

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

**RENOVACIÓN DE MEJORAMIENTOS DE CAMPO DE
LOTUS CORNICULATUS Y *TRIFOLIUM REPENS***

por

Silvana Noemí GONZÁLEZ PARODI
Marina Marisa MONTEAGUDO FEIPPE

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Producción Intensiva).

MONTEVIDEO
URUGUAY
2003

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. PhD. Walter Ayala

Ing. Agr. M Sc. Enrique Moliterno

Ing. Agr. Ramiro Zanoniani

Fecha:

Autores:

Silvana Noemí González Parodi

Marina Marisa Monteagudo Feippe

AGRADECIMIENTOS

A nuestro director Ing. Agr. Walter Ayala por su excelente dedicación didáctica y por su invaluable compañerismo confirmándonos que el balance entre la excelencia profesional y calidez personal es posible.

Agradecemos también al Ing. Agr Raúl Bermúdez por su valioso tiempo dedicado al participar en la corrección de nuestro trabajo en los diferentes borradores, por su generosidad y condición humana.

Al Ing. Agr Milton Carámbula quién con su conocimiento y rica experiencia en charlas que resultaron muy amenas nos aconsejó como futuros profesionales.

Sin lugar a dudas este trabajo no pudo haberse realizado sin la formación académica impartida por los docentes de la Facultad de Agronomía.

Por su participación en la evaluación de nuestra tesis, agradecemos la colaboración de los Ing. Agrónomos Enrique Moliterno y Ramiro Zanoniani.

Agradecemos a Marta Fernández y Gabriela Díaz por facilitarnos el material bibliográfico indispensable para la realización de dicho trabajo.

Un especial agradecimiento a nuestras familias por la paciencia y por alentarnos siempre y en todos los momentos.

A Pablo y Mario por su comprensión, amor e inmenso apoyo para que pudiéramos culminar nuestras carreras.

No olvidaremos el invaluable aporte de su amistad y colaboración en las tareas de campo y laboratorio de: Gerardo Ferreira, Nestor “Caco” Serrón y Jhon Jackson.

A Gloria, Belki, Olguita, Mabel, Antonio, Susana, Nancy y Doris, quienes hicieron que nos sintiéramos como “en casa”, logrando que nuestro tiempo en ese lugar, se incorporara a nuestras vidas como una experiencia inolvidable.

A Rafael, Bruno y Carlos agradecemos su excelente disposición, salvando así las dificultades del traslado diario al centro de investigación.

A Luis “Capo” Casales por su aporte jocoso y especial sentido del humor.

Extendemos nuevamente nuestro agradecimiento a todos los funcionarios de INIA Treinta y Tres que hacen al encanto de ese lugar,

“Porque hay lugares que quedan grabados para siempre en la memoria de los hombres”

TABLA DE CONTENIDO

	Página Nº
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS.....	VII
LISTA DE FIGURAS	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. FACTORES QUE AFECTAN LA PERSISTENCIA DE LAS LEGUMINOSAS	3
2.1.1. <u>Factores bióticos</u>	3
2.1.1.1. Invertebrados	3
2.1.1.2. Enfermedades	4
2.1.1.3. Competencia	4
2.1.1.4. Alelopatía	5
2.1.2. <u>Factores abióticos</u>	6
2.1.2.1. Limitaciones de nutrientes	6
2.1.2.2. Acidez del suelo	8
2.1.2.3. Agua.....	9
2.1.2.4. Temperatura.....	10
2.2. RECLUTAMIENTO	11
2.2.1. <u>Estrategias regenerativas en <i>T.repens</i> y <i>L. corniculatus</i></u>	12
2.2.1.1. Producción de semillas	13
2.2.2. <u>Banco de semillas</u>	16
2.2.2.1. Dinámica	17
2.2.2.2. Calidad de semillas	20
2.2.2.3. Germinación	20
2.2.2.4. Viabilidad.....	20
2.2.2.5. Vigor	21
2.2.2.6. Longevidad.....	25
2.2.2.7. Tipos de dormancia.....	25
2.2.2.8. Factores que determinan la ruptura de la dormancia.....	27
2.2.3. <u>Germinación y desarrollo de plántulas</u>	30
2.2.3.1. Germinación	30
2.2.3.2. Emergencia	31
2.2.3.3. Establecimiento	33
2.2.4. <u>Factores que limitan la sobrevivencia</u>	35

2.3. ALTERNATIVAS DE REJUVENECIMIENTO DE PASTURAS.....	38
2.3.1. <u>Métodos mecánicos</u>	38
2.3.2. <u>Pastoreo</u>	38
2.3.3. <u>Quema</u>	39
2.3.4. <u>Herbicidas</u>	40
2.4. COMENTARIOS GENERALES	42
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	43
3.1. UBICACIÓN	43
3.2. DESCRIPCIÓN DE SUELOS DE LA ZONA	43
3.3. DESCRIPCIÓN DEL MANEJO ANTERIOR	44
3.4. DESCRIPCIÓN DE LOS ENSAYOS	44
3.5. VARIABLES ESTUDIADAS.....	46
3.5.1. <u>Experimento 1</u>	46
3.5.1.1. Banco de semillas	46
3.5.1.1.1. Germinación de las semillas del banco	47
3.5.1.2. Vigor inicial.....	48
3.5.1.3 Producción de forraje	48
3.5.1.4. Determinación de sobrevivencia	48
3.5.2. <u>Experimento 2</u>	49
3.5.2.1. Producción de biomasa.....	49
3.5.2.2. Nodulación	49
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	49
3.6.1. <u>Diseño experimental</u>	50
4. <u>RESULTADOS</u>	51
4.1. PARÁMETROS CLIMÁTICOS.....	51
4.2. BANCO DE SEMILLAS	54
4.2.1. <u>Reservas en el suelo</u>	54
4.2.2. <u>Determinación de los porcentajes de germinación de las semillas</u> <u>presentes en el banco bajo diferentes pretratamientos</u>	57
4.3. VIGOR INICIAL	57
4.4. PRODUCCIÓN DE FORRAJE	58
4.4.1. <u>Producción de forraje al primer corte (30/9)</u>	58
4.4.2. <u>Producción de forraje al segundo corte (19/11)</u>	61
4.4.3. <u>Producción de forraje al tercer corte (14/3)</u>	64
4.4.4. <u>Producción anual</u>	67
4.5. SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS	70
4.6.EFECTO DEL AGREGADO DE UNA SOLUCIÓN CON INOCULANTE	73
5. <u>DISCUSIÓN</u>	74
5.1. Tamaño y evolución del banco de semillas	74
5.2. Factores que limitan la expresión del banco de semillas.....	74
5.3. Efecto de los métodos de rejuvenecimiento estudiados.....	76
5.4. Efectos en la producción de forraje	78

6. <u>CONCLUSIONES</u>	81
7. <u>IMPLICANCIAS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES</u>	84
8. <u>RESUMEN</u>	85
9. <u>SUMMARY</u>	86
10. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	87

LISTA DE CUADROS

Cuadro Nº	Página Nº
1. Análisis de suelo (pH, carbono org (C.org) fósforo (P) y potasio (K)) a dos profundidades de un Argisol de la Unidad Alférez.....	44
2. Esquema de los diferentes manejos previos y tratamientos aplicados	45
3. Banco de semillas del suelo (expresado en nºsemillas/m ²) y peso de mil semillas (g) de trébol blanco y lotus en un mejoramiento de campo bajo diferentes estrategias de defoliación en su sexto año (año 2002)	57
4. Porcentaje de germinación de semillas de trébol blanco y lotus bajo diferentes pretratamientos.....	57
5. Parámetros de desarrollo de plántulas de trébol blanco y lotus (altura, largo de raíz, peso seco aéreo, peso seco raíces y nº de hojas verdaderas), determinados a los 50 días de la siembra bajo dos manejos de acondicionamiento de tapiz previo a la siembra.....	58
6. Producción al primer corte (MS, kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos ..	59
7. Producción al primer corte (MS, kg/ha) del total de materia seca y de trébol blanco para la interacción estrategia de defoliación previa*métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.....	60
8. Producción de materia seca de lotus al primer corte (kg/ha) para la interacción estrategia de defoliación previa*intensidad de defoliación*agregado de semilla	60
9. Producción de materia seca al primer corte (kg/ha) de raigrás, otras gramíneas anuales, gramíneas perennes y malezas, para dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.....	61

10. Producción al segundo corte (MS, kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos..**62**
11. Producción de materia seca al segundo corte (kg/ha) de raigrás, para dos estrategias de defoliación previa y dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra**63**
12. Producción al tercer corte (MS, kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos..**65**
13. Producción total de materia seca al tercer corte (kg/ha) para dos estrategias de defoliación previas y dos acondicionamientos del tapiz a la siembra.....**65**
14. Producción de materia seca al tercer corte (kg/ha) de gramíneas perennes para dos estrategias e intensidades de defoliación previa, y dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.....**66**
15. Producción de materia seca de malezas al tercer corte (kg/ha) para el efecto de dos acondicionamientos del tapiz a la siembra y la interacción estrategia de defoliación*agregado o no de semilla.....**67**
16. Producción total anual de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos.....**68**
17. Producción total acumulada de materia seca de gramíneas perennes (kg/ha) para dos estrategias e intensidades de defoliación y dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.....**69**
18. Supervivencia de plántulas de lotus y trébol blanco para cuatro fechas de emergencia de plántulas, al 30 de setiembre y 11 de diciembre.....**70**
19. Efecto del acondicionamiento previo del tapiz en la supervivencia de plántulas de lotus y trébol blanco, al 3 de febrero.....**71**
20. Efecto del agregado de una solución con inoculante en muestras de suelo en el que se sembraba semillas de trébol blanco y lotus en el peso seco de parte aérea y raíces (g/maceta) a los 60 días de la emergencia.....**73**

LISTA DE FIGURAS

Figura N°	Página N°
1. Diagrama sobre las fases de establecimiento y mantenimiento de una pastura (adaptado de Carámbula y Ayala, 1995).....	13
2. Dinámica de la población de semillas en el suelo según Harper (1977) citado por Carámbula (1997).....	17
3. Gráfica de ciclo de vida para semillas (S) e individuos adultos (A) con distintas edades (n=1, 2, 3, 4...n) y sus interrelaciones considerando una escala de tiempo de un año para transformaciones (adaptado de Kalisz y McPeck, 1993)	18
4. Metodología de laboratorio para la cuantificación del banco de semillas en el suelo (extractado de Ayala, 2001)	47
5. Temperatura media (A), máxima (B) y mínima del aire (C) (promedio mensual) para el año del experimento y para la serie 1992-2002	52
6. Número de días con ocurrencia de heladas para el año del experimento (2002) y para la serie 1992-2002.....	53
7. Precipitaciones mensuales registradas en el año del experimento (2002-2003) y promedio de la serie 1992-2002.....	53
8. Evolución del banco de semillas de lotus (n°/m^2) en un mejoramiento de trébol blanco-lotus sembrado en el año 1996, para diferentes estrategias e intensidades de defoliación	55
9. Evolución del banco de semillas de trébol blanco (n°/m^2) en un mejoramiento de trébol blanco-lotus sembrado en el año 1996, para diferentes estrategias e intensidades de defoliación	55
10. Producción de MS de las gramíneas perennes como resultado de A) intensidad de defoliación y agregado o no de semilla; y B) intensidad de defoliación y acondicionamiento del tapiz	63
11. Porcentaje de sobrevivencia de lotus y trébol blanco para la interacción fecha de germinación*especie, al 3 de febrero	71
12. Patrones de sobrevivencia de plántulas de lotus entre mayo de 2002 y febrero 2003	72

13. Patrones de sobrevivencia de plántulas de trébol blanco entre mayo de 2002 y febrero 200372

1. INTRODUCCIÓN

Lotus corniculatus y *Trifolium repens* son dos de las leguminosas perennes más utilizadas en mejoramientos de campo. No obstante la vida productiva de estos mejoramientos muestra ciertas limitaciones que motivan su estudio.

Generalmente ocurren picos máximos de producción de forraje en el segundo año al que le sigue un período de rendimientos decrecientes, estando este descenso asociado a la pérdida gradual de las leguminosas.

El lotus es una de las leguminosas forrajeras usadas en el Uruguay como cultivo puro o en mezcla por sus características de adaptabilidad, persistencia, buen valor nutritivo y ausencia de meteorismo. En esta región, donde las temperaturas estivales son elevadas, el lotus sufre una mortalidad considerable debido a enfermedades de la corona y raíz causadas por hongos, determinando que se comporte como una especie perenne de vida corta.

La inclusión de trébol blanco en este tipo de pasturas es debida principalmente al aporte de nitrógeno que realiza al sistema por medio de la fijación biológica. En segundo término es posible considerar la calidad de la misma y el mayor consumo que genera en la alimentación animal. El trébol blanco en Uruguay tiene una estacionalidad marcada ubicándose su máxima producción en primavera y logrando valores interesantes en cuanto a calidad y cantidad en invierno, momento en que las pasturas naturales reducen marcadamente su crecimiento.

Sin embargo, a pesar del reconocimiento de los beneficios por el uso del trébol blanco, existe cierta resistencia a utilizarlo por parte de productores debido a problemas tales como rendimiento inestable, falta de persistencia bajo el pastoreo intensivo y problemas de meteorismo.

Su principal limitante es la falta de persistencia productiva, siendo ésta en promedio de tres años. La determinante de esta baja persistencia es la alta tasa de muerte de estolones durante el período estival, asociada al déficit hídrico y a las elevadas temperaturas características de esta estación.

La importancia de algunos factores como producción de semillas, evolución del banco de semillas y la dinámica del reclutamiento son determinantes para lograr pasturas persistentes. Respecto a esto último y teniendo en cuenta que la producción de forraje de una pastura no puede ser mantenida a niveles altos por tiempo indefinido, es posible aplicar diversas estrategias de rejuvenecimiento que permitan recuperar las cantidades de leguminosas en los mejoramientos y extender la vida productiva de los mismos.

En este sentido, se plantea como objetivo estudiar diferentes métodos que causen disturbios a nivel del suelo reduciendo la competencia de la pastura establecida promoviendo la activación del banco de semillas del suelo posibilitando el rejuvenecimiento de la pastura. Entre ellos se destacan la aplicación de herbicida y el arase. Asimismo se incluye el agregado adicional de semillas de leguminosas al momento de realizar la refertilización anual a los efectos de acelerar el proceso de rejuvenecimiento.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 FACTORES QUE AFECTAN LA PERSISTENCIA DE LAS LEGUMINOSAS

2.1.1 Factores bióticos

En contraste con los factores abióticos, los efectos de agentes bióticos en la persistencia de las leguminosas dependen directamente de la interacción con la pastura e indirectamente con otros organismos en la comunidad de la pastura (Pottinger et al., 1993).

2.1.1.1 Invertebrados

El daño causado por insectos y ácaros está implicado en la reducción de la persistencia de leguminosas en pasturas de regiones templadas (Watson et al., 1985 citados por Bologna, 1996).

Los principales daños que causan en la pastura son: reducción del número de individuos, consumo de hojas, reducción de la tasa de asimilación, anticipo de la senescencia y reducción de la radiación interceptada entre otros. En pasturas establecidas los principales daños producidos por insectos son: reducción del vigor, tasas limitadas de rebrote y cambios en la partición de asimilados que incrementa la susceptibilidad de la planta a otras causas de muerte, así como reducción en el número de estolones (ej. *Trifolium repens*). Elevadas pérdidas de plantas pueden ocurrir cuando altas densidades de insectos y el estadio de cotiledón coinciden. La regeneración de la pastura también puede afectarse cuando el ataque por insectos reduce el banco de semillas a un nivel en el que la resiembra natural se compromete (Pottinger et al., 1993).

2.1.1.2 Enfermedades

Las enfermedades infecciosas son la causa de mayor pérdida de leguminosas perennes forrajeras. La planta debilitada por enfermedades probablemente es más susceptible frente a factores de estrés.

En situaciones donde se compromete la producción y reserva de semillas en el suelo puede haber un cambio firme en la composición botánica con un descenso en la cantidad de leguminosas, que llevan en el futuro al deterioro de la pastura que necesitará ser resembrada.

Las enfermedades pueden reducir la efectividad de nodulación, produciendo plántulas de pobre vigor afectando su habilidad competitiva (Gillespie, 1983 citado por Bologna, 1996).

El complejo de enfermedades de la corona y sistema radicular es reportado como un factor responsable de la reducción de la población de *Lotus corniculatus* (Seaney y Henson, 1970, Beuselinck et al., 1984 citados por Ayala, 1997) especialmente en condiciones cálidas y húmedas.

Las enfermedades que afectan a la pastura establecida se pueden clasificar en enfermedades foliares y enfermedades de raíz, estolón y corona, las primeras afectan la productividad de la pastura. Las segundas llevan a la muerte de plántulas afectando la absorción de agua y nutrientes, acumulación de reservas y fijación de nitrógeno (Altier, 1990).

Otra posible causa de muerte de plántulas particularmente en suelos pobres en nutrientes es el fracaso para formar micorrizas. Deficiencias en nutrientes del suelo, drenaje pobre, pH bajo, condiciones climáticas adversas en invierno, daños de insectos y defoliación intensa, son los factores de mayor estrés que contribuyen a incrementar la susceptibilidad de aquellas leguminosas formadoras de corona. Por consiguiente el control de malezas, fertilización, control de insectos y manejo correcto de pastoreo son los componentes más importantes de una estrategia general que apunte a reducir el impacto de las enfermedades (Bologna, 1996).

2.1.1.3 Competencia

Golberg (1990), distinguió entre efecto competitivo (la habilidad de suprimir niveles del recurso para otras plantas) y la respuesta competitiva (la habilidad de tolerar la supresión a bajos niveles del recurso). Se consideran como buenas competidoras aquellas especies que tienen el atributo de aumentar al máximo la

utilización del recurso, es decir aquellas plantas que rebrotan rápidamente luego de la defoliación (Rodees y Stern, 1978 citados por Bologna, 1996). Las especies tolerantes a bajos niveles del recurso son consideradas como estrés-tolerantes, ubicándose las leguminosas en un nivel intermedio entre ambas (Grime, 1979).

Cuando el uso de recursos por la población dominante es elevado como para afectar la sobrevivencia de la planta individual, la exclusión competitiva puede ocurrir y puede causar la pérdida de las especies menos competitivas (McIvor, 1993 citado por Bologna, 1996).

Aunque la competencia raramente causa muerte directa de individuos, generalmente interactúa con otros tipos de estrés para afectar la demografía de las poblaciones involucradas. Consecuentemente los efectos más claros de competencia son un cambio en la dinámica de los puntos de crecimiento y demografía de módulos de crecimiento que, a su vez, se expresa rápidamente como modificaciones en los rendimientos relativos de los componentes de la mezcla de la pastura (Fisher y Thornton, 1989).

2.1.1.4 Alelopatía

Se define como la “reducción en el crecimiento de una especie dada, causada por efectos perjudiciales de exudado de sustancias por otras especies”.

Evidencias sugieren que el trébol blanco produce aleloquímicos que causan depresión en la germinación y crecimiento de plántulas de muchas gramíneas y leguminosas (Scott et al., 1989).

La infección endofítica en raigrás perenne reduce significativamente el desarrollo de raíces en un rango de leguminosas (Cunningham et al., 1993). En Nueva Zelanda, Sutherland y Høglund (1990) reportan que el contenido de *Acremonium lolii* en raigrás reduce la densidad de trébol blanco, el efecto es una reducción en el número de plantas y en la sobrevivencia de plántulas así como reducido vigor en aquellas que sobreviven. Este efecto podría causar importantes pérdidas en áreas con abundantes lluvias (Bacon, 1993).

El moho de corona (*Puccinia coronata* Corda f.sp.*lolii* Brown) es el más serio patógeno del raigrás en áreas de grandes lluvias del sureste de Australia, suprimiendo el rendimiento de plantas vecinas de trébol blanco en 47 % comparado con el crecimiento con raigrás no infectado (Mattner, 1998 citado por Mattner y Parbery, 2001). El efecto alelopático de raigrás perenne es bien documentado especialmente contra tréboles (Gussin y Lynch, 1981, Takahashi et al., 1988, 1991, 1993, Quigley et al., 1990, Chung y Miller, 1995 citados por Mattner y Parbery, 2001).

El patógeno estimula la producción de fitoalexinas (componente antimicrobial) en su huésped (Smith, 1996 citado por Mattner y Parbery, 2001). Los isoflavonoides son importantes fitoalexinas (Dakora y Phillips, 1996 citados por Mattner y Parbery, 2001) y aleloquímicos (Tamura et al., 1967, 1969 citados por Mattner y Parbery, 2001) para las leguminosas. Muchos de ellos actúan inhibiendo la germinación (Chang et al., 1969 citados por Mattner y Parbery, 2001), el crecimiento (Galzener y Etten, 1978 citados por Mattner y Parbery, 2001) y la función del metabolismo celular (Ginnini et al., 1990 y Spessard et al., 1994 citados por Mattner y Parbery, 2001).

Existen evidencias de que *Chenopodium album* y *Avena fatua*, tienen efecto alelopático sobre *Lotus corniculatus*, inhibiendo la germinación 94 y 98% respectivamente (Muminovic, 1990).

2.1.2 Factores abióticos

Los principales factores abióticos que causan estrés son humedad, fertilidad del suelo, temperatura, condiciones físicas del suelo y luz. Estos factores causantes de estrés son variables en grado y ocurrencia y gobiernan principalmente la persistencia de la pastura.

2.1.2.1 Limitaciones de nutrientes

La contribución potencial de leguminosas forrajeras en un sistema pastoril está a menudo reprimida por limitaciones edáficas y de nutrientes. Las leguminosas tienen menos extendido el sistema radicular que las gramíneas lo que las pone en desventaja a la hora de competir por nutrientes que se concentran en el perfil superior del suelo. Como resultado, las leguminosas requieren mayor concentración en el suelo de nutrientes no-móviles (Bologna, 1996).

Si no se reúnen los requisitos de nutrientes para el establecimiento de la leguminosa, el establecimiento falla y en algunos ambientes donde no hay reservas de semilla residente de las especies introducidas, este fracaso puede reducir la productividad potencial de la población de la leguminosa. Nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), potasio (K) y molibdeno (Mo) parecen ser de importancia particular (Richardson y Sanders, 1985, citados por Bologna, 1996).

La fijación de N y el crecimiento del trébol son estimulados por el crecimiento temprano de gramíneas que reducen la concentración de N en el suelo, pero una vez que el N en el suelo se incrementa, la actividad de fijación de N (*Rhizobium*) puede

retardarse debido al incremento en la concentración de este nutriente. Una concentración de N alta, a su vez, estimula el crecimiento de la gramínea y el ciclo se repite (Schwinning y Parsons, 1996 citados por Bologna, 1996). Este proceso permite la autorregulación de la cantidad de N mineral en la suelo por pasturas mezclas de gramínea-trébol y minimizan las pérdidas de N del sistema (Chapman et al., 1996, citados por Bologna, 1996). Por consiguiente la disponibilidad de N en un sistema pastoril es afectado y a su vez afecta, la relación competitiva entre la leguminosa y los restantes componentes de la pastura (Turkington y Harper, 1979).

Sin embargo, a través de las entradas de nutrientes (particularmente P y S) y manejo del pastoreo, la pastura puede mantenerse con suficientes leguminosas para proporcionar N y con una apropiada proporción de gramíneas para la alta producción (Hoglund y Brock, 1982 citados por Bologna, 1996).

La corrección de deficiencias de P a través de la aplicación de fertilizantes fosfatados es esencial para mejorar el establecimiento de la leguminosa y estimular su crecimiento y fijación de N (Bologna, 1996). Las raíces de gramíneas y leguminosas compiten directamente por los iones de fosfato (Jackman y Mouat, 1972 citados por Bologna 1996). Investigaciones en Nueva Zelanda indican que los requerimientos de P son más altos para la fijación de N que para crecimiento de la leguminosa (Hart et al., 1984 citados por Bologna, 1996). Por consiguiente las deficiencias de P pueden inducir una reducción en la sobrevivencia de la leguminosa y exclusión de la población por pastos o malezas, causadas por un incremento en la competencia por N.

Caradus (1987) citado por Carámbula (1996) también hace alusión al efecto benéfico de la fertilización fosfatada en el establecimiento de las leguminosas. Sin embargo parece bien claro que existen diferencias importantes entre especies. Así, el género *Lotus* muestra una gran eficiencia en la utilización de este nutriente aún a bajas concentraciones, el trébol requiere una disponibilidad más alta. El mismo autor sostiene que si bien las especies de lotus son menos exigentes en fósforo, su desarrollo radicular se vería de todas maneras acelerado por cantidades adecuadas de este nutriente, lo cual permitiría a sus plantas sobrellevar su lento crecimiento.

En este sentido para lotus "San Gabriel", si bien se han observado respuestas interesantes aún a 120 unidades de P_2O_5 , es posible trabajar con niveles más conservadores logrando un buen establecimiento y persistencia (Risso y Beretta, 1995, citados por Cianciarullo, 2000)

Bailey y Laidlaw (1999) mencionan los efectos adversos de deficiencia de P en plantas jóvenes de trébol blanco, repercutiendo, inmediatamente en una disminución grande de los estolones, pero sólo cuando la deficiencia se torna aguda ocasiona descensos similares en las dimensiones de hojas y pecíolos. Esto permite al trébol blanco mantenerse en la canopia y podría ser una adaptación ecológica para aumentar al máximo sus oportunidades de supervivencia en pasturas mixtas. Concluyen que la supervivencia de trébol blanco al establecimiento es extremadamente dependiente del suministro de P y es este uno de los beneficios principales de encalar por mejorar la disponibilidad del mismo.

La corrección de deficiencias de K favorece la persistencia de la leguminosa y aumenta la proporción de leguminosas en la canopia. Este nutriente mejora la resistencia general a los estrés medioambientales e incide en la habilidad de la corona de producir nuevos rebrotes (Beuselinck et al., 1984).

La deficiencia de K es más limitante en fases más tardías de crecimiento. Existen evidencias que plantas padeciendo deficiencias agudas de K, particionan preferentemente recursos a órganos asociados con crecimiento exploratorio, es decir a estolones. Esta puede ser una adaptación que permite a las plantas K-deficientes aprovecharse de suministros de nutrientes en localidades adyacentes. Se sugiere que se limita la persistencia de trébol blanco probablemente más a través de deficiencias de K que por baja o inadecuada proporción de P (Muralla y Laidlaw, 1999).

Una limitación en planta de S disponible reduce la fijación de N directamente a través del daño en la producción de la enzima nitrogenasa, e indirectamente por dominación de otros pastos (Hochman y Helyar, 1989, citados por Bologna, 1996).

Molibdeno (Mo) es un componente esencial de la nitrogenasa y enzimas de nitrato reductasas involucradas estas en la fijación de N y metabolismo de N, respectivamente. Se requieren sólo cantidades trazas para el crecimiento y sobrevivencia de la planta, pero las leguminosas son particularmente sensibles a la deficiencia de Mo; desconociéndose hasta que punto, este nutriente limita la sobrevivencia de la planta en pasturas templadas (Richards y Sanders, 1985, citados por Bologna, 1996).

2.1.2.2 Acidez del suelo.

Un pH del suelo 6.0 a 7.5 es óptimo para el crecimiento y persistencia de la mayoría de las leguminosas, aunque algunas especies toleran pH más bajos (Bologna, 1996).

Existe variación genética en la tolerancia a condiciones ácidas, ésta se ha identificado en alfalfa (Bouton y Sumner, 1983 citados por Bologna, 1996) y trébol blanco (Caradus, 1987).

La disminución de la persistencia de la leguminosa en suelos con pH bajo está asociada con la reducida sobrevivencia y crecimiento del rizobio (Bologna, 1996).

El efecto de la acidez del suelo en la disponibilidad de nutrientes esenciales, aluminio y toxicidad del manganeso son los factores más perjudiciales en la planta (Hochman y Helyar, 1989 citados por Bologna, 1996).

Las deficiencias de calcio, magnesio y molibdeno en suelos ácidos pueden restringir la sobrevivencia del rizobio y pueden afectar la nodulación de la leguminosa y su persistencia. El desarrollo de un sistema de producción que involucre cal complementaria, fertilizante, especies ácido-tolerantes y prácticas de manejo de pastoreo adecuadas probablemente son la mejor alternativa para aumentar la persistencia de la leguminosa y su productividad en suelos ácidos (Helyar, 1985 citado por Bologna, 1996)

2.1.2.3 Agua

Excesos de agua en suelos pobremente drenados, particularmente en primavera, y falta de agua en el verano son una limitante importante para la persistencia de la leguminosa en la pastura en muchas áreas templadas (Richardson y Syers, 1985 citados por Bologna, 1996).

La deficiencia de oxígeno, causado por el exceso de agua en el suelo deprime la fijación de N atmosférico (Buxton, 1989, citado por Bologna, 1996). El suelo anegado causa condiciones anaeróbicas en la zona de la raíz que produce deterioro del sistema radicular, reduciendo el crecimiento debido al desarrollo de enfermedades fúngicas, particularmente dampinf off (*Phythium.spp*) y putrefacción de la raíz (*Phytophthora.spp*). El anegamiento puede llevar a un suministro insuficiente de nutrientes o a un exceso de toxinas originadas en el suelo en condiciones de anaerobiosis o en las raíces de los tallos (Bologna, 1966).

