

## **Efecto de las condiciones de incubación y pre-incubación sobre el comportamiento germinativo de poblaciones de *Paspalum dilatatum* de la Pampa Deprimida**

**María Alejandra Blanco, Gustavo Schrauf y V. Alejandro Deregibus**

*Cátedra de Forrajicultura, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, 1417 Buenos Aires, Argentina*

**Resumen.** *El objetivo de este trabajo fue analizar el comportamiento germinativo de semillas de Paspalum dilatatum Poir. provenientes de poblaciones de posición topográfica intermedia y baja y de diferentes historias de uso (clausura y pastoreo). Se utilizaron condiciones de incubación de alternancia de luz y temperatura (20°C 16 hs. oscuridad - 35°C 8 hs. luz) y oscuridad y temperatura constante (25°C). Previo a la incubación la mitad de las semillas se colocaron en condiciones de inmersión, por la relación de estas poblaciones con eventos naturales de inundación. Se estimó la germinación total a través del número de semillas germinadas a los 30 días y la germinación inicial a través de un índice basado en el descrito por Maguire. Tanto la inmersión en agua como la incubación en condiciones de luz y alternancia de temperaturas aumentaron significativamente la germinación inicial y total. La germinación inicial y total también fue afectada por la condición de incubación mostrando en condiciones de luz y alternancia de temperatura valores superiores. La germinación inicial mostró interacciones significativas entre la ubicación topográfica y la condición de incubación y entre esta última y la historia de uso. Las diferencias en la germinación inicial entre condiciones de incubación fueron mayores en las poblaciones de posición topográfica intermedia que en las de posición media y en las provenientes de ambientes pastoreados que en las de clausuras. La interacción entre historia de uso y condición de incubación puede ser explicada por las diferencias en los tamaños de semillas generados en ambientes pastoreados y clausurados respectivamente.*

**Abstract.** *We analysed the germination behaviour of seeds of Paspalum dilatatum Poir. from populations located in areas with different topographic positions (midland and lowland), and history (exclosure and continuous grazing). Incubation conditions were alternate light and temperature (16 hs at 20°C and darkness - 8 hs at 35°C and light) and darkness at constant temperature (25°C). They were expected to simulate grazing and exclosure environments. Previously, one half of the seeds was placed in water immersion, to simulate natural events of flooding. Total germination was estimated by germination percent at the 30th day and by Maguire's index rate of initial germination. Both water immersion and alternate light and temperature conditions significantly increased total and initial germination. The interaction between topographic site and incubation condition and between the latter and use history was significant for initial germination. Differences in initial germination between incubation conditions were greater in midland populations than in lowland populations and in populations from grazed plots than in exclosure populations. This may be explained by seed size differences between grazed and exclosure environments.*

### **Introducción**

*Paspalum dilatatum* Poir. (Pasto miel) es una valiosa especie forrajera estival que coloniza ambientes pastoreados y clausuras, bajos media lomas y lomas en la Pampa Deprimida de Argentina (León 1975, Sala et al. 1986). No obstante su importancia como forrajera, su deficiente comportamiento

germinativo es una de las principales limitantes para su difusión (Ray y Stewart 1937, Burton 1939, Holt 1957, Schrauf 1994, Schrauf et al. 1995a). La variación en el comportamiento germinativo puede tener causas ambientales, de ambiente materno, genéticas o de interacción entre éstas (Soriano 1957, Harper 1977, Pontes y Martins 1982, Benech Arnold et al. 1991).

Se han descrito poblaciones variables de Pasto miel en la Pampa Deprimida de la Prov. de Buenos Aires, y parte de esta variación se mostró asociada a diferencias ambientales (Loreti y Oesterheld *enviado a publicación*, Schrauf et al. 1995b). Las diferencias topográficas implican diferencias en la duración y frecuencia de las inundaciones características de la región. Insausti et al. (1995) hallaron que las inundaciones afectaban la germinación de *Ambrosia tenuifolia*. La introducción de grandes herbívoros produce cambios notorios en la estructura de la vegetación y modifica el microambiente: sitios pastoreados y clausurados difieren en condiciones de luz y temperatura (Sala et al. 1986). Para *Cirsium vulgare*, Silvertown y Smith (1989) hallaron que el efecto más importante del pastoreo era indirecto y actuaba sobre la germinación de la especie. Es necesario considerar que en algunos sitios coexisten el pastoreo y la inundación; esta última produce cambios en la composición florística (Chaneton 1988) ya que ocasiona la muerte de dicotiledóneas dejando un nicho vacante aprovechable por las monocotiledóneas sobrevivientes o para las semillas de ambas.

