

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA**

**“Trabajo Final presentado
para optar al Grado de Ingeniero Agrónomo”**

**UTILIZACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO
PARA SINCRONIZAR LA GERMINACIÓN DE *Panicum
maximun.***

BUFFA, Daniel Horacio

DNI: 27.294.893

Director: Luna María Virginia

Co-Director: Masciarelli Oscar Alberto

Río Cuarto - Córdoba

Abril, 2009

INDICE

RESUMEN	2
SUMMARY	3
INTRODUCCION	4
ANTECEDENTES GENERALES	6
SITUACIÓN ACTUAL DE LA GANADERÍA	6
CARACTERIZACIÓN DE LA REGIÓN	8
DATOS ESTADÍSTICOS	9
CARACTERIZACIÓN GENERAL DE LAS ESPECIES	9
PROBLEMÁTICAS DE <i>PANICUM MAXIMUM</i>	10
TECNOLOGÍA DE SEMILLAS FORRAJERAS	14
SELECCIÓN DE ESPECIES, LATENCIA Y DORMICIÓN	14
HIPOTESIS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS ESPECIFICOS	18
MATERIALES Y METODOS	19
IDENTIFICACIÓN Y ABREVIATURAS	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFÍA	36

RESUMEN

En el Norte de nuestro país, la obtención de forraje para ganado bovino depende del cultivo de ciertas gramíneas de climas subtropicales y templados como *Panicum maximum*. La producción de forraje es elevada llegando a 9000 Kg de Ms ha⁻¹ año⁻¹ y su calidad forrajera cubre perfectamente las necesidades de un rodeo de cría. Sin embargo, esta especie vegetal presenta un gran polimorfismo que incide en su valor agronómico, su capacidad de implantación se ve condicionada por sus bajos valores de energía y poder germinativo. El modelo de inoculación resulta de sumo interés, si bien los ensayos son exitosos, también hay una heterogeneidad en los resultados. Por lo tanto, deja aquí una puerta al desarrollo de una nueva tecnología adicionándole a la técnica de inoculación un tratamiento efectivo para eliminar la variabilidad intrínseca de la semilla y obtener una óptima sincronización en la germinación. Para ello se evaluaron diferentes lotes de semilla de *Panicum maximum* con distintos tiempo de almacenado sometidos a pretratamientos que son frecuentemente utilizados para romper la dormición en semillas. Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 12 horas con soluciones de NO₃K y (NO₃)₂Ca, polietilenglicol (PEG 6000), distintas concentraciones de ácido giberélico, tratamiento térmico (frío) y la combinación ácido giberélico más solución de calcio. Se determinó que el tratamiento más efectivo para sincronizar la germinación junto a la técnica de inoculación con *rizobacterias* del género *Azospirillum* es la aplicación de ácido giberélico en una concentración de 25 ppm (partes por millón) a semillas que tengan por lo menos 8 meses de almacenado.

PALABRAS CLAVES *Panicum maximum*, variabilidad intrínseca, germinación, *Azospirillum*, dormición, latencia.

SUMMARY

In the North of Argentina, obtaining forage for bovine livestock depends on the cultivation of some grasses typical from subtropical, or temperated like *Panicum maximum*. Forage production is high – 9000 Kg de Ms ha⁻¹ year⁻¹ – and its quality perfectly meets the needs of a cattle roundup. However, this plant species has a considerable germination variability that causes a negative its agronomical value. Thus, the implantation capacity of *Panicum maximum* is hindered by its low energy rates and germination. The inoculation model is very interesting; yet, despite the success in the test, results have been heterogeneous. This leads to the need to develop a new technology through which an effective treatment can be added to the inoculation technique in order to eliminate the intrinsic variability of the seed and reach a maximum synchronization in the germination process. With this purpose different *Panicum maximum* seed lots were assessed, each having a different storage period. Pre-treatments frequently used to break up seed dormancy were administered in each lot. Before planting, the seeds were incubated in NO₃K and (NO₃)₂Ca solutions, polyethylenglicol (PEG 6000), different gibberelic acid concentrations, cold treatment, and the combination of gibberelic acid with calcium solutions during 12 hours. It was concluded that the most effective treatment to synchronize the germination process to ensure a more efficient response to *Azospirillum rizobacteria* is the application of the gibberelic acid in a concentration of 25 ppm (parts per million) to seeds that have at least an 8-month storage period.

Key words: *Panicum maximum*, intrinsic variability, germination, *Azospirillum*, dormancy, latency.

INTRODUCCION

Mientras que en la mayoría de los países productores de carne del mundo los granos constituyen la base de la alimentación del ganado, en Argentina la principal fuente de alimento la constituyen los pastizales nativos y las especies forrajeras cultivadas que representan la principal ventaja económica de la producción pecuaria del país. De acuerdo con Dubois (2001), existen 539 cultivares de forrajeras inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares cifra que triplica la cantidad registrada a comienzos de la década del 90 en la que se reconocían no más de 150 cultivares de los que al menos el 50% habían sido seleccionados en el país fundamentalmente por el INTA o en Universidades Nacionales.

Alfalfa (*Medicago sativa* L), ha sido la especie de mayor utilización en ganadería en nuestro país; sin embargo; su superficie sembrada sigue reduciéndose en la actualidad debido al avance del área sembrada por cultivos agrícolas en siembra directa y el desplazamiento de la ganadería a zonas geográficas marginales en las que las especies tradicionales no pueden expresar su potencialidad genética y productiva para sostener un modelo pecuario. Este es el caso del Norte de nuestro país, donde la obtención de forraje para ganado bovino depende casi exclusivamente del cultivo de ciertas gramíneas de climas subtropicales y templados como *Panicum maximum* (cv. Gatton panic), una pastura perenne que crece abundantemente en la estación primavera-verano. Es una especie C₄ originaria de África, pero que en la actualidad está ampliamente difundida en el Noroeste y Noreste Argentino y es considerada la principal forrajera en estas regiones. Crece perfectamente en una amplia gama de suelos, preferentemente de textura suelta, con un régimen de precipitación entre los 500 y 1400 mm anuales y su característica más sobresaliente quizás resida en su facilidad de adaptación a zonas de alta temperatura con períodos de sequía prolongados. Tiene un excelente comportamiento cuando se lo cultiva bajo cubierta de árboles y produce forraje desde la primavera hasta el otoño, rebrotando luego de las heladas y continuando su crecimiento. En nuestro país, la producción de forraje por esta especie es elevada, pudiendo alcanzar los 9000 Kg de Ms ha⁻¹ año⁻¹ y su calidad forrajera cubre perfectamente las necesidades de un rodeo de cría (Vella *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista agronómico, *Panicum maximum* reúne una serie de características de vital importancia para su integración a una cadena forrajera: (a) tiene alta capacidad de adaptación al medio (plasticidad); (b) produce materia seca en cantidad y calidad suficiente; (c) tiene persistencia (perenne); (d) resiste el pastoreo; (d) no produce significativamente compuestos que condicionen su calidad y (d) en nuestro país existe disponibilidad y acceso al material genético (De León, 2004)

Quizás la característica menos deseada de la especie, radique en su escaso nivel de implantación a causa de su baja energía y poder germinativo, que hacen del establecimiento una etapa crítica y determinante de la productividad del cultivo. A pesar de que esta característica genera inconvenientes para el productor debido a la falta de uniformidad en la germinación, no existen estudios morfofisiológicos que brinden una base de conocimiento detallada que permita dar una solución efectiva al problema. Por tal motivo, y en base a consultas realizadas por profesionales del semillero Oscar Pemán y Asociados S.A. de la ciudad de Jesús María al Laboratorio de Fisiología Vegetal, se comenzó a realizar este estudio en semillas de *Panicum maximum* (cv. Gatton panic) con el objeto de realizar un mejoramiento de la especie para lograr mayor porcentaje y uniformidad en la germinación.

Si bien el mejoramiento genético convencional ha tenido un gran impacto sobre ciertos caracteres morfofisiológicos como incremento del rendimiento, calidad y resistencia a plagas o enfermedades en cereales y oleaginosas (Evans, 1998), en forrajeras los progresos han sido significativamente menores (Brummer, 1999) y no existen en la actualidad cultivares que permitan mejorar ciertas condiciones adversas. Esto se debería a varios factores agrícolas y económicos, tales como un proceso de domesticación más reciente, problemas para la reproducción de algunas especies, menores inversiones realizadas en el área y un mercado menos demandante.

Las herramientas biotecnológicas desarrolladas en los últimos 20 años han ofrecido alternativas que podrían contribuir a mejorar ciertos caracteres no deseados en cereales y oleaginosas. Por el contrario, en forrajeras se hace necesaria la implementación de otro tipo de estrategias donde, el desafío actual pasa por encontrar soluciones de bajo costo y fácil aplicación que permitan mejorar el manejo de ciertas especies como *Panicum maximum* (Díaz, 2004). (Vella *et al.*, 2005) demostraron que la pre-inoculación de semillas de *Panicum maximum* cv. Gatton panic con *rizobacterias* del género *Azospirillum* aumentaba significativamente la energía, el poder germinativo y el número de plantas establecidas por unidad de siembra. Desde el punto de vista tecnológico, el modelo de pre-inoculación resultó de sumo interés para la empresa Oscar Pemán y Asoc., que por medio de un convenio con la UNRC (Laboratorio de Fisiología Vegetal) probó la eficiencia de la metodología de bacterización de las semillas mediante un procedimiento denominado FERTICOUT®. Este modelo de inoculación resulta de utilidad para los productores debido al bajo costo y practicidad. Si bien los ensayos fueron exitosos, también se observó heterogeneidad en los resultados porque a pesar de aumentar el poder germinativo, no se consiguió uniformidad en la germinación. Por lo tanto, quedó abierta la posibilidad de desarrollo de una nueva herramienta tecnológica adicionándole a la técnica de pre-inoculación un tratamiento efectivo para eliminar la variabilidad intrínseca de la semilla y obtener de esta manera un mayor porcentaje de germinación. Desde el punto de vista fisiológico, lograr identificar qué factores o mecanismos son responsables de esa inhibición de la germinación

por causas endógenas (dormición) es de suma importancia para sentar bases científicas que se determinarán en este trabajo de investigación.

