

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Proyecto de Trabajo Final presentado para optar el Grado de
Ingeniero Agrónomo.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA
GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA L.*) CON DISTINTOS
GRADOS DE REPOSO INVERNAL

Pereyra, Rita

DNI: 31.405.586

Director: Ing. Agr. MSc. Héctor R. Pagliaricci

Co-director: Ing. Agr. María J. Bonvillani

Río Cuarto - Córdoba

Octubre 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Titulo del Trabajo Final: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA
GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE
PLÁNTULAS DE ALFALFA (*Medicago sativa*
L.) CON DISTINTOS GRADOS DE REPOSO
INVERNAL

Autor: PEREYRA, RITA

DNI: 31.405.586

Director: Ing. Agr. M. Sc. HÉCTOR R. PAGLIARICCI

Co-Director: Ing. Agr. MARÍA J. BONVILLANI

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

(Nombres)

Fecha de presentación: ____ / ____ / ____

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, Cristina, mis dos hermanos y mis sobrinos por su ayuda y apoyo durante mis estudios y en este trabajo en particular.

A mis amigos, quienes me ayudaron durante el proceso de toma de datos y brindaron su apoyo incondicional.

A los docentes de la carrera.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Certificado de Aprobación.....	I
Agradecimientos.....	II
Índices.....	III
Resumen.....	VI
Summary.....	VII
Introducción.....	1
Hipótesis.....	6
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos.....	6
Materiales y Métodos.....	7
Resultados y Discusión.....	10
Conclusiones.....	17
Bibliografía citada	18
Anexo.....	19

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1: Alfalfa crecimiento de las plántulas y el desarrollo.....	4

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Normas ISTA para determinar la energía germinativa (EG) y el poder germinativo (PG) en semillas de alfalfa.....	7
Cuadro 2: Resultados de energía germinativa (EG) (%) y poder germinativo (PG) (%) de las semillas evaluadas según las Normas ISTA.....	8
Cuadro 3: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa de tres cultivares (CV 1, CV 2 y CV 3) en tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C) en estadio cotiledonar, hoja unifoliada y primer hoja trifoliada.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio cotiledonar, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	10
Figura 2: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio de hoja unifoliada, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	11
Figura 3: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio de hoja trifoliada, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	12
Figura 4: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 1 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	13

	Página
Figura 5: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 2 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	15
Figura 6: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 3 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).....	16

ANEXO

	Página
Anexo 1: Síntesis de los datos analizados en las Figuras, expresando el peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa de tres cultivares en tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C) en estadio cotiledonar, hoja unifoliada y primer hoja trifoliada.....	18
Imagen 1: <i>Spedling</i> en cámara de germinación (CV 1).....	19
Imagen 2: <i>Spedling</i> en cámara de germinación (CV 2).....	19
Imagen 3: <i>Spedling</i> en cámara de germinación (CV 3).....	20

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de plántulas de alfalfa (*Medicago sativa L.*) con distintos grupos de reposo invernal durante el proceso de germinación y emergencia. El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de semillas de la cátedra de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Para tal fin se realizó un diseño experimental factorial 3x3, 3 cultivares siendo estos: CV 1: PINTO, CV 2: CW 830 y CV 3: WL 1058 con 3 temperaturas T20: 15/25°C; T10: 5/15°C y T30: 15/30°C, con 3 repeticiones. En las temperaturas evaluadas se determinó el peso promedio de plántulas en la etapa cotiledonar, hoja unifoliada y primera hoja trifoliada de los distintos cultivares. Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico INFOSTAT sometiendo los valores al análisis de la varianza (ANOVA) y los promedios se compararon por medio del Test de Duncan (5%). Se registró que el peso seco de la alfalfa en los 3 estadios evaluados, fue más afectado por las altas temperaturas independientemente del cultivar.

Palabras claves: alfalfa, cultivares, temperaturas, cotiledones, hoja unifoliada y primer hoja trifoliada.

SUMMARY

In this present study was evaluated the effect of temperature on the growth of alfalfa (*Medicago sativa L.*) seedlings with winter rest groups during germination and emergence. The test was carried out in the laboratory of seed of the chair of Genetics, Faculty of Agronomy and Veterinary, of the National University of Río Cuarto. To this end we conducted a 3x3 factorial experimental design, 3 cultivars being these: CV 1: PINTO, CV 2: CW 830 and CV 3: WL 1058 with 3 temperatures T20: 15/25°C; T10: 5/15°C and T30: 15/30°C, were 3 repetitions. In the evaluated temperatures average weight was determined seedling cotyledon stage, leaf unifoliada and first trifoliolate leaf of different cultivars. Data were analyzed using the Statistical Package INFOSTAT values subjecting to analysis of variance (ANOVA) and means were compared using Duncan's test (5%). It was reported that the dry weight of alfalfa evaluated in 3 stages, was more affected by high temperatures regardless of the cultivar.

Key words: alfalfa cultivars, temperatures, cotyledons, leaf unifoliada and first trifoliolate leaf.

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa L.*) tiene su origen en Asia Menor. Las referencias más antiguas proceden de Turquía (1.300 años a.C.) y Babilonia (700 años a.C.), aunque se especula que el tráfico marítimo, altamente desarrollado 4.000 años a.C., podría haber contribuido a facilitar su difusión con mucha antelación. En excavaciones arqueológicas realizadas en Turquía se hallaron pequeñas tablas de piedra que indican con claridad que hace más de 3.300 años la alfalfa era utilizada para alimentar animales (caballos). Hay evidencias, además, que esta forrajera estaba ampliamente distribuida en Media (N.O. de Irán) unos 1.000 años a.C. y que presumiblemente siguió los pasos de la civilización de este a oeste. Serían, los griegos quienes le dieron el nombre de médica, que recogido por los romanos se ha conservado hasta nuestro días como denominación de su género botánico. Los autores romanos describen con abundantes detalles, la importancia, cultivo y forma de aprovechamiento de la alfalfa. La llegada al Nuevo Mundo se produjo en México en el año 1519. Posteriormente por la ruta del Pacífico, fue trasladada a Perú y Chile y desde allí, por vía terrestre, llegó a la Argentina (D'Attellis, 2005).