La respuesta de la leguminosa no sólo es dependiente del grado de deficiencia de agua si no también de la severidad final, duración y momento durante el ciclo de vida de ocurrencia del mismo. Por consiguiente las estrategias de tolerancia al estrés puede predominar en ciertos momentos, mientras en otros los mecanismos como el ajuste osmótico, ajuste del estoma y reducción de la superficie de evaporación (Bologna, 1996).

Hay poca evidencia de tolerancia directa a la sequedad en leguminosas forrajeras. *Lotus corniculatus* posee un sistema radicular profundo pudiendo minimizar los efectos de la sequedad extrayendo agua de la profundidad en el perfil del suelo. Mientras el trébol blanco depende de un sistema radicular fibroso, siendo sumamente susceptible a la deficiencia de agua durante el verano. La combinación de altas temperatura y déficit de agua normalmente da como resultado pérdidas significativas de puntos de crecimiento (Sheath y Hay, 1989).

La tasa de crecimiento decrece linealmente con la reducción de agua por debajo de la capacidad de campo y en la mayoría de las especies el nivel crítico para el crecimiento foliar está alrededor de -1.2 Mpa (Tornero y Begg, 1978, citados por Bologna). El déficit de agua durante el desarrollo temprano reduce el número de brotes

basales, tallos por planta y diámetro del tallo así como el tamaño de la hoja (Hsiao y Acevedo, 1974 citados por Bologna, 1996). Si el estrés es severo como para producir desecamiento, las plantas individuales se mueren rápidamente y causan pérdidas significativas (Schulze, 1988, citado por Bologna, 1996). Frente a un estrés hídrico la planta deprime la fijación de N, reduce la actividad de nódulos existentes y la nodulación (Buxton, 1989, citado por Bologna, 1996).

La compactación del suelo causada por pisoteo de animales a menudo resulta en pérdidas de plantas debido al escurrimiento pobre de agua, intercambio reducido de gases entre la atmósfera y el suelo y el crecimiento limitado de la raíz (Hochman y Helyar, 1989, citados por Bologna, 1996)

2.1.2.4 Temperatura

La temperatura y la lluvia son los factores climáticos que más afectan la distribución y persistencia de la leguminosa (Lancashire, 1984, Garduña, 1985 y Sheath, 1985 citados por Bologna, 1996).

La mayoría de las leguminosas forrajeras germinan en una amplia gama de temperaturas (5-25 °C) pero la temperatura de germinación óptima varía entre las especies (Torneró, 1977, Hampton et al., 1987, Hill y Luck, 1991, Townsend y McGinies, 1972 citados por Bologna, 1996). Los rebrotes de especies templadas crecerán a temperaturas sobre el suelo de entre 5 y 35 °C, con un óptimo de 20-25 °C (Mc Williams, 1978).

La severidad del estrés depende de la magnitud de desviación de la temperatura del rango óptimo, longitud de las desviaciones, de la madurez y estado fisiológico de las plantas (Buxton, 1989 citado por Bologna). La temperatura en la zona de la raíz tiene una gran influencia en la habilidad de la leguminosa forrajera al establecimiento, persistencia y en la fijación de N en sistemas pastoriles. El porcentaje y la tasa de germinación de las semillas de leguminosas se incrementa con un aumento en la temperatura del suelo por encima de 20 °C. Con temperaturas del suelo crecientes sobre 20 °C, la germinación se ve afectada debido a los factores relacionados, como reducida humedad del suelo (McWilliams et al., 1970, Torneró, 1977 citados por Bologna).

La efectividad de infección con rizobio y la nodulación, aumenta con temperaturas del suelo entre 10 y 30 °C. La temperatura de suelo mínima requerida para la infección es mayor que la requerida para el desarrollo del nódulo y fijación de N (Hoglund, 1979 citado por Bologna, 1996). La senescencia del nódulo y las marcadas reducciones en la tasa de fijación de nitrógeno también son asociadas con temperaturas del suelo elevadas. Algunas especies como *Lotus corniculatus* parecen ser muy sensible a la temperatura del suelo (Bologna, 1996).

2.2. RECLUTAMIENTO

El proceso de reclutamiento de nuevos individuos en una pastura presenta una baja eficiencia, siendo afectado por condiciones climáticas, predadores y procesos de competencia de la vegetación residente, por lo que contar con un abundante banco de semillas se traduce en un mayor número de nuevas plántulas establecidas (Ayala, 2001).

Bajo condiciones de campo pueden verse dos mecanismos como posibles caminos de nuevo reclutamiento de plantas: propagación vegetativa y reproductivo (Olmos, 2000).

Según Carámbula (1997) la persistencia se podrá lograr por el reclutamiento de nuevas plantas más que por la longevidad de cada una, ya que como indica García (1992) citado por Carámbula (1997), por lo general las plantas originalmente sembradas de leguminosas tienden a morir luego de dos o tres años de implantadas.

Para incrementar el reclutamiento de plántulas, particularmente en pasturas establecidas es necesario promover adecuadas resiembras, disminuir la competencia en dichas pasturas, aumentar la irradiancia y el aprovechamiento de huecos o “nichos”. Los principales factores que afectan negativamente los procesos involucrados entre la primavera (floración) y el final del establecimiento de plántulas son: contenido de semilla en el suelo previo al período de floración, prácticas de manejo durante la primavera, condiciones ambientales adversas, períodos secos reduciendo la calidad y número de semillas (Olmos, 2000).

Los veranos lluviosos con períodos posteriores secos reducen el establecimiento temprano de plántulas (originados de la fracción de semillas fácilmente germinable del banco). Por otra parte, veranos no favorables u otoños tempranos con extremos de temperatura en el suelo, promueven infestación por *Cynodon dactylon* lo cual reduce casi completamente el reclutamiento de plántulas y la disponibilidad local de rizobios específicos, mientras que condiciones de relativa humedad favorecen el establecimiento de plantas, probablemente unido a pastoreos y fertilizaciones fosfatadas apropiadas (Olmos, 2000). Cuando ocurren condiciones secas y cálidas en el verano se acelera la tasa de activación del banco de semillas, favoreciendo el reclutamiento (Ayala, 2002).

Para aquellos años donde el stand debe ser mejorado, los cierres de otoño deberían ser evitados permitiendo el establecimiento de nuevas plántulas. La pastura residente afecta el reclutamiento a través de la amortiguación de cambios de temperatura, luz, humedad y radiación a nivel de suelo. Al mismo tiempo, la pastura constituye una barrera en el camino de las nuevas plántulas en la búsqueda de espacios para establecerse y la necesidad de competir por luz, agua y nutrientes. Cuando la frecuencia de las plantas de interés es baja, pero existe adecuada cantidad

de semillas en el suelo, disturbios intensos deben ser considerados (herbicidas, disturbios del suelo) para acelerar el reclutamiento de plántulas (Ayala, 2002).

Basado en el contenido de P del suelo y la producción de semilla (fecundidad), Olmos (1996) mostró la posibilidad de predecir el reclutamiento de nuevas plantas en *Lotus corniculatus*, y consecuentemente de mantener la densidad de la población a mayores niveles y mas estables.

2.2.1 Estrategias regenerativas en *T .repens* y *L .corniculatus*

El crecimiento del trébol blanco comienza por el desarrollo de la corona, de una raíz pivotante y hasta diez estolones primarios. Los sistemas radiculares y coronas de plantas del trébol blanco establecidas de semilla viven solamente 18 a 24 meses, pero durante ese tiempo una red de estolones se desarrolla y estas unidades se convierten en raíces y nodos (Frame y Newbould, 1986 citados por Bologna, 1996). Sólo 10-20% de los nodos de estolones del trébol sobreviven por más de un año (Chapman, 1983 citado por Bologna, 1996). Posteriormente los nudos de estos estolones desarrollan nuevas raíces adventicias, hojas y una yema axilar (Chow, 1967 citado por Muslera, 1984). Mientras la planta se encuentra en una etapa vegetativa, dicha yema axilar puede dar origen a nuevos estolones o permanecer dormida. La aparición de estolones secundarios ocasiona cierta debilidad de los primarios, por emigración de las sustancias de reserva hacia dichos estolones hijos, hasta el punto de que, finalmente los primarios mueren y el sistema secundario se independiza. Este comportamiento facilita la sobrevivencia de las plantas por multiplicación vegetativa al asegurar el desarrollo y crecimiento sucesivo de nuevos estolones (Muslera, 1984).

De esta manera la persistencia del trébol blanco esta asegurada por el proceso de formación y enraizamiento de estolones y además incluso en pasturas muy pastoreadas una cierta proporción de las inflorescencias produce semillas, de las cuales casi el 80% son duras y permanecen en el suelo como reserva para situaciones de sequía o sobrepastoreo en las que pueden germinar y llegar a sustituir a las plantas perdidas (Smetham, 1973, citado por Muslera, 1984).

Aunque el mantenimiento de poblaciones de trébol blanco dentro de las pasturas que no sufren disturbios es logrado por reproducción vegetativa de unidades de crecimiento, donde ocurren perturbaciones locales, un banco de semillas persistente puede desarrollarse y el reclutamiento eventual de plántulas contribuir a regenerar la población. Sin embargo, en la mayoría de las áreas templadas, el trébol blanco muestra pobre adaptación, con hábito de vida anual, debido a que el reestablecimiento inestable y lento lo hace susceptible a la competencia, sequía o sobrepastoreo (Arquero y Robinson, 1989 citados por Arana y Piñeiro, 1999).

La persistencia del lotus esta principalmente basada en la sobrevivencia de plantas adultas, pero la falta de resistencia a las enfermedades de raíz limita la persistencia individual de la planta (Ayala, 1997).

2.2.1.1 Producción de semillas

En pasturas establecidas es posible identificar dos principales fases en la vida de la pastura (Figura 1): a) establecimiento y b) mantenimiento (largo plazo), adquiriendo la resiembra y el reclutamiento importancia durante esta fase (Carámbula y Ayala, 1995).

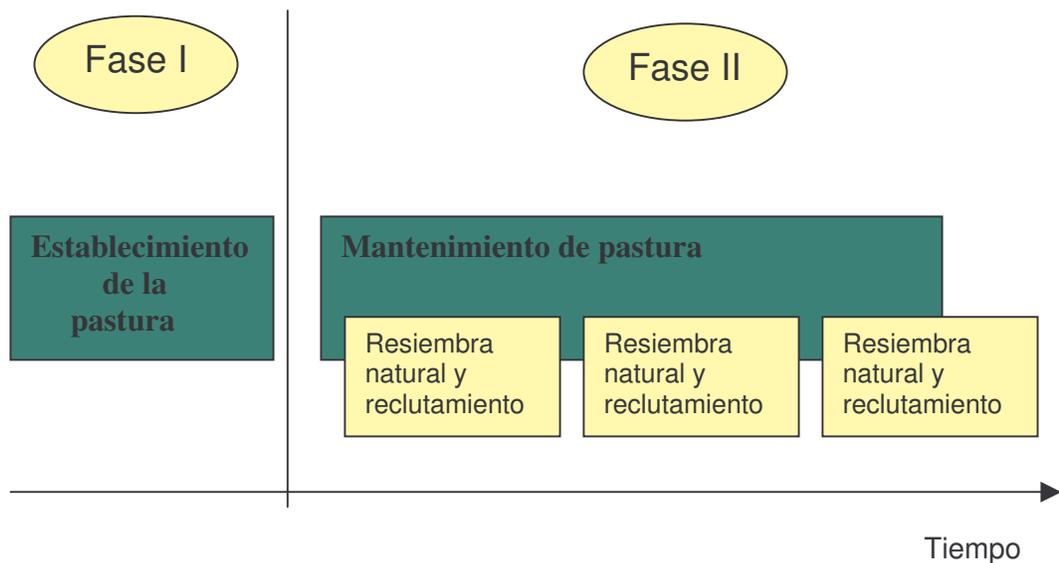


Figura 1. Diagrama sobre las fases de establecimiento y mantenimiento de una pastura (adaptado de Carámbula y Ayala, 1995).

Aunque el trébol blanco es una planta perenne, la producción de semilla tiene dos principales objetivos: uno de los usos es mejorar pasturas en áreas donde esta no se encuentra presente, y segundo la posibilidad de recuperación después de períodos de estrés a través del reclutamiento de plántulas (Olmos, 2000). Se reporta variados rendimientos de semilla en distintos países, en Uruguay Formoso y Allegri, 1980 citados por Olmos, 2000, reportaron rendimientos de semilla de 380-400 kg/ha. El rendimiento de semillas es afectado por diferentes factores, entre los más importantes: las condiciones climáticas producen variaciones extremas en el rendimiento: 148-590 kg/ha (Marshall y James, 1988 citados por Olmos, 2000). El cultivar utilizado es otro

factor que puede interactuar cada año o variar estacionalmente (Formoso y Allegri, 1980 citados por Olmos, 2000).

En Tacuarembó, Formoso y Allegri (1980) citados por Olmos (2000) mostraron que el cultivar de trébol blanco Bayucuá produce menor rendimiento de semilla que los cultivares Larrañaga, Yí y Zapicán, produciendo estos tres últimos cultivares semilla, más temprano que el cultivar Bayucuá.

La variación en los rendimientos de semilla es consecuencia de la variación en los componentes del rendimiento tales como nº de inflorescencias/planta, floretes por inflorescencia, semillas por florete, peso de 1000 semillas y semillas / inflorescencia (Van Bogaert, 1977 , Formoso y Allegri, 1980 citados por Olmos, 2000).

La producción de semilla de trébol blanco varía acorde al medio ambiente y condiciones de manejo y aunque el potencial rendimiento podría estar en el rango de 1000-1200 kg/ha (Marshall, 1996), bajo determinadas condiciones el rendimiento de semilla cosechado puede estar en el rango de 100-400 kg/ha (Brandao y Nabinger, 1991, Formoso y Allegri, 1980 citados por Olmos, 2000).

Las leguminosas como lotus con hábito de floración indeterminado muestran mayor capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales durante el desarrollo de la semilla que aquellas con un hábito de floración determinado. Se han informado rendimientos de semilla en el rango de 50 a 560 kg/ha en *Lotus corniculatus* (Seaney y Henson, 1970, McGraw y Beuselinck, 1983, White et al., 1987 y Li y Hill, 1989 citados por García, 2000) con 50 a 170 kg/ha considerados como promedio (Seaney y Henson, 1970, McGraw y Beuselinck, 1983, White et al., 1985 citados por García, 2000).

La disponibilidad de agua en el suelo puede ser también un factor que reprime los rendimientos de semilla en *Lotus corniculatus* (Fairey, 1994 citado por García, 2000). En este, el componente de rendimiento más importante es el número del umbelas por unidad de área (Albrechtsen et al., 1966, Bresciani y Frakes, 1973, Pankiw et al., 1977, McGraw et al., 1986, Stephenson, 1984, Li y Hill, 1988, 1989 citados por Garcia, 2000).

Yersen (1995) citado por Olmos (2000), reportó que las umbelas de lotus en la estación temprana produjeron más vainas y usualmente mas semillas/vaina que las umbelas en la estación tardía. Las semillas inmaduras son usualmente pequeñas y de menor viabilidad que las maduras (Yersen, 1995 y Carleton et al., 1967 citados por Olmos, 2000). Las semillas de lotus alcanzan máximos de peso seco con 35-40% de humedad (Yersen, 1995 citado por Olmos, 2000).

El tamaño de semilla puede ser afectado por la posición de la semilla en la planta, la cantidad de sustratos y nutrientes adecuados durante la formación de ésta y el medio ambiente durante su desarrollo.

En *Trifolium repens*, la reducción del número de inflorescencias por planta incrementa el número de semillas por florete, no existiendo efecto en el peso individual de las mismas (Khrbeet et al., 1993). Las mayores pérdidas de semillas ocurren 7 días luego de la polinización, más allá de este período, se observó que sólo una proporción muy pequeña de las semillas totales se pierde.

El rendimiento de semillas por florete es principalmente influenciado por condiciones ambientales durante el proceso de maduración de la semilla, siendo el trébol blanco sensible al déficit de agua (Pasumarty et. al, 1993). Oliva et al. (1994) mostró que el stand de plantas de trébol blanco aumenta su producción de semilla en 68 % con un contenido de agua en el suelo a capacidad de campo.

En presencia de densas canopias ha mostrado reducción en la producción de semillas comparado con tapices más abiertos. El rendimiento de la semilla se ve afectado fuertemente por el sombreado artificial de las plantas (recibiendo sólo 45% de radiación entrante) antes o después de polinización. Las cabezuelas que se desarrollaron en una canopia densa produjeron 39% menos semillas por cabeza que aquellas formadas en una canopia abierta (Pasumarty y Thomas, 1998).

Aplicaciones iniciales de superfosfato de 400 kg/ha han mostrado respuestas positivas en el rendimiento de semilla de trébol blanco, aunque la respuesta de las plantas depende del contenido inicial de P en el suelo (Formoso y Allegri, 1980, Chapman y Yersen, 1987 citados por Olmos, 2000).

Bologna (1996) menciona que el lotus requiere flexibilidad en la presión de pastoreo durante la primavera tardía como mecanismo que permita la producción de semilla. Los esquemas de pastoreo durante éste período necesitan atender el nivel de reservas de carbohidratos de las plantas, para promover moderadamente la floración dependiendo cada esquema de la importancia de aumentar las reservas del banco de semillas cada año (Ayala, 1997).

En lotus el descanso de verano para semillar incrementa 16 veces la producción de semilla y el descanso invernal la potencia aún más, en cambio la producción de semillas de trébol blanco no se ve afectada por las estrategias de defoliación, tolerando defoliaciones más severas que el lotus. A pesar del hábito de crecimiento del lotus y los sucesivos “picos” de floración, Li y Hill (1988) citados por Ayala (2002) mostraron que más del 70% de las inflorescencias se producen en cortos períodos de tiempo. Se sugiere períodos de cierre de 60-70 días a partir de diciembre para pasturas de trébol blanco / lotus (Ayala, 2002).

Se encontró relación entre el número de semillas viables en una pastura mixta de trébol blanco y lotus y las intensidades de defoliación de 4 cm vs. 10 cm, siendo superior el número de semillas encontrado para este último, mientras que el peso de 1000 semillas no presentó relación con la estrategia y la intensidad de defoliación utilizada. En lotus el número de semillas viables también se vió afectado por las estrategias de defoliación siendo la peor alternativa pastoreos frecuentes (Ayala, 2002).

2.2.2 Banco de semillas

El banco de semillas del suelo o “reservorio de semillas” podría definirse como la cantidad de semillas que permanecen viables por más de una estación en el suelo o en su superficie” (Thompson y Grime, 1979, Roberts, 1981, citados por Russi et al., 1992; Ayala, 1997). Constituye el conjunto de semillas no germinadas potencialmente capaces de remplazar plantas adultas tanto anuales como perennes (Backer, 1989 citado por Ayala, 2001).

Su presencia incrementa la persistencia de la población, la estabilización de las dinámicas poblacionales y disminuye los riesgos producidos por condiciones de estrés. En consecuencia, cambios en la extenuación de la población durante “malos años” son reducidos, pero el crecimiento en “buenos años” es demorado a causa de individuos dormantes presentes en la población (Kalisz y Peek, 1993 citados por Ayala, 1997).

La persistencia de bancos de semilla en la suelo es un componente mayor del fenómeno de sucesión de las plantas y obra un papel sustancial en la evolución de las comunidades (Tizne, 1979, Cocine, 1980 citados por Priestley y Boyce, 1986).

La ausencia de una correlación entre la composición del banco de semillas y la vegetación por encima del suelo concuerda con la mayoría de los estudios previos en pasturas (Thompson y Grime, 1979), donde las semillas en el suelo pueden representar una fase más temprana de sucesión. Por consiguiente el banco de semillas representa una reserva de memoria evolutiva.

2.2.2.1 Dinámica

El banco de semillas, es una parte integral de la población de las plantas y está sujeto a cambios dinámicos que son independientes, pero a pesar de ello están interconectados con los cambios en la flora por encima del suelo (Thompson y Grime, 1979).

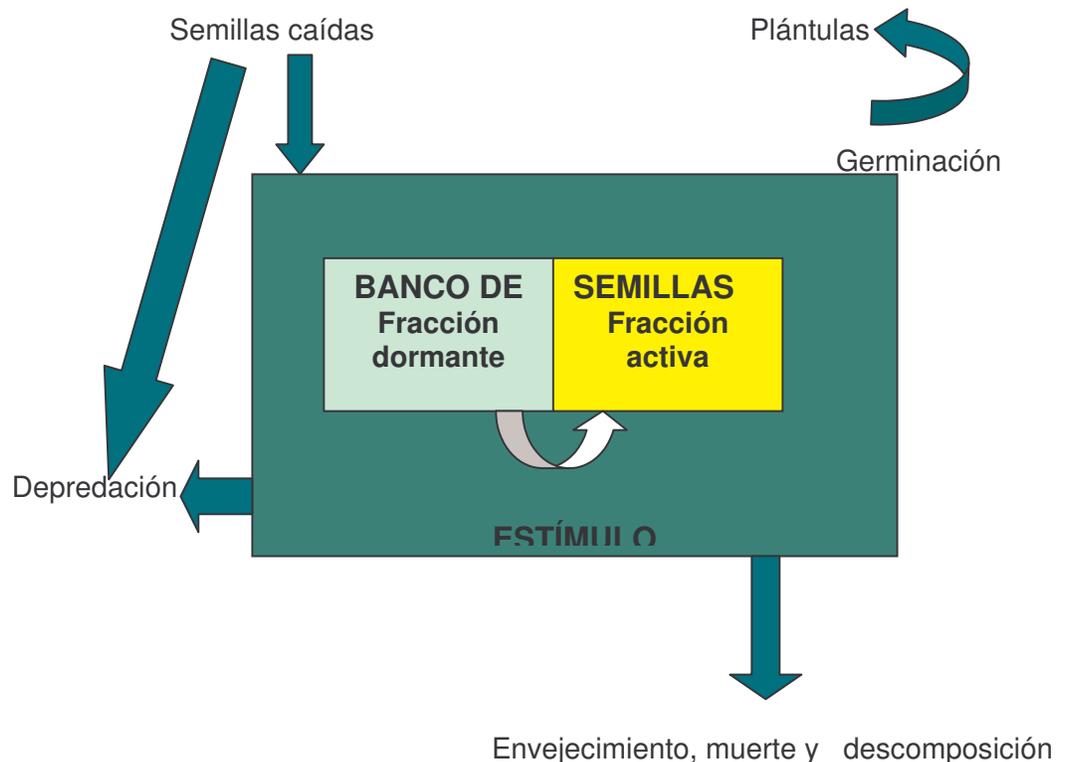


Figura 2. Dinámica de la población de semillas en el suelo según Harper (1977) citado por Carámbula (1997).

Aunque hay un gran aumento en la población de semillas en el suelo inmediatamente luego de la caída de éstas, hay pocas semillas que se incorporan al banco por varias razones (Figura 2). La densa canopia de hojas junto con la ausencia de áreas vacías de suelo podrían evitar que una cierta proporción de semillas alcancen la superficie y que aquellas que la alcanzan logren finalmente establecerse (Janzen, 1971 citado por Fenner, 1993).

El tamaño pequeño de las semillas que forman bancos de semillas persistentes podría ser una adaptación para mejorar su entierro (Fenner, 1993). Sin embargo, una vez que son incorporadas, la ausencia de disturbio del suelo y el ambiente refuerzan la

quiescencia y promueven la persistencia de semillas (Williams, 1983 citado por Fenner, 1993). Debido a algunos factores que rompen la quiescencia usualmente operando cerca de la superficie del suelo (Chepil, 1946), el evitar que las semillas se entierren disminuye la sobrevivencia.

En determinado tiempo la población de plantas es consecuencia de la longevidad de la especie y del número y estado fisiológico de semillas presentes en el banco (Kershaw y Looney, 1998, citados por Ayala, 1997).

Kalisz y McPeck (1993) describieron la dinámica del banco de semillas en términos de los procesos que las plantas adultas y semillas, siguen en el suelo. Un individuo "semilla formada" (S) tiene uno de tres destinos: morir, persistir o emerger como un nuevo individuo. Las plantas adultas son originadas en distintos años y de semillas con distintas edades, lo que determina que dentro de la población de individuos exista una estructura de edades de los mismos que a su vez determina diferentes capacidades productivas y de sobrevivencia (Figura 3).

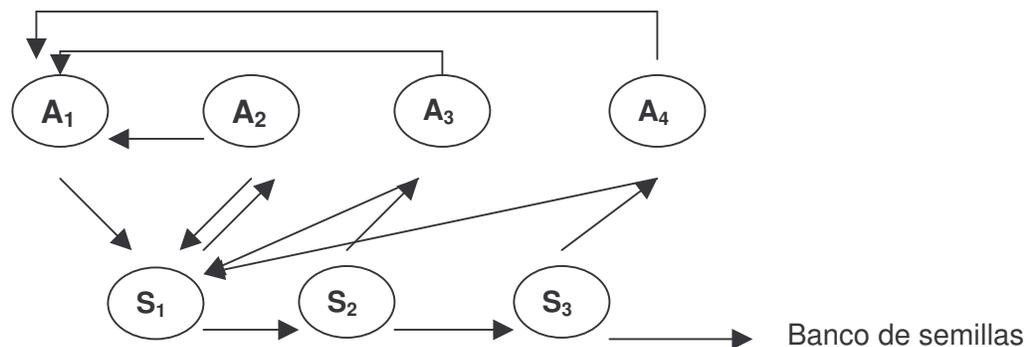


Figura 3. Gráfica de ciclo de vida para semillas (S) e individuos adultos (A) con distintas edades ($n=1, 2, 3, 4...n$) y sus interrelaciones considerando una escala de tiempo de un año para transformaciones (adaptado de Kalisz y McPeck, 1993).

El tamaño del banco de semillas es consecuencia del balance entre ganancias y pérdidas. Las ganancias en una determinada especie, son correlacionadas con la población de plantas y la cantidad de semillas producidas anualmente. En otro extremo, las pérdidas son dependientes del nivel de predación, germinación y descomposición (Howe y Chancellor, 1983; Russi et al., 1992). También los veranos lluviosos son reportados como un factor importante de pérdidas de semillas del banco para el caso de *Trifolium subterraneum* (Blumenthal e Ison, 1994). Los predadores ingieren semillas y actúan como un agente dispersante (Thompson, 1987). Este efecto se correlaciona con el tamaño, abundancia y calidad nutricional de las mismas.

En conclusión, la actividad del banco de semillas está regulada por factores relacionados a la condición de la semilla, predadores, medio ambiente y factores de manejo, que determinan una baja eficiencia en el corto plazo y una relativa baja actividad “buffer” controlando la dinámica poblacional en situaciones de estrés a largo plazo (Silvertown, 1982; Ayala, 1997).

Schafer y Chilcote (1969) citados por Priestley y Boyce (1986) han propuesto una ecuación simple para describir el estado de una población de n semillas enterradas en un punto particular en su historia. El total de la suma de semillas (S) puede dividirse en: las semillas persistentes en un estado de dormancia forzada (P_{ex}), las semillas persistentes con inactividad endógena (P_{end}), semillas que han germinado in situ (Dg) y aquellas que no son viables (Dn). El componente (Dg) normalmente es el factor más relevante que lleva al vaciamiento de semillas del banco.

Los estados de la población de la semilla enterrada pueden describirse entonces como: $S = (P_{ex}) + (P_{end}) + (Dg) + (Dn)$.

Roberts (1972) citado por Priestley y Boyce (1986) trabajó sobre los cambios en el número de semillas de malezas viables en suelo bajo diferentes regímenes y propuso la siguiente ecuación: $S = S_0 e^{-gt}$, donde S representa el número de semillas viables en el suelo, en el tiempo t , S_0 que es el número de semilla en la población original, y g es una constante que varía con especies y el ambiente del entierro. El número de semillas tiende a decrecer rápidamente con la profundidad, a menos que los horizontes superficiales hayan sido perturbados por roturación (Fenner, 1993).

Beal (1879) citado por Priestley y Boyce (1986) menciona un límite de longevidad de 5 años para semillas de *T. repens*. Duvel (1905) citado por Priestley y Boyce (1986), en el año 1902 realiza el entierro de 107 especies a tres profundidades (20, 60 y 107 cm) durante 39 años las muestras se exhumaron y se analizó su germinabilidad (Goss, 1924, Toole y Broncea, 1946 citados por Priestley y Boyce, 1986), cuando finalizó el estudio todavía 36 especies eran viables. Dichos resultados marcan entre 10-15 años como límite de longevidad para las leguminosas, con excepción dentro de las leguminosas del *Trifolium pratense* el cual retuvo cierta viabilidad hasta la finalización del experimento en 1941.

La cuantificación del banco de semillas de una pastura constituye una herramienta de utilidad en la toma de decisiones de manejo tendientes a mejorar la persistencia de las pasturas y/o eventualmente en los procesos de rejuvenecimiento y renovación de las mismas. Dentro de los métodos sencillos y confiables de análisis del banco de semillas existen dos alternativas: a través del conteo directo y del conteo de emergencia de plántulas. El primero de estos no brinda información sobre la viabilidad de la semilla por lo que se debe acompañar con test de germinación o tetrazolio. Por lo general los métodos de conteo de emergencia subestiman los resultados ya que los patrones de germinación son muy sensibles a las condiciones ambientales, lo cual determina que en muchos casos sea necesaria la combinación de ambos procedimientos como forma de obtener resultados mas precisos (Ayala, 2001).