Los huecos formados por el pastoreo o la inundación pueden llegar a ser efímeros (Insausti et al. 1995), lo que implica que una germinación rápida podría acarrear ventajas competitivas en el establecimiento. Harper (1977) sugiere que el éxito de un individuo en una población de plantas estaría determinado desde muy temprano en su desarrollo. Grubb (1977) considera que el éxito de una planta para establecerse depende de las condiciones ambientales que determinan su germinación y crecimiento inicial.

El presente trabajo procura determinar si existen diferencias fenotípicas en la germinación inicial total bajo distintas condiciones de incubación y pre-incubación de poblaciones de semillas de *Paspalum dilatatum* provenientes de distintas ubicaciones topográficas y con diferentes historias de pastoreo de la Pampa Deprimida de la provincia de Buenos Aires, Argentina.

## Materiales y Métodos

Se analizó el comportamiento germinativo de semillas cosechadas manualmente de plantas de *Paspalum dilatatum* Poir provenientes de la zona central de la Depresión del Salado. Esta región, perteneciente a la pampa deprimida, constituye una extensa área extremadamente plana con muy escasa pendiente. El clima es templado-húmedo, con una media anual de precipitaciones de alrededor de los 925 mm. Son frecuentes las inundaciones durante el invierno como consecuencia del comportamiento cíclico estacional de la napa freática o de intensas precipitaciones que no se presentan en un período preciso (Paruelo 1984). Las diferencias en altura entre distintos ambientes son del orden de los 15 a 20 cm y originan distintos períodos y frecuencias de inundación (Sala et al. 1986). En verano, son usuales los períodos de sequía (Lavado y Taboada 1988).

La recolección se realizó en la Estancia "Las Chilcas", Pdo de Pila, Pcia. de Buenos Aires, Argentina. Las poblaciones muestreadas se ubican en distintos sitios topográficos y bajo distintas condiciones de uso: ambientes pastoreado y no pastoreado (clausura al pastoreo de grandes herbívoros de 17 años) de un bajo, y pastoreado y no pastoreado (clausura de 7 años) de una posición topográfica intermedia. No se utilizaron semillas del tipo de ambiente topográficamente más alto del paisaje (loma) porque en esta posición no existían clausuras. El ambiente de la posición intermedia coincide con la comunidad vegetal B3 y el del bajo con la C2, descriptas por León (1975).

Los ensayos realizados consistieron en estimar el Poder Germinativo Total (GT) como la proporción de semillas germinadas a los 30 días y la germinación inicial a través de un Índice (MIRT), basado en el descripto por Maguire (1962):

$$MIRT = \frac{N^{\circ} \text{ germinadas}}{N^{\circ} \text{ día}}$$

(computándose los días 4, 6, 7, 10, 17, 21, 25 y 30).

Este índice, al utilizar como cociente el número de días, da un mayor peso a la germinación inicial (Brown y Mayer 1986). Mediante las distintas condiciones de incubación brindadas a las semillas se extremaron las diferencias entre los ambientes de procedencia de los materiales evaluados. Los ambientes pastoreados y no pastoreados probablemente se diferencian en alternancia de temperaturas e intensidad de luz debido a la diferente estructura del canopeo mostrada por Sala et al. (1986). Por esto, se colocaron a las semillas en las siguientes condiciones de incubación: luz ( $20-30 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de 400-700  $\mu\text{m}$ ) y alternancia de temperaturas (20-35°C c/16-8 horas) y oscuridad y temperatura constante (25°C). Los recuentos fueron realizados cada 1-5 días. En el caso del tratamiento de oscuridad fueron hechos bajo luz tenue verde (Smith 1975). La emergencia de la radícula fue el criterio para determinar la germinación. El tratamiento de inundación fue simulado colocando a la mitad de las semillas en solución salina similar en concentración a la del agua de inundación (Lavado y Taboada 1988) a 4°C 10 días, en oscuridad. La mitad de semillas no sumergidas que no germinaron durante los primeros 30 días fueron colocadas al cabo de dicho período durante 48 horas en una solución similar a la de la primera mitad y luego se intercambiaron las condiciones de incubación: las correspondientes a condiciones de luz y alternancia de temperaturas se colocaron en oscuridad y temperatura constante y viceversa. Tanto las semillas vanas como los esclerotos de *Claviceps paspali* fueron separados en forma manual, previamente a la realización de los ensayos.

