

**EFFECTO DE TRATAMIENTOS DE INCRUSTADO SOBRE LA GERMINACIÓN DE
SEMILLAS DE ALFALFA (*Medicago sativa L.*)**

Trabajo Final de Grado
del alumno

DI COSTANZO MARIA PAZ

Este trabajo ha sido presentado como requisito
para la obtención del título de

Ingeniero Agrónomo

Carrera

UNNOBA

Ingeniería Agronómica

*Reforma Universitaria
15 Junio 1918*

NOROESTE BUENOS AIRES

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 25 de Julio de 2018

**EFFECTO DE TRATAMIENTOS DE INCRUSTADO SOBRE LA GERMINACIÓN DE
SEMILLAS DE ALFALFA (*Medicago sativa L.*)**

Trabajo Final de Grado

del alumno

DI COSTANZO MARIA PAZ

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

Solá, Susana
Co-Director

Beribe, María José
Co-Director

Bazzigalupi, Omar
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 25 de Julio de 2018

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
La superficie sembrada y el origen de las semillas	2
La producción nacional de semillas	3
El tratamiento de incrustado	4
Hipótesis	11
Objetivo general	11
Objetivo específico	11
Materiales y métodos	12
Material vegetal	12
Tratamientos de Incrustado	13
Diseño del experimento	13
Resultados	17
Calidad inicial de los lotes antes de la aplicación de los tratamientos	17
Germinación	17
Humedad inicial, conductividad eléctrica, peso de las semillas	18
Germinación de los lotes inmediata a la aplicación de los tratamientos	22
Porcentaje de plántulas normales	22
Porcentaje de plántulas anormales	25
Porcentaje de semillas muertas	27
Germinación de los lotes en sustrato tierra	29
Porcentaje de plántulas normales	29
Porcentaje de plántulas anormales	32
Porcentaje de semillas muertas	33
Ensayo de vigor	35

Índice de vigor	35
Materia seca individual	36
Germinación luego de un año	37
Porcentaje de plántulas normales promedio	37
Porcentaje de plántulas anormales	38
Porcentaje de semillas muertas	39
Discusión	41
Germinación luego de aplicar los tratamientos	41
Germinación en tierra	42
Ensayos de vigor	43
a. Índice de vigor	43
b. Materia seca individual	43
Germinación luego de un año de almacenamiento	43
Conclusiones	44
Perspectivas	45
Bibliografía	46

Resumen

Con un mercado de semillas de alfalfa (*Medicago sativa* L.) cada vez más demandante las empresas han adoptado el incrustado de semillas como una opción para lograr siembras de mayor eficiencia de implantación, mejor nodulación y una emergencia más rápida y uniforme. Con esta tecnología se incorporan fungicidas, insecticidas e inoculantes además de un aglutinante y carbonato de calcio. Este último en cantidades variables que provocan diferentes incrementos en el peso de las semillas. El objetivo de este trabajo fue evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de cuatro tratamientos de incrustado, diferenciados por la cantidad de inerte: 0 (T1), 25% (T2), 50% (T3) y 75% (T4) respecto al peso inicial de las semillas, sobre la germinación y sobre el crecimiento de plántulas de alfalfa. Se trabajó con doce lotes de calidad aceptable por su poder germinativo, humedad, conductividad eléctrica y peso de mil semillas. La germinación luego de aplicar los tratamientos de incrustado no mostró efectos de incremento o disminución del número de plántulas normales y anormales, que siga una tendencia aplicable al conjunto de los lotes. Sin embargo, en sustrato con tierra, la semilla que recibió tratamiento de incrustado tuvo entre 4 y 52% de incremento en el número de plántulas normales, sin diferencias significativas entre los tratamientos de incrustado T2, T3 y T4. La prueba de germinación estándar realizada luego de once meses de almacenamiento, en cuatro lotes representativos de diferentes calidades, indica la inconveniencia de tratar lotes de baja calidad, que inicialmente presenten altos valores de humedad (>8%) y conductividad eléctrica mayor a $200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. El porcentaje de plántulas normales (PPN) y anormales (PPA) fueron diferentes entre los lotes y la cantidad inicial de semillas duras tuvo incidencia en estos resultados. El índice de vigor, calculado en base a la longitud de las plántulas germinadas sobre papel, no respondió de la misma manera en los cuatro lotes evaluados, se registraron diferencias entre los lotes pero no diferencias significativas entre los tratamientos. El crecimiento y desarrollo de las plántulas, germinadas sin aporte adicional de nutrientes, se ve favorecido con los tratamientos de incrustado; el porcentaje de materia seca de las plántulas incrementó a medida que la cantidad de incrustado también lo hacía. Cuando las condiciones en laboratorio se asemejan a una situación real de campo, aparece claramente el efecto favorable de los tratamientos, sin diferencias por cantidad de inerte. Es suficiente un tratamiento de incrustado del 25% para lograr un buen desempeño de las semillas.

Introducción

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la principal especie forrajera del país y la base de la producción de carne y leche en la Región Pampeana. La difusión del cultivo se apoya en sus altos rendimientos de materia seca (MS) por hectárea, su excelente calidad forrajera y su gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales (suelo, clima y manejo). (Basigalup, 2007).

En Argentina ocupa 3.5 millones de hectáreas (ha), localizándose cerca del 80% en las Provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires (Parera, 2011). De estos 3.5 millones, un 40% (1400000 ha) corresponde a cultivo puro y un 60% (2100000 ha) a pasturas consociadas.

La superficie sembrada y el origen de las semillas

En los años 1996 y 1997 la superficie implantada con alfalfa en la Argentina, ya sea pura o consociada, era de poco más de 7 millones de ha. A partir de 1998-1999 comienza a registrarse un descenso del área sembrada para ubicarse, en 2000-2001, cerca de 5 millones de ha. Cabe destacar que de la superficie alfalfada durante este período, el 31% correspondía a alfalfares puros y el 69% a consociaciones con otros cultivos. A partir de 2002 la situación económica del país condicionó fuertemente el mercado de alfalfa. Mientras los precios de los granos en general y de la soja en particular se incrementaron, los precios de los productos pecuarios (la carne y especialmente la leche) se mantuvieron sin mayores cambios. Esto provocó que en las zonas mixtas de la región Pampeana hubiera una preferencia por el cultivo de soja en detrimento de las actividades ganaderas. Además, la nueva paridad cambiaria obligó a la suspensión de muchos contratos de importación de semilla y la imposibilidad de una sustitución inmediata por semilla de producción nacional hizo caer la oferta global de semillas de alfalfa. No obstante, la permanencia de algunos cultivares se sostuvo gracias al carry over. Ante esta situación en la campaña 2002-2003 la superficie implantada no superó los 3.5 millones de ha. En 2004 el flujo de dinero generado por las exportaciones agropecuarias generó mejores condiciones para el país y para el sector rural. En este contexto, las buenas perspectivas para la producción ganadera se tradujeron en una mayor demanda de semilla de alfalfa para la siembra de nuevas pasturas. La superficie alfalfada para ese año se estimó en unos 4.7 millones de ha y, con moderación, esa tendencia se mantuvo durante 2005, año en que la superficie rondó los 5 millones de ha. Durante esta campaña (2004/05), la

importación de semilla de alfalfa totalizó 5.79 millones de kg y la producción nacional fiscalizada se ubicó en los 2.16 millones de kg. En consecuencia, el total de semilla certificada ascendió a 7.95 millones de kg. Asumiendo que el incrustado alcanzó el 50% de esta última cifra (3.98 millones de kg) y que este proceso aumenta el peso en aproximadamente el 50%, se alcanzó un total (natural + incrustada) de semilla certificada para ese período de 9.94 millones de kg. Además, asumiendo que la comercialización ilegal de semilla llega a los 900.000 kg, para esa campaña se estimó una cifra total para el mercado nacional de alfalfa de algo menos de 11 millones de kg. (Basigalup, 2007)

En la actualidad la superficie implantada de alfalfa anualmente es de un millón de ha, teniendo en cuenta que generalmente la densidad de siembra es de 10 kg/ha existe una demanda de 10000 toneladas (t) de semillas de alfalfa al año. Esta demanda es cubierta tanto por la producción nacional (2.100 t) como por la importación (4.800 t), además del aporte que realizan el carry over y el incrustado de las semillas para completar las 10000 t demandadas (CSBC, 2016).

La producción nacional de semillas

En nuestro país, Según datos del INASE (Instituto Nacional de Semillas) en la campaña 2011-2012 la producción de semillas fiscalizadas fue de 3.278.879 kg. Pero durante los últimos 4 años, la producción nacional de semillas proporcionó aproximadamente del 31% (2014/15) al 58% (2013/14) de las necesidades del mercado. Esta es una diferencia notable con respecto a las cifras históricas, en las que la producción local proporcionaba solo el 20-25% del mercado (Basigalup, 2017).

Argentina importó 2.32, 2.78 y 1.17 millones de t de semilla de alfalfa en bruto en 2014, 2015 y 2016, respectivamente. Los principales países de origen de estas importaciones fueron Australia y Estados Unidos. Otros proveedores de semillas fueron Canadá, Francia e Italia (Basigalup, 2017). Actualmente la semilla importada proviene principalmente de Estados Unidos, Australia y Canadá, a diferencia de lo que ocurría 40 años atrás cuando se sembraban semillas producidas en las áreas productoras de alfalfa de nuestro país. Esta introducción de germoplasma exótico significó un cambio tecnológico muy importante para el sector que permitió incrementar los volúmenes y calidad del forraje obtenido (Parera, 2011).

