

# Variación en el nivel de dormición de la semilla en distintas variedades de la forrajera estival *Panicum virgatum* L.

CHECOVICH, M.L.<sup>1</sup> ; RUIZ, M.A.<sup>1,2</sup>

## RESUMEN

*Panicum virgatum* L. es una especie C<sub>4</sub> tolerante a condiciones de sequía, considerada como una alternativa al panorama forrajero de la Región Semiárida Pampeana. Sin embargo, las semillas presentan dormición, lo cual ocasiona problemas en el establecimiento. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la duración de la dormición en semillas de 10 variedades de *P. virgatum* producidas localmente, y el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la misma. Se realizaron ensayos de germinación secuenciales en cámara (20-30 °C, fotoperíodo 8 hs.) y no se hizo ningún tratamiento para romper la dormición. Las variedades de *P. virgatum* no respondieron en forma similar en su capacidad germinativa. Pathfinder, Cave-in-Rock, Trailblazer, Alamo, kanlow y Greenville manifestaron un incremento de la capacidad para germinar hasta los 210 poscosecha, lo que puede deberse a la pérdida de dormición. Alamo Pizzo y Caddo disminuyeron su poder germinativo, mientras que Blackwell y Summer no presentaron un patrón definido. Al finalizar los ensayos (210 días poscosecha) algunas variedades alcanzaron el 100% de germinación (Blackwell, Pathfinder, Trailblazer, Kanlow y Caddo), otras entre el 50 y el 70% (Summer, Greenville, Alamo y Alamo Pizzo) y sólo una menos del 50% (Cave-in-Rock). Las temperaturas de almacenamiento más bajas (7 y -20 °C) prolongaron la dormición de las semillas respecto de las almacenadas a temperatura ambiente.

**Palabras claves:** pasto varilla, germinación, almacenamiento, cultivares.

## ABSTRACT

*Panicum virgatum* L. is a C<sub>4</sub> species tolerant to drought conditions; it is considered as an alternative to forage panorama of the Semiarid Pampean Region (Argentina). But it has seed dormancy which causes problems in its establishment. The objective of this study was to evaluate the duration of seed dormancy in 10 varieties of *P. virgatum* locally grown, and the effect of storage temperature on the dormancy. Sequential trials were conducted in germination chamber (20-30°C, photoperiod 8 hs.) and not performed any treatment to break dormancy. The varieties of *P. virgatum* did not show a similar response to germination capacity. Pathfinder, Cave-in-Rock, Trailblazer, Alamo, kanlow and Greenville showed an increased ability to germinate until the 210 days post-harvest, this may be due to loss of dormancy. Alamo Pizzo and Caddo decreased their viability, while

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam, Uruguay 151, 6300 Santa Rosa, La Pampa.

Correo electrónico: mchecovich@intech.gov.ar

<sup>2</sup>INTA EEA Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas", CC 11, 6326 Anguil, La Pampa y Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam.

Correo electrónico: mruiz@anguil.inta.gov.ar

*Blackwell and Summer did not show a definite pattern. At endpoint (210 days post-harvest) some varieties reached 100% germination (Blackwell, Pathfinder, Trailblazer, Kanlow and Caddo), other between 50 and 70% (Summer, Greenville, Alamo and Alamo Pizzo), and only one less than 50% (Cave-in-Rock). The lower storage temperatures (7 and -20°C) prolonged the seed dormancy compared to those stored at room temperature.*

**Keywords:** switchgrass, germination, storage, cultivars.

## INTRODUCCIÓN

*Panicum virgatum* L. es una especie  $C_4$  tolerante a condiciones de sequía, por lo cual se la considera como una alternativa al panorama forrajero de la Región Semiárida Pampeana (Petruzzi *et al.*, 2005). Es una gramínea perenne estival nativa de Norteamérica que ha sido introducida en diferentes partes del mundo como ornamental, forrajera, para conservación de suelos y obtención de biocombustibles (Elbersen *et al.*, 2001; McLaughlin y Kszos, 2005). Uno de los problemas en el proceso de domesticación de esta especie es que, como muchos otros pastos estivales, presenta dormición en las semillas lo cual dificulta la emergencia uniforme y ocasiona problemas en el establecimiento de las pasturas (Aiken y Springer, 1995; Smart y Moser, 1997; Shen *et al.*, 2001).

