3.2). Las variaciones observadas en los valores estimados de  $\sigma_{Tb}$  y  $\sigma_{Tc}$ , al igual que en el tiempo-térmico supraóptimo de germinación ( $\theta_2$ ) no estuvieron relacionadas con el tiempo de post-maduración ( $P \geq 0,34$ ).

### 3.3.4 Desarrollo del modelo de dormición

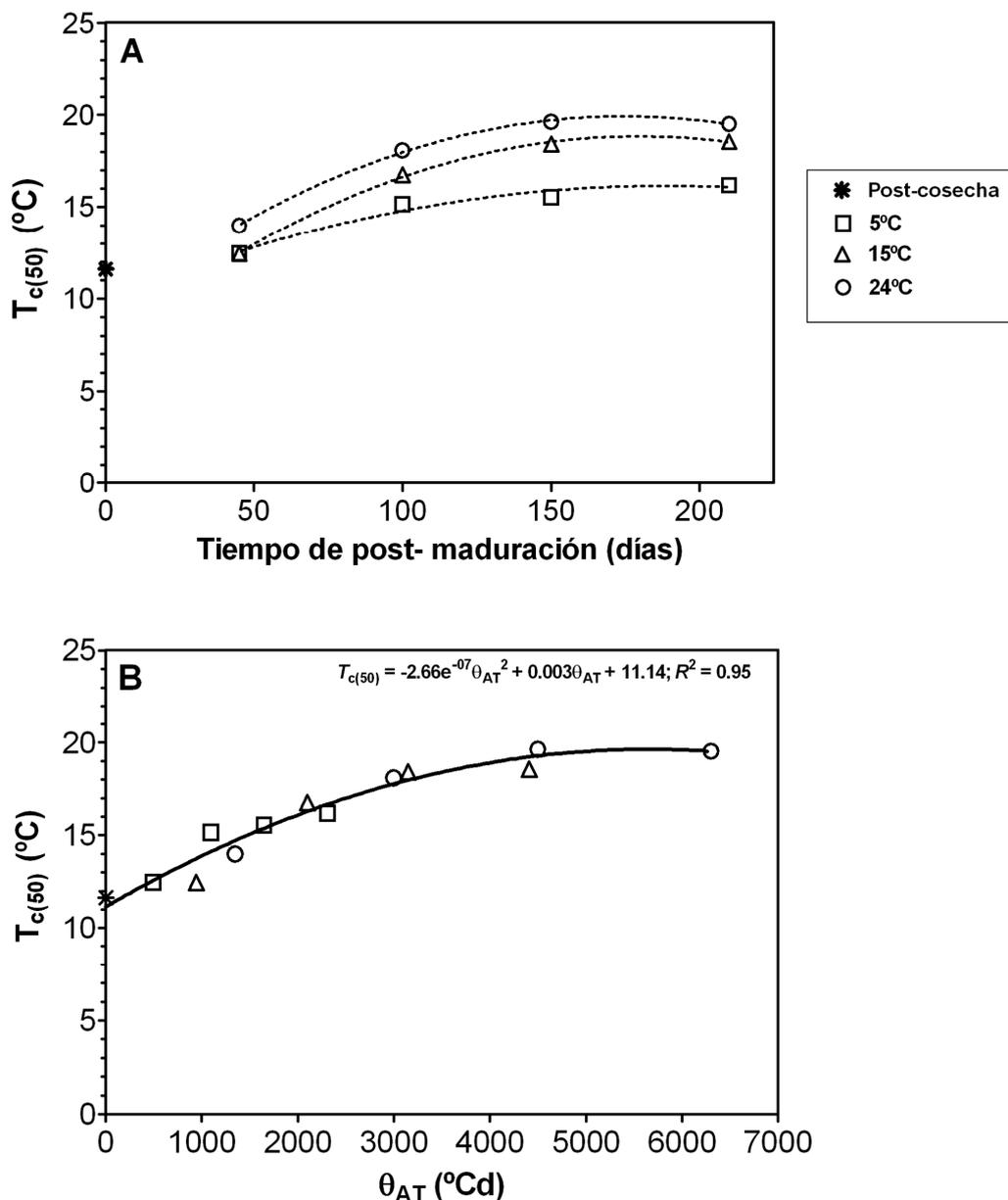
El proceso de salida de la dormición primaria en semillas de *L. arvense* se caracterizó por cambios progresivos en los parámetros térmicos de la población,  $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$ , en función del tiempo y la temperatura de post-maduración. A fin de cuantificar el efecto combinado de ambas variables, los cambios en los parámetros  $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$  fueron predichos como una función de la acumulación de unidades de tiempo-térmico de post-maduración (°Cd). La función empleada calcula la acumulación de tiempo-térmico sobre una temperatura ‘base’ para la salida de la dormición, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\Theta_{AT} = (T_s - T_1)t_{ar} \quad (\text{ec. 3.9})$$

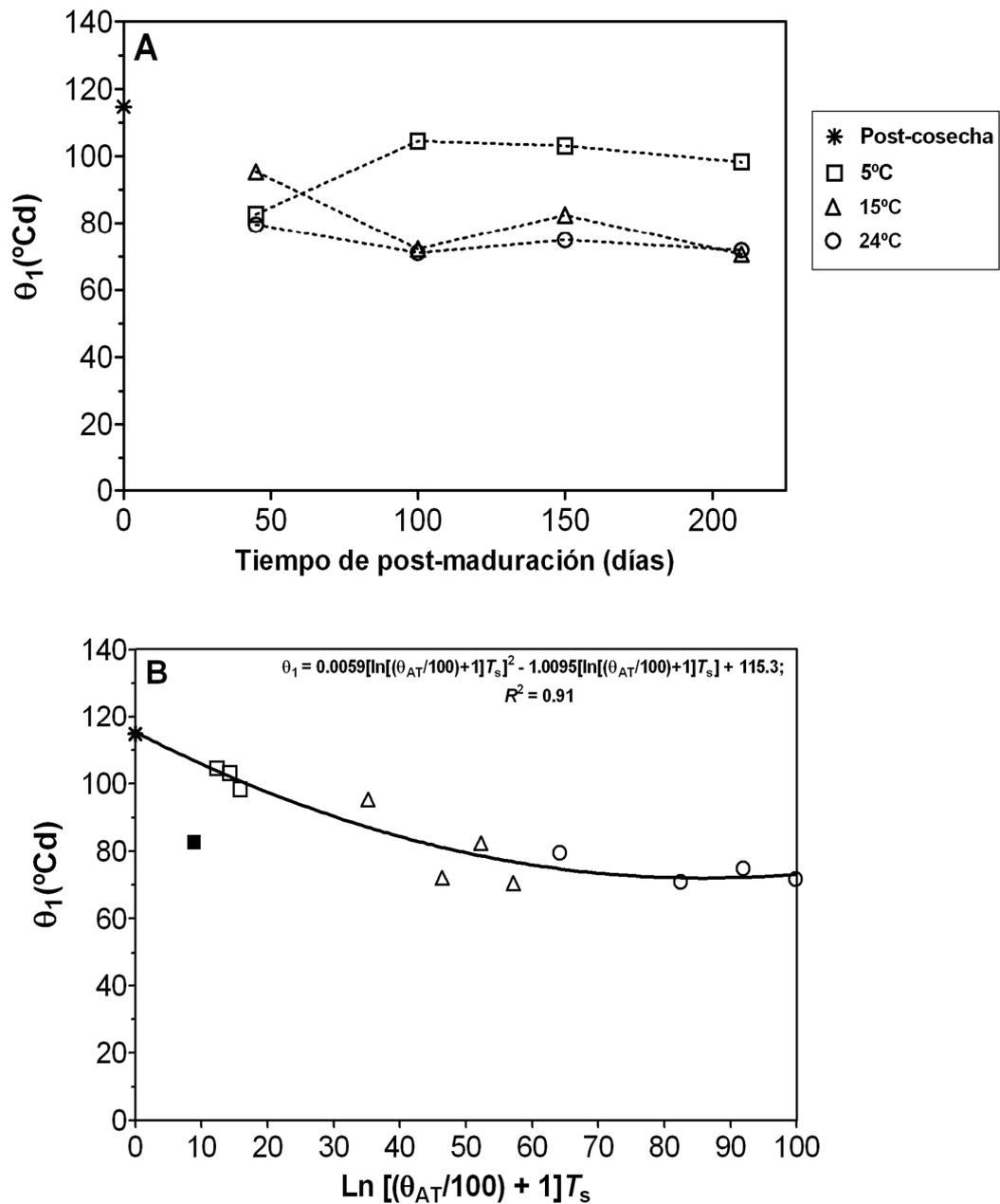
donde  $\Theta_{AT}$  es el tiempo-térmico de post-maduración,  $T_s$  es la temperatura de post-maduración o almacenamiento,  $T_1$  es la temperatura base o umbral de post-maduración (por debajo de la cual no se acumula tiempo-térmico para la salida de la dormición),  $t_{ar}$  es el tiempo de post-maduración.

Como se observa en la Fig. 3.4B, los cambios en los valores de  $T_{c(50)}$  fueron adecuadamente descritos a través de una función cuadrática del tiempo-térmico de post-maduración. El valor óptimo de  $T_1$  se obtuvo mediante un procedimiento de iteración numérica hasta lograr el máximo ajuste de la función polinómica entre  $T_{c(50)}$  y  $\Theta_{AT}$ . El mayor ajuste a los datos experimentales se logró considerando un valor de  $T_1 = -6$  °C, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$T_{c(50)} = -2,66e^{-07}\Theta_{AT}^2 + 0,003\Theta_{AT} + 11,14 \quad (\text{ec. 3.10})$$



**Fig. 3.4** Valores estimados de la temperatura máxima media de germinación ( $T_{c(50)}$ ) en post-cosecha y para semillas almacenadas a 5, 15 y 24 °C, en función del: (A) tiempo de post-maduración; (B) tiempo-térmico de post-maduración ( $\theta_{AT}$ ). Las líneas punteadas en (A) corresponden a funciones cuadráticas ajustadas a cada temperatura de almacenamiento, con valores de  $R^2 = 0,96$ ,  $0,99$  y  $0,99$ , respectivamente. La función cuadrática ajustada en (B) se obtuvo mediante un procedimiento de iteración numérica en el cual se hizo variar la temperatura base de post-maduración ( $T_1$ ; ec. 3.9) hasta lograr el máximo ajuste de la función polinómica a los datos observados.



**Fig. 3.5** Valores estimados del tiempo-térmico subóptimo de germinación ( $\theta_1$ ) en post-cosecha y para semillas almacenadas a 5, 15 y 24 °C, en función del: (A) tiempo de post-maduración; (B)  $\text{Ln}[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s$ , donde  $\Theta_{AT}$  es el tiempo-térmico de post-maduración y  $T_s$  es la temperatura de almacenamiento o post-maduración. En (B) los cambios en los valores de  $\theta_1$  fueron adecuadamente descritos mediante el ajuste de una función cuadrática (ec. 3.11) luego de la exclusión de un dato *outlier* (■) del análisis de regresión definitivo.

Durante el proceso de post-maduración también se observaron cambios en los valores de  $\theta_1$  (Fig. 3.5A). Se registraron valores inferiores de  $\theta_1$  para semillas almacenadas a 15 y 24 °C en comparación con semillas almacenadas a 5 °C luego de 100, 150 y 210 días de almacenamiento. A fin de cuantificar el efecto de  $\Theta_{AT}$  sobre  $\theta_1$  se llevó a cabo un análisis de regresión no lineal. Se detectó la presencia de un dato *outlier*, el cual fue excluido del análisis de regresión definitivo (**anexo II**). Los resultados presentados en la Fig. 3.5B muestran una reducción en los valores de  $\theta_1$  en función de la acumulación de tiempo-térmico y del incremento en la temperatura de post-maduración. Ambas variables fueron combinadas en una única expresión de la forma:  $\ln[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s$ . Una descripción precisa de los cambios en los valores de  $\theta_1$  se logró mediante la siguiente ecuación cuadrática:

$$\theta_1 = 0,0059[\ln[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s]^2 - 1,0095[\ln[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s] + 115,3 \text{ (ec. 3.11)}$$

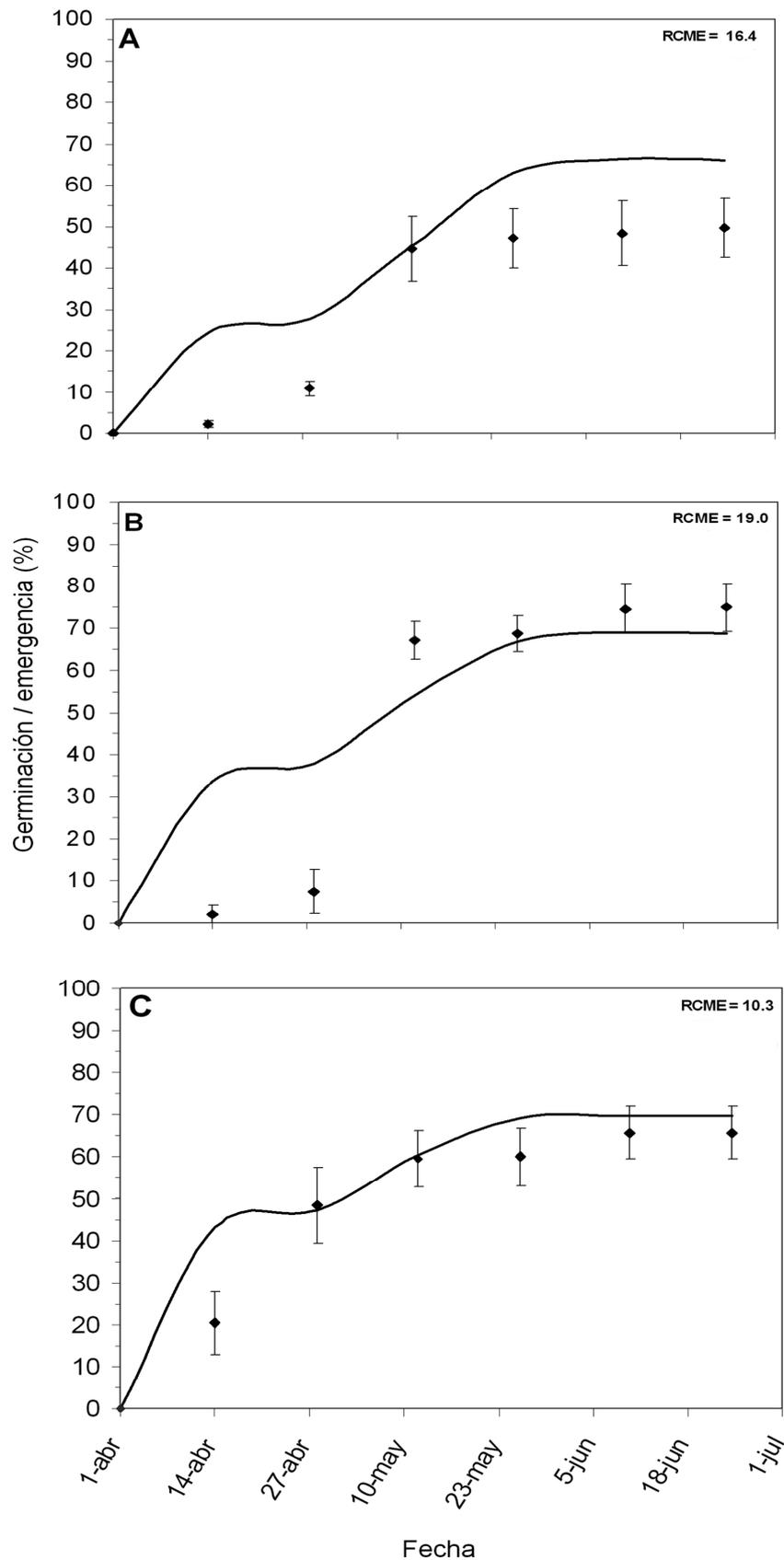
### 3.3.5 Validación del modelo de dormición

El modelo fue validado con datos independientes de emergencia obtenidos a partir de un experimento conducido a campo. Se evaluó la capacidad del modelo para predecir los patrones de emergencia de *L. arvensis* en la región semiárida bajo estudio. Tres lotes de semillas de *L. arvensis* fueron expuestos a diferentes temperaturas de post-maduración en laboratorio y a campo (**punto 3.2.7**). El modelo desarrollado fue utilizado para estimar los cambios en los valores de  $T_{c(50)}$  (ec. 3.10) y  $\theta_1$  (ec. 3.11) en función de la acumulación de  $\Theta_{AT}$  (ec. 3.9) y la temperatura de post-maduración. La acumulación total de tiempo-térmico (°Cd) para cada lote de semillas resultó de la sumatoria de las unidades de tiempo-térmico acumuladas en laboratorio y a campo. La acumulación de  $\Theta_{AT}$  comenzó cuando la temperatura media diaria del suelo registrada a 1 cm de profundidad se encontraba por encima del valor estimado de  $T_1$ . Los valores predichos de  $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$  para los distintos lotes de semillas fueron utilizados para simular la dinámica de germinación a campo asumiendo una distribución normal de las temperaturas cardinales ( $T_b$  y  $T_c$ ). Para tal fin, se combinaron las ecs. (3.4) y (3.5) y se adicionó un coeficiente de viabilidad:

$$p(T_{b(g)}, T_{c(g)}) = (1 - G_u) \{ \Phi[(T_{b(g)} - T_{b(50)})/\sigma_{Tb}] - \{1 - [\Phi(T_{c(g)} - T_{c(50)})/\sigma_{Tc}]\} \} \quad (\text{ec.3.12})$$

donde  $G_u$  es la proporción de semillas no viables al momento de la siembra (Scott *et al.*, 1984).  $T_{b(50)}$ ,  $\sigma_{Tb}$ ,  $\sigma_{Tc}$  y  $\theta_2$  fueron considerados constantes para el proceso de simulación. Se utilizaron los siguientes valores promedios:  $T_{b(50)} = 1,8$  °C,  $\sigma_{Tb} = 3,8$  °C,  $\sigma_{Tc} = 3$  °C y  $\theta_2 = 44$  °Cd. Se utilizó un valor de  $G_u = 0,3$ , estimado a través del test de tetrazolio realizado sobre muestras de 50 semillas obtenidas de cada lote previo a la siembra (% viabilidad =  $70 \pm 6$  %,  $n = 3$ ).