Aproximadamente el 80% del área total de alfalfa se cultiva en condiciones de secano para producción de lácteos, vacunos y heno en la Región Pampeana, mientras que el 20% restante se destina a producción de heno y semillas bajo riego en la Patagonia (Río Colorado y Río Negro Valles), Occidental (San Juan y Mendoza) y Noroeste (principalmente Santiago del Estero). En estas regiones, los rendimientos de semilla pueden variar de 120 a 700 kg.ha⁻¹, con un promedio de 300 kg.ha⁻¹ (Basigalup, 2017).

La creciente demanda de semilla de cultivares reconocidos, que se ha observado desde mediados de la década de 1990, no constituye, por sí sola, un factor determinante para el desarrollo de una industria eficiente en aquellas áreas con elevado potencial productivo. El país ofrece posibilidades muy variables, condicionadas no sólo por el suelo y el clima sino también por muchos otros factores: la polinización, el manejo del cultivo, las prácticas de cosecha, la disponibilidad y el manejo del agua de riego, la carencia o no de infraestructura adecuada, entre las principales.

La mayoría de las áreas donde la alfalfa puede ser cultivada con éxito para la obtención de forraje, no son precisamente las adecuadas para una eficiente producción de semilla. Cuando se desean rendimientos altos, la producción de semilla debe considerarse como una industria especializada, separada totalmente de la producción de forraje. En la Argentina, la existencia de un mercado que consume más de 7.000 t por año de semilla de alfalfa -cuyo 75% proviene de la importación- indica claramente que el desarrollo de una industria especializada no sólo es posible sino también necesario (Basigalup, 2007).

El tratamiento de incrustado

En general, para superar algunas de las condiciones adversas que presentan los lotes a sembrar los productores aplican productos tales como herbicidas y fertilizantes a toda la superficie de tierra. Dichas aplicaciones pueden ser costosas y existe el riesgo de pérdidas económicas considerables si el establecimiento es insuficiente o falla por completo. Un enfoque alternativo es aplicar los productos en "bandas" adyacentes a la línea de siembra. Otro, aplicarlos en las mismas semillas mediante técnicas de "incrustado". El incrustado de semillas proporciona una oportunidad para empaquetar cantidades efectivas de materiales de tal manera que puedan influir en el microambiente de cada semilla. Al no tener que tratar el resto del suelo, los agricultores pueden ahorrar en los insumos requeridos y los costos asociados de aplicarlos. (Scott, 1989)

Es por esto que las empresas dedicadas a la producción de semillas de alfalfa han incorporado esta tecnología que mejora el desempeño de las semillas. Ofrece protección frente a las enfermedades de implantación (“damping off”) y al daño por insectos; al mismo tiempo favorece la nodulación y con adecuado manejo se traduce en una emergencia rápida y uniforme. En Argentina son varias las empresas que disponen de la infraestructura y aplican el tratamiento profesional de semillas, Nitragin, Rizobacter, Bayer, Barenbrug-Palaversich y Palo Verde entre las principales.

Según ISTA (2015), se define a las semillas incrustadas (encostradas) como unidades que retienen más o menos la forma de la semilla, pero con el tamaño y el peso cambiados en una magnitud variable, mientras que las semillas peleteadas son unidades más o menos esféricas, generalmente con una sola semilla incorporada, de tamaño y forma no tan evidente.

El proceso de incrustado se basa en tratamientos funcionales que utilizan materiales de relleno y aglutinantes, que modifican la forma y peso de la semilla incorporando materiales tales como nutrientes y formulaciones plaguicidas destinados a mejorar el desempeño de las semillas a la siembra (Black et al., 2006).

El incrustado puede ser aplicado tanto a leguminosas como a gramíneas, siendo requisito indispensable que las semillas sean de muy buena calidad: que no presenten alteraciones en sus cubiertas debido a daños mecánicos, ambientales y/o biológicos; sin semillas de malezas, inertes ni cuerpos extraños; que posean buen poder germinativo, dentro de tolerancias comerciales y que registren una humedad óptima, acorde a un buen almacenamiento según la especie (Capalbo y Solá, 2007).

La semilla peleteada técnicamente se refiere a una acumulación de material de revestimiento, de 8 a 34% del peso de la semilla (Talley, 2012) aunque también se registran frecuentemente otros valores de incremento.

El peso de 1000 semillas en alfalfa comercial sin tratar fluctúa levemente entre 2 y 2,2 g, y dentro de una misma variedad pueden encontrarse diferencias muy importantes en función del origen de la semilla producida y la variación climática interanual (Lus, 2013).

Puede verificarse una gran variabilidad en el peso de 1000 semillas de alfalfa a la cosecha que puede fluctuar entre 1.48 g (Elgasim, 2011) y 3.39 g (Scotti, 2005). Si bien estos valores extremos no son habituales, es factible encontrar un rango frecuente de entre 1.7 a 2.7 g (Lus, 2013).

El rango de pesos depende de muchos factores que afectan principalmente el llenado de la semilla, se amplía y magnifica de modo significativo con el proceso de peleteo (Lus, 2013).

En el caso de la alfalfa los revestimientos (Figura 1) consisten en revestir a la semilla con una mezcla de rizobios (*Sinorhizobium meliloti*), un fungicida y/o un insecticida, una cubierta de carbonato de calcio (material inerte) y una sustancia aglutinante que mantiene unida la mezcla y le da consistencia (Heritage Seed, 2016).

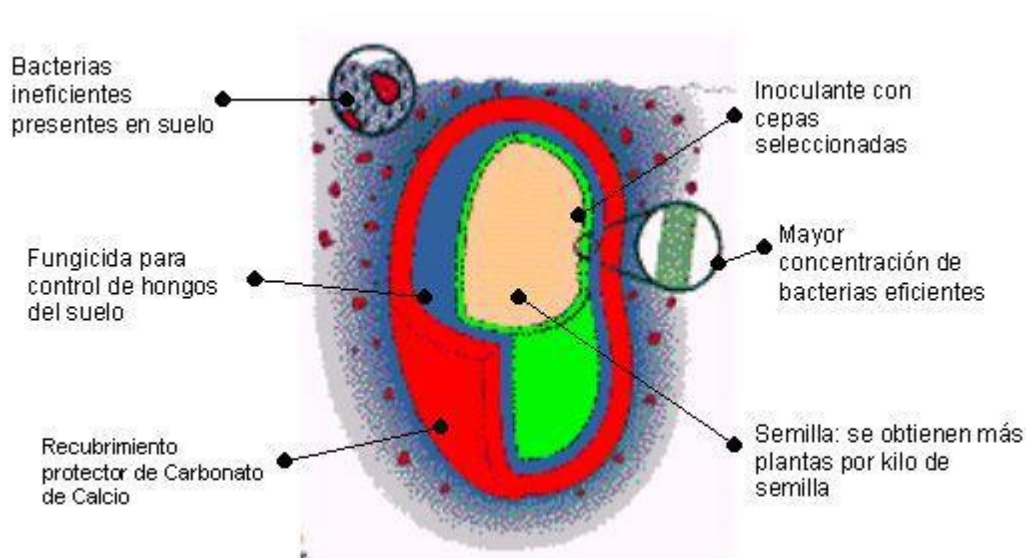


Figura 1: Componentes de una semilla de alfalfa incrustada (Nocelli, 2017)

Los componentes del incrustado, al entrar en contacto con el suelo, se disuelven formando un halo de protección alrededor de la semilla que, al germinar, absorbe los productos. Estos se traslocan a las distintas partes de la plántula, protegiéndola en los primeros estadios de crecimiento (Capalbo y Solá, 2007).

Los adhesivos (aglutinantes) sirven para unir los materiales a la superficie de las semillas. El recubrimiento sin ellos, usando por ejemplo agua sola, conducirá usualmente a formar capas frágiles que son muy propensas a la formación de polvo, agrietamiento y posterior pérdida del ingrediente activo. Cuando las partículas finas se agitan, como ocurre en un tambor de recubrimiento, tienden a agregarse naturalmente incluso sin adhesivos (debido a fuerzas cohesivas mecánicas, van der Waals y electrostáticas) y por lo tanto la necesidad de un adhesivo es para asistir a estas fuerzas naturales de

agregación, mientras que permite que el empaquetamiento de las partículas y la “densificación” continúe mientras las partículas están cayendo. Por lo tanto, el adhesivo requerido no necesita ser extremadamente fuerte, sino que debe ser un adhesivo apropiado, que tenga afinidad tanto para la capa de semilla natural como para el material de revestimiento. Sin embargo, el aspecto más estudiado de los adhesivos utilizados en el encostrado de semillas no es su capacidad de unión, sino más bien su efecto sobre la supervivencia de rizobios después de la inoculación de la semilla. Los recomendados por diversos autores incluyen goma arábica, metil-celulosa, gelatina y caseína y sales de caseinato. Sin embargo, la metil celulosa es la más empleada debido a su facilidad de uso, disponibilidad, bajo costo y low rate (soluciones al 3% p/v) en comparación con la goma arábica (hasta el 45% p/v) (Scott, 1989).

Dentro de los materiales de relleno, también llamados inertes, podemos encontrar cal, yeso, dolomita o fosfato de roca. Otros materiales mencionados en la literatura incluyen minerales arcillosos tales como montmorillonita y vermiculita (Scott, 1989). Si bien la información sobre el material de revestimiento actualmente es escasa, podría decirse que el más utilizado es el Carbonato de Calcio, el mismo ayuda a optimizar el nivel de pH inmediatamente alrededor de la semilla en germinación, lo que promueve una absorción de humedad más rápida por parte de la semilla y un mejor establecimiento (Heritage seeds, 2018). Sin embargo el principal objetivo es proteger a los rizobios contrarrestando la acidez del suelo o de los fertilizantes cerca de la semilla. También asegura una mejor supervivencia de los mismos cuando los retrasos entre el tratamiento de incrustado y la siembra son inevitables (Gemell y McDonald, 2017).