2.2.2.2 Calidad de semillas

La semilla forrajera de alta calidad asegura una germinación rápida y uniforme de la pastura, con plántulas sanas y vigorosas que se enraizarán y elongarán velozmente minimizando el tiempo de siembra-emergencia. Esto permite una mayor competencia con malezas, una mejor resistencia a enfermedades y adversidades climáticas y finalmente una mayor producción de forraje con praderas densas limpias y balanceadas, debido al rápido establecimiento de un área foliar fotosintetizante (Carámbula, 1977).

La medición de la calidad debe considerar el porcentaje de semillas que germinan lo que determinará la densidad inicial de las plantas, tasa de germinación y crecimiento de las plántulas, que definirá el tamaño de las plantas producidas. Existe una correlación positiva entre el tamaño de plántulas y el peso de las semillas (Cristiani y Goloubintseff 1983). Luego del porcentaje de viabilidad, la tasa de germinación de una partida de semillas probablemente sea una de las manifestaciones más “obvias” del vigor. Por lo tanto cualquier consideración de la calidad de la semilla debe incluir este componente.

En teoría la mala emergencia en el campo puede deberse a varios factores tales como la capacidad de la semilla inviable para germinar, la incapacidad de la semilla viable para germinar en condiciones subóptimas y la capacidad de la que germinó para emerger a través del suelo e instalarse.

2.2.2.3 Germinación

Carámbula (1981) define germinación como “la emergencia y desarrollo del embrión, que da origen a estructuras esenciales que se consideran indicativas de la habilidad de la semilla para producir una planta normal en condiciones favorables”.

Muchos factores ambientales regulan el proceso de germinación de las semillas entre los que se destacan gases, luz, temperatura y agua (Miller y Donald, 1994).

2.2.2.4 Viabilidad

Viabilidad de la semilla puede definirse como la habilidad de una semilla de estar viva y tener algún nivel de germinación y actuación en el campo. Las semillas de

leguminosas presentan viabilidad durante más tiempo y una mayor tasa de germinación que la mayoría de las gramíneas y malezas, teniendo solo unas pocas de estas últimas una longevidad mayor que las leguminosas (Ayala, 2001).

La inactividad puede ser alterada cambiando la temperatura a la que se embeben las semillas a través de un proceso llamado estratificación. Wu (1992) citado por Miller y Donald (1994) informó que, durante la estratificación, ocurre una descarga de etileno, que podría influir en el proceso catabólico asociado con la germinación.

La estimación de la viabilidad de semillas duras de leguminosas se realiza mediante el uso de los test de germinación o análisis de tetrazolio. Existe una relación clara entre la tasa germinativa y el porcentaje de viabilidad. El porcentaje de semilla viable en un lote de semillas es calculado por multiplicación del porcentaje de germinación por el porcentaje de pureza y dividido entre 100. El valor obtenido es llamado "semilla pura viva" (PLS). Para las leguminosas el porcentaje de semilla dura es adicionado al porcentaje de germinación.

El número de semillas viables de cada especie enterrada en el suelo bajo una pastura, en un tiempo dado, dependerá del balance entre ganancias y pérdidas. Las ganancias resultan en gran parte de la cantidad de semilla distribuidas en el campo, lo cual es afectado por la abundancia de plantas, la producción de semillas y la proporción de éstas que pasan a quedar enterradas en el suelo. Las pérdidas están determinadas por la muerte, predación y germinación. Ganancias y pérdidas son influidas por los factores ambientales actuales y previos, de manejo y de esa interacción con las especies presentes (Sagar y Mortimer, 1976 y Harper, 1977 citados por Howe y Chancellor, 1983).

2.2.2.5 Vigor

El vigor de la semilla (la habilidad de una semilla de realizar y producir una planta normal en el campo) también es un aspecto de performance y es un componente importante en los programas de control de calidad de semilla. El vigor de la plántula que incluye a la tasa de extensión radicular y de la parte aérea es probablemente de igual o mayor importancia que la tasa de germinación (McWilliams et al., 1970 citados por Minutti et al., 1996).

El porcentaje de semillas sembradas que finalmente se establecen y sobreviven está influenciado por la tasa de germinación, pero el vigor de las plántulas que está correlacionado con la tasa de germinación, es probablemente un factor de igual o de mayor importancia en la determinación del establecimiento alcanzado (McWilliams et al., 1970 citados por Minutti et al., 1996).

El Comité de Test de Vigor de I.S.T.A ha nucleado todas las opiniones en una sola definición: “el vigor es la suma total de aquellas propiedades de la semilla que determinan el nivel potencial de actividad y performance de la semilla o de un lote de ellas durante la germinación y emergencia de plántulas”. Sin embargo, Perry (1980) citado por Cristiani y Goloubintseff (1983) considera que la definición delimita cuatro grandes áreas donde las semillas deberían ser observadas:

- procesos bioquímicos y reacciones durante la germinación, tales como reacciones enzimáticas y actividad respiratoria.

- tasas y uniformidad en la germinación de las semillas y crecimiento de plántulas.

- tasa y uniformidad de emergencia de plántulas y crecimiento en el campo.

- habilidad de emergencia de las plántulas bajo condiciones ambientales desfavorables.

De ello se deduce que varios son los factores que individualmente o en conjunto afectan el grado de vigor, aunque los efectos más comúnmente reconocidos están relacionados con el porcentaje de emergencia de las plántulas (Carámbula, 1981). Es de esperarse que semillas de alto vigor germinen más sincronizadamente que las de bajo vigor y que tengan una emergencia y crecimiento más rápido y parejo (Perry, 1980 citado por (Cristiani y Goloubintseff 1983).

Butler (1978) citado por Cristiani y Goloubintseff (1983) destaca tres tipos básicos de vigor involucrando: a) rapidez de germinación, b) germinación bajo estrés y c) medidas bioquímicas-fisiológicas.

a) La rapidez de germinación es considerada un aspecto muy importante del vigor. Incluso, varias fórmulas matemáticas han sido derivadas para dar un índice de vigor basado en la tasa de germinación y, en un sentido similar, las tasas de crecimiento de las plántulas han sido usadas para evaluar el vigor de las mismas.

Los factores que gobiernan la actuación de la semilla en el campo permanecen incompletos. Esto, principalmente, se atribuye al entorno de factores medioambientales que regulan la expresión de vigor de la semilla durante el desarrollo, germinación, y establecimiento de la plántula (Miller y Donald, 1994), ciertamente la nutrición de la planta madre y tamaño de la semilla afectan también este atributo de calidad.

La tasa de crecimiento (incremento en peso seco) de las plántulas jóvenes fotosintetizando debería ser alta y cada planta debería ser capaz de cubrir el área asignada a ella y producir un alto rendimiento, preferiblemente en un corto período de tiempo. Cada una de éstas facultades puede ser tomada como una expresión de vigor. Por tanto, semillas vigorosas, es casi idéntico a “semillas buenas” y vigor a calidad.

b) Germinación bajo estrés: se somete a las semillas a uno o más de los estrés ambientales que pueden encontrar en el suelo, midiendo la respuesta en términos de tasa de germinación, sobrevivencia, tasa de crecimiento de plántulas y presencia de anomalías estructurales. Los principales tipos de estrés empleados son: temperatura, humedad del suelo, entre otros. El estrés de temperatura se basa en que para muchas especies el óptimo de temperatura de germinación en el laboratorio está por encima de las normalmente encontradas en el campo; el más característico es el test de frío dado que las bajas temperaturas tienen dos efectos adversos en las semillas durante la germinación: causan un daño directo y retardan la germinación dejando a la semilla en un medio de competencia y expuesta a microorganismos. El estrés de humedad en el suelo se caracteriza por un déficit o un exceso, siendo la limitante, en éste último caso, el oxígeno disponible para la germinación.

El tamaño de semilla es una de las determinaciones más accesibles para medir el vigor. El tamaño de semilla puede ser medido calculando el número de semillas por kilo o por gramo, medida que es facilitada por los equipos de conteo electrónicos (Grabe, 1976 citado por Cristiani y Goloubintseff, 1983).

Deterioro por envejecimiento: de acuerdo con Delouche (1969), citado por Carámbula (1981), el deterioro por envejecimiento sufrido por las semillas presenta la siguiente secuencia:

- degradación de las membranas celulares y pérdida subsiguiente de control de la permeabilidad,
- disminución de la producción de energía y consecuentemente del mecanismo biosintético,
- reducción de los procesos de respiración y biosíntesis,
- reducción del potencial de almacenamiento,
- menor crecimiento y desarrollo de la planta autotrófica,
- menor uniformidad en el crecimiento y desarrollo de las plántulas de la misma población,
- aumento de la susceptibilidad al estrés ambiental incluyendo microorganismos,
- reducción potencial de producción de la población,
- aumento del porcentaje de plántulas anormales y
- pérdida de germinación.

Se sostiene que el vigor está íntimamente relacionado con la producción de proteína de la semilla durante la germinación, esta es fundamental para los procesos

que tienen lugar en dicha etapa y el volumen producido es básico debido a las altas demandas en dicho momento. Parecería que las semillas con poco vigor poseen mecanismos imperfectos de producción de éstas sustancias, lo cual afecta su establecimiento y posterior rendimiento (Carámbula, 1981).

Velocidad y tasa de germinación: puede suceder que semillas vigorosas no germinen por no poseer las condiciones adecuadas y sean catalogadas como de pobre vigor. También pueden ocurrir casos en los que se de una baja velocidad de germinación por dormancia y no por falta de vigor, y por otro lado, una germinación acelerada por la presencia de ciertos hongos atacando semillas de pobre vigor (Carámbula, 1981).

Se puede asumir que la tasa de crecimiento de las plántulas indica el nivel de actividad y coordinación del metabolismo de la semilla en germinación y, frecuentemente ha sido propuesta como un test rápido de vigor.

Dentro de los factores que afectan la calidad y manifestación del vigor, se ha determinado que el tamaño de la semilla afecta la longevidad, germinación, emergencia y crecimiento. Innumerables investigaciones han establecido, tanto en gramíneas como leguminosas, una correlación alta y positiva entre el peso o tamaño de semilla y el vigor de plántula (Kiesselblach, 1924 y Rogler, 1954 citados por Gelmond, 1972, Kneebone y Cremer, 1955 citados por Radwan et al., 1972, Thomas, 1966 citado por Bean, 1980, Harper y Obeid, 1967 citados por Sivasubramanian y Ramakrishnan, 1974, citados por Cristiani y Goloubintseff, 1983 y Fenner, 1993).

Este mayor desarrollo o crecimiento inicial de las plántulas nacidas de semillas grandes en relación a las nacidas de semillas pequeñas fue reportado en muchas especies dentro de las cuales encontramos, trébol blanco, trébol rojo, alfalfa y lotus (Henson y Tayman, 1961, Bus y Banyai, 1981 citados por Cristiani y Goloubintseff, 1983).

No obstante, Twanley (1967), citado por Wood et al. (1977) citados por Cristiani y Goloubintseff (1983), encontró en *Lotus corniculatus*, varias líneas de semilla grande con pobre vigor de plántula y varias líneas de semilla pequeña con excelente vigor.

De acuerdo con Carámbula (1977) las cantidades de reservas del endosperma y de los cotiledones estarían ligadas al tamaño de la semilla. Por ello, debido a un mayor tamaño del embrión o a un mayor contenido en reservas o a ambos factores, las plántulas nacidas de semillas grandes en relación a las nacidas de semillas pequeñas son más pesadas, con cotiledones y primeras hojas de mayor tamaño, lo que le permite una mayor tasa de elongación de las raíces.

Por el contrario, Gaspar et al. (1981) citados por Cristiani y Goloubintseff (1983) trabajando con semillas de trébol rojo, trébol blanco, lotus y alfalfa demostraron que las semillas más pesadas eran superiores en capacidad germinativa y longevidad, aunque establecieron que, por encima de determinado peso crítico, la germinación no

mostraría un incremento adicional al seleccionar semilla de peso específico más elevado.

En algunas leguminosas forrajeras, Black (1956), citado por Cristiani y Goloubintseff (1983) determinó que más allá de cierta profundidad las semillas pequeñas no emergían, mientras que la emergencia de las semillas grandes permanecía inalterada.

2.2.2.6 Longevidad

Un rasgo importante de la estrategia del banco de semilla es la longitud de tiempo que las semillas pueden permanecer viables en la suelo. La pruebas de viabilidad quedan sujetas a la humedad, temperatura y composición gaseosa del suelo bajo las condiciones de campo, lo cual puede ser una guía más exacta de longevidad ecológica (Fenner, 1993).

Alguna indicación del período normal de viabilidad para una especie bajo las condiciones del campo puede ser obtenida enterrando un número conocido de semillas y supervisando su germinabilidad durante un período de varios años. Se ha encontrado que el número de semillas que permanecen viables tienden a declinar exponencialmente con el tiempo. La proporción de pérdida de viabilidad aumenta enormemente si el suelo esta sujeto a disturbios, incrementándose la pérdida de semillas del banco (Fenner, 1993).

La longevidad de la semilla depende de la viabilidad inicial de la misma (Carámbula, 1981) siendo afectada a su vez, por el estado de madurez en el momento de la cosecha, las condiciones climáticas previas a la cosecha y los daños mecánicos durante las etapas de procesamiento, independientemente de las condiciones de almacenamiento (Bass, 1979 citado por Cristiani y Goloubintseff, 1983).

2.2.2.7 Tipos de dormancia.

La inactividad de la semilla es una fase donde una semilla intacta madura no germina dentro de un período de tiempo específico, aunque la condición medioambiental (luz, temperatura, agua y oxígeno) normalmente promovería la germinación (Hilhorst, 1995 citado por Peña et al., 2002).

Cuando las semillas se dispersan de la planta madre se esparcen en un ambiente muy heterogéneo en el que es probable que pocos sitios sean seguros. La

inactividad es un mecanismo que previene retardando la germinación bajo condiciones que podrían ser impropias para el establecimiento, con tal de que la semilla permanezca viable a la espera de condiciones más favorables en el futuro (Fenner, 1993).

En pasturas de clima mediterráneo la inactividad de la semilla es un mecanismo esencial para sobrevivir a veranos secos, particularmente donde las especies anuales predominan (Russi et al., 1992).

La importancia ecológica de la inactividad de la semilla radica en su papel en regular tiempo y proporción de germinación y aumentar al máximo la sobrevivencia de plántulas bajo las condiciones naturales y lograr cierta estabilidad año a año en la productividad de la pastura (Russi et al., 1992).

En especies con poca inactividad de la semilla y por consiguiente caracterizado por un banco de la semilla transitorio, la mayoría de la semilla germina durante la estación creciente subsecuente tan pronto como los requerimientos de luz y temperatura se alcanzan, sin llegar al año siguiente (Grime, 1979; Thompson y Grime, 1979).

Las especies que forman bancos de semillas persistentes incluyen tanto anuales como perennes y ocurren en una variedad de habitats (Grime 1979; Thompson y Grime, 1979), donde la semilla puede permanecer inactiva durante varios años, dando lugar a un banco de semillas de varias edades (Thompson y Grime, 1979; Russi et al., 1992).

Las semillas en el suelo pueden clasificarse según el tipo de dormancia a) Dormancia innata cuando necesitan tratamientos específicos para romper la misma, b) Dormancia inducida, cuando la dormancia aparece como consecuencia de duras condiciones medioambientales y c) Dormancia forzada: a causa de condiciones extremas, pero si estas son removidas la misma desaparece (Harper, 1977 citado por Priestley y Boyce, 1986), considerándose esta uno de los mecanismos mas importantes en el mantenimiento de la población de semillas en el suelo.

Uno de los factores que influye en la persistencia de semillas en la suelo comprende las semillas duras en las cuales la imbibición falla hasta que la resistencia de la cubierta se supera (Kolk, 1962 citado por Priestley y Boyce, 1986). En las leguminosas el grado de dureza de la semilla es a menudo muy inconstante dentro de un lote de semillas, las semillas relativamente permeables tienden a germinar espontáneamente en el suelo, considerando que las semillas más duras sufren un período de ablandamiento antes que la imbibición y germinación ocurra (Lewis, 1958 citado por Priestley y Boyce, 1986). Los hongos del suelo juegan un papel importante y evidente en el ablandamiento (Pfeiffer, 1934 citado por Priestley et al., 1986). Podría decirse que éste realmente no es un caso de inactividad en el sentido estricto, porque los embriones no tienen simplemente los requisitos básicos para la germinación, es decir, agua.

La testa es generalmente responsable de impedir la captación de agua (Bewley y Black, 1994). La impermeabilización pueden ser conferida por varias partes de la misma: la cutícula cerosa, la suberina, capas del osteoscleroides. Todos éstos contribuyen en alguna magnitud y de hecho, en algunas especies de leguminosas la cutícula cerosa juega un papel mayor (Bewley y Black, 1994).

2.2.2.8 Factores que determinan la ruptura de la dormancia.

Profundidad

La falta de disturbios del suelo y del medio ambiente, forzadores de dormancia promueve la persistencia de semillas (Williams, 1984, citado por Ayala, 1997). La incidencia de factores que rompen la dormancia, temperatura, cantidad y calidad de luz y humedad opera más fuertemente cerca de la superficie del suelo (Priestley y Boyce, 1986).

Las semillas localizadas cerca de la superficie del suelo son removidas o ablandadas primero o más rápido. La perturbación mecánica de la superficie del suelo lleva a menudo a una activación y germinación de las semillas (Karsen, 1982 citado por Priestley y Boyce, 1986).

Egley y Cerero (1983) citado por Priestley y Boyce (1986) trabajando con semillas de malezas no encontraron una marcada asociación entre la profundidad y longevidad de una semilla de maleza enterrada.

Profundidades de más de 15 mm y suelo compactado afectan negativamente la germinación. Wesson y Wareing (1969) citados por Priestley y Boyce (1986) encuentran en *Plantago lanceolata* y *Spergula arvensis* que sus semillas se pusieron inactivas cuando ellos se plantaron a unos centímetros debajo de la superficie del suelo, al parecer como consecuencia de la aeración limitada.

Stickler y Wasson (1963) citados por Rebollo y Duhalde (1987) mencionan la relación entre la profundidad de siembra y tamaño de la semilla, observando una interacción entre factores. El efecto del tamaño de semilla sobre el porcentaje de emergencia fue escaso a la profundidad de 1.3 cm mientras que a mayor profundidad la semilla más grande tuvo valores de emergencia mayores, encontrándose una tendencia similar con respecto al peso de las plantas.

La cantidad y calidad de la luz transmitida en el suelo es de gran importancia ya que controla la inactividad y germinación (Bewley y Black, 1994). Esto determina que la germinación de semillas de algunas especies se restrinja por consiguiente a las

capas más superficiales del suelo donde basta un estímulo ligero para que la ruptura de la inactividad pueda operar, siendo sumamente importante para las semillas pequeñas con reservas limitadas, ya que si la germinación se completa a una profundidad demasiado grande las reservas de la plántula pueden agotarse antes de que pueda alcanzar la luz del día y empezar a fotosintetizar.

Debe recordarse que los requisitos de luz, son modificados por factores como la temperatura y concentración de nitratos que claramente afectarán la conducta de la semilla en el campo (Bewley y Black, 1994).

También puede perderse sensibilidad a la luz durante el enterrado, a lo largo de esta sucesión todas las semillas son completamente inactivas en la oscuridad. El desarrollo de un tipo de inactividad secundaria (ecodormancia) considera la pérdida de fotosensibilidad, éste es un fenómeno que ocurre en semillas que requieren luz, cuando ellas se mantienen en oscuridad por períodos extensos de tiempo. El motivo por el cual la fotosensibilidad se recobra es incierto, pero podría ser una consecuencia del enfriamiento, el tratamiento anterior con temperaturas bajas puede conferir fotosensibilidad en las semillas de varias especies (Bewley y Black, 1994).

Temperatura

Los factores medioambientales como calentamiento y enfriamiento también pueden ser significativos; oscilaciones de temperatura, trayendo consigo ciclos de expansión y de reducción son especialmente importantes en el ablandado de cubiertas de semillas de trébol subterráneo en el suelo (Taylor, 1984 citado por Priestley y Boyce, 1986).

Radiación solar alta seguida por temperaturas nocturnas bajas actúan rompiendo las cubiertas duras de las semillas (Bewley y Black, 1994). Las fluctuaciones diurnas de temperatura pueden promover o acelerar la germinación en ciertas especies, pero éstas efectivamente pueden variar acorde a la amplitud de las temperaturas y también a la presencia o ausencia de luz (Thompson et al., 1997 citados por Ayala, 1997). Las semillas maduras son inhibidas por temperaturas más bajas que las semillas más viejas (Bewley y Black, 1994). En el caso donde la inactividad es impuesta por una cubierta dura, la temperatura del ambiente durante la maduración puede determinar el espesor de la cubierta que a su vez afecta la germinación (Argel y Humphreys, 1983 citados por Fenner, 1991).

El volumen residual de semillas inactivas en el banco de semilla persistente incluye semillas que no germinaron y entraron en inactividad secundaria. Algunas de éstas semillas tienen éxito germinando en una fase más tardía, y aquéllas que no lo hacen, entran una vez más en inactividad. Esto cuenta parcialmente para el ritmo de

retiro del banco de semillas. Cualquier semilla que no germina se remonta en la inactividad secundaria y sigue una vez más la sucesión (Bewley y Black, 1994).

Según Hilhorst (1998) citado por Peña et al., (2002) la inactividad secundaria es inherente a la semilla activa y es inducida cuando algunos factores medioambientales como temperatura, agua, luz, oxígeno y nitratos no están en el nivel correcto, pero la temperatura sigue siendo el factor principal involucrado en su regulación (Peña et al., 2002).

En especies anuales invernales, las semillas detienen la germinación (debido a la inactividad) en temperaturas que son demasiado altas; pero las semillas anuales de verano, liberadas de la planta madre, no pueden germinar ya que la temperatura no es tan elevada; la inactividad permanece hasta pasado el invierno, y la germinación ocurre entonces en primavera temprana (Bewley y Black, 1994).

La vegetación que cubre la semilla es importante, porque puede influir en la amplitud de la fluctuación de temperatura. La densidad de la vegetación influencia la amplitud de fluctuación térmica que a su vez se correlaciona con los porcentajes de germinación (Bewley y Black, 1994).

En los primeros centímetros del perfil del suelo existe una reducción en la proporción de semilla dura en comparación con la semilla localizada a mayor profundidad, probablemente debido al mayor extremo que alcanzan las temperaturas en la superficie (Robinson, 1960 citado por Olmos, 2000).

Imbibición

Donde la inactividad es impuesta mecánicamente a través de una cubierta de mayor espesor, la sequedad normalmente aumenta dicho espesor o dureza, reduce su permeabilidad y germinabilidad a corto plazo (Argel y Humphreys, 1983 citados por Fenner, 1991).

Kikuzawa y Koyama (1999) citados por Peña et al. (2002) mencionan que la semilla debe absorber más agua que 90% de su masa para germinar. Los mecanismos de escarificación reducen significativamente el tiempo necesario para comenzar la imbibición y para completarla (Bewley y Black, 1994; López et al., 1999, Smartt, 1988 y Hilhorst, 1995 citados por Peña et al., 2002).

2.2.3 Germinación y desarrollo de las plántulas

2.2.3.1 Germinación

La germinación es el momento más difícil en la implantación y la mayor limitante hacia coberturas exitosas lo constituyen las bajas poblaciones de plántulas que sobreviven en este período (Ayala, 1997).

La germinación comprende en las leguminosas la aparición de la radícula (Carámbula, 1977); condiciones de humedad adecuada en la cercanía inmediata a las semillas y plántulas son factores de primer orden gobernando procesos tales como germinación total, el tiempo en que esta se produce y la sobrevivencia de las plántulas (Janson y White, 1971 citado por Minutti et al., 1996)

La fase de germinación es más crítica que la fase de establecimiento, luego de que la radícula es apta para penetrar en el suelo, la chance de establecimiento es alta. A causa de que las radículas de las leguminosas tienen mayor dificultad para penetrar en el suelo, realizan más lentamente este proceso y por lo tanto están más sujetas a pérdidas por desecación y predación por la fauna del suelo siendo causa de considerables pérdidas de plántulas en el campo (Campbell y Swain, 1973 citados por Minutti et al., 1996).

Un factor muy importante es el hecho de que las especies de leguminosas utilizadas para mejoramientos extensivos poseen semillas de pequeño tamaño y por lo tanto menor área cotiledonal que las semillas grandes. Es esta característica y no el mayor peso lo que explica la mayor tasa de crecimiento a través de la mayor eficiencia fotosintética de estas últimas (McWilliams et al., 1970 citados por Minutti et al., 1996).

Cullen (1969) y McWilliams et al. (1970) citados por Cianelli y Otonello (1998) indican que el problema no es tanto que la semilla no germine sino el bajo número de plántulas que sobreviven a la competencia ejercida por el tapiz.

La causa de fallas en la implantación se debe a que la semilla queda retenida en la vegetación y restos secos; en las siembras en cobertura la semilla encuentra un medio hostil con características limitantes para una buena implantación, competencia del tapiz, mineralización limitada de nutrientes, bajo almacenaje de agua, suelo compactado y la presencia de cepas de rizobio salvaje. Por lo tanto debemos tener en cuenta la fertilización inicial, el contacto semilla-suelo y la competencia del tapiz (Carámbula, 1997).

En el caso de leguminosas el contacto semilla-suelo cobra mayor importancia ya que al alargarse el hipocótilo si no es retenida se alejará del lugar donde fue colocada (Carámbula, 1997).

La mayoría de las leguminosas forrajeras germinan dentro de un amplio rango de temperatura, aunque la temperatura óptima de germinación varía con las especies (Townsend y McGinies, 1972, citados por Cooper, 1977). Estos autores concluyen que temperaturas frías alternantes disminuyen la germinación total. No se evidencia que sea un factor limitante para el proceso de germinación temperaturas dentro del rango de 5 a 30 °C; a excepción del trébol subterráneo (McWilliams et al., 1970 citados por Minutti et al., 1996).

Para Archer y Robinson (1989) citados por Arana y Piñeiro (1999), son necesarias dos condiciones para que la resiembra de trébol blanco sea exitosa. La primera es que no exista un stand de trébol blanco en la pastura y la segunda es que exista alta humedad en el suelo y temperaturas no muy elevadas durante el verano en que se da la germinación.

Se puede mejorar el establecimiento de las especies menos vigorosas incrementando la tasa de germinación y el vigor de plántula a través del peleteado de la semilla, dado que provoca un incremento en su velocidad de imbibición (Sithampanathan et al., 1986 citados por Minutti et al., 1996).

Los resultados de dureza en lotus y trébol blanco obtenidos de un banco de semillas son superiores al de las semillas provenientes de una cosecha comercial, como consecuencia del efecto de escarificación que origina la trilla y acondicionamiento de la semilla. Los porcentajes de germinación pueden mejorar alcanzando valores de 70% a través del escarificado en ambas especies (Ayala, 2001). Rai et al. (1996) reportan que semillas de trébol blanco que tuvieron escarificación presentaron (75%) de germinación comparadas con semillas no tratadas (16%).

2.2.3.2 Emergencia

Carámbula (1977) define “emergencia” como la “aparición de la plántula sobre la superficie del suelo” y afirma que la velocidad de emergencia resulta muy importante dado que en ésta etapa no fotosintética, el crecimiento de la plántula depende exclusivamente de las reservas de la semilla, siendo a la vez expuesta a infinidad de factores desfavorables. Una vez que las semillas germinan las plántulas tienen 3 estados de desarrollo los cuales han sido definidas por Derwyn et al. (1966) citados por Cooper (1977) como:

- 1) heterotrófico,
- 2) transicional
- 3) autotrófico.

Para las plántulas de leguminosas la fase heterotrófica es de imbibición de agua hasta la emergencia y comienzo de fotosíntesis en cotiledones. El estado de transición ocurre cuando los cotiledones comienzan a fotosintetizar pero antes de que se acaben las reservas, y el estado autotrófico sigue al término de las reservas de los cotiledones. Aquí la plántula es enteramente dependiente de la fotosíntesis y es verdaderamente autótrofa (Cooper, 1977).

1) Estadio heterotrófico: Durante la fase heterotrófica de desarrollo de las plántulas la proporción de reservas almacenadas que se transfieren al eje del embrión es altamente dependiente de la temperatura (Derwyn et al., 1966 citado por Cooper, 1977). El rápido desarrollo de la raíz de las plántulas es importante para el establecimiento, particularmente donde la superficie del suelo se seca rápidamente o donde las condiciones favorables a la germinación puedan ser de corta duración. La tasa en que se desarrollan las raíces es más rápida para plantas anuales que para las perennes y es un factor en la capacidad para la regeneración el cual permite el uso de especies anuales en pasturas (McWilliams et al., 1970 citados por Cooper, 1977).