La simulación de la dinámica de germinación a campo y los patrones de emergencia observados se muestran en la Fig. 3.6. El proceso de simulación se inició cuando las temperaturas de suelo se encontraban próximas a ingresar dentro del rango térmico permisivo para la germinación de *L. arvense*. Los valores de salida del modelo de dormición para el lote 1 ( $\Theta_{AT} = 1.787,3$  °Cd; Fig. 3.6A), lote 2 ( $\Theta_{AT} = 2.426,7$  °Cd, Fig. 3.6B) y lote 3 ( $\Theta_{AT} = 3.220$  °Cd; Fig. 3.6C), respectivamente, fueron los siguientes:  $T_{c(50)} = 15,54, 16,65$  y  $17,69$  °C; los valores estimados de  $\theta_1 = 76,44, 72,3$  y  $70,53$  °Cd, respectivamente.



**Fig. 3.6** Patrones observados de emergencia a campo y valores simulados de germinación para lotes de semillas de *L. arvense* sometidos a distintos tratamientos de post-maduración en laboratorio y a campo. El lote 1 (A) fue

almacenado a 20 °C durante 33 días y las semillas fueron enterradas a campo el 24/02/2005, el lote 2 (B) fue almacenado inicialmente a 20 °C durante 20 días y posteriormente a 40 °C durante 30 días y las semillas fueron enterradas a campo el 11/03/2005, el lote 3 fue expuesto a un régimen térmico constante de 40 °C durante 70 días y las semillas fueron enterradas el 30/03/2005. El proceso de simulación comenzó el 01/04/2005 cuando las temperaturas del suelo se encontraban próximas a ingresar dentro del rango térmico permisivo para la germinación. Las líneas representan los valores de germinación predichos por el modelo asumiendo un porcentaje de viabilidad inicial del 70 %; los símbolos representan los porcentajes observados de emergencia. Las barras verticales indican el error estándar ( $n = 3$ ). RCME, raíz del cuadrado medio de error.

El modelo de tiempo-térmico desarrollado logró una predicción aceptable de los patrones de emergencia observados a campo para los distintos lotes de semillas (Fig. 3.6). Sin embargo, se observó una evidente sobrestimación de los porcentajes de germinación al comienzo del período o ‘ventana’ de emergencia (abril 2005) para el lote 1 (Fig. 3.6A) y el lote 2 (Fig. 3.6B), como así también para la máxima germinación acumulada en el lote 1. Los porcentajes de germinación predichos al comienzo de la ‘ventana’ de emergencia fueron incrementándose progresivamente a medida que las semillas de *L. arvensis* acumulaban tiempo-térmico para la salida de la dormición. Dicha tendencia se corroboró a partir de los datos de campo, donde las semillas con mayor acumulación de  $\Theta_{AT}$  presentaban la mayor tasa de emergencia (Fig. 3.6C).

Los patrones observados de emergencia también fueron simulados bajo los supuestos de un valor constante de  $T_b$  y una distribución normal de  $\theta_1$  en la población, a fin de determinar si la capacidad predictiva del modelo podría ser mejorada aplicando los supuestos del *Modelo 1*. Se obtuvo un mejor ajuste a los datos observados ( $F = 4,93$ ,  $P < 0,05$ ) al asumir una distribución normal de  $T_b$  ( $R^2 = 0,73$ ) en comparación con un único valor de  $T_b$  ( $R^2 = 0,66$ ).

### 3.4 Discusión

A partir de los resultados obtenidos en el presente capítulo se concluye que el modelo de tiempo-térmico con mayor capacidad para predecir el comportamiento germinativo de las semillas de *L. arvense* se sustenta en el supuesto de una distribución normal en la población de las temperaturas base y máxima de germinación ( $R^2 = 0,956$ ; Tabla 3.1). Según dicho modelo, cada fracción de la población germinará dentro de un rango térmico específico delimitado por un set único de temperaturas cardinales. Por lo tanto, la probabilidad de germinación de cada fracción poblacional resultará de la combinación de las distribuciones acumuladas de  $T_b$  y  $T_c$  (ec. 3.12).

Estos resultados contradicen el supuesto ampliamente difundido de un valor único de  $T_b$  para toda la población de semillas. Aunque la mayoría de los autores le han atribuido a  $T_b$  un valor constante debería considerarse que los modelos de germinación han sido desarrollados mayoritariamente para especies cultivadas (García-Huidobro *et al.*, 1982; Covell *et al.*, 1986; Gummerson, 1986; Dahal *et al.*, 1990) en donde  $T_b$  se ha reportado como un atributo exiguamente variable (Bradford, 1995). Contrariamente, y en concordancia con los resultados de esta tesis, reportes previos en especies no cultivadas han indicado falta de estabilidad y variaciones significativas en los valores de  $T_b$  a nivel intrapoblacional (Pritchard *et al.*, 1999; Forcella *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2004; Hardegree, 2006). Esta situación podría deberse a una marcada variabilidad genética dentro de la población, como ha sido propuesto para *Setaria viridis* (Wang *et al.*, 1995) y *Eurotia lanata* (Wang *et al.*, 2004). Una explicación alternativa radica en el efecto que podría ejercer un ambiente materno heterogéneo durante la fase de maduración de las semillas sobre la variabilidad intrapoblacional en la respuesta a la temperatura (Baskin y Baskin, 1998).

Desde una perspectiva ecológica, las diferentes respuestas fisiológicas a la temperatura observadas entre fracciones de la población de *L. arvense* podrían ser consideradas como una estrategia adaptativa. Dichas fracciones acumularían tiempo-térmico a distintas tasas, distribuyendo la germinación en el tiempo e incrementando la probabilidad de establecimiento de las plántulas.

Como se observa en la tabla 3.2, algunos de los valores estimados de  $\sigma_{T_b}$  predijeron valores extremadamente bajos de  $T_b$ . Esta situación podría deberse a la forma en la cual el modelo matemático desarrollado estimó los valores de  $T_b$  para cada fracción de la población. De hecho, aún pequeños cambios en las tasas de germinación a bajas temperaturas de incubación son capaces de ejercer una influencia significativa sobre los valores estimados de  $T_b$ , como se observa en el presente caso.

En el presente capítulo se desarrolló un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición de semillas de *L. arvense*. El desarrollo del modelo consistió en la cuantificación de los cambios observados en los parámetros térmicos de germinación, y la derivación de ecuaciones para la predicción de las tasas de cambio de los parámetros  $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$  en función del tiempo-térmico de post-maduración y la temperatura de almacenamiento. Los cambios en los valores de  $T_{c(50)}$  fueron descritos como una función cuadrática de  $\Theta_{AT}$  (Fig. 3.4B; ec. 3.10), indicando una correlación positiva entre el incremento en la temperatura máxima media de germinación y la acumulación de  $\Theta_{AT}$ . De lo anterior, se infiere que la tasa de incremento de  $T_{c(50)}$  dependerá de la temperatura de almacenamiento, la cual regula la tasa de acumulación de  $\Theta_{AT}$ . Estos resultados concuerdan con reportes previos que indican una correlación positiva entre la tasa de salida de la dormición y la temperatura de post-maduración en especies anuales de invierno (Baskin y Baskin, 1976; Foley, 1994; Allen *et al.*, 1995; Bauer *et al.*, 1998; Steadman *et al.*, 2003a,b).

Los cambios observados en los valores de  $\theta_1$  durante los 210 días de almacenamiento (Fig. 3.5A) fueron descritos como una función de  $\Theta_{AT}$  y  $T_s$  (Fig 3.5B; ec. 3.11). La relación encontrada entre  $\theta_1$  y  $\ln[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s$  indica claramente que los cambios en  $\theta_1$  no dependen exclusivamente de la acumulación de  $\Theta_{AT}$ , sino también de la temperatura experimentada por las semillas durante el proceso de post-maduración. Por lo tanto, se deduce que los cambios en  $\theta_1$  durante el proceso de salida de la dormición dependen de la cantidad acumulada de unidades de tiempo-térmico ( $^{\circ}\text{Cd}$ ) y de la tasa de acumulación de  $\Theta_{AT}$ , la cual depende de  $T_s$ , como se mencionó previamente. Similarmente, Batlla y Benech-Arnold (2003) describieron los cambios en el desvío estándar del umbral térmico

inferior de germinación de *P. aviculare* como una función combinada de la temperatura y el tiempo-térmico de estratificación.

Una temperatura base de post-maduración de -6 °C permitió una descripción precisa del proceso de salida de la dormición primaria de *L. arvense* (Figs. 3.4B y 3.5B). Existe escasa evidencia sobre los efectos de las temperaturas inferiores a 0 °C sobre el proceso de post-maduración de las semillas. Sivakumar *et al.* (2006) observaron una reducción significativa en los niveles de dormición de semillas de *Strychnos nux-vomica* luego de un período de almacenamiento en seco a temperaturas por debajo de 0 °C. Evidencia experimental sobre la existencia de actividad metabólica a temperaturas de incubación por debajo de 0 °C fue provista por Wang *et al.* (2004), quienes observaron que las semillas de *E. lanata* eran capaces de acumular tiempo-térmico y germinar a temperaturas cercanas a -1 °C. Por lo tanto, la capacidad potencial de determinadas especies para acumular tiempo-térmico a temperaturas cercanas o por debajo de 0 °C debería alertar a los investigadores sobre las condiciones térmicas de almacenamiento de las semillas a fin de no alterar el nivel de dormición de las mismas.

Los mecanismos moleculares del proceso de post-maduración aún se desconocen (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Sin embargo, las propiedades físicas de las membranas lipídicas parecerían estar involucradas en la percepción del estímulo térmico por parte de las semillas (Hallet y Bewley, 2002). Steadman *et al.* (2003b) sugirieron que el incremento observado en la tasa de salida de la dormición en semillas de *L. rigidum* a medida que se incrementaba la temperatura de post-maduración se relacionaba con un aumento en la fluidez de las membranas y en la actividad enzimática. Un mecanismo similar podría actuar mediando en *L. arvense* el rol de la temperatura en la regulación del proceso de post-maduración.

## CAPITULO IV

### MODELO DE TIEMPO-TÉRMICO PARA LA SALIDA DE LA DORMICIÓN BASADO EN LOS CAMBIOS DE LOS PARÁMETROS DE HIDROTIEMPO DE LA POBLACIÓN (\*)

#### 4.1 Introducción

Los cambios en el nivel de dormición de una población de semillas pueden ser cuantificados a través de modificaciones en el potencial agua base de germinación ( $\Psi_b$ ), de acuerdo al concepto de hidrotiempo propuesto por Gummerson (1986). El modelo de hidrotiempo provee parámetros ( $\Psi_{b(50)}$ ,  $\Theta_H$  y  $\sigma_{\Psi_b}$ ) que permiten predecir las distintas fracciones de la población capaces de germinar dado un valor determinado de  $\Psi$ , como también el tiempo requerido para la germinación de dichas fracciones. Como lo siguiere Bradford (1995, 2002), la reducción en el nivel de dormición de una población de semillas suele estar asociada con una disminución en los valores de  $\Psi_{b(50)}$ . La salida de la dormición durante el proceso de post-maduración en semillas de las malezas anuales de invierno *B. tectorum* (Christensen *et al.*, 1996; Bauer *et al.*, 1998; Bair *et al.*, 2006) y *Elymus elymoides* (Meyer *et al.*, 2000) fue adecuadamente descrita a través de una reducción en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  mientras que el resto de los parámetros del modelo fueron considerados constantes (ej:  $\Theta_H$  y  $\sigma_{\Psi_b}$ ). Análogamente, Batlla y Benech-Arnold (2004) describieron los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  durante la salida de la dormición de la especie primavera-estival *P. aviculare* como función de un índice de acumulación de tiempo-térmico de estratificación.

En regiones semiáridas, la disponibilidad de agua en el suelo puede constituirse en un factor ambiental clave en la regulación de la dinámica del banco de semillas de malezas. Las fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo que rodea a las semillas enterradas cerca de la superficie han sido asociadas con cambios en el nivel de dormición y en el patrón de emergencia de las malezas a

---

\* parte de la información incluida en este capítulo ha sido publicada: Chantre GR, Sabbatini MR y Orioli GA (2010) An after-ripening thermal-time model for *Lithospermum arvense* seeds based on changes in population hydrotime parameters. *Weed Research* **50**, 218-227.

campo (Stoller y Wax, 1973; Bouwmeester, 1990; Vleeshouwers, 1997a). Por lo tanto, considerando el patrón errático de las precipitaciones de la región y la predominancia de suelos arenosos con bajo contenido de materia orgánica, el nivel de dormición de las semillas de malezas podría verse afectado por las fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo.

Los objetivos del presente capítulo consistieron en: (1) cuantificar el efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas de *L. arvensis* a distintos potenciales agua del medio, (2) desarrollar un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición basado en los cambios de los parámetros de hidrotiempo de la población, y (3) evaluar la capacidad predictiva del modelo en condiciones de campo bajo regímenes hídricos fluctuantes de suelo.

## **4.2 Materiales y Métodos**

### **4.2.1 Tratamientos de post-maduración**

Plantas maduras senescentes de *L. arvensis* fueron cosechadas al momento de la dispersión natural de las semillas a fines de primavera (diciembre 2006) de un campo de trigo localizado en las cercanías de Bahía Blanca (latitud 38°44'S, longitud 62°16'O). Las semillas fueron separadas manualmente y acondicionadas en bolsas de papel previamente a su almacenamiento en cámaras de crecimiento a temperaturas constantes de 5, 15, 24 y 30 °C durante un período máximo de 180 días. Se evaluó la germinabilidad de las semillas recién cosechas y al cabo de 60, 87, 118 y 180 días de almacenamiento. El contenido hídrico de las semillas al momento de la cosecha fue de 9-10% (base peso seco).

### **4.2.2 Test de germinación**

Se colocaron en forma uniforme 50 semillas de *L. arvensis* en una caja de petri de 9 cm de diámetro conteniendo 2 hojas de papel de filtro Whatmann No. 1 humedecidas con 5 ml de agua destilada o diferentes soluciones de polietilenglicol, estableciendo potenciales agua de -0,2, -0,4, -0,8 y -1,2 MPa. Las

soluciones de polietilenglicol (PEG 6000, Merck) fueron preparadas de acuerdo a Michel (1983) y los valores de potencial agua de las soluciones fueron confirmados mediante mediciones realizadas con un osmómetro de presión de vapor (VAPRO 5520, Wescor, Inc.). A fin de mantener constante el potencial agua del medio de incubación, las soluciones de PEG fueron renovadas luego de transcurridas las primeras 24 horas de incubación y posteriormente a intervalos semanales (Ni y Bradford, 1992). Las cajas de petri fueron selladas con parafilm para evitar la evaporación de agua y envueltas en papel de aluminio a fin de generar condiciones de oscuridad. Las semillas de *L. arvense* fueron incubadas a una temperatura óptima de 10 °C (**punto 3.3.1**) en oscuridad ya que dicha especie no presenta requerimientos de luz para germinar (**punto 1.5**). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con 3 repeticiones, excepto durante la evaluación del modelo con datos independientes de campo ( $n = 6$ ). Cada repetición se colocó en una bandeja distinta de la cámara de crecimiento considerándose como un bloque. El conteo de la germinación se realizó bajo luz blanca fluorescente a intervalos regulares durante un período de incubación de 21 días, utilizando como criterio la aparición visible de la radícula ( $\geq 1$  mm). Los porcentajes de germinación se calcularon sobre la fracción viable de la población. A fin de evaluar viabilidad, las semillas no germinadas de *L. arvense* fueron disectadas longitudinalmente y tratadas en solución (0,1 %) de cloruro de tetrazolio (2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazolio Cloruro) durante 24 horas en oscuridad a 30 °C (International Seed Testing Association, 1999). Las semillas cuyos embriones tiñeron de rosado/rojo fueron consideradas viables.

#### **4.2.3 Cálculo de los parámetros de hidrotiempo de la población**

Las curvas de germinación acumulada obtenidas bajo los distintos potenciales agua (0, -0,2, -0,4, -0,8 y -1,2 MPa) para cada tratamiento de post-maduración fueron sometidas a un análisis de regresión probit a fin de obtener los parámetros de hidrotiempo de la población ( $\Psi_{b(50)}$ ,  $\Theta_H$  y  $\sigma_{\Psi_b}$ ). El modelo de hidrotiempo aplicado fue descrito previamente por Bradford (1990, 1995), Dahal y Bradford (1990) y Dahal *et al.* (1990).

#### 4.2.4 Desarrollo del modelo de dormición

A fin de cuantificar el efecto combinado del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre el nivel de dormición de *L. arvense*, los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  fueron predichos como una función de la acumulación de unidades de tiempo-térmico de post-maduración ( $^{\circ}\text{Cd}$ ) según la ec. (3.9). La temperatura base de post-maduración utilizada fue de  $-6^{\circ}\text{C}$  (**punto 3.3.4**).