La dormición es un estado interno de la semilla que impide su germinación aún en condiciones hídricas y térmicas adecuadas (Benech-Arnold *et al.*, 2000). Con un fuerte control genético y ambiental, la dormición fisiológica depende del balance hormonal (Kucera *et al.*, 2005). Un equilibrio dinámico en la producción y degradación del ácido abscísico y las giberelinas influyen en el grado de sensibilidad a distintos factores ambientales que inducen la germinación. Si bien es posible observar una dinámica intra-poblacional y entre poblaciones en los niveles de dormición, este proceso se produce a ritmos diferentes en cada semilla, de modo que no todas las semillas de una población tienen la misma respuesta (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Además, el estado de latencia no es constante, sino que varía en una escala continua, entre un punto donde la dormición es máxima y un punto donde es mínima (Batlla y Benech-Arnold, 2010).

Factores ambientales durante el desarrollo y la maduración de la semilla (tales como luz y temperatura) influyen sobre el balance hormonal y el grado de dormición (Baskin y Baskin, 2004; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006); como así también las condiciones de almacenaje y su duración (Zarnstorff *et al.*, 1994; Grabowski *et al.*, 2002). Luego de la cosecha, el método más utilizado para romper la dormición suele ser el almacenamiento en seco a temperatura ambiente por varios meses (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Para *P. virgatum* se ha informado que la dormición se rompe luego del almacenamiento durante 2 a 4

años en un ambiente cálido (Wolf y Fiske, 1995). Dado que existe una gran variabilidad genética y que no hay reportes locales, los objetivos de éste trabajo fueron: evaluar en diferentes cultivares de *P. virgatum* producidos en la Región Semiárida Pampeana la dinámica de la dormición y el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la misma.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Determinación del período de dormición poscosecha

La dinámica temporal de la dormición se estudió a través de la variación en la capacidad de germinar de las semillas en condiciones óptimas para la especie. Las semillas se cosecharon entre los meses de abril y mayo de 2010, a partir de parcelas de regeneración con 50 plantas cada una, separadas entre sí por 50 cm. Establecidas en el campo experimental de INTA EEA Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas", se estudiaron las variedades de *P. virgatum* Greenville, Blackwell, Pathfinder, Cave-in-Rock, Trailblazer, Alamo, selección Alamo Pizzo, Kanlow, Summer y Caddo, originarias de EEUU y conservadas en el Banco de Germoplasma de esa Estación Experimental.

Las semillas fueron cosechadas manualmente, trilladas y ventiladas con un soplador de semillas para eliminar las vanas. De la fracción de semilla limpia se separó, mediante cuarteo, la cantidad necesaria para realizar los ensayos de viabilidad y germinación en cada fecha; estas semillas se almacenaron en sobres de papel y en un único recipiente de vidrio con sílica gel para bajar la humedad. Previo a los ensayos de germinación, se realizó la prueba de tetrazolio para determinar el porcentaje de semillas viables (ISTA, 2007 b), tomándose para ello 4 submuestras de 50 semillas; para lo cual se mezcló y distribuyó la semilla sobre la mesada, luego se dividió en cuatro partes, de las cuales se extrajeron los 50 diseminulos. Luego del tratamiento, las semillas se clasificaron como: viables (embrión teñido en sus partes vitales), y no viables (embrión sin teñir, embrión inmaduro, o con sus partes vitales comprometidas), los resultados se expresaron como porcentaje.