La tasa en que se elonga el hipocótilo a menudo determina la duración del estado heterotrófico de desarrollo porque los cotiledones comienzan la fotosíntesis sobre la emergencia y las plántulas entran al estado de transición. El tamaño de semilla y la profundidad de las plántulas son los factores más determinantes en la proporción de emergencia. Las plántulas de semillas grandes emergieron más temprano y se desarrollaron más rápidamente que las plántulas de semillas pequeñas. Williams (1956) citado por Cooper (1977) encontró que la diferencia en la fuerza de emergencia de semillas de diversas leguminosas estuvo directamente relacionada con el tamaño de semilla.

Para la mayoría de las leguminosas forrajeras la profundidad de las plántulas debería no ser mayor a 1.3 cm (Stickler y Wassom, 1963 citados por Cooper, 1977). Las semillas ubicadas a mayor profundidad pueden parecer ventajosas en suelos húmedos, sin embargo a menudo resultan en plántulas debilitadas y prolongan el período bajo el cual las plántulas son más susceptibles a enfermedades.

En *Lotus corniculatus*, la emergencia de plántulas en primavera no sobrevive a través del verano. Las poblaciones continúan declinando a pesar de la presencia de plántulas en primavera y otoño, concluyendo que las resiembras naturales no pueden contarse en el aumento de poblaciones de *Lotus corniculatus* a menos que las condiciones climáticas favorables prevalezcan durante primavera o otoño (Fraser et al., 1994).

A partir de las semillas presentes en el banco, se registraron valores de emergencias de 5-13% y de 4-7% en lotus y trébol blanco respectivamente, estando dicha emergencia asociada a los niveles de semillazón registrados en el verano previo. La emergencia resulta beneficiada por la defoliación intensa en otoño (4 cm). Dependiendo de las especies entre el 35 al 42% de las semillas fue activada si se eliminaba la competencia del tapiz al quedar expuestas a fluctuaciones en temperatura

y humedad para romper dormancia, incluso para lotus la reducción en la competencia del tapiz promovió un incremento de la emergencia de 71% (Ayala, 2002).

Turkington y Franko (1980), reportan para trébol blanco pequeños números de semillas emergidas en otoño concentrándose la mayoría en el primer y segundo año. Las plántulas aparecen dentro de todo el período, concentrándose la emergencia en primavera y particularmente en marzo y abril.

Cualquier retraso en la emergencia somete a las plántulas a varios riesgos: organismos patógenos (por ej. damping off), encostramiento del suelo, decrecimiento del contenido de humedad de la cama de semillas, agotamiento de las reservas seminales y al mismo tiempo, permite a las plántulas de malezas desarrollarse y transformarse en plantas agresivas.

2) Estado transicional: cuando emergen los cotiledones, las plántulas derivan energía de la fotosíntesis así como de las reservas almacenadas. La duración del estado transicional en el crecimiento de las plántulas de leguminosas forrajeras puede ser muy corto y es dependiente de la cantidad de reservas remanentes en la emergencia la cual es primariamente afectada por la profundidad de plantación (Black, 1955 citado por Cooper, 1977). En las especies el tamaño de las semillas es el factor que más afecta el tamaño del cotiledón (Cooper y Fransen, 1974 citados por Cooper, 1977).

La temperatura afecta el porcentaje de utilización de las reservas las cuales determinan la tasa de crecimiento (Qualls y Cooper, 1968 citados por Cooper, 1977). El rol del cotiledón como órgano de reserva finaliza con la completa utilización de la misma. Aquí el mayor rol del cotiledón es la fotosíntesis (Cooper y Fransen, 1974 citados por Cooper, 1977).

Black (1955) citado por Cooper (1977) encontró que el porcentaje de reservas cotiledonarias remanentes a la emergencia fue dependiente de la profundidad de la siembra y temperatura durante la transferencia de las reservas de los cotiledones al eje de la plántula, el peso total de la misma disminuía debido a la pérdida de peso que ocasiona la respiración hasta que las reservas se utilizan.

2.2.3.3 Establecimiento (Autotrófico)

Al agotarse las reservas en los cotiledones las plántulas de leguminosas se convierten en verdaderas autótrofas. Esta habilidad para establecerse por si misma y competir con las malezas es dependiente del vigor inherente a la plántula y los efectos ambientales (Cooper, 1977).

En la práctica la mayoría de los ecologistas que usan el término de planta establecida no lo definen en función de su dependencia con las reservas y hacen a menudo alusión a una planta joven con 2 o 3 hojas sumado a los cotiledones (Fenner, 1987).

El porcentaje de establecimiento “es el número de plántulas saludables que se establecen en el cultivo”, expresándose como porcentaje del número de semillas viables y está limitado a las primeras etapas de la vida del cultivo, período éste denominado de “desarrollo”, el cual finaliza entre las 10 y 12 semanas luego de la siembra (Carámbula, 1977).

Carámbula (1996) afirma que la población de plantas da una idea de la salud del mejoramiento extensivo ya que un número suficiente de individuos por unidad de superficie determinará las posibilidades de éxito, no solo para lograr la adecuada producción de materia seca sino también para asegurar la persistencia productiva.

El peso de semilla es el principal factor determinante del tamaño de las plántulas, aunque especies que crecieron rápido sobre suelo desnudo estuvieron en desventaja cuando crecieron en competencia con la vegetación establecida, sugiriendo que el establecimiento en tapices cerrados puede ser más dependiente del potencial de plántula, que del peso de las semillas (Fenner, 1978 citado por Thompson et al., 1987).

El mayor obstáculo del lotus como leguminosa forrajera es su bajo vigor y lento establecimiento. El lotus es muy susceptible a ser sombreado, tanto en el estado de plántula como más tarde. Las plántulas y plantas maduras de lotus comienzan a crecer más tarde en la primavera y se recuperan más lentamente después del corte (Cooper, 1966, 1967 citados por Cooper 1977). Gist y Mott (1958) citados por Cooper (1977), reportaron que las respuestas al crecimiento de lotus a baja intensidad de luz fueron similares a la alfalfa y trébol rojo pero el crecimiento de las plántulas fue siempre menor.

Cooper (1966) citado por Cooper (1977) reportó que bajo estas condiciones se particiona menos MS a las raíces y se afecta la morfología de la planta. Respuestas comunes incluyen alargamiento de pecíolos, hojas, tallos y reducida ramificación (Frame et al., 1998). Como resultado las plántulas sombreadas pueden convertirse en más susceptibles a la sequía debido a un desarrollo restringido del sistema radicular, (Cooper, 1966, Shirley, 1945 citados por Cooper, 1977). Pritchett y Nelson (1951) citados por Cooper (1977) informan que una de las consecuencias de la reducida intensidad de luz es el decrecimiento proporcional en la nodulación.

El establecimiento de pasturas de trébol blanco persistentes y productivas exige una densidad crítica de plántulas inicial y desarrollo rápido de estas para lograr una densidad adecuada de estolones (Haggar et al., 1985, Idee et al., 1998 citados por Sanderson y Elwinger, 1999). Este proceso depende en parte de la compatibilidad de las especies acompañantes (Haynes, 1980, Collins et al., 1996 citados por Sanderson y Elwinger, 1999). El cultivar acompañante tiene un efecto en el establecimiento del

trébol blanco, por ejemplo cultivares de raigrás perenne de maduración temprana, son más compatibles con el trébol blanco que el cultivar de maduración tardía durante la fase del establecimiento (Sanderson y Elwinger, 1999).

2.2.4 Factores que limitan la sobrevivencia.

Las causas de muerte de plántulas cada año estará sujeta a diferentes condiciones ambientales. De esta situación podríamos esperar tener 2 consecuencias: 1) mantener un alto grado de diversidad genética entre poblaciones, 2) un alto grado de plasticidad fenotípica en plántulas individuales (Hartgerink y Bazzaz, 1984).

Es probable que la susceptibilidad de las plántulas a todos los riesgos, sequía, competencia y pastoreo, se encuentra en los estadios más tempranos (Fenner, 1987). Sin embargo Ayala (2002) menciona que la sobrevivencia tiende a disminuir en estadios de plantas más desarrollados, sugiriendo que un alto porcentaje de muertes ocurre luego del estado de cuatro hojas verdaderas.

En la mayoría de las investigaciones se ha puesto gran énfasis en el número de sobrevivientes en cada etapa a lo largo del ciclo, centrándose poca atención en cuantificar las causas de muerte en aquellos individuos que no sobreviven. En la práctica, determinar las causas de muerte de las plántulas presenta importantes dificultades. Una gran proporción simplemente desaparece en los intervalos entre monitoreos pudiendo haber sido comidas, arrastradas por lavado o enterradas por lombrices (Bologna, 1996).

Las causas de mortalidad de plántulas varía entre estaciones, años y medio ambientes así como intra e ínter especies (Fenner, 1987), ya que cada año la población de plántulas es expuesta a distintas condiciones. Dentro de estos factores podemos citar, abundancia o falta de temperatura, competencia con otras plantas, reducido tamaño, pastoreo, pobre desarrollo radicular, falta de nutrientes especialmente N y fracaso de micorrizas (Grime et al., 1981; Fenner, 1987).

Para lotus se reportan porcentajes de emergencia entre 10-50% a partir de semilla viable y niveles de 5% de sobrevivencia (Miller et al., 1993 citado por Bologna, 1996). Bologna (1996) reportó que 60% de las plántulas reclutadas en otoño murieron durante el invierno y ocurrieron pérdidas adicionales de 80% de las plántulas restantes durante el verano para el cultivar Goldie de *Lotus corniculatus*.

El almacenamiento de reservas de carbohidratos en lotus sigue un patrón estacional con bajos niveles durante el activo crecimiento en primavera y verano, ocurriendo acumulación cuando el crecimiento vegetativo ha cesado en otoño (Weinman, 1961, citado por Smith y Nelson, 1967 y Ayala, 1997).

Machado y Núñez (2002) en un seguimiento de las plántulas originadas a partir de distintos patrones de emergencia ocurridos desde marzo-agosto y seguidos hasta el estado de 4 hojas verdaderas encuentran que en todos los casos la sobrevivencia estuvo por encima de 50% alcanzando un máximo de 91 y 88% para lotus y trébol blanco respectivamente. En ambas especies se registró una mayor sobrevivencia hacia finales de invierno.

El resultado de un exitoso establecimiento culmina con la sobrevivencia de las plantas, suficiente producción de semilla y sobrevivencia de semillas en el banco de semillas hasta la próxima estación de crecimiento (Cooper et al., 1973 citados por Cooper, 1977).

Los efectos estacionales incluyendo temperatura máxima, radiación y agua disponible son los factores ambientales más importantes que afectan la sobrevivencia de las plantas (Yones, 1980, 1982, Archer y Robinson, 1989, Hutchinson et al., 1995 citados por Olmos, 2000).

La humedad adecuada es uno de los factores más importantes que afecta la sobrevivencia y reclutamiento de plántulas en Australia (Olmos, 2000). Para el caso del trébol blanco, a partir del segundo año su persistencia vegetativa depende de sus estolones cuyas raíces adventicias se concentran en los primeros 10-15 cm de suelo, por lo tanto la especie es muy sensible al déficit hídrico (García, 1992). En el mismo sentido, Li (1992) sostiene que la humedad del suelo se vuelve un factor determinante en verano existiendo una correlación positiva entre humedad en los primeros (0-10 cm) y sobrevivencia del trébol blanco.

Carámbula (1997) sostiene que la razón principal de la baja persistencia de las pasturas de trébol blanco en el país, es debida a la alta tasa de muerte de estolones durante el periodo estival, asociada al déficit hídrico y a las altas temperaturas características de esta estación. En este sentido observaciones de campo indican que la interfase estolón/suelo es importante para la sobrevivencia de *Trifolium repens* durante años secos.

El trébol blanco es poco tolerante al estrés hídrico en comparación con otras leguminosas templadas perennes debido a su sistema radicular poco profundo y a su escasa habilidad en el control de la transpiración (Hart, 1987 citado por Brink y Pederson, 1998). Sin embargo cuando el estrés es provocado por un déficit hídrico prolongado o de gran intensidad, la cantidad de raíces con crecimiento secundario (pivotantes) que tenga la pastura pasa a tener mayor importancia debido a que ellas pueden extraer agua de porciones más profundas del suelo (Arana y Piñeiro, 1999). Estos autores trabajando con dos cultivares de trébol blanco (Línea Experimental 2 y Zapicán) mostraron que a un año de sembrada la pastura se produjo un descenso muy importante en el número de plantas madres, de manera que a fines del segundo verano el número de estas era inferior a 20 plantas/m² y que además eran muy poco productivas, reducción que se produjo en forma independiente del cultivar, régimen hídrico y/o manejo de la pastura, siendo claramente una tendencia natural de la especie.

Olmos (1997) mostró una relativa alta dependencia de la proporción de trébol en la estación de crecimiento siguiente con el verano previo respecto al balance entre las lluvias y la evaporación. Debido a que el trébol blanco no puede controlar el cierre de los estomas, las plantas tienden a perder hojas a causa del estrés hídrico y el ambiente seco.

Resulta de importancia la disponibilidad de un rizobio específico particularmente en el ambiente de Uruguay por la presencia de bacterias nativas infectivas (Moir y Reynaert, 1960, Filliat et al., 1960, citados por Carámbula, 1997)

Más plantas sobreviven bajo estolones sombreados (55%) que a la exposición completa (17%). El número de plantas que sobrevive al estrés hídrico está relacionado a la densidad de plantas antes de un período seco, el factor principal que influye en la sobrevivencia al estrés hídrico en *Trifolium repens* es el manejo de pastoreo. Se sugiere que sistemas que pueden producir poblaciones densas de *T. repens* capaces de proporcionar resguardo de la radiación solar directa durante estrés hídrico, son superiores en producción de materia seca y porcentaje de sobrevivencia (Brock et al., 1994).

Lotus corniculatus es más tolerante al estrés hídrico que trébol blanco, incluso bajo condiciones de corte en pasturas mezcla. La profundidad de penetración de la raíz es considerada un factor vital relacionado a resistencia a la sequía. El éxito del *Lotus corniculatus* en habitats con deficiencia de agua también se atribuye a un sistema radicular profundo con alta capacidad de exploración.

Al mismo tiempo, si hay suficiente cantidad de semillas en el banco de semillas del suelo, podría esperarse recuperar la población por reclutamiento de plántulas. La recuperación de plántulas podría también esperarse si ocurren veranos relativamente húmedos y si el banco de semillas del suelo es lo suficientemente grande (Olmos, 2000).

Es conveniente promover durante el otoño el crecimiento de las plántulas de *Lotus corniculatus* independientemente de las altas pérdidas invernales ya que las plantas desarrolladas en primavera llegan al verano con reducido sistema radicular teniendo poca oportunidad de sobrevivencia. También durante el verano tardío y otoño temprano es necesario aumentar la presión de pastoreo para reducir la competencia, con el objetivo de permitir el reclutamiento de nuevos individuos que establecen el banco de semillas. Después de eso los pastoreos deberían ser controlados en tiempo e intensidad como camino para evitar la destrucción de nuevas plantas y disminuir la competencia. Intervalos de pastoreo entre 4-6 semanas fueron propuestos para *Lotus corniculatus* por Bologna (1996).

Ayala (2001) efectuando un monitoreo de la población de los puntos de crecimiento durante un año seco, encontró más puntos de crecimiento/m² con intensidades de pastoreo de 10 cm que de 4 cm, localizados principalmente los puntos de crecimiento que sobrevivieron en áreas cubiertas por la vegetación de gramíneas o material muerto.

La persistencia del lotus está principalmente basada en la sobrevivencia de plantas adultas, pero la falta de resistencia a las enfermedades de raíz limita la persistencia individual de la planta (Ayala, 1997).

2.3 ALTERNATIVAS DE REJUVENECIMIENTO DE PASTURAS.

2.3.1 Métodos mecánicos

Cuanto más alta sea la proporción de suelo descubierto, mayor será la posibilidad de implantación (Carámbula, 1977). Baycé et al. (1994) citados por Félix et al. (1998) concluyeron con respecto a los laboreos que a mayor remoción del tapiz se lograba un mayor número de plantas establecidas (en orden decreciente de remoción del tapiz: excéntrica, cincel, disquera, testigo sin remover).

Las especies con bajo vigor inicial muestran un mayor porcentaje de establecimiento cuando se utilizan implementos mecánicos, que provocan remociones más severas del tapiz existente (Castrillón et al., 1987 citados por Felix et al., 1998). Si bien el peso de las plántulas no es tan alto a causa de la menor concentración del nutriente en la cercanía de la semilla, se logran igualmente plántulas fuertes cuyo vigor se ve favorecido por la menor competencia del tapiz natural (Carámbula, 1977).

Sin embargo, Félix et al. (1998) mencionan la importancia de considerar los factores climáticos adversos y concluyen que la promoción de elevados porcentajes de suelo desnudo resiente notablemente el porcentaje de implantación ya que deja a las plántulas demasiado expuestas a los daños por heladas y desecamiento superficial del suelo.

2.3.2 Pastoreo

La utilización de pastoreos o la aplicación de cortes en combinación con pastoreos para favorecer la implantación de especies en pasturas naturales, ha sido exitosa en climas húmedos (Seans, 1950, Suckling, 1951, Chippendale y Merricks, 1965 y Frank, 1968 citados por Carámbula, 1977). Parecería que el factor más importante para la instalación es la competencia por la luz lo cual puede ser controlado por pastoreos. Las plántulas jóvenes de leguminosa son sumamente sensibles a la falta de luz, situación que puede ser corregida a través del manejo del pastoreo,

asegurando luz adecuada para el establecimiento de la leguminosa (Hodgson y Sheath, 1989).

El pastoreo puede cambiar el resultado de la competencia entre dos o más especies. Este cambio puede ocurrir a través de dos mecanismos, uno directo y otro indirecto. El mecanismo indirecto involucra al pastoreo causando una declinación en la población de una de las especies; aunque cada individuo de una especie tiene el mismo efecto competitivo sobre individuos de otras especies. Esto es a menudo visto donde los animales que pastorean matan plantas permitiendo que las plántulas de otras especies se establezcan en los espacios vacíos resultantes. Alternativamente, el pastoreo tiene un efecto directo sobre la interacción competitiva y las habilidades competitivas relativas de las especies (Crawley, 1983 y Louda et al., 1990 citados por Fisher et al., 1997)

Una vez pastoreadas las especies pueden mostrar diferentes tolerancias al pastoreo por ejemplo los meristemas basales de las leguminosas confieren muchas ventajas respecto a las gramíneas con meristemas aéreos o distintas habilidades compensatorias como son distintas capacidades de crecimiento compensatorio.

Si una canopia es reducida en altura y la arquitectura es simplificada por el pastoreo, la luz puede convertirse en menos limitante mientras que las pérdidas y daños de partes de plantas pueden incrementar la demanda por agua y nutrientes del suelo. Las habilidades competitivas relativas de diferentes especies pueden cambiar dependiendo del recurso por el que se compete (Tilman, 1988).

2.3.3 Quema.

El fuego es un disturbio que remueve organismos y abre espacios, los cuales pueden ser colonizados por individuos de la misma o diferentes especies. El fuego debería dañar lo menos posible a las estructuras inferiores de las especies productivas y al banco de semillas del suelo desde donde se iniciará el rebrote (Carámbula, 1997).

Bajo algunas condiciones, el fuego es igualmente eficaz que el calor y las fluctuaciones de temperatura en la ruptura de la cubierta impermeable de semillas duras de especies de climas tropicales, subtropicales y mediterráneos (Bewley y Black, 1994); la germinación también puede ser afectada por el fuego (Ewart, 1908 y Cunningham y Cremer, 1965 citados por Priestley y Boyce, 1986).

Bien manejada, la quema debería provocar un refinamiento, por aumento del vigor del campo (mayor macollaje, rebrote y masa vegetal verde). El fuego afecta en mayor medida al nitrógeno, por su temperatura de volatilización baja, no así al resto de los minerales. Si el fuego es muy “caliente” se oxida humus, hay menos actividad de los microbios que descomponen restos y el suelo se empobrece. Si la temperatura que

alcanza al suelo no es alta, puede existir hasta un aumento breve de fertilidad y las especies poco afectadas por el fuego producir un crecimiento explosivo, pues los nutrientes se liberan y quedan por poco tiempo disponibles para las plantas. El rebrote aprovecha mejor la mayor disponibilidad de nutrientes sin competencia de macollos maduros (Gayo, 2002).

Medero et al. (1958) citados por Carámbula (1997) compararon campo con pastoreo normal, campo arrasado por pastoreo y campo quemado previo a la siembra; habiendo constatado la superioridad del campo quemado sobre el campo arrasado y ambos a su vez sobre el campo sobre pastoreo normal. Dicha superioridad del campo quemado se basó en un porcentaje mayor de implantación. Si bien en ambos tratamientos los porcentajes de germinación fueron similares, murieron menos plántulas cuando el tapiz había sido previamente quemado. Esto indicaría que el efecto principal del quemado no ha sido permitir un mejor contacto entre semilla y suelo, sino eliminar la competencia ejercida por el tapiz natural.

Sin embargo, a pesar de que se han demostrado las bondades de la quema para introducir especies, su uso puede presentar serios inconvenientes de practicidad y manejo así como problemas de promoción de malezas agresivas tales como cardilla (*Eryngium paniculatum*) y mio- mio (*Bacharis coridifolia*) (Gayo, 2002).

2.3.4 Herbicidas

El manejo previo del tapiz se hace imprescindible para la implantación exitosa de siembras en cobertura, la cantidad y calidad de luz inadecuada sería una de las condiciones ambientales de mayor incidencia en provocar altas tasas de mortandad de plántulas (Carámbula, 1994).

El fracaso en la obtención de una buena población de plantas es atribuido a la falta de contacto semilla suelo, suelo compactado, bajo contenido de agua, rizobios nativos y la competencia que ejerce el tapiz natural (Carámbula 1977).

A medida que aumenta la densidad de la cobertura vegetal sobre un suelo se produce un incremento en la evapotranspiración, disminuyendo la disponibilidad de agua para las plantas. Además de esto tenemos la competencia por agua y nitrógeno que ejerce la gramínea del tapiz natural que es más eficiente que la leguminosa introducida por tener un sistema radicular más desarrollado.

Seholl y Stainforth (1987), citados por Coscia y Surraco (1982), señalaron la ventaja de sembrar el lotus en cultivos asociados reduciendo la competitividad de cultivos acompañantes mediante el pastoreo o el uso de herbicidas selectivos, como manera de aumentar la probabilidad de establecimiento del lotus. Gist y Mott (1957) citados por Carámbula y Ayala (com. pers.) señalan que la intensidad de luz es

extremadamente crítica para lotus siendo el crecimiento de la raíz mas afectado que el crecimiento de la parte aérea. Todos aquellos factores que retardan la nodulación acentúan la competencia entre gramíneas y leguminosas por nitrógeno (Vallis, 1978, citado por Carámbula et al., 1996).

Tanto el tapiz verde como el tapiz seco dejado por aplicaciones de herbicidas favorecen la germinación, sin embargo es evidente que el primero compite después de la siembra, mientras que la vegetación muerta presenta efectos como reducción de la evaporación, elevación de la humedad cerca de la semilla y protección frente a bajas temperaturas y heladas (Carámbula, 1977).

Carámbula (1977) cita una mejora en el establecimiento solo para gramíneas, en tanto las leguminosas muestran un buen establecimiento sin el uso de herbicidas, siempre que se apliquen dosis apropiadas de fósforo.

Moshier y Penner (1978) citados por Ferenzi et al. (1997), colocando semillas en contacto directo con glifosato, comprobaron que no afectó la germinación pero si se redujo el vigor de las plántulas, menciona que las plántulas que están en contacto con suelo tratado (pre-siembra incorporado y pre-emergencia) los efectos negativos sólo se producen a altas dosis. También demuestran que los efectos inhibitorios en el crecimiento inicial se pueden deber a residuos de herbicida aplicado, capaces de permanecer en la capa de restos vegetales.

Cuando una cobertura adecuada se haya presente, preferentemente vegetación muerta, se mejoran los contenidos de humedad del suelo lo que resulta en un establecimiento mucho más efectivo de los tréboles mejorando la germinación y sobrevivencia temprana de plántulas (Newman, 1966 y Janson y White, 1971 citados por Minutti et al., 1996).

Suckling (1949) citado por Chapman et al., (1985) y Minutti et al., (1996), señalan que el tratamiento químico previo del tapiz no mejora el establecimiento del trébol blanco dada su rápida germinación, aunque sí aceleraría el proceso.

Carámbula et al. (1996) menciona la importancia del peso de plántulas, que provee mayor probabilidad de sobrevivencia frente a situaciones de estrés y con ello condiciona la población resultante. Dichos autores trabajando en siembras de leguminosas sobre tapiz natural, obtuvieron mayor peso de plántulas y mayores valores de peso radicular en aquellas situaciones en que hubo control de la competencia con herbicidas. Sin embargo el nº plantas/m² no fue afectado por el control de la competencia.

La bibliografía indica que al controlar la competencia con herbicida, o al eliminarla totalmente se afecta la entrega inmediata de forraje, siendo este período de baja producción de distinta extensión, de acuerdo con la dosis y el herbicida aplicado (Carámbula 1997).

Carámbula (1994) estudió el efecto del herbicida Glifosato (Roundup 2.5 l/ha), y encontró que éste mata las gramíneas perennes, afecta a las especies estivales productivas del tapiz y promueve la aparición de anuales invernales de escasa producción (Gaudinia, Vulpia), así como favorece un incremento en las malezas enanas. Este autor menciona la importancia de la permanencia en la pastura de especies perennes, ya que de lo contrario disminuye la producción y se produce un desequilibrio. También menciona que el Paraquat (Gramoxone 2.5l/ha) no afecta la composición de la pastura.

Una de las consecuencias de la aplicación de herbicidas (Glifosato y Paraquat) es el incremento de las malezas debido a su modo de acción sistémico total elimina la vegetación dejando espacios donde estas prosperan (Ferenczi et al., 1997).

2. 4. COMENTARIOS GENERALES

Resulta claro que para las condiciones de Uruguay la persistencia de leguminosas como *Lotus corniculatus* y *Trifolium repens* presenta una serie de limitaciones. Sumado al conjunto de prácticas de manejo inapropiadas que muchas veces condicionan la vida útil de una pastura, resulta particularmente relevante la incidencia de enfermedades en lotus y condiciones de estrés hídrico en trébol blanco, aspectos que fueron discutidos junto a otros en la sección 2.1. Todo esto determina que ambas especies deban ser consideradas como especies perennes de vida corta y sea necesario extremar medidas, a los efectos de mantener una población económicamente productiva.

Cuando la contribución de las especies de interés resulta insuficiente se hace imprescindible pensar en procesos de rejuvenecimiento de la pastura, de forma de retrotraerse a fases iniciales del proceso de sucesión y tratar de incrementar su capacidad productiva. En este proceso se deben tener en cuenta una serie de estrategias regenerativas propias de cada especie. Es así que un conocimiento más detallado del banco de semillas, procesos de reclutamiento y sobrevivencia de plántulas deben ser abordados. Si bien el banco de semillas puede ser considerado como un elemento buffer para el mantenimiento de la población, su activación constituye un tema central en los procesos de rejuvenecimiento a partir de la población de semillas presentes en el suelo.

Los procesos de disturbios aplicados a la pastura y por ende a las reservas de semilla de forma de acelerar el proceso regenerativo resultan de interés de ser explorados y constituyen motivo para el presente estudio.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El presente trabajo se realizó en la Unidad Experimental “Palo a Pique” (UEPP) perteneciente a la Estación Experimental del Este, INIA Treinta y Tres. El período experimental se extendió desde el 14 de enero de 2002 hasta el 14 de marzo de 2003.

3.2 DESCRIPCION DE SUELOS DE LA ZONA

El ensayo se realizó sobre un Argisol Subéutrico perteneciente a la Unidad Alférez de la Carta de Reconocimiento de Suelos del Uruguay escala 1:1.000.000 (D.S.F, M.G.A.P). Esta unidad de mapeo es la más importante dentro de la zona de lomadas por representar el 67% del área total y por incluir los suelos más fértiles. Ocupa 280.000 hectáreas al sur de la ciudad de Treinta y Tres y el este de la ruta 8. El límite se encuentra aproximadamente sobre una línea imaginaria que une Mariscal, Velázquez y el margen norte de la Laguna Negra. Los suelos de ésta unidad constituyen gran parte de la Zona 4 del estudio de la CIDE (Más, 1978 citado por Pérez del Castillo et al., 2000).

Dicho suelo pertenece al grupo CONEAT 10.7, el cual tiene un índice de productividad (estimativo de dos unidades) de 95. A continuación se presenta el análisis de suelo correspondiente al lugar del experimento (Cuadro 1). Del mismo se desprende que una de las principales limitantes de los suelos de ésta región es el grado de acidez. Durán (1991) reporta que los Argisoles son suelos mediana a moderadamente ácidos (pH 5.4 a 6.0) aunque en algunos pocos perfiles la acidez puede ser mayor (pH 5.0-5.3).

El análisis de suelo presentó valores superiores a 10-12 ppm de fósforo, siendo éstos los niveles mínimos propuestos por (Castro et al., 1981 citados por Durán 1991), para lograr la instalación y persistencia de las leguminosas forrajeras. Probablemente ésto se explica por las anteriores refertilizaciones realizadas en los 6 años de duración del mejoramiento, ya que en general el contenido de fósforo asimilable de estos suelos es siempre bajo o muy bajo.