La secuencia de desarrollo del modelo se resume a continuación:

- (1) Determinar los parámetros de hidrotiempo de la población para semillas almacenadas en seco a 5, 15, 24 y 30  $^{\circ}\text{C}$  durante diferentes periodos de post-maduración.
- (2) Caracterizar los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo de post-maduración y la temperatura de almacenamiento de las semillas, y derivar ecuaciones que relacionen la tasa de cambio de dicho parámetro con el tiempo-térmico de post-maduración.
- (3) Utilizando la ecuación desarrollada en (2), predecir los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  para semillas almacenadas en laboratorio y posteriormente enterradas a campo.
- (4) Utilizar los valores predichos de  $\Psi_{b(50)}$  para simular las curvas de germinación acumulada y comparar con los datos independientes de germinación obtenidos a partir de semillas exhumadas a campo.

#### 4.2.5 Validación del modelo

A fin de evaluar la capacidad predictiva del modelo se utilizaron datos independientes obtenidos de un experimento realizado a campo. Para tal fin, plantas maduras senescentes de *L. arvense* fueron cosechadas al momento de la dispersión natural de las semillas (enero 2008) de un campo de trigo localizado en las cercanías de Bahía Blanca. Luego de la cosecha, las semillas fueron acondicionadas y posteriormente almacenadas a una temperatura constante de  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante 17 días. El contenido hídrico de las semillas al momento de la cosecha fue de 6-9 % (base peso seco). Al cabo de dicho período de

almacenamiento en laboratorio, las semillas fueron enterradas a campo. El experimento consistió en el enterramiento de semillas a 2 cm de profundidad, las cuales fueron sometidas a dos regímenes hídricos fluctuantes (precipitación natural y precipitación más riego), y exhumadas a campo al cabo de distintos periodos de post-maduración (30, 70 y 95 días de enterramiento). Cada tratamiento (combinación de un período de post-maduración y de un régimen hídrico dado) se aplicó a un grupo de 350 semillas contenidas dentro de una bolsa de malla de polietileno. El experimento se llevó a cabo utilizando un diseño factorial completamente aleatorizado con seis repeticiones. Las semillas de *L. arvense* fueron enterradas en el campo experimental del CERZOS (38°39'54''S 62°13'58''O), Universidad Nacional del Sur y CONICET (Bahía Blanca, Argentina) el 18/01/2008 y exhumadas el 18/02/2008, 28/03/2008 y 22/04/2008. Luego de la exhumación, las semillas fueron lavadas con agua destilada a fin de remover las partículas de suelo previamente a ser incubadas a diferentes potenciales agua (ver test de germinación). Se extrajeron sub-muestras de semillas de cada repetición a fin de determinar el contenido gravimétrico de humedad de las mismas. Se determinó el peso inicial o peso fresco al momento de la exhumación, luego las semillas fueron secadas a 103 °C durante 17 horas (International Seed Testing Association, 1999) y luego pesadas nuevamente, expresándose el porcentaje de humedad en base peso seco.

Las bolsas de 10 x 10 cm fueron construidas utilizando una malla de polietileno permeable con la finalidad de emular las condiciones naturales del suelo (difusión de aire y agua). El suelo del sitio experimental presentaba textura arenoso-franco con un contenido de materia orgánica de 1,3 %. Se utilizó un sistema de riego por goteo para el suministro de agua a los tratamientos con riego complementario. El riego se realizó con una frecuencia de tres semanas adicionando una cantidad de agua que permitiera alcanzar una condición cercana a capacidad de campo en los primeros 10 cm del perfil. Los datos de temperatura y contenido volumétrico de humedad ( $m^3 m^{-3}$ ) fueron registrados con una frecuencia de 1 hora a 2 cm de profundidad utilizando registradores térmicos digitales (Thermochron Ibuttons, Model DS1921G-F50, Maxim Integrated Products, Inc.) y sensores de capacitancia conectados a un datalogger (ECHO Dielectric Aquameter, Model EC-20, Decagon devices, Inc.), respectivamente. Se realizó

una curva de calibración de suelo específica siguiendo el protocolo de Starr y Paltineanu (2002) a fin de asegurar un error mínimo ( $\pm 1 \%$ ) en el registro de los valores de humedad por parte de los sensores. Se construyó una curva específica de retención hídrica según el método de Richards (1949), a fin de obtener los valores de potencial agua de suelo en el rango comprendido entre 0 y -1,5 MPa. Los valores de contenido hídrico del suelo correspondientes a potenciales agua de -100 y -1000 MPa fueron obtenidos en forma experimental a partir de un suelo secado al aire y en estufa, respectivamente.

#### 4.2.6 Determinación de la bondad de ajuste del modelo

La evaluación de la bondad de ajuste del modelo consistió en la determinación del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y la raíz del cuadrado medio de error (RCME). El valor de  $R^2$  indica la fracción de la varianza explicada por el modelo según la ec. (3.7), donde un valor de  $R^2 = 1$  indica un ajuste perfecto del modelo a los datos observados. RCME es un estimador de la diferencia entre los valores observados de germinación y los predichos por el modelo. Un valor pequeño de RCME indica una diferencia estrecha o una gran cercanía entre los datos observados y los simulados por el modelo (McMaster *et al.*, 1992).

$$\text{RCME} = [\Sigma(y_{\text{obs}} - y_{\text{sim}})^2/n]^{1/2} \quad (\text{ec. 4.1})$$

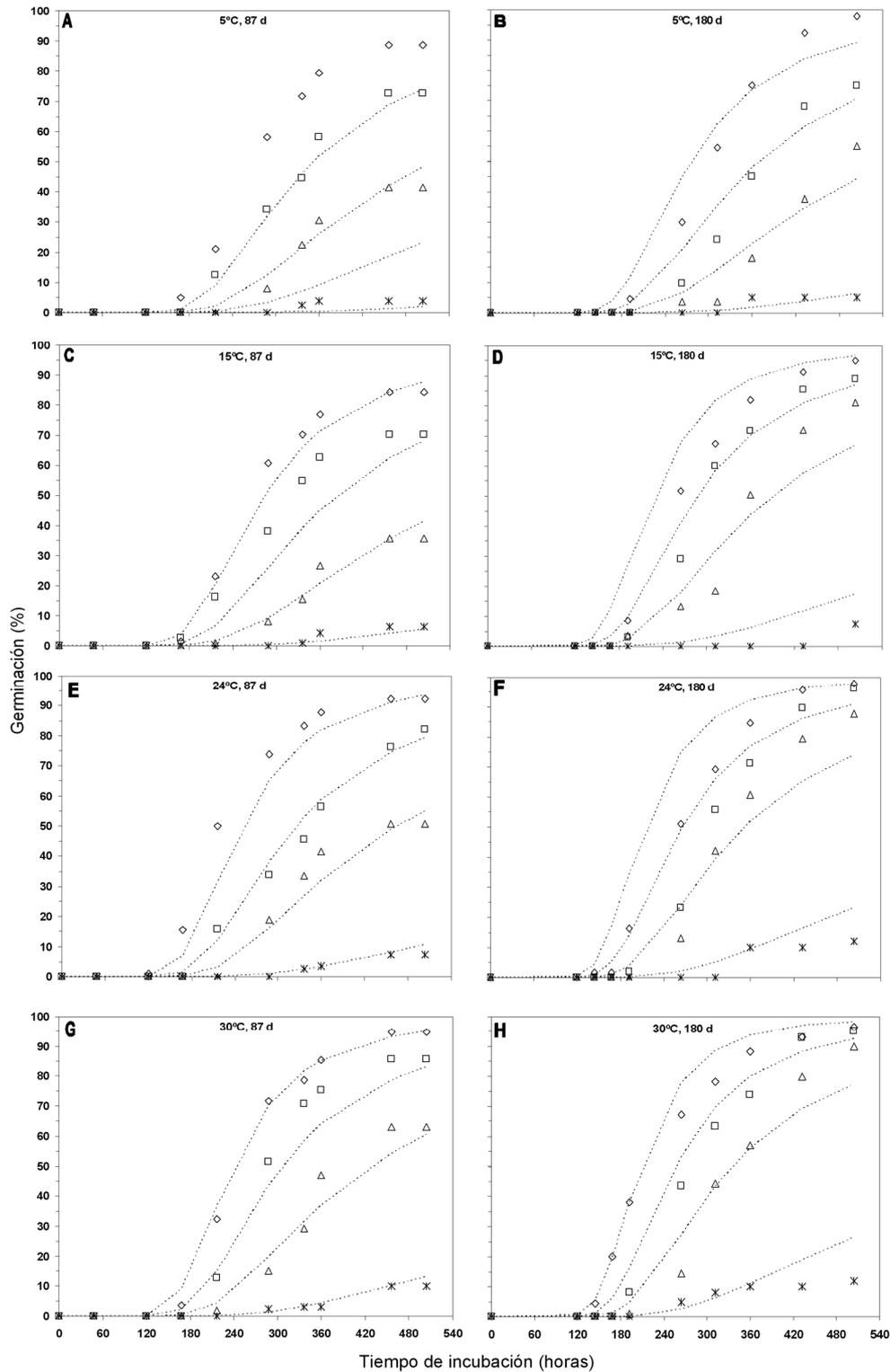
donde  $y_{\text{obs}}$  son los valores observados y  $y_{\text{sim}}$  los valores simulados de germinación.  $n$  es el número total de casos en el modelo.

### 4.3 Resultados

#### 4.3.1 Efecto del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre la germinabilidad de las semillas

Luego de la cosecha, las semillas de *L. arvense* evidenciaron un porcentaje máximo de germinación de 88 ( $\pm 6$ ) % al ser incubadas a 0 MPa. Sin embargo, la proporción de semillas germinadas se redujo a 31 ( $\pm 24$ ) % y 13 ( $\pm 11$ ) % a potenciales osmóticos de -0,2 y -0,4 MPa, respectivamente. No se registró germinación a potenciales agua de -0,8 y -1,2 MPa al cabo del período de incubación analizado.

Con el avance del tiempo de post-maduración, las semillas fueron capaces de germinar a potenciales agua progresivamente más negativos, como lo evidencian los mayores porcentajes de germinación observados (comparar columnas en Fig. 4.1). Paralelamente, al cabo de un determinado período de post-maduración se observó un incremento en los porcentajes de germinación con el aumento de la temperatura de almacenamiento (comparar filas dentro de cada columna en Fig. 4.1).



**Fig. 4.1** Curvas de germinación acumulada observadas y predichas para semillas de *L. arvense* almacenadas a 5, 15, 24 y 30 °C luego de 87 (A, C, E, G) y 180 (B, D, F, H) días de post-maduración. Al cabo de los distintos tratamientos de post-maduración las semillas fueron incubadas a 0 (◇), -0,2 (□), -0,4 (△) y -0,8 (✕) MPa a 10 °C durante 21 días. No se registró germinación a -1,2 MPa en ninguno

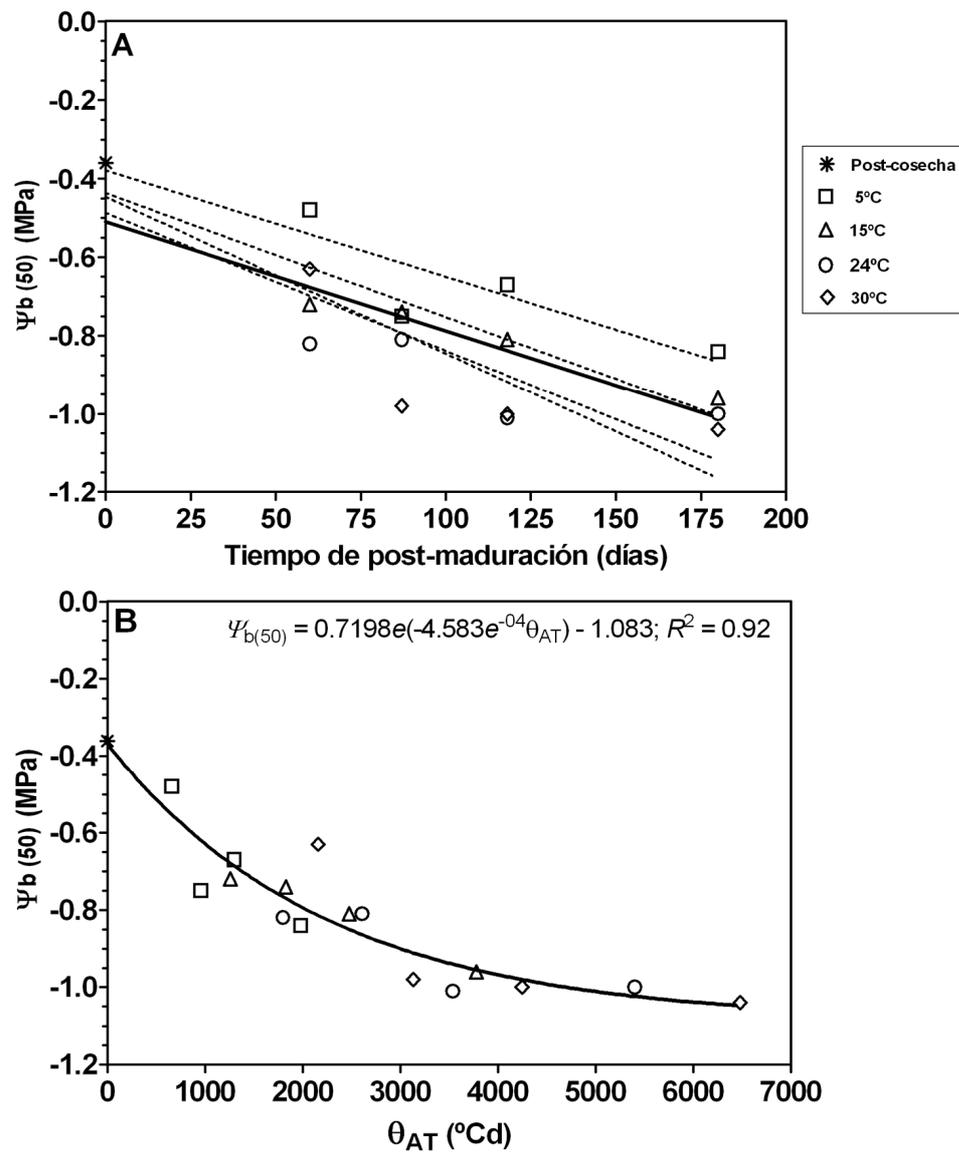
de los tratamientos de post-maduración evaluados. Las líneas punteadas representan los valores de germinación predichos por el modelo, mientras que los símbolos representan los valores observados de germinación.

#### **4.3.2 Cambios en los parámetros de hidrotiempo de la población en función del tiempo y la temperatura de post-maduración**

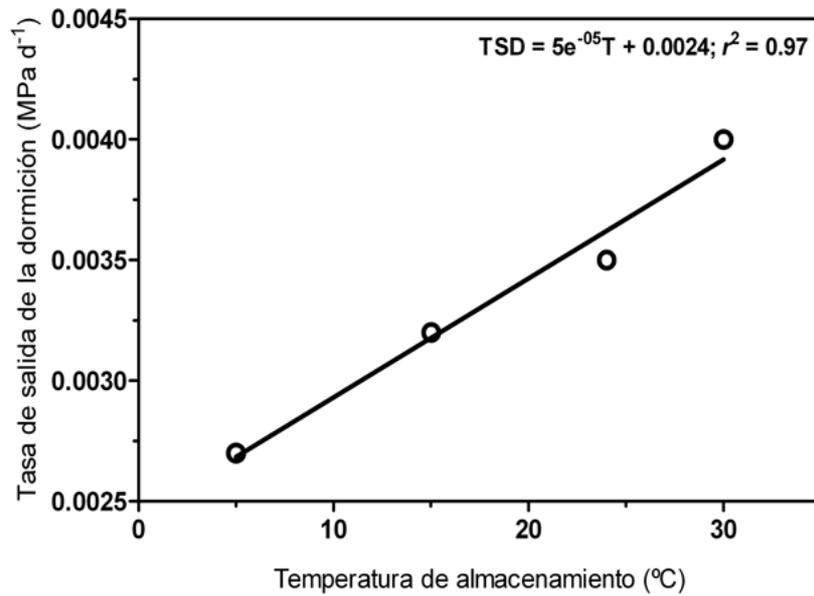
Se observó una reducción progresiva en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  con el avance del tiempo de post-maduración ( $r^2 = 0,57$ ,  $P < 0,001$ ; Fig. 4.2A), indistintamente de la temperatura de almacenamiento. Semillas recién cosechadas de *L. arvense* presentaron un valor inicial de  $\Psi_{b(50)}$  de -0,36 MPa, alcanzando un valor de -1,04 MPa luego de 180 días de almacenamiento a 30 °C (Tabla 4.1). Los valores de  $\Psi_{b(50)}$  también mostraron una reducción con el incremento de la temperatura de almacenamiento ( $r^2 = 0,40$ ,  $P < 0,01$ ). La tasa de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo de post-maduración, o tasa de salida de la dormición (expresada en MPa d<sup>-1</sup>), resultó una función lineal positiva de la temperatura de almacenamiento (Fig. 4.3). Luego de 180 días de post-maduración, los valores de  $\Psi_{b(50)}$  se redujeron a -0,84, -0,96, -1,00 y -1,04 MPa para semillas almacenadas a 5, 15, 24 y 30 °C, respectivamente (Tabla 4.1). Contrariamente, los valores de  $\sigma_{\Psi_b}$  no evidenciaron cambios consistentes con el avance del tiempo de post-maduración ( $r^2 = 0,01$ ,  $P = 0,73$ ) o la temperatura de almacenamiento ( $r^2 = 0,06$ ,  $P = 0,32$ ). La constante de hidrotiempo fue el parámetro con menor variabilidad (CV = 12,3 %; Tabla 4.1) no evidenciándose cambios relacionados con el tiempo o la temperatura de post-maduración ( $P > 0,05$ ).