ANTECEDENTES GENERALES

Situación actual de la ganadería en la región del norte argentino. Importancia de las pasturas subtropicales

La principal actividad productiva en las áreas de secano, es la cría y recría de bovinos y caprinos con recursos forrajeros naturales y una escasa proporción de pasturas cultivadas. La mayoría de los terneros producidos, son vendidos para ser invernados en zonas más húmedas y a su vez se debe importar de otras regiones hacienda gorda para el consumo de carne local.

La limitante más importante para la producción ganadera de esta amplia región es la baja producción forrajera de los pastizales naturales, en gran parte por su estado de degradación; esto implica una baja receptividad en cuanto a carga animal lo cual además impone al ganado restricciones nutricionales que determinan una productividad individual mucho menor que la se podría esperar. Esta es una de las principales causas del bajo stock ganadero y de la baja producción de carne que aporta la región al total del país. Por ello, el incremento en el potencial de producción de forraje posibilitará aumentar las cargas animales y permitirá el planteo de esquemas de producción de carne bovina de alta productividad.

La expulsión de la ganadería de aquellas zonas con suelos con potencialidad agrícola hacia zonas donde el suelo era ocupado con pastizales naturales y la productividad ganadera era muy baja, está exigiendo el desarrollo de nuevos sistemas productivos lo que lleva a una ampliación de la frontera de la ganadería tecnificada.

Los datos del Relevamiento Agropecuario Provincial de 1999, demuestran que en la zona netamente ganadera, el aumento fue de un 48% respecto de los datos obtenidos en el Censo Nacional Agropecuario de 1988, pasando de 518.028 a 766.428 cabezas. En la sub-zona de transición, según los mismos datos, la evolución fue de un aumento del 11,5%, pasando de 685.657 a 763.938 cabezas. Esto demuestra realmente el desplazamiento de la ganadería hacia las zonas marginales.

La actividad predominante del área ganadera extensiva del noroeste es la cría bovina. Esto está determinado por la cantidad de vacas en relación al número total de cabezas (50%) y por que el 75,5% de los establecimientos ganaderos son netamente criadores (CNA 1988).

A pesar de ser la ganadería de cría la actividad más importante del área, según los datos del CNA (1988), la mayor parte de los establecimientos ganaderos (el 94,75% de los establecimientos de cría;

el 86,92% de los de invernada y el 68,41% de los de ciclo completo) no aplicaban ningunas de las tecnologías disponibles orientadas a mejorar la producción de carne, tales como: suplementación, estacionamiento de servicios, diagnósticos de preñez y la productividad general del área es baja.

Sin embargo, actualmente se observa un cambio hacia explotaciones de mayor tamaño y un aumento del 214% de la superficie con forrajeras perennes implantadas entre 1988 y 1999, (CNA 1988; Rel. Agr., 1999). A pesar de ello, actualmente las pasturas perennes sólo ocupan el 6.6 % de la superficie de la zona.

Las principales recomendaciones de manejo se refieren en primer lugar al planteo de cadenas forrajeras de acuerdo a las aptitudes de cada especie y los objetivos del sistema de producción.

En segundo lugar, la carga animal es determinante del resultado a obtener. Las cargas relativamente altas favorecen la utilización del forraje producido, a pesar de la menor respuesta individual. Ésta puede ser mejorada mediante la suplementación con lo cual se puede incrementar sustancialmente la producción de carne sobre estas pasturas. (De León, 2004).

Caracterización de la región

La región subtropical semiárida es una extensa planicie de aproximadamente 36 millones de hectáreas que se ubica en el centro-norte del país (entre el trópico de capricornio y el paralelo de 30°).

Su clima se caracteriza por veranos cálidos con temperaturas máximas absolutas de hasta 45°C, mientras que sus inviernos son fríos con presencia de heladas y mínimas absolutas de hasta -6°C. Se puede considerar un período libre de heladas de 300 días, con un gradiente que disminuye de norte a sur.

Las precipitaciones, presentan un amplio rango de variación que va de 350 a 750 mm anuales cuyas isohietas constituyen los límites occidental y oriental respectivamente de esta región. El período de lluvias está concentrado en la época estival ya que el 80% de las mismas ocurren entre noviembre y marzo con un balance hídrico deficitario en todos los meses del año, en la mayor parte de la región.

No sólo existe una gran variación de las lluvias entre invierno y verano, sino que se manifiestan oscilaciones entre años, lo que ocasiona que algunos sean de extrema sequía y otros de lluvias excepcionales. También, dentro de un mismo año es posible observar grandes variaciones en las precipitaciones dentro del período de lluvias con respecto a su patrón habitual, lo que ocasiona períodos de sequía. Estas variaciones impredecibles, tanto en las precipitaciones como en las temperaturas, deben ser tenidas muy en cuenta, a los fines de la producción agropecuaria.

Debido a la ausencia de barreras orográficas en sentido este-oeste, los vientos cambian continuamente de dirección, produciendo gran alternancia de temperaturas. En un mismo día o entre días puede variar la temperatura entre 10° a 20°C.

Para realizar un análisis tendiente al mejoramiento de los sistemas ganaderos mediante la implantación de pasturas, se debe considerar en primer lugar, cuáles son las especies forrajeras megatérmicas que se adaptan a las distintas zonas de esta gran región y que han demostrado persistencia y aptitud para la mejor producción de forraje.

Todas las especies forrajeras subtropicales perennes que hoy están disponibles son introducidas, pero provienen de distintos procesos a través de los cuales se han ido incorporando como pasturas, ya sea mediante la evaluación de la adaptación de colecciones de genotipos introducidos en planes de investigación, o mediante la observación y difusión empírica de pasturas utilizadas en regiones de características similares en otras partes del mundo. (De León, 2004).

Datos estadísticos

En cuanto al panorama forrajero nacional, existen 539 cultivares de forrajeras inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares. A comienzos de 1990 había solo 157, de los cuales el 50 % eran públicos, seleccionados en el país, fundamentalmente por el INTA, chacras experimentales provinciales o Universidades Nacionales. La especie preponderante era la alfalfa, seguida por pasto ovillo, avena y cebada forrajera, festuca alta, cebadilla criolla, raigrás anual y perenne, trébol rojo y moha. En los últimos años se incorporaron 382 nuevas variedades a través del mejoramiento efectuado sobre un total de 75 especies. El aporte de las instituciones nacionales decayó sustancialmente en este período y se comenzó a aplicar protección a los nuevos cultivares. Por otro lado la cantidad de empresas registrantes se incrementó. De las 539 variedades actuales el 70 % proceden del extranjero.

Si bien en la década del 70 ya se contaba con algunas especies introducidas de buena adaptación como Pasto llorón (*Eragrostis curvula*) y Grama Rhodes (*Chloris gayana*), recién en esa época se comenzó con sus evaluaciones como forrajeras (producción, valor nutritivo, forma de utilización, etc.) y se comenzaba con planes de introducción de nuevo germoplasma.

En la década del 80 se multiplicaron los esfuerzos en la introducción de pasturas y se comenzaron a obtener y difundir los resultados logrados, pero recién al comienzo de la década del 90 se contaba con un panorama completo en cuanto a las forrajeras disponibles y sus características, lo cual permitió desarrollar programas intensos de difusión, capacitación y desarrollo de estas pasturas, particularmente en lo relacionado a la producción de semillas (Dubois, 2001).

Caracterización general de las especies

Cada especie presenta ciertas características destacables que definen sus aptitudes para integrar una cadena forrajera. Así, podemos señalar la gran resistencia a la sequía de *Cenchrus ciliaris* que no sólo le permite adaptarse a aquellos ambientes más áridos sino también le confiere una gran seguridad de producción de forraje a los sistemas de zonas más húmedas frente a las variaciones de precipitaciones entre años y a períodos secos dentro de un mismo año.

El potencial de producción de esta especie es muy variable según los cultivares y su calidad es relativamente baja, pero con ritmos de crecimiento bastante constantes lo que facilita su manejo.

Panicum maximum, particularmente el cv. Gatton panic que es el más difundido, tiene un alto potencial de producción de forraje de buena calidad. Su ciclo de crecimiento es muy explosivo en el verano lo cual exige su correcto manejo para aprovechar su potencialidad, además es exigente en fertilidad y muy sensible a las sequías. *Panicum coloratum* al igual que *Digitaria eriantha* se caracterizan por su resistencia a las bajas temperaturas lo que les confiere una especial aptitud para ser usadas como diferidos. Son en general de buena producción y calidad, con un ciclo de producción relativamente amplios. *Brachiaria brizantha* posee un alto potencial de producción y buena calidad forrajera durante el verano pero es de bajo valor como diferida. *Chloris gayana* se puede considerar intermedia con una plasticidad importante y puede ser utilizada en todo el año. Su producción no es elevada, salvo los cultivares tetraploides.

Problemática de estas especies en general y de *Panicum maximum* en particular

Producción y calidad de semillas

En Argentina la producción de semillas forrajeras subtropicales tiene una historia mucho más reciente que la producción de semillas de zonas templadas y se refiere casi exclusivamente a gramíneas.