La alfalfa ha sido tradicionalmente la forrajera más importante de la Argentina, llegando en la década del 20 a cubrir una superficie de 8,5 millones de hectáreas. Sin embargo, los cultivos fueron declinando en su productividad y persistencia debido a múltiples factores, la mayoría provocados por inadecuadas prácticas de manejo y por la proliferación de insectos, enfermedades y malezas. Esto determinó que a mediados de los años 70 se registrara la menor superficie de siembra, produciéndose a partir de ese momento una paulatina recuperación, para encontrar en la actualidad un área nacional total de siembra superior a 5,5 millones de hectáreas. Las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires concentran el 94% de la producción (D'Attellis, 2005).

Las praderas de alfalfa son un recurso fundamental para la producción agropecuaria en las regiones templadas del mundo. Es un cultivo que por sus características, sería deseable que esté presente en todas las cadenas forrajeras de los sistemas dedicados a la producción de carne y leche. Sin embargo, no todas las regiones son aptas para su establecimiento, dado que existen limitantes de tipo agroclimáticas (Bragachini *et al.*, 1996).

Su calidad nutritiva, producción de forraje, hábito de crecimiento, perennidad, plasticidad y capacidad de fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico, la convierten en una especie esencial para muchos sistemas de producción agropecuaria (D'Attellis, 2005).

En zonas donde predomina la producción de leche y carne, ésta especie forrajera es primordial en la alimentación, ya sea en forma de pastoreo directo o en épocas de baches forrajeros en forma de rollos, fardos y/o silos.

La alfalfa es una de las principales especies forrajeras a nivel mundial, es por eso que se considera la “reina” de las forrajeras debido a su alta calidad nutritiva, rendimiento, resistencia a la sequía y buena adaptación a diversas condiciones de suelo y clima. Pertenece a la familia de las Leguminosas. Se trata de una planta herbácea y de porte erecto, la raíz principal es pivotante y puede alcanzar varios metros de profundidad. Posee una corona, de la cual emergen brotes de renuevo, estos son delgados y erectos para soportar el peso de las hojas y de las inflorescencias. Las hojas son trifoliadas, aunque la primera hoja verdadera es unifoliada. Las flores son de color azul, púrpura o blanco, con inflorescencias en racimos que nacen desde las axilas de las hojas. El fruto es una legumbre indehisciente (vainas en espiral) que contiene entre 2 y 6 semillas de 1,5 a 2,5 mm, amarillentas y arriñonadas (Rodríguez, 2007).

La alfalfa es una pastura perenne, desde siembra hasta el primer año se encuentra en fase de implantación, donde se diferencian dos etapas, una comprende la siembra, germinación y emergencia de cotiledones y la otra corresponde al inicio del crecimiento y desarrollo de la planta (Bobadilla, 2002). El fotoperíodo juega un papel importante en estas etapas, cuando es menor a 12 horas favorece la asignación de fotosintatos (materia seca) para el desarrollo de las raíces. Fotoperíodos mayores a 12 horas estimulan la formación de yemas, de tallos en las axilas de los cotiledones y aparición de hojas formándose posteriormente la corona (Teuber y Mueller, 2007).

La alfalfa, en la Pampa Húmeda, tiene dos épocas de siembra: otoño (febrero, marzo, abril) donde las plántulas se desarrollan bajo temperaturas de enfriamiento con fotoperíodos cortos. En estas condiciones, se puede esperar que las plántulas desarrollen rápidamente la corona inicial y así poder formar una corona más fuerte con un sistema radical más desarrollado, comparadas con la segunda época de siembra: primavera (septiembre) donde las plántulas se desarrollan en condiciones más cálidas y fotoperíodos mayores a 12 horas (Teuber y Mueller, 2007).

La elección de un cultivar de alfalfa implica considerar características tales como: reposo invernal (predeterminado), resistencia a plagas y enfermedades (desarrollada), producción de materia seca y persistencia (no siempre disponible para todas las condiciones agroclimáticas) (Pece y Cangiano, 2003).

La alfalfa, al igual que la mayoría de las leguminosas y gramíneas empleadas en pasturas cultivadas, tiene una duración acotada en el tiempo. El grado de reposo invernal del cultivar, las plagas, las enfermedades, las malezas, el anegamiento, la fertilidad del suelo y manejo del pastoreo son los principales factores responsables de esta situación (Rossanigo *et al.*, 1995). Los cultivares poseen distinto grupo de reposo invernal siendo ésta una

característica genética que le permite mantener reposo en las condiciones de baja temperatura en otoño e invierno.

En función del grupo de reposo invernal se clasifican en grupos que van desde 1 (extremadamente largo) hasta 11 (sin reposo) existiendo entre ellos grupos intermedios (Pasturas y forrajes, 2011). En general existe una relación inversa entre grupo de reposo invernal y persistencia o duración del cultivo, resultando más longevos aquellos cultivares con mayor reposo invernal (Bobadilla, 2002).

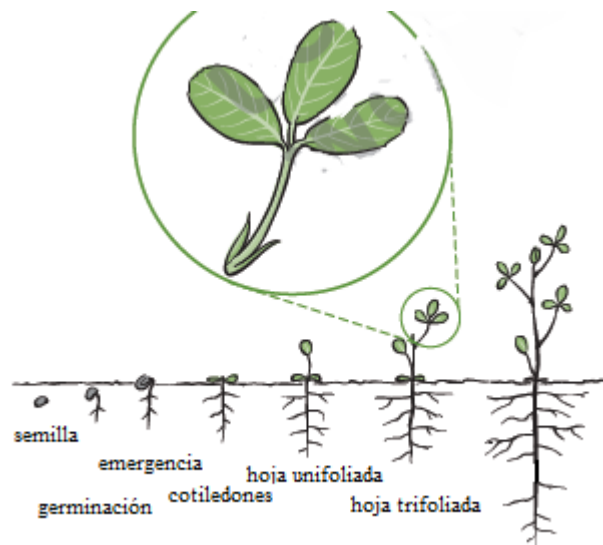
Las variedades sin reposo invernal se utilizan en los sistemas pastoriles de producción lechera e internada intensiva y también en la producción de heno bajo riego en las regiones del NOA y Cuyo. Las variedades con reposo invernal moderado se prefieren para la producción de carne o producción de henos en muchas zonas de la región Pampeana. A nivel mundial es considerado un cultivo fundamental para la producción agropecuaria en las regiones templadas. Es una especie esencial para muchos sistemas de producción agropecuaria, desde los intensivos a corral que la incluyen en la dieta animal como forraje cosechado y procesado (grupo 4), hasta los pastoriles que la utilizan en pastoreo directo (grupo 5 y 6). En la mayoría de las regiones de la Argentina donde las producciones de leche y carne son relevantes, esta especie forrajera es básica en la alimentación (grupo 7, 8 y 9). Sin embargo, la dimensión real de su valor surge cuando se considera, además, el rol de esta leguminosa en la sustentabilidad de los sistemas de producción, por su función en la recuperación de la fertilidad y estabilidad edáfica (grupo 10 y 11) (Basigalup, 2007).