**Tabla 4.1** Parámetros de hidrotiempo estimados para semillas de *L. arvense* almacenadas a 5, 15, 24 y 30 °C. Las semillas fueron incubadas a diferentes potenciales agua (0, -0,2, -0,4, -0,8 y -1,2 MPa) a una temperatura óptima de 10 °C luego de 0, 60, 87, 118 y 180 días de post-maduración. Los parámetros fueron obtenidos mediante regresiones repetidas utilizando la función probit. Se incluyen los coeficientes  $R^2$  para los distintos tratamientos de post-maduración, al igual que los coeficientes de variación (CV) de los distintos parámetros poblacionales.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de post-maduración (días)	$\Psi_{b(50)}$ (MPa)	$\sigma_{\Psi b}$ (MPa)	$\theta_H$ (MPa h)	$R^2$
	0	-0,36	0,17	199	0,94
5	60	-0,48	0,29	238	0,92
	87	-0,75	0,29	190	0,97
	118	-0,67	0,38	154	0,94
	180	-0,84	0,20	238	0,97
15	60	-0,72	0,29	242	0,93
	87	-0,74	0,31	194	0,97
	118	-0,81	0,30	190	0,95
	180	-0,96	0,26	242	0,95
24	60	-0,82	0,28	247	0,97
	87	-0,81	0,29	197	0,97
	118	-1,01	0,37	235	0,95
	180	-1,00	0,23	245	0,93
30	60	-0,63	0,28	214	0,94
	87	-0,98	0,27	235	0,98
	118	-1,00	0,37	238	0,96
	180	-1,04	0,28	233	0,97
Promedio (CV)		-0,80 (24,1)	0,29 (19,3)	219 (12,3)	



**Fig. 4.2** Valores estimados del potencial agua base medio de germinación ( $\Psi_{b(50)}$ ) en post-cosecha y para semillas almacenadas a 5, 15, 24 y 30 °C, en función del: (A) tiempo de post-maduración; (B) tiempo-térmico de post-maduración ( $\theta_{AT}$ ). La línea sólida en (A) representa el patrón lineal de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo de post-maduración ( $r^2 = 0,57$ ), mientras que las líneas punteadas corresponden a funciones lineales ajustadas a cada temperatura de almacenamiento, con valores de  $r^2 = 0,84, 0,91, 0,79$  y  $0,81$ , respectivamente. La línea ajustada en (B) corresponde a una función exponencial negativa.



**Fig. 4.3** Relación lineal entre la tasa de salida de la dormición de *L. arvensis* y la temperatura de almacenamiento. Los símbolos indican los valores de las tasas de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo de post-maduración para cada temperatura de almacenamiento que corresponden a las pendientes de las funciones lineales de la Fig. 4.2A.

#### 4.3.3 Desarrollo del modelo

El proceso de salida de la dormición en semillas de *L. arvensis* se caracterizó por una reducción progresiva en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo y la temperatura de post-maduración. A fin de cuantificar el efecto combinado de ambas variables sobre el nivel de dormición de la población, los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  fueron descritos como una función de  $\Theta_{AT}$  (ec. 3.9). Como se observa en la Fig. 4.2B, el patrón de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  se describió como una función exponencial negativa de  $\Theta_{AT}$ :

$$\Psi_{b(50)} = 0,7198e(-4,583e^{-04}\Theta_{AT}) - 1,083 \quad (\text{ec. 4.2})$$

Dicha ecuación puede ser descrita de acuerdo al significado biológico de sus parámetros de la siguiente manera:

$$\Psi_{b(50)} = [\Psi_{bi(50)} - \Psi_{bf(50)}]e(-K\Theta_{AT}) + \Psi_{bf(50)} \quad (\text{ec. 4.3})$$

donde  $\Psi_{bi(50)}$  y  $\Psi_{bf(50)}$  son los valores predichos de  $\Psi_{b(50)}$  correspondientes a semillas recién cosechadas y semillas sin dormición, respectivamente.  $\Psi_{bi(50)}$  representa el valor inicial de  $\Psi_{b(50)}$  donde  $\Theta_{AT}$  es igual a cero, mientras que  $\Psi_{bf(50)}$  corresponde al valor del *plateau* de la función exponencial.  $K$  es la tasa de reducción exponencial de los valores de  $\Psi_{b(50)}$  entre  $\Psi_{bi(50)}$  y  $\Psi_{bf(50)}$  a medida que se acumulan unidades de tiempo-térmico ( $^{\circ}\text{Cd}$ ) para la salida de la dormición.

#### 4.3.4 Bondad de ajuste y validación del modelo

A fin de evaluar la bondad de ajuste del modelo se contrastaron los datos experimentales de germinación utilizados para la determinación de los parámetros de hidrotiempo de la población con los datos predichos por el modelo. Bajo el supuesto de la distribución normal de  $\Psi_b$  en la población (Gummerson, 1986; Bradford, 1990; Dahal y Bradford, 1990), la proporción de semillas germinadas se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$p(\Psi_{b(g)}) = \Phi[(\Psi_{b(g)} - \Psi_{b(50)})/\sigma_{\Psi_b}] \quad (\text{ec. 4.4})$$

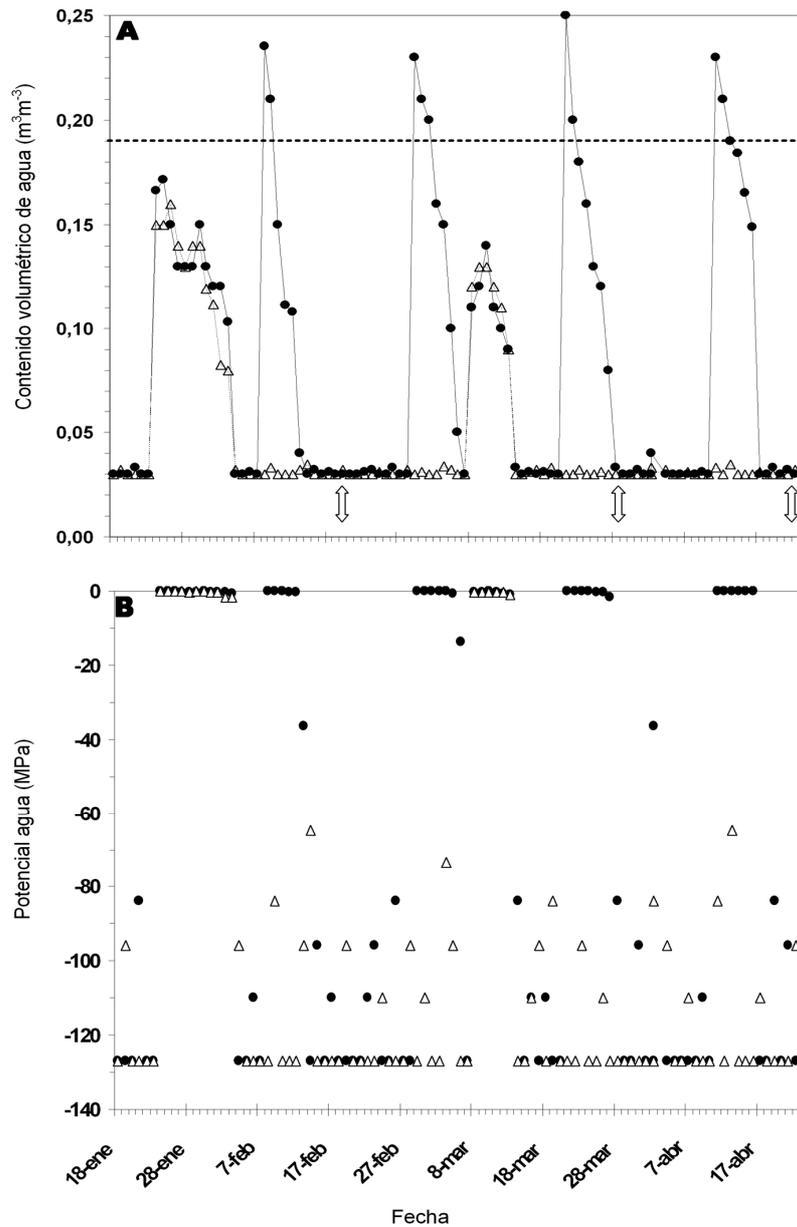
donde  $p$  es la proporción de semillas germinadas dado un valor determinado  $\Psi_b$  correspondiente a una fracción  $g$  de la población,  $\Phi$  es la integral gaussiana o integral de probabilidad de la distribución normal,  $\Psi_{b(50)}$  y  $\sigma_{\Psi_b}$  son la media y el desvío estándar de la distribución normal, respectivamente. La variable  $\Psi_{b(g)}$  también puede ser descrita como  $[\Psi - (\Theta_H/t_g)]$ , donde  $\Psi$  es el potencial agua del medio de incubación,  $\Theta_H$  es la constante de hidrotiempo y  $t_g$  es el tiempo de germinación correspondiente a una fracción  $g$  de la población.

La simulación de los datos de germinación para los distintos tratamientos de post-maduración se basó en la estimación de los cambios en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  en función de  $\Theta_{AT}$  (ec. 4.2). Los parámetros  $\sigma_{\Psi_b}$  y  $\Theta_H$  fueron considerados constantes para el proceso de simulación, utilizándose los siguientes valores promedio  $\sigma_{\Psi_b} = 0,29$  MPa y  $\Theta_H = 219$  MPa h (Tabla 4.1).

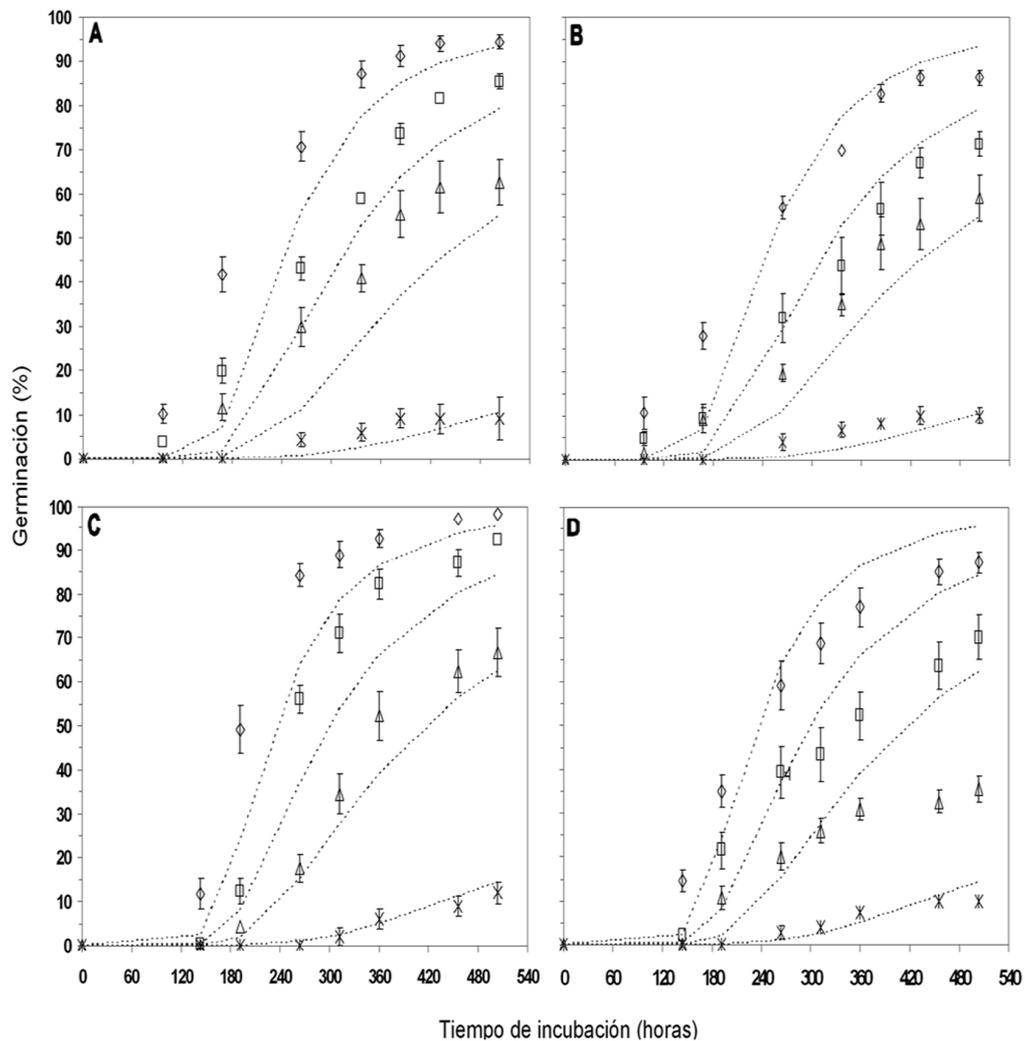
Los datos observados de germinación fueron adecuadamente descritos por el modelo ( $R^2 = 0,90$ ; RCME = 10), sugiriendo que los cambios en la germinabilidad de las semillas asociados a los cambios en el nivel de dormición podrían ser mayoritariamente descritos a través de una reducción de los valores de  $\Psi_{b(50)}$  (ec. 4.2). Sin embargo, el modelo subestimó los porcentajes de germinación en algunos de los tratamientos de post-maduración donde los valores estimados de  $\Theta_H$  eran menores que el valor promedio de  $\Theta_H$  utilizado para la simulación (ej: Fig. 4.1A, C; Tabla 4.1). Por otro lado, el modelo sobrestimó la germinación en algunos casos donde los valores de  $\Theta_H$  eran mayores que el valor promedio estimado, principalmente a 0 y -0,8 MPa (ej: Fig. 4.1D, F).

Para poder evaluar la capacidad predictiva del modelo, semillas de *L. arvense* fueron sometidas a distintos periodos de post-maduración a campo bajo dos regímenes hídricos fluctuantes de suelo (**punto 4.2.5**). El modelo desarrollado fue utilizado para estimar los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  de acuerdo a la ec. (4.2) en función de la acumulación de  $\Theta_{AT}$ . Los valores de  $\Theta_{AT}$  para cada tratamiento de post-maduración se obtuvieron a partir de la sumatoria de unidades de tiempo-térmico (°Cd) acumuladas durante el almacenamiento de las semillas en laboratorio y el posterior período de post-maduración a campo. Los valores predichos de  $\Psi_{b(50)}$  fueron utilizados para simular la germinación a distintos potenciales agua de acuerdo a la ec. (4.4). Como se mencionó anteriormente,  $\sigma_{\Psi_b}$  y  $\Theta_H$  se asumieron constantes.

A pesar de las variaciones contrastantes en los valores registrados de contenido hídrico (Fig. 4.4A) y potencial agua (Fig. 4.4B) del suelo entre regimenes hídricos y las subsecuentes diferencias observadas en el contenido hídrico de las semillas para las distintas fechas de exhumación (precipitación =  $10,3 \pm 1,2$  %; precipitación + riego =  $19,1 \pm 5$  %); las predicciones del modelo fueron precisas, tanto para el régimen de precipitación natural (RCME = 10,8) como para la condición con riego complementario (RCME = 13,5). Paralelamente, se obtuvo una buena correlación entre los datos observados y predichos de germinación (coeficiente de correlación de Pearson,  $r_{\text{precipitación}} = 0,96$ ;  $r_{\text{precipitación + riego}} = 0,94$ ). Sin embargo, el modelo subestimó los porcentajes de germinación acumulada en semillas incubadas a 0, -0,2 y -0,4 MPa luego de 70 días de post-maduración a campo (Fig. 4.5A) y también a 0 y -0,2 MPa luego de 95 días de enterramiento (Fig. 4.5C), en ambos casos bajo régimen de precipitación natural. Por otro lado, el modelo sobrestimó los valores de germinación en semillas incubadas a -0,2 y -0,4 MPa luego de 95 días de post-maduración a campo bajo el régimen combinado de precipitación más riego (Fig. 4.5D).



**Fig. 4.4** Valores de contenido volumétrico de agua en el suelo (A) ( $\text{m}^3\text{m}^{-3}$ ) y de potencial agua (B) (MPa) medidos a 2 cm de profundidad para semillas de *L. arvense* enterradas a campo bajo regimenes de precipitación natural ( $\Delta$ ) y precipitación con riego complementario ( $\bullet$ ). Las semillas fueron enterradas el 18/01/2008 y exhumadas a campo luego de 30 (18/02/2008), 70 (28/03/2008) y 95 (22/04/2008) días de enterramiento (las fechas de exhumación se indican mediante flechas verticales). La línea punteada horizontal en (A) indica el valor de potencial agua correspondiente al punto de capacidad de campo.



**Fig. 4.5** Curvas de germinación acumulada observadas y predichas para semillas de *L. arvense* enterradas a campo durante 70 y 95 días bajo regimenes de precipitación natural (A, C) o precipitación con riego complementario (B, D) y posteriormente incubadas a 0 ( $\diamond$ ), -0,2 ( $\square$ ), -0,4 ( $\triangle$ ) y -0,8 ( $\ast$ ) MPa a 10 °C durante 21 días. No se registró germinación a -1,2 MPa en ninguno de los tratamientos de post-maduración evaluados. Las líneas punteadas representan los valores de germinación predichos por el modelo, mientras que los símbolos representan los valores observados de germinación. Las barras verticales indican el error estándar (n = 6).