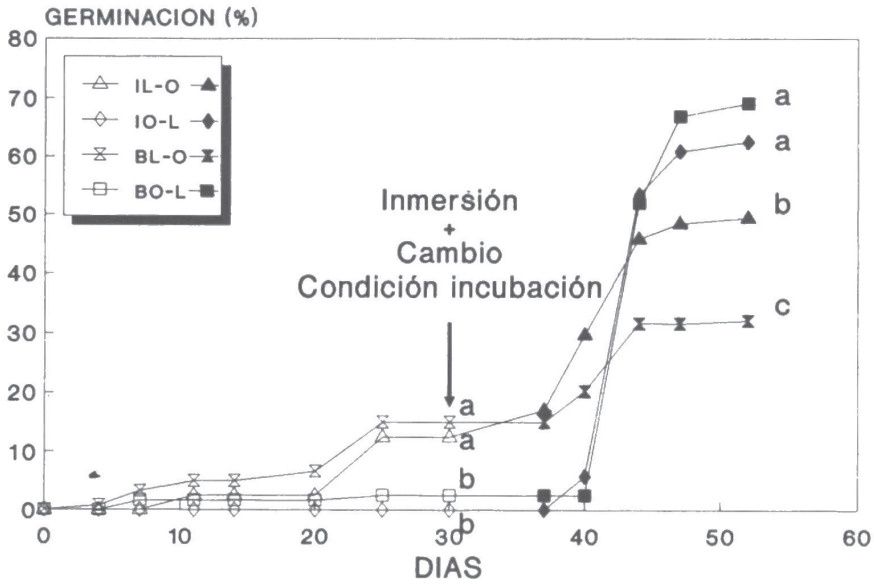
Los datos obtenidos fueron analizados a través de análisis de varianza factorial, con un  $P < 0.05$ . Los datos de germinación total e inicial (MIRT) fueron transformados (Percentiles) para su análisis mediante pruebas paramétricas. Se utilizaron tres repeticiones para cada tratamiento, utilizando 25 semillas para cada una de las mismas.

## Resultados

Cuando las semillas no fueron sumergidas en agua, la germinación inicial y total fueron sólo afectadas por la condición de incubación (Figura 1), mostrando en oscuridad y bajo temperatura constante valores significativamente menores que bajo luz y alternancia de temperatura, independientemente de la ubicación topográfica e historia de uso (Tabla 1). En las semillas que no germinaron fueron sumergidas e intercambiadas las condiciones de incubación. Bajo estos tratamientos, las que pasaron de oscuridad y temperatura constante a luz y alternancia de temperaturas germinaron en mayor proporción que las que pasaron de luz y alternancia de temperaturas a oscuridad y temperatura constante (Figura 1).

Cuando las semillas fueron sumergidas en agua simulando una inundación previamente a ser incubadas, la germinación total fue afectada por la condición de incubación, mientras que la germinación inicial fue afectada por la condición de incubación y por la interacción de este factor con la ubicación topográfica y con la historia de uso (Tabla 1). La germinación total mostró similares valores entre historia de uso dentro de posiciones topográficas (Figura 2). En condiciones de oscuridad y temperatura constante, las cuales presumiblemente recrean en extremo a un canopeo cerrado, las semillas mostraron niveles muy bajos de germinación difiriendo las procedentes de la clausura del bajo de las procedentes de pastoreo en posición topográfica intermedia, cuyas semillas no germinaron (Figura 2).

En cuanto a la interacción posición topográfica x condición de incubación, la germinación inicial (estimada por MIRT) de las semillas provenientes de posición intermedia mostró mayores diferencias entre las condiciones de incubación respecto de las provenientes del bajo (Figura 3). Sobre la interacción historia de uso x condición de incubación las semillas provenientes de ambientes pastoreados mostraron una mayor diferencia en germinación inicial respecto de las de clausura al modificarse las condiciones de incubación (Figura 3).



