

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RELEVANCIA EN LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DURAS EN
LEGUMINOSAS FORRAJERAS

por

Pablo José LATORRE FIGUILLEM

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO
URUGUAY
2015

Tesis aprobada por:

Director:.....

Ing. Agr. Sylvia Saldanha

.....

Ing. Agr. Federico Boschi

.....

Ing. Agr. Jorge Machado

.....

Ing. Agr. Sebastián Moure

.....

Ing. Agr. Carlos Moltini

Fecha: 29 de abril de 2015

Autor:.....

Pablo José Latorre Piguillem

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi tutora Ing. Agrónomo Sylvia Saldanha, por haber aceptado este desafío y por su dedicación. Siendo un punto de referencia muy importante para que todo llegara a buen puerto.

Especialmente quisiera destacar al Ing. Agrónomo Federico Boschi quien me ofreció la oportunidad de realizar esta tesis, agradecer su dedicación, su confianza, su apoyo, sus comentarios acertados y especialmente su amistad.

Quisiera dar las gracias al Ing. Agrónomo Jorge Machado gerente del laboratorio del Instituto Nacional de Semilla (INASE), a la Ing. Agrónoma Teresita Ferraz y a todo el equipo del laboratorio por su apoyo. Al permitirme utilizar sus instalaciones y siempre estar dispuestos a dar una mano o simplemente con la voluntad de transmitir sus conocimientos sobre el tema.

Destaco la valiosa crítica realizada por el Ing. Agrónomo Sebastián Moure la que me permitió mejorar el producto final de este trabajo. Agradezco al Ing. Agrónomo Carlos Moltini Director de la estación experimental San Antonio por su tiempo y amabilidad al estar presente en la defensa de este trabajo.

Por último me gustaría agradecer a mi familia que siempre estuvo incondicionalmente apoyándome durante el transcurso de toda la carrera y a mis amigos. Una referencia especial a Luciano Carreño, por el tiempo dedicado a acompañarme en la edición del documento.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1 <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2 <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	4
2.1 <u>LAS SEMILLAS</u>	4
2.2 <u>ORIGEN DE LA SEMILLA</u>	6
2.3 <u>CUBIERTA SEMINAL</u>	8
2.4 <u>PRODUCCIÓN DE SEMILLAS</u>	9
2.4.1 <u>Fenología</u>	9
2.4.2 <u>Cosecha de semillas</u>	10
2.5 <u>NÚMERO Y TAMAÑO DE LAS SEMILLAS</u>	10
2.6 <u>GERMINACIÓN</u>	11
2.6.1 <u>Germinación de las semillas</u>	12
2.6.2 <u>Dormancia o latencia</u>	13
2.6.2.1 <u>Latencia innata o endógena</u>	13
2.6.2.2 <u>Latencia inducida o secundaria</u>	14
2.6.2.3 <u>Latencia impuesta o exógena</u>	14
2.6.2.4 <u>Germinación retardada por una testa impermeable</u>	14
2.7 <u>ASPECTOS RELACIONADOS CON EL AMBIENTE</u>	14
2.7.1 <u>La época de siembra</u>	14
2.7.2 <u>Temperatura</u>	15
2.7.3 <u>Termo período</u>	15
2.7.4 <u>Luz</u>	15
2.7.5 <u>Longevidad de las semillas en el suelo</u>	16
2.8 <u>CUESTIONES SOBRE SEMILLAS DURAS DE LEGUMINOSAS</u> ...	17
2.8.1 <u>Especies que suelen contener semillas duras</u>	18
2.8.2 <u>Variación de semillas duras en las especies</u>	18
2.8.3 <u>Comportamiento de las semillas duras según la edad y condiciones de almacenamiento</u>	19

2.8.4	<u>Evolución a través del tiempo del deterioro en embriones de semillas duras</u>	21
2.9	HIPÓTESIS.....	21
3	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	22
3.1	INFORMACIÓN PARA EL ESTUDIO.....	22
3.1.1	<u>Análisis de la información</u>	23
3.2	UBICACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DEL EXPERIMENTO.....	24
3.3	CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS PRODUCIDAS EN URUGUAY.....	24
3.3.1	<u>Selección de lotes generales producidos en el país</u>	24
3.4	ANÁLISIS DE LA GERMINACIÓN A CAMPO DE LAS SEMILLAS..	25
3.4.1	<u>Selección de lotes para los ensayos a campo</u>	25
3.4.2	<u>Análisis de laboratorio realizados a los lotes seleccionados previos a la siembra a campo</u>	26
3.4.3	<u>Metodología</u>	27
3.4.3.1	Siembra de lotes de semillas completos.....	27
3.4.3.2	Siembra de semillas duras.....	28
4.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	29
4.1	CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS PRODUCIDAS EN URUGUAY.....	29
4.1.1	<u>Análisis de las fichas técnicas del Laboratorio</u>	29
4.1.1.1	Germinación de lotes generales.....	29
4.1.1.2	Análisis de varianza.....	32
4.1.1.3	Proporción de semillas duras de los lotes generales.....	33
4.2	ANÁLISIS DE LA GERMINACIÓN A CAMPO DE LAS SEMILLAS..	36
4.2.1	<u>Siembra de lotes de semillas completos</u>	36
4.2.2	<u>Siembra a campo de las semillas duras</u>	38
5	<u>CONCLUSIONES</u>	42
6	<u>RESUMEN</u>	43
7	<u>SUMMARY</u>	44
8	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	45
9	<u>ANEXOS</u>	48

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Porcentaje de germinación mínima.....	4
2. Lotes con alto porcentaje de semillas duras según las especies de interés.....	25
3. Lotes con bajo porcentaje de semillas duras según las especies de interés.....	26
4. Porcentaje de germinación media de los lotes generales y Número de lotes estudiados según año.....	30
5. Precipitaciones mensuales (mm) para el período de primavera-verano en la temporada 2008/2009 en las estaciones experimentales de INASE, INIA Treinta y tres e INIA la Estanzuela.....	31
6. Porcentaje de germinación media de lotes enteros por especie (promedio de tres años) y número de lotes estudiados.....	32
7. Porcentaje de germinación media año 2009.....	32
8. Porcentaje de germinación media de las cuatro especies año 2010.....	33
9. Porcentaje de germinación media de las cuatro especies en estudio 2011.....	33
10. Porcentaje de semillas duras en los lotes generales y número de lotes estudiados por año.....	34
11. Temperatura máxima y media en los tres períodos de producción	

de semilla en la estación de INIA Treinta y tres.....	34
12. Porcentaje de humedad relativa INIA Treinta y Tres.....	35
13. Porcentaje de semilla dura por especie en los lotes generales de semilla en los tres años de estudio.....	35
14. Porcentaje de emergencia a campo por especie de lotes completos aproximadamente 120 días post-siembra.....	36
15. Porcentaje de germinación en el laboratorio por especie de lotes completos.....	36
16. Germinación de lotes completos en cada observación en porcentaje.....	37
17. Porcentaje de emergencia de plantas de las semillas duras por especie.....	39
18. Porcentaje de germinación de semillas duras de alfalfa en el ensayo a campo.....	39
19. Porcentaje de germinación de semillas duras de lotus corniculatus en el ensayo a campo	39
20. Porcentaje de germinación de semillas duras de trébol blanco en el ensayo a campo	40
21. Porcentaje de germinación de semillas duras de trébol rojo en el ensayo a campo	40
22. Emergencia de plantas de semillas duras por especie y por fecha de observación.....	40

Figura No.

1. Ciclo del desarrollo de las angiospermas.....	6
2. Estructura del ovario de una flor.....	7
3. Corte longitudinal de semilla.....	7
4. Modificación de la capacidad de germinación de la semilla durante el proceso de maduración.....	12
5. Materiales utilizados en el laboratorio.....	23
6. Primer conteo de plántulas en el laboratorio.....	26
7. Imagen parcial del ensayo a campo luego de la siembra.....	27

8. Ensayo de semillas duras.....	28
9. Épocas de floración de las distintas especies en estudios contrastando con los IBH e IVDN 2008/2009.....	30

Gráfica No.

1. Evolución de la emergencia de los lotes completos de lotus corniculatus, trébol rojo, trébol blanco y alfalfa en el total de las observaciones.....	38
2. Evolución de la germinación de semillas duras de lotes de LC, TR, TB y alfalfa en el total del periodo de observación.....	41

1. INTRODUCCIÓN

Las leguminosas cumplen funciones de gran relevancia agroecológica en las comunidades pastoriles, mejoran la calidad de la dieta animal y aportan nitrógeno al sistema (Sevillal y Fernández, 1991).

El 17 % del área del Uruguay se encuentra bajo pasturas mejoradas. El 9% corresponde a praderas permanentes, 5% a campos mejorados y 3% a verdeos anuales. Se siembran aproximadamente 400.000 ha de praderas anuales y verdeos por año (INASE, 2010).

La producción de semillas forrajeras en el Uruguay fue muy variable en el período 2005-2009. El promedio fue de 23.757 tt de semillas/año, el rango fue de 15.073 y 34.234 tt de semillas/año para el mínimo y máximo del período respectivamente. Esta gran variabilidad en la producción nacional de semillas forrajeras está dada, en gran parte, por el clima y sus implicancias sobre la cosecha de las distintas especies, por la disponibilidad y el precio de la semilla en los países de la región (INASE, 2010).

Las semillas de muchas leguminosas se mantienen durante los períodos desfavorables encerradas en sus frutos, los cuales les proveen una cobertura para sobrevivir. Además, poseen un mecanismo muy eficiente para enfrentar situaciones de estrés como lo son las diferentes clases de dormancia (Carámbula, 1977).

En Uruguay y Argentina, así como en otros países, se considera que el poder germinativo de un lote de semilla comercial de leguminosas forrajeras, está dado por las plántulas normales más el total de las semillas duras. Son variadas las opiniones respecto a cómo considerar a las semillas duras en el poder germinativo de un lote para comercializar, debido a que se ha sugerido que la calidad del mismo puede sobreestimarse (Galussi, 2007).

Las semillas que al finalizar el análisis de germinación permanecen del mismo tamaño y aspecto, son consideradas duras al no poder absorber el agua debido a la dormición impuesta por la cubierta seminal (ISTA, 2013).

La dormancia representa un mecanismo ecológico fundamental, que permite en el largo plazo el mantenimiento de bancos de semillas en condiciones naturales, la cual implica una limitante en la siembra de pasturas, provocando retardos en la emergencia de plántulas. Como consecuencia se retrasa el inicio del pastoreo y pone en riesgo su permanencia, debido a una mayor probabilidad de incidencia de las malezas por la colonización de los

espacios libres que deja una mala implantación (Carámbula, 1977).

Trabajos realizados por la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Entre Ríos (Argentina) revelan que: a) la proporción de semillas duras es variable según la especie de leguminosa, b) la viabilidad de estas semillas es diferente y c) el grado de dureza o permeabilidad al agua difiere (Zimmermann et al., 2003).

Este trabajo “a campo” estudió la proporción de semillas duras que germinaron en un lapso entre 110 y 120 días, bajo condiciones de temperatura, humedad y microorganismos naturales del suelo. Por la falta de un criterio unificado para dar una definición de plantas establecidas, se utilizó la implantación de la pastura por conteo de plántulas vivas de 2 a 4 meses desde su emergencia (Sevillal y Fernández, 1991).

Popinigis (1985) cita las desventajas que genera el estado de dormancia de las semillas en la implantación en una pastura; éstas son:

- a) largos períodos para que los lotes de semillas superen la dormancia;
- b) la germinación se distribuye en el tiempo;
- c) facilitan la presencia de plantas invasoras;
- d) interfiere en los planes de siembra.

INASE y Facultad de Agronomía pretenden que este trabajo sea el inicio de la cuantificación y generación de conciencia de las semillas duras en los lotes de semillas comercializados a nivel nacional. Además, identificar las especies y condiciones en que la incidencia de las semillas duras sea mayor.

Los resultados obtenidos servirán de base para modificar o no las normas reglamentarias nacionales que regulan la comercialización de este insumo. Trabajos posteriores serán necesarios para profundizar y complementar los alcanzados en esta tesis.

Los objetivos para esta tesis fueron los siguientes:

- a) cuantificar la importancia y variabilidad en la proporción de semillas duras de diferentes lotes de semillas de leguminosas forrajeras, para cada especie.

- b) determinar para cada especie que proporción de semillas duras generan plántulas normales en condiciones reales de siembra.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 LAS SEMILLAS

La palabra "semilla" significa toda estructura vegetal usada con propósitos de siembra o propagación de una especie (URUGUAY. PL, 1997).

La semilla debe ser un insumo de óptima calidad, con identificación y pureza genética, conducido en campos de multiplicación adecuados, certificada para garantizar un buen nivel de germinación y plantas con rendimiento y calidad (INASE, 2013).

La calidad de semilla refiere, entre otras características, a la pureza varietal, el potencial de productividad, la resistencia a plagas y enfermedades, la precocidad, la calidad del grano y la resistencia a condiciones adversas de suelo y clima. La pureza genética de un cultivar garantiza la obtención, en el campo, de plantas que van a reproducir fielmente las características seleccionadas por el mejorador, originará productos con la cantidad y calidad esperadas por el agricultor y el consumidor.¹

La semilla es el principal medio de propagación de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de la vegetación y la sucesión ecológica. También, es de los principales recursos para el manejo agrícola y silvícola, para la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas sobreexplotadas (Vásquez Yanes et al., 1997).

Los porcentajes mínimos de germinación según los Estándares Específicos del INASE para las siguientes categorías de semillas de leguminosas se observan en la cuadro No. 1 (INASE, 2012).