#### 4.4 Discusión

En el presente estudio,  $\Psi_{b(50)}$  fue utilizado como un índice del nivel medio de dormición de la población de semillas de *L. arvense*. El desarrollo del modelo consistió en la estimación de los parámetros de hidrotiempo asumiendo una distribución normal de  $\Psi_b$  en la población (Gummerson, 1986; Bradford, 1990; Dahal y Bradford, 1990) y la cuantificación de los cambios en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo y la temperatura de post-maduración.

El índice de dormición evaluado evidenció una reducción progresiva con el avance del tiempo de post-maduración ( $P < 0,001$ ). Los cambios observados en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  para cada temperatura de almacenamiento fueron adecuadamente descritos como una función lineal negativa del tiempo de post-maduración (Fig. 4.2A). Análogamente, Bauer *et al.* (1998) observaron un patrón de reducción lineal en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  con el avance del tiempo de post-maduración en semillas de *B. tectorum*. La tasa de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en función del tiempo de post-maduración, o tasa de salida de la dormición (expresada en MPa  $d^{-1}$ ), fue adecuadamente descrita como una función lineal positiva de la temperatura de almacenamiento (Fig. 4.3). Similarmente, trabajos previos han reportado una correlación positiva entre la tasa de salida de la dormición y la temperatura de post-maduración en otras especies anuales de invierno (Allen *et al.*, 1995; Bauer *et al.*, 1998; Steadman *et al.*, 2003b).

A fin de cuantificar el efecto combinado del tiempo y la temperatura de post-maduración sobre el nivel de dormición poblacional de *L. arvense* se desarrolló un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición primaria. El modelo consistió en la descripción de los cambios en  $\Psi_{b(50)}$  como función de un índice de tiempo-térmico de post-maduración ( $\Theta_{AT}$ ), el cual resultó de gran utilidad para modelar los cambios en los parámetros térmicos de la población durante el proceso de salida de la dormición (**punto 3.3.4**).

El patrón de reducción en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  fue adecuadamente descrito como una función exponencial negativa de  $\Theta_{AT}$  (ec. 4.2). Como se infiere de la Fig. 4.2B, la tasa de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  fue mayor durante los primeros 3.000 °Cd de almacenamiento, reduciéndose a medida que las semillas de *L. arvense* suplían sus requerimientos de tiempo-térmico de post-maduración. En forma análoga, Batlla y Benech-Arnold (2004) reportaron un patrón exponencial negativo de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en función de la acumulación de tiempo-térmico de estratificación en *P. aviculare*. Por su parte, Bair *et al.* (2006) observaron un patrón similar de reducción de  $\Psi_{b(50)}$  en *B. tectorum* a medida que las semillas acumulaban tiempo-térmico de post-maduración en un rango de potencial agua atmosférico comprendido entre -300 y -80 MPa.

La evaluación del modelo se realizó: (1) contrastando los datos experimentales de germinación utilizados para la determinación de los parámetros de hidrotiempo de la población con los datos predichos por el modelo, (2) analizando las predicciones del modelo para semillas sometidas a distintos periodos de post-maduración a campo bajo dos regimenes hídricos fluctuantes de suelo. Las curvas de germinación acumulada para los distintos tratamientos de post-maduración en laboratorio fueron adecuadamente descritas por el modelo ( $R^2 = 0,90$ ; RCME = 10). De lo anterior se deduce que la mera modelación de  $\Psi_{b(50)}$ , mientras se asumen constantes  $\sigma_{\Psi_b}$  y  $\Theta_H$ , resulta en un aproximación apropiada para la caracterización de los cambios en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación durante el proceso de salida de la dormición. La decisión de desarrollar un modelo de tiempo-térmico de post-maduración basado en dichos supuestos fue adecuadamente sustentada sobre bases estadísticas (**punto 4.3.2**) y también por reportes previos en otras especies (Christensen *et al.*, 1996; Bauer *et al.*, 1998; Meyer *et al.*, 2000; Batlla y Benech-Arnold, 2004; Gianinetti y Cohn, 2007). Sin embargo, el modelo subestimó (Fig. 4.1A, C) o sobrestimó (Fig. 4.1D, F) los porcentajes de germinación para semillas incubadas a ciertos potenciales agua donde los valores observados de  $\Theta_H$  eran menores o mayores que el valor promedio de  $\Theta_H$  utilizado para la simulación, respectivamente. Como se mencionó previamente,  $\Theta_H$  es una medida de la velocidad de germinación de la población. Por lo tanto, valores menores de  $\Theta_H$  son indicativos de una reducción en el tiempo requerido de germinación o de una mayor tasa de germinación, dada

una determinada diferencia [ $\Psi - \Psi_{b(g)}$ ] (ecs. 1.6-1.7). De forma análoga, valores mayores de  $\Theta_H$  sugieren una reducción en la velocidad de germinación. Como se mencionó previamente, el parámetro poblacional  $\Theta_H$  no resultó influenciado por el tiempo o la temperatura de post-maduración (Tabla 4.1;  $P > 0,05$ ). Consecuentemente, las variaciones observadas en los valores de  $\Theta_H$  podrían deberse a diferencias en el tiempo de imbibición y/o activación metabólica durante el proceso de germinación, las cuales no estarían directamente relacionadas con el nivel de dormición de las semillas, como lo sugieren Alvarado y Bradford (2005).

Las fluctuaciones en el contenido hídrico de las semillas durante el proceso de post-maduración han sido relacionadas con alteraciones en la tasa de salida de la dormición en varias especies (Leopold *et al.*, 1988; Foley, 1994; Steadman *et al.*, 2003b; Gallagher *et al.*, 2004). Los ciclos de hidratación y deshidratación han sido asociados a cambios en el nivel de dormición de las semillas y a modificaciones en los patrones de emergencia de las malezas a campo (Bouwmeester, 1990; Batlla y Benech-Arnold, 2006).

En el presente trabajo, las semillas de *L. arvense* fueron sometidas a grandes fluctuaciones cíclicas en los valores de potencial agua del suelo, como resultado de la interacción entre los regímenes hídricos y la dinámica de pérdida de agua en el suelo. A pesar de las variaciones contrastantes en la frecuencia y magnitud de las fluctuaciones en el contenido hídrico (Fig. 4.4A) y el potencial agua (Fig. 4.4B) del suelo entre regímenes, las predicciones del modelo fueron similares en ambos casos. Una posible explicación de la capacidad predictiva del modelo para describir el proceso de salida de la dormición bajo el rango evaluado de regímenes hídricos podría hallarse en el modelo conceptual propuesto por Bair *et al.* (2006). Según dichos autores, la tasa de post-maduración en semillas de *B. tectorum* almacenadas a potenciales agua constantes de entre -150 y -40 MPa dependería fundamentalmente de la temperatura de almacenamiento, no siendo afectada dicha tasa por el potencial agua del medio. Contrariamente, una exposición prolongada de las semillas a potenciales agua constantes por encima de -40 MPa obstaculizaría el proceso de post-maduración promoviendo el deterioro de las semillas o el avance del proceso de germinación. Como se observa en la Fig. 4.4B, los valores de potencial agua del suelo

fluctuaron entre -127 y -0,02 MPa para ambos regímenes. Sin embargo, dichos valores de potencial agua se mantuvieron por debajo de -40 MPa durante un lapso de tiempo equivalente al 82 % y el 54 % del período de post-maduración a campo para el régimen de precipitación natural y precipitación más riego, respectivamente. A pesar del mayor tiempo de exposición de las semillas bajo el régimen de riego complementario a elevados potenciales agua (cerca al punto de capacidad de campo = -0,033 MPa), el proceso de post-maduración fue satisfactoriamente descrito en función de la acumulación de tiempo-térmico ( $\Theta_{AT}$ ). Dicho resultado podría deberse al hecho de que la exposición de las semillas de *L. arvense* a elevados valores de  $\Psi$  aconteció durante intervalos de tiempo intermitentes y de corta duración, como consecuencia del patrón de riego aplicado y la ocurrencia de una textura de suelo arenosa, la cual favorece una rápida pérdida de agua del suelo por evaporación e infiltración. Cabe recalcar que no se observaron semillas germinadas o evidencias de pérdida de viabilidad durante el transcurso del período de post-maduración a campo. Al respecto, varios autores le atribuyen a las fluctuaciones en el contenido hídrico del suelo y a la consecuente hidratación de las semillas, un efecto preventivo y/o reparador sobre la acumulación de reacciones que favorecen el envejecimiento y subsecuentemente la pérdida de viabilidad (Bauer *et al.*, 1998; Bair, 2004; Bair *et al.*, 2006).

## CAPITULO V

### DISCUSION GENERAL Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos a campo y en laboratorio son indicativos de que la profundidad de enterramiento de las semillas ejerce un marcado efecto sobre la dinámica temporal de la mayoría de los componentes del banco de semillas y sobre la probabilidad de emergencia de las plántulas de *L. arvense*. Por lo tanto, la evidencia experimental permite la aceptación de la primera hipótesis propuesta en el presente trabajo de tesis sobre la base de las siguientes consideraciones:

En primer lugar, el enterramiento de las semillas en las cercanías de la superficie del suelo produjo porcentajes significativamente mayores de germinación en comparación con semillas enterradas a mayor profundidad. Probablemente, la ausencia de impedimentos físicos, como una reducción en la tasa normal de difusión de gases en el microambiente edáfico de germinación, hayan establecidos las diferencias observadas en los niveles de quiescencia entre ambas profundidades de enterramiento. Aunque no se logró evidenciar un efecto definido de la profundidad de enterramiento sobre la dinámica de la salida de la dormición, tampoco debería desestimarse un posible requerimiento insatisfecho por temperaturas alternadas, como factor terminador de la dormición, en semillas enterradas a 20 cm de profundidad (Fig. 5.1).

En segundo lugar, el patrón observado de reducción de la emergencia con el incremento de la profundidad de enterramiento evidencia un fuerte condicionamiento de dicho factor sobre la probabilidad de emergencia de las plántulas, fundamentalmente debido al agotamiento de las reservas energéticas de las semillas. De hecho, el comportamiento sigmoideo del patrón de emergencia revela una reducción del 50 % en el número de plántulas emergidas desde 3,5 cm de profundidad y la imposibilidad de *L. arvense* para emerger desde profundidades iguales o mayores a 10 cm (Fig. 2.6).

En tercer lugar, la dinámica de la mortalidad de semillas estuvo claramente influenciada por la profundidad de enterramiento, y a su vez, por el régimen hídrico del suelo (**punto 2.3.1**). El incremento en la mortalidad a mayor profundidad de enterramiento y con aporte hídrico complementario podría deberse al deterioro metabólico de las semillas quiescentes, causado por envejecimiento y/o por actividad de los microorganismos del suelo. Los resultados obtenidos bajo las condiciones ambientales evaluadas indican que la proporción de semillas viables de *L. arvensis* se reduciría luego de dos años de enterramiento a  $< 10\%$  de la población inicial. Aunque, bajo condiciones ambientales desfavorables para la germinación que contribuyan a mantener elevados niveles de quiescencia se podría esperar un incremento en la longevidad del banco de semillas (Fig. 2.3C). De lo anterior se infiere que el banco de semillas de *L. arvensis* podría ser clasificado como persistente de corta duración (Bakker *et al.*, 1996) o persistente tipo III, según Thompson y Grime (1979). Cabe recalcar que en el presente estudio la presión de predación fue nula, ya que no se encontraron evidencias de consumo o daño de semillas por insectos o mamíferos.

Respecto de la segunda hipótesis propuesta, se encontró suficiente evidencia para confirmar el rol primordial de la temperatura del suelo como regulador de los cambios en el nivel de dormición del banco de semillas, aunque no se observaron ciclos estacionales de dormición (**puntos 2.3.1 y 2.4**). Por otro lado, no se identificó un efecto concluyente de las fluctuaciones en el régimen hídrico del suelo sobre la dinámica de la salida de la dormición de *L. arvensis* (Fig. 5.1).

Habiéndose establecido la importancia de la temperatura y a fin de combinar su efecto con el del tiempo de post-maduración, se logró construir un índice de tiempo-térmico de post-maduración ( $\Theta_{AT}$ ), el cual permitió cuantificar los cambios en el nivel de dormición poblacional durante el proceso de salida de la dormición. La aplicación de dicho índice permitió establecer relaciones funcionales entre la acumulación de unidades de tiempo-térmico para la salida de la dormición y la tasa de cambio de los parámetros térmicos ( $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$ ) y de hidrotiempo ( $\Psi_{b(50)}$ ) de la población, aportando evidencia experimental para la aceptación de la tercera hipótesis propuesta.

El desarrollo de un modelo de tiempo-térmico basado en la descripción de los cambios en los parámetros  $T_{c(50)}$  y  $\theta_1$  en función de  $\Theta_{AT}$  y  $T_s$  permitió predecir la ‘ventana’ de germinación a campo y la fracción de la población de semillas que germinará en dicho período de tiempo. Las curvas de germinación simuladas y los patrones de emergencia observados son coincidentes en mostrar un aumento en la proporción de semillas germinadas y de plántulas emergidas al inicio de la ‘ventana’ de germinación (principios del otoño) a medida que las semillas de *L. arvense* acumulaban  $\Theta_{AT}$  para la salida de la dormición (Fig. 3.6). Esto se debe a la ampliación del rango térmico permisivo para la germinación como consecuencia del incremento de  $T_{c(50)}$  y una reducción en los requerimientos de tiempo-térmico ( $\theta_1$ ) para la germinación a temperaturas subóptimas. La capacidad del modelo para predecir la emergencia a campo de *L. arvense* fue aceptable considerando que dicho proceso implica una fase de crecimiento post-germinativa no contemplada en el desarrollo del modelo. Ciertos factores ambientales como el contenido hídrico del suelo (Finch-Savage y Phelps, 1993), la profundidad de enterramiento (Vleeshouwers, 1997b) o la resistencia a la penetración (Vleeshouwers y Kropff, 2000), entre otros, pueden afectar tanto el momento de emergencia como la cantidad de plántulas que emergen a campo. Por lo tanto, dichos factores deberían ser tenidos en cuenta *a priori* al intentar construir un modelo para la predicción de la emergencia a campo (Fig. 5.1).

Desde el punto vista del modelado, se ha encontrado evidencia consistente para sustentar el desarrollo y la aplicación de un modelo de tiempo-térmico para la salida de la dormición en combinación con un modelo de tiempo-térmico de germinación basado en la distribución normal de  $T_b$  y  $T_c$  en la población. Dicha evidencia fue provista por un mejor ajuste del *Modelo 2* de germinación a los datos experimentales obtenidos a partir de los distintos tratamientos de post-maduración (Tabla 3.1) y una mejor predicción de los patrones de emergencia en comparación con el supuesto de un valor constante de  $T_b$  (**punto 3.3.5**). Sin embargo, debería señalarse que parte de la variación observada en los valores de  $T_b$  podría estar asociada al método de análisis utilizado y a la insoslayable dificultad para estimar correctamente las tasas de germinación a temperaturas bajas de incubación.

Paralelamente a los cambios observados en los parámetros térmicos de la población durante el proceso de post-maduración, la salida de la dormición de *L. arvense* se caracterizó por una ampliación en el rango de potenciales agua permisivos para la germinación. Los cambios en el nivel de dormición poblacional fueron adecuadamente descritos a través de los cambios en los valores de  $\Psi_{b(50)}$  mediante una función exponencial negativa de  $\Theta_{AT}$  (ec. 4.2). La tasa de salida de la dormición en semillas sometidas a distintos tratamientos de post-maduración en condiciones de laboratorio fue descrita como una función lineal positiva de la temperatura de almacenamiento (Fig. 4.3). Estos resultados concuerdan con las observaciones e inferencias realizadas en los capítulos II (**punto 2.4**) y III (**punto 3.4**) y con trabajos previos en otras especies anuales de invierno que han reportado una correlación positiva entre la tasa de salida de la dormición y la temperatura de post-maduración (Foley, 1994; Allen *et al.*, 1995; Bauer *et al.*, 1998; Steadman *et al.*, 2003a, b).

Tal como se mencionó anteriormente al puntualizar la importancia del factor temperatura, los resultados obtenidos en el capítulo IV (**punto 4.3.4**) sugieren que la exposición de las semillas de *L. arvense* a regímenes hídricos fluctuantes de suelo no se traduciría en cambios considerables sobre la tasa de salida de la dormición. De hecho, los cambios en la germinabilidad de las semillas de *L. arvense* durante distintos periodos de post-maduración a campo bajo las condiciones hídricas evaluadas (Fig. 4.4) fueron cuantificados mayoritariamente a través de los cambios en la temperatura del suelo mediante la aplicación de un modelo de tiempo-térmico (**punto 4.3.4**). Similarmente, Bauer *et al.* (1998) lograron predecir mediante un modelo de tiempo-térmico la salida de la dormición en semillas de *B. tectorum* enterradas a campo y expuestas a valores de potencial agua del suelo  $> -150$  MPa. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el capítulo II donde no se evidenció un efecto definido de ambos regímenes hídricos sobre la dinámica de la dormición de *L. arvense* (**puntos 2.3.1 y 2.4**). Sin embargo, y a pesar de la buena capacidad predictiva del modelo bajo las condiciones ambientales evaluadas debería considerarse que la exposición de semillas a potenciales agua sustancialmente inferiores a los registrados en el presente estudio (Fig. 4.4B) podría afectar significativamente la tasa de salida de la dormición de la especie. Al respecto, Bair *et al.* (2006) observaron una

reducción lineal en la tasa de salida de la dormición de *B. tectorum* ha medida que el potencial agua del medio de post-maduración se reducía de -150 a -350 MPa. Según Vertucci y Farrant (1995), por debajo de aproximadamente -150 MPa se producen restricciones en la actividad de ciertas enzimas catalíticas mientras que se incrementan determinadas reacciones que producen la liberación de radicales libres. De lo anterior, se infiere la necesidad de desarrollar a futuro, un modelo hidrotermal que permita cuantificar el efecto combinado de la temperatura y la humedad sobre los cambios en la tasa de salida de la dormición de *L. arvense* a potenciales agua considerablemente inferiores a los registrados experimentalmente en el presente trabajo de tesis (Fig. 5.1).