El nivel de potasio puede considerarse moderado; la información analítica de 19 perfiles permitió establecer que el contenido medio de potasio en el horizonte superficial de los Argisoles era de 0.32 ± 0.15 meq/100g (Durán, 1991).

Cuadro 1. Análisis de suelo (pH, carbono org (C.org), fósforo (P) y potasio (K)) a dos profundidades de un Argisol de la Unidad Alférez.

Bloque	Profundidad (cm)	pH (H ₂ O)	C. org (%)	P (ácido cítrico) (ug P/g)	K (meq/100g)
I + II	0- 7.5	5.2	2.35	15.6	0.28
	7.5- 15	5.6	1.20	3.5	0.13
III + IV	0- 7.5	5.2	2.75	19.4	0.29
	7.5- 15	5.6	1.44	4.5	0.15

3.3 DESCRIPCIÓN DEL MANEJO ANTERIOR

El experimento se instaló sobre un mejoramiento de campo, sembrado en cobertura en mayo de 1996 con una mezcla de *Trifolium repens* cv. Estanzuela Zapicán (4.5 kg/ha) y *Lotus corniculatus* cv. San Gabriel (8 kg/ha), fertilizado con 60 kg/ha de P₂O₅ a la siembra y refertilizado en años subsiguientes con niveles entre 40-60 kg de P₂O₅ por hectárea en base a superfosfato simple.

El manejo entre 1998 y 2001 consistió en la combinación de diferentes estrategias e intensidades de defoliación. Las estrategias de defoliación comprendían: pastoreo frecuente todo el año (S1) y pastoreo frecuente más un descanso de verano para semillar (S2). Ambas estrategias estuvieron combinadas con dos intensidades de defoliación definidas en base a la altura de forraje remanente post-pastoreo (4 y 10 cm). Los pastoreos se realizaban con lanares cada 30 días, por períodos de 1 día aproximadamente.

3.4 DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS

Experimento 1

El objetivo de éste estudio fue evaluar dos tipos de disturbios a nivel de suelo, capaces de promover la activación del banco de semillas del suelo y posibilitar de ésta forma el rejuvenecimiento de la pastura.

Se estudiaron 4 situaciones originadas como consecuencia de los manejos previos de la pastura durante 1998-2001 (S1 4 cm; S1 10 cm; S2 4 cm; S2 10 cm) los cuales determinaron diferencias en composición botánica de la pastura, estructura del tapiz y tamaños de banco de semillas.

Los tipos de disturbio aplicados consistieron en arrase y aplicación de herbicida. El arrase consistió en un corte con pastera a 5 cm de altura. El herbicida aplicado fue glifosato a razón de 5 lt/ha, el 22 de marzo de 2002 (27 días antes de la siembra), lo cual concuerda con los días requeridos para permitir una mejor descomposición de la vegetación muerta y un mejor contacto semilla-suelo. Dichos tratamientos de acondicionamiento del tapiz fueron evaluados con el agregado o no de semilla de lotus y trébol blanco y se detallan en el Cuadro 2. El agregado de semilla (o siembra) se realizó el 18 de abril de 2002, utilizando una mezcla de *Lotus corniculatus* cv. San Gabriel (2 kg/ha) y *Trifolium repens* cv. Zapicán (1 kg/ha). Las leguminosas fueron inoculadas con los productos y dosis recomendados y peletizadas con carbonato de calcio. Se fertilizó con superfosfato triple (0-46/46-0) a razón de 130 kg/ha. La siembra se realizó manualmente al igual que la fertilización.

Cuadro 2. Esquema de los diferentes manejos previos y tratamientos aplicados.

Manejo previo 1998-2001		Estrategias de renovación 2002	
Estrategia de defoliación	Intensidad de defoliación	Acondicionamiento de tapiz	Agregado de Semilla
S1	4 cm	A	Sem
S1	4 cm	A	No Sem
S1	4 cm	H	Sem
S1	4 cm	H	No Sem
S1	10 cm	A	Sem
S1	10 cm	A	No Sem
S1	10 cm	H	Sem
S1	10 cm	H	No Sem
S2	4 cm	A	Sem
S2	4 cm	A	No Sem
S2	4 cm	H	Sem
S2	4 cm	H	No Sem
S2	10 cm	A	Sem
S2	10 cm	A	No Sem
S2	10 cm	H	Sem
S2	10 cm	H	No Sem

Pastoreo frecuente (S1); pastoreo frecuente mas descanso para semillar (S2), arrase (A); herbicida (H); con agregado de semilla (Sem); sin agregado de semilla (No Sem).

Experimento 2

La disponibilidad de cepas del rizobio específico en suelo es un elemento clave para un establecimiento exitoso de las leguminosas, por lo que se estudió el efecto del agregado de una solución con inoculante en muestras de suelo provenientes del sitio

en evaluación, en el que se sembraron semillas de *Trifolium repens* y *Lotus corniculatus*. Para ello se tomaron 16 muestras (cores) de 50.26 cm² de ancho y 5 cm de altura que se colocaban en invernáculo. A la mitad se le sembró con 10 semillas de trébol blanco previamente esterilizado, siendo luego aplicado una solución concentrada de inoculante específico de trébol blanco a la mitad de los cores. Las 8 muestras se dispusieron en un diseño al azar con 4 repeticiones, rotándose los mismos semanalmente en el invernáculo. Lo mismo se realizó para los 8 cores restantes que se sembraron con *Lotus corniculatus* siendo regado con una solución de inoculante específico de *Lotus corniculatus* a la mitad de los mismos. Los cores recibieron un manejo similar a los de trébol blanco.

3.5 VARIABLES ESTUDIADAS

3.5.1 Experimento 1

3.5.1.1. Banco de semillas

Se determinó el banco de semillas de ambas leguminosas al inicio del experimento el 14 de enero de 2002, previo a la renovación. La secuencia de procedimientos fue la siguiente (Ayala, 2001):

1. Colección de muestras a nivel de campo. Se tomaron al azar 2 muestras de suelo por parcela (cores) de 50.26 cm² y 5 cm de profundidad con un medidor de densidad aparente.

2. Rutina de laboratorio

2.1 Desmenuzado a mano. Se desmenuza la muestra en seco y a mano, eliminando aquellos restos vegetales de mayor tamaño.

2.2 Pasaje por zarandas. Se pasa el material desmenuzado por una serie de zarandas a los efectos de descartar en primera instancia el material de mayor tamaño (>4.7mm), y posteriormente las partículas menores al tamaño de una semilla (<0.5mm).

2.3 Separación a través de flujo de aire. Con el material remanente se procede a pasarlo a través de un flujo de aire a los efectos de descartar fundamentalmente material vegetal que se encuentra finamente molido y que no se pudo separar en el paso previo. La máquina utilizada fue una Seedburo Seed Blower 757, con un tubo de 5 cm de diámetro y una apertura de 2 cm.

2.4 Separación a través de un solvente orgánico de alta densidad. El material remanente es colocado en un Becker de 250 ml, al que se le agrega percloroetileno (densidad: 1.6) a los efectos de separar el material orgánico del inorgánico. El material orgánico fácilmente extraíble quedando en el sobrenadante, el mismo se retira y se seca para la posterior separación manual.

2.5 Separación manual. El material en suspensión es recogido separando e identificando las semillas presentes con la ayuda de una lupa (Figura 4).

Posteriormente se realiza la fase de conteo, pesaje y análisis de parámetros de calidad de semilla de interés (peso de mil semillas y porcentaje de germinación).

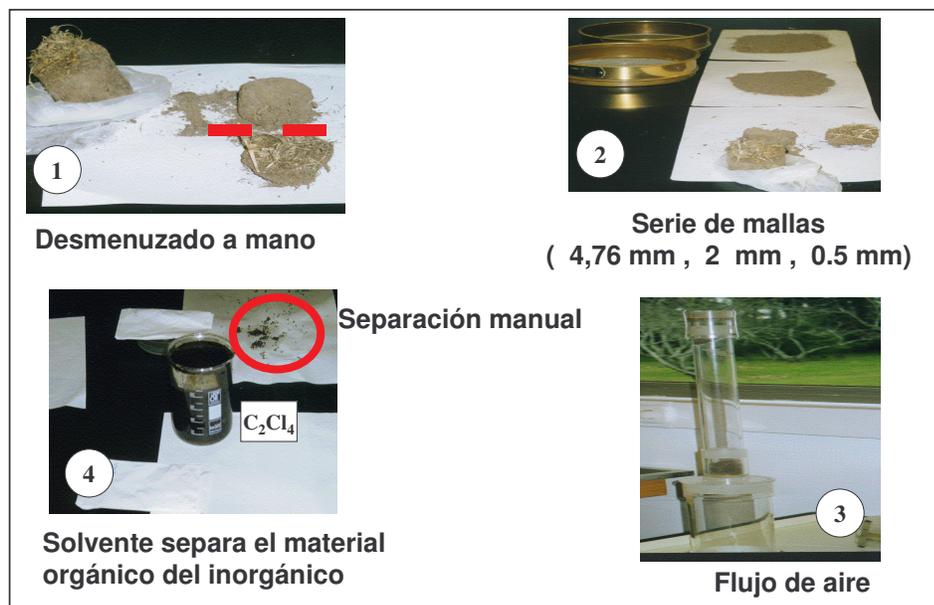


Figura 4. Metodología de laboratorio para la cuantificación del banco de semillas en el suelo (extractado de Ayala, 2001).

3.5.1.1.1 Germinación de las semillas del banco

Se tomaron muestras provenientes del banco de semillas muestreado en enero del 2002 y se las sometieron a dos tratamientos de ruptura de dormancia comparándolas con un testigo. Dichos tratamientos consistieron en aplicación de frío (5°C) por una semana y escarificado (proceso mecánico de ruptura de la cutícula de la semilla) determinándose posteriormente los porcentajes de germinación en

condiciones controladas. Las determinaciones se llevaron a cabo en tres oportunidades a intervalos de cinco días (30 de agosto, 3 y 9 de setiembre). Cada tratamiento tuvo dos y tres repeticiones para lotus y trébol blanco respectivamente.

3.5.1.2 Vigor inicial

Para aquellos tratamientos de acondicionamiento del tapiz que incluyeron agregado de semilla, en junio de 2002 (a los 50 días de la resiembra) se midió el vigor de las plántulas emergidas que en ese momento se encontraban entre 1 a 3 hojas verdaderas. Se recolectaron 5 plántulas por cada especie, en cada una de las subparcelas. Las mediciones realizadas fueron altura de planta, largo de raíces, número de hojas verdaderas y peso seco de la parte aérea y radicular.

3.5.1.3 Producción de forraje

El rendimiento de la pastura y de cada uno de sus componentes se determinó en 3 evaluaciones mediante cortes con una pastera experimental efectuados el 30 de setiembre, 19 de noviembre y 14 de marzo de 2003. En todos los casos se cortó para cada tratamiento un área de 5 m², a una altura de 4-5 cm.

El material verde de cada subparcela muestreada se pesó en el campo y se tomaron dos submuestras que se llevaron al laboratorio. Una de ellas se pesó en base fresca y luego del secado en estufa a 60 °C durante 48 horas se pesó en base seca (para determinar el porcentaje de materia seca). La otra submuestra de aproximadamente 100 g se utilizó para cuantificar la composición botánica del tapiz separándose los siguientes componentes: *Lotus corniculatus*, *Trifolium repens*, gramíneas perennes invernales, *Lolium multiflorum*, otras anuales invernales y malezas. Se registró su peso verde y materia seca.

3.5.1.4 Determinación de sobrevivencia

A partir del 21 de mayo (a las 5 semanas de la siembra y una vez que se consideró como establecido el mejoramiento), se contabilizaron a nivel de campo 10 plántulas para cada una de las especies, utilizando un cuadro rectangular de 0.7 m²

solamente para aquellos tratamientos de acondicionamiento del tapiz que incluyeron agregado de semilla. El objetivo fue evaluar la sobrevivencia de cada especie partiendo de dichos cuadros, los cuales se monitorearon mensualmente hasta la fecha del 3 de febrero. Las fechas de marcado de plántulas emergidas fueron: 21 de mayo, 24 de junio, 29 de julio y 21 de agosto. Se realizaron 5 repeticiones para cada fecha de emergencia. Las cinco parcelas en donde se ubicaron los cuadros fueron tomadas al azar.

3.5.2 Experimento 2

3.5.2.1 Producción de biomasa

Se evaluó el peso seco de parte aérea y raíces de 5 plantas pormaceta a los 60 días desde la emergencia, así como el número de hojas verdaderas.

3.5.2.2 Nodulación

Se determinó el número de nódulos efectivos (coloración rosada) y el número de nódulos con efectividad parcial o no efectividad (coloración blanca) localizados en la parte superior e inferior de la corona y estolón para lotus y trébol blanco respectivamente, en el momento que se hizo la determinación de biomasa.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información fue analizada usando el paquete estadístico SAS. Los datos fueron testeados para el cumplimiento de las asunciones de normalidad y homogeneidad de varianza, siendo transformados en aquellos casos que no cumplían tales requisitos. Se realizaron los análisis de varianza y separación de medias correspondientes (MDS 5%).

3.6.1 Diseño experimental.

Experimento 1

El diseño experimental empleado fue parcelas divididas completamente aleatorizadas con 4 repeticiones. En las parcelas mayores se ubicaron los diferentes manejos previos: (S1 4 cm; S1 10 cm; S2 4 cm; S2 10 cm). Cada parcela mayor (110 m²) se dividió en 4 parcelas menores o subparcelas (27.5 m²) en las que se evaluó el acondicionamiento del tapiz combinado con el agregado o no de semilla de lotus y trébol blanco (arrase, herbicida, arrase + semilla, herbicida + semilla).

Experimento 2

Para el experimento 2 realizado en condiciones de invernáculo se utilizó un diseño en bloques al azar con 4 repeticiones siendo los pots dentro de cada bloque rotados semanalmente.

Modelo estadístico general

$$X_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \delta_k + \epsilon_{ijk} + \rho_l + \gamma_m + \rho\gamma_{lm} + \alpha\rho_{il} + \alpha\gamma_{im} + \beta\rho_{jl} + \beta\gamma_{jm} + \alpha\beta\rho_{ijl} + \alpha\beta\gamma_{ijm} + \alpha\rho\gamma_{ilm} + \beta\rho\gamma_{ilm} + \alpha\beta\rho\gamma_{ijlm} + \epsilon_{ijklm}$$

μ = media del experimento

ρ = semilla

ϵ_{ijk} = error a

α = estrategia

γ = disturbio

ϵ_{ijklm} = error b

β = intensidad

δ = bloque

$i = 1-2$

$j = 1-2$

$k = 1-4$

$l = 1-2$

$m = 1-2$

4. RESULTADOS

En primera instancia se presenta la información obtenida de los parámetros climáticos (temperatura, precipitaciones y heladas) correspondiente al período evaluado y a la serie histórica 1992-2002 (Sección 4.1). En segundo término los resultados correspondientes a la evaluación de los bancos de semillas del suelo para lotus y trébol blanco; así como los porcentajes de germinación de las semillas presentes en el banco bajo diferentes tratamientos (Sección 4.2). Seguidamente se presenta la información referente a la determinación del vigor de las plántulas emergidas a los 50 días de la siembra (Sección 4.3). En la Sección 4.4 se exponen los rendimientos de la pastura y de sus componentes para las tres evaluaciones efectuadas y para la producción total anual. Finalmente se presenta la información sobre la sobrevivencia de las plántulas (Sección 4.5) y la respuesta de trébol blanco y lotus a la inoculación o no con cepas de rizobio específico (sección 4.6).

4.1 PARÁMETROS CLIMÁTICOS

Con respecto al clima de la región, Carámbula (1997) citado por Pérez del Castillo et al., (2000) menciona: “cabe destacar que la misma presenta condiciones que no tienen homólogas en el mundo. En tal sentido, se trata de una región de transición entre los ambientes templado y subtropical, bastante indefinida con características tan específicas que permiten que no exista un clima concreto sino simplemente un estado del tiempo”. Este autor señala que la presencia de cambios diarios bruscos en la temperatura y la ocurrencia de períodos impredecibles de sequía y excesos de humedad, entre otros, convergen en forma concluyente a definir éstas situaciones.

A continuación se incluyen datos de temperaturas media, máximas y mínimas mensuales (Figura 5) y número de días con heladas (Figura 6) (Estación Meteorológica Paso de la Laguna, INIA Treinta y Tres) y de precipitaciones (Estación Meteorológica Palo a Pique, INIA Treinta y Tres), para el año del experimento como para el período 1992-2002 (Figura 7).

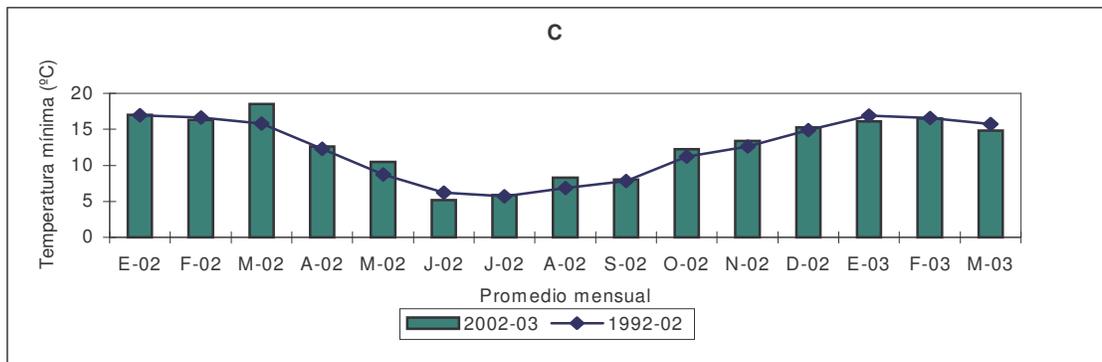
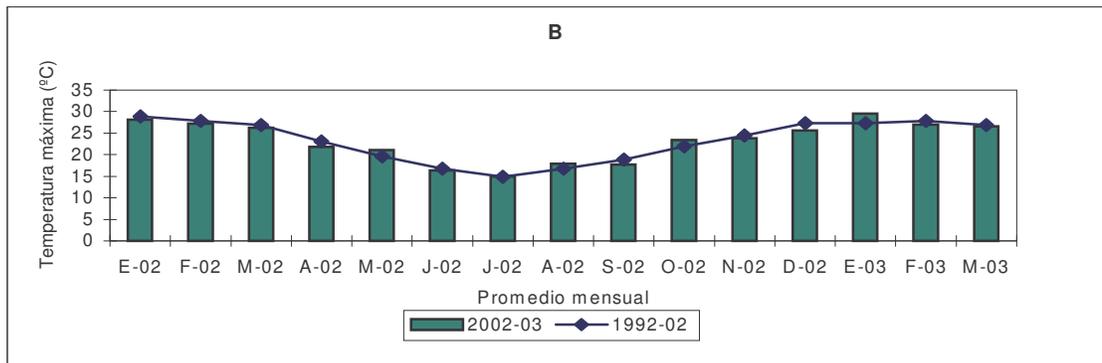
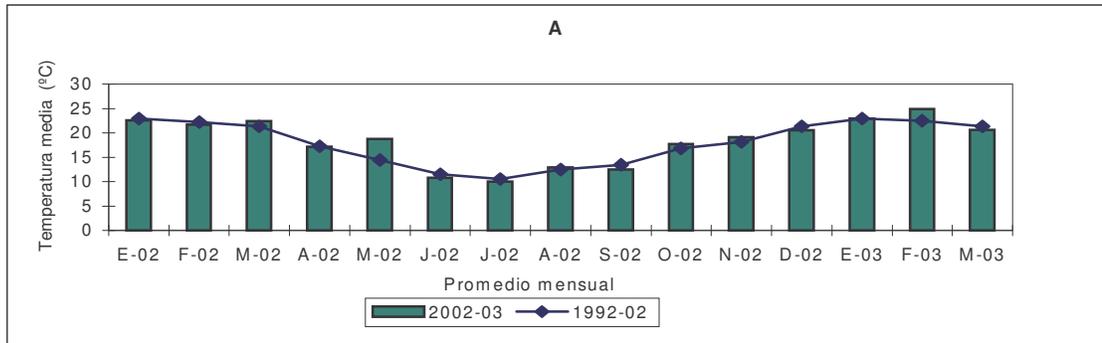


Figura 5. Temperatura media (A), máxima (B) y mínima del aire (C) (promedio mensual) para el año del experimento y para la serie 1992-2003.

Para el año del experimento las temperaturas máximas, mínimas y medias no registraron grandes diferencias con respecto al promedio para la serie 1992-2002, aunque tanto la temperatura máxima de enero 2003 así como la media de febrero 2003 superaron los promedios históricos. Durante el invierno, en particular para junio de 2002, se registraron mínimos inferiores a la serie histórica situación que se revierte para el mes de agosto de 2002.

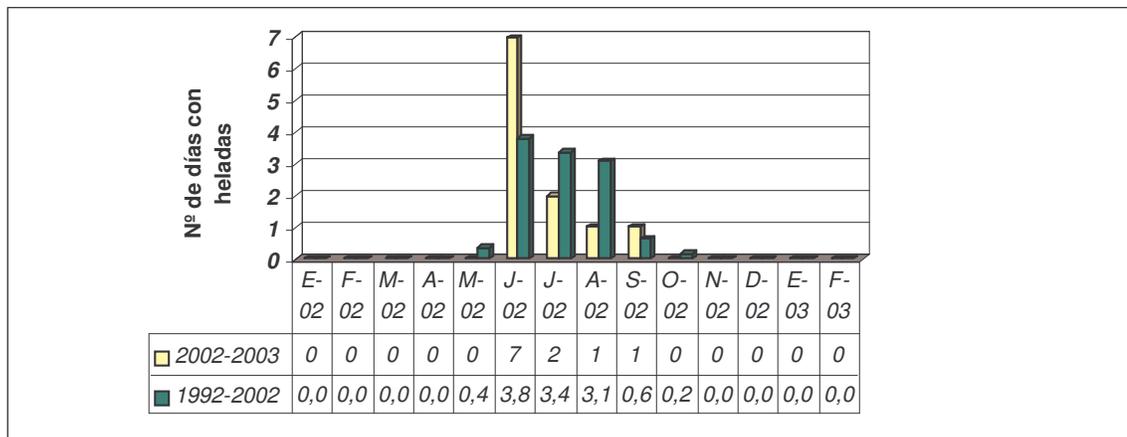


Figura 6. Número de días con ocurrencia de heladas para el año del experimento (2002-2003) y para la serie 1992-2002.

Para el año del experimento el número de heladas ocurridas en el mes de junio se ubicó por encima del promedio para la serie de años (Figura 6).

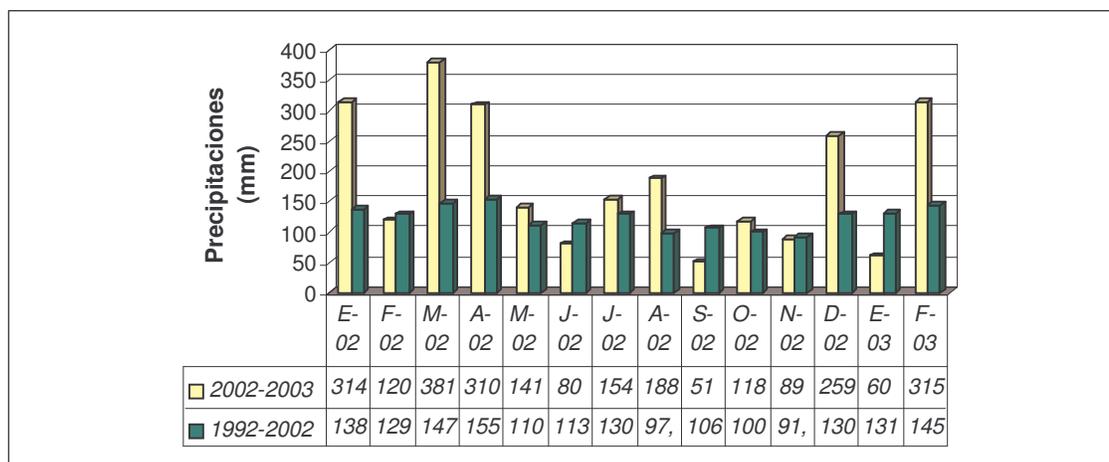


Figura 7. Precipitaciones mensuales registradas en el año del experimento (2002-2003) y promedio de la serie 1992-2002.

A la información brindada en la figura 7 resulta importante agregar que el total de las precipitaciones ocurridas en el año 2002-2003 fué de 2781 mm y el promedio de la serie período 1992-2002 de 1728 mm, de lo que resultó un 60% más de precipitaciones para el año en estudio respecto a la serie histórica (Figura 7).

4. 2 BANCO DE SEMILLAS

4.2.1 Reservas en el suelo

El banco de semillas de trébol blanco y *Lotus corniculatus* había sido evaluado anteriormente en tres oportunidades realizando el muestreo inicial en abril de año 1998. En dicho año se establecieron las estrategias (S1 y S2) e intensidades de defoliación (4 y 10 cm). Los muestreos se repitieron en los otoños del año 1999 y 2000 (Ayala, 2001; Machado y Nuñez, 2002). Para el año 2001 no se realizaron evaluaciones. A los efectos de éste trabajo, en marzo de 2002 se realizó la cuarta evaluación con el propósito de cuantificar el potencial regenerativo de la pastura.

La evolución del banco de semillas para cada una de las especies consideradas registró, en general un pico en el año 1999, caracterizado por un incremento importante de las reservas de dichos bancos (Figuras 8 y 9).

Para lotus se observa una caída importante en las reservas entre el tercer y fines del sexto año de la pastura para todas las situaciones evaluadas, siendo el manejo con descansos en verano y pastoreo aliviado (S2-10 cm) el que mantuvo el mayor nivel de reservas (Figura 8).

En el caso de trébol blanco, las reservas a fines del sexto año fueron superiores que las de lotus, con una tendencia a mostrar valores mayores en los tratamientos que se pastorearon a 10 cm independientemente de las estrategias (S1 y S2) (Figura 9).

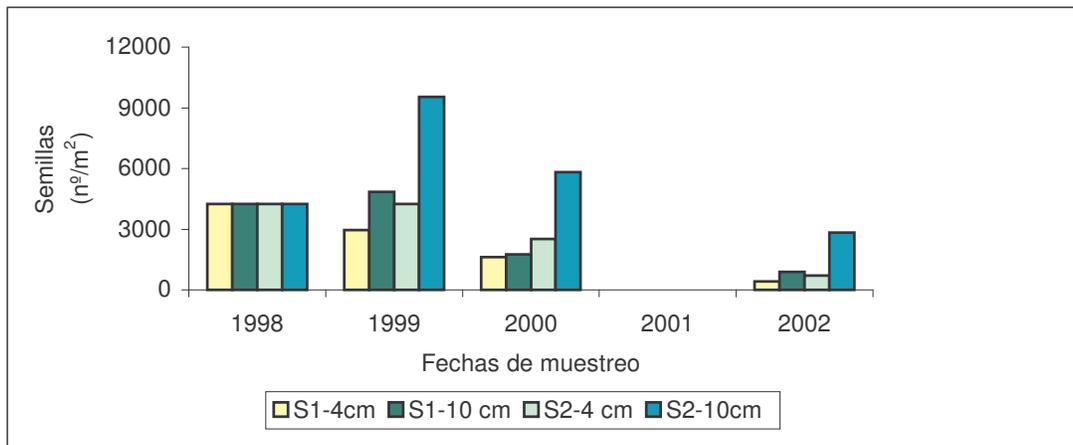


Figura 8. Evolución del banco de semillas de lotus (n°/m^2) en un mejoramiento de trébol blanco-lotus sembrado en el año 1996, para diferentes estrategias e intensidades de defoliación.

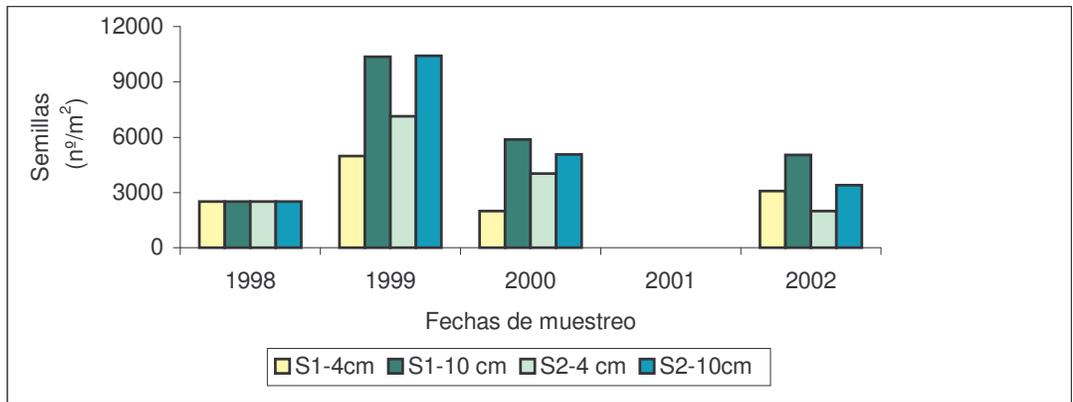


Figura 9. Evolución del banco de semillas de trébol blanco (n°/m^2) en un mejoramiento de trébol blanco-lotus sembrado en el año 1996, para diferentes estrategias e intensidades de defoliación.