¹ Peske, S., Alburquerque-Barros, A. 2013. Módulo 2; Producción de Semillas. In: Curso de Especialización en Ciencia y Tecnología de Semillas por Tutoría a Distancia (2013, Montevideo). Módulos. p. 7 (sin publicar).

Cuadro No. 1. Porcentaje de germinación mínima

Especie	Básica y Prebásica	Certificada 1	Certificada 2	Comercial A y B
trébol Blanco	80	80	80	80
trébol Rojo	80	80	80	80
lotus Corniculatus	75	75	75	75
alfalfa	80	80	80	80

Fuente: adaptado INASE (2012)

Las semillas duras son aquellas cuyo pericarpio no permite la entrada del agua, por lo cual, impide su absorción y posterior germinación. La presencia de semillas duras en las leguminosas es fundamental en las especies anuales invernales, donde este mecanismo de supervivencia resulta básico porque alcanza gran longevidad en el suelo (Carámbula, 1977).

El estado de dormición o latencia termina cuando el pericarpio se rompe o resquebraja por diferentes acciones: mecánica (golpes, escarificado, etc.), microbiológica (ataque de hongos), física (alternancia de temperaturas) o química (escarificado con abrasivos, pasaje por el tracto digestivo de animales). Las condiciones que hacen levantar la dureza a campo son por ejemplo: veranos secos y calurosos. Sin embargo, este efecto puede ser atenuado por la cobertura vegetal, además, se ha sugerido que el manejo del pastoreo durante el verano puede afectar la cantidad de semillas duras que lleguen hasta el otoño (Carámbula, 1977).

El trébol blanco y el lotus corniculatus, a pesar de ser perennes, se caracterizan por poseer altos porcentajes de semillas duras, especialmente cuando la producción de semilla es producto de resiembras naturales sucesivas, ya que éstas no sufren los procesos de trilla y acondicionamiento determinantes de la escarificación de su cutícula (Carámbula, 1977). Carámbula (1977) reportó un porcentaje de semilla dura de 93% para lotus, Muslera, citado por González y Monteagudo (2003) mencionan un 80% de semilla dura para trébol blanco. En base a la tesis realizada por González y Monteagudo (2003) la semilla de lotus y trébol blanco proveniente del banco de semillas presentes en el suelo, sin tratamiento previo, el porcentaje de germinación fue de 6% y 30% respectivamente. El tratamiento con frío y escarificado mejoró significativamente el tiempo de imbibición mejorando el porcentaje de germinación hasta 92% y 73%, para lotus y trébol blanco respectivamente.

2.2 ORIGEN DE LA SEMILLA

La semilla es una unidad reproductiva compleja, que se forma a partir del óvulo, después de la fecundación. En las angiospermas los óvulos se desarrollan dentro de un ovario (Vásquez Yanes et al., 1997).

Todo comienza por la polinización, ésta se produce cuando el polen llega al pistilo, con la consecuente formación del tubo polínico por el cual, pasa el gameto masculino que se fusionará con el núcleo del saco embrionario (la oósfera) dando lugar al cigoto, y otro que se fusionará con los dos núcleos polares del saco embrionario para formar, el endospermo. Este proceso se conoce como doble fecundación. El ciclo del desarrollo de las angiospermas se observa en la figura No. 1, tanto para Monocotiledóneas como para Dicotiledónea (Vásquez Yanes et al., 1997).

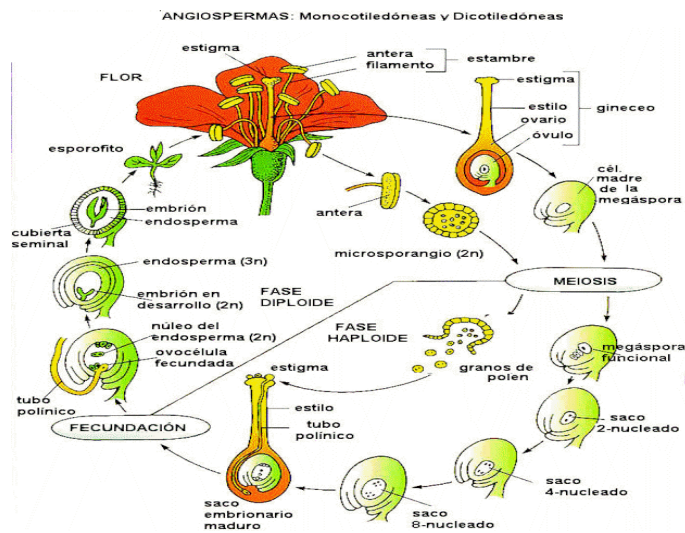


Figura No. 1. Ciclo del desarrollo de las angiospermas (Vásquez Yanes et al., 1997)

En la figura No. 1 se identifica también, la Meiosis (fase haploide) y la fecundación (fase diploide) con la consecuente generación del embrión.

La nucela está rodeada por un tegumento interno y otro externo. La apertura delimitada por los extremos de ambos tegumentos forma el micrópilo.

El óvulo está unido a la pared del ovario por el funículo por donde circula el haz vascular que nutre al óvulo y que se ramifica en la cálaza, ubicada en la base de la nucela. Generalmente se reconocen tres tipos de óvulos: átropo, anátropo y campilótropo. Las leguminosas y crucíferas presentan este último tipo de óvulo (Perissé, 2002). La figura No. 2 ilustra la estructura del ovario y los diferentes componentes morfológicos de la semilla.

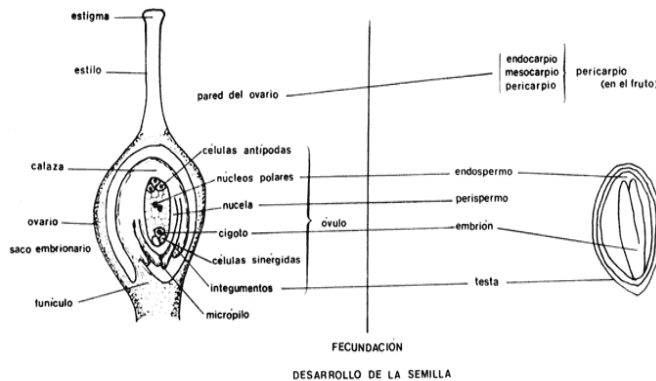


Figura No. 2. Estructura del ovario de una flor (Vásquez Yanes et al., 1997)

En la mayoría de las leguminosas sólo el tegumento externo se diferencia en las distintas capas celulares que forman la cubierta seminal como por ejemplo la soja (*Glycine max* Merrill.). El micrópilo y el hilo en las semillas derivadas de óvulos anátropos o campilótropos se encuentran muy próximos (Perissé, 2002). La figura No. 3 permite visualizar las diferentes estructuras de la semilla.



Figura No. 3. Corte longitudinal de semilla (Vásquez Yanes et al., 1997)

El ovario tiene un papel importante, ya que con frecuencia se transforma en la estructura que va a permitir la dispersión de la semilla, formando un fruto carnoso, una estructura en forma de alas o pelos, o un fruto seco que al deshidratarse se abre bruscamente expulsando las semillas (Vásquez Yanes et al., 1997).

2.3 CUBIERTA SEMINAL

La estructura de la cubierta seminal guarda una estrecha relación con las funciones que desempeña: protección, dispersión y absorción de agua. Es la primera defensa de la semilla contra las condiciones adversas del medio que la rodea, no sólo la protege de las tensiones mecánicas y la invasión de organismos patógenos, sino también de las fluctuaciones de humedad y temperatura (Perissé, 2002).

Poco antes de alcanzar la madurez fisiológica la semilla comienza a deshidratarse en la planta madre, primero a través de la cubierta seminal y en la etapa final continúa por el hilo. En general, las cubiertas seminales son rígidas y permeables al agua. A medida que la semilla madura en la planta madre es común que las capas celulares externas se transformen en esclereidas como en las leguminosas, como es el caso de los tréboles (*Trifolium* spp) y las vicias (*Vicia* spp.). En estas especies, algunas semillas se vuelven impermeables y se las conoce como semillas duras (Perissé, 2002).

En las pasturas naturales las semillas duras se escarifican por acción de distintos factores: microbiana, arrastre por viento, arrastre por agua y por el pasaje a través del tracto intestinal de los animales que las ingieren (Carámbula, 1977). Rai et al., citados por González y Monteagudo (2003) reportaron que la semillas de trébol blanco luego de la escarificación presentaron 75% de germinación comparadas al 16% de la semillas no tratadas. González y Monteagudo (2003) encontraron en trébol blanco valores de 73% de germinación luego del escarificado. En el caso de lotus corniculatus los porcentajes de germinación de semilla escarificada y procesada fue de 92% para González y Monteagudo (2003) y de 68% en el trabajo de Carámbula (1977).

La semilla dura está asociada a la presencia de sustancias que le confieren impermeabilidad a la cubierta seminal retardando la imbibición. En este sentido, Van Assche (2003) menciona la presencia de taninos condensados (compuestos fenólicos) en lotus corniculatus. La impregnación de estas sustancias a las paredes secundarias de la semilla le confiere características impermeables (Zavaleta, 2003).

Zimmermann et al. (2003) señalan que las semillas duras tienen compuestos químicos en sus tegumentos tales como: potasio, calcio y magnesio (Peihua et al.), y también ciertos compuestos fenólicos (Yassen et al.). En soja se observaron diferencias entre semillas duras y no duras en los contenidos de taninos y cutina en la región del hilo y diferencias en lignina en sus tegumentos (Álvarez et al., 1997).

Debajo de la cutícula se encuentran líneas de células en empalizada o de Malpighi (células columnares con paredes gruesas y muy apiñadas) que encierran completamente el embrión con la excepción del hilo, el micrópilo y el poro calazal; considerándose que estas células cumplen un rol preponderante al evitar el ingreso del agua. El hilo es el responsable del secado adicional de la semilla, actuando como válvula higroscópica: a) cerrándose a una alta humedad atmosférica, limitando así la absorción de vapor de agua, y b) abriéndose cuando la humedad relativa atmosférica es baja, permitiendo la pérdida de agua de la semilla. El hilo, el micrópilo y poro de la calaza se cierran herméticamente durante las etapas tardías del secado de la semilla, el encogimiento de la semilla intensifica el proceso de compresión de las células de Malpighi y la impregnación de la pared con sustancias como suberina. Se considera que la epidermis de la testa se vuelve marcadamente impermeable con un contenido de agua de 20% y menor (Smith et al., 1989).

La producción de semilla dura puede determinar una mayor vida útil de la pradera, pero alto porcentaje de esta se traduce en una desventaja cuando el productor tiene como objetivo la producción de forraje o semillas, que requieren de una germinación e implantación pareja y una maduración sincronizada (Perissé, 2002).

2.4 PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

Los recursos de una planta para producir semilla son limitados, el número producido y su tamaño afectarán la capacidad de sobrevivencia y perpetuación de la especie.

2.4.1 Fenología

Los patrones fenológicos representan adaptaciones a factores: a) abióticos: el fundamental sería la estacionalidad en la disponibilidad de recursos (por ejemplo la estación húmeda y seca). Además, de condiciones ambientales apropiadas de disponibilidad de agua y temperatura para la

actividad de los polinizadores, la floración y la fructificación (Vásquez Yanes et al., 1997). b) bióticos: la principal hipótesis sobre el origen de los diferentes momentos de la floración y fructificación está basada en la idea de que éstas reducen la competencia de las plantas por los polinizadores (Vásquez Yanes et al., 1997).

2.4.2 Cosecha de semillas

Con gran frecuencia se observan años buenos y años malos para la producción de semillas. Durante los años buenos las semillas son abundantes, sanas y con alta viabilidad, en tanto que, en años malos ocurre lo contrario. Esta variación está ligada a la calidad de la estación favorable para la productividad fotosintética y a factores bióticos (Vásquez Yanes et al., 1997).

La emergencia de las inflorescencias, en semilleros de trébol blanco de segundo año y cultivares precoces, ocurre a mediados de setiembre; sin embargo, en cultivos de primer año, dependiendo de las condiciones ambientales y de la implantación, esta fecha puede extenderse entre un mes y un mes y medio. El momento del corte o de la aplicación del desecante debe ser cuando el 80% de las inflorescencias están maduras (Bertín, 2007b).

La floración del *lotus corniculatus* se produce en forma casi constante e indeterminada y comienza a fines de octubre, esto ocasiona una amplia gama de estados de desarrollo de flores y por consiguiente de frutos. El momento óptimo para la cosecha sería cuando el 60-70 % de las chauchas se tornan de color marrón claro y se da entre 25 y 30 días después del pico de floración (Bertín, 2007a).

En el caso de trébol rojo el momento de floración comienza en la primavera y puede prolongarse hasta el otoño UdelaR (Uruguay). FA. Laboratorio de Botánica (2013).

2.5 NÚMERO Y TAMAÑO DE LAS SEMILLAS

Las semillas de menor tamaño tienen mayor oportunidad de encontrar un sitio favorable para germinar y crecer, pero dependen muy pronto de los recursos disponibles en el medio. En cambio, las semillas de mayor tamaño se producen en menor número y se diseminan a menores distancias, pero con mayores recursos individuales para iniciar su germinación y crecimiento (Vásquez Yanes et al., 1997).