Los ensayos de germinación se iniciaron a los 30 días de la cosecha (d.p.c.) y posteriormente cada 60 días hasta alcanzar los meses de siembra en la región (octubre, noviembre). Esto implica cuatro fechas de extracción: 30,

90, 150 y 210 d.p.c. Se colocaron a germinar diseminulos (técnicamente llamados semillas), constituidos por los cariopsis y las glumelas. En todas las fechas, semillas de cada variedad se colocaron a germinar en cajas de Petri (4) a razón de 50 semillas por caja. El sustrato empleado fue papel de filtro embebido en 10 ml de agua destilada y no se realizó ningún tratamiento para romper la dormición. Para evitar que el papel se seque durante el ensayo, se repuso agua semanalmente. Las semillas se incubaron, en cámara de germinación a temperatura alternada 20-30 °C con fotoperiodo de 8 horas durante 28 días (ISTA, 2007 a). Al final, se contó el número de semillas germinadas según el criterio de emergencia de radícula y se determinó el poder germinativo (PG) expresándolo como porcentaje.

cia entre las muestras de las sucesivas fechas. Se realizó ANOVA según un diseño factorial completamente aleatorizado Variedad x Fecha con cuatro repeticiones para determinar el período de dormición poscosecha (objetivo 1); y Variedad x Temperatura de almacenamiento x Fecha con cuatro repeticiones para conocer el efecto de la temperatura de almacenamiento (objetivo 2). Previamente se comprobó la normalidad de las variables utilizando el test de Shapiro-Wilks y la homocedasticidad de las varianzas con el test de Levene. En caso de ser necesario, los datos se transforman según lo recomendado por la bibliografía (Zar, 1996). Para comparar las medias se utilizó la prueba diferencia mínima significativa (DMS;  $p < 0,05$ ).

**Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la dormición**

Las cuatro variedades con menor germinación a los 30 d.p.c. (Greenville, Blackwell, Pathfinder y Cave-in-Rock) fueron seleccionadas para estudiar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la dormición. Las semillas se procesaron como se indicó anteriormente y se almacenaron a tres temperaturas distintas: -20 °C, 7 °C y temperatura ambiente (rango: 12 a 25 °C). Posteriormente, se realizaron ensayos cada 60 días siguiendo la metodología anterior.