En la evaluación de otoño de 1999 se determinó que el banco fue afectado significativamente por las estrategias de defoliación ($p < 0.05$) y por la intensidad de defoliación ($p < 0.05$). Se detectó una reducción de 10% en el número de semillas/m² de lotus respecto al año 1998 en el tratamiento sin descanso para semillazón (S1), mientras que los tratamientos con descanso estival para semillazón (S2) registraron un incremento de 59%. En cambio para trébol blanco no se registró interacción significativa estrategia*intensidad. El tratamiento sin descanso fue similar al que presentó alivio de verano (S1=S2).

El banco de semillas de lotus en marzo de 2000 fue nuevamente afectado por las estrategias y las intensidades de defoliación ($p < 0.01$ en ambos casos). El sistema que permitió descanso de verano (S2) incrementó el tamaño del banco de semillas frente al sistema con pastoreo frecuente (S1). Los pastoreos más intensos redujeron el banco de semillas en comparación con el pastoreo más aliviado (10 cm).

Para trébol blanco la reserva de semillas fue afectada por la intensidad de defoliación ($p < 0.01$), no registrándose un efecto del cierre estival. Con defoliaciones a 4 cm se registró una reducción de las reservas del banco de semillas de trébol blanco comparado con defoliaciones a 10 cm. La cantidad de semillas del banco de trébol blanco se incrementó al final del primer año de evaluación (1998), disminuyendo luego aunque permaneciendo con valores más altos que los valores iniciales.

En la evaluación del año 2002 para lotus se detectó una interacción significativa entre estrategias e intensidades de defoliación ($p < 0.01$) en el n^o de semillas/m². Para la estrategia que había recibido pastoreos sin descanso todos los años anteriores (S1), no se determinaron diferencias en las reservas de semilla al cambiar la intensidad de defoliación de 4 a 10 cm (Cuadro 3). Para la estrategia con descanso de verano (S2), el pastoreo a 10 cm incrementó las reservas en 2107 semillas/m² respecto a los tratamientos con pastoreo intenso (4 cm). El tratamiento S2-10 cm fue significativamente superior a los demás tratamientos evaluados.

El peso de mil semillas de lotus en el año 2002, no se vio afectado por los manejos realizados al igual que lo ocurrido en los años 1999 y 2000, registrándose un peso promedio de mil semillas de 1.01g (Cuadro 3).

En marzo de 2002 las reservas de semillas de trébol blanco medidas en n^o/m² fueron afectadas por la intensidad de defoliación ($p < 0.05$), al igual que lo ocurrido en años anteriores. Con pastoreos severos a 4 cm se registró una reducción de reservas de las semillas de trébol blanco de 40 % comparado con pastoreos a 10 cm. Al igual que en años anteriores no se detectó efecto del alivio de verano (S1=S2). El peso de mil semillas de trébol blanco en el año 2002, no se vio afectado por los manejos realizados al igual que lo ocurrido en los años 1999 y 2000, registrándose un peso promedio de mil semillas de 0.61g (Cuadro 3). Se detectó una tendencia de interacción significativa entre estrategia e intensidad de defoliación ($p = 5.8\%$), siendo los pesos del tratamiento S1-4 cm, significativamente superiores a los demás (Cuadro 3).

Cuadro 3. Banco de semillas del suelo (expresado en nº semillas/m²) y peso de mil semillas (g) de trébol blanco y lotus en un mejoramiento de campo bajo diferentes estrategias de defoliación en su sexto año (año 2002).

Manejos previos	Lotus		Trébol blanco	
	Semillas (nº/m ²)	Peso de mil semillas (g)	Semillas (nº/m ²)	Peso de mil semillas (g)
S1 – 4 cm	429 b	0.78	3067 a	1.04
S1 – 10 cm	895 b	1.04	5038 a	0.47
S2 – 4 cm	715 b	1.11	1972 b	0.46
S2 – 10 cm	2823 a	1.13	3403 a	0.48
Significancia				
Estrategia (E)	**	ns	ns	ns
Intensidad (I)	**	ns	*	ns
(E) x (I)	**	ns	ns	ns (5.8%)

** , p<0.01; * , p<0.05; ns, no significativo

4.2.2 Germinación de las semillas del banco

Las semillas de lotus y trébol blanco provenientes del banco presente en el suelo mostraron porcentajes de germinación de 6 y 30% respectivamente cuando las mismas no recibían ningún tratamiento previo. Con la aplicación previa de frío durante una semana fue posible mejorar en parte los porcentajes de germinación, especialmente para trébol blanco (37%). Sin embargo, un tratamiento de semilla más intenso como el escarificado mejoró sustancialmente la germinación alcanzando valores superiores al 70% en ambas especies (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de germinación de semillas de trébol blanco y lotus bajo diferentes pretratamientos .

Leguminosa	Testigo	Frío	Escarificado
Trébol blanco	30±5.8	37±0.6	73±4
Lotus	6±2.1	9±3.5	92±4.9

4.3 VIGOR INICIAL

Para los parámetros de desarrollo de plántulas (altura, peso seco de parte aérea y número de hojas verdaderas) de las especies sembradas, medidos a los 50 días post-siembra, no se detectaron diferencias ni entre especies ni entre manejos previos. Respecto al largo de raíces, trébol blanco mostró mayor largo que lotus. También se

registró un efecto significativo del acondicionamiento ($p < 0.01$ en ambos casos) en largo y en peso seco de las raíces, incrementándose ambos parámetros cuando se aplicó herbicida (Cuadro 5).

Cuadro 5. Parámetros de desarrollo de plántulas en trébol blanco y lotus (altura, largo de raíz, peso seco aéreo, peso seco raíces y nº de hojas verdaderas), determinados a los 50 días de la siembra bajo dos manejos de acondicionamiento de tapiz previo a la siembra.

Espece	Acondicionamiento de tapiz	Altura planta (cm)	Largo raíz (cm)	Peso seco parte aérea (g)	Peso seco raíces (g)	Hojas verdaderas (hojas/planta)
T. blanco	Arrase	3.09	3.05	0.04	0.02	2
T. blanco	Herbicida	3.90	3.59	0.06	0.03	2
Lotus	Arrase	3.78	2.43	0.08	0.02	2
Lotus	Herbicida	3.51	3.16	0.30	0.03	1
Significancia						
Espece (E)		ns	*	ns	ns	ns
Acondicionamiento tapiz (TT)		ns	**	ns	**	ns
(E) x (TT)		ns	ns	ns	ns	ns

** , $p < 0.01$; * , $p < 0.05$; ns, no significativo

4.4 PRODUCCIÓN DE FORRAJE

4.4.1 Producción al 1er corte (30/9)

En el cuadro 6 se presenta la producción de forraje al 1er corte (30/9) a los 165 días de la siembra, con un resumen de todos los efectos estudiados. Para el total de la materia seca y para la contribución de trébol blanco se detectó interacción significativa estrategia de defoliación previa* acondicionamiento del tapiz previo a la siembra ($p < 0.05$ en ambos casos). No se detectaron efectos de ningún tipo en la producción de lotus.

Cuadro 6. Producción al primer corte (MS, kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos.

Estrategia de defoliación (E)	Intensidad de defoliación (I)	Acond. de tapiz (TT)	Agregado o no de semilla	MS	TB	L	RG	OTAN	GP	MZ
				S1	4 cm	A	Sem	423	26	7
S1	4 cm	A	No sem	291	14	1	66	47	130	33
S1	4 cm	H	Sem	334	10	6	198	98	16	6
S1	4 cm	H	No sem	610	1	0	413	151	26	19
S1	10 cm	A	Sem	246	53	4	55	37	70	27
S1	10 cm	A	No sem	503	5	6	79	74	251	88
S1	10 cm	H	Sem	678	15	2	508	119	31	3
S1	10 cm	H	No sem	621	3	2	404	162	35	15
S2	4 cm	A	Sem	631	162	6	59	140	216	48
S2	4 cm	A	No sem	605	100	8	57	170	180	90
S2	4 cm	H	Sem	441	14	3	106	180	81	57
S2	4 cm	H	No sem	374	1	1	79	183	94	16
S2	10 cm	A	Sem	544	57	8	114	115	201	49
S2	10 cm	A	No sem	501	44	3	69	116	221	48
S2	10 cm	H	Sem	361	7	7	226	63	44	14
S2	10 cm	H	No sem	666	5	3	346	221	70	21
Significancia										
(E)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (I)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(TT)				ns	ns	ns	**	*	**	**
Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(TT) x agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (TT)				*	*	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (I) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (I) x Agregado o no de semilla				ns	*	5.7	ns	ns	ns	ns
(I) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns, no significativo; *, p<0.05; **, p<0.01

Referente a la producción de materia seca, se determinó que aquellos tratamientos que tenían un manejo en años anteriores de descanso en verano (S2) produjeron más forraje que aquellos bajo pastoreo frecuente todo el año (S1), cuando el acondicionamiento en el año 2002 era en base a un arrase intenso. Para los que recibieron la aplicación de herbicida no se detectaron diferencias en la producción como consecuencia de los manejos previos y ambos fueron similares al tratamiento S1 con arrase (Cuadro 7).

La contribución del trébol blanco fue en general escasa, observándose también una interacción significativa estrategia de defoliación*acondicionamiento del tapiz previo a la siembra (p<0.05). Se detectó que aquellos tratamientos que habían recibido descansos de verano en años previos produjeron más que aquellos que habían sido sometidos a pastoreo frecuente sin descansos de verano, cuando el acondicionamiento previo a la siembra fue un arrase intenso. Cuando el acondicionamiento fue en base a

la aplicación de herbicida, no se detectaron diferencias en la producción de trébol blanco por efecto de los manejos de defoliación anteriores (Cuadro 7).

Cuadro 7. Producción al primer corte (MS, kg/ha) del total de materia seca y de trébol blanco para la interacción estrategia de defoliación previa*métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.

Estrategia de defoliación	Acondicionamiento del tapiz	Materia seca	Trébol blanco
S2	Arrase	571 a	91 a
S2	Herbicida	461 ab	7 b
S1	Arrase	366 b	24 b
S1	Herbicida	561 ab	7 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes (p<0.05)

La producción del lotus al primer corte fue baja e inferior a la registrada para trébol blanco. No se detectaron efectos de ningún tipo en la producción de lotus aunque sí una tendencia a registrarse una interacción significativa estrategia de defoliación*intensidades de defoliación en manejos previos*agregado de semilla (p=5.7%). Esta tendencia muestra que el tratamiento bajo pastoreo frecuente e intenso en años previos (S1-4 cm) sin agregado de semilla en el año 2002 produjo significativamente menos que las demás situaciones (Cuadro 8).

Cuadro 8. Producción de materia seca de lotus al primer corte (kg/ha) para la interacción estrategia de defoliación previa * intensidad de defoliación * agregado de semilla.

Estrategia de defoliación	Intensidad de Defoliación	Agregado de Semilla	Lotus
S1	4 cm	Con semilla	6 a
S1	4 cm	Sin semilla	1 b
S1	10 cm	Con semilla	3 a
S1	10 cm	Sin semilla	4 a
S2	4 cm	Con semilla	5 a
S2	4 cm	Sin semilla	4 a
S2	10 cm	con semilla	7 a
S2	10 cm	Sin semilla	3 a

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes (p<0.05)

Para las gramíneas perennes la producción de forraje fue significativamente afectada (p<0.05) por el acondicionamiento previo del tapiz. La aplicación de herbicida redujo la producción un 72% cuando fue comparado con el arrase. Respecto a raigrás y otras gramíneas anuales, se observaron diferencias significativas para el acondicionamiento previo del tapiz (p<0.05 y p<0.01 respectivamente). La aplicación de glifosato aumentó la producción de raigrás en 3.9 veces y la de otras gramíneas

anuales un 50% cuando fue comparado con el arrase. Otros manejos previos no afectaron dichos incrementos (Cuadro 9).

En el caso de las malezas, también se detectó un efecto significativo ($p < 0.01$) del acondicionamiento del tapiz. La aplicación de herbicida redujo la acumulación un 63% respecto al arrase.

Cuadro 9. Producción de materia seca al primer corte (kg/ha) de raigrás, otras gramíneas anuales, gramíneas perennes y malezas, para dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.

Acondicionamiento de tapiz	Raigrás	Otras gramíneas anuales	Gramíneas perennes	Malezas
Herbicida	285 a	146 a	50 b	21 b
Arrase	73 b	97 b	179a	57 a
<i>Significancia</i>	**	*	**	**

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$); **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$

4.4.2 Producción de forraje al segundo corte (19/11)

En el segundo corte de evaluación realizado en el mes de noviembre (19/11) para un período de acumulación de 50 días a partir del último corte, la producción de forraje promedio fue de 3305 kg/ha de MS. El rendimiento estuvo compuesto de 10, 6, 72 y 13% de trébol blanco, lotus, gramíneas y malezas respectivamente. En general, la contribución de las leguminosas se duplicó con el consecuente aumento en la producción de forraje respecto al primer corte. Los efectos principales e interacciones estudiados se resumen en el cuadro 10.

Cuadro 10. Producción al segundo corte (MS, kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos.

Estrategia de defoliación (E)	Intensidad de defoliación (I)	Acond. de tapiz (TT)	Agregado o no de semilla	MS	TB	L	RG	OTAN	GP	MZ
				S1	4 cm	A	Sem	3211	295	49
S1	4 cm	A	No sem	2692	90	182	553	35	1637	195
S1	4 cm	H	Sem	9545	1962	1536	3004	760	136	2147
S1	4 cm	H	No sem	3466	128	15	1468	49	1537	269
S1	10 cm	A	Sem	3110	380	45	563	147	1684	291
S1	10 cm	A	No sem	3458	198	310	1233	77	1419	221
S1	10 cm	H	Sem	3096	205	48	2267	80	132	364
S1	10 cm	H	No sem	2740	26	14	2393	10	146	151
S2	4 cm	A	Sem	1937	399	142	160	155	888	193
S2	4 cm	A	No sem	2940	53	2	842	20	1847	176
S2	4 cm	H	Sem	2588	274	209	858	106	572	569
S2	4 cm	H	No sem	2847	420	18	383	163	953	910
S2	10 cm	A	Sem	3276	296	40	846	115	1645	334
S2	10 cm	A	No sem	2776	172	13	531	67	1887	106
S2	10 cm	H	Sem	2767	144	89	1741	56	200	535
S2	10 cm	H	No sem	2438	117	188	1747	45	221	118
Significancia										
(E)				ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
(I)				ns						
(E) x (I)				ns						
(TT)				ns	ns	ns	**	ns	ns	ns
Agregado o no de semilla				ns						
(TT) x agregado o no de semilla				ns						
(E) x (TT)				ns						
(E) x Agregado o no de semilla				ns						
(I) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
(I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
(E) x (I) x (TT)				ns						
(E) x (I) x Agregado o no de semilla				ns						
(I) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns						
(E) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns						

ns, no significativo; *, p<0.05; **, p<0.01

La producción total de materia seca y aporte del trébol blanco, lotus, otras gramíneas anuales y malezas no fue afectada significativamente por ninguno de los tratamientos aplicados.

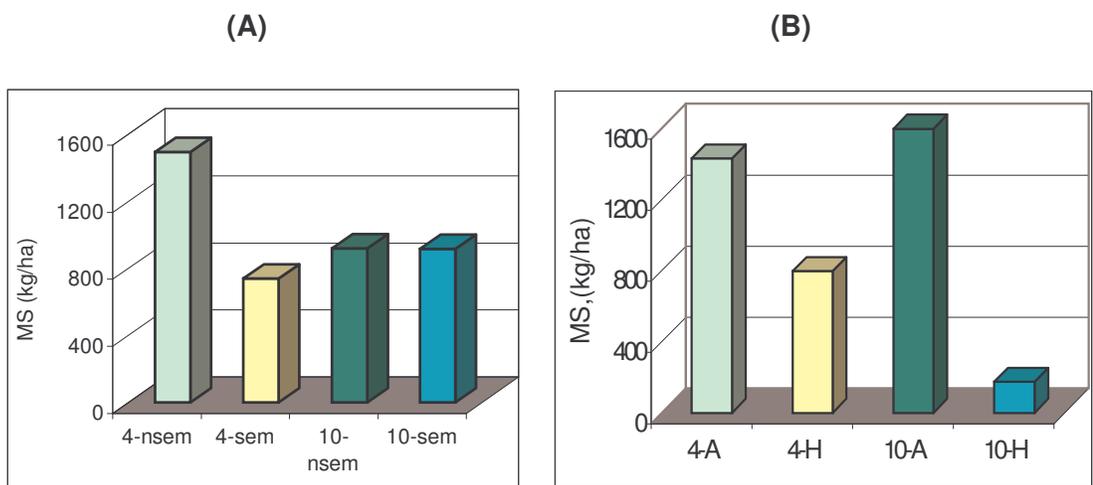
Solamente fueron afectadas significativamente las producciones de forraje correspondientes a raigrás y gramíneas perennes. Para raigrás, se registraron efectos significativos del acondicionamiento del tapiz (p<0.01) y la estrategia de defoliación anterior (p<0.05), observándose un incremento sustancial del rendimiento cuando el manejo anterior consistió en pastoreos frecuentes (S1) o recibió la aplicación de herbicida (Cuadro 11).

Cuadro 11. Producción de materia seca al segundo corte (kg/ha) de raigrás, para dos estrategias de defoliación previa y dos métodos de acondicionamiento de tapiz previo a la siembra.

Tratamientos	Raigrás
Acondicionamiento de tapiz	
Herbicida	1773 a
Arrase	724 b
Estrategias de defoliación	
Pastoreo frecuente (S1)	1569 a
Pastoreo frecuente con descanso (S2)	888 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) dentro de cada tratamiento principal

En gramíneas perennes, se detectó interacción significativa para el agregado de semilla e intensidad de defoliación y ésta última y acondicionamiento previo del tapiz ($p < 0.05$ en ambos casos). Para el caso en que se pastoreó intensamente el no agregado de semilla favoreció la producción de las gramíneas perennes. Se destaca el efecto que tiene la aplicación de herbicida sobre la reducción de las gramíneas perennes siendo mayor éste efecto cuando se viene de un pastoreo anterior menos intenso (Figura 10).



Altura post pastoreo (cm): 4 y 10; agregado y no agregado de semilla: (sem y nosem); arrase (A); herbicida:(H).

Figura 10. Producción de MS de las gramíneas perennes como resultado de A) intensidad de defoliación y agregado o no de semilla; y B) intensidad de defoliación y acondicionamiento del tapiz.

4.4.3 Producción de forraje al tercer corte (14/3)

La producción de forraje evaluada en el mes de marzo a los 115 días del último corte, alcanzó en promedio 3780 kg/ha de MS, presentándose todos los efectos principales e interacciones evaluados en el cuadro 12.

El lotus y el trébol blanco contribuyeron con 2 y 5% del total respectivamente mientras que las gramíneas se situaron en el 91% del total estando solamente constituidas por gramíneas perennes. Por su parte las malezas representaron 2.5% del total.

La producción total resultó afectada por el acondicionamiento del tapiz previo a la siembra ($p < 0.01$) y estrategias de defoliación en manejos anteriores ($p < 0.05$) no detectándose interacciones significativas. Se registró un 58% más de producción de MS cuando se utilizaba el método de arrase respecto a la aplicación de herbicida. A su vez se produjo una mayor acumulación cuando se había permitido el descanso de verano para semillar independientemente de la intensidad con que se realizaron las defoliaciones y el agregado o no de semilla (Cuadro 13).

La producción de trébol blanco resultó afectada significativamente por el agregado de semilla de trébol blanco ($p < 0.05$) con un incremento de más de dos veces en el forraje producido con respecto al tratamiento que no había recibido agregado de semilla (107 y 52 kg/ha para agregado y sin agregado de semilla respectivamente). Las estrategias e intensidades de defoliación de manejos anteriores así como los métodos de acondicionamiento del tapiz no presentaron efectos significativos.

La producción de lotus resultó afectada por las intensidades de defoliación de manejos anteriores ($p < 0.05$). El sistema más severo (4 cm) redujo la producción en un 78% cuando fue comparado con las que habían recibido pastoreo aliviado (284 y 63 kg/ha de MS para 10 cm y 4 cm respectivamente). No se registraron efectos significativos del acondicionamiento del tapiz ni del agregado o no de semilla.

Cuadro 12. Producción al tercer corte (MS kg/ha) del total de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos.

Estrategia de defoliación (E)	Intensidad de defoliación (I)	Acond. de tapiz (TT)	Agregado o no de semilla	MS	TB	L	RG	OTAN	GP	MZ
				S1	4 cm	A	Sem	4504	147	201
S1	4 cm	A	No sem	4625	60	5	0	0	4554	8
S1	4 cm	H	Sem	2758	65	85	0	0	2212	396
S1	4 cm	H	No sem	2720	70	54	0	0	2338	258
S1	10 cm	A	Sem	4517	69	354	0	0	4078	16
S1	10 cm	A	No sem	4040	64	181	0	0	3764	31
S1	10 cm	H	Sem	2831	37	233	0	0	2455	106
S1	10 cm	H	No sem	2659	26	289	0	0	2343	1
S2	4 cm	A	Sem	5021	190	38	0	0	4788	5
S2	4 cm	A	No sem	4896	27	62	0	0	4728	79
S2	4 cm	H	Sem	3384	127	38	0	0	3219	0
S2	4 cm	H	No sem	3021	9	25	0	0	2711	276
S2	10 cm	A	Sem	4644	107	403	0	0	4093	39
S2	10 cm	A	No sem	4785	141	508	0	0	4055	81
S2	10 cm	H	Sem	3682	115	249	0	0	3285	33
S2	10 cm	H	No sem	2394	24	53	0	0	2108	209
Significancia										
(E)				*	ns	ns	-	-	*	ns
(I)				ns	ns	*	-	-	*	ns
(E) x (I)				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(TT)				**	ns	ns	-	-	**	*
Agregado o no de semilla				ns	*	ns	-	-	ns	ns
(TT) x agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(E) x (TT)				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(E) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	*
(I) x (TT)				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(E) x (I) x (TT)				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(E) x (I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(I) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	ns
(E) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	-	-	ns	ns

ns, no significativo; *, p<0.05; **, p<0.01

Cuadro 13. Producción total de materia seca al tercer corte (kg/ha) para dos estrategias de defoliación previas y dos acondicionamientos del tapiz a la siembra.

Tratamientos	Producción total de MS
Acondicionamiento de tapiz	
Arrase	4629 a
Herbicida	2931 b
Estrategias de defoliación	
Pastoreo frecuente con descanso (S2)	3978 a
Pastoreo frecuente (S1)	3582 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes (p<0.05) dentro de cada tratamiento principal

Dentro de las gramíneas en el corte de verano sólo se registraron gramíneas perennes. Se observaron efectos significativos del acondicionamiento del tapiz ($p < 0.01$) y estrategias e intensidades de defoliación anteriores ($p < 0.05$ para ambos casos). El acondicionamiento del tapiz en base a herbicida redujo en un 40% la producción de gramíneas en comparación con el arrase intenso (Cuadro 14).

Cuadro 14. Producción de materia seca al tercer corte (kg/ha) de gramíneas perenes para dos estrategias e intensidades de defoliación previa, y dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.

Tratamientos	Gramíneas perennes
Acondicionamiento del tapiz	
Arrase	4275 a
Herbicida	2583 b
Estrategia de defoliación	
Pastoreo frecuente con descanso (S2)	3623 a
Pastoreo frecuente (S1)	3234 b
Intensidad de defoliación	
4 cm	3585 a
10 cm	3272 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) dentro de cada tratamiento principal

Se registró un efecto significativo del método de acondicionamiento del tapiz ($p < 0.05$) en la cantidad de malezas. La práctica de arrase mostró un 78% menos de enmalezamiento respecto al tratamiento con herbicida. Se detectó una interacción significativa entre estrategia de defoliación anterior y agregado de semilla ($p < 0.05$). En la misma se muestra que con descansos de verano para semillar (S2) y agregado de semilla se reduce el enmalezamiento en un 88% con respecto al no agregado, mostrando para el tratamiento bajo pastoreo frecuente en años previos (S1) un comportamiento opuesto (Cuadro 15).

Cuadro 15. Producción de materia seca de malezas al tercer corte (kg/ha) para el efecto de dos acondicionamientos del tapiz a la siembra y la interacción estrategia de defoliación * agregado o no de semilla.

Tratamientos	Malezas
Acondicionamiento del tapiz	
Herbicida	161 a
Arrase	36 b
Estrategia de defoliación* Agregado de semilla	
S2- sin semilla	161 a
S1- con semilla	135 ab
S1- sin semilla	76 ab
S2- con semilla	19 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) dentro de cada tratamiento principal

4.4.4 Producción anual

Se alcanzó una producción anual de 7575 kg/ha de MS con una contribución de 5, 6, 82 y 7% para lotus, trébol blanco, gramíneas y malezas respectivamente presentándose la significancia de los efectos estudiados en el cuadro 16. La proporción en que aportan los diferentes cortes a la producción de forraje total es de 6, 44 y 50 % para el primer (30/9), segundo (19/11) y tercer corte (14/3) respectivamente. En producción de forraje total anual no se detectaron efectos significativos de los tratamientos principales ni interacciones significativas (Cuadro 16).

De la producción anual de forraje de trébol blanco el 75 % de la misma está explicada por el aporte realizado en primavera experimentándose una reducción de 4 veces para el verano. Se registró un efecto significativo del agregado de semilla ($p < 0.05$) en la producción anual de trébol blanco, incrementándose su aporte 2.8 veces cuando se agregó semilla en el otoño (644 y 224 kg/ha de MS agregado y sin agregado de semilla respectivamente).

Para lotus no se registraron efectos de los tratamientos principales ni interacciones significativas para la producción total anual. La producción anual de lotus fue de 358 kg/ha de MS.

Cuadro 16. Producción total anual de materia seca (MS) y de sus componentes trébol blanco (TB), lotus (L), raigrás (RG), otras gramíneas anuales (OTAN), gramíneas perennes (GP) y malezas (MZ) en kg/ha de MS de un mejoramiento con distintos métodos de rejuvenecimiento y manejos previos.

Estrategia de defoliación (E)	Intensidad de defoliación (I)	Acond. de tapiz (TT)	Agregado o no de semilla	MS	TB	L	RG	OTAN	GP	MZ
S1	4 cm	A	Sem	8138	467	256	1152	199	5657	407
S1	4 cm	A	No sem	7608	164	188	618	82	6321	235
S1	4 cm	H	Sem	12637	2038	1626	3202	858	2364	2551
S1	4 cm	H	No sem	6797	199	69	1881	201	3898	551
S1	10 cm	A	Sem	7872	502	403	618	184	5832	333
S1	10 cm	A	No sem	8005	267	496	1312	150	5434	346
S1	10 cm	H	Sem	6605	256	283	2775	198	2617	477
S1	10 cm	H	No sem	6020	55	304	2797	172	2524	168
S2	4 cm	A	Sem	7588	750	186	219	294	5891	248
S2	4 cm	A	No sem	8440	178	72	898	182	6755	358
S2	4 cm	H	Sem	6412	415	249	964	277	3872	636
S2	4 cm	H	No sem	6242	431	44	462	346	3758	1203
S2	10 cm	A	Sem	8464	461	451	959	230	5939	423
S2	10 cm	A	No sem	8061	356	523	599	183	6164	237
S2	10 cm	H	Sem	6810	266	345	1966	118	3529	587
S2	10 cm	H	No sem	5497	146	244	2094	266	2400	350
Significancia										
(E)				ns	ns	ns	*	ns	**	ns
(I)				ns	ns	ns	ns	ns	**	ns
(E) x (I)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(TT)				ns	ns	ns	**	ns	**	ns(0.07)
Agregado o no de semilla				ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
(TT) x agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
(E) x (I) x (TT)				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (I) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(I) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(E) x (TT) x Agregado o no de semilla				ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns, no significativo; *, p<0.05; **, p<0.01

La producción anual de gramíneas alcanzó los 6212 kg/ha de MS, efectuando una contribución del 82% en el total anual. Dentro de las gramíneas, el raigrás mostró su mayor contribución en primavera (1228 kg/ha de MS). Se registró un efecto del manejo previo en años anteriores y del método de tratamiento de tapiz en la producción (p<0.05 y p<0.01 respectivamente). Las parcelas que en años anteriores estuvieron sometidas a un pastoreo frecuente durante todo el año (S1) mostraron un incremento en la producción de raigrás del 76% respecto a aquellas que recibieron alivios de verano (S2). Asimismo, la aplicación de glifosato como método de acondicionamiento incrementó el aporte de raigrás en 2.5 veces respecto al acondicionamiento bajo forma de arrase.

En el caso de otras gramíneas anuales no se encontraron efectos ni interacciones significativos de los tratamientos principales consecuentemente con lo ocurrido en primavera y verano.