Todos los aspectos de la gestión de la alfalfa requieren una comprensión del crecimiento y desarrollo del cultivo. El conocimiento básico de las características botánicas, sus patrones de crecimiento y sus etapas de desarrollo son claves para mejorar el *stand* de plantas saludable y productivo, así como la calidad de la pastura y su duración en el tiempo (Teuber y Mueller, 2007). El buen manejo del *stand* de plantas hace a la perennidad del cultivo.

Esta especie presenta una semilla constituida por el funículo, el tegumento, el embrión y el albumen. El funículo es el que mantiene unida la semilla con el fruto, al secarse se desprende y forma una cicatriz llamada hilum. El tegumento o testa es la capa externa que rodea el embrión y le brinda protección. El embrión originará la futura plántula; en el mismo se pueden observar la radícula, el hipocótilo, la plúmula y los cotiledones. La radícula, que durante la germinación emerge a través de la micrópila, formará la raíz. En sentido contrario, el epicótilo dará origen a las partes aéreas de la plántula. Por su parte la plúmula, que es un esbozo formado por hojas, al desarrollarse originará el tallo. Los cotiledones, gruesos y carnosos, almacenan la mayor parte de su tejido de reserva para el desarrollo del embrión.

Por último, el albumen es un tejido de reserva que, en el caso de la alfalfa, se encuentra reducido y cuya función principal es facilitar el proceso de germinación (Basigalup, 2007).

La primera evidencia observable de germinación es el alargamiento bajo el suelo y la penetración de la radícula para producir una raíz principal no ramificada. Después de la emergencia de la radícula, el área debajo de los cotiledones (hipocotilo) se endereza y se alarga, y los cotiledones se ubican por encima de la superficie del suelo (Esquema 1). La primera hoja verdadera producida es unifoliada. El tallo de las plántulas (tallo principal) continúa desarrollándose como una planta madura (Teuber y Mueller, 2007).



Esquema 1: Alfalfa crecimiento de las plántulas y el desarrollo.

Este tallo, originado en el embrión de la semilla, tiene en la parte terminal un meristema que da origen a hojas alternadas trifoliadas con yemas axilares. Los entrenudos se elongan, elevando al meristema apical. Nacen nuevos tallos secundarios de las yemas de las hojas más bajas. A medida que estos tallos crecen se vuelven leñosos en la base, formando una corona a nivel del suelo, con yemas accesorias capaces de formar nuevos tallos (Rodríguez, 2007).

Para que se inicie el proceso de germinación deben interactuar numerosos factores tales como temperatura y humedad de suelo (estrechamente ligados a la época de siembra), la calidad fisiológica y genética de la semilla, la eficiencia de la maquinaria de siembra (densidad y profundidad), los cultivos acompañantes, la preparación del suelo y el nivel de fertilidad y acidez del mismo, etc. (Bobadilla, 2002). Las semillas comienzan a germinar poco después de la siembra, con temperaturas del suelo de aproximadamente 18 °C y adecuada humedad presente. Las semillas no germinan cuando las temperaturas del suelo

están por debajo de 1,7 °C o por encima de 40 °C. La absorción de agua por la semilla es el primer paso en el proceso de germinación y se lleva a cabo cuando la humedad está presente en cantidades suficientes para penetrar la cubierta de la semilla (Teuber y Mueller, 2007). Craufurd *et al.*, (2003) afirman que la temperatura óptima para el crecimiento de alfalfa es de aproximadamente 20 °C. Las semillas pueden germinar en un rango de temperaturas que van desde los 5 °C hasta 35 °C, siendo la óptima de 20 °C, aunque es sensible al frío en la etapa de cotiledón y primera hoja unifoliada, luego del reposo invernal, temperaturas entre 15 °C y 20 °C favorecen el desarrollo de la parte aérea (Pasturas y Forrajes, 2011).

En el crecimiento y desarrollo de las plántulas de alfalfa, Pearson *et al.*, (1972), descubrieron que las tasas de aumento de peso seco y área foliar fueron mayores a 20/15 °C que a 30/25 °C lo mismo que la tasa de expansión de las hojas fue mayor, pero el número de hojas producidas por unidad de tiempo, o área fue inferior a 20/15 °C que a 30/25 °C.

Este trabajo se desarrolló con el propósito de evaluar a distintas temperaturas de germinación el peso de los cotiledones, hoja unifoliada y primera hoja trifoliada en tres cultivares con diferentes grupos de reposo invernal.

HIPÓTESIS

En alfalfa, las temperaturas de germinación tienen influencia sobre el peso de estructuras morfológicas de las plántulas en diferentes variedades con distintos grupos de reposo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la temperatura sobre componentes de la biomasa de plántulas de alfalfa en diferentes variedades con distintos grupos de reposo durante el proceso de germinación y emergencia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el peso de plántulas de alfalfa en estadio cotiledonar, hoja unifoliada y primera hoja trifoliada en variedades con distintos grupos de reposo invernal sometido a distintas temperaturas.
- Establecer relaciones entre grupos de reposo invernal y los datos obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de semillas de la cátedra de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (Ruta nacional 36 – km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina).