El agregado de fungicidas proporciona protección a la plántula contra enfermedades de hongos de suelo, principalmente “damping off”, causada por *Pythium spp.* y/o *Phytophthora megaspermaf. sp. medicaginis*. Esta protección es particularmente útil cuando las condiciones ambientales (alta humedad y temperaturas moderadas a bajas) favorecen el ataque de esos patógenos a las plántulas (Odorizzi *et al.*, 2017). Se han desarrollado nuevos fungicidas que no sólo proporcionan alguna acción protectora sino que también pueden tener un efecto curativo en algunas enfermedades. Un ejemplo de un fungicida de este tipo es el metalaxil, que es más eficaz en el control de las enfermedades de *Pythium* y *Phytophthora* cuando se aplica a las semillas que los aerosoles foliares. Resultados experimentales obtenidos por Gonzalez S. (2013) en Uruguay muestran la eficiencia de

varios agroquímicos en el control de “damping off” entre ellos el metalaxil, sin embargo este principio no controla eficientemente *Fusarium* ni *Rhizoctonia* por lo que se sugiere mezclarlo con otros principios activos como carbendazim, tiram, fludioxinil (Gonzalez, 2013) Las mejoras en las formulaciones de fungicidas han dado como resultado una adhesión mucho mejor del fungicida a las semillas y menos espolvoreo, con el resultado de que los riesgos para los operarios se reducen y la eficacia aumenta. Otros desarrollos en los tratamientos con semillas de fungicidas que pueden conducir a un control más efectivo de las enfermedades, incluyen el uso de sistemas de administración de disolventes que pueden mejorar el control de los hongos dentro de la semilla y la mejora de las prácticas de control integrado (Scott, 1989).

Los incrustados de semillas que contienen insecticidas o acaricidas se han utilizado ampliamente en muchas especies de plantas, a menudo en combinación con fungicidas. El uso de insecticidas aplicados a la semilla es una práctica que, para muchas plagas, es más apropiada para el control integrado, que la pulverización general, ya que se usa menos producto químico y se localiza en el área donde se necesita. Al igual que con los fungicidas, los insecticidas utilizados en las semillas deben ser compatibles con cualquier otro plaguicida que se utilice (Scott, 1989). El agregado de insecticidas otorga protección temporaria contra insectos de suelo, pulgones y trips, plagas que pueden ser muy determinantes en las etapas de emergencia e implantación del cultivo (Odorizzi *et al.*, 2017).

En cuanto al almacenamiento de semillas de alfalfa curadas con insecticidas, Gonzalez (2013) evaluó que los insecticidas curasemillas no tuvieron efecto sobre el vigor de las semillas de alfalfa hasta 6 meses de almacenamiento.

Ensayos a campo han demostrado la eficiencia de la técnica de incrustado en distintas especies. En alfalfa, por ejemplo, con la inclusión del fungicida Apron Gold en el pildorado, se obtuvieron mejores implantaciones en Rafaela, Santa Fe (Capalbo y Solá, 2007). Los valores de eficiencia de implantación usando semillas incrustadas se incrementan cuando al fungicida se suma un insecticida (Capalbo y Solá, 2007).

El incrustado también es usado para facilitar la siembra de precisión, al generar una semilla con forma pareja, sobre todo las que son muy pequeñas o brozosas que dificultan la dosificación de la máquina sembradora.

Todas las leguminosas utilizadas en la agricultura pueden usar nitrógeno atmosférico una vez que es "fijado" dentro de los nódulos en sus raíces por una bacteria del suelo, del género *Rhizobium*. Los rizobios reciben sustancias de crecimiento de la leguminosa, y la leguminosa recibe compuestos de nitrógeno para su crecimiento a partir de los rizobios. Es decir, el rizobio y la planta de leguminosas viven juntos en una relación simbiótica o mutuamente beneficiosa (Gemell y McDonald 2017). Pero para que se produzca esta simbiosis bacterias-raíz deben ponerse en contacto mediante la inoculación. Con este proceso se logra que la simbiosis no dependa de las bacterias que se encuentran naturalmente disponibles en el suelo sino que se ponen en contacto con la raíz bacterias específicas con un nivel de infectividad y efectividad muy superior a las que se hallan en la naturaleza (Parera, 2011).

El proceso de inoculación se refiere principalmente a la elección de un cultivo de rizobios viables de la cepa apropiada contenida en un vehículo o medio adecuado y aplicándolo a la semilla del hospedador de leguminosas. El método más común de inoculación es aplicar los rizobios dentro de un recubrimiento sobre la superficie de la semilla, usualmente empleando un adhesivo que mejora la unión del inóculo a la semilla y ayuda a la supervivencia de los rizobios hasta la siembra (Scott, 1989). El *Rhizobium* en la semilla recubierta y pre-inoculada puede morir si se almacena demasiado tiempo o en temperaturas cálidas durante períodos prolongados de tiempo. La semilla misma no pierde viabilidad, pero el *Rhizobium* en el recubrimiento de semillas ya no puede ser viable. Al igual que con todos los inoculantes de rizobios, la semilla recubierta debe mantenerse en lugar fresco y seco (Leep *et al.*, 2012).

Los tratamientos de incrustado son diseñados para imponer una mínima barrera mecánica o fisiológica a la germinación; algunos se desintegran rápidamente mientras que otros se separan de la semilla luego de la imbibición. Además, los materiales usados pueden ser adaptados para modificar la disponibilidad de agua para la semilla y el intercambio gaseoso, controlando así el tiempo de germinación y emergencia, evitando un bajo establecimiento de plántulas. (Black *et al.*, 2006)

El uso de materiales coloreados en el incrustado permite al semillero identificar las diferentes variedades de semillas y también los diferentes tratamientos aplicados a una misma especie. Al mismo tiempo se realiza para que sean más atractivos a la venta y

para que puedan ser visualizados con facilidad cuando se siembran (control de profundidad y espaciamiento) (Black *et al.*, 2006).

La cantidad de inertes agregados a la semilla en el proceso de incrustado suele ser variable, desde 10 a 80% de peso con relación al peso de la semilla natural.

Por ello, con la semilla incrustada, se debe prestar atención a la densidad de siembra, dado que determina cuál será el número inicial de plantas por unidad de superficie (Odorizzi *et al.*, 2017). Por lo general, la densidad de siembra utilizada (10-12 kg/ha) incorpora aproximadamente unas 350-450 semillas por m², de las cuales, muchas veces, sólo se logra implantar un 15-20% (INTA, 2008).

La mayor parte de la semilla de alfalfa que se encuentra en el mercado posee algún tipo de tratamiento, es muy difícil encontrar semillas en estado natural, sin ninguna cobertura. Sin embargo, los beneficios que aporta esta técnica pueden verse neutralizados por un incremento excesivo en el peso del incrustado que afecte significativamente la población de plantas lograda (Odorizzi *et al.*, 2017). El uso de semillas incrustadas requiere que el productor realice ajustes en la densidad de siembra para lograr sembrar el número de semillas requerido considerando el peso de las semillas en el cálculo de la densidad. Esto es particularmente importante porque el productor usualmente no corrige la densidad de siembra en función del incrustado, sino que tiende a utilizar una cantidad fija de kg/ha, independientemente del tratamiento que tenga la semilla (Odorizzi *et al.*, 2017).

Otro aspecto a considerar es el costo de las semillas. Cuando la semilla está peleteada, si el precio por kg es el mismo que sin encostrado, el costo de cada semilla individual es más elevado que el de la semilla sin tratar. Pero el costo por unidad de peso (kg) habría que determinarlo según el costo de cada ingrediente, que en general es menor porque los ingredientes, particularmente el carbonato de calcio, que es el de mayor peso relativo, son más baratos que la semilla. En ese caso, cuanto mayor sea el peso agregado menor será el costo del kg de semilla producida. Esto no siempre se refleja en los precios de las semillas en el mercado.

Se desconoce si la variación en la cantidad de inerte agregado a la semilla en el proceso de incrustado puede provocar diferencias en el desempeño de las semillas. Estos efectos incluyen tanto la germinación inmediata como luego de almacenamiento, el vigor de las semillas y la eficiencia de implantación.

Hipótesis

Los tratamientos de incrustado de semillas tienen efecto sobre la germinación y el vigor de las semillas de alfalfa.

Objetivo general

Evaluar el efecto de los tratamientos de incrustado sobre la germinación de semillas de alfalfa para contribuir a la definición de las tecnologías de tratamientos de semilla de alfalfa de pos-cosecha.

Objetivo específico

Evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de cuatro tratamientos de incrustado, en diferentes lotes de semilla de alfalfa sobre: a) la germinación en el momento inmediato posterior al tratamiento y luego de 11 meses de almacenamiento; b) germinación en sustrato con tierra; y c) sobre el vigor de las semillas.

Palabras clave: desempeño, almacenamiento, vigor.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se emplearon semillas de alfalfa de doce lotes correspondientes a variedades que fueron aportadas por las empresas Rizobacter, Palo Verde, Barenbrug y Cereagro. En todos los casos las semillas incorporadas a este trabajo se obtuvieron en condición natural, sin tratamientos químicos de post-cosecha (Tabla 1). Cada empresa aportó dos kilogramos de semilla de cada lote.

Tabla 1: Lotes de semilla de alfalfa empleados en los ensayos, con la indicación del número de registro de entrada del laboratorio, la variedad y la empresa que lo aportó.