Tradicionalmente ha sido una actividad de oportunidad por parte de productores ganaderos, quienes, cuando las condiciones climáticas favorables lo permiten, destinan lotes a la producción de semilla luego de realizarles un pastoreo.

Importantes áreas de producción de semilla en Argentina, sobre todo de *Panicum maximum* cv Gatton panic han sido removidas debido al avance de la agricultura.

Las nuevas áreas ganaderas que se están desarrollando en el norte del país, si bien tienen buen potencial para la producción forrajera, muchas veces no son apropiadas para la producción de semilla.

Estos factores, sumados a una demanda creciente de semillas, han hecho que actualmente Argentina haya incrementado sus importaciones, especialmente de países limítrofes como Paraguay y de otros países como Australia, Brasil y en menor medida Sudáfrica.

Sin embargo las diferentes características climáticas y edáficas de esta vasta región chaqueña argentina (35 millones de has) ofrece áreas apropiadas para la producción de la mayoría de las semillas subtropicales utilizadas en nuestro país.

La tendencia actual es hacia la especialización en la producción de semillas, debido a la necesidad de maximizar los rendimientos por ha, a mejorar la calidad obtenida y disminuir los costos respecto a la importación.

Las principales áreas productoras de semillas de *Gatton panic* están ubicadas actualmente en las provincias de Santiago del Estero, Chaco y Córdoba. (De León, 2004).

Requerimientos y elección del área apropiada para producción de semilla

El crecimiento y desarrollo del cultivo no debe ser considerado independientemente del ambiente, por lo que en la elección del área apropiada para producción de semilla deben considerarse diferentes factores:

Edáficos: estructura y fertilidad del suelo. Presencia de malezas y preparación del lote.

Climáticos: cantidad y distribución de las lluvias, humedad relativa, temperaturas máximas y mínimas, intensidad y dirección de los vientos predominantes.

Ambientales: adecuada longitud de la estación de crecimiento y fotoperíodo. Condiciones soleadas durante la maduración y cosecha.

Infraestructura: posibilidad de riego, disponibilidad de maquinaria apropiada, accesos, instalaciones para secado de la semilla, etc.

Humanos: personal especializado en la actividad.

En general puede decirse que las pasturas subtropicales requieren condiciones de humedad, calor y una temperatura mínima nocturna de 16°C para lograr un buen crecimiento vegetativo y alta producción de semillas. También, la duración del día es un factor importante para el inicio de la floración. Las especies pueden diferir marcadamente en su respuesta a la duración del día, aun cuando sean originarias de la misma latitud. *Panicum maximun*, si bien esta considerado como una especie de día corto, a campo se puede observar floración durante toda la estación de crecimiento en el norte de nuestro país. Un comportamiento similar ha sido observado en Queensland (Australia)

En resumen, la elección del área donde se producirá semilla de una determinada especie o cultivar es una decisión clave que requiere una evaluación cuidadosa del ambiente y conocimiento de la fisiología de la especie en cuestión (Vella *et al.* 2005).

Germinación y establecimiento

Un buen lote para producción de semilla comienza con una buena implantación. En general las semillas forrajeras subtropicales son pequeñas, tienen un endospermo limitado y presentan

dormición. Estas características determinan que la siembra sea superficial y con ello una germinación lenta y desuniforme.

En general las densidades utilizadas para la implantación de lotes destinados a producción de semilla son superiores a las recomendadas para pastoreo, ya que la obtención de un buen stand de plantas está directamente relacionada con la producción de semillas.

El periodo crítico para la implantación de semillas forrajeras subtropicales es aquel que ocurre entre el inicio de la germinación y el desarrollo de un sistema radical que le permita a la planta la absorción de agua y nutrientes. En esta etapa se produce una alta mortandad de plántulas, que en lotes de secano puede alcanzar hasta el 80% de las mismas.

Los tratamientos de semillas con bacterias del genero *Azospirillum* en un medio adecuado para su supervivencia, mejoran el poder germinativo de las semillas de gramíneas subtropicales y promueven el desarrollo radicular debido a la producción de ácido giberélico y citocininas en el medio de fermentación. (Vella *et al.*, 2005)

Los lotes de pasturas tropicales destinados a la producción de semillas son cosechados durante varios años, ya que se trata de pasturas perennes. El primer año es el año de establecimiento de la pastura, y es frecuente que no se logre una sincronización de la floración, ya que la aparición de las plántulas es despareja debido principalmente a la dormición que presentan las semillas.

El porcentaje de semillas dormidas varía entre especies y aun dentro de la misma especie asociado con las técnicas de cosecha y secado. Por ejemplo, en *Panicum maximum*, (cv. gatton panic) el porcentaje de germinación es muy bajo en semillas recién cosechadas, aumentando progresivamente durante el primer año. La viabilidad se mantiene por dos años cuando las condiciones de almacenamiento son las adecuadas (bajas temperaturas y baja humedad relativa) y luego comienza a declinar. Mientras que semillas de *Cenchrus ciliaris* pueden mantener un buen poder germinativo durante cinco años cuando son almacenadas en climas secos. La dormición en Grama rhodes es superada luego de 3 meses de almacenamiento. En climas húmedos, luego de un año de almacenamiento la semilla de la mayoría de los pastos tropicales disminuye sustancialmente su viabilidad.

El potencial de producción de semilla de un forraje tropical, es muy distinto a la cantidad de semillas que se encuentra en un momento determinado en el lote, y lo efectivamente cosechado es menor aún, debido a las pérdidas durante la operación de cosecha.

En el caso de los pastos tropicales las semillas son pequeñas, no se forman ni maduran sincrónicamente y en general se caen después de la maduración. Para mejorar la sincronización de la floración se utiliza el corte y la fertilización, técnicas que en general se aplican en los lotes que están destinados exclusivamente a la producción de semillas. (Vella y col., 2005).

Manejo del cultivo

La base del crecimiento de las pasturas y de la producción de semillas es el macollaje. Cada hoja tiene una yema de la cual se desarrollará un macollo, y el primer macollo aparece generalmente cuando la planta tiene 4 o 5 hojas expandidas

Una producción alta de semillas dependerá de maximizar el número de macollos y sincronizar la aparición de las inflorescencias, por lo que es común realizar cortes de la pastura cuando termina la estación seca para promover el macollaje.

El mayor efecto de la fertilización nitrogenada es incrementar los rendimientos de semilla debido a que incrementa la densidad de inflorescencias. Dado que el nitrógeno juega un rol central en la producción de semillas, es importante determinar la dosis óptima a aplicar, el momento adecuado y el tipo de fertilizante nitrogenado a utilizar. En los lotes de secano la respuesta a la fertilización es más errática.

La fertilización con Fósforo puede ser también necesaria, especialmente en el NEA. Experiencias locales en Grama rhodes cv Fine cut bajo riego, muestran que la aplicación de fertilizante nitrogenado luego del corte incrementa sustancialmente la producción de semillas (De León, 2006).

Cosecha de Gatton panic

En general los lotes destinados a producción en semilla, son también utilizados para pastoreo y no se les realiza ningún manejo especial, aunque en aquellos que muestran una floración pareja como consecuencia de manejo mediante corte y fertilización, los rendimientos aumentan.

Los mayores rendimientos se obtienen en el año de implantación y durante los 3 años posteriores, a partir del cual comienzan a disminuir básicamente por la baja disponibilidad de nitratos en el suelo.

La floración es despareja en la misma espiga y también entre plantas, por lo que resulta difícil determinar el momento apropiado de cosecha, aunque la semilla madura tiene más permanencia sobre la espiga que en otras especies.

La semilla es cosechada con humedad (aproximadamente 36%) y normalmente es secada a media sombra durante 3 a 4 días, hasta que la humedad descienda a 9%. Un aumento de temperatura de la semilla durante el proceso de secado deteriora drásticamente la calidad de la misma.

Los trabajos de remoción de suelo realizados en lotes implantados durante la primavera, con posterioridad a las primeras lluvias, muestran efectos favorables en la producción de semilla. (De León, 2006).

Tecnología de semillas forrajeras. Selección de especies, latencia y dormición

Selección de Especies

Una prioridad fundamental en el desarrollo de la producción de semillas forrajeras subtropicales, ha sido la selección de especies y cultivares bien adaptados. Estas especies naturalmente varían en sus características fisiológicas. Gramíneas forrajeras de los géneros *Brachiaria*, *Panicum* y *Andropogon*, presentan en ciertas regiones características ventajosas, como resistencia a la sequía o al anegamiento, poca exigencia en fertilidad de suelo, recuperación rápida después del pastoreo y tolerancia a plagas o enfermedades. La expansión de la oferta y demanda de semillas y la investigación aplicada sobre técnicas de producción de especies forrajeras han venido desarrollándose en forma paralela. Cuando se realizan nuevas introducciones, estas dos áreas son inseparables.