El tamaño de la semilla estaría directamente asociado al vigor de las plántulas, característica que ha sido observada entre cultivares, entre lotes de un mismo cultivar y aun dentro de un mismo lote. Las semillas más grandes presentarían una elongación mayor, lo que conduciría a plántulas más vigorosas y por lo tanto, a un mejor establecimiento en el campo y a una mayor entrega de forraje al primer año (Henson y Tayman, Twamley, McKersie et al.). Existe una correlación positiva entre el vigor de plántulas y el tamaño de la semilla (Carleton y Cooper; Beuselinck), aunque en otros trabajos no ha sido así (Li y Hill). Estas contradicciones estarían explicadas por: a) aspectos genéticos y b) aspectos ambientales, que se registran durante la maduración, la cosecha y la trilla de la semilla, así como también durante el almacenamiento y su germinación, según citan Ayala y Carámbula (2009).

2.6 GERMINACIÓN

La germinación de las semillas comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: 1) la absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y la ruptura final de la testa, 2) el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión, y 3) el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micropilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula (Vázquez Yanes et al., 1997).

Hay dos tipos de germinación que a veces presentan algunas variantes: a) epigea, donde el hipocótilo se alarga y aleja a los cotiledones del suelo, son con frecuencia de color verde y realizan funciones fotosintéticas durante el crecimiento temprano de la plántula, y b) hipogea, en la cual el hipocótilo no se desarrolla y los cotiledones permanecen bajo el suelo o ligeramente sobre éste, las cuales cumplen sólo una función de almacenamiento de nutrientes. La testa de la semilla puede permanecer cubriendo los cotiledones en el caso de la germinación hipogea, en tanto que en la epigea se desprende, lo cual permite la expansión de las hojas cotiledonarias (Vázquez Yanes et al., 1997).

Es posible obtener semilla de trébol blanco con niveles de 85% de germinación, aunque en condiciones de suelos muy húmedos y con lluvias en la cosecha se suele afectar la germinación de la semilla (Bertín, 2007b). Para *lotus cormiculatus* los valores que se pueden obtener de germinación son 75% o más, no difiriendo estos niveles entre semillas producidas por fecundación cruzada o por autofecundación (Bertín, 2007a).

2.6.1 Germinación de las semillas

La gran diversidad de plantas, se refleja en la multitud de posibilidades de su desarrollo y también, de la temporalidad de la germinación de las semillas entre las diferentes especies. Existen plantas que diseminan sus semillas cuando ya han germinado en el fruto; y en el otro extremo, algunas semillas que son dispersadas provistas de una dura testa impermeable y que sólo permite la germinación después de muchos meses o años (Vázquez Yanes et al., 1997).

La germinación es difícil de evaluar, dado que el fenómeno de dormancia puede interferir marcadamente en los resultados de la prueba de germinación (Moreira de Carvalho y Nakagawa, 2000).

Cuando llegan las semillas al suelo, el agua es el recurso clave para iniciar los cambios fisiológicos que conducen a la germinación. La cantidad de agua que absorbe una semilla y la velocidad a la que lo hace dependen de la permeabilidad de sus cubiertas, la composición química de sus reservas, su tamaño y su contenido de humedad. También, de la temperatura y la humedad del suelo y del aire (Vázquez Yanes et al., 1997).

Rowarth y Sanders , citados por Ayala y Carámbula (2009), demostraron que en *Lotus corniculatus* L. (lotus corniculatus), *Lotus pedunculatus* Cav. (lotus uliginosus) y *Lotus glaber* Mill. (lotus tenuis) la germinación en el laboratorio no era un buen predictor de la emergencia de las plántulas a campo. Además, el peso de mil semillas y el peso verde de las plántulas determinaban el 70% y 56% respectivamente, de las variaciones en la emergencia a campo.

La figura No. 4 muestra los cambios en la capacidad de germinación durante la maduración en dos tipos de casos.

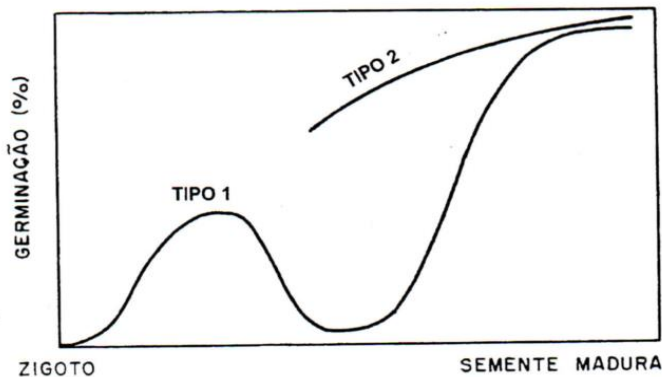


Figura No. 4. Modificación de la capacidad de germinación de la semilla durante

el proceso de maduración (Moreira de Carvalho y Nakagawa, 2000)

En las semillas con maduración del Tipo 1, la dormición de éstas es inducida después de haber alcanzado un determinado estadio (previo a madurez fisiológica), por un periodo relativamente corto debido a que adquieren demasiado pronto la capacidad de germinar, y esto no permite que las semillas germinen en la planta madre. Éste período coincide con el inicio de una fase de deshidratación rápida (Moreira de Carvalho y Nakagawa, 2000).

La maduración de Tipo 2 ocurre en las especies cuyas semillas adquieren la capacidad de germinar solamente después de un período relativamente largo, en este punto, el decrecimiento del tenor de agua ya se está procesando cada vez más acentuado, la capacidad de germinación crece de manera ininterrumpida hasta un punto máximo, ya que la probabilidad de que las semillas germinen en la planta es muy baja (Moreira de Carvalho y Nakagawa, 2000).

2.6.2 Dormancia o latencia

El reposo o reducción del metabolismo se denomina quiescencia, la causa de que no ocurra la germinación es fundamentalmente la falta de agua; La latencia ocurre cuando la semilla no germina a pesar de encontrarse en un lugar óptimo en cuanto a la temperatura y la humedad. Las causas por las que no germinan pueden deberse a la existencia de un periodo cronológicamente regulado de interrupción del crecimiento y de disminución del metabolismo durante el ciclo vital (Vázquez Yanes et al., 1997).

Harper, citado por Vázquez Yanes et al. (1997), clasificó el mecanismo fisiológico de latencia en innata, inducida, impuesta y germinación retardada por una testa impermeable.

2.6.2.1 Latencia innata o endógena

Se presenta cuando el embrión deja de crecer, aún en la planta madre, por un impedimento endógeno hasta que éste cesa. A partir de este momento las semillas están en condiciones de germinar en cuanto se presenten las condiciones ambientales adecuadas. Las causas principales de esta latencia son probablemente la presencia de inhibidores químicos de la germinación en el embrión o la inmadurez de éste. La duración es muy variable según la especie e incluso puede variar entre las semillas de un mismo individuo (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.6.2.2 Latencia inducida o secundaria

Se produce cuando las semillas están en condiciones fisiológicas para germinar y se encuentran en un medio muy desfavorable, como poco oxígeno, concentraciones de CO₂ mayores a las de la atmósfera, temperatura alta, lo que producen alteraciones fisiológicas reversibles en las semillas. En estos casos, las semillas pueden caer en un estado de latencia secundaria en el que ya no pueden germinar a pesar de continuar vivas. En ocasiones puede romperse por medio de un estímulo hormonal (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.6.2.3 Latencia impuesta o exógena

En la naturaleza se presenta en semillas aptas para germinar en condiciones adecuadas de humedad y temperatura media, pero continúan latentes por falta de luz, requerimientos especiales de temperatura, oxígeno o de otro factor. Está controlada por las condiciones físicas del ambiente que rodea a la semilla en el suelo y que germinan sólo después de una perturbación que modifique el régimen lumínico o el contenido de oxígeno (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.6.2.4 Germinación retardada por una testa impermeable

Muchas plantas producen semillas cuyo tegumento externo es duro, impermeable al agua o a los gases, e incluso el micrópilo está provisto de una barrera que impide la penetración de agua al embrión (Vázquez Yanes et al., 1997).

Es probable que muchas de las semillas resistentes al calor presenten tegumentos impermeables al agua. Las semillas contienen enzimas, nucleoproteínas y otras sustancias que se desnaturalizan con facilidad con el calor y éstos compuestos son menos lábiles cuando están deshidratados. Por lo tanto, una testa impermeable impide que la semilla se embeba y quede protegida durante las quemas (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.7 ASPECTOS RELACIONADOS CON EL AMBIENTE

2.7.1 La época de siembra

La época de siembra es uno de los aspectos más importantes para o lograr una buena implantación, particularmente en aquellas especies de desarrollo inicial lento (Ayala y Carámbula, 2009).

Según Watson et al., citados por Ayala y Carámbula (2009), la falta de humedad en las siembras tempranas y las bajas temperaturas en las siembras tardías de otoño son dos de las principales variables que más afectan el establecimiento de los *Lotus spp.*

2.7.2 Temperatura

La germinación comprende procesos metabólicos que se producen en estrecha relación con la temperatura, y su efecto se expresa en la capacidad germinativa o en la velocidad de germinación (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.7.3 Termo período

El estudio de las temperaturas cardinales o del intervalo térmico de germinación es insuficiente para conocer la respuesta germinativa de especies que producen semillas y cuya germinación se ve favorecida por una alternancia de temperatura. Las semillas que responden al cambio de temperatura pueden presentar diversos mecanismos para su detección, por ejemplo, la presencia de una testa impermeable que se hace permeable al calentarse, o la existencia de un mecanismo químico endógeno que sólo puede activar el proceso de germinación cuando ocurren fluctuaciones de temperatura (Vázquez Yanes et al., 1997).

Se ha experimentado con termo períodos en pruebas de germinación y se ha observado que una o varias alternancias de temperatura pueden favorecer o disparar la germinación en muchas especies. El efecto de la alternancia de temperatura parece tener relación con la hidratación de las semillas. La fluctuación de temperatura permite la activación de ciertas enzimas y hace permeables a algunas membranas, lo que finalmente trae consigo el desencadenamiento de la germinación. Por lo tanto, los cambios fisicoquímicos en las semillas conducen a la desaparición de la latencia (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.7.4 Luz

Existe un alto porcentaje de especies de plantas superiores que presentan semillas fotoblásticas (germinación regulada por la luz), (Vázquez Yanes et al., 1997).

En general, las leguminosas como lotus, alfalfa y los tréboles rojo y blanco precisan de fotoperiodos críticos de 14 hs, y aquellos cultivares

provenientes de latitudes más altas requieren de mayor amplitud foto periódica (16 hs) para florecer en forma adecuada.²

Las principales bandas del espectro lumínico que tienen acción sobre la germinación son tres, y corresponden a la franja de 660 nanómetros (rojo), 730 nanómetros (rojo lejano) y la luz comprendida entre 400 y 500 nanómetros (azul). El rojo y el rojo lejano son absorbidos por el fitocromo, una cromoproteína que actúa como sensor. Este pigmento en su forma activa es el inductor de la germinación e interviene en procesos de permeabilidad de la membrana, en la activación de enzimas y en la expresión genética. La conversión del fitocromo inactivo (Pr) a fitocromo activo (Pfr) se lleva a cabo bajo el efecto de la luz roja, y la reacción opuesta ocurre bajo el efecto del rojo lejano (Vázquez Yanes et al., 1997).

Estas dos formas del fitocromo corresponden a cada uno de sus picos de absorción de luz. Esta reacción de conversión en ambos sentidos está relacionada con la inducción y la inhibición de la germinación, y puede ser modificada o controlada por otros factores ambientales como la temperatura o el termo período. La intensidad de la luz, el fotoperiodo y la cantidad de rojo en relación con el rojo lejano presente modulan la respuesta de las semillas a la luz a través de este pigmento. La cantidad de fitocromo activo presente en las semillas determina si pueden germinar en la oscuridad o si requerirán luz para iniciar el proceso (Vázquez Yanes et al., 1997).

La latencia regulada por la luz es muy común en semillas que permanecen latentes en la oscuridad, enterradas en el suelo, hasta que son exhumadas durante las prácticas agrícolas (Vázquez Yanes et al., 1997).

En las semillas pequeñas la conversión del fitocromo normalmente se realiza a muy bajas intensidades de luz. Sin embargo, la temperatura y el fotoperiodo tienen influencia directa en el resultado final del proceso, expresado en porcentaje y velocidad de germinación (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.7.5 Longevidad de las semillas en el suelo

Longevidad ecológica es la capacidad de las semillas para permanecer

² André Tillmann, M. A.; Lemos de Menezes, N. 2013. Módulo 4; producción de semillas. In: Curso de Especialización en Ciencia y Tecnología de Semillas por Tutoría a Distancia (2013, Montevideo). Módulos. pp. 7-26 (sin publicar).

vivas y viables, sin germinar, por diferentes periodos en el suelo de la comunidad a la que pertenecen. Por otra parte, longevidad potencial es la capacidad de las semillas para permanecer viables en una condición óptima de almacenamiento artificial por algún tiempo (Vázquez Yanes et al., 1997).

Las plantas anuales, que tienen una estación de crecimiento corta, suelen producir semillas con una longevidad ecológica y potencial más larga que muchas de las especies perennes que comparten su hábitat, para las que existen varias oportunidades de reproducirse durante su vida (Vázquez Yanes et al., 1997).

Las características generales intrínsecas de las semillas que más directamente afectan su longevidad potencial son: a) la dureza e impermeabilidad de la testa, b) el contenido de agua inicial con el que se disemina la semilla y el que se puede lograr disminuir por deshidratación sin matarla, c) la tolerancia a la temperatura de congelación del agua, d) la naturaleza de la latencia, la tasa metabólica (respiración mínima) o interrumpida que se pueda alcanzar sin matarla, e) el tipo de reservas y su propensión al deterioro químico, f) el tipo de compuestos secundarios (sustancias que produce la semilla que pueden evitar la depredación o el parasitismo de éstas) y su ubicación dentro de las células de la semilla, g) la disposición del agua sub celular (unida a macromoléculas como proteínas), h) la composición de los lípidos de las membranas celulares, e i) la resistencia a la invasión de microorganismos y la resistencia al deterioro del material genético (Vázquez Yanes et al., 1997).