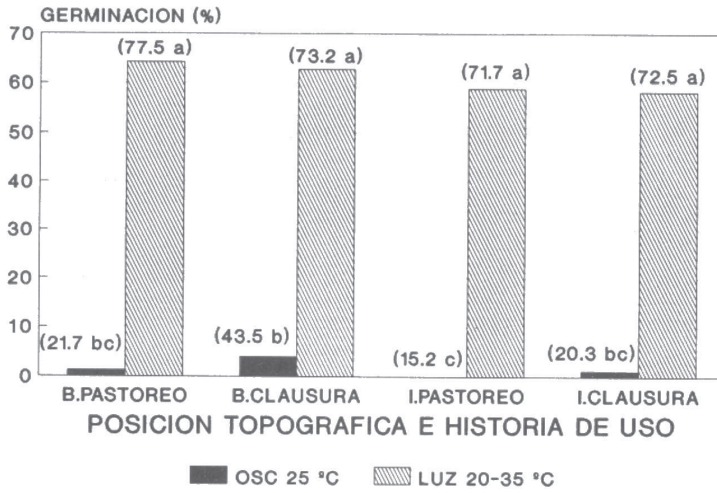
**Figura 1.** Curvas de germinación de semillas procedentes de ubicación topográfica intermedia (I) y baja (B) no sumergidas hasta 30 días de incubación (L= luz y alternancia de temperaturas; 0= oscuridad y temperatura constante) luego sumergidas durante 48 horas e intercambiadas las condiciones de incubación (Flecha). Letras diferentes indican diferencias significativas de los valores transformados de germinación ( $P < 0.05$ ).

**Figure 1.** Germination curves of seeds of midland (I) and lowland (B) positions without immersion until 30 days of incubation (L= alternate light and temperature; 0= darkness and constant temperature) and then soaked during 48 hours and placed in exchanged incubation condition (arrow). Different letters indicate significant differences of transformed germination values ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 1.** Análisis de varianza de las variables MIRT (estimando germinación inicial) y Poder germinativo a los 30 días (estimando germinación total), ambas transformadas por percentiles, bajo diferente tratamiento de inmersión.

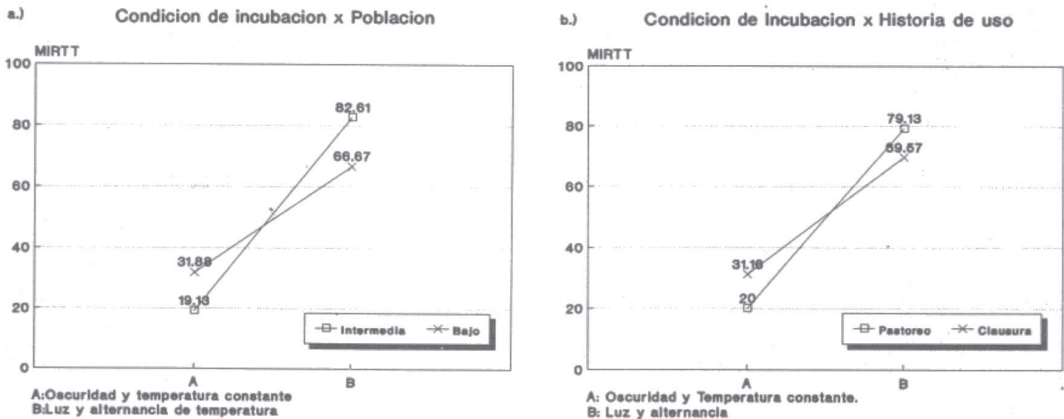
**Table 1.** Analysis of variance of MIRT (estimating initial germination) and 30th.-day germination (estimating total germination), both transformed by percentiles and under different immersion conditions: without previous seed immersion in water (left), and with previous immersion in water (right).

Fuente de variación	Sin inmersión		Con inmersión	
	G. inicial	G. total	G. inicial	G. total
Topografía (A)	P= 0.06 ns	P= 0.33 ns	P= 0.67 ns	P= 0.11 ns
Incubación (B)	P< 0.00 **	P= 0.00 **	P= 0.00 **	P= 0.00 **
Pastoreo (C)	P= 0.67 ns	P= 0.65 ns	P= 0.96 ns	P= 0.29 ns
A*B	P= 1.00 ns	P= 0.59 ns	P= 0.00 **	P= 0.29 ns
A*C	P= 0.48 ns	P= 0.47 ns	P= 0.38 ns	P= 0.59 ns
B*C	P= 0.75 ns	P= 0.42 ns	P= 0.02 *	P= 0.17 ns
A*B*C	P= 0.42 ns	P= 0.29 ns	P= 0.78 ns	P= 0.32 ns



**Figura 2.** Poder germinativo total (a los 30 días) de semillas previamente sumergidas en agua procedentes de posición topográfica intermedia (**I**) y bajo (**B**). ( ) se indican valores de la variable transformada. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

**Figure 2.** Total germinative percentage (30 th. day) of seeds previously soaked in water coming from midland (**I**) and lowland (**B**). ( ) indicate values of transformed variable. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



**Figura 3.** Comportamiento germinativo inicial de semillas previamente sumergidas en agua. **(a)** Interacción entre condición de incubación y posición topográfica. **(b)** Interacción entre condición de incubación e historia de uso. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Germinación Inicial estimada por MIRT (transformada MIRT).