A medida que se reconoce que la disponibilidad de semilla puede limitar, tanto la adopción de especies como la rapidez con que avance la investigación, se fortalecen los proyectos iniciales acerca de la evaluación agronómica de cultivares, adaptación, y persistencia en las zonas de producción y posteriormente el desarrollo de tecnologías de producción de semillas para cada especie promisorias (Zulay Flores V., 2001)

Dormición en semillas

Las semillas de especies forrajeras subtropicales se caracterizan por presentar dormición, mecanismo ampliamente difundido en la naturaleza y que evolutivamente surgió como un mecanismo de sobrevivencia de la especie para asegurar su descendencia bajo condiciones ambientales desfavorables. Desde el punto de vista fisiológico, responde a causas intrínsecas o inherentes al estado interno de la semilla. La latencia en cambio, consiste en la falta de germinación por causas externas como temperatura, provisión de agua, etc., que cuando dejan de ser limitantes permiten la germinación. Se ha hablado siempre de una latencia característica en semillas de diversas especies como cultivares de *Panicum maximum*, que se puede superar mediante períodos de almacenamiento variable. Sin embargo, este procedimiento no ha resultado muy eficiente debido a que la duración y condiciones que involucra este tipo de manejo no pueden ser aplicadas por igual

a todas las especies forrajeras y, en muchos casos, los problemas comerciales debido a la baja germinación en algunos lotes de semillas no se ha solucionado (Zulay Flores V., 2001)

Causas más comunes de dormición en semillas forrajeras:

1. Cubiertas seminales duras e impermeables al agua y al oxígeno: El término cubierta incluye las estructuras externas que cubren a la semilla. Estas pueden ser duras y resistentes a la entrada de agua, o pueden limitar la difusión del oxígeno, o bien causar resistencia a la expansión del embrión. Esta causa de dormición se encuentra en casi todos los géneros de leguminosas tropicales como *Leucaena*, *Stylosanthes*, *Macroptilium*, *Centrosema*, *Teramnus* y en algunas gramíneas de los géneros *Brachiaria*, *Paspalum* y *Panicum*.

2. Inmadurez del embrión: se presenta en la mayoría de las gramíneas forrajeras, al no haber completado la semilla la madurez embriónica al momento de cosecha, a causa de la desuniformidad en la etapa de floración. La especie *B. decumbens* es un ejemplo típico.

3. Presencia de inhibidores de la germinación: los inhibidores más comunes son compuestos orgánicos aromáticos como la fitohormona ácido abscísico, ácidos grasos o iones metálicos. Muy común en semillas de *Andropogon gayanus* y *Panicum maximum*.

4. Control hormonal: a medida que se avanza el proceso fisiológico de germinación, el contenido de ácido giberélico, citocininas y otras sustancias que estimulan el crecimiento se va incrementando a nivel de la semilla por síntesis *de novo*, mientras que sustancias inhibitoras tales como ácido abscísico y derivados de fenoles como naringenina, disminuyen su presencia. Este tipo de dormición ha sido señalada en semillas de *B. dictyoneura* y *B. brizantha*.

Ruptura de dormición

Las semillas forrajeras pueden presentar uno o varios tipos de dormición en forma combinada, que conllevan a emplear varios tratamientos en secuencia. Por tal motivo se han desarrollado diferentes métodos químicos (H_2SO_4 , KNO_3 , hormonas), físicos (temperatura, oxígeno, imbibición) y mecánicos (abrasiones) para eliminarlos.

Ácido Sulfúrico Concentrado (H₂SO₄): Es el método químico más utilizado en semillas de especies forrajeras tropicales, porque disuelve, agrieta y debilita las cubiertas florales, lo cual permite la entrada de agua e intercambio de gases, facilita la expansión del embrión y la salida de la radícula. En semillas de leguminosas de los géneros: *Medicago*, *Calopogonium*, *Centrosema*, *Leucaena*, *Macroptilium*, *Neonotonía*, *Prosopis* y *Stylosanthes*, se han obtenido altos porcentajes de germinación (80-90%) cuando la semilla se trata durante cierto tiempo (10-15 minutos) con ácido sulfúrico concentrado.

Así mismo, gramíneas forrajeras como *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. ruziziensis*, *B. brizantha*, han sido sometidas a estos tratamientos lográndose resultados altamente satisfactorios. En semillas de *B. humidicola* y *B. dictyoneura* se redujo el período de dormición sometiendo la semilla a escarificación ácida durante 11 y 20 min, respectivamente, incrementando su germinación en 20%.

Nitrato de Potasio (KNO₃): El nitrato de potasio (KNO₃), es recomendado como estimulador de la germinación cuando se utiliza para humedecer los sustratos, a fin de formar el medio complementario a otros tratamientos tendientes a romper latencia. El KNO₃ al 0,2%, ha sido efectivo en semillas de *Panicum maximum*, cultivares Makueni, Gatton, Trichoglume y Likini, incrementando su germinación en 15%. En semillas de *B. decumbens* y *B. dictyoneura*, previamente escarificada con H₂SO₄. También, se señala que el KNO₃ estimula su germinación; sin embargo en Venezuela con semillas intactas de *B. dictyoneura* disminuyeron su latencia alcanzando 47% de germinación.

Ácido Giberélico (GA₃): Ciertas especies de semillas requieren ser estimuladas por la giberelina a fin de promover la acción enzimática que induce la ruptura del almidón y otras sustancias de reserva. En semillas intactas de *B. decumbens*, *B. humidicola* y *B. dictyoneura* se obtuvo incrementos de germinación en 47% con concentraciones de 100 y 200 ppm. También se recomiendan aplicaciones de ácido giberélico en semillas de *B. dictyoneura*, previamente escarificadas con H₂SO₄.

Oxígeno (O₂): Muchas semillas de especies forrajeras se caracterizan por poseer dos tegumentos muy compactos y que actúan como una barrera física para evitar la entrada de agua y el intercambio de gases particularmente O₂ y CO₂. Semillas de *B. decumbens* y *B. dictyoneura* al ser colocadas en una atmósfera rica en O₂ incrementaron significativamente su germinación, asociando esta respuesta a una mayor disponibilidad de O₂ por el embrión, sin embargo semillas de *B. humidicola* no respondieron favorablemente a la condición de alta tensión de O₂.

Temperatura (°C): La aplicación de altas o bajas temperaturas (según la especie) como mecanismo de romper dormición ha sido frecuentemente utilizado. Al parecer estas producen incrementos de la respiración y metabolismo, especialmente en semillas húmedas, cambiando el balance de los componentes intermedios del ciclo respiratorio, sin embargo, su mantenimiento por tiempo prolongado puede ser desfavorable para la germinación de las semillas.

En semillas de leguminosas forrajeras de los géneros *Leucaena*, *Stylosanthes*, *Centrosema*, *Pueraria* y *Macroptilium* se han obtenido incrementos en germinación de 40 a 80%, al sumergir estas en agua hirviendo por determinado tiempo. En semillas de *B. decumbens* y *B. dictyoneura* se recomienda el calor seco entre 35 y 50°C por un tiempo de exposición no mayor de 30 minutos (Zulay Flores V., 2001). Sin embargo, es sabido que la aplicación de bajas temperaturas (4-6° C) a semillas dormidas y humedecidas acelera la germinación en varias especies como maíz, tomate, etc.

HIPOTESIS

La variabilidad intrínseca en la germinación de semillas de *Panicum maximum* podría deberse a la existencia de un fenómeno de dormición por causas anatómicas, morfológicas, hormonales o físico-químicas (impermeabilidad de tegumentos).

OBJETIVO GENERAL

- Determinar cuál o cuales tratamientos físicos y/o químicos se adecuan de manera mas eficiente para el logro de una germinación óptima y sincronizada de semillas de *Panicum maximum*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la morfología del embrión de *Panicum maximum* en semillas sin ningún tipo de tratamiento.
- Evaluar el efecto de pretratamientos con NO_3K y $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ sobre la energía y poder germinativo de lotes con diferentes tiempos de almacenamiento.
- Evaluar el efecto de un pretratamiento osmótico (polietilenglicol (PEG)) sobre la energía y poder germinativo de lotes con diferentes tiempos de almacenamiento.
- Evaluar el efecto de un pretratamiento con bajas temperaturas sobre la energía y poder germinativo de lotes con diferentes tiempos de almacenamiento.
- Evaluar el efecto de pretratamientos con distintas concentraciones de ácido giberélico sobre la energía y poder germinativo de lotes con diferentes tiempos de almacenamiento.

MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando semillas de *Panicum maximum* de dos lotes diferentes (provistos por la Empresa Pemán y Asociados S.A.), uno de cosecha reciente y otro con un período de almacenamiento de 8 meses en los galpones de la empresa, ambos inoculados con *Azospirillum brasilense* Az39. Los pretratamientos a realizar a cada uno de esos lotes fueron 10 en total, evaluándose posteriormente la energía germinativa y poder germinativo de las semillas tratadas y no tratadas (testigos), utilizando 200 semillas por tratamiento seleccionadas al azar de los lotes. Los agentes seleccionados para realizar los pretratamientos son aquellos frecuentemente utilizados para romper dormición en semillas (Khan A., 1996).

Metodología desarrollada para cada objetivo específico:

1) Evaluación de la morfología del embrión de *Panicum maximum* en semillas sin ningún tipo de tratamiento (naturales).

Se evaluó el grado de desarrollo del embrión mediante análisis morfológico por microscopía óptica y lupa. Para ello, se extrajeron 100 semillas de cada lote y se eliminaron las cubiertas para realizar las observaciones a embrión desnudo, calculando el porcentaje de semillas vanas y semillas con embrión maduro.

2) Evaluación del efecto de pretratamientos químicos.

Pretratamiento con NO_3K y $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$. Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 12 horas con soluciones de estas sales a una concentración de 200 mM con un potencial osmótico de -0.8 MPa.

Pretratamiento con polietilenglicol (PEG). Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 12 horas con PEG a una concentración de 30 mM con un potencial osmótico de -0.8 MPa.

Pretratamiento con ácido giberélico (GA_3). Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 12 horas en ácido giberélico a diferentes concentraciones de 10, 15, 20, 25 y 30 ppm (mg/l).

Pretratamiento con ácido giberélico ($\text{GA}_3 + \text{Ca}^{++}$). Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 12 horas en ácido giberélico a diferentes concentraciones de 10, 15, 20, 25 y 30 ppm (mg/l) más el agregado de $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ a una concentración de 200 mM.