En los almacenamientos a temperatura ambiente las semillas con testa dura de las leguminosas, malváceas, ninfáceas, etc., son las más longevas (Vázquez Yanes et al., 1997).

2.8 CUESTIONES SOBRE SEMILLAS DURAS DE LEGUMINOSAS FORRAJERAS

En el trabajo realizado por Galussi, citado por Galussi (2007), enmarca que evidencias halladas al estudiar los tegumentos de semillas permeables e impermeables de alfalfa expresan diferencias en la anatomía de la testa y en los componentes orgánicos e iones metales. Estas semillas impermeables presentan un tegumento con características especiales que impiden la entrada de agua.

En *Fabaceae*, las semillas deben ser remojadas por 22 horas, para determinarse el porcentaje de semillas duras y comunicarlo en los resultados

del test de viabilidad por tetrazolio (Galussi, 2007).

La semilla de trébol blanco puede permanecer con dormición por muchos años (semillas duras). La dormancia es controlada por la impermeabilidad del tegumento, de esta forma el escarificado es suficiente para romperla. Casi toda la semilla que madura con condiciones de sequía y alta temperatura es dura, en oposición a la semilla formada en ambientes húmedos. Estas diferencias tienen una profunda significancia ecológica para la presencia del trébol en las pasturas Harris, citado por Bertín (2007b).

En los análisis de laboratorio del trabajo realizado por Zimmermann et al. (2003), se observó la presencia de semillas duras con sus tegumentos seminales verdosos, además de los frecuentes tonos amarronados. También se observaron semillas duras con sus embriones de tamaño normal y otros de menor tamaño, con cotiledones y/o eje radicular de escaso desarrollo. Estas características fueron mayormente observadas en *Melilotus albus* Medick y *Trifolium pratense* L.. Esto hace suponer que el o los factores desencadenantes del fenómeno de dureza suceden estando los embriones en diferentes estados de desarrollo morfo fisiológico.

2.8.1 Especies que suelen contener semillas duras

Se citan muchas especies de la familia *Fabaceae*, por ejemplo en leguminosas forrajeras tales como *Medicago sativa* L. (alfalfa), *Trifolium repens* L. (trébol blanco), *Trifolium pratense* L. (trébol rojo), *Melilotus albus* Medick. (trébol de olor blanco) y *Lotus corniculatus* L. También en especies de las *Malvaceae*, *Cheno-podiaceae*, *Liliaceae*, *Convolvulaceae* y *Solanaceae* (Galussi, 2007).

2.8.2 Variación de semillas duras en las especies

El porcentaje de semillas duras muestra considerable variabilidad dependiendo de la especie, grado de madurez, condiciones durante la maduración, y tiempo de almacenamiento. Nikolaeva, citado por Galussi (2007), concluye que la baja humedad en el aire durante la maduración, resulta en un considerable incremento en la dureza de la semilla.

Romero, citado por Galussi (2007) indica que altas temperaturas durante la madurez aumentan los porcentajes de semillas duras, pudiendo influir además, los altos contenidos de Ca y K en una mayor cantidad de semillas

duras.

Una población se compone de semillas que son morfológicamente distintas y al mismo tiempo, presentan diferentes intensidades de dormancia (Moreira de Carvalho y Nakagawa, 2000).

Las investigaciones realizadas por PID. UNER, citadas por Galussi (2007), evidenciaron que el porcentaje de semillas duras es variable entre lotes cosechados mecánicamente, hallándose en *Medicago sativa* L. hasta un 50% de semillas duras, en *Trifolium repens* L. el 54%, en *Trifolium pratense* L. 26% y en *Lotus corniculatus* L. 49% (Galussi, 2007).

El trébol blanco puede presentar niveles altos de semillas duras (más de 30%) que no disminuiría sustancialmente con el tiempo transcurrido en almacenaje. Además, es una de las especies forrajeras de clima templado-húmedo que pierde más lentamente la germinación de su semilla en el almacenamiento (Bertín, 2007b).

En función del manipuleo de la semilla, ciertas partidas de esta especie presentan niveles altos de semillas duras, más del 15%. Como consecuencia la pérdida de germinación estaría en función del tiempo transcurrido en el almacenamiento y es bastante rápido comparado con el trébol blanco (Bertín, 2007).

2.8.3 Comportamiento de las semillas duras según la edad y condiciones de almacenamiento

Sobre la calidad de la semillas duras a través del tiempo se cuenta con escasa información; al respecto, Demartini y Otalora observaron que la semillas duras de *Trifolium Paratense* L. y *Lotus Corniculatus* L. no modificaron su viabilidad al cabo de un año (Zimmermann et al., 2003).

Como resultado del trabajo realizado por Zimmermann et al. (2003), muestra como el promedio de viabilidad de semillas duras fue de 97% para *Trifolium repens* L., 90% para *Trifolium Paratense* L. y *Melilotus albus* Medick, 88% para *Medicago sativa* L. y 72% para *Lotus Corniculatus* L..

En trabajos realizados por Galussi (2007), luego del análisis de viabilidad por tetrazolio, permitió aceptar la hipótesis de que el 100% de las semillas duras son viables únicamente en *Trifolium repens* L.. En *Trifolium pratense* L. y *Medicago sativa* L. se aceptó que el 90% de las semillas duras son viables. No

se hallaron evidencias para proponer un porcentaje determinado de semillas duras viables en *Lotus corniculatus* L. ya que la variabilidad fue muy grande entre lotes. Los valores mínimos de viabilidad hallados fueron 84%, 74%, 40%, 66% y 28% respectivamente para las especies mencionadas.

En ningún caso (para las especies y lotes evaluados) se presentó 0 % de viabilidad de las semillas duras, pero tampoco en la totalidad de los lotes el resultado fue el 100% de semillas duras viables (Zimmermann et al., 1998).

En los resultados del análisis de viabilidad donde se utilizaron distintos periodo (0, 18, 36 y 54 meses) y condiciones de almacenamiento (T 20°C y HR 60%) y (T. 4°C y HR 80%), el trébol blanco no evidencio una pérdida de viabilidad acentuada en los periodos de tiempo estudiados y una mínima reducción (6%) para los ambientes de almacenamiento. En trébol rojo la pérdida de viabilidad en todo el periodo en las condiciones de almacenamiento (T 20°C y HR 60%) fue reducida (6%), en cambio la pérdida de viabilidad fue marcada en las condiciones más frías de almacenamiento. En lo que refiere a alfalfa la perdida de viabilidad no solo se vio afectada por el tiempo y las condiciones de conservación, sino que vario según los lotes (Zimmermann et al., 2003).

Existen varios tipos de acondicionamientos para el análisis de germinación entre los que se encuentra el pre enfriado, efectuarle una incisión o total imbibición de las semillas en agua, resultados por Zimmermann et al., citados por Galussi (2007), en *Trifolium repens* L. luego de estar sus semillas duras en pre refrigerado 35 días (sobre papel húmedo) llegaron a germinar el 60% generando plántulas normales. Un ensayo en alfalfa realizado por PID. UNER, citado por Galussi (2007), demostró que al efectuarles una incisión a las semillas duras para favorecer la entrada de agua y suceder su germinación sobre papel, se observó un 7% de plántulas con anomalías. Sin embargo, en las semillas mantenidas en inmersión en agua hasta su ablandamiento (total imbibición) para luego colocarlas a germinar entre papel, no presentaron anomalías.

El párrafo anterior sugiere que las semillas duras, tienen diferentes grados de permeabilidad, y con el transcurrir de horas en condiciones de humedad, aumenta este grado pasando a ser permeables al agua y germinar, dando plántulas normales en su mayoría. Se observó que el tipo de pre acondicionamiento que se le dé a las semillas duras antes de pasarlas a estufa para su germinación incide en la presencia de las anomalías: plántula con raíz atrapada por la cubierta seminal o plántula con el tegumento que la comprime al rodear el hipocótilo o el cuello, impidiendo un normal desarrollo aéreo o radicular (Galussi, 2007).

Las evidencias halladas en las investigaciones sobre permeabilidad del tegumento, hasta el año 2006 PID. UNER, citadas por Galussi (2007), han puesto de manifiesto los distintos grados de dureza y porcentajes de semillas duras existentes. El porcentaje de semillas duras de un lote varía luego de estar sumergidas en agua por un período prolongado, por ejemplo, se encontró en alfalfa un 0,5% de semillas duras luego de 523 días y en trébol blanco un 5% de semillas duras luego de 703 días.

2.8.4 Evolución a través del tiempo del deterioro en embriones de semillas duras

En *Trifolium repens*, en un promedio de no viables de 3% dentro de las semillas duras, se presentaron, al inicio embriones con problemas en la radícula, en el nudo cotiledonar (zona de unión de cotiledones y eje embrionario) y embrión no viable en más del 50%. Luego de 54 meses, los distintos tipos de no viables se mantienen y se incrementa la categoría embrión 100% no viable. En *Trifolium pratense* y *Medicago sativa* sucede algo similar pero en mayores proporciones (Galussi, 2007).

2.9 HIPÓTESIS

Las hipótesis planteadas para llevar adelante el trabajo fueron:

- a) la proporción de semillas duras varía con la especie.
- b) no todas las semillas duras tienen la capacidad de emerger.
- c) la emergencia de semillas duras varía entre especies.
- d) el porcentaje de semillas duras en las distintas especies depende del año de cosecha.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 INFORMACIÓN PARA EL ESTUDIO

El trabajo se inició con el estudio de las fichas técnicas de tres años (2009-2010-2011) del Laboratorio de Calidad del Instituto Nacional de Semillas (INASE), que corresponde a cada lote de semilla comercializado en el país. La información que incluye la ficha técnicas es:

A) Información general del lote

- el nombre de la especie
- el cultivar al que pertenece
- el analista que trabajará con la muestra
- la categoría de semilla a la cual pertenece el lote (certificada, importación, exportación, decreto, acreditada, uso propio, particular o evaluación)
- fecha de siembra

B) Parámetros de calidad física

- porcentaje de pureza
- porcentaje y cantidad de malezas toleradas
- porcentaje de material inerte (trozos de semillas, semillas vanas, piedras, tierra, restos vegetales)
- porcentaje de otras semillas
- porcentaje de semillas de otros cultivos
- porcentaje y número de malezas prohibidas
- peso de 1000 semillas

C) Parámetros de calidad fisiológica

- porcentaje de germinación
 - el método utilizado para la germinación (sobre papel, entre papel, en arena o en rollos de papel), la temperatura a la cual se hizo germinar (20, 25, 20-30 °C), si se usó de pre-frío o nitrato
 - porcentaje de semillas duras
- si se utilizó test de tetrazolio o no

El porcentaje de semillas duras se suma a las plántulas normales y de esto resulta el porcentaje de germinación definitivo que se le da al lote de semilla.

El test de viabilidad por tetrazolio es un indicador redox utilizado para

diferenciar tejidos metabólicamente activos de aquellos metabólicamente inactivos, principalmente en viabilidad de semillas. El compuesto blanco es reducido enzimáticamente a un color rojo en tejidos vivos, debido a la actividad de varias deshidrogenasas, enzimas importantes en la oxidación de compuestos orgánicos y del metabolismo celular. En zonas de necrosis o de tejidos muertos, el tetrazolio conserva su color blanco o incoloro, debido a que las enzimas han sido desnaturalizadas o degradadas (ISTA, 2013).

Las muestras de los lotes de semillas seleccionados de las diferentes especies, para la siembra a campo, se encontraban almacenadas en la cámara de archivo de muestras del INASE.

Los análisis de calidad y germinación se realizaron en el laboratorio de semillas de INASE, el cual proporcionó los materiales necesarios: placas de Petri, vaso de bohemia, pinzas, rollos de papel secante, cámaras de germinación y sembradora. Los materiales para los trabajos de campo fueron: estaquitas de madera, cajones con suelo, hilo, nylon y planillas para la toma de datos en el campo, también se utilizó un invernáculo en los primeros 5 días (figura No. 5).

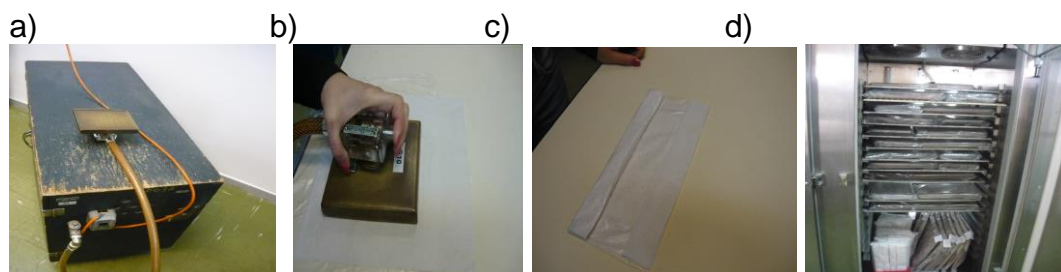


Figura No. 5. Materiales utilizados en el laboratorio a) Sembradora utilizada para el trabajo; b) cabezal de siembra para 100 semillas de leguminosas; c) uno de los rollos en los cuales fueron sembradas las especies; d) germinadora con los rollos colocados

3.1.1 Análisis de la información

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA). El programa estadístico utilizado fue el INFOSTAT.