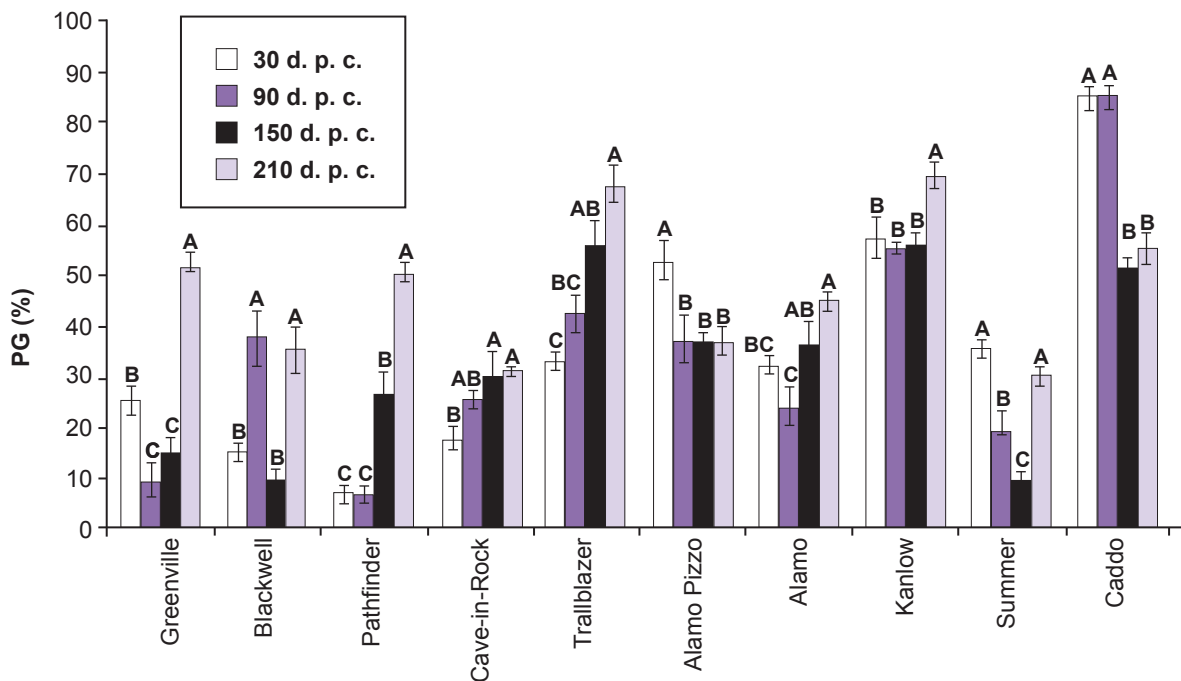
**RESULTADOS**

**Determinación del período de dormición poscosecha**

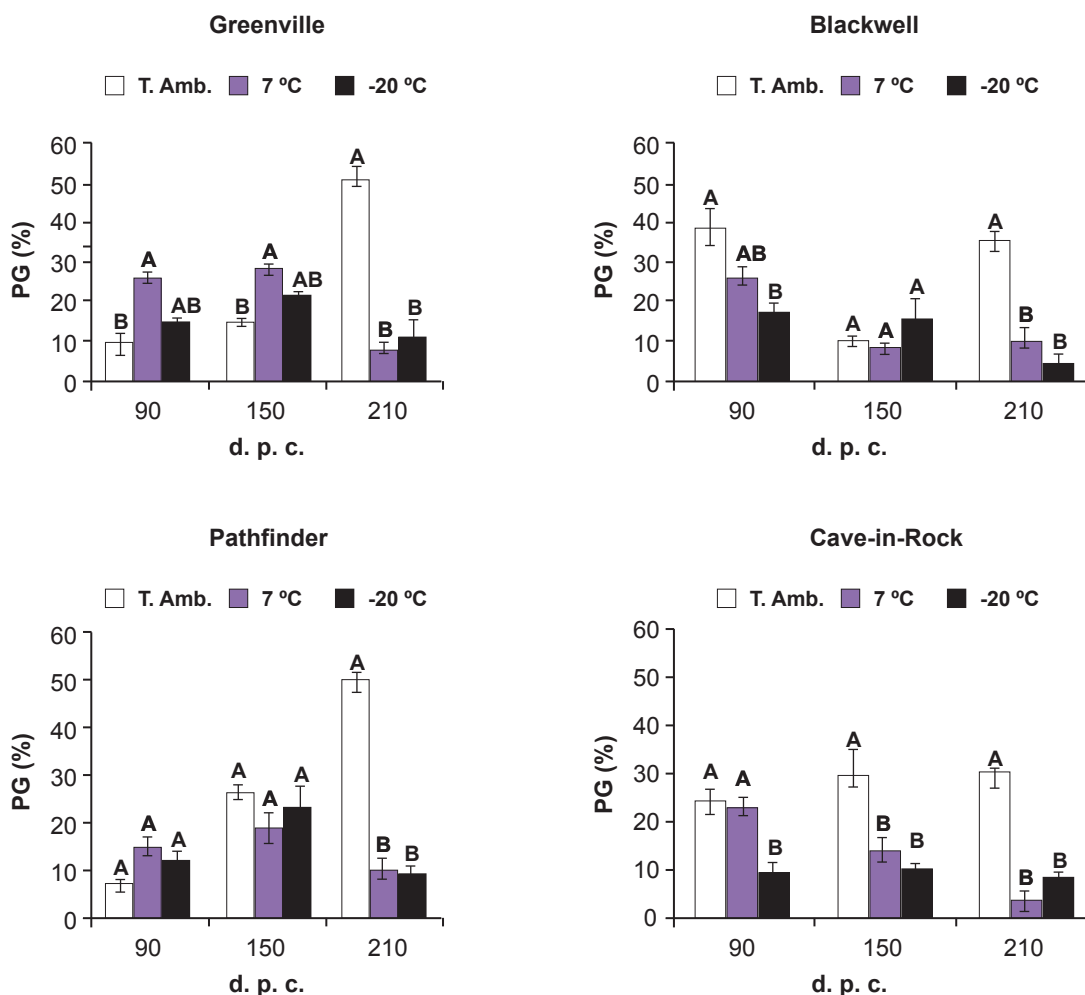
Se encontró interacción significativa entre Variedad x Fecha ( $p < 0,001$ ) sobre el poder germinativo de las semillas. La interacción indica que las variedades de *P. virgatum* no respondieron en forma similar en su capacidad germinativa durante el período estudiado (30, 90, 150 y 210 d.p.c.). Se realizaron comparaciones de las distintas variedades en cada fecha; al mes de la cosecha Caddo presentó elevada capacidad de germinación (84%) y difirió significativamente de las demás (DMS,  $p < 0,05$ ); en tanto que las variedades de menor germinación fueron Blackwell, Pathfinder y Cave-in-Rock, todas ellas con menos del 20% de PG. En las sucesivas fechas Caddo y Kanlow fueron las de mayor germinación diferenciándose significativamente de las demás