3) Evaluación del efecto del pretratamiento térmico (frío).

Previo a la siembra en cápsulas de Petri, las semillas fueron incubadas durante 24 horas en heladera a una temperatura de 4°C.

En todos los casos, las semillas se trasladaron a cápsulas de Petri conteniendo como soporte un disco de papel humedecido con agua destilada (regadas cada 48 hs bajo campana de flujo laminar de aire estéril para mantener condiciones asépticas) y se colocaron en cámara germinadora con condiciones controladas de humedad, temperatura y ciclos de alternancia luz/oscuridad (16 horas luz a 30° C / 8 horas de oscuridad a 20° C, HR 60%). Se determinó la energía germinativa al día 10 y el poder germinativo al día 28, de acuerdo a las normas del Manual ISTA (1993) para la especie vegetal en estudio.

Posteriormente se evaluaron las respuestas de los distintos lotes a los diferentes tratamientos y se determinó el más efectivo. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un Análisis de la Varianza de una y dos vías (ANOVA), utilizando a posteriori un test de Tuckey. El software empleado fue Prism 4.0. (Ver anexo Estadístico).

IDENTIFICACIÓN Y ABREVIATURAS

TRATAMIENTO	IDENTIFICACION
Control:	Semillas sin ningún tipo de tratamientos.
Frio:	Semillas incubadas durante 24 horas en heladera a una temperatura de 4°C.
Cl ₂ Ca:	Semillas incubadas durante 12 horas en Cloruro de Calcio.
NO ₃ K:	Semillas incubadas durante 12 horas en Nitrato de potasio.
(NO ₃) ₂ Ca	Semillas incubadas durante 12 horas en Nitrato de calcio.
(PEG):	Semillas incubadas durante 12 horas en Polietilenglicol.
(GA ₃):	Semillas incubadas durante 12 horas en Ácido giberélico
GA ₃ 5 ppm	Ácido giberélico con 5 partes por millón de concentración
GA ₃ 15 ppm	Ácido giberélico con 15 partes por millón de concentración
GA ₃ 25 ppm	Ácido giberélico con 25 partes por millón de concentración
GA ₃ 30 ppm	Ácido giberélico con 30 partes por millón de concentración
(GA ₃ + Ca ⁺⁺):	Ácido giberélico + Calcio.
GA ₃ (5)+Ca ⁺⁺	Ácido giberélico (5ppm) + Calcio.
GA ₃ (15)+Ca ⁺⁺	Ácido giberélico (15ppm) + Calcio.
GA ₃ (25)+Ca ⁺⁺	Ácido giberélico (25ppm) + Calcio.
E.G.	Energía Germinativa.
P.G.	Poder Germinativo.
ANALISIS ESTADÍSTICO	IDENTIFICACION
Valor del P	P < 0.05.
(*)	Existen diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la morfología del embrión de *Panicum maximum* en semillas sin ningún tipo de tratamiento (naturales)

Los estudios morfológicos por microscopía óptica permitieron clasificar, en los diferentes lotes de semillas de *Panicum maximum* (cosecha 2005 y 2006), distintos grados de madurez del embrión causado por una fuerte desuniformidad en la etapa de floración que conlleva que al momento de cosecha exista un importante número de semilla que se encuentran vanas (sin desarrollo embrional), y otras con el embrión ya desarrollado.

En la figura 1 y 2 se pueden observar diferentes semillas tanto vanas y con embrión maduro respectivamente.



Figura 1. Semillas de *Panicum maximum* vanas. (Obsérvese que en el interior de las estructuras de la semilla no existe tejido embrional).



Figura 2. Semillas de *Panicum maximun* con diferentes grados de madurez embrional. (Obsérvese en el interior de las semillas, las estructuras esenciales que contienen al embrión).

Número real de semillas posibles a germinar

Tomando 100 semillas de *Panicum maximum* de cada lote, se determinó el porcentaje de semillas vanas y de semillas con el embrión maduro, definiendo así el número real de semillas que tendrán la posibilidad de germinar.

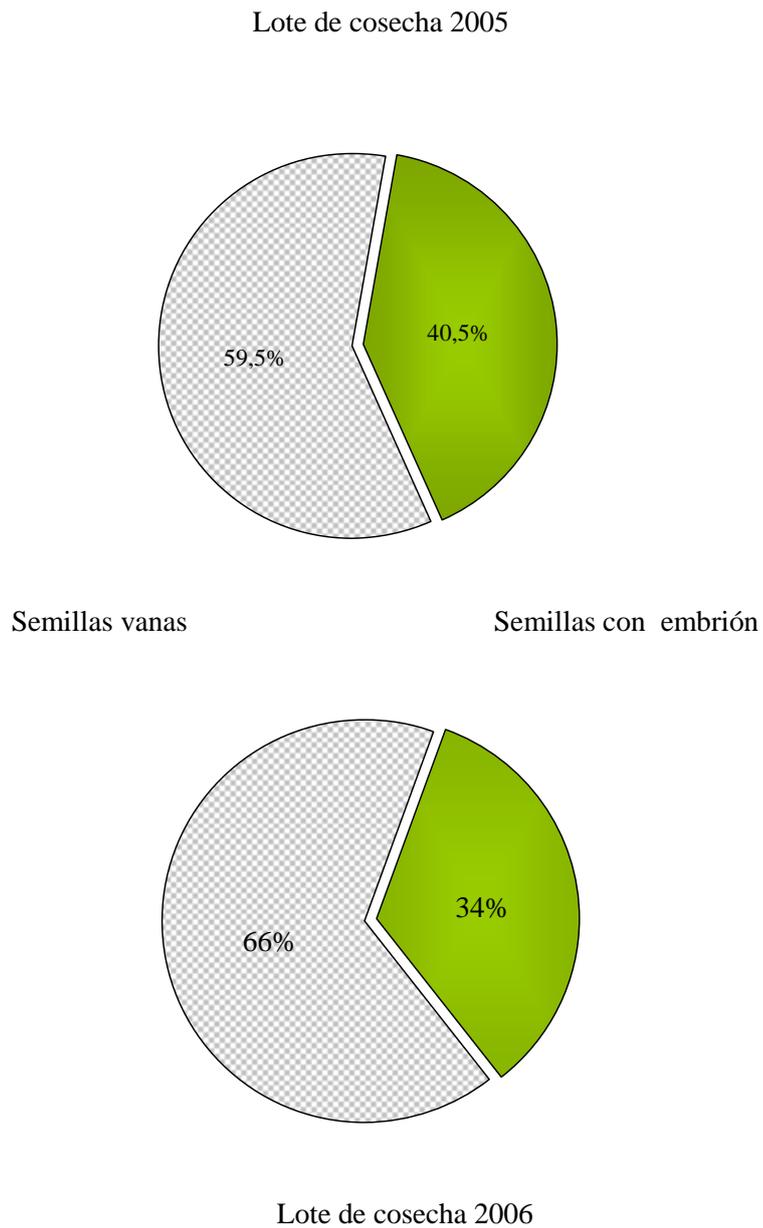


Figura 3. Las Semillas con suficiente tiempo de almacenado (superior a los 8 meses), tienen mas tiempo para terminar el desarrollo del embrión aumentando así el numero posible de semillas a germinar.

Como se puede observar los estudios morfológicos por microscopía óptica demostraron un alto porcentaje de semillas sin embrión (semillas vanas) y todas con estructuras duras y resistentes que en caso de poseer el embrión dificultan la entrada de agua, limitan la difusión del oxígeno y resisten la expansión del mismo.

Además al no haber completado la semilla la madurez embriónica al momento de cosecha, a causa de la desuniformidad en la etapa de floración, que junto a la presencia de inhibidores de la germinación tales como compuestos orgánicos aromáticos, ácidos grasos o iones metálicos hacen que exista una gran variabilidad intrínseca en el proceso de germinación ocasionando desuniformidad, bajo valores de energía y poder germinativo haciendo del establecimiento una etapa crítica y determinante de la productividad de esta forrajera.

El ácido absísico (ABA) tiene un rol en la maduración de semillas y embriogénesis, y ello es esencial y requerido para inducir dormición durante la etapa de embriogénesis. En estudios genéticos se demostró que el ABA producido por el embrión, y no el ABA maternal, es necesario para imponer dormición (Groot SPC *et al.*, 1991). Además de la inducción de la dormición en el desarrollo de semillas, el ABA esta involucrado en mantener la dormición durante la imbibición (Grappin P., *et al.*, 2000). La germinación es el proceso precedido por la disminución en los niveles de ABA resultando de ambos procesos de síntesis de novo y la activación del catabolismo (Feurtado JA., *et al.*, 2004).

Posteriormente con el objetivo de confirmar que esta variabilidad intrínseca en la germinación de semillas de *Panicum maximum* se debe a la existencia de un fenómeno de dormición por causas anatómicas, morfológicas, hormonales o físico-químicas, se evaluó en una secuencia de tres ensayos, diferentes pretratamientos tanto químicos como térmico.

ENSAYO (1)

CUADRO NUMERO 1

Lote 2005	TRATAMIENTOS	E.G.	P.G.	
Tratamiento 1	PEG	-----	-----	
Tratamiento 2	CONTROL	10%	15%	
Tratamiento 3	FRIO	11%	12%	
Tratamiento 4	Cl ₂ Ca	4%	6%	
Tratamiento 5	(NO ₃) ₂ Ca	4%	10%	
Tratamiento 6	GA ₃ (5)+Ca ⁺⁺	0%	2%	
Tratamiento 7	GA ₃ (15)+Ca ⁺⁺	6%	12%	
Tratamiento 8	GA ₃ (25)+Ca ⁺⁺	7%	13%	
Tratamiento 9	GA ₃ 5 ppm	5%	11%	
Tratamiento 10	GA ₃ 15 ppm	6%	10%	
Tratamiento 11	GA ₃ 25 ppm	15%	29%	(*)

Efecto de los pretratamientos en el ensayo inicial sobre la E.G. y el P.G.