Cómo análisis complementario se utilizaron los índice de bienestar hídrico (IBH) e índice de vegetación diferencia normalizada (IVDN o NDVI) para explicar los años donde claramente existe una diferencia significativa en germinación como en la cantidad de semillas duras.

“El IBH resulta de la relación entre la transpiración real (estimada por el modelo de balance hídrico nacional) y la demanda potencial diaria (ETR/ETP). Valores cercanos a 100% indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración cercanos a la demanda potencial. Por el contrario, valores de IBH cercanos a 0% indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración muy por debajo de la demanda potencial, indicando que climatológicamente la vegetación se encuentra bajo stress hídrico. En general se considera que valores de índice de bienestar hídrico por debajo de 50% indican condiciones de estrés en la vegetación” (anexo No. 1, INIA. GRAS, 2013).”

“El IVDN o NDVI es una variable que permite estimar el desarrollo de una vegetación en base a la medición, con sensores remotos, de la intensidad de la radiación de ciertas bandas del espectro electromagnético que la misma emite o refleja. Lo que permite identificar la presencia de vegetación verde en la superficie y caracterizar su distribución espacial así como la evolución de su estado a lo largo del tiempo. Esto está determinado fundamentalmente por las condiciones climáticas. La vegetación densa, húmeda y bien desarrollada presenta los mayores valores de IVDN” (anexo No. 2, INIA. GRAS, 2013).

3.2 UBICACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DEL EXPERIMENTO

Este experimento fue realizado entre febrero de 2012 a octubre del mismo año en el INASE, ubicado sobre Ruta Nacional No. 8, km. 29 Barros Blancos, Canelones (Latitud: 34° 43' 51" S; Longitud: 55° 58' 34" W; Asm: 19 metros).

3.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS PRODUCIDAS EN URUGUAY

3.3.1 Selección de lotes generales producidos en el país

Se seleccionaron solamente los datos de *Medicago sativa* L. (alfalfa), *Trifolium repens* L. (trébol blanco), *Trifolium pratense* L. (trébol rojo) y *Lotus corniculatus* L. (lotus corniculatus), cuatro leguminosas de interés y de producción nacional. En su gran mayoría corresponden a semillas certificadas y fiscalizadas.

En base a la información disponible en los tres años de estudio se analizaron 647 lotes generales, de las cuatro especies de interés, para estudiar el porcentaje de germinación promedio por especie en los tres años, la cantidad

de semillas duras promedio.

3.4 ANÁLISIS DE LA GERMINACIÓN A CAMPO DE LAS SEMILLAS

3.4.1 Selección de lotes para los ensayos a campo

Se seleccionaron para las cuatro principales especies de leguminosas forrajeras comercializadas en el país (INASE, 2012), lotes con alto porcentaje de semillas duras y lotes con bajo porcentaje de semillas duras. Los datos fueron sacados de las fichas técnicas correspondientes a lotes ingresados al laboratorio de INASE en la primavera verano 2011-2012 para su evaluación.

Los cuadros No. 2 y No. 3 muestran los distintos lotes de las especies en estudio con el número de semillas duras e identificando los lotes de alta y de baja proporción de semillas duras.

Cuadro No. 2. Lotes con alto porcentaje de semillas duras según las especies de interés

Lotes	Especie	No. de SD.
628	alfalfa	47
1009	alfalfa	33
1436	lotus corniculatus	34
1580	lotus corniculatus	40
291	trébol blanco	32
292	trébol blanco	44
295	trébol rojo	18
1012	trébol rojo	17

Cuadro No. 3. Lotes con bajo porcentaje de semillas duras según las especies de interés

Lotes	Especie	No. de SD.
1010	alfalfa	19
1011	alfalfa	16
1576	lotus corniculatus	15
3784	lotus corniculatus	17
1547	trébol blanco	14
1582	trébol blanco	19
1014	trébol rojo	12
1578	trébol rojo	12

Los cultivares utilizados fueron para San Gabriel (*lotus corniculatus*), Estanzuela zapicán (trébol blanco), Estanzuela 116 (trébol rojo) y Estanzuela chana (alfalfa).

3.4.2 Análisis de laboratorio realizados a los lotes seleccionados previos a la siembra a campo

A los lotes seleccionados se les realizó el de análisis pureza, de acuerdo a las normas ISTA (2013).

La siembra en rollos de papel se realizó el 16 de marzo. Se sembraron cuatro rollos de 100 semillas por lote y se utilizó un cabezal apropiado para cada especie. Los rollos fueron identificados por número de lote y fecha de siembra. Se colocaron en estufas a 20°C, temperatura determinada por las reglas ISTA para dichas especies.

El primer conteo de las plántulas normales y anormales en los rollos se realizó el 21 de marzo del 2012 (5 días post-siembra). El segundo conteo se realizó para alfalfa, trébol rojo y trébol blanco el 26 de marzo del 2013 (10 días post-siembra) y para *lotus corniculatus* el 27 de marzo de 2012 (11 días post-siembra), siguiendo las recomendaciones de ISTA para cada especie.

En la figura No. 6 se muestran los rollos retirados de la estufa de germinación para realizar el primer conteo.

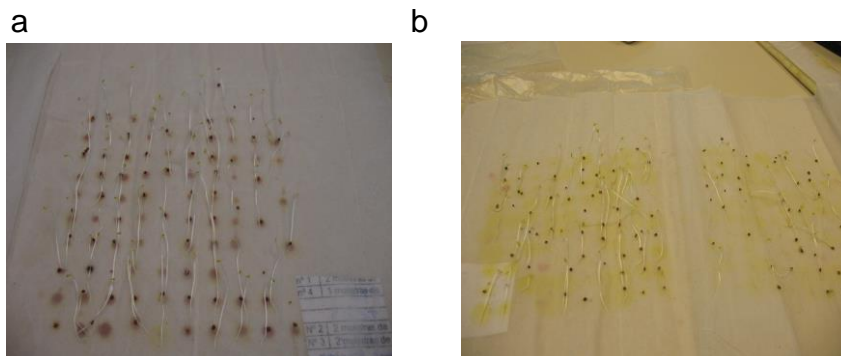


Figura No. 6. Primer conteo de plántulas en el laboratorio: a) Plántulas de lotus; b) Plántulas de trébol rojo

Las semillas duras que fueron sembradas en el ensayo a campo fueron extraídas luego de finalizado el análisis de germinación.

3.4.3 Metodología

Se realizaron dos ensayos a campo:

- a) ensayo de semillas completas del lote (incluye semillas normales, anormales, muertas y duras).
- b) ensayo de semillas duras (que se obtuvieron a partir del análisis de germinación).

3.4.3.1 Siembra de lotes de semillas completos

El diseño fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. El total de tratamientos fue 16 (cuadros No. 2 y 3) y las unidades experimentales fueron 48 que constaron de 50 semillas cada una.

Se acondicionaron 24 cajones (dos unidades experimentales cada uno) con suelo de una chacra del campo experimental del INASE para simular las condiciones naturales.

Las unidades experimentales se etiquetaron con el número de semillas sembradas, especie, lote y repetición.

Cada semilla sembrada se marcó con una estacuita de madera para asegurar una correcta identificación (una semilla por estaca).

En la figura No. 7 se observa la preparación del ensayo a campo de las semillas totales.

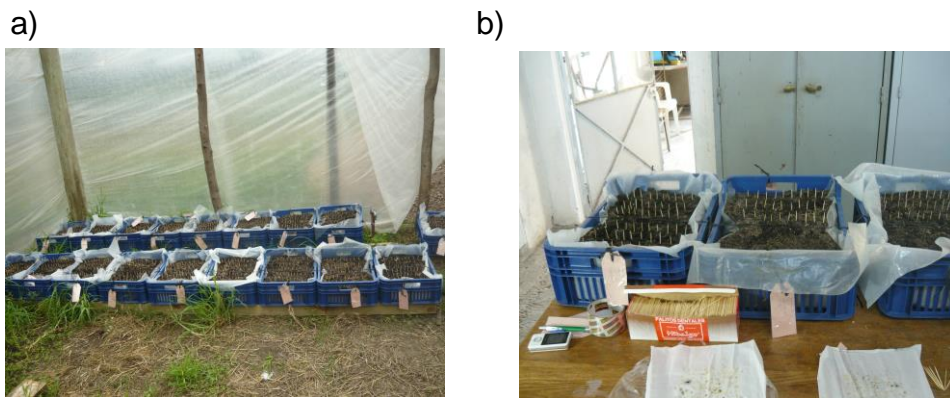


Figura No. 7. Imagen parcial del ensayo a campo luego de la siembra. a) cajones que se dejaron cinco días en invernáculo para luego llevarlos al campo, b) siembra en el galpón de los cajones

Los lotes con semillas totales se sembraron los días 12 y 13 de abril del 2012. Se contabilizaron las plántulas germinadas los días: 19/4, 24/4, 3/5, 9/5, 30/5, 27/6 y el 26/7.

A partir del 18/5 se quitaron las plantas grandes de cada especie y de cada lote, para facilitar la observación y el conteo de las plántulas.

3.4.3.2 Siembra de semillas duras

El diseño fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. El total de tratamientos fue 16 (cuadros No. 2 y 3) y las unidades experimentales fueron 48 que constaron de 30 semillas duras.

Se acondicionaron 24 cajones (dos unidades experimentales cada uno) con suelo de una chacra del campo experimental del INASE para simular las condiciones naturales.

Las unidades experimentales se etiquetaron con el número de semillas sembradas, especie, lote y repetición.

Cada semilla sembrada se marcó con una estacuita de madera para asegurar una correcta identificación (una semilla por estaca).

Se sembró el 2 y 3 de abril del 2012. Los conteos de plántulas germinadas se realizaron: 12/4, 19/4, 24/4, 30/4, 8/5, 18/5, 13/6, 27/6 y 26/7.

En la figura No. 8 se muestran algunas de las unidades experimentales en el ensayo destinado a las semillas duras.

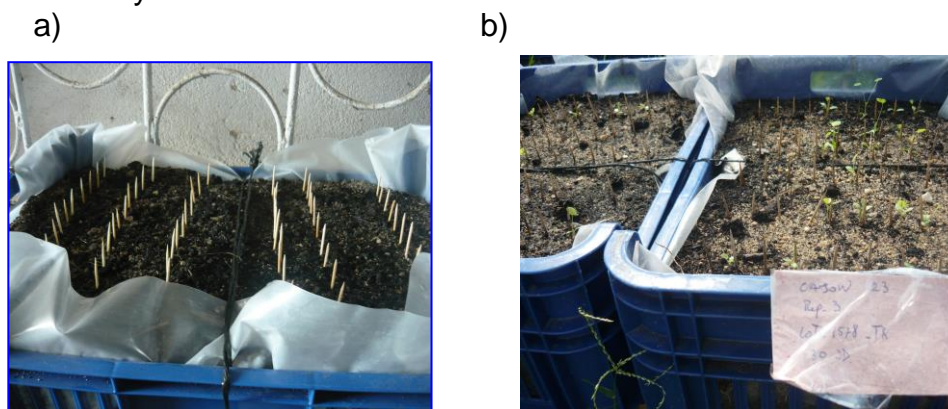


Figura No. 8. Siembra de semillas duras. a) dos unidades experimentales, y b) crecimiento de plántulas de trébol rojo

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS PRODUCIDAS EN URUGUAY

4.1.1 Análisis de las fichas técnicas del Laboratorio

4.1.1.1 Germinación de lotes generales

Existieron diferencias significativas en el promedio de germinación entre los lotes comercializados en 2009 con respecto al promedio de la germinación de los lotes comercializados en 2010 y 2011 (cuadro No. 4).

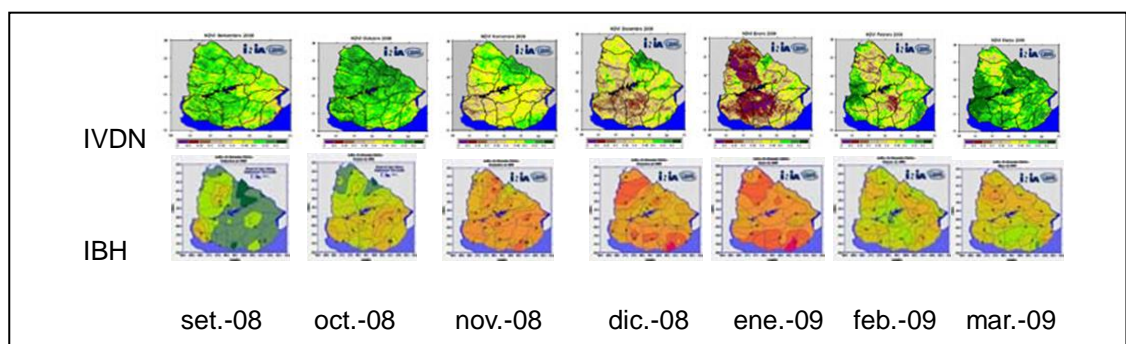
Cuadro No. 4. Porcentaje de germinación media de los lotes generales y número de lotes estudiados según año

Año	Porcentaje de germinación media	Número de lotes
2009	88.90 a	160
2010	91.54 b	245
2011	91.83 b	242

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

La menor germinación de plántulas del año 2009 se lo puede relacionar principalmente a un efecto año. En el año 2008 se produjo un déficit hídrico considerable, dado que las precipitaciones fueron hasta un 43% inferior al registro histórico. La falta de precipitaciones en algunos casos fue más marcada en la época de primavera-verano, periodo clave para una buena producción en cantidad y calidad (IPA, 2009).