Nº Laboratorio	Variedad	Empresa aportante
47	Key II	Rizobacter-Pergamino
48	Carabela	Rizobacter-Pergamino
49	Mecha	Rizobacter-Pergamino
50	Salina	Palo Verde-Pergamino
51	Pulmari	Palo Verde-Pergamino
52	Traful	Palo Verde-Pergamino
53	P 205	Barenbrug-Pergamino
54	Baralfa 85	Barenbrug-Pergamino
55	Sardi 10	Barenbrug-Pergamino
56	Bar M59242	Barenbrug-Pergamino
57	P 30	Barenbrug-Pergamino
58	Siriver Grupo 8	Cereagro-Junín

Se evaluó la calidad inicial de las muestras obtenidas realizándose las correspondientes pruebas de poder germinativo, humedad y peso de 1000 semillas, según las normas ISTA (2015), y conductividad eléctrica.

La prueba de conductividad eléctrica se realizó mediante la siguiente metodología adaptada de la propuesta por ISTA para arveja. Se realizaron 4 repeticiones de 100 semillas, sumergidas en 50 mililitros de agua desionizada, se incubaron en cámara a 20°C, realizándose lecturas de conductividad después de 1, 3, 6 y 24 horas.

Los datos observados para las condiciones iniciales se analizaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA). La comparación de medias de tratamiento se realizó mediante el test de las diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher ($p < 0.05$).

Los resultados arrojados por estas pruebas de caracterización inicial fueron, a criterio de los evaluadores, aceptables para trabajar con los doce lotes aportados por las diferentes empresas. Estos lotes tuvieron un poder germinativo (PG) mayor a 60% y una conductividad eléctrica menor a $385 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{gr}^{-1}$.

En las pruebas de vigor y de “almacenamiento” de un año se utilizaron sólo cuatro lotes: 50, 53, 55 y 56. Los mismos fueron seleccionados en función de los resultados obtenidos en la caracterización inicial.

Tratamientos de Incrustado

Se evaluaron cuatro tratamientos de incrustado, consistentes en diferentes cantidades de agregado de inerte: 0 (T1), 25% (T2), 50% (T3) y 75% (T4) respecto al peso inicial de las semillas. Los productos: fungicida, insecticida e inoculante, se aplicaron en las mismas dosis para todos los tratamientos que recibieron incrustado. El control o testigo fue la semilla sin tratar de cada lote.

Los productos aplicados a las semillas fueron:

- a. insecticida Tiametoxam a razón de 300 mililitros cada 100 kilogramos de semilla;
- b. fungicida Metalaxil con una dosis de 50 mililitros cada 100 kilogramos de semillas;
- c. inoculante, con una dosis de 2.4 litros cada 100 kilogramos de semilla.

No se dispone del nombre comercial del inoculante ni del adhesivo ya que forma parte de la información confidencial de la empresa Rizobacter, condición aceptada al programar este trabajo.

Las semillas tratadas fueron almacenadas en cámara seca, a temperatura de 20°C , en sobres de papel, sin control de humedad, hasta la finalización del trabajo.

Diseño del experimento

En los ensayos realizados en este trabajo se evaluó el efecto de los distintos tratamientos sobre la germinación de las semillas de alfalfa para cada lote. Estas evaluaciones del poder germinativo se realizaron en diferentes momentos:

- a- inicialmente cuando las semillas no poseían ningún tratamiento (Prueba de germinación sobre papel).
- b- inmediatamente luego de la aplicación de los tratamientos (Prueba de germinación en rollos).
- c- a los 5 meses de aplicados los tratamientos (Prueba de germinación en tierra).
- d- luego de 11 meses de aplicados los tratamientos (Prueba de germinación en rollos).

Finalmente también se evaluó el vigor de las semillas tratadas después de 6 meses de aplicar el tratamiento.

Para cada evaluación realizada, en rollos, en tierra con arena y luego de un año, se llevaron adelante experimentos mediante un diseño DCA con arreglo factorial con cuatro repeticiones. El factor Tratamiento, con cuatro niveles y el factor Lote con doce niveles. Las comparaciones múltiples se realizaron a través del test LSD de Fisher ($p < 0.05$).

Cada unidad experimental consistió de una muestra de 100 semillas para las pruebas de Germinación (sobre papel, en rollos y tierra) y de 25 semillas para la prueba de Vigor. Cada combinación (Tratamiento y Lote) se asignó a las unidades experimentales aleatoriamente.

Para cada análisis se comprobó el cumplimiento de los supuestos y se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Descripción de los ensayos (metodología)

Las pruebas de germinación se realizaron siguiendo las normas ISTA (2015).

La prueba de germinación inicial, antes de aplicar los tratamientos de incrustado se realizó sobre papel. Cada repetición, de 100 semillas se sembró sobre una toalla de papel (Valot Supreme, 33 g.m⁻²), humedecida con 30 ml de agua, ubicada en una bandeja plástica, luego cubierta con una bolsa de polipropileno para evitar la pérdida de humedad. Estas bandejas se llevaron a una cámara a 20°C, con un fotoperíodo de 8 horas. Después de 10 días se realizaron las evaluaciones de Poder Germinativo (PG) (ISTA, 2015) contabilizando el número de plántulas normales, el número de plántulas anormales, el número de semillas muertas, el número de semillas duras y el número de semillas frescas. Luego se calculó el porcentaje de plántulas normales (PPN), el porcentaje de plántulas anormales (PPA), el porcentaje de semillas muertas (PSM) y porcentaje de

semillas duras (PSD). Adicionalmente se calculó el poder germinativo (PG) como la suma de PPN más PSD.

El Peso de 1000 semillas, evaluado en el momento inicial, se determinó mediante 8 repeticiones de 100 semillas según ISTA (2015).

Inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos, se realizó la prueba de germinación en rollos. Esta prueba sigue una metodología similar a la prueba de germinación sobre papel, con la diferencia de que en este caso se emplearon papeles en forma de rollo (ISTA, 2015). Las condiciones en las que se llevó a cabo esta prueba fueron las mismas que para la germinación sobre papel y en la evaluación de la germinación a los once meses.

Para la prueba de germinación en tierra, se tomaron muestras de un lote sembrado con Alfalfa en la localidad de Roca. En laboratorio las pruebas se hicieron en bandejas plásticas donde se colocó una mezcla de tierra y arena en la proporción 2:1 respectivamente. El contenido de humedad del sustrato fue de $17 \pm 0.5\%$, sobre base seca. En cada bandeja se colocaron 400 gramos de la mezcla y se sembraron 100 semillas en cada una, correspondientes a cada lote, tratamiento y repetición. Luego fueron cubiertas con 200 gramos de sustrato formando una capa de 3 mm. Las condiciones de temperatura y fotoperíodo de la cámara de incubación fueron las mismas que las empleadas en los ensayos de germinación en papel. Esta prueba se realizó a los 5 meses de la aplicación de los tratamientos. La evaluación se realizó según normas ISTA (2015), aplicada a los ensayos de germinación de la especie.

En la prueba de vigor, realizada también en rollos y siguiendo la misma metodología, se contabilizaron las plántulas normales y sobre ellas se evaluó el largo de las plántulas, la materia fresca y la materia seca. A los nueve días se realizó la evaluación para calcular un índice de vigor en base al largo de las plántulas, discriminadas según midieran 1, 3, 5 ó 7 cm. Se empleó la siguiente fórmula:

$$\frac{(P1 \times 1) + (P3 \times 3) + (P5 \times 5) + (P7 \times 7)}{N^{\circ} \text{ total de plántulas}}$$

N° total de plántulas

P1: Número de plántulas de 1 cm de longitud.

P3: Número de plántulas de 3 cm de longitud.

P5: Número de plántulas de 5 cm de longitud.

P7: Número de plántulas de 7 cm de longitud.

Para la determinación de la MS individual, se realizó el cálculo del peso promedio por plántula.

La aplicación de los tratamientos de incrustado se realizó en el Seed Care Institute de la empresa Rizobacter S.A., en Pergamino, quién además aportó los materiales para el tratamiento de incrustado de las semillas, mientras que las evaluaciones posteriores se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Semillas de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Pergamino.

Resultados

Calidad inicial de los lotes antes de la aplicación de los tratamientos

Las doce muestras de semillas de alfalfa utilizadas para el trabajo fueron evaluadas mediante pruebas de humedad, peso de mil semillas, germinación y conductividad eléctrica (CE).

Germinación

El análisis de la varianza para el porcentaje de plántulas normales, anormales, semillas muertas y duras, entre los diferentes lotes, indicó que existen diferencias significativas ($p_{\text{value}} = <0.0001, 0.0005, <0.0001, <0.0001$, respectivamente). La tabla 2, muestra los resultados de las comparaciones múltiples y los promedios de PG para cada uno de los lotes.

Tabla 2: Germinación inicial de los lotes: PPN, PPA, PSM, PSD y PG.

Lote	Porcentaje Plántulas Normales (PPN)	Porcentaje Plántulas Anormales (PPA)	Porcentaje Semillas Muertas (PSM)	Porcentaje Semillas Duras (PSD)	Poder germinativo (PPN+PSD)
56	84.25 A	10.25 C	4.00 B	1.5 E F	85.8
54	83.75 A B	13.25 B C	1.50 B	1.5 E F	85.3
50	82.25 A B C	8.50 C	2.00 B	7.3 C D	89.5
51	77.50 B C D	17.00 A B	0.75 B	4.8 D	82.3
47	77.50 B C D	9.25 C	3.25 B	10.0 B C	87.5
55	76.50 C D	18.50 A	4.75 B	0.3 F	76.8
48	76.50 C D	10.00 C	1.75 B	11.8 B C	88.3
57	76.00 C D	17.00 A B	6.50 B	0.5 E F	76.5
52	72.75 D E	12.00 C	3.75 B	11.5 B C	84.3
49	71.25 D E	10.75 C	3.75 B	14.3 B	85.5
53	67.75 E	8.50 C	1.75 B	22.0 A	89.8
58	60.00 F	11.75 C	26.25 A	2.0 E	62.0

Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los lotes presentaron un PG promedio mayor al 60 %.