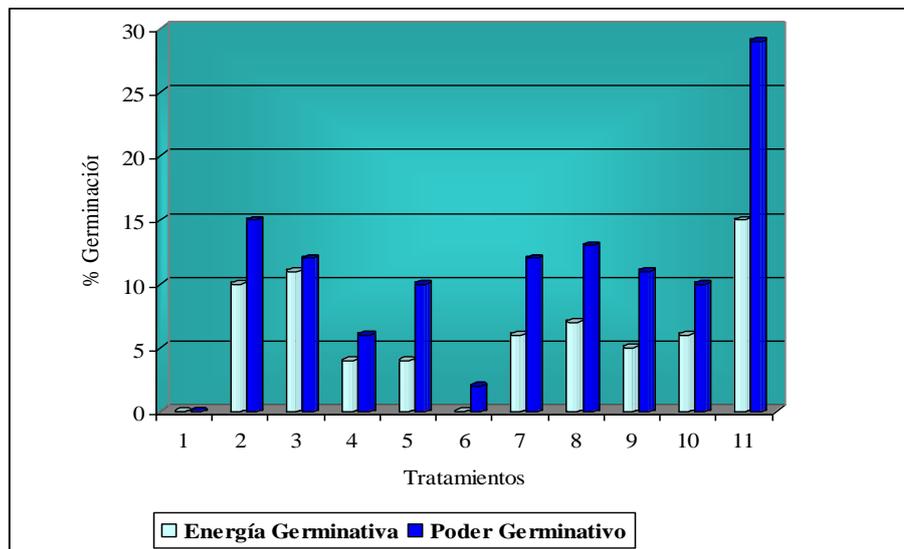


Figura 4.

Para este ensayo preliminar el único tratamiento que mostró un mejor comportamiento en los porcentajes de PG y EG fue la aplicación de GA₃ 25ppm, ya que superó a los demás tratamientos

en un 193 y 50% respectivamente y con diferencias estadísticamente significativas, el resto de los tratamientos se comportaron en forma levemente menor y en algunos casos muy similar al tratamiento control.

Luego, sabiendo que la aplicación de GA₃ era un posible tratamiento eficaz, se realizó un nuevo ensayo.

ENSAYO (2)

CUADRO NUMERO 2

Lote 2005	TRATAMIENTOS	E. G.	P. G.	
Tratamiento 1	PEG 6000	11%	15%	
Tratamiento 2	CONTROL	10%	17%	
Tratamiento 3	FRIO	11%	12%	
Tratamiento 4	(NO ₃) ₂ Ca	6 %	6%	
Tratamiento 5	NO ₃ K	3%	11%	
Tratamiento 6	GA ₃ (5)+Ca ⁺⁺	0%	0%	
Tratamiento 7	GA ₃ (15)+Ca ₊₊	8%	15%	
Tratamiento 8	GA ₃ (25)+Ca ₊₊	0%	0%	
Tratamiento 9	GA ₃ 5 ppm	8%	12%	
Tratamiento 10	GA ₃ 15 ppm	0%	0%	
Tratamiento 11	GA ₃ 25 ppm	30%	35%	(*)

Efecto de los pretratamientos en el ensayo 2 sobre la E.G. y el P.G.

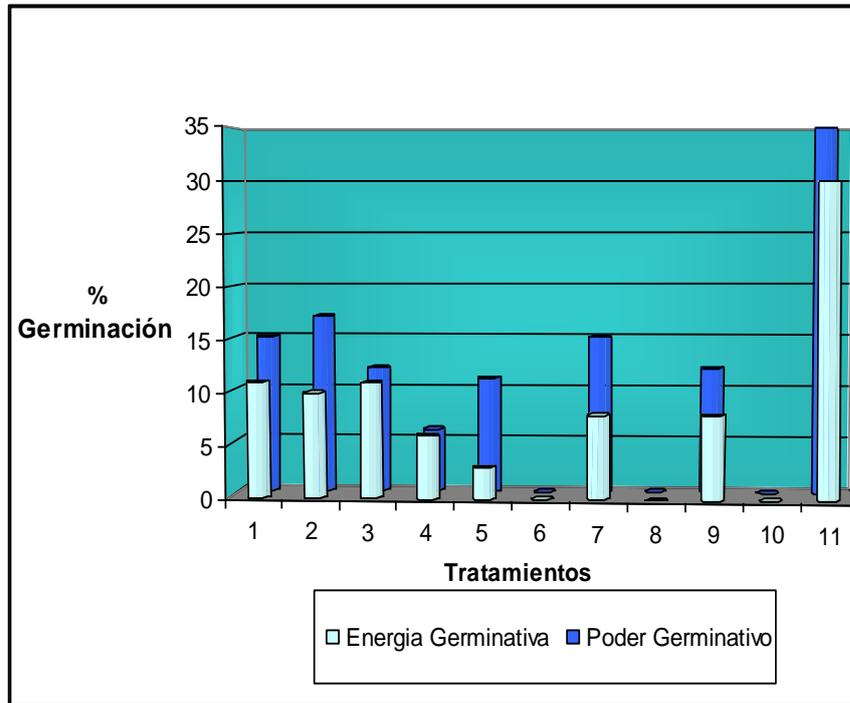


Figura 5.

Se puede observar, nuevamente, que GA₃ 25 ppm se comportó de la misma manera que en el primer ensayo siendo muy superior a los demás tratamientos y que las dosis junto a la combinación con el Ca⁺⁺ no demostraron un buen desempeño.

Teniendo en cuenta que en la evaluación morfológica del embrión de los diferentes lotes de semillas existían diferencias en el grado de desarrollo del embrión a causa del tiempo transcurrido desde la cosecha, se sometió a esos lotes a un nuevo ensayo para determinar EG y PG de dos replicas por cada tratamiento A y B de acuerdo al cuadro 3.

ENSAYO (3)

CUADRO NUMERO 3

	TRATAMIENTOS	E. G.2005		E.G.2006		P.G.2005		P.G.2006	
		A	B	A	B	A	B	A	B
Tratamiento1	PEG.	10	11	0	0	16	20	1	1
Tratamiento2	CONTROL	2	5	0	0	7	23	1	3
Tratamiento3	FRIO	2	13	0	0	18	20	5	7
Tratamiento4	NO ₃ K	0	0	0	0	0	0	1	2
Tratamiento5	((NO ₃) ₂ Ca	3	9	0	0	5	13	0	0
Tratamiento6	GA ₃ 10 ppm	7	7	0	2	13	13	2	9
Tratamiento7	GA ₃ 15 ppm	8	9	1	2	12	17	5	5
Tratamiento8	GA ₃ 20 ppm	6	6	1	1	14	18	1	7
Tratamiento9	GA ₃ 25 ppm	6	23	0	2	15	32	0	7
Tratamiento10	GA ₃ 30 ppm	3	30	1	2	5	36	2	5

Datos promedio de E.G. y P.G. del lote 2005 observados en cuadro N^o3.

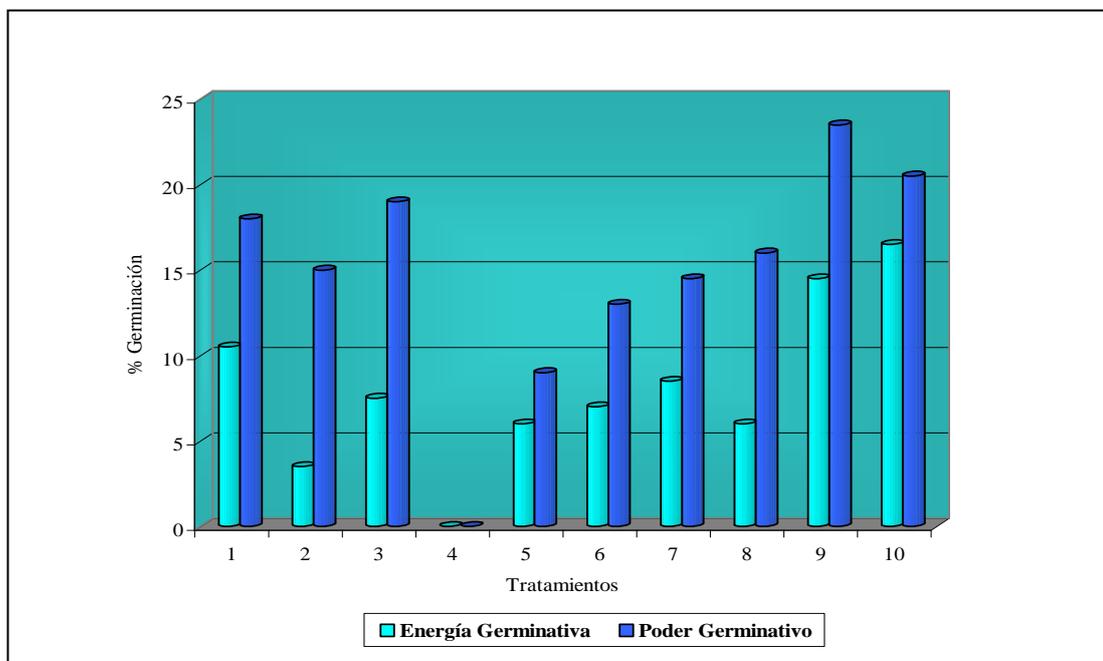


Figura 6.