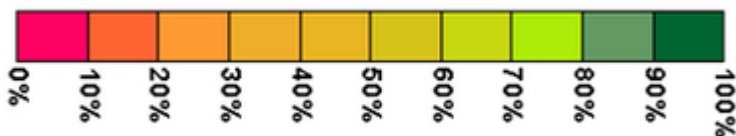
Un estado de déficit hídrico se dio en casi todo el país, en la figura No. 9 se muestra el IBH e IVDN en los meses primavera-verano 2008-2009 (INIA. GRAS, 2013).



Lotus	Inicio Floración	Cosecha	Cosecha
Trébol rojo	Inicio Floración	Cosecha	Cosecha
Trébol blanco	Inicio Floración	Cosecha 15/11	Cosecha 15/12
Alfalfa	Inicio floración	Cosecha	Cosecha

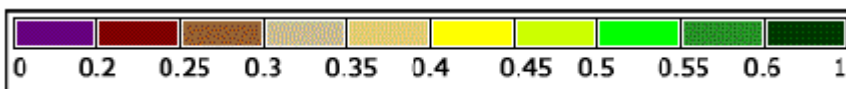
Figura No. 9. Épocas de floración de las distintas especies en estudios contrastando con los IBH e IVDN 2008/2009.

Referencias IBH



“Colores de IBH cercanos a 100 % en el mapa indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración cercanos a la demanda potencial. Por el contrario colores de IBH cercanos a 0 % indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración muy por debajo de la demanda potencial, indicando que climatológicamente la vegetación se encuentra bajo stress hídrico”.

Referencias IVDN



- “El suelo descubierto y con vegetación rala presenta valores positivos aunque no muy elevados.
- La vegetación densa, húmeda y bien desarrollada presenta los mayores valores de IVDN”

Como se aprecia en la figura No. 9 el período del déficit fue principalmente en el momento de la floración (desde setiembre hasta marzo) de las principales leguminosas en el país.

Los mapas superiores forman parte del índice de vegetación diferencia normalizada que es medido por medio de satélite y muestra la reflectancia existente por los diferentes estados vegetales, siendo las coloraciones más oscuras aquellas que señalan condiciones más severas de estrés sufridas por

las plantas, en tanto que los mapas inferiores pertenecen al índice de bienestar hídrico, que forma parte de las salidas del componente del modelo del balance hídrico. Al igual que para IVDN colores más oscuros señalan un mayor déficit hídrico.

Por el déficit hídrico ocurrido la cosecha de semillas de la primavera 2008 resultó muy deficiente para *Avena byzantina*, *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium pratense*; lo que determinó una falta muy importante de semilla para la siembra en 2009 (INASE, 2010).

Con los datos de precipitaciones acumulados en la primavera-verano del ciclo de producción 2008/2009 (cuadro No. 5), se observa que en los meses de octubre y noviembre se encontró el mayor déficit hídrico. Sin embargo, a partir del mes de setiembre ya se empezaba a evidenciar la falta de agua, que coincidió con el período de floración, polinización y posterior la formación de la semilla. Lo que pudo haber influido en el porcentaje de germinación (produciendo semillas mal formadas o muy débiles).

Cuadro No. 5. Precipitaciones mensuales (mm) para el período de primavera-verano en la temporada 2008/2009 en las estaciones experimentales de INASE y de INIA Treinta y Tres y La Estanzuela

Año 2008/2009	INASE	Treinta y Tres	La Estanzuela
Setiembre	27.0	77.6	26.7
Octubre	32.0	37.9	61.2
Noviembre	8.0	16.9	20.0
Diciembre	28.0	85.9	123.6
Enero	73.0	103.0	32.9
Febrero	180.0	74.7	276.7
Marzo	148.0	259.9	149.8

En la cuadro No. 6 se observa el promedio de germinación de las especies evaluadas en los tres años de estudio. El lotus corniculatus obtuvo el menor promedio de germinación, respecto a trébol blanco, alfalfa y trébol rojo, entre las cuales no se observaron diferencias significativas.

Cuadro No. 6. Porcentaje de germinación media de lotes enteros por especie (promedio de tres años) y número de lotes estudiados

Especies	Porcentaje de germinación media	Número de lotes
lotus corniculatus	85.95 a	209
alfalfa	91.68 b	116
trébol rojo	91.92 b	175
trébol blanco	93.48 b	147

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Los altos valores en el porcentaje de germinación de las cuatro especies se pueden explicar por la calidad de semilla producida y comercializada, la manipulación de la semilla en la cosecha (escarificado) y/o técnicas para levantar dormancia en la etapa de laboratorio, tal como fue documentado por Bewley y Black, López et al., Smartt, Hilhorst, Peña et al., citados por González y Monteagudo (2003). Rai et al., citados por González y Monteagudo (2003) reportaron que las semillas de trébol blanco luego de la escarificación presentaron 75% de germinación comparadas al 16% de la semillas no tratadas. Estos últimos autores obtuvieron valores de 73% para trébol blanco y 92% para lotus corniculatus luego del proceso de escarificación los cuales están en concordancia con los resultados de este trabajo.

4.1.1.2 Análisis de varianza

Cuadro No. 7. Porcentaje de germinación media año 2009

Especie	Medias	Número de lotes
trebol blanco	92.48 a	31
trebol rojo	91.67 a	48
alfalfa	91.25 a	28
lotus spp	81.40 b	53

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro No. 8. Porcentaje de germinación media de las cuatro especies año 2010

ESPECIE	Medias	Número de lotes
treból blanco	93.84 a	51
alfalfa	93.14 a	42
treból rojo	91.69 a	64
lotus spp	88.25 b	85

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro No. 9. Porcentaje de germinación media de las cuatro especies en estudio 2011

Especie	Medias	Número de lotes
trebol blanco	94.42 a	65
treból rojo	92.81 ab	63
alfalfa	91.24 b	46
lotus spp	87.28 c	71

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

En los tres años de estudio los porcentajes de germinación por año de las cuatro especies fueron altos. En todos los años el lotus corniculatus fue significativamente el de menor porcentaje de germinación. En el año 2011 la alfalfa obtuvo significativamente menor valor que el trébol blanco.

4.1.1.3 Proporción de semillas duras de los lotes generales

Al estudiar el porcentaje de semillas duras de los 647 lotes evaluados, se observó que el año 2011 fue el único que se diferenció significativamente de los otros (cuadro No. 10). Para realizar el análisis de producción de semillas duras el estudio se centra en las temporadas 2009/2010 y 2010/2011 y en los dos factores ambientales que más inciden en la producción (temperatura y humedad relativa).

Cuadro No. 10. Porcentaje de semillas duras en los lotes generales y número de lotes estudiados por año

Año	Porcentaje de semillas duras	Número de lotes
2009	13.41 a	160
2010	15.79 a	242
2011	18.77 b	245

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Este mayor número de semillas duras puede deberse a las condiciones de baja humedad y alta temperatura en determinados momentos durante la producción de semilla de ese año, esto concuerda con lo reportado por Nikolaeva, citado por Galussi (2007) que indicó que la baja humedad en el aire durante la maduración incide en el incremento del número de semilla dura. Besnier Romero, citado por Galussi (2007) señaló que las altas temperaturas durante la producción de semillas estarían influyendo también en el aumento de las semillas duras. Esto en parte corroboraría con el cuadro No. 11 en el cual se muestran las temperaturas máximas y medias en los tres años de producción de semilla. En la temporada 2009/2010 se dio menor temperatura máxima y media mensual principalmente en noviembre y diciembre (momento de producción de semilla) que para la temporada 2010/2011 (año de mayor cantidad de semilla dura), lo cual podría explicar la diferencia en la producción de semilla dura entre años. Pero en la temporada 2008/2009 se dio en general mayor temperatura media y máxima que en 2010/2011, por lo tanto, la diferencia de semillas duras entre estos dos temporadas estaría explicado por otro factor ambiental.

Cuadro No. 11. Temperatura máxima y media en los tres períodos de producción de semilla en la estación de INIA Treinta y tres

Año	2010/2011		2009/2010		2008/2009	
	Temperatura máxima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura media (°C)
Setiembre	25,1	19,8	24,4	18,1	26,2	18,8
Octubre	27,2	22,7	31,3	21,4	32,2	22,8
Noviembre	34,4	25,1	32,2	24,9	33,2	28,2
Diciembre	35,2	29,5	33,1	25,8	35,6	27,9
Enero	38,0	31,5	36,9	29,5	35,2	29,2
Febrero	35,0	28,7	35,8	28,3	34,6	28,8
Marzo	33,1	26,7	30,8	27,4	32,1	26,9

Fuente: INIA. GRAS (2013)

En general los altos porcentajes de semilla dura se dan en condiciones

de baja humedad y altas temperaturas. La semilla formada en ambientes húmedos tiene menor probabilidad de ser semilla dura Harris, citado por Bertín (2007). Las diferencias en la producción de semilla dura que fue un 18% mayor en 2010/2011 respecto a 2009/2010, el que podría explicarse además, por la humedad relativa que se dio en las temporadas de producción de semilla (cuadro No. 12). Todos los meses de la temporada 2010/2011 analizados presentaron menor humedad relativa que en 2009/2010, lo que explicaría la mayor producción de semilla dura en 2011.

Cuadro No. 12. Porcentaje de humedad relativa INIA Treinta y tres

Año	2010/2011	2009/2010
	Humedad relativa (%)	Humedad relativa (%)
Setiembre	84,0	84,6
Octubre	76,8	81,9
Noviembre	76,9	83,9
Diciembre	72,5	81,5
Enero	78,5	79,9
Febrero	80,7	83,4

Fuente: INIA. GRAS (2013)

El porcentaje de semillas duras en este estudio fue variable entre especies (cuadro No. 13). El trébol rojo produjo menos semillas duras que el resto de las especies en mayor medida con trébol blanco y lotus corniculatus (60 % y 140 %, respectivamente $p \leq 0.05$). El lotus corniculatus fue el que mostro mayor producción de estas semillas. La alfalfa no se diferenció estadísticamente del trébol rojo y trébol blanco en la producción de semilla dura.

Cuadro No. 13. Porcentaje de semilla dura por especie en los lotes generales de semilla en los tres años de estudio

Especies totales	Porcentaje de semilla dura (%)
trébol rojo	10,1 a
alfalfa	12,8 ab
trébol blanco	16,3 b
lotus corniculatus	24,7 c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

4.2 ANÁLISIS DE LA GERMINACIÓN A CAMPO DE LAS SEMILLAS

4.2.1 Siembra de lotes de semillas completos

Transcurrido los 4 meses desde la siembra emergió un 74% de las semillas de alfalfa (cuadro No. 14). Solamente el 61 % de las semillas de lotus corniculatus dieron plantas emergidas, el cual se diferenciaron significativamente de la alfalfa. El trébol rojo y trébol blanco dieron valores intermedios en el porcentaje de emergencia a campo.

Cuadro No. 14. Porcentaje de emergencia a campo por especie de lotes completos aproximadamente 120 días post-siembra

Especies	Porcentaje de plantas emergidas
lotus corniculatus	61 a
trébol rojo	68 ab
trébol blanco	68 ab
alfalfa	74 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Tanto en la emergencia de plantas a campo (cuadro No. 14) como el porcentaje de germinación en el laboratorio (cuadro No. 15), el lotus corniculatus fue la especie con menor porcentaje de plántulas en comparación a las otras especies en estudio.

Cuadro No. 15. Porcentaje de germinación en el laboratorio por especie de lotes completos

ESPECIE	% NORMALES	% DURAS	% GERMINACIÓN
trébol blanco	67,5	27,3	94,8
trébol rojo	79,3	14,8	94,0
alfalfa	60,5	28,8	89,3
lotus corniculatus	60,0	26,5	86,5

El cuadro No. 15 ilustra el porcentaje de germinación de los lotes utilizados por especie, detallando las semillas que germinaron y darán una plántula normal, las semillas duras y la suma de estas dos dando como producto el porcentaje de germinación en el laboratorio.

La caída de la emergencia a campo comparada a análisis de

germinación en el laboratorio (entre un 20 y un 40%) se debe a condiciones ambientales menos favorables a campo. La temperatura podría ser el factor de mayor incidencia. Otra explicación de esta diferencia puede estar dada en el método que se utiliza para determinar el porcentaje de germinación en el laboratorio que se suman las plántulas normales y el total de las semillas duras, mientras que a campo se midieron las plantas emergidas.

El lotus corniculatus y el trébol blanco fueron las especies que mayor diferencia hubo entre el análisis de germinación en el laboratorio y la emergencia a campo. Esto concuerda con lo expresado por Rowarth y Sanders, citados por Ayala y Carámbula (2009) que demostraron en *L. corniculatus*, *L. pedunculatus* y *L. tenuis* la germinación en el laboratorio no era un buen predictor de la emergencia de las plántulas a campo.

El cuadro No. 16 presenta la evolución de la germinación de cada especie en cada observación, siendo el resultado final la sumatoria de cada una de estas.