Las semillas utilizadas fueron brindadas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Manfredi, que representaron 3 grupos de reposo invernal, siendo los cultivares siguientes:

CV 1: PINTO (grupo de reposo invernal 6)

CV 2: CW 830 (grupo de reposo invernal 8)

CV 3: WL 1058 (grupo de reposo invernal 10)

A cada uno de los cultivares se les realizó un análisis de semillas según las Normas ISTA (2007) (Cuadro 1), estableciendo que para evaluar alfalfa se debe utilizar 400 semillas a una temperatura de 20°C, siendo la temperatura óptima para germinación, sobre o entre sustrato de papel poroso para germinación, determinando los valores de energía germinativa (EG) y poder germinativo (PG).

Cuadro 1: Normas ISTA para determinar la energía germinativa (EG) y el poder germinativo (PG) en semillas de alfalfa.

Species	Prescriptions for.				Additional directions including recommendations for breaking dormancy
	Substrate	Temperature °C	First count (days)	Final count (days)	
1	2	3	4	5	6
<i>Medicago arabica</i>	TP;BP	20	4	14	-
<i>Medicago italica</i>	TP;BP	20; 15	4	14	-
<i>Medicago littoralis</i>	TP	20	4	14	-
<i>Medicago lupulina</i>	TP;BP	20	4	10	Prechill
<i>Medicago orbicularis</i>	TP;BP	20	4	10	Prechill
<i>Medicago polymorpha</i>	TP;BP	20	4	14	-
<i>Medicago rugosa</i>	TP;BP	20	4	14	-
<i>Medicago sativa</i>	TP;BP	20	4	10	Prechill
<i>Medicago scutellata</i>	TP;BP	20	4	14	-

REFERENCIA: TP: sobre papel; BP: entre papel.

Se colocó el papel en la base de una caja de Petri con 2,5 gramos de agua por gramo de papel, humedad correcta para la imbibición de las semillas y proceso inicial de desarrollo de la plántula. En cada una de las 8 cajas (repeticiones) se distribuyeron 50 semillas sobre el papel. Las cajas sembradas se colocaron en cámara de germinación con temperatura y humedad controladas.

La primera lectura se realizó a los 4 días de iniciado el ensayo, donde se observó la cantidad de semillas germinadas lo que indica la energía germinativa; y al cabo de los 10 días se realizó la evaluación determinando porcentajes de plántulas normales, es decir poder germinativo, anormales, duras, frescas y muertas. Los porcentajes de energía germinativa (EG) y poder germinativo (PG) se analizaron sobre las 400 semillas dando el resultado que se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2: Resultados de energía germinativa (EG) (%) y poder germinativo (PG) (%) de las semillas evaluadas según las Normas ISTA.

	1^{er} Recuento	2^{do} Recuento
CV	EG %	PG %
1	72	83,5
2	68	83,5
3	80,5	90,5

Los valores de EG y PG en porcentaje (%) indican que no hay diferencias entre cultivares por lo que se procedió a la utilización de los 3 cultivares evaluados.

Luego del análisis inicial de la calidad de las semillas de cada cultivar se procedió a iniciar los ensayos planteados en los objetivos. Para esto se utilizaron *spedling* preparados con arena esterilizada, como sustrato, colocados en la cámara de germinación CONVIRON 2005, modelo C30 con tres condiciones controladas de temperatura 15/25°C (temperatura óptima de germinación), 5/15°C y 15/30°C (valores extremos de germinación), humedad constante (100%) y luz (fotoperíodo) simuló situaciones reales en base a las temperaturas establecidas. El diseño experimental utilizado fue factorial 3x3, 3 cultivares (CV) con 3 temperaturas.

Los tratamientos fueron:

- T20: Temperatura óptima para germinación, 15/25°C
- T10: Temperatura por debajo de la óptima, 5/15°C.
- T30: Temperatura por encima de la óptima, 15/30°C.

Las variables a evaluar fueron:

- Peso de las plántulas en estadio cotiledonar
- Peso de las plántulas en estadio de hoja unifoliada.
- Peso de las plántulas en estadio de primera hoja trifoliada.

Antes de comenzar el ensayo se esterilizaron los materiales (*spedling*, vasos, pinzas, etc.) y la arena fina se sometió a estufa durante 48 horas a una temperatura de 100°C. Se llenaron los *spedling*, se regaron con abundante agua y se procedió a la siembra de cada cultivar.

Para los tres tratamientos se colocaron 3 semillas por celda en un total de 200 celdas por cultivar; se cubrieron con una fina capa de arena y se colocaron en bandejas para poder regarlas absorbiendo agua por capilaridad evitando el humedecimiento directo de las semillas y posteriormente, de las plántulas germinadas. Luego de la germinación se produce el raleo para que quede una plántula por celda.

En el tratamiento T30, la cámara se programó para que la temperatura aumente hasta alcanzar los 30°C a la hora 14, luego disminuye paulatinamente hasta la hora 2 llegando a 15°C, durante el tiempo que dure el ensayo; con un fotoperiodo de 12 horas de luz, que se programó desde las 7 a las 19 horas.

Las mediciones comenzaron a los 21 días desde la siembra (DDS), se extrajeron 20 plantas completas, al azar, para cada estadio y se colocaron en cajas de Petri. Se llevaron a laboratorio, se pesaron con balanza digital *High – Precision Analytical Electronic Balance* Modelo AF-R 220 VIBRA y se secaron en microondas hasta obtener un peso seco constante. Las mediciones se realizaron cada 4 días hasta que las plántulas alcanzaron más de una hoja trifoliada.

En el tratamiento T10 la cámara alcanzaba 5°C a la hora 2 y 15°C a la hora 16; presentando un fotoperiodo de junio/ julio con 9 horas de luz, la misma se encendía a las 8:30 horas y se apagaba a las 17:30 horas.

A los 29 DDS se recolectaron las plántulas en los estadios correspondientes, realizando las mediciones cada 10 días.