El patrón de germinación observado a campo evidenció el comportamiento típico de una especie anual facultativa de invierno, mostrando un pico bien definido de germinación hacia mediados y fines del otoño y una fracción de germinación remanente hacia principios de la primavera (Figs. 2.3 y 2.4). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de semillas germinadas a campo, ni en el patrón de distribución temporal de la germinación entre regimenes hídricos de suelo. Probablemente esto se deba a que el aporte de las precipitaciones durante el período o ‘ventana’ de germinación a campo no haya evidenciado deficiencias hídricas lo suficientemente acentuadas como para establecer diferencias con respecto al régimen hídrico con riego complementario (Fig. 2.5). Por lo tanto, aunque los datos recogidos durante el transcurso del período de experimentación a campo (mayo 2005 - julio 2007) no aportan evidencia que permita la aceptación de la cuarta hipótesis planteada; es menester continuar estudiando el efecto de las variaciones estacionales en el aporte hídrico al suelo sobre la germinación de la especie a campo. De hecho, situaciones de estrés hídrico severo, como las observadas durante el transcurso del año 2009, podrían afectar el patrón estacional de germinación y emergencia de la especie. Tal situación pone de relieve la necesidad de desarrollar a futuro, un modelo hidrotermal de germinación que permita estimar los flujos de germinación de la especie sobre la base de la interacción entre el potencial agua y la temperatura del suelo (Fig. 5.1).

Sobre la base de los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis, se puede concluir que la acumulación de grandes cantidades de semilla en cercanías de la superficie del suelo y la ausencia de la acción de predadores, constituyen dos factores importantes que inciden favorablemente sobre el éxito de reclutamiento de las plántulas de *L. arvense*. Por lo tanto, y en condiciones de no remoción de suelo o labranza cero, la gran estratificación de semillas que se produce en el primer centímetro del perfil (Hoffman *et al.*, 1998; Cardina *et al.*, 2002) sería un factor primordial para lograr el establecimiento de altas densidades de plántulas de *L. arvense* en la región semiárida bonaerense. Al respecto, Bischoff y Mahn (2000) realizando estudios de recolonización de la especie en Europa evidenciaron la necesidad de incorporar grandes cantidades de semilla por unidad de superficie a fin de lograr el restablecimiento de poblaciones ya extintas. Desde un enfoque agronómico, el establecimiento de altas densidades de la maleza en los estadios iniciales del establecimiento del cultivo favorecería un incremento en la competencia interespecífica reduciendo la ventaja inicial del cultivo dada por la asimetría de tamaños entre las plántulas de ambas especies.

Cabe mencionar que el éxito en el establecimiento de las plántulas de *L. arvense* estará condicionado por otros factores que no han sido abarcados en el presente trabajo de tesis y que se encuentran directamente relacionados con los sistemas de labranza y producción de la región semiárida bonaerense. Por ejemplo, la cobertura de rastrojos en la superficie del suelo juega un rol fundamental en los sistemas de labranza cero favoreciendo la retención de humedad y minimizando el efecto de los agentes erosivos. La acumulación de rastrojos en superficie actúa como aislante físico-biológico regulando la entrada y salida de calor del suelo, disminuyendo su temperatura y las fluctuaciones térmicas diarias, a su vez que favorece la conservación de la humedad (Faccini y Vitta, 2007). Es de esperar que tales modificaciones en los regímenes térmico e hídrico, respecto de un suelo sin cobertura, ejerzan una influencia sobre la dinámica de los procesos de dormición, germinación, emergencia y mortalidad del banco de semillas de *L. arvense*. Por lo tanto, sería menester estudiar el efecto del nivel de cobertura de rastrojos sobre la dinámica de la acumulación de tiempo-térmico o tiempo-hidrotermal para la salida de la dormición, germinación y emergencia de la especie.

Otro tema interesante a ser abordado en futuras líneas de investigación involucraría el desarrollo de estudios demográficos, con especial énfasis en la evaluación del efecto de la competencia inter e intra-específica, la eficiencia de las prácticas de control químico y mecánico en relación con el sistema de labranza aplicado, entre otros factores poblacionales intrínsecos y extrínsecos que actuarían regulando los procesos demográficos básicos relacionados con la emergencia, supervivencia y fecundidad de la especie (Fig. 5.2). Un mayor conocimiento del efecto de tales factores sobre la dinámica poblacional de la especie permitirá el desarrollo de tácticas más eficientes y sustentables de control. Así, el conocimiento de la baja capacidad de dispersión primaria de la especie (Bischoff y Mahn, 2000) y la corta longevidad de las semillas en el banco permiten planificar medidas tendientes a reducir los niveles de infestación de la especie. Por ejemplo, una correcta limpieza de las semillas de cultivo y de los equipos de labranza permitirá minimizar la dispersión secundaria de la especie reduciendo considerablemente la tasa de retorno de semillas al banco (Fig. 5.2). La aplicación de medidas culturales, tales como el manejo de la fecha y densidad de siembra, permitirán otorgarle un ventaja inicial al cultivo por sobre la maleza durante la fase de establecimiento (competencia asimétrica). Paralelamente, la utilización de herbicidas pre y post-emergentes que permitan contrarrestar eficazmente el reclutamiento de las plántulas sobre la base del conocimiento de las posibles interacciones entre los factores ambientales, la fenología maleza/cultivo y el nivel de fertilización nitrogenada (Fig. 5.2). Asimismo, la aplicación de modelos predictivos como los desarrollados en la presente tesis permitirán cuantificar los cambios en el nivel de dormición de las semillas de *L. arvense* facilitando la estimación de los flujos de emergencia a campo y la instrumentación de prácticas más eficientes y sustentables de control en los sistemas agrícolas de la región.

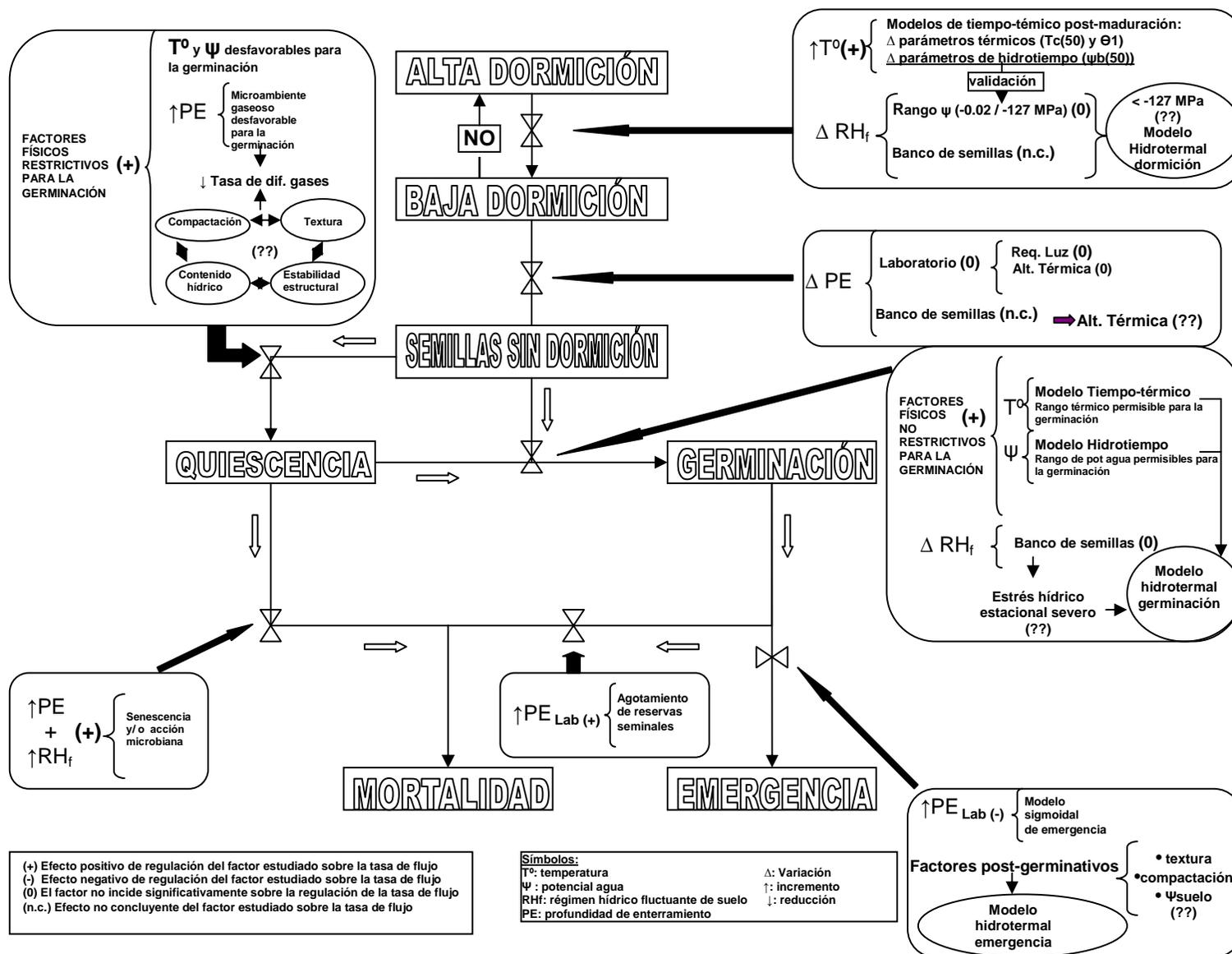


Fig. 5.1. Diagrama de flujo mostrando los distintos componentes del banco de semillas de *L. arvense* y los principales factores que regulan las tasas de transición entre dichos componentes. Se muestran en forma resumida los resultados del presente trabajo de tesis y se plantean nuevas incógnitas para futuras investigaciones.

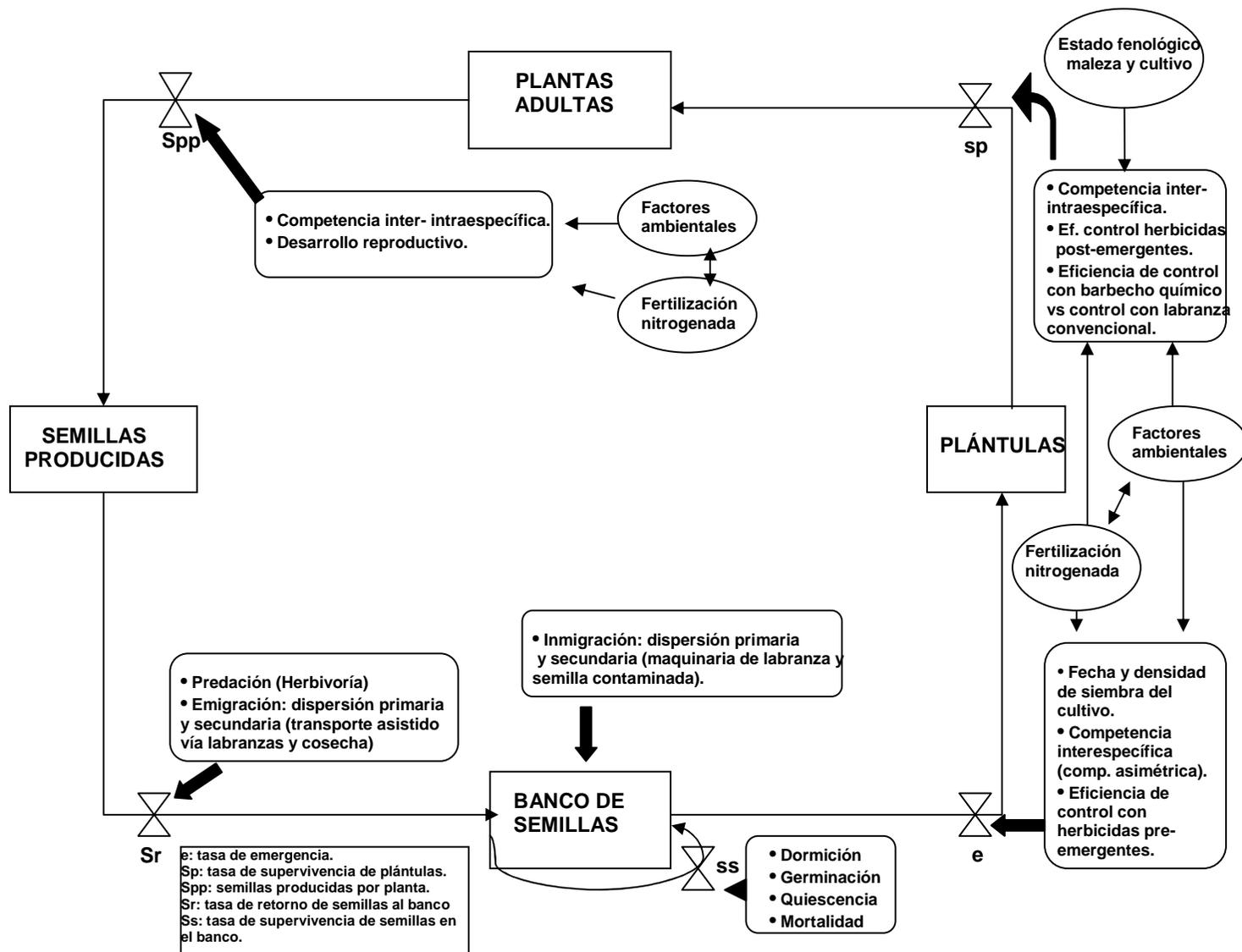


Fig. 5.2. Diagrama demográfico de *L. arvensis* en el contexto de un cultivo de trigo mostrando las variables de estado del ciclo de vida y los principales factores intrínsecos y extrínsecos que actuarían regulando la dinámica poblacional de la especie.

## LITERATURA CITADA

- ALLEN PS, MEYER SE y BECKSTEAD J (1995) Patterns of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. *Journal of Experimental Botany* **46**, 1737-1744.
- ALVARADO V (2000) Hydrothermal time model of botanical potato seed germination. M.S. thesis. University of California, Davis.
- ALVARADO V y BRADFORD KJ (2002) A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant, Cell and Environment* **25**, 1061-1069.
- ALVARADO V y BRADFORD KJ (2005) Hydrothermal time analysis of seed dormancy in true (botanical) potato seeds. *Seed Science Research* **15**, 77-88.
- AMEN RD (1968) A model of seed dormancy. *The Botanical Review* **34**, 1-31.
- BAIR NB (2004) A hydrothermal after-ripening time model of seed dormancy loss in *Bromus tectorum*. MS tesis. Brigham Young University, Provo, Utah.
- BAIR NB, MEYER SE y ALLEN PS (2006) A hydrothermal after-ripening time model for seed dormancy loss in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research* **16**, 17-28.
- BAKKER JP, POSCHLOD P, STRYKSTRA RJ, BEKKER RM y THOMPSON K (1996) Seed banks and seed dispersal: Important topics in restoration ecology. *Acta Botánica Neerlandica* **45**, 461-490.
- BALLARÉ CL, GHERSA CM, SÁNCHEZ RA y SCOPEL AL (1988) The fate of *Datura ferox* L. seeds in the soil as affected by cultivation depth of burial and degree of maturity. *Annals of Applied Biology* **112**, 337-345.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1976) High temperature requirement for afterripening in seeds of winter annuals. *New Phytologist* **77**, 619-624.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1977) Role of temperature in the germination ecology of three summer annual weeds. *Oecologia* **30**, 377-382.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1980) Ecophysiology of secondary dormancy in seeds of *Ambrosia artemisiifolia*. *Ecology* **61**, 475-480.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1984) Role of temperature in regulating timing of germination in soil seed reserves of *Lamium purpureum* L. *Weed Research* **24**, 341-349.