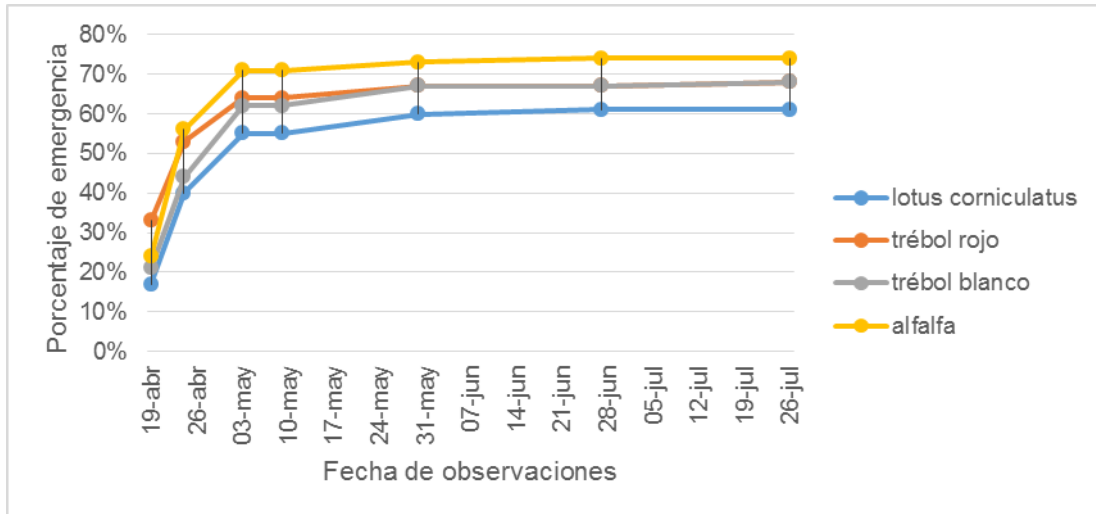
Cuadro No. 16. Germinación de lotes completos en cada observación en %

Especies	19/4	24/4	3/5	9/5	30/5	27/6	26/7
lotus corni	17%	40%	55%	55%	60%	61%	61%
trébol rojo	33%	53%	64%	64%	67%	67%	68%
trébol blanco	21%	44%	62%	62%	67%	67%	68%
alfalfa	24%	56%	71%	71%	73%	74%	74%

En la primera observación realizada el 19/4 habían emergido el 17% de las plantas de lotus, el 33% de las plantas de trébol rojo, el 21% de las plantas de trébol blanco y el 24% de las plantas de alfalfa. En cinco días entre la primer y segunda observación los datos de plantas emergidas aproximadamente se duplicaron en todas las especies. A los 11 días después de la siembra el trébol rojo y la alfalfa alcanzaron más del 50% de las plántulas emergidas, esto estaría explicado por el mayor vigor inicial de estas especies en comparación con lotus y trébol blanco que demoraron más en llegar a ese porcentaje de emergencia. El trébol blanco fue la especie que obtuvo mayor aumento de plantas emergidas entre la segunda y tercer observación pasando del 44 al 62%.

Al final del período entre el 27/6 y 26/7 las únicas especies que aumentaron fueron trébol rojo y trébol blanco en un punto porcentual. En general a partir del 3 de mayo se desaceleró fuertemente la emergencia de plantas, resultando que desde esa fecha hasta 26/7, el lotus obtuvo un incremento del 6% al igual que el trébol blanco, el trébol rojo un 4%, y la alfalfa

solamente un 3%.



Gráfica No. 1. Evolución de la emergencia de los lotes completos de lotus corniculatus, trébol rojo, trébol blanco y alfalfa en el total de las observaciones

En la gráfica No. 1 se observa el bajo vigor y menor emergencia de plantas para el lotus con respecto al resto de las especies, apenas superando el 60 % al término del período de estudio (120 días). La alfalfa vislumbró un crecimiento elevado marcado por la pendiente en la gráfica desde el inicio alcanzando así un 71% de plantas emergidas a los 20 días después de la siembra.

4.2.2 Siembra a campo de las semillas duras

El trébol rojo fue la especie que menos emergencia de semillas duras a campo presentó, diferenciándose estadísticamente de las otras especies hasta un 43% menor (cuadro No. 17).

Cuadro No. 17. Porcentaje de emergencia de plantas de las semillas duras por especie

Especies	Porcentaje de plantas emergidas
trébol rojo	40 a
trébol_blanco	64 b
lotus corniculatus	68 b
alfalfa	71 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Los lotes de la misma especie seleccionados que presentaron un alto porcentaje de semilla dura en el análisis de germinación, emergieron a campo en una proporción similar que los lotes seleccionados de la misma especie con baja proporción de semilla dura. Si se tiene en cuenta la suma de los lotes denominados de alta y la suma de los lotes denominados de baja y se realiza el promedio de germinación existe una muy pequeña diferencia positiva en el porcentaje de germinación en lotes con mayor número de semillas duras encontrándose en la alfalfa la mayor diferencia 2.61% y la menor diferencia en trébol rojo.

Cuadro No. 18. Porcentaje de germinación de semillas duras de alfalfa en el ensayo a campo

Especie	Lotes	Número semillas duras	Porcentaje de germinación
alfalfa	628	47	69
alfalfa	1009	33	79
alfalfa	1010	19	66
alfalfa	1011	16	72

Cuadro No. 19. Porcentaje de germinación de semillas duras de lotus corniculatus en el ensayo a campo

Especie	Lotes	Número semillas duras	Porcentaje de germinación
lotus cornic.	1436	34	70
lotus cornic.	1580	40	67
lotus cornic.	1576	15	74
lotus cornic.	3784	17	59

Cuadro No. 20. Porcentaje de germinación de semillas duras de trébol blanco en el ensayo a campo

Especie	Lotes	Número semillas duras	Porcentaje de germinación
trébol blanco	291	32	78
trébol blanco	292	44	67
trébol blanco	1547	14	44
trébol blanco	1582	19	68

Cuadro No. 21. Porcentaje de germinación de semillas duras de trébol rojo en el ensayo a campo

Especie	Lotes	Número semillas duras	Porcentaje de germinación
trébol rojo	295	18	40
trébol rojo	1012	17	41
trébol rojo	1014	12	36
trébol rojo	1578	12	42

En ninguna especie la emergencia de las semillas duras fue de un 100%. Esto se relaciona con trabajos anteriores realizados por Zimmermann et al. (2003) sobre la viabilidad de las semillas duras, donde el promedio fue de 97% para trébol blanco, 90% para trébol rojo, 88% para alfalfa y 72% para lotus corniculatus (Galussi, 2007).

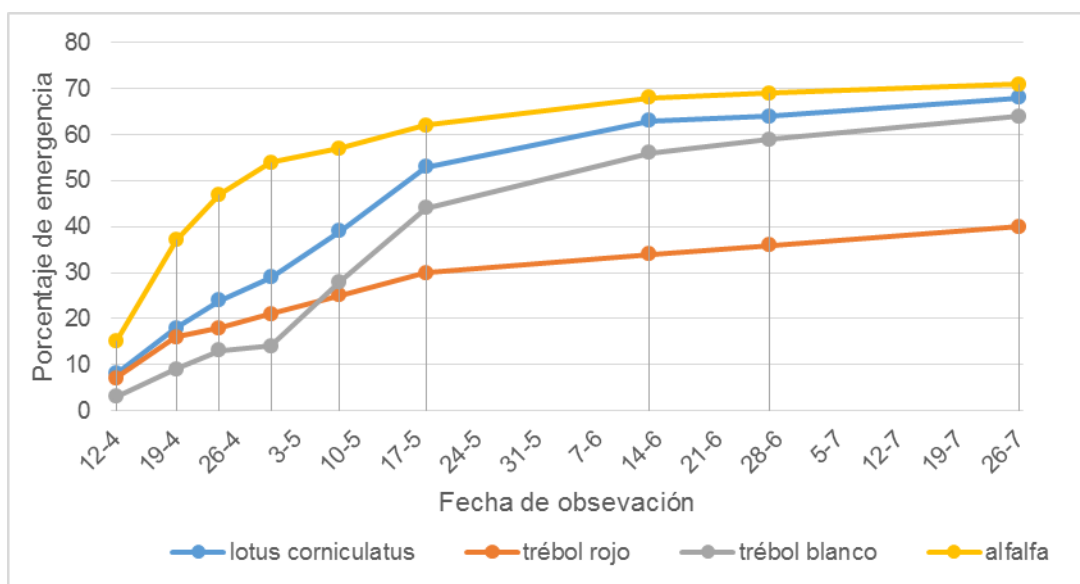
En base a los resultados obtenidos en este trabajo, el procedimiento de sumar el total de las semillas duras, de todas las especies, a las plántulas normales en el análisis de germinación del laboratorio estarían sobre estimando el porcentaje de germinación.

El cuadro No. 22 se vislumbra la emergencia de las semillas duras en cada observación realizada en el trabajo de las diferentes especies en estudio.

Cuadro No. 22. Emergencia de platas de las semillas duras por especie y por fecha

Especie	12/4	19/4	24/4	30/4	8/5	18/5	13/6	27/6	26/7
lotus corniculatus	8 %	18 %	24 %	29 %	39 %	53 %	63 %	64 %	68 %
trébol rojo	7 %	16 %	18 %	21 %	25 %	30 %	34 %	36 %	40 %
trébol blanco	3 %	9 %	13 %	14 %	28 %	44 %	56 %	59 %	64 %
alfalfa	15 %	37 %	47 %	54 %	57 %	62 %	68 %	69 %	71 %

En el cuadro No. 22 y en la gráfica No. 2 se observa la evolución de la emergencia de las plantas de semillas duras desde 12 de abril hasta 26 de julio. La alfalfa fue la especie con mejor comportamiento en la emergencia de plantas de las semillas duras en todo el ciclo de estudio. El trébol blanco hasta 30 de abril fue la de menor cantidad de plantas emergidas, mejorando luego hasta superar al trébol rojo y logrando los mismos niveles que lotus y alfalfa. El trébol rojo fue constante en su emergencia en todo el período de estudio, en cambio la emergencia de las plantas de alfalfa fue mayor en los primeros 30 días de estudio que al final de período. El lotus por su parte comenzó al igual que trébol blanco y trébol rojo con una emergencia lenta hasta los primeros 30 días de estudio, luego comenzó a aumentar dichos niveles.



Gráfica No. 2. Evolución de la germinación de semillas duras de lotes de LC, TR, TB y alfalfa en el total del periodo de observación

5. CONCLUSIONES

- Se acepta la hipótesis de que el porcentaje de semillas duras en los lotes comerciales depende del año de cosecha tal como muestra el cuadro No.7.
- El lotus corniculatus es la especie que obtuvo mayor porcentaje de semillas duras en los tres años de estudio con 24,7%. Seguido por el trébol blanco que no se diferencia significativamente de la alfalfa. La especie con menor proporción de semilla dura obtuvo fue trébol rojo con 10,17%. Esto hace no rechazar la hipótesis en la que se planteó que la proporción de semillas duras varía con la especie.
- La hipótesis en la que refiere a que no todas las semillas duras tienen la capacidad de emerger fue aceptada ya que en ningún caso se alcanzó el 100% de germinación de las semillas duras de las cuatro especies en estudio, donde el máximo fue para la alfalfa que alcanzó el 71%; además existieron diferencias significativas en la emergencia entre las distintas especies tal como fue propuesto en las hipótesis donde se planteaba que la emergencia varía con la especie, aceptando entonces dichas hipótesis.
- Existe variabilidad en cuanto a la cantidad de semillas duras entre las diferentes especies de leguminosas estudiadas. Esta variabilidad es tanto inter como intra especie y depende mucho de las condiciones climáticas, sobre todo de temperatura alta y baja humedad del aire en la etapa de maduración, así como del tiempo y condiciones de almacenamiento. Esto está en concordancia con el primer objetivo planteado (obj. a).
- Podemos decir que la proporción de semillas duras nacidas en condiciones a campo se relaciona más con la especie que con la cantidad de semillas duras existentes en los distintos lotes.
- El trébol rojo fue la especie que tuvo un menor número de semillas duras entre los lotes seleccionados y la alfalfa fue la de mayor rango de variación entre los lotes.

6.RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo cuantificar la importancia y variabilidad en la proporción de semillas duras de diferentes lotes de semillas de alfalfa, lotus corniculatus, trébol blanco y trébol rojo, además de determinar qué proporción de semillas duras generan plántulas normales en condiciones reales de siembra. Para esto se plantearon algunas hipótesis teniendo en cuenta la variación en la proporción intra e inter especie, la capacidad de emergencia y la variación existente por efecto año de las semillas duras. Para realizar este trabajo en primera instancia se utilizaron las fichas elaboradas por el laboratorio INASE teniendo en cuenta tres años (2009,2010,2011), y en segunda instancia el campo experimental de dicha institución. El diseño del experimento fue de bloques completos al azar con tres repeticiones, tanto para la siembra de lotes completos como para el ensayo de semillas duras únicamente. Al estudiar las fichas se encontró que existió diferencias significativas en el porcentaje de germinación media únicamente en el año 2009 siendo la germinación más baja que los dos restantes años sucesivos. En cuanto a las semillas duras el año 2011 fue el que se diferenció significativamente del resto con un mayor número de estas. En cuanto al ensayo a campo de lotes enteros transcurrido los cuatro meses se diferenciaron en la emergencia el lotus con la alfalfa no así el resto de las especies. En el ensayo de semillas duras únicamente se diferenció significativamente en la germinación el trébol rojo. En conclusión se pudo aceptar las hipótesis planteadas, demostrando que existe cambios en el número de las semillas duras según año de cosecha, la variabilidad en el número y la germinación entre y dentro de las especies en estudio. En ningún caso existió un 100% de germinación de semillas duras.

Palabras clave: Semillas duras; Leguminosas forrajeras; Germinación.