Respecto a las gramíneas perennes, las mismas siempre constituyeron una proporción importante de la fracción de gramíneas representando 60% del total anual. Se detectaron efectos significativos de la estrategia de defoliación previa, de la intensidad de defoliación y del acondicionamiento del tapiz ($p < 0.01$ en todos los casos). Respecto a la estrategia de defoliación, se detectó un incremento del 10% en la producción de las gramíneas perennes cuando recibieron descansos de verano (S2) respecto a un manejo frecuente todo el año (S1). Considerando la intensidad de defoliación, se registraron mermas del 10% en la producción anual al pasar de 4 a 10 cm de altura. Con aplicación de herbicida se redujo el rendimiento en un 48% con relación al método de arrase (Cuadro 17).

Existió interacción significativa entre la intensidad de pastoreo de manejos anteriores y agregado o no de semilla ($p < 0.05$). Cuando no se agregó semilla para una altura de defoliación de 4 cm se encontró una mayor producción de forraje que aquella cuya defoliación fue a 10 cm.

Cuadro 17. Producción total acumulada de materia seca de gramíneas perennes (kg/ha) para dos estrategias e intensidades de defoliación y dos métodos de acondicionamiento de tapiz a la siembra.

Tratamientos	Gramíneas perennes
Acondicionamiento del tapiz	
Arrase	5999 a
Herbicida	3120 b
Estrategia de defoliación	
Pastoreo frecuente con descanso (S2)	4788 a
Pastoreo frecuente (S1)	4330 b
Intensidad de defoliación	
4 cm	4814 a
10 cm	4304 b

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) dentro de cada tratamiento principal

El aporte de las malezas en el total anual se situó en el 7.5%. Si bien no se encontraron efectos e interacciones significativas entre los tratamientos existió una tendencia ($p = 0.07$) a que con la aplicación de herbicida se incrementó el enmalezamiento, en 2.5 veces respecto al acondicionamiento con arrase.

4.5 SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS

A partir de las cuatro fechas establecidas para el marcado de emergencia de plántulas de trébol blanco y lotus (21 de mayo; 24 de junio; 29 de julio y 21 de agosto), se hizo el seguimiento de las mismas para evaluar el porcentaje de sobrevivencia según acondicionamiento previo del tapiz por arrase o herbicida, en tres momentos a partir de las fechas de marcado: 30 de setiembre, 11 de diciembre y 3 de febrero.

El promedio de sobrevivencia de plántulas al 30 de setiembre fue de 59%. El análisis estadístico no mostró un efecto significativo de la especie ni el acondicionamiento previo del tapiz sobre el porcentaje de sobrevivencia (Cuadro 18). En cambio sí se registraron diferencias entre fechas de emergencia de plántulas ($p < 0.01$). La onda de emergencia correspondiente al 29 de julio mostró al 30 de setiembre la mayor sobrevivencia (77%) superando a la emergencia del 21 de mayo y 24 de junio (53 y 44% respectivamente), pero siendo similar a la onda de emergencia del 21 de agosto (65%).

Cuadro 18. Sobrevivencia de plántulas de lotus y trébol blanco para cuatro fechas de emergencia de plántulas, al 30 de setiembre y 11 de diciembre.

Fechas de emergencia	Sobrevivencia al 30/9				Sobrevivencia al 11/12			
	Promedio		(%)		Promedio		(%)	
	(log 1 + x)	(%)	Lotus	Trébol blanco	(log 1 + x)	(%)	Lotus	Trébol blanco
21 mayo	1.678 bc	53	54	54	1.163	32	33	31
24 junio	1.457 c	44	44	44	0.733	21	22	19
29 julio	2.042 a	77	70	84	1.171	32	36	29
21 agosto	1.871 ab	65	74	57	1.210	33	43	26
Significancia	*				ns			

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$); *, $p < 0.05$; ns, no significativo

Para el 11 de diciembre, el promedio de sobrevivencia de plántulas fue de 29%. No se registraron efectos significativos de la especie, tratamientos de acondicionamiento del tapiz, ni de las diferentes fechas de emergencias.

Para el 3 de febrero, el promedio de sobrevivencia de plántulas fue 21%. El análisis estadístico mostró un efecto significativo para el acondicionamiento previo del tapiz ($p < 0.01$). Se registró un mayor porcentaje de sobrevivencia de plántulas con la aplicación de herbicida (25%) como método de acondicionamiento del tapiz respecto al arrase (17%) (Cuadro 19).

Cuadro 19. Efecto del acondicionamiento previo del tapiz en la sobrevivencia de plántulas de lotus y trébol blanco, al 3 de febrero.

Acondicionamiento del tapiz	Medias (log 1 + x)	(%)
Herbicida	0.930 a	25
Arrase	0.505 b	17
<i>Significancia</i>	**	

Medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$); **, $p < 0.01$.

Se registró interacción significativa fecha de emergencia* especie ($p < 0.05$) (Figura 11). Para trébol blanco el mayor porcentaje de sobrevivencia fue para la fecha de emergencia correspondiente al 21 de mayo (30%), mientras que para la emergencia de 21 de agosto se dio el menor porcentaje de sobrevivencia para esta especie (16%). En febrero los porcentajes de sobrevivencia de lotus fueron mayores para la fecha de emergencia correspondiente al 21 de agosto (29%); siendo la menor para la fecha de germinación de 21 de mayo (16%), contrariamente a lo ocurrido con trébol blanco.

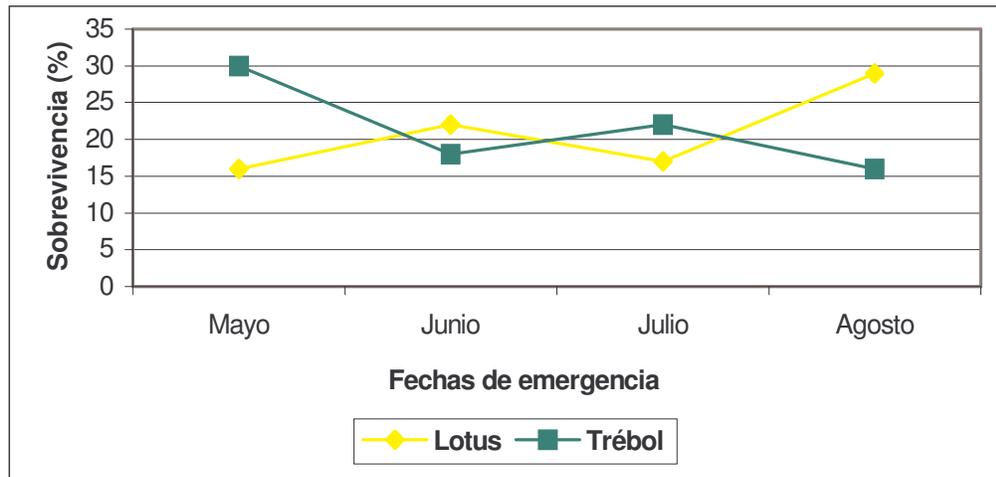


Figura 11. Porcentaje de sobrevivencia de lotus y trébol blanco para la interacción fecha de germinación* especie, al 3 de febrero.

A continuación se muestra los patrones de sobrevivencia a partir de las cuatro fechas de emergencia de plántulas de lotus y trébol blanco (Figuras 12 y 13).

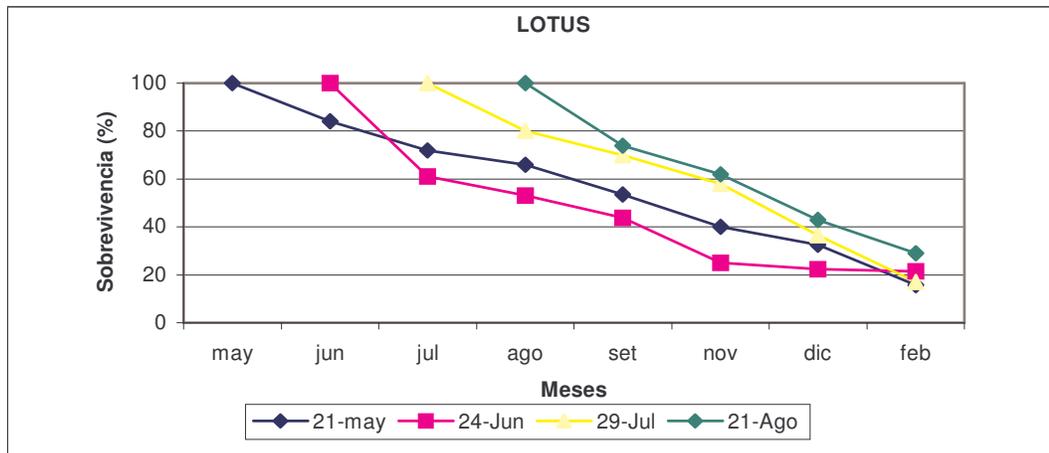


Figura 12. Patrones de sobrevivencia de plántulas de lotus entre mayo de 2002 y febrero 2003.

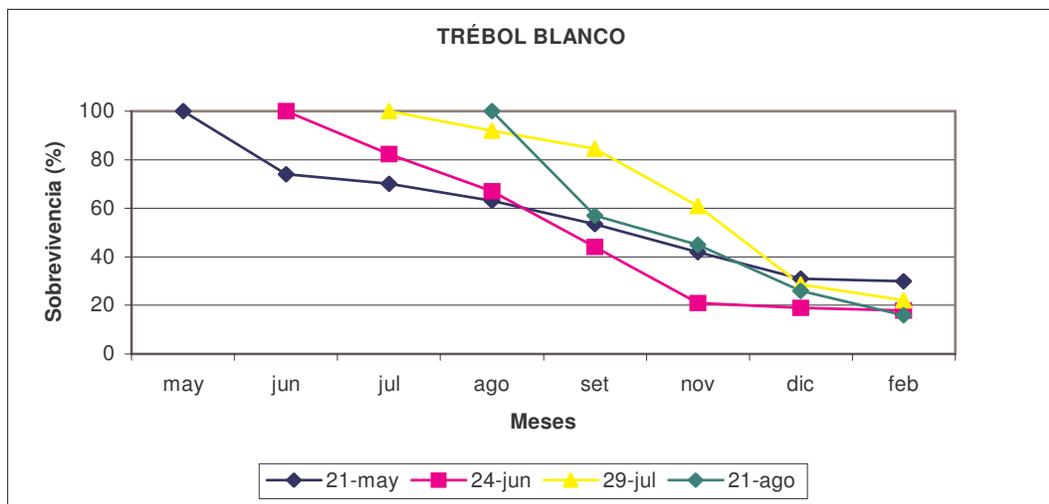


Figura 13. Patrones de sobrevivencia de plántulas de trébol blanco entre mayo de 2002 y febrero de 2003.

De acuerdo a las figuras 12 y 13, se registró una caída generalizada en los niveles de sobrevivencia hacia finales del verano en ambas especies, los que resultaron totalmente independientes de la fecha de emergencia. Esto confirma que aún en estados avanzados de desarrollo de las plántulas como son aquellos que pudieron ocurrir a fines de primavera y verano sigue ocurriendo una muerte importante de plántulas.

4.6 EFECTO DEL AGREGADO DE UNA SOLUCIÓN CON INOCULANTE

El agregado de una solución inoculante en muestras de suelo provenientes del sitio de evaluación (Experimento 2) en las que se había sembrado trébol blanco y lotus, incrementó a los 60 días de la siembra el peso seco de la parte aérea en 10 y 390% para lotus y trébol blanco respectivamente, mientras que el peso seco de las raíces se incrementó en 31 y 263% en ambas especies respectivamente (Cuadro 20).

El número de nódulos efectivos (coloración rosada) registró un aumento con el agregado de inoculante del 67% en trébol blanco mientras que en lotus registró una reducción del 12%. Asimismo, se observó un incremento del número de nódulos con efectividad parcial o no efectividad (coloración blanca) con 57 y 627% para lotus y trébol blanco respectivamente respecto a cuando no se agregó solución inoculante (Cuadro 20).

Cuadro 20. Efecto del agregado de una solución con inoculante en muestras de suelo en el que se sembraba semillas de trébol blanco y lotus en el peso seco de parte aérea y raíces (g/maceta) a los 60 días de la emergencia.

Parámetros	Lotus		Trébol blanco	
	No inoculado	Inoculado	No inoculado	Inoculado
Peso seco aéreo	0.139	0.153	0.214	1.050
Peso seco raíz	0.035	0.046	0.073	0.265
Plantas totales	34	31	57	68
Hojas verdaderas/planta	2.1	2.1	2.6	4.6
Nº nódulos efectivos/core	114	100	389	656
Nº nód.no efectivos/core	21	33	15	109

5. DISCUSIÓN

Resulta importante realizar algunas puntualizaciones que contribuyan, en base a los resultados obtenidos y la bibliografía disponible, a dilucidar parte de las interrogantes planteadas al comienzo del presente trabajo. Entre ellas es posible enumerar las siguientes:

- ¿Cuál es el verdadero rol del banco de semillas en el proceso regenerativo de la pastura?
- ¿Qué factores están limitando la expresión del banco de semillas?
- ¿Cómo cambia la productividad, dinámica y composición de la pastura como consecuencia de diferentes métodos de renovación?

5.1 TAMAÑO Y EVOLUCIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS

Los bancos de semillas del suelo evaluados se ubicaron en el rango de 429-2829 y 1972-5038 semillas/m² para lotus y trébol blanco respectivamente. Los manejos en años previos (estrategias e intensidades de defoliación) condicionaron el tamaño del banco de ambas especies. Otro de los factores determinante del tamaño del banco para ambas especies fue la respuesta diferencial a condiciones ambientales. En el año 1998 bajo condiciones favorables, lotus aumentó el banco de semillas en un 27% mientras que las reservas de trébol blanco se incrementaron en 228%. Esta superioridad en el tamaño del banco de semillas de trébol blanco con respecto a lotus se mantuvo hasta el año de la evaluación.

La cantidad de semilla en el banco resulta considerable al compararla con la densidad de siembra utilizadas a nivel comercial, las cuales se asumen en aproximadamente 666 semillas/m² para lotus (8 kg/ha) y 774 semillas/m² para trébol blanco (4.5 kg/ha). Se concluye en general que dicho banco de semillas, considerando únicamente su tamaño, sería capaz de asegurar poblaciones apropiadas de plantas.

5.2 FACTORES QUE LIMITAN LA EXPRESIÓN DEL BANCO DE SEMILLAS

No obstante, el enorme potencial que tiene el banco de semillas se reduce al considerar una serie de factores que limitan su verdadera expresión, entre los cuales se demostró la incidencia de la dureza de la semilla, su vigor y su capacidad de sobrevivencia así como la incidencia de la población de inóculo en el suelo.

Ambas especies estudiadas se caracterizan por poseer altos porcentajes de dureza, especialmente cuando la producción de semilla es producto de resiembras naturales sucesivas ya que estas no sufren los procesos de trilla y acondicionamiento determinantes de la escarificación de su cutícula. Carámbula reportó un porcentaje de dureza de 93% para lotus y Smetham (1973) citado por Muslera (1984) menciona una dureza de 80% para trébol blanco. En base a los estudios realizados, ambas especies presentaron bajos porcentajes de germinación, 30 y 6% para trébol blanco y lotus respectivamente.

Cuando son aplicados estímulos externos como frío y escarificado, se reduce significativamente el tiempo necesario para comenzar la imbibición y para completarla (Bewley y Black, 1994; López et al., 1999, Smartt, 1988 y Hilhorst, 1995 citados por Peña et al. 2002). Los resultados obtenidos mostraron que la escarificación mejoró los porcentajes de germinación, presentando valores de 73% para trébol blanco y 92% para lotus. Se consideran valores comparables con los resultados de Rai et al. (1999) quien reportó que semillas de trébol blanco luego de la escarificación presentaron 75% de germinación comparadas con semillas no tratadas (16%). Para lotus los resultados obtenidos fueron superiores a los reportados por Carámbula (1981) para semillas de lotus completamente procesada y escarificada (68%).

La dureza está asociada a la presencia de sustancias que le confieren impermeabilidad a la testa retardando la imbibición. En este sentido, Van Assche (2003) menciona la presencia de taninos condensados (compuestos fenólicos) en *Lotus corniculatus*. La impregnación de esta sustancia a paredes secundarias de la semilla confiere características impermeables, lo cual hace pensar en la interacción entre la presencia de taninos en la pared celular de cubiertas seminales y su papel en la impermeabilidad de semillas (Zavaleta, 2003).

El trébol blanco respondió en forma positiva a la exposición a bajas temperaturas mientras que para lotus este estímulo no mejoró el porcentaje de germinación. Esto coincide con lo mencionado por Arambarri et al. (1994) citado por Olmos (2001) quién sostiene que para reducir la dureza en esta especie se requiere mantener la semilla a bajas temperaturas (5 °C) durante 50 días previos a la siembra.

La vegetación que cubre la semilla es importante porque puede influir en la amplitud de la fluctuación de temperatura, que a su vez se correlaciona con los porcentajes de germinación (Bewley y Black, 1994). En este sentido los métodos de acondicionamiento de tapiz (herbicida y arrase) no fueron suficientemente efectivos como para activar el banco de semillas de las leguminosas lo cual es confirmado por la baja contribución que tuvieron en la producción anual de forraje.

El agregado de una solución con inoculante específico en condiciones de invernáculo también mejoró sustancialmente la implantación en trébol blanco al aumentar el peso seco aéreo y radicular así como el número de hojas verdaderas por planta. Date (1965) citado por Coll (1997) da cuenta de la presencia en lo suelos de

Uruguay de una población de rizobios nativa asociada a *T. polymorphum*, siendo éstas cepas inefectivas y parasitarias en trébol blanco. En esta especie el número de nódulos no efectivos se incrementó con el agregado de inoculante manifestando la habilidad competitiva relativa de la cepa introducida con la población nativa (Dutto, 2002). De todas formas la cepa introducida logró producir una nodulación temprana por lo que la nodulación inefectiva fue parcial (Coll, 1997). Una planta con nodulación mixta fijará N por debajo de su potencial (Coll, 1997).

Para lotus este comportamiento no fue observado, ello obedecería a una progresiva colonización del suelo por parte de rizobios efectivos derivados de inoculante. Las cepas introducidas en *Lotus corniculatus* se caracterizan por ser más persistentes que las de trébol blanco Dutto (2002) lo cual explica la respuesta diferencial a la cantidad de inóculo específico en ambas especies. De lo antedicho surge la importancia de la inoculación al momento de la instalación sobre todo para trébol blanco con el fin de lograr en forma confiable una nodulación temprana y eficiente dada la relativa sobrevivencia de las cepa introducida.

5.3 EFECTO DE LOS METODOS DE REJUVENECIMIENTO ESTUDIADOS

Los métodos de acondicionamiento de tapiz antes mencionados determinan que una cierta proporción de las semillas del banco (ubicadas en los primeros centímetros del perfil del suelo), sean las que quedan realmente expuestas a mayor amplitud de fluctuación de temperatura y con esto a mayor posibilidad de germinación. En base a los resultados obtenidos se desprende la necesidad de utilización de otros métodos que expongan a una mayor cantidad de las semillas del banco a factores medioambientales causantes de ruptura de dormancia. Posiblemente también se mejoraría la cantidad de plantas emergidas ya que en la mayoría de las leguminosas como menciona (Stickler y Wassom, 1963 citados por Cooper, 1977) las semillas ubicadas a profundidades mayores que 1.3 cm del perfil del suelo resultan en plántulas débiles.

La natalidad está asociada con el reclutamiento de nuevas plántulas a partir del banco de semillas del suelo y con la nueva población introducida por resiembra (recarga) (Olmos 2001). El agregado adicional de semilla para rejuvenecimiento del mejoramiento no fue la adecuada para que junto con las semillas provenientes del banco se lograra una buena densidad de plantas.

No obstante se suma, la baja eficiencia del proceso de reclutamiento de ambas especies, lo cual se refleja en el porcentaje de sobrevivencia de los individuos implantados. En este sentido se llegaron a sobrevivencias de 29 y 30% para lotus y trébol respectivamente. Pudo observarse que en estadios avanzados ocurre una muerte importante de plántulas lo cual concuerda con lo reportado por (Ayala et al. 2002) quién menciona que la sobrevivencia tiende a disminuir en estadios de plántulas

más desarrollados, sugiriendo que un alto porcentaje de muertes ocurre luego del estadio de cuatro hojas verdaderas. Esto se contradice a lo reportado por Fenner (1987) quien reporta que la susceptibilidad de las plántulas al común de todos los riesgos (sequía, competencia y pastoreo) se encuentra en los estadios más tempranos.

El mayor porcentaje de mortalidad de plántulas se registró para la estación de primavera (50%), probablemente la competencia ejercida por el mayor crecimiento de la vegetación en ésta estación fue causante de esta mortalidad. La mortalidad correspondiente al período otoño invierno fue igualmente elevada (40%), estando asociada a las fechas de emergencia. En este sentido aquellas plántulas que emergieron en julio-agosto fueron las que presentaron mayor porcentaje de sobrevivencia respecto a las que lo hicieron en otoño (mayo-junio). Esto podría estar asociado con el número de heladas ocurridas cuyo registro se ubicó por encima del promedio para la serie de años 1992-2002. Los resultados obtenidos de los modelos de regresión para los parámetros de mortalidad de plántulas indican que la temperatura mínima es uno de los principales determinantes en reducir el porcentaje de sobrevivencia. En lotus cuando ocurren temperaturas muy bajas y/o heladas intensas y frecuentes, los procesos de primer crecimiento de las plántulas son seriamente afectados y si bien no se observaron diferencias en mortalidad respecto a trébol blanco se sabe que trébol blanco sería más tolerante las bajas temperaturas y otros tipos de estrés asociados al invierno (Robin et al., 1999; Carámbula, com pers).

Las plántulas continuaron muriendo en la estación estival registrándose valores de mortalidad de (33%). La sobrevivencia en el verano de *Trifolium repens* se reduce con el incremento en el tiempo de exposición a temperaturas por encima de 26 °C, así como también con la reducción en los contenidos de humedad en la superficie del suelo (0-10 cm) (Li et al.; 1992). Aquellas plántulas que emergieron más tardíamente (21 de agosto) llegaron al verano con reducido sistema radicular teniendo poca oportunidad de sobrevivencia. *Lotus corniculatus* presentó el comportamiento contrario, las plántulas con mayor sobrevivencia fueron aquellas cuya emergencia fue el 21 de agosto. Esto coincide con lo reportado por Fraser (1994) quién menciona que las emergencias próximas a la primavera sobreviven solo si las condiciones climáticas favorables prevalecen durante esta estación. En nuestras condiciones los registros mostraron precipitaciones por encima a la serie histórica 1992-2002.

Finalmente resulta de importancia mencionar la incidencia de la aplicación de herbicida como método de acondicionamiento de tapiz mejorando la sobrevivencia de plántulas, habiéndose detectado un 8% de superioridad respecto a la estrategia de arrase. Carámbula (1977) menciona que la vegetación muerta reduce la evaporación y eleva la humedad a diferencia del método de arrase donde el tapiz verde compite por este recurso.

La aplicación de herbicida mejoró la implantación tanto en lotus como en trébol blanco incrementando el peso seco radicular. Esto coincide con resultados obtenidos por Carámbula (1995) quien trabajando en siembras de leguminosas sobre tapiz natural encontraron mayores valores de peso radicular en aquellas situaciones en las

que hubo control de la competencia con herbicidas. Ello obedecería a una menor partición de materia seca a las raíces de las plántulas cuando ocurre un decrecimiento en la intensidad de luz (Cooper, 1966, Shirley, 1945 citados por Cooper, 1977)

Las plántulas de trébol blanco son más vigorosas respecto a las de lotus mostrando un mayor largo de raíz a los 50 días post siembra. Carámbula y Ayala (com pers) mencionan que los tréboles presentan a temperaturas bajas de fines de otoño e invierno procesos de germinación más rápidos que las especies del género *Lotus*.

5.4. EFECTOS EN LA PRODUCCIÓN DE FORRAJE

Considerando que el reservorio de semillas en el suelo no afectó la producción de forraje total anual (debido a las razones antes mencionadas) y el agregado de semilla no fue suficiente para lograr un buen stand de plantas, el aporte de las leguminosas en la producción anual del mejoramiento fue escaso.

Con relación a los manejos en años previos (estrategia e intensidad de defoliación) estos no tuvieron efecto en la producción de forraje anual luego del rejuvenecimiento, siendo el 64% de la producción explicado por el aporte de las gramíneas.

Durante estas primeras etapas, en trébol blanco el cierre de verano para semillar combinado con el arrase como acondicionamiento de tapiz permitieron una mayor producción de materia seca. Estos resultados coinciden con lo reportado por Risso, (1991) quien menciona que el manejo de la defoliación es fundamental para lograr una buena persistencia, siendo el alivio o cierre para semillazón y el arrase de salida de verano aspectos básicos a tener presente. En cambio cuando el pastoreo en años previos consistió en descanso de verano pero con aplicación de glifosato a razón de 5lts/ha, las plantas de trébol blanco cubrían menos el suelo. En este sentido el porcentaje de área cubierta al el 21 de agosto fué 4.5 % para arrase y 1.6% cuando se realizó aplicación de herbicida. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por García Préchac (1998) quién sugiere que las plantas de mayor edad son más susceptibles al control ejercido por el herbicida a éstas dosis en relación a las de menor edad.

Respecto a lotus también en sus primeras etapas el pastoreo intenso y frecuente en años previos condicionaron el rebrote debido a que esta especie no admite una altura de defoliación menor a 5 cm por su porte normalmente erecto (Carámbula, 1994). De acuerdo a lo expresado el pastoreo de verano pudo provocar un rebrote muy lento debido a la ausencia de yemas activas y a la presencia de niveles bajos de reserva en la corona y raíces. Ayala (2001) también menciona que el pastoreo intenso condiciona aspectos morfológicos de la planta, masa de raíces, tamaño de corona y diámetro de raíz tienden a verse disminuidos. Por otra parte si bién no hubo efecto del acondicionamiento de tapiz sobre la producción de esta leguminosa se

registró mayor porcentaje de area cubierta cuando se realizó arrase (18%) en comparación a herbicida (2%).

Para la fracción gramíneas se registró efecto de los manejos previos únicamente para el raigrás. La producción total anual de raigrás se vió favorecida por los pastoreos frecuentes durante el verano. Esto ocasionó una reducción en el vigor de los pastos minimizando su capacidad de rebrote, facilitando el establecimiento de ésta especie (Carámbula, 1997). A lo anterior se suma la buena capacidad de regeneración que lo caracteriza favorecida por lluvias tempranas de buen volumen en otoño (tal y como sucedió en las condiciones de este experimento). Por otra parte esta mejor implantación del raigrás con pastoreos frecuentes en el verano resulta en un mayor enmalezamiento, debido a que una vez llegado el verano cuando ésta gramínea entra en estado de latencia actúa como agente creador de nichos para ser colonizados por malezas.

Con relación al acondicionamiento de tapiz a la siembra éste tuvo un mayor efecto en el componente gramíneas. De acuerdo a los resultados obtenidos la producción total de raigrás anual se vió favorecida por la aplicación de herbicida, lo cual concuerda con Carámbula (1994) quién menciona que el efecto del herbicida glifosato (Roundup 2.5 l/ha) es matar las gramíneas perennes promoviendo la aparición de anuales invernales de menor producción.

Respecto al enmalezamiento el herbicida en el corto plazo tiende a reducirlo a la vez que en el largo plazo el acondicionamiento previo por arrase mostró menos enmalezamiento que aquel donde se aplicó herbicida. Esto coincide con Ferenczi et al. (1997) quién menciona que una de las consecuencias de la aplicación de herbicida es el incremento de las malezas, debido a su modo de acción sistémico total eliminando la vegetación y dejando espacios vacíos donde éstas prosperan.

Finalmente, se observó que la aplicación de herbicida no ejerció un efecto depresivo sobre la entrega anual de forraje. No obstante, al variar la composición botánica incrementando el aporte que realizan las especies anuales, la entrega de forraje en el verano fue seriamente afectada. Por el contrario el arrase como método de acondicionamiento presentó mayor cantidad de gramíneas perennes produciendo 158 % más de forraje en comparación a cuando hubo aplicación de herbicida.

En relación al agregado de semilla como método de rejuvenecimiento del mejoramiento, el trébol blanco vió incrementada su acumulación debido al agregado de la misma, constituyendo una recarga al banco de semillas con el consecuente aumento en la densidad de plantas. De todas formas en estas circunstancias por el bajo rendimiento obtenido no tiene gran significancia agronómica. No obstante, lo mencionado anteriormente se basa en lo expuesto por Olmos, (2001) quién explica que la densidad está sociada a la densidad de siembra que se utiliza y luego a la producción de semillas anualmente con el posterior reclutamiento de nuevas plántulas a partir del banco de semillas del suelo.

Para lotus el agregado de semilla no afectó la producción total de forraje obtenida. Esto se debió a la baja contribución de las semillas del banco sumado a la baja cantidad de semilla agregada con el objetivo de renovar el mejoramiento. Los resultados no coinciden con lo reportado por García Prechac (1998) quién confirma que si hay banco de semillas de las especies a renovar sería suficiente con controlar el enmalezamiento con glifosato y refertilizar.