El lote 58 es el que presentó el menor PG (62%), diferenciándose del resto.

Los lotes 55 y 57, con 76% de PG tuvieron un porcentaje de semillas muertas entre 4.8 y 6.5%. Solamente el lote 58 con 62% de PG tuvo un elevado porcentaje de semillas muertas (26%).

Los lotes de buen poder germinativo, superior al 80%, presentaron variabilidad en el porcentaje de semillas duras, de 1.5 a 22%, y los porcentajes de semillas muertas fueron inferiores al 4%.

Humedad inicial, conductividad eléctrica, peso de las semillas

Los valores promedio del peso de mil semillas variaron entre 2.1 y 2.6 g. Este rango de valores está dentro de los considerados normales para las semillas maduras de la especie (Lus, 2013).

En cuanto al contenido de humedad, solamente el lote 58 presentó un valor elevado (9.6%), el cual supera las recomendaciones para el almacenamiento seguro de la especie. Semillas con contenidos de humedad inferiores a 9%, en ambientes con temperatura promedio inferiores a 25°C, conservan su viabilidad por más de tres años (Justice y Bass, 1978)

Tabla 3: Humedad inicial, conductividad eléctrica (24 horas) y peso de mil semillas correspondientes a cada lote.

Lote	Humedad (%)	CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	P1000 (g)
56	6.68 F	252 B	2.4 D E
54	8.85 B	255 B	2.2 G
50	7.89 D	186 D	2.5 B
51	7.95 D	193 D	2.6 A
47	8.72 B C	192 D	2.1 H
55	8.00 D	250 B	2.6 A
48	8.50 C	213 C	2.1 H
57	7.91 D	227 C	2.4 F
52	7.56 E	189 D	2.6 B
49	6.24 G	193 D	2.4 E
53	8.78 B C	271 B	2.5 C D
58	9.64 A	381 A	2.5 B C

Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En los lotes de alfalfa los valores de conductividad eléctrica a las 24 h estuvieron comprendidos entre 186 y 381 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Esta prueba, que aún no ha sido

estandarizada carece de valores de referencia para la especie. En la Figura 2 se indica la evolución de la conductividad desde el inicio hasta las 24 h.

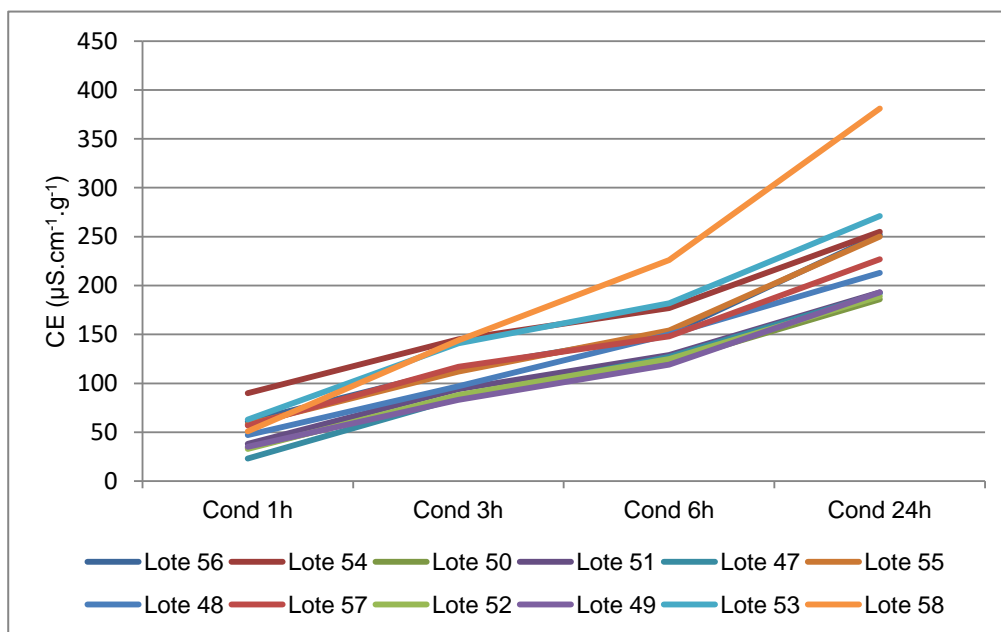


Figura 2: Evolución de la CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) a las 0, 1, 3, 6 y 24h según los doce lotes evaluados.

Se destaca una mayor conductividad en el lote 58, el cual superó significativamente a los once restantes y coincidió con el menor valor de poder germinativo de los lotes evaluados. Los demás lotes cubren un rango de conductividad que va de 271 a 186 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ y reflejan una amplia variabilidad en este parámetro. El menor valor de conductividad perteneció al lote que obtuvo uno de los mayores valores en el poder germinativo (lote 50) (Tablas 2 y 3).

Para evaluar el grado de similitud entre los lotes de semillas a partir de la correlación entre las variables evaluadas se realizó un análisis multivariado, el mismo consistió en un análisis de conglomerados y un análisis de los componentes principales.

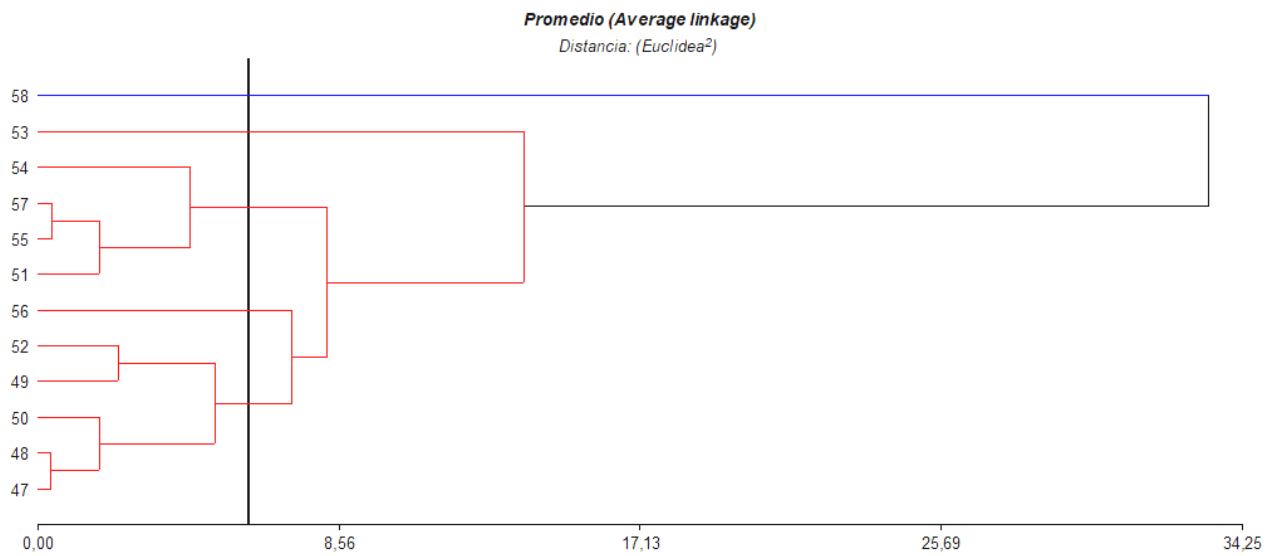


Figura 3: Agrupamiento de los doce lotes de alfalfa, por similitud de caracteres (dendograma) a una distancia euclídea de seis.

Fijando un criterio de corte arbitrario en la distancia 6, los lotes quedan ubicados en cinco grupos. Tres de ellos con un solo integrante que corresponde a los lotes 53, 56 y 58. Un cuarto grupo integrado por los lotes 54, 57, 55 y 51 y finalmente el quinto grupo integrado por los lotes 52, 49, 50, 48 y 47.

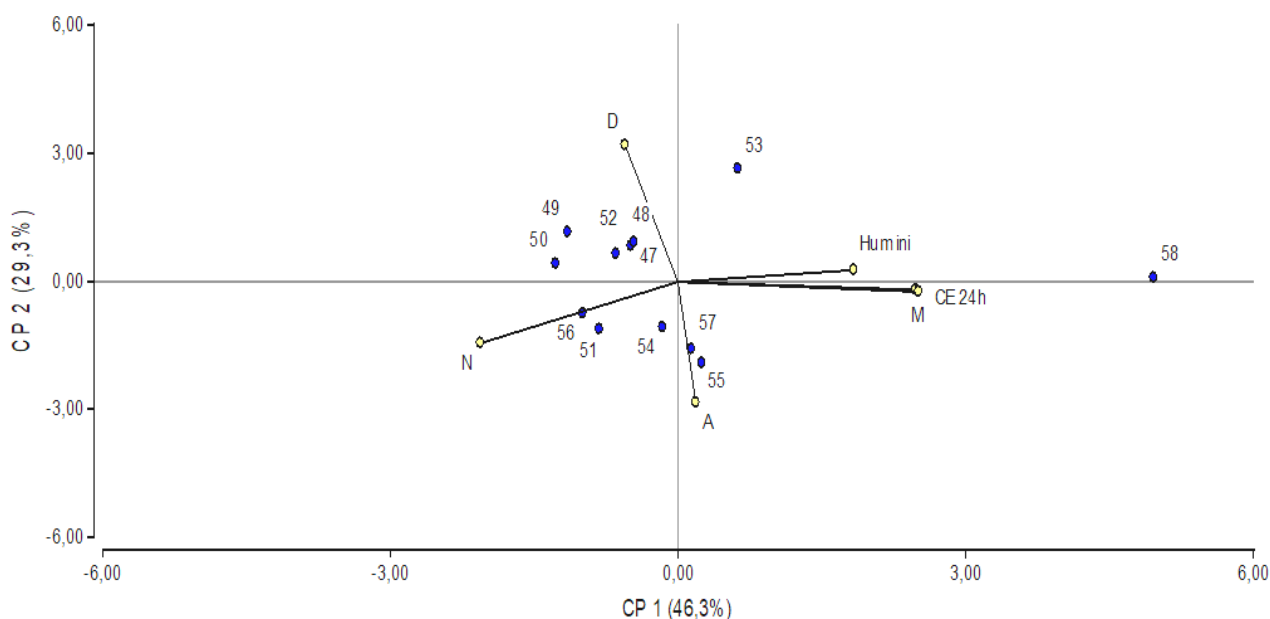


Figura 4: Biplot. Análisis de los componentes principales. N: porcentaje de plántulas normales, A: porcentaje de plántulas anormales, D: porcentaje de semillas duras, M: porcentaje de semillas muertas.