**Análisis de datos**

Los datos se analizaron con el programa estadístico Infostat (2002). Para cada cultivar se asumió independen-



**Figura 1.** Poder germinativo (PG) en 10 variedades de *Panicum virgatum* a los 30, 90, 150 y 210 días poscosecha (d.p.c.). Las letras indican diferencias significativas (DMS;  $p < 0,05$ ) entre fechas dentro de un mismo cultivar.



**Figura 2.** Poder germinativo (PG) en 4 variedades de *Panicum virgatum* cuyas semillas fueron almacenadas a temperatura ambiente, 7 °C y -20 °C. Las letras indican diferencias significativas (DMS;  $p < 0,05$ ) en una misma fecha entre distintas temperaturas de almacenamiento. d.p.c.= días poscosecha.

(DMS,  $p < 0,05$ ). A ellas se sumó Trailblazer a partir de los 150 d.p.c. Las variedades Pathfinder, Cave-in-Rock, Trailblazer, Alamo, Kanlow y Greenville manifestaron un incremento ( $p < 0,05$ ) de la capacidad germinativa hasta los 210 d.p.c; Alamo Pizzo y Caddo disminuyeron el PG después de la primera fecha; en tanto que Blackwell y Summer no presentaron un patrón definido (figura 1).

Al relacionar los valores máximos de poder germinativo con el análisis de tetrazolio se determinó el porcentaje de semillas viables que germinó bajo las condiciones óptimas para la especie. Los resultados obtenidos fueron del 100% para Blackwell, Trailblazer y Caddo. En el resto de las variedades los valores fueron inferiores: Kanlow (94%), Pathfinder (93%), Alamo (71%), Greenville (66%), Summer (61%), Alamo Pizzo (58%) y Cave-in-Rock (43%).

#### Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la dormición

Se encontró interacción significativa Temperatura de almacenamiento x Fecha x Variedad ( $p < 0,001$ ). Se realizó

un análisis por variedad: en Blackwell, Pathfinder, Cave-in-Rock y Greenville se encontró interacción Fecha x Temperatura de almacenamiento significativa ( $p = 0,004$ ,  $p = 0,003$ ,  $p = 0,005$ ,  $p = 0,002$  respectivamente). En Greenville, la semilla almacenada a temperatura ambiente incrementó la capacidad germinativa a los 210 d.p.c., con un 77% PG, diferenciándose significativamente de las dos fechas anteriores, y de las temperaturas de almacenamiento más bajas, las cuales no llegaron al 30% de germinación (figura 2). En Blackwell, el PG fue bajo en todas las condiciones de almacenamiento, llegando a un máximo de 37% a temperatura ambiente, a temperaturas más bajas en ninguna de las fechas superó el 25%. En Pathfinder el PG a los 210 d.p.c a temperatura ambiente llegó al 50% y en el resto de las fechas no hubo diferencias producto de la temperatura de almacenamiento con un promedio de 18% de PG. Cave-in-Rock mostró un PG con el siguiente orden: temperatura ambiente > 7 °C > -20 °C ( $p < 0,05$ ); el PG máximo que alcanzó a temperatura ambiente fue del 30% a los 210 d.p.c, el cual no se diferenció significativamente de las fechas anteriores.