7. SUMMARY

This study aimed to quantify the importance and variability in the proportion of hard seeds of different batches of alfalfa seeds, lotus corniculatus, white clover and red clover, in addition to determining what proportion of hard seeds produce normal seedlings under field conditions for planting. For this some hypotheses were raised considering the variation in intra- and inter-species proportion, emergency capacity and the variation effect year of hard seeds. To make this work in the first instance the schedules established by the laboratory the experimental field of this institution were used INASE considering three years (2009,2010,2011) and on appeal. The experimental design was a randomized complete block design with three replicates for both planting complete to test hard only seed lots. By studying the records was found that there was significant difference in the mean percentage germination only in 2009 being lower than the remaining two successive years germination. As for the hard seeds in 2011 was that differed significantly from the rest with a greater number of these. As for the field trial batches after four months integers differ in emergency alfalfa lotus not so with the other species. In the trial of hard seeds was significantly differed only in red clover germination. In conclusion could accept the hypotheses, demonstrating that changes in the numbers of the hard seeds as vintage, variability in the number and germination between and within species under study. In any case existed 100% germination of hard seeds.

Keywords: Hard seed; Forage legumes; Germination.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ABREU, N. 2010. El mercado uruguayo de semillas forrajeras y graníferas. In: Jornada de Campo Unidad de Comunicación INASE (2010, Barros Blancos). Memorias. Barros Blancos, Canelones, INASE.pp. 92- 106.
2. ÁLVAREZ, P. J. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MANDARINO, J. M. G.; FRANCA NETO, J. B. 1997. Relación entre contenido de lignina de la testa en soja y la resistencia a los daños mecánicos. *La Ciencia y la Tecnología de la Semilla*. 25 (2): 209-214.
3. AYALA, W.; CARÁMBULA, M. 2009. El valor agronómico del género *Lotus*. Implantación de *Lotus spp*. Montevideo, INIA. pp.117-208.
4. BERTÍN, O. D. 2007a. Cultivo de *Lotus corniculatus* para semilla. *Análisis de Semilla*. 1 (4): 63-65.
5. _____. 2007b. Cultivo de trébol blanco para semilla. *Análisis de Semilla*. 1 (4): 56-58.
6. CARÁMBULA, M. 1977. Producción y manejo de pasturas sembradas. Montevideo, Hemisferio Sur. pp. 106-116.
7. GALUSSI, A. A. 2007. Cuestiones sobre semillas duras de leguminosas forrajeras. *Análisis de Semilla*. 1 (1): 40-43.
8. GONZÁLEZ PARODI, S. N.; MONTEAGUDO FIEPPE, M. M. 2003. Renovación de mejoramientos de campo de *Lotus corniculatus* y *Trifolium repens*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. pp. 1-81.
9. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 2013. International rules for seed testing. Bassersdorf. 2 p.
10. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA (INIA). 2013. Portal INIA GRAS; banco de datos agroclimáticos. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 15 set. 2013. Disponible en <http://www.inia.uy/investigaci%C3%B3n-e-innovaci%C3%B3n/idades/GRAS/Clima/Banco-datos-agroclimatico>

11. INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLA (INASE). 2012. Definiciones. (en línea). Barros Blanco, Canelones. s.p. Consultado 14 jun. Disponible en <http://www.inase.org.uy/>
12. INSTITUTO PLAN AGOPECUARIO (IPA). 2009. Las variaciones del clima y la producción de forraje. Revista Plan Agropecuario. no. 130: 18-19.
13. MOREIRA DE CARVALHO, N.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes; ciência, tecnologia, e produção. germinação de sementes. 4a. ed. San Paulo, Brasil, Funep. pp.128-158.
14. PERISSÉ, P. 2002. Semilla un punto de vista agronómico. (en línea). Córdoba, CyTA. s.p. Consultado 15 jun. 2012. Disponible en <http://www.cyta.com.ar>
15. SEVILLAL, G. H.; FERNÁNDEZ, O. N. 1991. Producción y manejo de pasturas. Pasturas cultivadas en general. Leguminosas forrajeras herbáceas; emergencia y establecimiento de plántulas. (en línea). Buenos Aires, Sitio Argentino de Producción Animal. pp.1-8. Consultado 16 abr.2013. <http://www.produccion-animal.com.ar/>.
16. SMITH, M. T.; WANG, B. S. P.; MSANGA, H. P. 2002. Dormancia y germinación. (en línea). In: Vozzo, J. A. ed. Manual de semillas de árboles tropicales. Washington, D.C., USDA. Forest Service. pp. 157-182 (Agriculture Handbook no. 721). Consultado 26 nov. 2013. Disponible en http://www.edeca.una.ac.cr/files/Germinacin_y_dormancia.PDF
17. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA (URUGUAY). FACULTAD DE AGRONOMÍA. 2013a. Lotus Corniculatus. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 22 jun 2013. Disponible en http://www.fagro.edu.uy/~botanica/www_botanica/webcursobotanica/web_practicos_pa/pa_leguminosae_lotus.html.
18. _____. _____. 2013b. Trifolium. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 22 jun. 2013. Disponible en http://www.fagro.edu.uy/~botanica/www_botanica/webcursobotanica/web_practicos_pa/pa_leguminosae_trifolium.html
19. URUGUAY. PODER LEGISLATIVO. 1997. Ley No. 16.811. Instituto Nacional de Semilla. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 22ago.2013. Disponible en

<http://www.parlamento.gub.uy/leyes/AccesoTextoLey.asp?Ley=16811&Anchor=>

20. VAN ASSCHE, J. A.; DEBUCQUOY, K. L. A.; ROMMENS, W. A. F. 2003. Ciclos estacionales en la capacidad de la germinación de las semillas enterradas de algunas leguminosas (*Fabaceae*). *New Phytologist*. 158 (2): 315-323.
21. VÁSQUEZ YANES, C.; OROZCO, A.; ROJAS, M.; SÁNCHEZ, M. E.; CERVANTES, V. 1997. La reproducción de las plantas; semillas y meristemos. (en línea). México, D. F., Fondo de Cultura Universitaria. cap. 1, s.p. Consultado 16 abr. 2013. Disponible en <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>.
22. ZAVALETA, H.; HERNÁNDEZ, M.; CUEVAS, J.; ENGLEMAN, M. 2003. Anatomía de la semilla de *Cupania dentata* (Sopindaceae) con énfasis en la semilla madura. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*. 74(1): 17-29.
23. ZIMMERMANN, L. R.; GALUSSI, A. A.; MARTINELLI, A. H. M.; FÉRNANDEZ, A. P. 2003. Viabilidad y longevidad de las semillas duras de leguminosas forrajeras. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. no. 26: 231- 257.

9. ANEXOS

1)

“El modelo de balance hídrico para los suelos de Uruguay realiza una estimación del contenido de agua disponible de una región considerando el tipo de suelo, la precipitación efectiva, la demanda potencial de agua de la atmósfera y la transpiración de la vegetación.

Este modelo utiliza como variables de Entrada

PRE: Precipitación Efectiva se calcula deduciendo de la precipitación registrada en 84 estaciones meteorológicas (79 de la InUMet_ y 5 de INIA, ver mapa), un valor de escurrimiento superficial estimado en función de la lluvia antecedente (5 días anteriores).

ETP: Evapotranspiración Potencial o demanda de agua del suelo por parte de la pastura se calcula en función de un modelo físico que estima la evapotranspiración potencial en base a valores diarios de: Temperatura, Humedad del Aire, Velocidad de Viento y Radiación Solar. El método utilizado es el denominado Penman-Monteith .

CR Agua Suelos: Capacidad de retener agua del suelo para cada una de las unidades de suelo definidas según Carta de Reconocimiento de Suelos de Uruguay escala 1:1.000.000 (Dirección Nacional de Recursos Naturales Renovables, División Suelos y Aguas, MGAP). El tipo de suelodetermina la capacidad de retención máxima de agua de la zona de actividad de raíces.

Para cada día se calcula el cambio de almacenaje mediante la aplicación de un modelo logarítmico que considera la retención del agua por parte del suelo (adaptado de Thornthwaite C.W. y Mather J.R. "Instructions and tables for computing potential evapotranspiration and the water balance." Publ. in Climatology, 10:181-311, 1957).

El valor de transpiración diaria corresponde al cambio de almacenaje calculado en el paso anterior.

Variables de Salida del modelo:

IBH: Índice de Bienestar Hídrico que resulta del porcentaje la transpiracion en función de la demanda potencial diaria (ETR/ETP).

Valores de IBH cercanos a 1.0 indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración cercanos a la demanda potencial. Por el contrario valores de IBH cercanos a 0.0 indican que la vegetación se encuentra en valores de transpiración muy por debajo de la demanda potencial, indicando que climatologicamente la vegetacion se encuentra bajo stress hídrico.

ETR: Evapotranspiración Real.

ANR: Agua no retenida, es la suma del Escurrimiento superficial y Excesos de

agua en el suelo (Agua que excede el contenido de agua del suelo a capacidad de campo).

ADI: Contenido de agua disponible en el suelo

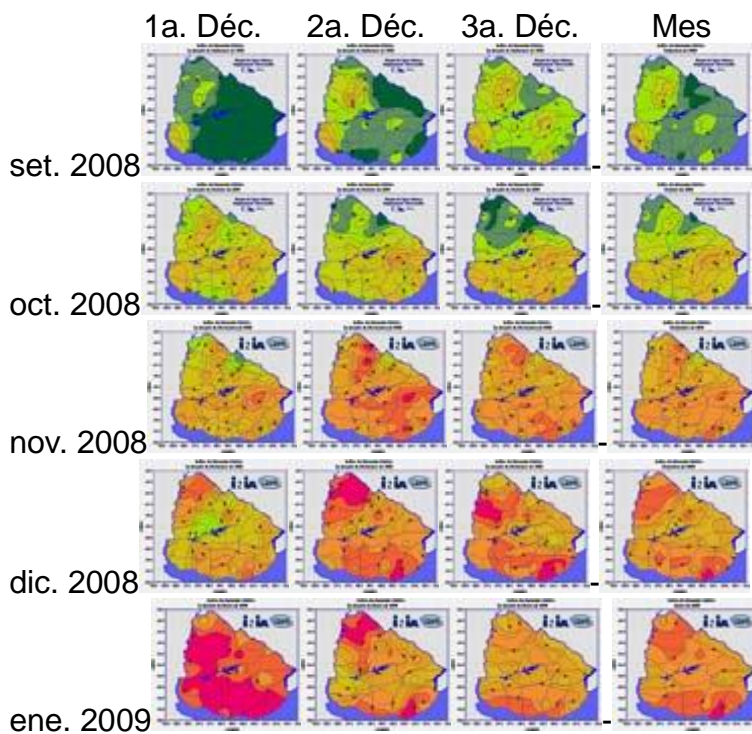
PAD: Porcentaje de agua disponible, como $ADI/CC*100$ (CC: capacidad de campo).

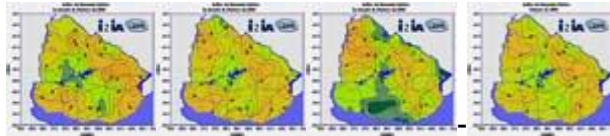
NOTA: la NECESIDAD DE AGUA DE RIEGO como % de la CC es igual a $(100-PAD)$

SUPUESTOS:

La metodología considera que la vegetación de cobertura es: una pastura (tipo gramínea), intercepta un 100% de la radiación incidente y se encuentra en activo crecimiento."

Figura No. 9. Índice de bienestar hídrico en los meses primavera-verano 2008-2009 (INIA. GRAS, 2013).





feb. 2009

Figura No. 9. Índice de Bienestar Hídrico cada 10 días y mensual año 2008-2009 (INIA. GRAS, 2014).

“El índice de vegetación diferencia normalizada, IVDN o NDVI, es una variable que permite estimar el desarrollo de una vegetación en base a la medición, con sensores remotos, de la intensidad de la radiación de ciertas bandas del espectro electromagnético que la misma emite o refleja. Normalmente la vegetación viva, tiene reflectancia baja en el espectro VIS (espectro visible) y alta en el espectro NIR (infrarojo cercano). Cuando una cobertura vegetal se encuentra en estrés, tiende a absorber menos radiación solar en el VIS aumentando su reflectancia y a absorber más en el NIR. De esta manera la diferencia entre reflectancias de los canales 2 y 1: $R2-R1$ (índice diferencial) tiende a decrecer cuando la cobertura vegetal está afectada por algún factor de estrés (deficiencia de agua, enfermedades, plagas, etc.) (INIA. GRAS, 2013) ”.

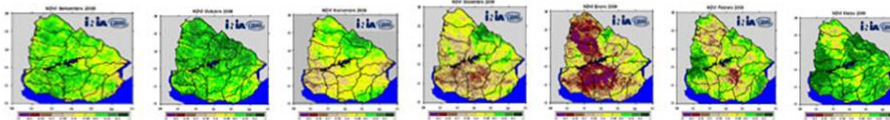
“El índice diferencial normalizado se define como: $IVDN = (R2 - R1) / (R2 + R1)$. Los valores de IVDN oscilan entre -1 y 1. El índice permite identificar la presencia de vegetación verde en la superficie y caracterizar su distribución espacial así como la evolución de su estado a lo largo del tiempo. Esto está determinado fundamentalmente por las condiciones climáticas. La interpretación del índice debe asimismo considerar los ciclos fenológicos y de desarrollo anuales para distinguir oscilaciones naturales de la vegetación de los cambios en la distribución espacial causados por otros factores.

El agua tiene reflectancia $R1 > R2$, por lo tanto valores negativos de IVDN. Las nubes presentan valores similares de $R1$ y $R2$, por lo que su IVDN es cercano a 0.

El suelo descubierto y con vegetación rala presenta valores positivos aunque no muy elevados.

La vegetación densa, húmeda y bien desarrollada presenta los mayores valores de IVDN”

Mapas setiembre 2008 a marzo 2009.



FUENTE: INIA. GRAS (2014).