6. CONCLUSIONES

A continuación se presentan las principales conclusiones del presente trabajo para las distintas variables estudiadas.

Banco de semillas

- Al igual que en evaluaciones anteriores, los manejos que permitieron descanso de verano para semillar (S2) combinados con pastoreos a 10 cm incrementaron las reservas de semillas de lotus, respecto a los tratamientos con pastoreo intenso (4 cm).
- Las reservas de semillas de trébol blanco fueron reducidas por pastoreos severos a 4 cm comparado con pastoreos aliviados (10 cm), no detectándose efecto del alivio de verano (S1=S2) al igual que en años anteriores.
- Tanto en lotus como en trébol blanco el peso de mil semillas en el año 2002 no se vio afectado por los manejos realizados anteriormente, al igual que lo ocurrido en los años 1999 y 2000. No obstante, se observó una tendencia a ser mayores los pesos con pastoreos frecuentes e intensos (S1-4 cm).

Determinación de los porcentajes de germinación de las semillas provenientes del banco bajo diferentes pretratamientos

- Las semillas de lotus y trébol blanco provenientes del banco mostraron baja capacidad germinativa, respondiendo en forma positiva y diferencial frente a estímulos externos como frío o escarificado.
- El escarificado mejoró sustancialmente la germinación alcanzando valores superiores al 70% en ambas especies.

Vigor inicial

- Ambas leguminosas mostraron diferencias en vigor inicial, expresado en el largo de su sistema radicular. Los métodos de acondicionamiento de tapiz determinaron diferencias en el desarrollo del sistema radicular el cual resultó promovido por la aplicación de herbicida.
- A los 50 días post-siembra, lotus mostró menor vigor de plántulas que trébol blanco dado por su escaso sistema radicular.

Producción de forraje

- La producción anual de forraje de lotus y trébol blanco no fue afectada por las reservas de semilla de años anteriores.
- Los manejos previos (estrategia e intensidad de defoliación) no afectaron el comportamiento de la pastura en términos de producción de materia seca total.
- La producción inicial del trébol blanco fue baja y se promocionó en aquellos sistemas que en años anteriores recibieron descanso de verano y en el año 2002 recibieron un arrase. En el total anual si bien su contribución promedio fue baja (6%), su aporte se incrementó por el agregado de semilla.
- Cuando el tratamiento en años anteriores consistió en pastoreo con descanso de verano y en el año 2002 recibieron aplicación de herbicida a una dosis de 5 lt/ha, las plantas de trébol blanco cubrían menos el suelo.
- El establecimiento del lotus fue pobre y no fue afectado por ninguno de los tratamientos ni de los manejos aplicados en años anteriores, situación que se mantuvo incambiada para el total del primer año.
- Contrariamente a lo ocurrido con trébol blanco, el aporte de forraje a partir del agregado de semilla de lotus fue escaso debido probablemente a la baja densidad empleada.
- La producción total de raigrás se incrementó por la aplicación de glifosato en 2.5 veces comparado con el acondicionamiento a través de arrase. Asimismo otras gramíneas anuales se vieron promocionadas por la aplicación de glifosato.
- Respecto al enmalezamiento, el herbicida en el corto plazo tiende a reducirlo a la vez que en el largo plazo el acondicionamiento previo por arrase mostró menos enmalezamiento que aquel donde se aplicó herbicida.
- La producción anual de gramíneas perennes se vio reducida en un 48% respecto al arrase, por la aplicación de glifosato.
- Los métodos de acondicionamiento del tapiz no resultaron ser suficientemente efectivos como para activar el banco de semillas de las leguminosas e incrementar su aporte en forma sustancial.

Sobrevivencia

- En estados de desarrollo avanzados (>4 hojas verdaderas) ocurre una muerte importante de plántulas.
- La sobrevivencia promedio de las leguminosas a fines del verano fue de 21%, siendo favorecida por la aplicación de herbicida. En trébol blanco las mayores sobrevivencias se registraron para emergencias de otoño y en lotus para emergencias de invierno.

- La temperatura mínima fue uno de los principales determinantes en reducir el porcentaje de sobrevivencia durante el período otoño-invierno.

Efecto del agregado de una solución con inoculante

- En trébol blanco se hace necesario la inoculación al momento de la implantación. En lotus este comportamiento no fue observado debido probablemente a una progresiva colonización del suelo por parte de los rizobios derivados del inoculante y a una mayor persistencia de éstos en relación a los de trébol blanco.

7. IMPLICANCIAS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se plantean una serie de interrogantes como futuros pasos de investigación en relación al rejuvenecimiento de mejoramientos de campo.

- Los resultados mostraron que los métodos de acondicionamiento de tapiz no fueron suficientemente efectivos como para activar el banco de semillas de leguminosas, por lo que la implementación de otros métodos o mejora de los ya estudiados (dosis y momento de la aplicación de herbicida, cantidad de semilla utilizada en la resiembra) aparecen como de alto valor.
- Según el comportamiento diferencial observado en las semillas de lotus y trébol blanco en cuanto a su respuesta germinativa frente a estímulos externos (frío, escarificado), surge la necesidad de ahondar más acerca de los posibles mecanismos involucrados en superar la restricción impuesta por la cubierta de las semillas (ej. presencia de taninos condensados), así como evaluar la evolución de la viabilidad de semillas de leguminosas a través del tiempo.
- Dado la mortalidad de plántulas registrada resulta de gran importancia continuar investigando sobre el efecto de los parámetros climáticos que determinan un mayor o menor porcentaje de sobrevivencia, así como otras posibles causas que determinan pérdida de plántulas (efectos alelopáticos, competencia del tapiz, etc.).

8. RESUMEN

El 14 de enero de 2002 se instaló en la Unidad Experimental Palo a Pique perteneciente a INIA Treinta y Tres, un ensayo donde se evaluaron diferentes métodos causantes de disturbios en el suelo en combinación con el agregado o no de semilla, a los efectos de posibilitar el rejuvenecimiento de un mejoramiento de campo de *Lotus corniculatus* y *Trifolium repens* instalado en el año 1996.

Se estudiaron cuatro situaciones originadas como consecuencia de los manejos previos de la pastura durante los años 1998-2001. Estos manejos previos consistían en la combinación de dos estrategias de manejo y dos intensidades de defoliación (pastoreo frecuente todo el año-4 cm, pastoreo frecuente con descanso de verano-4 cm, pastoreo frecuente todo el año-10 cm, pastoreo frecuente con descanso de verano-10 cm) utilizando lanares a intervalos mensuales hasta alcanzar las alturas de forraje residual estipuladas de 4 o 10 cm. Los tipos de disturbio aplicados consistieron en arrase o aplicación de herbicida (5 lt/ha de glifosato) previo con el agregado posterior o no de semilla a razón de 1 y 2 kg/ha de trébol blanco y lotus respectivamente más la aplicación general de 60 kg/ha de P₂O₅.

Se evaluó el banco de semillas del suelo, producción de forraje y sobrevivencia plántulas para ambas leguminosas.

La formación del banco de semillas resultó afectada por los diferentes manejos previos, determinando reservas entre 429-2829 y 1972-5038 sem/m² para lotus y trébol blanco respectivamente. Las semillas presentaron baja capacidad germinativa, aunque respondieron en forma positiva y diferencial frente a estímulos externos como frío o escarificado aplicados en condiciones de laboratorio.

Los métodos de acondicionamiento determinaron diferencias en el desarrollo del sistema radicular de las leguminosas, siendo promovido especialmente por la aplicación de herbicida. La producción de forraje de las leguminosas no fue afectada por las reservas de semilla. El agregado de semilla resultó efectivo únicamente en trébol blanco incrementando su producción un 6%.

La aplicación de glifosato incrementó la producción de raigrás 2.5 veces respecto al arrase, promoviendo asimismo otras gramíneas anuales. Ocurrió una importante mortalidad de plántulas, aún en estados de desarrollo avanzados. Los valores finales de sobrevivencia a febrero de 2003 resultaron de 21% en promedio, siendo favorecida por la aplicación de glifosato. El agregado de inoculante específico de cada leguminosa incrementó la producción de biomasa en trébol blanco más que en lotus.

9. SUMMARY

On January 2002, an experiment was established in the Experimental Unit of Palo a Pique, INIA Treinta y Tres, to evaluate different methods of renovation of an improved pasture of *Lotus corniculatus* and *Trifolium repens* sown in 1996.

Four grazing management schemes were applied from 1998 to 2001, combining two defoliation strategies and two grazing intensities (frequent grazing-4 cm, frequent grazing-10 cm, frequent grazing with summer rest- 4 cm and frequent grazing with summer rest- 10 cm). Grazing was applied at monthly intervals using sheep to achieved residual height of 4 or 10 cm. Sward treatments for renewal tested were cutting at 2.5 cm and glyphosate spraying (5 lt/ha) with or without seed addition (1 and 2 kg/ha of white clover and lotus respectively). Fertilization applied was 60 kg/ha of P₂O₅.

Soil seed bank, herbage production and seedling survival were evaluated for both legumes. Soil seed reserves were affected by previous management strategies, achieving seed reserves of 429-2829 and 1972-5038 seeds/m² for lotus and white clover respectively. Seed reserves showed low germination rates, but were promoted by cold or scarification under controlled conditions.

Legumes root development was affected by sward treatments, being promoted by glyphosate application. Legume herbage production was not affected by soil seed reserves. The addition of 1 kg/ha of white clover increased 6% annual herbage contribution. There were no effects in lotus herbage production when 2 kg/ha of seed were added.

Glyphosate spraying increased 2.5 times ryegrass production compared with cutting, and also were promoted other annual grasses. Legume seedling mortality occurred from early to advanced developing stages. Legume survival in February 2003 was 21% in average, being promoted by glyphosate application. Application of specific rhizobium inoculum in both legumes promoted more white clover biomass production than lotus production.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Altier, N. 1990. Enfermedades en especies forrajeras. In Seminario Nacional de Campo Natural. Tacuarembó, 1990. Editorial Hemisferio Sur. pp. 283-284.
2. _____. 1998. Enfermedades de plantas forrajeras. In Jornada de Forrajeras Resumen de los trabajos presentados. Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger, Estación Experimental Agropecuaria La Estanzuela, Colonia. pp.4-8.
3. Arana, S.; Piñeiro, G. 1999. Déficit hídrico y manejo, su influencia en la demografía y producción del trébol blanco. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 109 p.
4. Ayala, W.; Carámbula, M. 1995 a. Efectos del sistema de pastoreo y la carga animal sobre la productividad de los campos de lomadas de la región Este. In Serie Actividades de Difusión N° 75. INIA Treinta y Tres. pp. 1-11
5. _____ ; _____ . 1995 b. Evaluación productiva de mejoramientos extensivos sobre suelos de lomadas en la región Este. In Serie Actividades de Difusión N° 75. INIA Treinta y Tres. pp. 26-35.
6. _____. 1997. Regeneration strategies of *Lotus Corniculatus* internal assignment. Applied Plant Ecology course. Massey University, New Zealand. 12 p.
7. _____. 2001. Defoliation Management of Birdsfoot Trefoil (*Lotus corniculatus*). Thesis presented for the Degree of Doctor of Philosophy in the Institute of Natural Resources. Massey University, New Zealand. 228 p
8. _____ .; Bermúdez, R.; Machado, C.; Nuñez, I.; González, S.; Monteagudo, M. 2002. Aspectos relevantes para mejorar la productividad y persistencia de pasturas mejoradas. In Serie Actividades de Difusión N° 294. INIA Treinta y Tres. pp. 7-30.
9. Bacon, C. 1993. Abiotic stress tolerance (moisture, nutrients) and photosynthesis in endophyte-infected tall fescue. *Agriculture, Ecosystems and Environments* 44: 123-142.
10. Bailey, J.S.; Laidlaw, A.S. 1998. Growth and development of white clover (*Trifolium repens*. L.) as influenced by P y K nutrition. *Annals of Botany* 81(6): 783-786.
11. Barrett, J.P.; Silander, J.A. 1992. Limitation of seedlings recruitment in white clover (*Trifolium repens*). *American Newspaper of Botany* 79(6): 643-649.
12. Bermúdez, R.; Carámbula, M.; Ayala, W. 1996. Introducción de gramíneas en mejoramientos extensivos. In Serie Actividades de Difusión N° 110. INIA Treinta y Tres. pp. 33-43

13. Beuselinck, P.R.; Peters, E.J.; McGraw, R.L. 1984. Cultivar and management effects on stand persistence of birdsfoot trefoil. *Agronomy Journal* 76: 490-492.
14. Bewley, J.D.; Black, M. 1994. *Seed. Physiology of Development and Germination. Second Edition.* Plenum Press. N.Y. 445 p.
15. Blumenthal, M.; Ison, R. 1994. Plant population dynamics in subterranean clover and murex medic swards. I. Size y composition of the seed bank. *Australian Journal of Agricultural Research* 45: 913-928.
16. Bologna, J. 1996. Studies on strategies for perennial legume persistence in lowland pastures. Thesis of Master of Agricultural Sciences at Lincoln University, Canterbury, New Zealand. 220 p.
17. Brink, G.E. 1995. White clover growth and morphology under contrasting cutting regimes. *Crop Science* 35(4): 1100-1103.
18. Brink, G.E.; Pederson, G.A. 1998. White clover response to a water application gradient. *Crop Science* 38: 771-775.
19. Brock, J.L.; Kim, M.C.; Kim, M.C. 1994. Influence of the stolon/soil surface interface and plant morphology on the survival of white clover during severe drought. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 56: 187-191.
20. Brock, J.L.; Hay, M.J.; Woodfield, D.R. 1996. A review of the role of grazing management on the growth and performance of white clover cultivars in lowland New Zealand pastures in white clover: New Zealand's competitive edge. *Agronomy Society of New Zealand Special Publication N°. 11, Grassland Research and Practice Series N°. 6.* pp. 65-70.
21. Budhianto, B.; Hampton, J.G.; Hill, M.J. 1994. Effect of plant growth regulators on a white clover (*Trifolium repens* L.) seed crop. II. Seed yield components and seed yield. *Journal of Applied Seed Production* 12: 53-58.
22. Caradus, J.R.; Mackay, A.; Pritchard, M. 1987. Towards the improvement of the aluminium tolerance of white clover. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 48 : 163-169.
23. Caram, R.; Iraola, M.; Sovie, J. 1996. Factores restrictivos que afectan la implantación de leguminosas en pasturas naturales. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 31p.
24. Carámbula, M. 1977. Producción y manejo de pasturas sembradas. Montevideo, Editorial Hemisferio Sur. 464 p.
25. _____. 1981. Producción de semillas de plantas forrajeras Montevideo, Editorial Hemisferio Sur. 518 p.

26. _____ ; Ayala, W.; Carriquiry, E.; Bermúdez, R. 1994. Siembra de mejoramientos en cobertura. In Boletín de Divulgación N° 46. INIA Treinta y Tres. 20 p.
27. Chepil, W. S. 1946. Germination of weed seeds: I. Longevity, periodicity of germination, and vitality of seeds in cultivated soil. *Agricultural Science* 26: 307-346
28. Cianelli, E.; Otonello, E. 1998. Inclusión de gramíneas en mejoramientos extensivos. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 122 p
29. Cianciarullo, A.; Echeverría, J.; Echeverría, N. 2000. Mejoramiento extensivo con *Lotus corniculatus* en cobertura o siembra directa con diferentes controles de la vegetación y densidades. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 90 p.
30. Clark, S.G.; McFadden, M.J. 1997. The yield and characteristic of the stolon of white clover (*Trifolium repens*) the cultivars in pasture of the perennial plant in Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37(2): 159-164.
31. Collins, R.P.; Rhodes. 1995. The characteristics of stolon related to survival of the winter in white clover. *Agricultural Science* 124(1): 11-16.
32. Cooper, C. 1977. Growth of the legume seedling. *Advances in Agronomy* 29: 119-139.
33. Coscia, P.; Surraco, L. 1982. Comportamiento del *Lotus corniculatus*. L. bajo tres manejos del pastoreo. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 146 p
34. Cristiani, G.; Goloubintseff, I. 1983. Evaluación de la calidad y el vigor de avena (*Avena bizantina*) y lotus. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 260 p.
35. Cunningham, P.; Foot, J.; Reed, K. 1993. Perennial ryegrass (*Lolium perenne*) endophyte (*Acremonium lolii*) relationships: The Australian experience. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 44: 157-168.
36. Durán, A. 1991. Los suelos del Uruguay Hemisferio Sur. Montevideo Uruguay. 398 p.
37. Felix, D.; Roggero, C.; Thevenet, B. 1998. Efecto de diferentes grados de remoción del tapiz en la productividad de una siembra en cobertura. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 63 p.
38. Fenner, M. 1987. Seedlings. *The New Phytologist* 106: 35-45.
39. Fenner, M. 1991. The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* (1): 75-84

40. Fenner, M. 1993. Seed Ecology. 2a Reimp. Great Britain by J.W. Arrowsmith Ltd. 146 p.
41. Ferenczi, M.; Jaurena, M.; Labandera L, C. 1997. Establecimiento y producción inicial de mejoramientos de campo realizados en cobertura y siembra directa, con diferentes tipos y dosis de herbicidas. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 70 p.
42. Fisher, M.; Thornton, P. 1989. Growth and competition as factors in the persistence of legumes in pastures. In Marten, G.C., Matchnes, A.G., Barnes, R.F., Brougham, R.W., Clements, R.J., and Sheath, G.W. (Eds). Persistence of forage legumes. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 293-310.
43. Fisher, M.J.; Rao, I.M.; Thomas, R.J.; Lascano, C.E. 1997. Grasslands in the well-watered Tropical Lowlands. In Hodgson, J.; Illius, W. The Ecology and Management of Grazing Systems. Edited by J. Hodgson, Department of Plant Science, Massey University, New Zealand and A.W Illius, Institute of Cell, Animal and Population Biology, University of Edinburgh, UK. pp. 393-428.
44. Frame, J.; Charlton, J.F.; Laidlaw, A.S. 1998. Temperate Forage Legumes. Edited by B.D McKersie and D.C.W. Brown. 317p.
45. Fraser, W.; Ogden, S.; Woodman, R.; Lowther, W.L. 1994. Rol of reseeding and seedlings recruitment for sustainable *Lotus corniculatus* based pastures in dry hill and high country. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 56: 139-142.
46. Gallo, J. 2002. La quema de campo. In Revista Plan Agropecuario. Volumen N° 104. pp. 48-50.
47. García Préchac. 1998. Siembra directa de pastures. <http://www.rau.edu.uy/agro/uepp/siembra5.htm>.
48. García, C.A.; Steiner, J.J. 1999. Birdsfoot Trefoil Seed Production. I. Crop water requirements and response to irrigation. Crop Science 39: 775-783.
49. _____ ; _____ . 2000. Birdsfoot Trefoil Seed Production: II Plant water status on reproductive development and seed yield. Crop Science 40: 449-456.
50. Golberg, D.E. 1990. Components of resources competition in plant communities. In Grace, J.B. and Tilman, D. (Eds). Perspectives on plant competition. Academic Press, San Diego. pp 27-49
51. Grime, J.P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. Jhon Wiley and Sons, Chichester.

52. Grime, J.P.; Mason, G.; Curtis, A.V.; Rosman, J.; Band, S.R.; Mowforth, M.G.; Neal, A.N.; Shaw, S. 1981. A comparative study of germination characteristics in local floras. *Journal of Ecology* 69: 1017-1059.
53. Hartgerink, A.P.; Bazzaz, F.A. 1984. Seedling scale environmental heterogeneity influences individual fitness and population structure. *Ecology* 65: 198-206.
54. Hodgson, J.; Sheath, G. 1989. Plant animal factors influencing legume persistence. *In* Persistence of Forage Legumes. Edited por G. Marten; A. Matches; R. Barnes; R. Brougham; R. Clements; G. Sheath. ASA, CSSA, SSSA. Madison, Wisconsin, USA. pp. 361-374.
55. Howe, C.D.; Chancellor, R.J. 1983. Factors affecting the viable seed content of soils Beneath Lowland pastures. *Journal of Applied Ecology* 20: 915-922.
56. Jansen, P.; Ison, R.; Cousens, R.D. 1996. Population dynamics of *Trifolium balansae* y *Trifolium resupinatum* in selfregenerating pastures. II. Predicting long term persistence from a demographic model. *Journal of Applied Ecology* 33: 1251-1256.
57. Kalisz, S., McPeck, M.A. 1993. Sampling and Bootstrapping in Complex Designs: Demographic Analyses. Chapter 11. *In* Design and Analysis of Ecological Experiments. Edited by S.M. Scheiner and J. Gurevitch; Chapman and Hall. pp. 232-252.
58. Khrbeet, H.K.; Marshall, A.H.; Hides, D.H. 1993. Effect of inflorescence and floret number on floret site utilisation of white clover. *Journal of Applied Seed Production* 11: 80-86.
59. Li, W.J. 1992. A preliminary study in the adaptability and survival during the summer of white clover (*Trifolium repens*). *Grassland of China* 2: 6-10.
60. Machado, C.; Nuñez, I. 2002. Estudios sobre semillazón banco de semillas y reclutamiento de plántulas en mejoramientos de campo de *Lotus corniculatus* y *Trifolium repens*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 85 p.
61. Marriott, C.; Smith, M. 1992. Senescence and decomposition of white clover stolons in grazed upland grass/clover swards. *Plant and Soil* 139 (2): 219-227.
62. Marshall, A.H.; Hollington, P.A.; Hides, D.H. 1993. Spring defoliation of white clover seed crops. 1. Inflorescence production of contrasting white clover cultivars. *Grass and Forage Science* 48(3): 301-309.
63. Marshall, A.H.; James, I.R.; Potter, J.F. 1996. Ovule abortion in white clover (*Trifolium repens* L.). *Annals of Applied Biology* 128(1): 95-103.

64. Mattner, S.W.; Parbery, D.G. 2001. Rust enhanced allelopathy of perennial ryegrass against white clover. *Agronomy Journal* 93: 54-59.
65. Mc Williams, J. 1978. Response of pasture plants to temperature. In Wilson, J.R (Ed). *Plant relations in pastures*. CSIRO, Melbourne, Australia.
66. Miller, B.; Mc Donald, Jr. 1994. Seed lot potential: viability, vigour and field performance. *Seed Science and Technology* 22: 421-425.
67. Minutti, A.; Rucks, F.; Silveira, G. 1996. Dinámica de la implantación de leguminosas en cobertura sobre pasturas naturales de basalto profundo. Tesis. Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 149 p.
68. McLean, N.L.; Smith, C.D.; Nowak, J.; Pillay, V.; Papadopoulos, Y. 1991. Selection for in vitro germination and growth of birdsfoot trefoil at low temperatures. *Lotus Newsletter* 22: 32-33.
69. Muminovic, S. 1990. Allelopathic effects of weed extracts on germination of crop seeds. *Agronomy Journal* 19(2): 93-102.
70. Muralla, J.S.; Laidlaw, 1999. The interactive effects of match, potassium, lime and molybdenum in the growth y morphology of white clover (*Trifolium repens*) to the establishment. *Grass and Forage Science* 54(1): 69-76.
71. Muslera, E.; Ratera, C. 1984. Praderas y forrajes. Producción y aprovechamiento. Mundi-Prensa, Madrid. pp. 354-368.
72. Niizeki, M.; Nakajo, S.; Ogasawara, H.; Harada, T. 1991. Variation of mitochondrial DNA found in a single protoplast y seed-derived plants of *Lotus corniculatus* L. *Lotus Newsletter* 22: 22-24.
73. _____ ; _____ ; _____ ; _____ . 1992. Coat thickness y hard seededness in some Medicago and Trifolium species. *Seed Science Research* 2: 243-249
74. Oliva, R.N.; Steiner, J.J.; Young, W.C. 1994. White clover seed production: II. Soil and plant water status on yield and yield components. *Crop Science* 34(3): 768-774.
75. Olmos, F. 1996. Estrategias de persistencia y productividad de Lotus. Tesis de maestría en Biología. PEDECIBA Montevideo, Uruguay. 102 p.
76. Olmos, F. 1997. Efectos climáticos sobre la productividad de pasturas en la región Noreste. In Serie Técnica N° 64. INIA Tacuarembó. 22 p.
77. _____. 1997. Factores ecológicos que afectan la nodulación de leguminosas forrajeras en mejoramientos extensivos. In Serie Técnica N° 13. INIA Treinta y Tres. pp. 115-128.

78. ——— . 2000. Variation and adaptation in *Trifolium repens* from pastures in Uruguay, with a preliminary assessment of native clover, *Trifolium polymorphum*. Thesis presented for the degree of Doctor of Philosophy in the Welsh Institute of Rural Studies. University of Wales Aberystwyth, U.K. 298 p.
79. Pasumarty, S.V.; Matsumura, T.; Higuchi, S.; Yamada. 1993. Causes of low seed set in white clover (*Trifolium repens* L.). *Grass and Forage Science* 48(1): 79-83.
80. ——— ; ——— ; ——— ; ——— . 1993. Seed production in white clover (*Trifolium repens* L.) *Grassland Science* 39(2): 169-176.
81. Pasumarty, S.V.; Thomas, R.G. 1998. Limitations to seed set in white clover (*Trifolium repens* L.) *Journal of Applied Seed Production* 16: 31-37.
82. Peña, C.B.; Valdivia, R.; García, N.; Aguirre, Jr.; Trejo, C. 2002. The effects of high temperature on dormancy and hypocotyl-root growth of wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science Technology* 30(2): 31-248.
83. Pérez del Castillo, D.; Perez, M.; Scasso, J. 2000. Introducción de gramíneas en mejoramientos extensivos de leguminosas. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 84 p.
84. Pottinger, R.; Barberti, M.; Smith, T. 1993. Invertebrate pests, plant pathogens and beneficial organisms of improved temperate pastures. *Proceedings of the XVII International Grassland Congress*: 909-918.
85. Priestley, A.; Boyce, T. 1986. Seed Aging. Implications for Seed Storage and Persistence in the soil. By David Institute for Plant Research. 88 p.
86. Pryor, H.N. 1998. Requirements for successful establishment of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *Proceedings of the Annual Conference of Agronomy Society of New Zealand* 28: 95-98.
87. Rai, B.; Khanal, R.; Dhungana, R.P. 1996. The method of the rupture of the inactivity caused for covered with the hard seed in white clover (*Trifolium repens*). Pakhribas agricultural center of the PAC-work-paper. not. 141, the ii + 5 pp.
88. Rebollo, J.; Duhalde, L. 1987. Evolución de la semillazón y características asociadas a *Lotus corniculatus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 59 p.
89. Russi, L.; Cocks, P.; Roberts, H. 1992. Hard seededness and seed dynamics of six pasture legumes. *Seed Science Research* 2: 231-24.
90. Rybak, H.; Szukala, J. 1991. Vigour y germination index of damaged white clover seeds treated with KNO₃ or seed dressings. *Plant Physiology* 180: 155-163.

91. Sanderson, M.A.; Elwinger, G.F. 1999. Grass species and cultivar effects on establishment of grass white clover mixtures. *Agronomy Journal* 91: 889-897.
92. Scott, D.; Hoglund, J.R.; Keoghan, J.M. 1989. Environmental selection of legumes. *In* Marten, G.C., Matches, A.G., Barnes, R.F., Brougham, R.W., Clements, R.J., and Sheth, G.W. (Eds.). *Persistence of Forage Legumes*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 205-214.
93. Sheath, G.; Hay, R. 1989. Overview of legume persistence in New Zealand. *In* Marten, G.C., Matches, A.G., Barnes, R.F.; Brougham, R.W.; Clements, R.J., and Sheath, G.W. (Eds.). *Persistence of Forage Legumes*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 23-26.
94. Silvertown, J.W. 1982. *Introduction to Plant Population Ecology*. Longman Group Limited, New York, USA
95. Singh, D.; Sale, P.; McKenzie, B. 1997. Water relations of white clover (*Trifolium repens* L.) in a drying soil, as a function of phosphorus supply and defoliation frequency. *Australian Journal of Agricultural Research* 48(5): 675-681.
96. Sutherland, B.L.; Hoglund, J. 1990. Effect of ryegrass endophyte (*Acremonium lolii*) on associated white clover and subsequent crops. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 50: 265-269.
97. Thompson, K.; Grime, J.P. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* 67: 893-921.
98. ——— ; ——— . 1987. Seeds and banks. *The New Phytologist* 106:23-32.
99. Tilman, D. 1988. *Plan strategies and the dynamics and structure of plant communities*. Princeton University Press, Princeton, USA.
100. Turkington, R.; Harper, J.L. 1979. The growth distribution and neighbour relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture. 1. Ordination, pattern and contact. *Journal of Ecology* 67: 201-287.
101. ——— ; Franko, G. 1980. The biology of Canadian weeds. 41. *Lotus corniculatus* L. *Canadian Journal of Plant Science* 60: 965-979.
101. Van Assche, J.; Katrien, L.A.; Wouter, A.F. 2003. Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some Leguminosae (*Fabaceae*). *The New Phytologist* 158(2): 315-323.
102. Zavaleta, H.; Hernandez, M.; Axaya Cati, J.; Mark, E. 2003. Anatomía de la semilla de *Cupania dentata* (Sopindaceae) con énfasis en la semilla madura. *Serie Botánica* 74(1): 17-29.