La figura 4 muestra una representación plana de todas las variables, Humedad inicial, CE a las 24 hs, PPN, PPA, PSD y PSM. El biplot contiene el 75.6% de la información de la variabilidad de los datos, es decir, podemos interpretar las posiciones de los puntos con pérdida de información mínima.

Se puede observar que las variables Humedad y CE tiene una correlación alta y positiva y lo mismo ocurre con cada una de ellas y PSM, es decir valores altos de humedad y valores altos de CE está asociados con porcentajes altos de semillas muertas. Adicionalmente, valores altos de humedad, conductividad eléctrica y PSM se asocia fuertemente con valores bajos de PPN. Dentro de estas características se encuentra el lote 58, el cual se presenta como un lote separado diferenciándose del resto de los lotes en el dendograma de la figura 3. El Lote 53 también aparece como un lote separado del resto, presentado características similares al lote 58, excepto que el PSM fue menor y presentó un alto valor en el PSD.

En cuanto a los lotes:

Los lotes 54, 55 y 57 están en el mismo grupo, con alto PPA, bajo PSD y conductividad superior a 220.

En el cuadrante inferior izquierdo se ubican los lotes 51 y 56, con PPN mayor a 77%, PPA mayor a 10% y valores de conductividad a las 24 h distantes, con 193 y 252 $\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$, respectivamente.

En el cuadrante superior izquierdo los lotes 47, 48, 49, 50 y 52: presentan conductividad entre 186 y 213 $\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$, porcentaje de humedad entre 6.24 y 8.72%, semillas muertas inferior a 3.8% y PPN entre 71 y 82.3%.

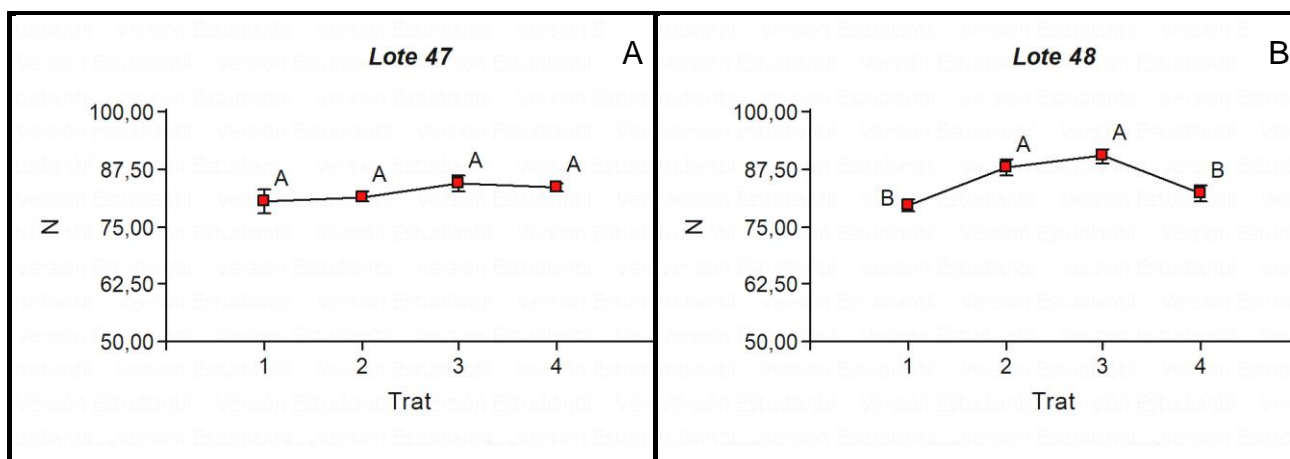
Los lotes evaluados en el trabajo pueden ser considerados representativos de la calidad de semillas encontradas en el comercio. También fue incluido un lote con bajo poder germinativo y elevado número de semillas muertas (Lote 58).

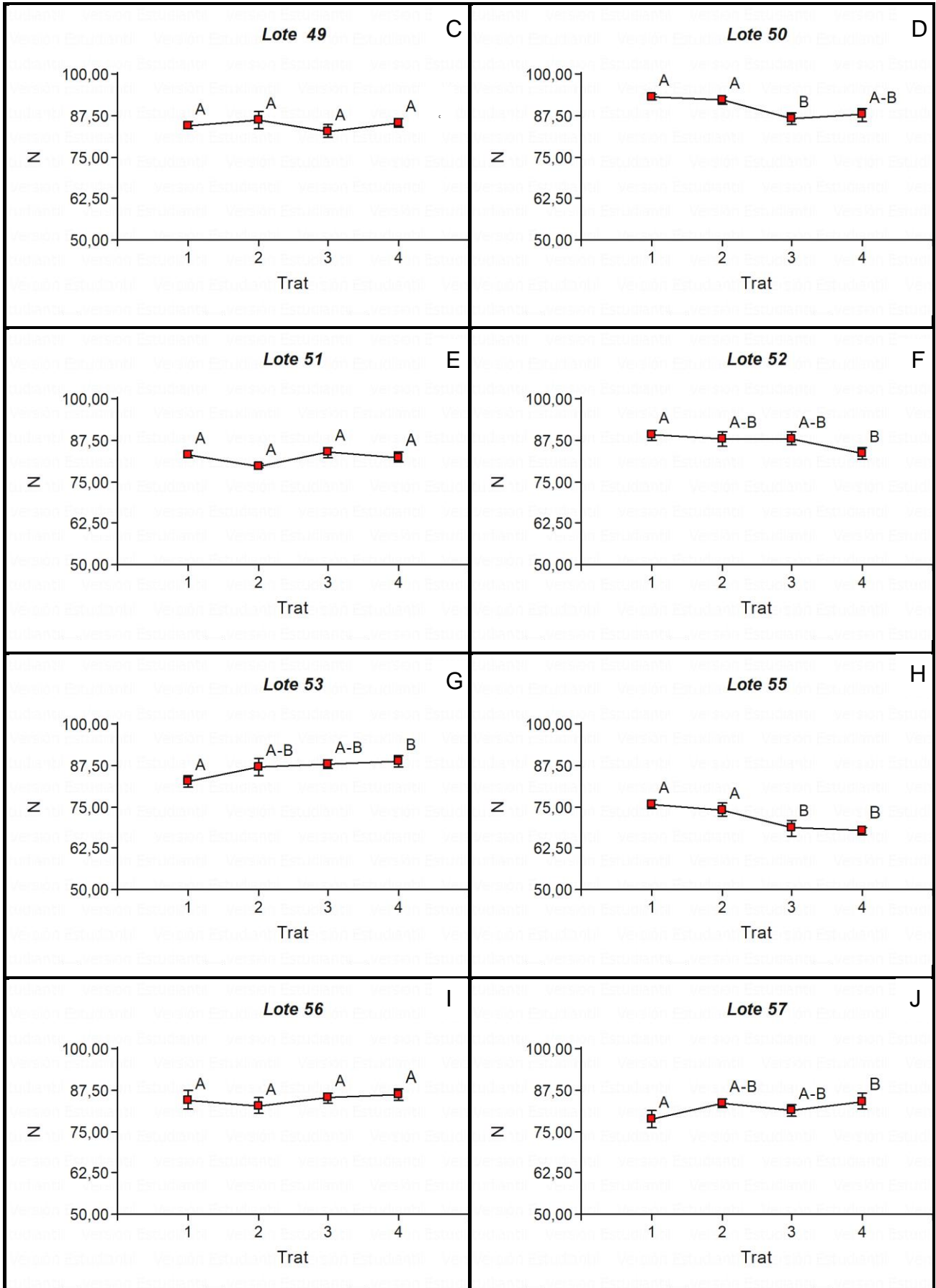
Germinación de los lotes inmediata a la aplicación de los tratamientos

Se presentan los resultados de plántulas normales, anormales y de semillas muertas.

Porcentaje de plántulas normales

Del análisis de los resultados de la evaluación de las plántulas normales resultó una interacción significativa entre los tratamientos y los lotes ($p_{\text{value}} < 0,0001$) (Anexo x). El lote número 54 fue eliminado en la prueba de germinación en rollos debido a un error en la siembra del ensayo, por lo tanto se analizarán los 11 lotes restantes.