- BASKIN JM y BASKIN CC (1986) Temperature requirements for after-ripening in seeds of nine winter annuals. *Weed Research* **26**, 375-380.
- BASKIN CC y BASKIN JM (1988) Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany* **75**, 286-305.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1989a) Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. En: *Ecology of Soil Seed Banks* (eds. Allessio Leck M, Parker VT y Simpson RL), 53-66. Academic Press, San Diego.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1989b) Germination responses of buried seeds of *Capsella bursa-pastoris* exposed to seasonal temperature changes. *Weed Research* **29**, 205-212.
- BASKIN JM y BASKIN CC (1995) Variation in the annual dormancy cycle in buried seeds of the weedy winter annual *Viola arvensis*. *Weed Research* **35**, 353-362.
- BASKIN CC y BASKIN JM (1998) Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego.
- BASKIN JM y BASKIN CC (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* **14**, 1-16.
- BASKIN CC y BASKIN JM (2006) Symposium The natural history of soil seed banks of arable land. *Weed Science* **54**, 549-557.
- BATLLA D y BENECH-ARNOLD RL (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 Science Research* **13**, 55-68.
- BATLLA D y BENECH-ARNOLD RL (2004) A predictive model for dormancy loss in *Polygonum aviculare* L. seeds based on changes in population hydrotime parameters. *Seed Science Research* **14**, 277-286.
- BATLLA D y BENECH-ARNOLD RL (2006) The role of fluctuations in soil water content on the regulation of dormancy changes in buried seeds of *Polygonum aviculare* L. *Seed Science Research* **16**, 47-59.
- BATLLA D y BENECH-ARNOLD RL (2007) Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: Implications for weed management. *Crop Protection* **26**, 189-197.
- BATLLA D, KRUK BC y BENECH-ARNOLD RL (2004) Modelling changes in dormancy in weed soil seed banks: implications for the prediction of weed emergence. En: *Handbook of*

- seed physiology. Applications to agriculture* (eds. Benech-Arnold RL y Sánchez RA), 245-264. Haworth Press, New York.
- BAUER MC, MEYER SE y ALLEN PS (1998) A simulation model to predict seed dormancy loss in the field for *Bromus tectorum* L. *Journal of Experimental Botany* **49**, 1235-1244.
- BEKKER RM, BAKKER JP, GRANDIN U, KALAMEES R, MILBERG P, POSCHLOD P, THOMPSON K y WILLEMS JH (1998) Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Functional Ecology* **12**, 834-842.
- BELL DT (1993) Germination responses to variations in light quality of eight species from sandy habitats in Western Australia. *Australian journal of Botany* **41**, 321-326.
- BENECH-ARNOLD RL, GHERSA CM, SÁNCHEZ RA y INSAUSTI P (1990) Temperature effects on dormancy release and germination rate in *Sorghum halepense* (L.) Pers. seeds: a quantitative analysis. *Weed Research* **30**, 81-89.
- BENECH-ARNOLD RL y SÁNCHEZ RA (1995) Modeling weed seed germination. En: *Seed development and germination* (eds. Kigel J y Galili G), 545- 566. Marcel Dekker, New York.
- BENECH-ARNOLD RL, SÁNCHEZ RA, FORCELLA F, KRUK BC y GHERSA CM (2000) Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* **67**, 105-122.
- BENVENUTI S (2003) Soil texture involvement in germination and emergence of buried weed seeds. *Agronomy Journal* **95**, 191-198.
- BENVENUTI S y MACCHIA M (1995) Effect of hypoxia on buried weed seed germination. *Weed Research* **35**, 443-451.
- BEWLEY JD y BLACK M (1982) Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. 2. Springer-Verlag. Berlin.
- BIERHUIZEN JF y WAGENVOORT WA (1974) Some aspects of seed germination in vegetables. I. The determination and application of heat sums and minimum temperature for germination. *Scientia Horticulturae* **2**, 213-219.
- BISCHOFF A (1999) Temporal and spatial dynamics of *Lithospermum arvense* L. populations on arable fields and the effect of different crop management. *Flora* **194**, 127-136.
- BISCHOFF A (2005) Analysis of weed dispersal to predict chances of re-colonisation. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **106**, 377-387.

- BISCHOFF A y MAHN EG (2000) The effects of nitrogen and diaspore availability on the regeneration of weed communities following extensification. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **77**, 237-246.
- BOTTO JF, SÁNCHEZ RA y CASAL JJ (1998) Burial conditions affect the light responses of *Datura ferox* seeds. *Seed Science Research* **8**, 423-429.
- BOUWMEESTER HJ (1990) The effect of environmental conditions on the seasonal dormancy pattern and germination of weed seeds. PhD tesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen.
- BOUWMEESTER HJ y KARSSSEN CM (1992) The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. *Oecologia* **90**, 88-94.
- BOUWMEESTER HJ y KARSSSEN CM (1993a) Seasonal periodicity in germination of seeds of *Chenopodium album* L. *Annals of Botany* **72**, 463-473.
- BOUWMEESTER HJ y KARSSSEN CM (1993b) Annual changes in dormancy and germination in seeds of *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. *New Phytologist* **124**, 179-191.
- BRADFORD KJ (1990) A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiology* **94**, 840-849.
- BRADFORD KJ (1995) Water relations in seed germination. En: *Seed development and germination* (eds. Kigel J, Galili G), 351-396. Marcel Dekker, New York.
- BRADFORD KJ (1996) Population-based models describing seed dormancy behaviour: Implications for experimental design and interpretation. En: *Plant dormancy: Physiology, biochemistry, and molecular biology* (ed. Lang GA), 313-339. CAB international, Wallingford.
- BRADFORD KJ (2002) Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science* **50**, 248-260.
- BRADFORD KJ (2005) Threshold models applied to seed germination ecology. *New Phytologist* **165**, 338-341.
- BUHLER DD, HARTZLER RG y FORCELLA F (1997) Implications of seed bank dynamics to weed management. *Weed Science* **45**, 329-336.
- BUSCHIAZZO DE, ABASCAL S y ZODECK T (2007) Wind erosion in tillage systems in the semiarid Pampa of Argentina. *Journal of Arid Environments* **69**, 29-39.

- CAMPO A, CAPELLI DE STEFFENS A y DIEZ P (2004) *El clima del Suroeste bonaerense*. Universidad Nacional del Sur, Departamento de Geografía y Turismo. 105 pp.
- CARDINA J, HERMS CP y DOOHAN DJ (2002) Crop rotation and tillage system effects on weed seedbanks. *Weed Science* **50**, 448-460.
- CHANTRE GR, SABBATINI MR y ORIOLI GA (2006) Requerimientos térmicos para la salida de la dormición en semillas de *Lithospermum arvense* L. *XXVI Reunión de la Asociación Argentina de Fisiología Vegetal*. Chascomús, Bs. As. Pp 82.
- CHANTRE GR, SABBATINI MR, ORIOLI GA y FERNÁNDEZ OA (2005) Germinación y emergencia de *Lithospermum arvense* L., maleza en expansión en cultivos de trigo de la región semiárida del sur de la provincia de Buenos Aires, Argentina. XVII Congreso de la Asociación latinoamericana de Malezas. Varadero, Cuba (editado en CD).
- CHANTRE GR, SABBATINI MR, ORIOLI GA y GIGÓN R (2008) Requerimientos térmicos y efecto del ácido giberélico en la ruptura de la dormición en semillas de *Lithospermum arvense* L. XXVI Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, XVIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Ouro Preto, Brasil. 7pp. ISBN: 978-85-98410-04-3.
- CHATTERTON NJ y KADISH AR (1969) A temperature gradient germinator. *Agronomy Journal* **61**, 643-644.
- CHAUHAN BS, GILL G y PRESTON C (2006) Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* **54**, 1004-1012.
- CHRISTENSEN M, MEYER SE y ALLEN PS (1996) A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research* **6**, 155-163.
- CHRISTENSEN M, MEYER SE y ALLEN PS (1998) A simulation model to predict seed dormancy loss in the field for *Bromus tectorum* L. *Journal of Experimental Botany* **49**, 1235-1244.
- COHEN D (1966) Optimizing reproduction in a randomly varying environment. *Journal of Theoretical Biology* **12**, 119-129.
- CORBINEAU F, BELAID D y COME D (1992) Dormancy of *Bromus rubens* L. seeds in relation to temperature, light and oxygen effects. *Weed Research* **32**, 303-310.

- COURTNEY AD (1968) Seed dormancy and field emergence in *Polygonum aviculare*. *Journal of Applied Ecology* **5**, 675-684.
- COUSENS R y MOSS SR (1990) A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. *Weed Research* **30**, 61-70.
- COVELL S, ELLIS RH, ROBERTS EH, SUMMERFIELD RJ (1986) The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. I. A comparison of chickpea, lentil, soybean, and cowpea at constant temperatures. *Journal of Experimental Botany* **37**, 705-715.
- DAHAL P y BRADFORD KJ (1990) Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes. II. Germination at reduced water potential. *Journal of Experimental Botany* **41**, 1441-1453.
- DAHAL P, BRADFORD KJ y JONES RA (1990) Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes. I. Germination at suboptimal temperature. *Journal of Experimental Botany* **41**, 1431-1439.
- DE MIGUEL LC y SORIANO A (1974) The breakage of dormancy in *Datura ferox* seeds as an effect of water absorption. *Weed Research* **14**, 265-270.
- DERKX MPM y KARSSSEN CM (1994) Are seasonal dormancy patterns in *Arabidopsis thaliana* regulated by changes in seed sensitivity to light, nitrate and gibberellin? *Annals of Botany* **73**, 129-136.
- DREW MC (1992) Soil aeration and plant root metabolism. *Science* **154**, 259-264.
- ELLIS RH y BUTCHER PD (1988) The effects of priming and natural differences in quality amongst onion seed lots on the response of the rate of germination to temperature and the identification of the characteristics under genotypic control. *Journal of Experimental Botany* **39**, 935-950.
- ELLIS RH, COVELL S, ROBERTS EH y SUMMERFIELD RJ (1986) The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. II. Intraspecific variation in chickpea at constant temperatures. *Journal of Experimental Botany* **37**, 1503-1515.
- ELLIS RH, SIMON G y COVELL S (1987) The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. III. A comparison of five faba bean genotypes at constant temperatures using a new screening method. *Journal of Experimental Botany* **38**, 1033-1043.

- FACCINI D y VITTA J (2007) Efecto de la profundidad de siembra, cobertura de rastrojo y ambiente térmico sobre la germinación y emergencia de *Amaranthus quitensis* K. *Agriscientia* **24**, 19-27.
- FAVIER JF (1995) A model for germination rate during dormancy loss in *Hordeum vulgare*. *Annals of Botany* **76**, 631-638.
- FINCH-SAVAGE WE y LEUBNER-METZGER G (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* **171**, 501-523.
- FINCH-SAVAGE WE y PHELPS K (1993) Onion (*Allium cepa* L.) seed emergence patterns can be explained by the influence of soil temperature and water potential on seed germination. *Journal of Experimental Botany* **44**, 407- 414.
- FINNEY DJ (1971) Probit analysis. 3° Ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- FOLEY ME (1994) Temperature and water status of seed affect after-ripening in wild oat (*Avena fatua*). *Weed Science* **42**, 200-204.
- FORCELLA F, BENECH-ARNOLD RL, SÁNCHEZ R y GHERSA CM (2000) Modelling seedling emergence. *Field Crops Research* **67**, 123-139.
- FROUD-WILLIAMS RJ, CHANCELLOR RJ y DRENNAN DSH (1984) The effects of seed burial and soil disturbance on emergence and survival of arable weeds in relation to minimal cultivation. *Journal of Applied Ecology* **21**, 629-641.
- FYFIELD TP y GREGORY PJ (1989) Effects of temperature and water potential on germination, radicle elongation and emergence of mungbean. *Journal of Experimental Botany* **40**, 667-674.
- GALANTINI JA, LANDRISCINI MR, FERNÁNDEZ R, MINOLDO G, CACCHIARELLI J y IGLESIAS JO (2009) Trigo: Fertilización con Nitrógeno y azufre en el sur y sudoeste bonaerense. Universidad Nacional del Sur. Trabajo accedido online el 24/07/09:  
[http://www.ppippic.org/ppiweb/iaarg.nsf/\\$webindex/2623CC5DCC8A4B6203257130006A6D5F/\\$file/Galantini+++Fert+Trigo+FINAL.pdf](http://www.ppippic.org/ppiweb/iaarg.nsf/$webindex/2623CC5DCC8A4B6203257130006A6D5F/$file/Galantini+++Fert+Trigo+FINAL.pdf)
- GALLAGHER RS, STEADMAN KJ y CRAWFORD AD (2004). Allevation of dormancy in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds by hydration and after-ripening. *Weed Science* **52**, 968-975.

- GARCIA-HUIDOBRO J, MONTEITH JL y SQUIER GR (1982) Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides*, S & H). I. Constant temperature. *Journal of Experimental Botany* **33**, 288-296.
- GHERSA MC y MARTÍNEZ-GHERSA MA (2000) Ecological correlates of weed seed size and persistence in the soil under different tilling systems: implications for weed management. *Field Crops Research* **67**, 141-148.
- GIANINETTI A y COHN MA (2007) Seed dormancy in red rice. XII. Population-based analysis of dry-afterripening with a hydrotime model. *Seed Science Research* **17**, 253-271.
- GIGÓN R, LABARTHE F, LAGEYRE LE, VIGNA MR, LOPEZ MR, VERGARA MF y VARELA PE (2008) Comunidades de malezas en cultivos de trigo en el Sur y Sudoeste de la provincia de Buenos Aires. *VII Congreso Nacional de Trigo*. Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, La Pampa. 5pp.
- GRUNDY AC (2003) Predicting weed emergence: a review of approaches and future challenges. *Weed Research* **43**, 1-11.
- GRUNDY AC, MEAD A y BOND W (1996) Modelling the effect of weed-seed distribution in the soil profile on seedling emergence. *Weed Research* **36**, 375-384.
- GRUNDY AC, PHELPS K, READER RJ y BURSTON S (2000) Modeling the germination of *Stellaria media* using the concept of hydrothermal time. *New Phytologist* **148**, 433-444.
- GUMMERSON J (1986) The effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany* **37**, 729-741.
- HALLETT BP y BEWLEY JD (2002) Membranes and seed dormancy: beyond the anaesthetic hypothesis. *Seed Science Research* **12**, 69-82.
- HARDEGREE SP (2006) Predicting germination response to temperature. I. Cardinal-temperature models and sub-population specific regression. *Annals of Botany* **97**, 1115-1125.
- HARDEGREE SP, VAN VACTOR SS, PIERSON FB y PALMQUIST DE (1999) Predicting variable-temperature response of non-dormant seeds from constant-temperature germination data. *Journal of Range Management* **52**, 83-91.
- HARPER JL (1957) The ecological significance of dormancy and its importance in weed control. En: *Proceedings of the International Congress on Crop Protection*. Hamburgo. Pp 415-420.
- HARPER JL (1977) Population biology of plants. Academic Press, London.

- HENDERSON CB, PETERSEN KE y REDAK RA (1988) Spatial and temporal patterns in the seed bank and vegetation of a desert grassland community. *Journal of Ecology* **76**, 717-728.
- HILHORST HWM (1995) A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* **5**, 61-73.
- HILHORST HWM (1998) The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research* **8**, 77-90.
- HILHORST HWM y TOOROP PE (1997) Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Advances in Agronomy* **61**, 111-165.
- HOFFMAN ML, OWEN MDK y BUHLER DD (1998) Effects of crop and weed management on density and vertical distribution of weed seeds in soil. *Agronomy Journal* **90**, 793-799.
- INTA (2009) Red de Información Agropecuaria Nacional (RIAN). Sitio accedido online el 24/07/09: <http://www.inta.gov.ar/bordenave/ins/comunica/RIAP/2009.htm>
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (1999) *Seed Science and Technology* **27**, 201-244 (Suplemento).
- ISHII T y KADOYA K (1991) Continuous measurement of oxygen concentration in citrus soil by means of a waterproof zirconia oxygen sensor. *Plant and Soil* **131**, 53-58.
- JANSEN PI y ISON RL (1995) Factors contributing to the loss of seed from the seed bank of *Trifolium balansae* and *Trifolium resupinatum* over summer. *Australian Journal of Ecology* **20**, 248-256.
- KARSSEN CM (1982) Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. En: *The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination* (ed. Khan AA), 243-270. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- KARSSEN CM, DERKX MPM y POST BJ (1988) Study of seasonal variation in dormancy of *Spergula arvensis* L. seeds in a condensed annual temperature cycle. *Weed Research* **28**, 449-457.
- KEBREAB E y MURDOCH AJ (1999) A quantitative model for loss of primary dormancy and induction of secondary dormancy in imbibed seeds of *Orobancha* spp. *Journal of Experimental Botany* **50**, 211-219.
- KREMER RJ (1993) Management of weed seed banks with microorganisms. *Ecological Applications* **3**, 42-52.

- KRUGER H, AGAMENNONI R y RIPOLL M (2005) Siembra directa de trigo en el sur de la región semiárida pampeana. Boletín de divulgación N° 14. EEA Hilario Ascasubi, Bs As.
- KRUK, BC y BENECH-ARNOLD (2000) Evaluation of dormancy and germination responses to temperature in *Carduus acanthoides* and *Anagallis arvensis* using a screening system, and relationship with field-observed emergence patterns. *Seed Science Research* **10**, 77-88.
- LABOURIAU LG (1970) On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. I. *Annals da Academia Brasileira de Ciencias* **42**, 235-262.
- LAFOND GP y BAKER RJ (1986) Effects of genotype and seed size on speed of emergence and seedling vigor in nine spring wheat cultivars. *Crop Science* **26**, 341-346.
- LAMBERTO SA, VALLE AF, ARAMAYO EM y ANDRADA AC (1997) Manual ilustrado de las plantas silvestres de la región de Bahía Blanca. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Bs. As. 548 pp.
- LEOPOLD AC, GLENISTER R y COHN MA (1988) Relationship between water content and afterripening in red rice. *Physiologia Plantarum* **74**, 659-662.
- LONSDALE WM, HARLEY KLS y GILLET JD (1988) Seed bank dynamics in *Mimosa pigra*, an invasive tropical shrub. *Journal of Applied Ecology* **25**, 963-976.
- LOUDA SV (1989) Predation in the dynamics of seed regeneration. En: *Ecology of Soil Seed Banks* (eds. Allesio Leck M, Parker VT y Simpson RL), 25-52. Academic Press, San Diego.
- LUTMAN PJP, CUSSANS GW, WRIGHT KJ, WILSON BJ, WRIGHT Mc N y LAWSON HM (2002) The persistence of seeds of 16 weed species over six years in two arable fields. *Weed Research* **42**, 231-241.
- MARZOCCA A, MARSICO OJ y DEL PUERTO O (1976) Manual de malezas. 3<sup>ra</sup> ed. 580 pp. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- McMASTER, WILHELM WW y MORGAN JA (1992) Simulating winter wheat shoot apex phenology. *Journal of Agriculture Science* **119**, 1-12.
- MENNAN H y ZANDSTRA BH (2006) The effects of depth and duration of seed burial on viability, dormancy, germination, and emergence of ivyleaf speedwell (*Veronica hederifolia*). *Weed Technology* **20**, 438-444.