## DISCUSIÓN

En lo que respecta a la duración de la dormición, se ha indicado que algunos cultivares de *P. virgatum* presentan más del 95% de sus semillas con dormición al momento de la cosecha y pueden necesitar hasta dos años para perderla (Wolf y Fiske, 1995; Shen *et al.*, 2001). En el presente estudio, las semillas cosechadas en la región semiárida central (Anguil, La Pampa) presentaron niveles variables de dormición, Caddo a los 30 d.p.c. ya no presentó dormición, mientras que la mayoría de las variedades sí, y continuaron incrementando su poder germinativo durante el transcurso del año, lo que impide hacer una generalización respecto del comportamiento de las mismas. Respecto a la disminución del poder germinativo de Caddo en las últimas fechas, puede haberse debido a un deterioro de la semilla, o bien a una reinducción de dormición (Benech-Arnold *et al.*, 2000), lo cual deberá ser corroborado en futuros trabajos.

Igualmente, los valores de germinación alcanzados mostraron un rango amplio entre cultivares (del 30 al 80%), siendo el de mayor germinación Caddo, seguido por Kanlow y Trailblazer. Wolf (1995) sugiere para plantaciones convencionales de *P. virgatum* en EE.UU. sembrar 4,5 Kg de semilla pura por hectárea, si el PG es al menos del 40%. En nuestros ensayos, Blackwell, Cave-in-Rock y Summer tuvieron valores de germinación inferiores al 40% por lo que se puede recomendar para estas variedades el aumento de la densidad de siembra o la realización de tratamientos para romper la dormición. En la Región Semiárida Pampeña Petrucci (2005) obtuvo en la variedad Alamo una germinación máxima del 70% (a los 10 meses de la cosecha), pero los valores oscilan dependiendo del momento de cosecha. Dicho cultivar en nuestro trabajo no superó el 50% de PG.

Las condiciones ambientales durante el almacenamiento (humedad y temperatura) influyen en la liberación de la dormición (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). En este trabajo, en general se observó que las temperaturas más bajas prolongaron la dormición, lo cual fue evidente a los 210 d.p.c. Así, por ejemplo, en Cave-in-Rock las temperaturas de almacenamiento más bajas (7 y -20 °C) prolongaron la dormición más que la temperatura ambiente. Sin embargo, en otras variedades, los resultados habían sido contradictorios, o no se manifestaron diferencias hasta la última fecha.

En el trabajo realizado por Grabowski (2002) la variedad Alamo, mostró poca respuesta al ambiente de almacenaje debido a su reducido nivel inicial de dormición. En cambio, la colección 746 presentó semillas con dormición aún a los 11 meses de almacenaje en todos los ambientes, siendo los niveles de dormición mayores a 7 °C que a temperatura ambiente. En el estudio llevado a cabo por Zarnstorff en 1994, las semillas de *P. virgatum* de Blackwell y Cave-in-Rock almacenadas a 8 °C presentaron mayor dormición que a 23 °C. En esta última temperatura la mayoría de las semillas perdieron la dormición a los 90 días. Resultados similares se encontraron en nuestro trabajo con ambas variedades.

Desde el punto de vista práctico, se ha sugerido que las siembras tempranas de *P. virgatum* pueden reducir la dormición porque exponen las semillas al frío húmedo produciéndose una superación de dicho estado (Wolf y Fiske, 1995; Smart y Moser, 1997); esta podría ser una técnica útil para aquellos cultivares con mayor grado de dormición. Sin embargo, esta condición no se tuvo en cuenta en nuestros ensayos, ya que se prefirió estudiar las condiciones de conservación a temperaturas bajas en seco porque son las utilizadas en los bancos de germoplasma.

El conocimiento de la naturaleza, nivel de dormición de las semillas como así también los tratamientos que permiten romperla son de fundamental importancia para esclarecer problemas vinculados a la implantación de la especie (Aiken y Springer, 1995; Smart y Moser, 1997; Shen *et al.*, 2001; Baskin y Baskin, 2004; Kucera *et al.*, 2005). Por ejemplo, 4 ciclos de selección para bajos niveles de dormición ha llevado a aumentar de 2 a 7 veces el éxito en la germinación de 14 accesiones de Alamo (McLaughlin y Kszos, 2005). La realización de más trabajos a campo junto con ensayos de germinación de laboratorio son necesarios para facilitar la difusión de esta especie en la Región Semiárida Pampeana.