Aquí vemos claramente como influye el tiempo de almacenado de la semilla luego de su cosecha, ya que el lote 2005 tiene mayores porcentajes de EG Y PG por tener inicialmente mayor desarrollo embrional, este tiempo superior a los 8 meses, le permite a la semilla completar su madurez embriónica. Peman, R. (2004).

Si bien en este ensayo demuestra un buen comportamiento de los tratamientos de Frío y PEG con respecto al control, se puede apreciar que el tratamiento con GA₃ 25 ppm es el que obtiene mayores porcentajes de PG y EG afirmando que es el tratamiento mas efectivo ya que mantiene su desempeño uniformemente en todos los ensayos realizados. Asimismo, GA₃ 30 ppm mostró un buen desempeño, semejante a GA₃ 25 ppm, pero también una gran desuniformidad de germinación y presentó en todas sus plántulas una marcada clorosis.

En fin, estos ensayos permitieron confirmar que el ácido absícico (ABA) tiene un rol en la maduración de semillas y embriogénesis, y ello es esencial y requerido para inducir dormición durante la etapa de embriogénesis. En contraste, la dormición de semillas generalmente mantiene el ABA endógeno a altos niveles, y la latencia es efectivamente liberada por la aplicación de ácido giberélico. La fluridona (inhibidor de la síntesis de ABA), bloquea la síntesis de carotenoides precursores del ABA. Cuando los niveles de ABA disminuyen durante la imbibición de la semilla, concomitantemente incrementan los niveles de ácido fáséico y dihidro fáséico (PA/DPA) observados en lechuga (Gonai T., *et al.*, 2004) y arabidopsis (Kushioro T., *et al.*, 2004). En alta temperatura inducida, semillas de lechuga en latencia, el catabolismo de ABA es positivamente regulado por GA₃, dado que la acumulación de PA/DPA es acelerado por la aplicación de GA₃ (Gonai T., *et al.*, 2004).

Ahora bien, si tomamos como ejemplo el lote de semilla que tuvo un tiempo de almacenado optimo, cosecha 2005, el mismo posee un 40.5% de semillas que tendrán la posibilidad de germinar ya que tienen el embrión en diferentes fases de su desarrollo y semillas que están bajo un fenómeno de dormición (calculo del número real de semillas posibles a germinar, Figura3); por lo tanto para realizar un método de mejoramiento en esta semilla solo podemos efectuarlos en ese 40.5% del total de una muestra, ya que el 59.5% restante son semillas vanas que no tienen las estructuras anatómicas suficientes para una futura germinación.

Por ello, cuando aplicamos un pretratamiento como los ensayados, no tienen efecto alguno en aquellas semillas vanas pero si en aquellas que poseen diferentes grados de dormición causadas por inmadurez del embrión (anatómicas), hormonales o físico-químicas (impermeabilidad de tegumentos) ya que los tratamientos utilizados son agentes seleccionados frecuentemente para romper dormición en semillas (Khan A., 1996).

El 29.1 % es el valor promedio de PG de GA₃ 25 ppm en todos los ensayos realizados indicando que es el tratamiento mas eficaz para romper este fenómeno de dormición ya que representa el 72% del total de semillas que están bajo este fenómeno comparado con aquellos lotes de semilla testigo que tiene un PG promedio del 15.6% indicando que solo germinarían un 38% de ese total de semillas. Ver Figura 7.

Poder Germinativo con GA₃ (1) y Control (2) sobre el número real de semillas posibles a germinar (100%).

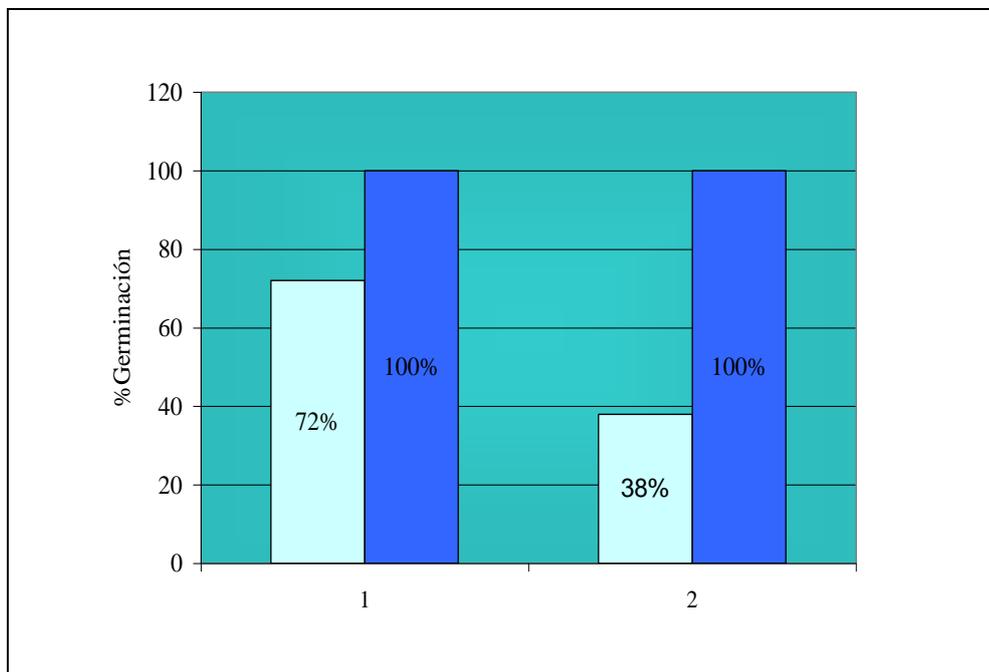


Figura 7. Poder Germinativo sobre el número real de semillas posibles a germinar.

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un Análisis de la Varianza de una y dos vías (ANOVA), utilizando a posteriori un test de Tuckey (no paramétrico), por software Prism 4.0. Para ello se tuvieron en cuenta todos los resultados de todos los ensayos, donde se confirmó que el tratamiento de mejor comportamiento, de acuerdo al objetivo buscado, fue GA₃ 25 ppm mostrando diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos.

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA), definió que hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, permitiendo realizar luego el test a posteriori Tuckey (no paramétrico), por software Prism 4.0, quien arrojó los siguientes resultados cuando comparó todos los tratamientos entre sí. Donde existen diferencias estadísticamente significativas cuando P < 0.05 (*)

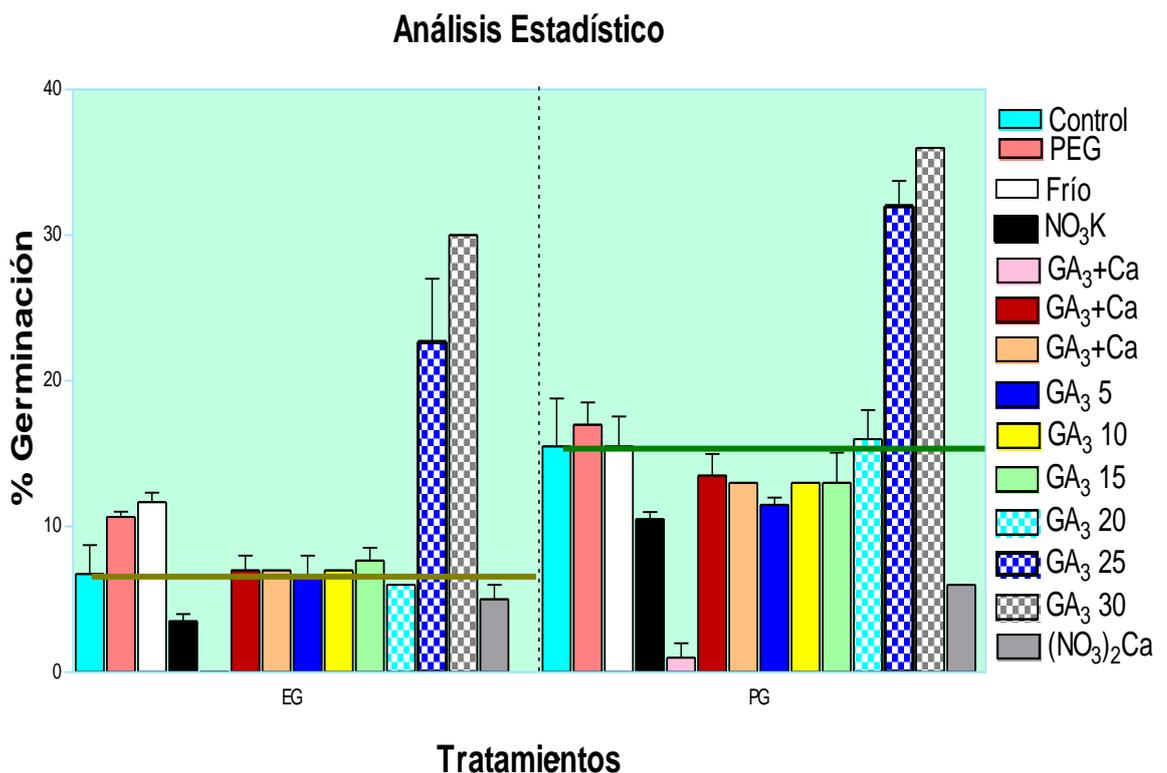


Figura 8. Análisis estadístico, visualizándose el desvío estándar de cada tratamiento.