En el tratamiento testigo T20, la cámara se programó para que a la hora 14 tenga una temperatura de 25°C y a la hora 24 una temperatura de 15°C. El fotoperiodo en este tratamiento fue de 12 horas desde las 12 hasta las 24 horas cada día. Las muestras se comenzaron a tomar a los 7 DDS y las mediciones se realizaron cada 7 días.

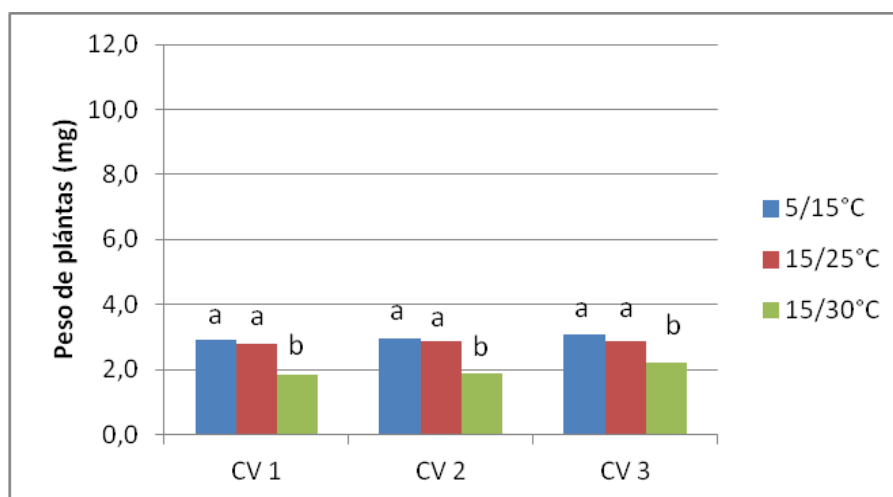
Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico INFOSTAT sometiendo los valores al análisis de la varianza (ANOVA) y los promedios se compararon por medio del Test de Duncan (5%).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS EN FUNCIÓN DE LAS ETAPAS DE DESARROLLO

Etapa cotiledonar

En la etapa cotiledonar, independientemente de los cultivares el peso de las plántulas fue significativamente inferior a una temperatura de 15/30°C con respecto a las temperaturas de 5/15°C y 15/25°C (Figura 1). Además, a una temperatura de 15/30°C las plántulas tienen un menor crecimiento de cotiledones independientemente del cultivar. Coincidiendo con Pearson *et al.* (1972), quienes encontraron que las tasas de aumento de peso seco y área foliar fueron mayores a 20/15°C que a 30/25°C lo mismo que la tasa de expansión de las hojas fue mayor, pero el número de hojas producidas por unidad de tiempo, o área fue inferior a 20/15°C que a 30/25°C.



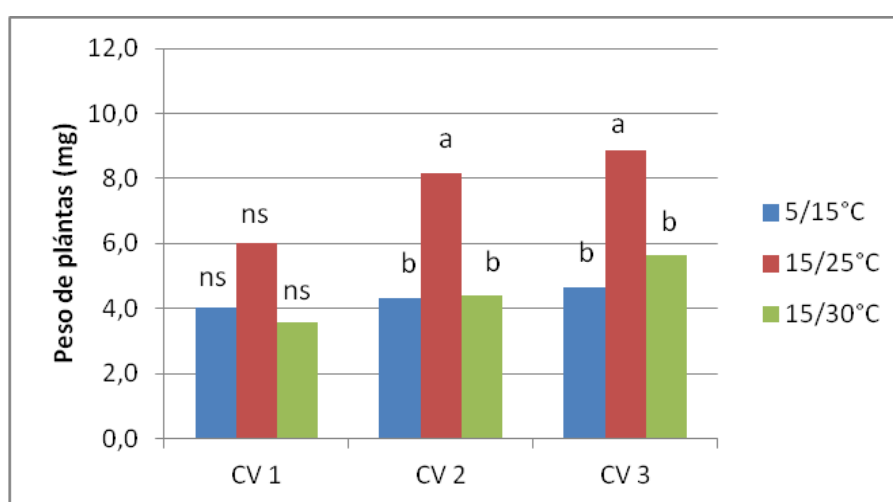
Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

Figura 1: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio cotiledonar, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

Los resultados de esta experiencia no coinciden con los valores que Teuber y Mueller (2007) plantearon como temperaturas óptimas para el desarrollo de las plántulas, pues estos autores expresaron un rango fijo de temperatura (20°C a 22°C). Además, es para destacar que no hubo diferencias entre los resultados de 5/15°C y 15/25°C.

Etapa de hoja unifoliada

Se puede observar, en la etapa de hoja unifoliada, el efecto de la temperatura sobre cada cultivar quedando de manifiesto el efecto de la temperatura sobre el cultivar CW 830 (GRI8) (CV 2) y WL 1058 (GRI 10) (CV 3) que a 15/25°C mostraron los mayores pesos. En cambio en el cultivar PINTO (GRI 6) (CV 1) no presentó diferencias estadísticas en las tres temperaturas (Figura 2). Craufurd *et al.* (2003) afirman que la temperatura óptima para el crecimiento de alfalfa es de aproximadamente 20°C, en esta experiencia (Figura 2), se obtuvieron los mayores valores de los pesos de las plántulas con temperatura variable de 15/25°C en los CV 2 y CV 3.



Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

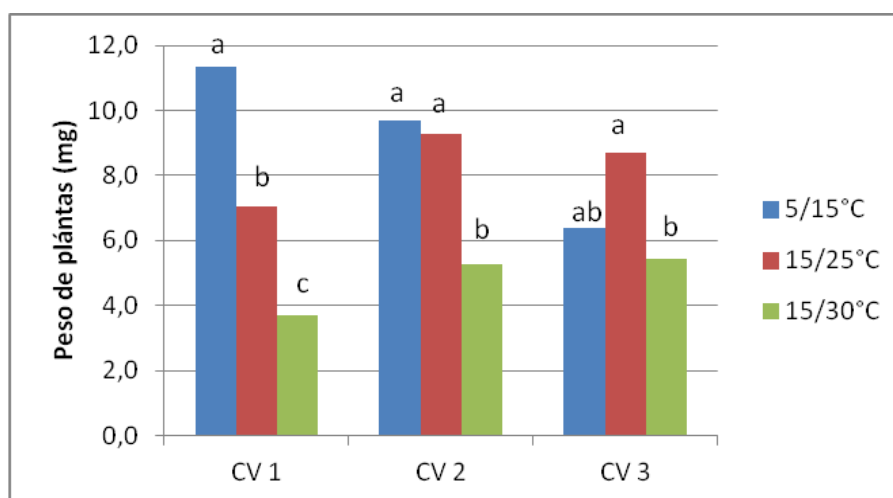
Figura 2: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio de hoja unifoliada, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

Comparando la Figura 1 con la Figura 2 permite ver un marcado incremento de peso de las plántulas desde el estadio cotiledonar hasta hoja unifoliada, esto fue más notorio a 15/25°C; y en cuanto a los cultivares, el CV 3 es el que tuvo mayor respuesta.

Etapa de hoja trifoliada

En la etapa de hoja trifoliada se pueden observar las diferencias entre los tres cultivares; ya que el CV 1 presentó el mayor peso a 5/15°C, valor medio para 15/25°C y el menor valor se manifiesta a los 15/30°C. En cuanto al CV 2 los valores mayores se registraron a 5/15°C y 15/25°C -no presentando diferencias estadísticamente significativas entre éstas-, difiriendo de 15/30°C. El CV 3 a una temperatura de 5/15°C se comportó igual

que a 15/25°C y 15/30°C, las diferencias estuvieron entre estas dos últimas temperaturas ya que a 15/25°C se manifestó el mayor peso de las plántulas (Figura 3).



Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

Figura 3: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa en estadio de hoja trifoliada, con tres cultivares (CV 1, CV 2, CV 3) a diferentes temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

A 15/30°C las plántulas fueron de menor peso independientemente del grupo de reposo invernal, esto se puede atribuir al desarrollo acelerado por la mayor tasa de crecimiento que manifestó con esa temperatura, marcándose más la diferencia en el último estadio analizado (hoja trifoliada).

ANÁLISIS EN FUNCIÓN DE LAS CULTIVARES REPRESENTATIVOS DE CADA GRUPO DE REPOSO INVERNAL

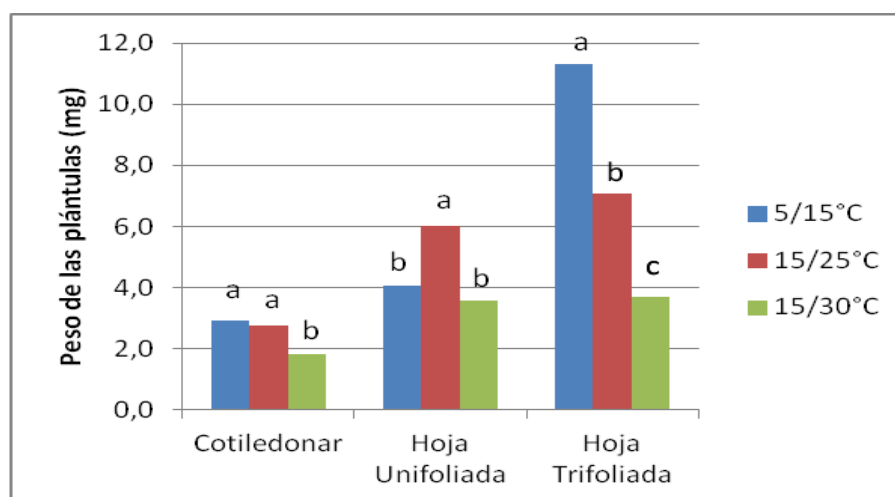
A continuación se analizará cada cultivar en forma independiente con el objeto de visualizar el comportamiento de las estructuras de la plántula durante el proceso de germinación y emergencia a diferentes temperaturas.

CV 1: PINTO (grupo de reposo invernal 6)

En la Figura 4, se puede observar que, el cultivar 1, en la etapa cotiledonar, no presenta diferencias estadísticamente significativas en el peso de las plántulas a una temperatura de 5/15°C y 15/25°C pero si se diferencian de 15/30°C que manifestó el menor valor en esta etapa. En la etapa de hoja unifoliada el mayor peso se observa a 15/25°C diferenciándose estadísticamente de 5/15°C y 15/30°C, entre estas dos temperaturas no hubo

diferencias estadísticas. En la última etapa analizada, hoja trifoliada, se observa que a 5/15°C se da el mayor valor de peso de las plántulas diferenciándose estadísticamente de 15/30°C, que manifestó el menor peso. La temperatura de 15/25°C se diferenció estadísticamente de 5/15°C y 15/30°C ya que presentó comportamiento intermedio.

En general se puede decir que a una temperatura de 15/25°C en hoja unifoliada presentó el mayor valor incrementándose notablemente con respecto al estadio anterior pero no mantuvo ese incremento en hoja trifoliada. Con una temperatura de 15/30°C tuvo valores bajos en todas las mediciones realizadas, prácticamente no hubo aumento de peso desde hoja unifoliada a hoja trifoliada. Mientras que a 5/15°C hubo un aumento de peso desde la etapa cotiledonar a hoja unifoliada que se mantuvo en hoja trifoliada llegando a duplicar el valor, siendo éste el mayor incremento en todas las etapas analizadas.