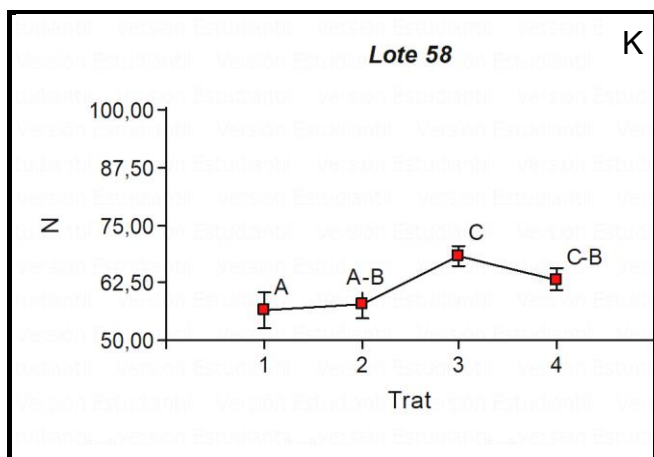


Figura 5: Porcentaje de plántulas normales promedio (N=PPN) para cada tratamiento, según lote. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Se observa que en los lotes 47, 49, 51 y 56 no se produjeron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 5 A, C, E, I).

En el lote 48 el mayor PPN promedio se dio en los tratamientos T2 y T3 con 87.75 y 90.25% respectivamente sin diferencias entre ellos. Entre T1 y T4 no hubo diferencias en PN, con 79.5 y 80.0% respectivamente (Figura 5 B).

En el lote 50 el tratamiento T3 difiere significativamente de T1 y T2, sin diferencias con T4. Estos tres últimos no difieren entre ellos (Figura 5 D).

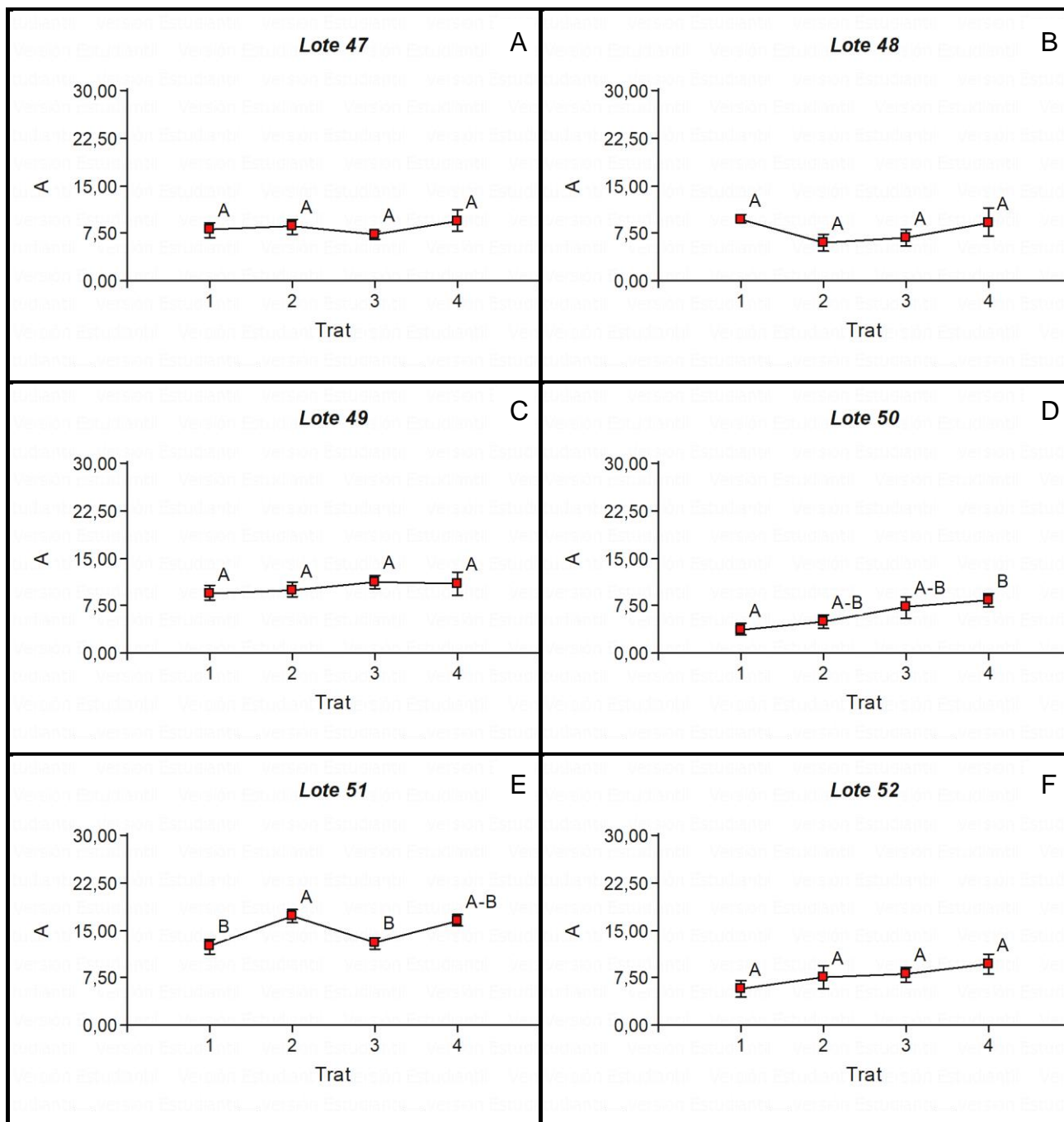
En los lotes 52, 53 y 57 hay una marcada diferencia significativa entre los tratamientos T1 y T4. En el caso del lote 52 el mayor PPN se da en el testigo (T1), caso contrario a lo que ocurre en los lotes 53 y 57, donde el mayor PPN corresponde al T4 (Figura 5 F, G, J).

En el lote 55 los tratamientos T1 y T2 no tuvieron diferencias entre ellos y presentaron el mayor PPN, mientras que T3 y T4, sin diferencia entre ellos, tuvieron el menor PPN (Figura 5 H).

Por último, el lote 58 tuvo los menores valores de PPN comparado con el resto de los lotes. Los tratamientos T3 y T4 fueron significativamente mayores, sin diferencias entre ellos (Figura 5 K).

Porcentaje de plántulas anormales

Esta variable también presentó interacción significativa entre los tratamientos y los lotes ($p_{\text{value}} < 0,0001$), por lo cual ambos factores se analizan en conjunto.



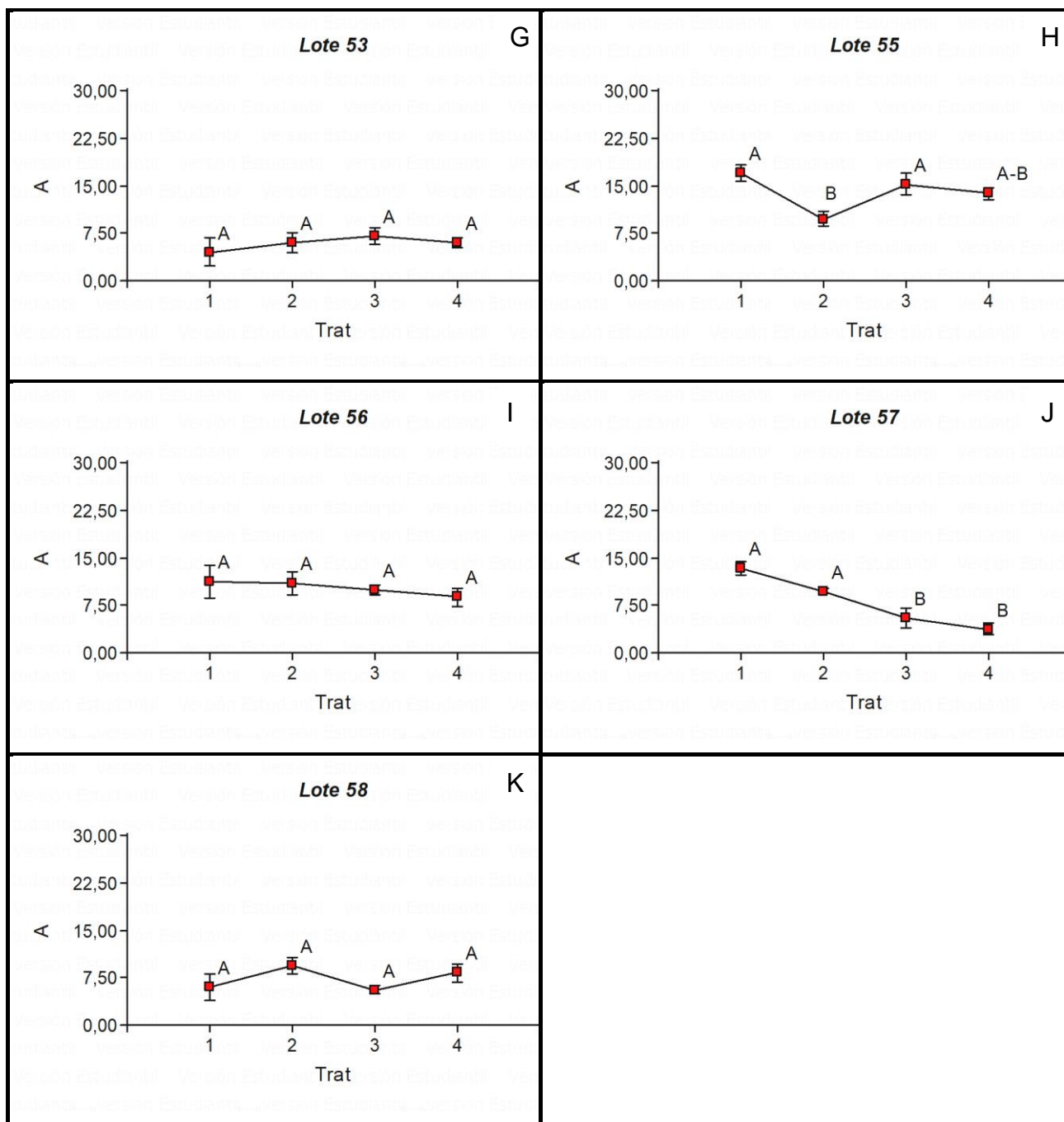


Figura 6: Porcentaje de plántulas anormales promedio (A=PPA) para cada tratamiento, según lote. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$).