Comparacion	Valor del P		Comparacion	Valor del P
Control vs PEG	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ +Ca	P > 0.05
Control vs Frio	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 5	P > 0.05
Control vs NO ₃ K	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 10	P > 0.05
Control vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 15	P > 0.05
Control vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 20	P > 0.05
Control vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 25	P < 0.05
Control vs GA ₃ 5	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 30	P < 0.05
Control vs GA ₃ 10	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
Control vs GA ₃ 15	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ +Ca	P > 0.05
Control vs GA ₃ 20	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 5	P > 0.05
Control vs GA ₃ 25	P < 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 10	P > 0.05
Control vs GA ₃ 30	P < 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 15	P > 0.05
Control vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 20	P > 0.05
PEG vs Frio	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 25	P < 0.05
PEG vs NO ₃ K	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 30	P < 0.05
PEG vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
PEG vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 5	P > 0.05
PEG vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 10	P > 0.05
PEG vs GA ₃ 5	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 15	P > 0.05
PEG vs GA ₃ 10	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 20	P > 0.05
PEG vs GA ₃ 15	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 25	P < 0.05
PEG vs GA ₃ 20	P > 0.05		GA ₃ +Ca vs GA ₃ 30	P < 0.05
PEG vs GA ₃ 25	P < 0.05		GA ₃ 5 vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
PEG vs GA ₃ 30	P < 0.05		GA ₃ 5 vs GA ₃ 10	P > 0.05
PEG vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05		GA ₃ 5 vs GA ₃ 15	P > 0.05
Frio vs NO ₃ K	P > 0.05		GA ₃ 5 vs GA ₃ 20	P > 0.05
Frio vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 5 vs GA ₃ 25	P < 0.05
Frio vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 5 vs GA ₃ 30	P < 0.05
Frio vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 5 vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
Frio vs GA ₃ 5	P > 0.05		GA ₃ 10 vs GA ₃ 15	P > 0.05
Frio vs GA ₃ 10	P > 0.05		GA ₃ 10 vs GA ₃ 20	P > 0.05
Frio vs GA ₃ 15	P > 0.05		GA ₃ 10 vs GA ₃ 25	P < 0.05
Frio vs GA ₃ 20	P > 0.05		GA ₃ 10 vs GA ₃ 30	P < 0.05
Frio vs GA ₃ 25	P < 0.05		GA ₃ 10 vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
Frio vs GA ₃ 30	P < 0.05		GA ₃ 15 vs GA ₃ 20	P > 0.05
Frio vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05		GA ₃ 15 vs GA ₃ 25	P > 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 15 vs GA ₃ 30	P < 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 15 vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ +Ca	P > 0.05		GA ₃ 20 vs GA ₃ 25	P > 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 5	P > 0.05		GA ₃ 20 vs GA ₃ 30	P < 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 10	P > 0.05		GA ₃ 20 vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 15	P > 0.05		GA ₃ 25 vs GA ₃ 30	P > 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 20	P > 0.05		GA ₃ 25 vs (NO ₃) ₂ Ca	P < 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 25	P < 0.05		GA ₃ 30 vs (NO ₃) ₂ Ca	P < 0.05
NO ₃ K vs GA ₃ 30	P < 0.05			
NO ₃ K vs (NO ₃) ₂ Ca	P > 0.05			
GA ₃ +Ca vs GA ₃ +Ca	P > 0.05			

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo de investigación permitieron confirmar que la variabilidad intrínseca en la germinación de semillas de *Panicum maximum* se debe a la existencia de un fenómeno de dormición por causas anatómicas, morfológicas, hormonales y/o físico-químicas (impermeabilidad de tegumentos).

Este estudio morfofisiológico brinda una base de conocimiento detallada que permite dar una solución práctica al problema, es decir, proponer tratamientos efectivos para eliminar la variabilidad intrínseca de la semilla y obtener de esta manera un mayor porcentaje de germinación. Desde el punto de vista fisiológico, se logró identificar qué factores o mecanismos son responsables de esa inhibición, lo que nos permitió sentar bases científicas que determinaron los siguientes tratamientos a utilizar.

- Un tiempo de almacenado de 8 meses luego de la cosecha es imprescindible para lograr una buena sincronización de la germinación en semillas de *Panicum maximum* debido a que no se completa la madurez embrionaria al momento de cosecha. Esto se debe a que la floración y posterior madurez, es despareja en la misma panoja y también entre plantas, ocasionando de tal modo un gran número de semillas vanas y de poco desarrollo embrional con respecto a aquellas de embrión maduro.
- El pretratamiento que mostró mas efectividad junto a la inoculación con bacterias del género *Azospirillum brasilense* Az39, fue la incubación durante 12 horas con ácido giberélico (GA_3) 25 ppm ($mg\ l^{-1}$) previo a la siembra, que ocasiona en las semillas de *Panicum maximum* una modificación del balance hormonal, estimulando el crecimiento rápidamente a comienzo de la fase de latencia o lag, mientras que las sustancias inhibitorias como ácido absísico y derivados de fenoles, disminuyen su concentración regulando así el proceso de germinación.

En conclusión, de acuerdo a los objetivos propuestos para este trabajo de investigación, el tratamiento más efectivo para sincronizar la germinación de las semillas de *Panicum maximum* es la aplicación de ácido giberélico (GA_3) 25 ppm ($mg\ l^{-1}$) adicionado al proceso de peleteado con FERTICOUT®.

Como se mencionó anteriormente, se ha demostrado que la aplicación de este producto en el peleteado de semillas por parte de la Empresa Oscar Pemán y Asociados S.A. mejora significativamente el proceso de germinación de esta especie vegetal, siempre que las semillas tengan por lo menos 8 o más meses de almacenamiento. No obstante, no se podía solucionar el problema de la falta de sincronismo en la germinación.

Es de importancia mencionar que este trabajo de investigación fue ejecutado bajo condiciones de laboratorio con infraestructura y equipamientos adecuados, por lo tanto, para que a nivel

industrial tenga igual validez se deberá respetar estrictamente los principales componentes y materiales que se utilizaron. Consideramos que nuestro resultado es una herramienta tecnológica valiosa, dado que posee un bajo costo, es práctica y mejora significativamente la germinación de esta especie.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

BRUMMER, E. C. 1999. Capturing heterosis in forage crop cultivar development. Crop Sci, 39:943-954.

DIAZ, M.; V. ECHENIQUE; G. SCHRAUF; S. CARDONE; P. POLCI; E.LUTZ y G. SPANGENBERG. 2004. Biotecnología y mejoramiento genético de especies forrajeras. RIA, 33 (3):77-104.

DUBOIS, M. 2001. El escenario varietal argentino y la red de ensayos de variedades forrajeras. Génesis, Revista de la Cámara de Semilleristas de la Bolsa de Cereales. Argentina. RIA, 33 (3):77-104.

EVANS, L.T. 1998. Feeding Ten Billion. Cambridge. Univ. Press Cambridge. UK. RIA, 33(3):77-104.

FEURTADO, JA.; SJ. AMBROSE; AJ. CUTLER; AR. ROSS; And SR. ABRAMS. 2004. Dormancy termination of western white pine (*Pinus monticola* Dougl. Ex D. Don) seeds is associated with changes in ABA metabolism. *Planta* 218:630-39.

GONAI, T.; S. KAWAHARA; M. TOUGOU; S. SATOH; and T.HASHIBA. 2004. ABA in the thermoinhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellin. *J. Exp. Bot.* 55:111-18.

GRAPPIN, P.; D. BOUITNOT; B. SOTTA; E. MIGINIAC; and M. JULLIEN. 2000. Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia* post-imbibition ABA synthesis imposes dormancy maintenance. *Planta* 210:279-85.

GROOT, SP.; I. VAN YPEREN; and C. KARSSSEN. 1991. Strongly reduced levels of endogenous ABA in developing seeds of the tomato mutant *sitiens* do not influence *in vivo* accumulation of dry matter and storage proteins. *Physiol. Plant* 81:73-78.

INTA 2004. Ampliando La Frontera Ganadera. Proyecto Ganadero Regional: Mejoramiento de la Productividad y Calidad de la Carne Bovina en la Provincia de Córdoba Ing. Agr. Marcelo DE LEÓN. En: www.inta.gov.ar. Consultado: 08/09/2006.

INTA 2006. Forrajeras para el subtropical semiárido: Mejoramiento de la Productividad y Calidad de la Carne Bovina en la Provincia de Córdoba Ing. Agr. Marcelo DE LEÓN. En: www.inta.gov.ar. Consultado: 08/09/2006.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING 1993. International Seed Testing Association. Seed Sci. & Technol. 21. Supplement.

KHAN ANWAR A. 1996. Control and Manipulation of Seed Dormancy. In: Plant Dormancy. Lang G.A. (ed.) Cab Internacional. UK.

KUSHIORO, T., M. OKAMOTO; K. NAKABAYASHI; K. YAMAGISHI; And S. KITAMURA. 2004. The *Arabidopsis* cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. EMBO J. 23:1647-56.

PEMAN, R. 2004. Manejo de precosecha de semillas forrajeras subtropicales. <http://www.peman.com.ar> . Consultado: Septiembre del 2006.

VELLA, M.; O. MASCIARELLI; H. GRION; R. PEMAN; F. CASSAN y V. LUNA 2005. Evaluación de la germinación, establecimiento y crecimiento temprano de semillas de *Chloris gayana* y *Panicum maximum* inoculadas con *A. brasilense* Az39. V Reunión Nacional Científico Técnica de Biología del Suelo y V Encuentro sobre FBN, p. 40.

ZULAY FLORES V. 2001. La Tecnología de semillas forrajeras en Venezuela. I. Selección de especies y latencia. Investigadora. FONAIAP-Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay. <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fdivul.html> (N58). Consultado: Septiembre del 2006.