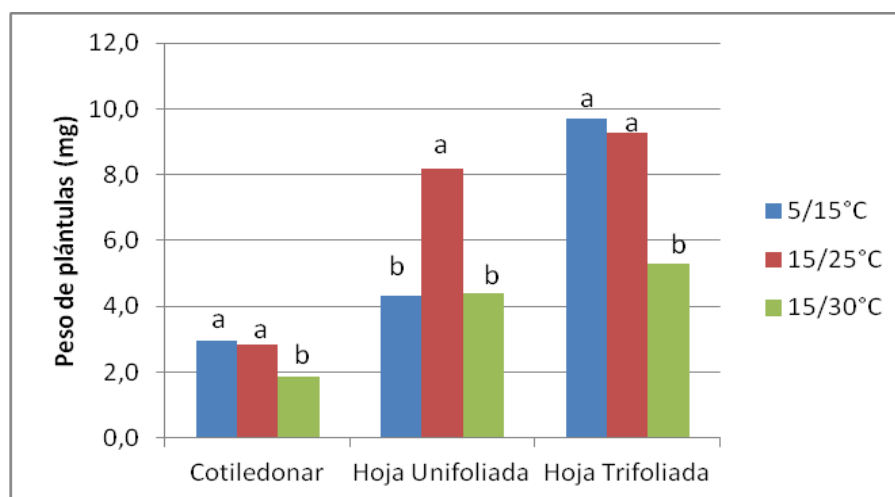
Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

Figura 4: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 1 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

CV 2: CW 830 (grupo de reposo invernal 8)

El CV 2 en la etapa cotiledonar presentó variaciones en el peso de las plántulas ya que a temperaturas de 5/15°C y 15/25°C se manifestaron los mayores valores, en hoja unifoliada hay un notable aumento de peso para una temperatura de 15/25°C triplicando el valor del estadio anterior y duplicando el valor comparado con las otras temperaturas, no difiriendo estadísticamente entre ambas. En la etapa de hoja trifoliada los mayores valores se dan a 5/15°C y 15/25°C difiriendo estadísticamente con la temperatura de 15/30°C que manifestó el menor valor (Figura 5).

En la figura 5 se puede observar que a 15/30°C se duplicó el valor en hoja unifoliada pero no mantuvo esa tendencia de incremento en hoja trifoliada manifestando en todas las etapas el menor peso de las plántulas. Para una temperatura de 15/25°C se puede observar un notable aumento de peso desde la etapa cotiledonar manteniéndose para la etapa de hoja trifoliada. A una temperatura de 5/15°C es notable el incremento de peso que se da desde hoja unifoliada a hoja trifoliada igualando los valores de la temperatura de 15/25°C.



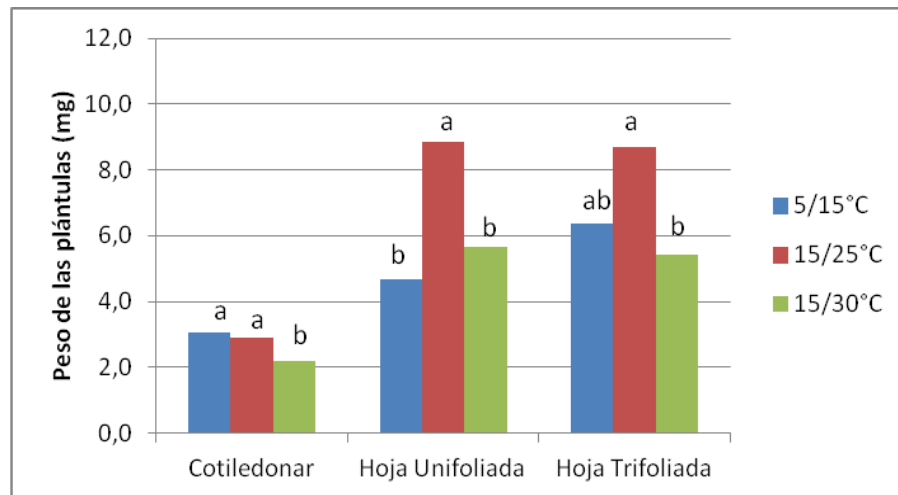
Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

Figura 5: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 2 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

CV 3: WL 1058 (grupo de reposo invernal 10)

El cultivar 3 (Figura 6) en la etapa cotiledonar tiene diferencias en el peso de las plántulas manifestando el menor peso para la temperatura de 5/15°C. A medida que avanzan los estadios, etapa de hoja unifoliada, los mayores cambios se dan a 15/25°C ya que se triplican los pesos, siendo éste, el mayor valor para esta etapa. En hoja trifoliada la temperatura de 5/15°C no difiere estadísticamente de las otras dos temperaturas pero si difieren entre éstas, ya que a 15/25°C se mantiene el mismo valor que en la etapa anterior y el menor peso se da a 15/30°C.

Para una temperatura de 5/15°C se mantiene una tendencia de aumento en las tres etapas. En cambio, en las otras dos temperaturas se incrementa el peso en hoja unifoliada manteniéndose en la última etapa analizada, diferenciándose entre éstas, ya que a 15/30°C se da el menor peso mientras que a 15/25°C el mayor.



Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p \leq 0,05$

Figura 6: Peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa del cultivar 3 en los tres estadios evaluados (cotiledonar, hoja unifoliada y hoja trifoliada) a tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C).

Como se ha mencionado en párrafos anteriores, las temperaturas óptimas para el desarrollo de las plántulas de alfalfa están en el intervalo de 20°C a 22°C, dependiendo del grupo de reposo del cultivar durante las primeras 4 semanas después de la germinación, la temperatura óptima del suelo para el crecimiento de raíces es ligeramente más alta, entre 21°C a 24°C. Cultivares inactivos generalmente tienen menores temperaturas óptimas durante esta fase de crecimiento inicial comparados con cultivares no dormantes (Teuber y Mueller, 2007).

En el Anexo 1 se presenta la síntesis de los datos analizados en las Figuras anteriores, expresando el peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa de tres cultivares en tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C) en estadio cotiledonar, hoja unifoliada y primer hoja trifoliada.

CONCLUSIONES

En germinación, emergencia de cotiledones e inicio del crecimiento de la alfalfa presenta un mejor comportamiento en el peso seco de las estructuras morfológicas en la temperatura óptima y temperatura inferiores a la óptima.

Temperaturas extremas afectarán el peso seco de las plántulas de alfalfa en los cultivares y en cada uno de los estadios evaluados. Sin embargo, las altas temperaturas determinaron los menores crecimientos.

El cultivar que representó al grupo de reposo invernal intermedio a largo (6) fue el que mejor respuesta presentó a bajas temperaturas.