- MEYER SE, DEBAENE-GILL SB y ALLEN PS (2000) Using hydrothermal time concepts to model seed germination response to temperature, dormancy loss and priming effects in *Elymus elymoides*. *Seed Science Research* **10**, 213-223.
- MICHEL BE (1983) Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiology* **72**, 66-70.
- MILBERG P, ANDERSSON L, ELFVERSON C y REGNÉR S (1996) Germination characteristics of seeds differing in mass. *Seed Science Research* **6**, 191-198.
- MOTULSKY HJ y RANSNAS LA (1987) Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *FASEB Journal* **1**, 365-374.
- MURDOCH AJ y ELLIS RH (2000) Longevity, viability and dormancy. En: *Seeds – the ecology of regeneration in plant communities* (ed. Fenner, M), 183-214. CAB international, Wallingford.
- MURDOCH AJ, ROBERTS EH y GEODERT CO (1989) A model for germination responses to alternating temperatures. *Annals of Botany* **63**, 97-111.
- NI BR y BRADFORD KJ (1992) Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. *Plant Physiology* **98**, 1057-1068.
- NIKOLAEVA MG (1977) Factors controlling the seed dormancy pattern. En: *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination* (ed. Khan AA), 51-74. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- PIERCE SM y COWLING RM (1991) Dynamics of soil stored seed banks of six shrubs in fire-prone dune fynbos. *Journal of Ecology* **79**, 731-747.
- POPAY AI y ROBERTS EH (1970) Ecology of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. and *Senecio vulgaris* L. in relation to germination behaviour. *The Journal of Ecology* **58**, 123-139.
- PRITCHARD HW, STEADMAN KJ, NASH JV y JONES C (1999) Kinetics of dormancy release and the high temperature germination response in *Aesculus hippocastanum* seeds. *Journal of Experimental Botany* **50**, 1507-1514.
- PROBERT RJ (1992) The role of temperature in germination ecophysiology. En: *The ecology of regeneration in plant communities* (ed. Fenner M), 285-325. CAB International, Wallingford.

- PROBERT RJ (2000) The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. En: *The ecology of regeneration in plant communities* 2<sup>nd</sup> Ed. (ed. Fenner M), 261-292. CAB International, Wallingford.
- RICHARDS LA (1949) Methods of measuring soil moisture tension. *Soil Science* **68**, 95-112.
- ROBERTS EH (1988) Temperature and seed germination. En: *Plants and Temperature* (eds. Long, SP y Woodward, FI), 109-132. Symposia of the Society of Experimental Biology, Company of Biologists, Cambridge.
- ROBERTS HA y FEAST PM (1972) Fate of seeds of some annual weeds in different depths of cultivated and undisturbed soil. *Weed Research* **12**, 316-324.
- ROBERTS HA y FEAST PM (1973) Emergence and longevity of seeds of annual weeds in cultivated and undisturbed soil. *Journal of Applied Ecology* **10**, 133-143.
- ROBERTS HA y LOCKETT PM (1978) Seed dormancy and periodicity of seedling emergence in *Veronica hederifolia* L. *Weed Research* **18**, 41-48.
- SÁNCHEZ R, PEZZOLA A y CEPEDA J (1998) Caracterización edafoclimática del área de influencia del INTA EEA Hilario Ascasubi. Partidos de Villarino y Patagones, Pcia. de Buenos Aires. Boletín de divulgación N° 18. EEA Hilario Ascasubi, Bs. As.
- SCHAFER DE y CHILCOTE DO (1969) Factors influencing persistence and depletion in buried seed populations. I. A model for analysis of parameters of buried seed persistence and depletion. *Crop Science* **9**, 417-419.
- SCHÜTZ W, MILBERG P y LAMONT BB (2002) Seed Dormancy, after-ripening and light requirements of four annual Asteraceae in south-western Australia. *Annals of Botany* **90**, 707-714.
- SCOTT SJ, JONES RA y WILLIAMS WA (1984) Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science* **24**, 1192-1199.
- SIMPSON GM (1990) Seed dormancy in grasses. Cambridge, Cambridge University Press.
- SIVAKUMAR V, ANANDALAKSHMI R, WARRIER RR, TIGABU M, ODÉN PC, VIJAYACHANDRAN SN, GEETHA S y SINGH BG (2006) Effects of presowing treatments, desiccation and storage conditions on germination of *Strychnos nux-vomica* seeds, a valuable medicinal plant. *New Forests* **32**, 121-131.

- SOIL TAXONOMY (1999). 2° Ed. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook N° 436, Washington.
- SOKAL RR, ROHLF JF (1981) Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 2° Ed. Freeman and Company, New York. 860 pp.
- STARR JL y PALTINEANU IC (2002) Methods for measurement of soil water content: Capacitance devices. En: *Methods of Soil Analysis* (eds. Dane JH, Topp GC), 463–474. Soil Science Society of America, Madison.
- STEADMAN KJ, BIGNELL GP y ELLERY AJ (2003a) Field assessment of thermal after-ripening time for dormancy release prediction in *Lolium rigidum* seeds. *Weed Research* **43**, 458-465.
- STEADMAN KJ, CRAWFORD AD y GALLAGHER RS (2003b) Dormancy release in *Lolium rigidum* seeds is a function of thermal after-ripening time and seed water content. *Functional Plant Biology* **30**, 345-352.
- STEINMAUS SJ, PRATHER TS y HOLT JS (2000) Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany* **51**, 275-286.
- STOLLER EW y WAX LM (1973) Periodicity of germination and emergence of some annual weeds. *Weed Science* **21**, 574-580.
- SVENSSON R y WIGREN M (1986) History and biology of *Lithospermum arvense* in Sweden. *Svensk Botanisk Tidskrift* **80**, 107-131.
- TAYLORSON RB (1970) Changes in dormancy and viability of weed seeds in soils. *Weed Science* **18**, 265-269.
- THOMPSON PA (1973) Seed germination in relation to ecological and geographical distribution. En: *Taxonomy and Ecology* (ed. Heywood VA), 93-119. Academic Press, London.
- THOMPSON K, CERIANI RM, BAKKER JP y BEKKER RM (2003) Are seed dormancy and persistence in soil related? *Seed Science Research* **13**, 97-100.
- THOMPSON K y GRIME JP (1979) Season variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* **67**, 893-921.
- USDA (2009) National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Sitio accedido online el 24/07/09: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?105293>

- VAN ESSO ML, BUSTOS, A y GHERSA, CM (*ex aequo*) (1987) Demografía de semillas de *Sorghum halepense* (L.) Pers. en un suelo cultivado para maíz. *Revista Facultad de Agronomía. UBA* **8**, 29-37.
- VAN ESSO ML, GHERSA CM y SORIANO A (1986) Cultivation effects on the dynamics of a Johnsongrass seed population in the soil. *Soil Tillage Research* **6**, 325-335.
- VEGIS A (1963) Climatic control of germination, bud break, and dormancy. In: *Environmental control of plant growth* (ed. Evans LT), 265-287. Academic Press, New York.
- VEGIS A (1964) Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* **15**, 185-224.
- VERTUCCI CW y FARRANT JM (1995) Acquisition and loss of desiccation tolerance. En: *Seed Development and germination* (eds. Kigel J. y Galili G.), 237-271. Marcel Dekker, New York.
- VLEESHOUWERS LM (1997a) Modelling weed emergence patterns. PhD dissertation. Wageningen Agricultural University, Wageningen.
- VLEESHOUWERS LM (1997b) Modeling the effects of temperature, soil penetration resistance, burial depth and seed weight on pre-emergence growth of weeds. *Annals of Botany* **79**, 553-563.
- VLEESHOUWERS LM, BOUWMEESTER HJ y KARSSSEN CM (1995) Redefining seed dormancy: An attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* **83**, 1031-1037.
- VLEESHOUWERS LM y KROPFF MJ (2000) Modeling field emergence patterns in arable weeds. *New Phytologist* **148**, 445-457.
- VOHNOUT KD (2003) Mathematical modeling for systems analysis in agricultural research. 1<sup>o</sup> Ed. Elsevier Science, Amsterdam. 452 pp.
- WANG R, BAI Y y TANINO K (2004) Effect of seed size and sub-zero imbibition-temperature on the thermal time model of winterfat (*Eurotia lanata* (Pursh) Moq.). *Environmental and Experimental Botany* **51**, 183-197.
- WANG RL, WENDEL JL y DEKKER JH (1995) Weedy adaptation in *Setaria* spp. I. Isozyme analysis of genetic diversity and population genetic structure in *Setaria viridis*. *American Journal of Botany* **82**, 308-317.

- WEAVER SE y CAVERS PB (1979) Dynamics of seed populations of *Rumex crispus* and *Rumex obtusifolius* (Polygonaceae) in disturbed and undisturbed soil. *Journal of Applied Ecology* **16**, 909-917.
- WELBAUM GE y BRADFORD KJ (1991a) Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). VI. Influence of priming on germination responses to temperature and water potential during seed development. *Journal of Experimental Botany* **42**, 393-399.
- WELBAUM GE y BRADFORD KJ (1991b) Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). VII. Influence of after-ripening and ageing on germination responses to temperature and water potential. *Journal of Experimental Botany* **42**, 1137-1145.
- WESSON G y WAREING PF (1969) The induction of light sensitivity in weed seeds by burial. *Journal of Experimental Botany* **20**, 414-425.
- WHITSON TD (ed.) (2004) Weeds of the West. 9<sup>o</sup> Ed. University of Wyoming, Laramie, Wyoming.
- YENISH JP, DOLL JD y BUHLER DD (1992) Effects of tillage on vertical distribution and viability of weed seed in soil. *Weed Science* **40**, 429-433.
- ZAPPERI P, CASADO AL, GIL V y CAMPO A (2007) Caracterización de las precipitaciones invernales en la región del Suroeste bonaerense. Ambiente natural, campo y ciudad: Estrategias de uso y conservación en el Suroeste Bonaerense. *IV Jornadas Interdisciplinarias del Suroeste Bonaerense*. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Bs. As. ISBN 978-987-23429-1-3. Pp. 63-68.
- ZORNER PS, ZIMDHAL RL y SCHWEIZER EE (1984) Sources of viable seed loss in buried dormant and non-dormant populations of wild oat (*Avena fatua* L.) seed in Colorado. *Weed Research* **24**, 143-150.

**ANEXO**

## ANEXO I

Resultados de ANOVA para los datos transformados por arcoseno raíz cuadrada de la proporción de semillas de *L. arvensis* (% semillas/100) mostrando el efecto de la profundidad de enterramiento (PE), el tiempo de enterramiento (TE) y el régimen hídrico del suelo (RH) sobre los componentes del banco de semillas (germinación, quiescencia, dormición y mortalidad) durante el período 2005-2007.

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
<b>ASEN_Germinación</b>	<b>108</b>	<b>0,84</b>	<b>0,77</b>	<b>18,83</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	5,31	34	0,16	11,58	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	2,93	8	0,37	27,15	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	1,86	1	1,86	137,57	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,02	1	0,02	1,14	0,2882
TE X PE	0,30	8	0,04	2,78	0,0098
TE X RH	0,18	8	0,02	1,64	0,1285
TE X PE X RH	0,03	8	4,1E-03	0,30	0,9627
Error	0,98	73	1,5E-02		
Total	6,29	107			

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>CV</u>
<b>ASEN_Quiescencia</b>	<b>108</b>	<b>0,92</b>	<b>0,88</b>	<b>14,91</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	4,36	34	0,13	25,19	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	2,71	8	0,34	66,45	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	0,63	1	0,63	123,38	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,28	1	0,28	54,82	<0,0001
TE X PE	0,28	8	0,03	6,81	<0,0001
TE X RH	0,44	8	0,06	10,86	<0,0001
TE X PE X RH	0,03	8	3,3E-03	0,64	0,7404
Error	0,37	73	0,01		
Total	4,74	107			

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN Dormición</b>	<b>108</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>14,56</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,18	34	0,27	112,17	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	8,91	8	1,11	462,66	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	0,03	1	0,03	11,81	0,0010
Régimen hídrico (RH)	0,02	1	0,02	8,42	0,0049
TE X PE	0,07	8	0,01	3,82	0,0008
TE X RH	0,08	8	0,01	4,29	0,0003
TE X PE X RH	0,07	8	0,01	3,42	0,0021
Error	0,18	73	2,4E-03		
Total	9,36	107			

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN Mortalidad</b>	<b>108</b>	<b>0,96</b>	<b>0,94</b>	<b>10,72</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,47	34	0,13	50,05	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	3,64	8	0,45	172,85	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	0,43	1	0,43	161,76	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,12	1	0,12	45,50	<0,0001
TE X PE	0,24	8	0,03	11,63	<0,0001
TE X RH	0,03	8	3,6E-03	1,36	0,2269
TE X PE X RH	0,02	8	2,6E-03	0,97	0,4636
Error	0,19	73	2,6E-03		
Total	4,67	107			

Resultados de ANOVA para los datos transformados por arcoseno raíz cuadrada de la proporción de semillas de *L. arvense* (% semillas/100) mostrando el efecto de la profundidad de enterramiento (PE), el tiempo de enterramiento (TE) y el régimen hídrico del suelo (RH) sobre los componentes del banco de semillas (germinación, quiescencia, dormición y mortalidad) durante el período 2006-2007.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN_Germinación</b>	<b>60</b>	<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>22,63</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,79	18	0,32	37,50	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	2,58	4	0,65	75,26	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	2,51	1	2,51	292,34	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,03	1	0,03	3,13	0,0842
TE X PE	0,64	4	0,16	18,58	<0,0001
TE X RH	0,01	4	3,1E-03	0,36	0,8336
TE X PE X RH	0,02	4	0,01	0,67	0,6155
Error	0,35	41	0,02		
Total	6,15	59			

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN_Quiescencia</b>	<b>60</b>	<b>0,92</b>	<b>0,88</b>	<b>13,83</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,51	18	0,20	24,53	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	1,60	4	0,40	50,15	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	1,24	1	1,24	155,62	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,09	1	0,09	10,69	0,0022
TE X PE	0,41	4	0,10	12,92	<0,0001
TE X RH	0,08	4	0,02	2,57	0,0519
TE X PE X RH	0,10	4	0,03	3,15	0,0241
Error	0,33	41	0,01		
Total	3,84	59			

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN Dormición</b>	<b>60</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>12,72</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,55	18	0,20	127,77	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	3,29	4	0,82	532,55	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	0,08	1	0,08	51,92	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,01	1	0,01	6,96	0,0117
TE X PE	0,06	4	0,01	9,59	<0,0001
TE X RH	0,07	4	0,02	10,85	<0,0001
TE X PE X RH	0,04	4	0,01	7,26	0,0002
Error	0,06	41	1,5E-03		
Total	3,62	59			

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>
<b>ASEN Mortalidad</b>	<b>60</b>	<b>0,90</b>	<b>0,85</b>	<b>17,08</b>

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,68	18	0,15	19,99	<0,0001
Tpo. Enterramiento (TE)	2,01	4	0,50	67,39	<0,0001
Prof. Enterramiento (PE)	0,22	1	0,22	29,07	<0,0001
Régimen hídrico (RH)	0,13	1	0,13	18,00	0,0001
TE X PE	0,17	4	0,04	5,62	0,0011
TE X RH	0,08	4	0,02	2,57	0,0523
TE X PE X RH	0,08	4	0,02	2,59	0,0504
Error	0,31	41	1,5E-02		
Total	2,98	59			

## ANEXO II

Análisis de regresión polinómica para el parámetro térmico poblacional  $T_{c(50)}$  en función del tiempo-térmico de post-maduración ( $\Theta_{AT}$ ).

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>2</sup> Aj</u>	<u>ECMP</u>	<u>AIC</u>	<u>BIC</u>
<u>Tc (50)</u>	<u>13</u>	<u>0,95</u>	<u>0,94</u>	<u>0,71</u>	<u>32,10</u>	<u>34,36</u>
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	87,22	2	43,61	89,71	<0,0001	
$\Theta_{AT}$	77,26	1	77,26	158,94	<0,0001	
$\Theta_{AT}^2$	9,96	1	9,96	20,49	0,0011	
Error	4,86	10	0,49			
Total	92,08	12				

Análisis de regresión polinómica para el parámetro térmico poblacional  $\theta_1$  en función del tiempo-térmico de post-maduración ( $\Theta_{AT}$ ) y la temperatura de almacenamiento ( $T_s$ ) con dato outlier.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>ECMP</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
$\theta_1$	<b>13</b>	<b>0,74</b>	<b>0,69</b>	<b>113,25</b>	<b>96,84</b>	<b>99,10</b>
F.V.		SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo		2034,13	2	1017,06	14,39	0,0011
$\ln[(\Theta_{AT}/100)+1]T_s$		1834,56	1	1834,56	25,95	0,0005
$\ln[(\Theta_{AT}/100)+1]T_s^2$		199,57	1	199,57	2,82	0,1238
Error		706,95	10	70,69		
Total		2741,07	12			

Análisis de regresión polinómica definitivo (sin dato outlier) para el parámetro térmico poblacional  $\theta_1$  en función del tiempo-térmico de post-maduración ( $\Theta_{AT}$ ) y la temperatura de almacenamiento ( $T_s$ ).

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>ECMP</b>	<b>AIC</b>	<b>BIC</b>
$\theta_1$	<b>12</b>	<b>0,91</b>	<b>0,89</b>	<b>41,70</b>	<b>78,23</b>	<b>80,17</b>
F.V.		SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo		2483,40	2	1241,70	45,71	<0,0001
$\ln[(\Theta_{AT}/100)+1]T_s$		2158,25	1	2158,25	49,45	<0,0001
$\ln[(\Theta_{AT}/100) + 1]T_s^2$		325,15	1	325,15	11,97	0,0072
Error		244,50	9	27,17		
Total		2727,89	11			