**Figure 3.** Initial germinative behaviour of seeds previously soaked in water. **(a)** Interaction between incubation condition and topographic position. **(b)** Interaction between incubation condition and use history. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). Initial germination estimated by MIRT (transformed MIRT).

## Discusión

Tanto la germinación inicial como la total fueron aumentadas por la luz, la alternancia de temperaturas y la inmersión (inundación). El comportamiento germinativo inicial también resultó influido, aunque de forma secundaria, por la ubicación topográfica y por la historia de uso de los ambientes de donde procedían las semillas.

La respuesta de estas poblaciones (bajo y posición intermedia) de semillas a la inmersión, incrementando la germinación inicial y total puede ser interpretada como una respuesta al disturbio (inundación) que se da en una alta frecuencia. En semillas procedentes de una ubicación topográfica más alta, se halló que la inmersión de semillas en agua producía un efecto detrimental sobre la germinación total (Schrauf et al. 1995b). Las inundaciones en la Pampa Deprimida provocan cambios en la composición florística que producen una apertura del canopeo (Chaneton 1988). En consecuencia, es probable que el disturbio genere la aparición de sitios seguros para la germinación y el establecimiento de las especies que sobrevivan a la inundación en el banco de semillas. Es decir la inundación sería una señal percible por las semillas dormidas de pasto miel, que sumada al efecto de luz y alternancia de temperaturas provocarían la germinación (Figuras 1 y 2). El hecho de que aun en oscuridad y temperatura constante las semillas que previamente habían estado en condiciones de luz incrementen su germinación indicaría que el estímulo lumínico sería percible para una porción de la población de semillas antes o durante la inmersión de las semillas (Figura 1). Rubio et al. (1995) hallaron que la inundación de plantas de *Paspalum dilatatum* incrementa su crecimiento, aunque esta respuesta parece ahora depender del origen de la población con que se trabaje (Loreti y Oesterheld, *enviado a publicación*). El presente trabajo indicaría que la inundación podría incrementar también la germinación de sus semillas.

Observaciones de semillas de ambientes pastoreados mostraron un menor tamaño respecto de las ambientes clausurados (Bentley et al. 1980). Las diferencias de tamaño en las semillas podrían explicar la interacción en el comportamiento germinativo inicial entre condiciones de incubación e historia de uso (Figura 3). Dalianis (1980) y Cideciyan y Malloch, (1982) hallaron que semillas más pequeñas mostraban una mayor tasa de germinación cuando eran sembradas superficialmente, respecto de semillas de mayor tamaño. Wulff (1985) halló que las semillas pequeñas mostraban mayores requerimientos lumínicos para germinar respecto a las semillas de mayor tamaño.

La menor variación en la respuesta a las condiciones de incubación observada en las semillas de las poblaciones del bajo fue similar a la hallada en las poblaciones originadas en condiciones de clausura. Las inundaciones, más extensas y frecuentes en el bajo que en posición intermedia, en ocasiones pueden implicar la exclusión de los animales y un efecto de retroceso del pastoreo (Chaneton 1988), con lo que un sitio pastoreado de la población del bajo no sería utilizado en igual magnitud que un sitio en posición intermedia.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a M.G. Pacheco y P.S. Cornaglia por su ayuda y a los árbitros por sus críticas al manuscrito original. El presente trabajo fue financiado por subsidios otorgados por UBACyT y CONICET.