Si las condiciones de siembra presentan temperaturas bajas se sugiere seleccionar cultivares con reposo invernal intermedio a largo. Las temperaturas altas que pueden estar asociadas a temperaturas de fines de verano ó principio de primavera, se recomienda considerar la evaluación de las temperaturas máximas en los estadios mencionados durante la implantación.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- BASIGALUP, D. H. 2007. *Panorama actual de la alfalfa en la Argentina*. En: El cultivo de la Alfalfa en la Argentina. Ed: Basigalup, D. Ediciones INTA EEA Manfredi. pp 20-25
- GRAGACHINI M, CATTANI P, E. RAMIREZ. 1995. Todo forraje: Manual de maquinaria para la producción de forrajes conservado de alta calidad. Proyecto PROPEFO, EEA Manfredi, INTA. 189 p.
- BOBADILLA, S. 2002. *Alfalfa: para lograr una buena implantación*. En: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_alfalfa/01-alfalfa_buena_implantacion.htm. Consultado: 05-02-2011.
- CRAUFURD P. Q, PRASAD P.V.V, KAKANI V. G, WHEELER T.R y S. N. NIGAM. 2003. Heat tolerance in ground nut. *Field Crop Res.* 1: 63-771.
- D'ATTELLIS R.A. 2005. *Alfalfa (Medicago sativa): Producción de semilla Tinogasta, Catamarca*. En: <http://www.produccioncatamarca.gov.ar/legislacion/sectores%20productivos/sector%20agricola/produccion%20de%20alfalfa.pdf>. Consultado: 21-12-2011
- ISTA. 2007. International rules for seed testing. *International Seed Testing Association*. Bassersdorf, Suiza.
- PASTURAS Y FORRAJES. 2011. *¿Qué significa grado de reposo invernal de la alfalfa?* En: <http://www.pasturasyforrajes.com/alfalfa/eleccion-de-la-variedad-de-alfalfa/grado-de-reposo-o-latencia>. Consultado: 03-02-2011
- PEARSON, C. J. and L.A. HUNT. 1972. *Effects of temperature on primary growth and regrowths of alfalfa*. Department of Crop Science, University of Guelph, Guelph, Ontario.
- PECE, M. A y C.A. CANGIANO. 2003. Tasa de acumulación de biomasa aérea en dos cultivares de alfalfa (*Medicago sativa L.*) en Balcarce. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol. 23 N° 1:33-43.
- RODRÍGUEZ, N. A. 2007. *Morfología de la alfalfa*. En: El cultivo de la Alfalfa en la Argentina. Ed: Basigalup, D. Ediciones INTA EEA Manfredi. pp 29-32
- ROSSANIGO, R., SPADA M. DEL C. y O. BRUNO. 1995. Evaluación de cultivares de alfalfa y panorama varietal en la Argentina. En: Hijano, E. y A. Navarro (Ed.). *La alfalfa en la Argentina*. INTA C. R. Cuyo, San Juan, Argentina. Cap. 4. p 63.
- TEUBER, L. R. and MUELLER S. C. 2007. *Alfalfa growth and development*. University of California. p 1-9

ANEXO

Anexo 1: Síntesis de los datos analizados en las Figuras, expresando el peso promedio (mg) de plántulas de alfalfa de tres cultivares en tres temperaturas (5/15, 15/25 y 15/30°C) en estadio cotiledonar, hoja unifoliada y primer hoja trifoliada.

Cultivar	T°	Cotiledonar	Hoja Unifoliada	Hoja Trifoliada
CV 1	5/15	2,90 a	4,05 ns	11,33 a
	15/25	2,77 a	6,01 ns	7,06 b
	15/30	1,82 b	3,58 ns	3,70 c
Promedio		2,50	4,55 B	7,36
CV 2	5/15	2,95 a	4,30 b	9,70 a
	15/25	2,85 a	8,18 a	9,26 a
	15/30	1,87 b	4,40 b	5,29 b
Promedio		2,56	5,63 AB	8,08
CV 3	5/15	3,07 a	4,65 b	6,38 ab
	15/25	2,88 a	8,86 a	8,71 a
	15/30	2,21 b	5,66 b	5,42 b
Promedio		2,72	6,39 A	6,83
Temperatura	5/15	2,98 A	4,33 B	9,13 A
	15/25	2,83 A	7,68 A	8,34 A
	15/30	1,97 B	4,55 B	4,80 B
Valores	CV.	Ns	*	ns
	T°	*	*	*
	T°x CV.	*	*	*
CV.		23,16	23,46	26,55

Imagen 1: *Spedling* en cámara de germinación (CV 1).

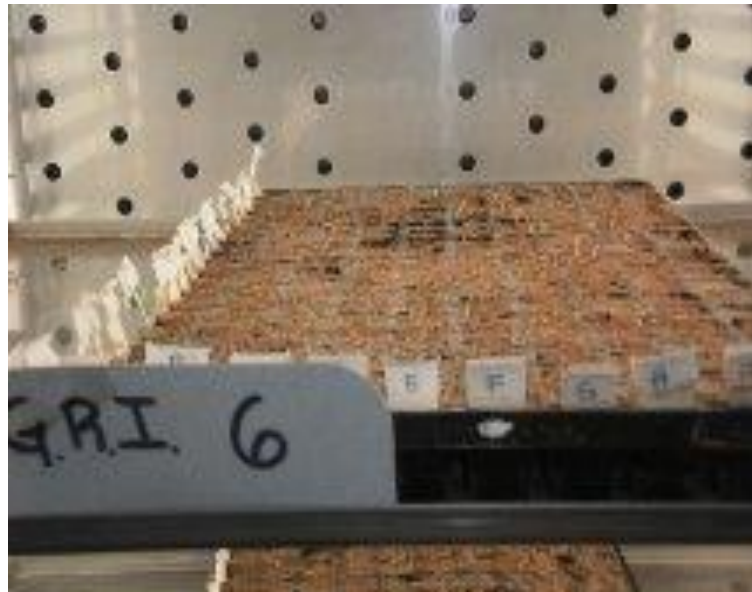


Imagen 2: *Spedling* en cámara de germinación (CV 2).



Imagen 3: *Spedling* en cámara de germinación (CV 3).