## CONCLUSIONES

Las variedades de *P. virgatum* no respondieron en forma similar en su capacidad germinativa durante el período poscosecha, igualmente, los valores de germinación fueron variables. Al finalizar los ensayos (210 d.p.c.) teniendo en cuenta el análisis con tetrazolio algunas variedades alcanzaron el 100% de germinación de las semillas viables; en tanto que otras presentaron valores relativos de germinación, entre el 50 y el 70% y solo una, valores inferiores al 50%. Pathfinder, Cave-in-Rock, Trailblazer, Alamo, Kanlow y Greenville manifestaron un incremento de la capacidad para germinar hasta los 210 d.p.c, lo que puede interpretarse debido a la pérdida gradual de dormición. La selección Alamo Pizzo y Caddo disminuyeron su poder germinativo; Blackwell y Summer no presentaron un patrón definido. Las temperaturas de almacenamiento más bajas (7 y -20 °C) prolongaron la dormición de las semillas respecto de las almacenadas a temperatura ambiente.

## BIBLIOGRAFÍA

- AIKEN, G.E.; SPRINGER, T.L. 1995. Seed size distribution, germination, and emergence of 6 switchgrass cultivars. *Journal of Range Management*, 48(5), 455-458.
- BASKIN, J.M., BASKIN, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14, 1-16.
- BATLLA, D.; BENECH-ARNOLD, R.L. 2010. Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biology*, 73, 3-13.
- BENECH-ARNOLD, R.L.; SÁNCHEZ, R.A.; FORCELLA, F.; KRUK, B.C.; GHERSA, C.M. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* 67, 105-122.

- ELBERSEN, H.W.; CHRISTIAN, D.G.; YATES, N.E.; BASSAM, N. E.; SAUERBECK, G. 2001. Part. 2 Switchgrass in NW Europe. In: Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) as an alternative energy crop in Europe. Initiation of a productivity network. Final Report for the period from 01-04-1998 to 30-09-2001. FAIR 5-CT97-3701, 5-12. (www.switchgrass.nl verificado: 30 de diciembre de 2010).
- FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523.
- GRABOWSKI, J.; DOUGLAS, J.; LANG, D.; MEINTS, P.; WATSON, C. 2002. Response of two switchgrass (*Panicum virgatum* L.) ecotypes to seed storage environment, storage duration, and prechilling. Jamie L. Whitten Plant Materials Center Coffeetown, MS Technical Report 16(3), 15-24.
- INFOSTAT. 2002. Infostat/Estudiantil, versión 2.0. Grupo Infostat/FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Ed. Brujas, Córdoba, Argentina.
- ISTA. 2007 a. International Rules for Seed Testing. ISTA Switzerland. Annexe to chapter 5: Germination 5A-28.
- ISTA. 2007 b. International Rules for Seed Testing. ISTA Switzerland. Annexe to chapter 6: Tetrazolium Test 6-15.
- KUCERA, B., COHN M.A., LEUBNER-METZGER, G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15, 281-307.
- MCLAUGHLIN, S.B.; KSZOS, L.A. 2005. Development of switchgrass (*Panicum virgatum*) as a bioenergy feedstock in the United States. *Biomass and Bioenergy* 28, 515-535.
- PETRUZZI, H.J.; CASTRO, M.; GONZALES, H.; RUIZ, M.A.; STRITZLER, N.P. 2005. Determinación de fecha óptima de cosecha de *Panicum virgatum*, en investigación en producción animal. *Boletín de Divulgación Técnica* 88, 28-32.
- SHEN, Z.; PARRISH, D.J.; WOLF, D.D.; WELBAUM, G.E. 2001. Stratification in switchgrass seeds is reversed and hastened by drying. *Crop Science* 41, 1546-1551.
- SMART, A.J.; MOSER, L.E. 1997. Morphological development of switchgrass as affected by planting date. *Agronomy Journal*, 89: 958-962.
- WOLF, D.D.; FISKE, D.A. 1995. Planting and managing switchgrass for forage, wildlife, and conservation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia Cooperative Extension Publication 418-013.
- ZARNSTORFF, M.E.; KEYS, R.D.; CHAMBLEE, D.S. 1994. Growth regulator and seed storage effects on switchgrass germination. *Agronomy Journal*, 86, 667-672.
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. Ed. Prentice-Hall, USA, 662 pp.