## Bibliografía

- Benech Arnold, R. L., M. Fenner y P. J. Edwards. 1991. Effects of water stress on developing seeds of *Sorghum*. *New Phytol.* 118:339-347.
- Bentley, S., J.B. Wittaker y A.J.C. Malloch. 1980. Field experimenta on the effects of grazing by a chrysomelid beetle (*Gastrophysa viridula*) on seed production and quality in *Rumex aobtusifolius* and *Rumex crispus*. *Journal of Ecology* 68:671-674.
- Brown, R.F. y D.G. Mayer. 1986. A critical analysis of Maguire's germination rate index. *J. Seed Technol.* 10:101-110.
- Burton, G.W. 1939. Scarification studies on southern grass seeds. *Journal of the American Society of Agronomy.* 31:139-187.
- Chaneton, E., J.M. Facelli y R. León. 1988. Floristic changes induced by flooding on grazed and ungrazed low

- land grasslands in Argentina. *J. Range Management* 41:495-499.
- Cideciyan, M.A. y A.J.C. Malloch. 1982. Effects of seed size on the germination, growth and competitive ability of *Rumex crispus* and *Rumex obtusifolius*. *J.Ecol.* 70:227-232.
- Dalianis, C.D. 1980. Effect of temperature and seed size on speed germination, seedling elongation and emergence of berseem and persian clovers (*Trifolium alexandrinum* and *T. resupinatum*). *Seed Sci. Technol.* 8:323-331.
- Grubb, P. J. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: The importance of the regeneration niche. *Biol. Rev.* 52:107-145.
- Harper, J.L. 1977. *The Population Biology of Plants*. Academic Press, London. Pp. 839.
- Holt, E.C. 1957. "Dallisgrass". *Texas Agric. Exp. Stat. Bull.* 829:1-14.
- Insausti, P., A. Soriano y R.A. Sánchez. 1995. Effects of flood-influenced factors on seed germination of *Ambrosia tenuifolia*. *Oecologia* 103:127-132.
- Jain, S.K. y A.D. Bradshaw. 1966. Evolutionary divergence among adjacent plant populations. *Heredity* 21:407-439.
- Lavado, R.S. y M.A. Taboada. 1988. Water, salt and sodium dynamics in a natraquoll in Argentina. *Catena* 15:577-94.
- León, R.J.C. 1975. Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. *Monogr. Com. dc Invest. Cient. dc la Pcia dc Buenos Aires. La Plata* 5:75-107.
- Loreti, J. y M. Oesterheld. Intraespecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions. (Enviado a *Oecologia*).
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2:176-177.
- Oesterheld, M. y S. J. McNaughton. 1991. Interactive effect of flooding and grazing on the growth of Serengeti grasses. *Oecologia.* 88:153-156.
- Pontes, O.F.S. y P.S. Martins. 1982. Determinacao de parametros genéticos relacionados a dormencia de sementes em soja perene (*Glycine wightii*). Parte I. 0 SOLO, Piracicaba, SP, 74:13-17.
- Ray, C.B. y R.T. Stewart. 1937. Germination of seeds from certain species of *Paspalum*. *J. Amer. Sci. of Agr.* 29:548-554.
- Rubio, G., G. Casasola y R.S. Lavado. 1995. Adaptations and biomass production of two grasses in response to waterlogging and soil nutrient enrichment. *Oecologia* 102:102-105.
- Sala, O.E., M. Oesterheld, R.J.C. León y A. Soriano. 1986. Grazing effects upon plant community structure in subhumid grasslands of Argentina. *Vegetatio* 67:27-32.
- Schrauf, G.E. 1994. Mejoramiento del establecimiento en mezclas y de lá producción de semillas de *Paspalum dilatatum* Poir. En "Semillas Forrajeras" Orientación Gráfica Editora. Buenos Aires. Pp. 41-48.
- Schrauf, G.E., P.S. Cornaglia, M.G. Deregibus V.A. y M.G. Ríssola. 1995a. Improvement of germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir seeds under different preconditioning treatments. *N. Z. J. of Agric. Res.* (en prensa).
- Schrauf, G.E., M.A. Blanco y V.A. Deregibus. 1995b. Germination behaviour of *Paspalum dilatatum* under simulated condition of grazing and flooding. *Proceeding of World Grassland Congress. Utah. USA.*(en prensa).
- Silvertown, J. y B. Smith. 1989. Germination and population structure of spear thistle *Cirsium vulgare* in relation to experimentally controlled sheep grazing. *Oecologia* 81:369-373.
- Smith H. 1975. *Phytochrome and photomorphogenesis*. McGraw-Hill, London. Pp. 235.
- Soriano, A. 1957. La germinación comp fenómeno Ecológico. *Ciencia e Investigación*:100-108.
- Wulff, R.D. 1985. Germination of seeds of different sizes in *Hyptis suaveolens*: the response to irradiance and mixed red-far-red sources. *Can. J. Bot.* 63:885-888.

Recibido: Mayo 2, 1995

Aceptado: Agosto 1, 1995