En los lotes 47, 48, 49, 52, 53, 56 y 58 no se presentaron diferencias de PPA entre los niveles de cada tratamiento de incrustado. En el lote 50 hubo diferencia significativa entre los tratamientos T1 y T4 (Figura 6 A, B, C, F, G, I, K).

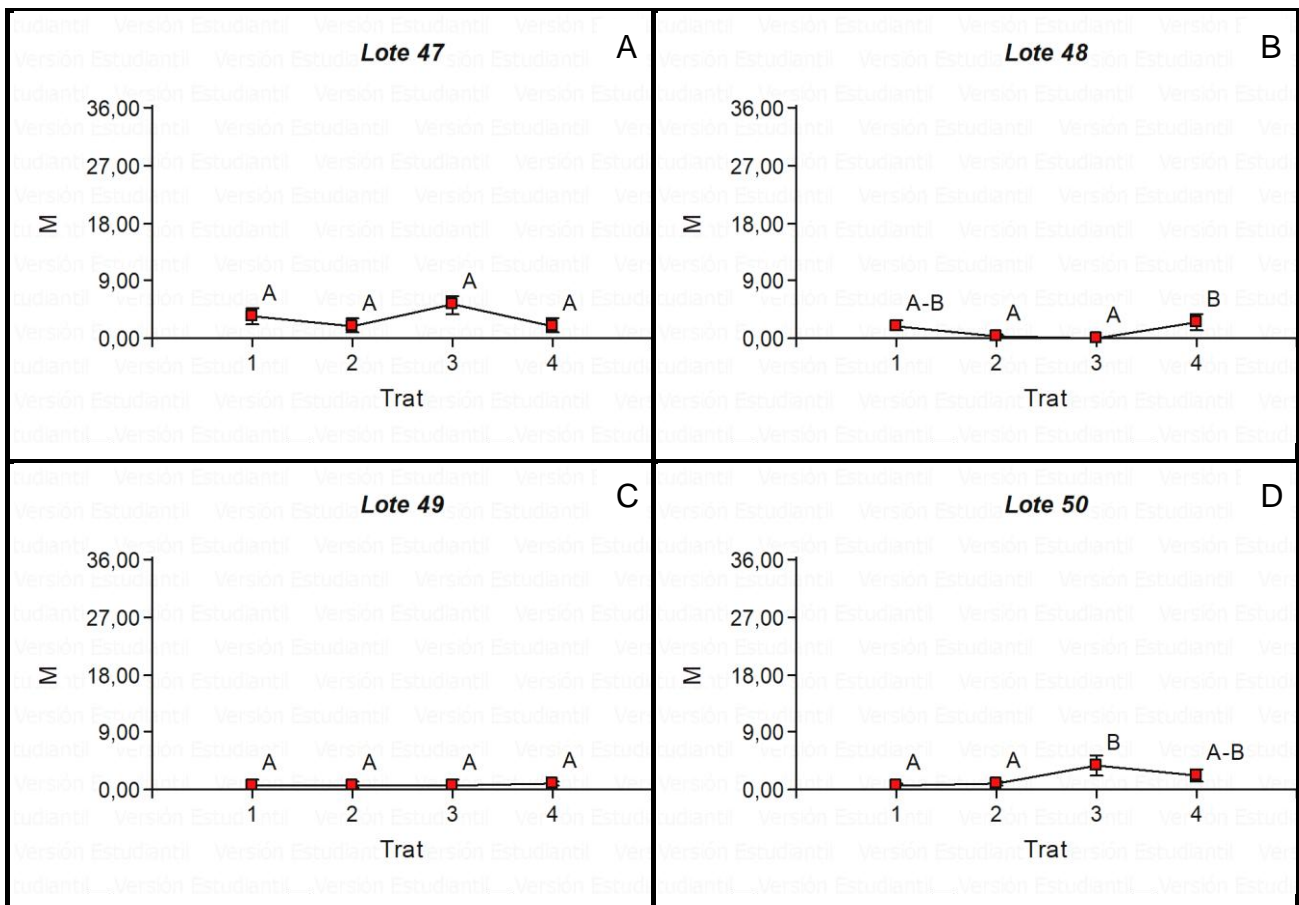
En los lotes 51 y 55 los tratamientos T1, T3 y T4 no tuvieron diferencias entre ellos. Pero a pesar de esta similitud existe una diferencia importante entre estos lotes, si observamos

el tratamiento T2 en el lote 51 tuvo el mayor PPA mientras que en el lote 55 fue el menor (Figura 6 E, H).

Por último, en el lote 57 los tratamientos T1 y T2 presentaron mayor PPA que los tratamientos T3 y T4 (Figura 6 J).

Porcentaje de semillas muertas

La interacción entre las variables analizadas fue significativa, presentando un $p_{\text{value}} < 0,0001$. Los lotes 58, 55 y 57 presentaron valores superiores al 9% de semillas muertas en alguno de sus tratamientos. El resto de los lotes no superaron ese valor.



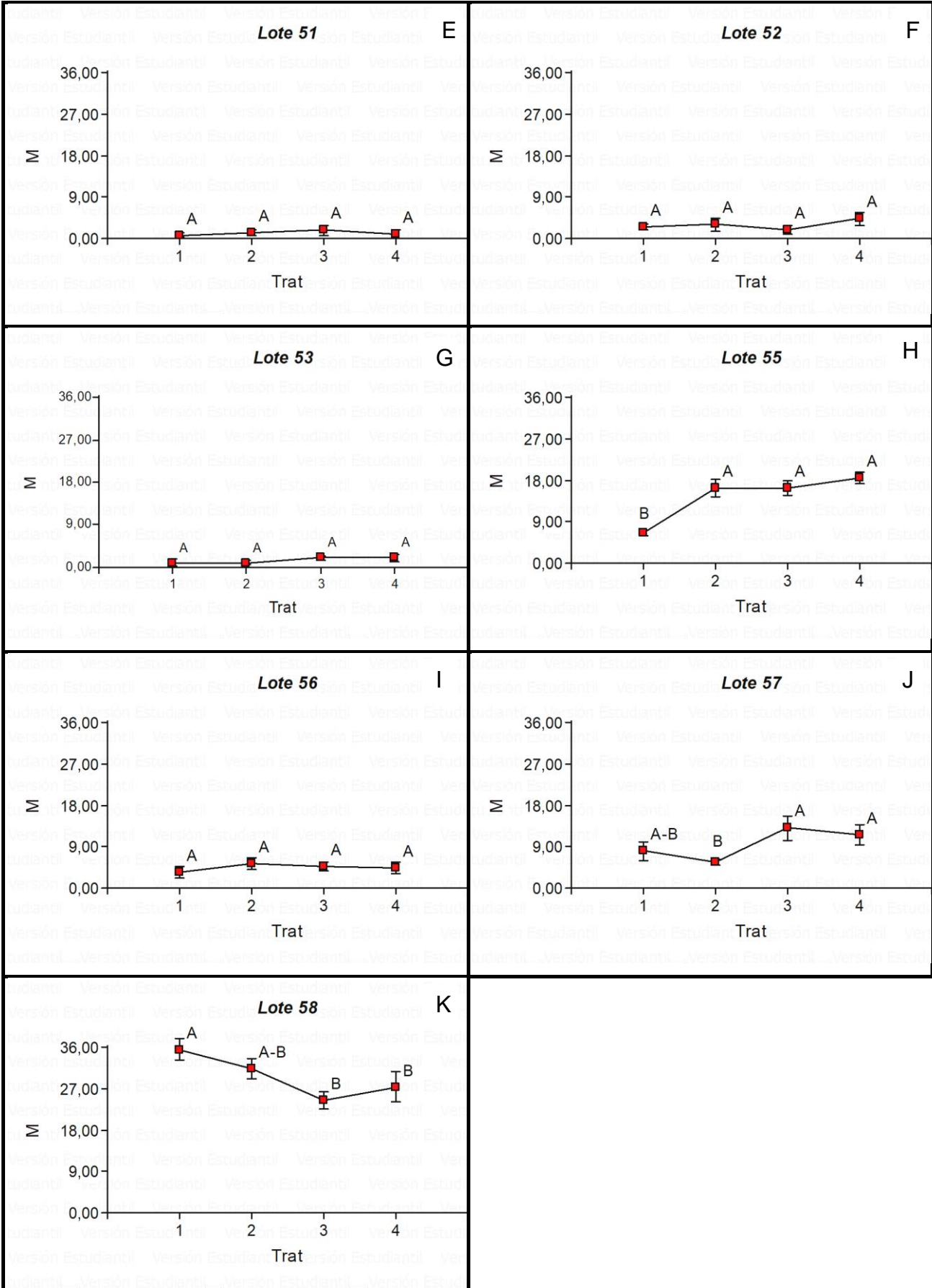


Figura 7: Porcentaje de semillas muertas promedio (M=PSM) para cada tratamiento, según lote. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En los lotes 47, 49, 51, 52, 53 y 56 los tratamientos de incrustado no presentaron diferencias significativas entre ellos (Figura 7 A, C, E, F, G, I). Los valores de semillas muertas no superaron el 7% en ningún tratamiento.

En el lote 48 el testigo T1 no difiere de ningún tratamiento de incrustado. Mientras que T4 supera a T2 y T3 (Figura 7 B).

En el lote 50 se destaca el T3 que supera a los tratamientos T1 y T2 sin diferencia con T4 (Figura 7 D).

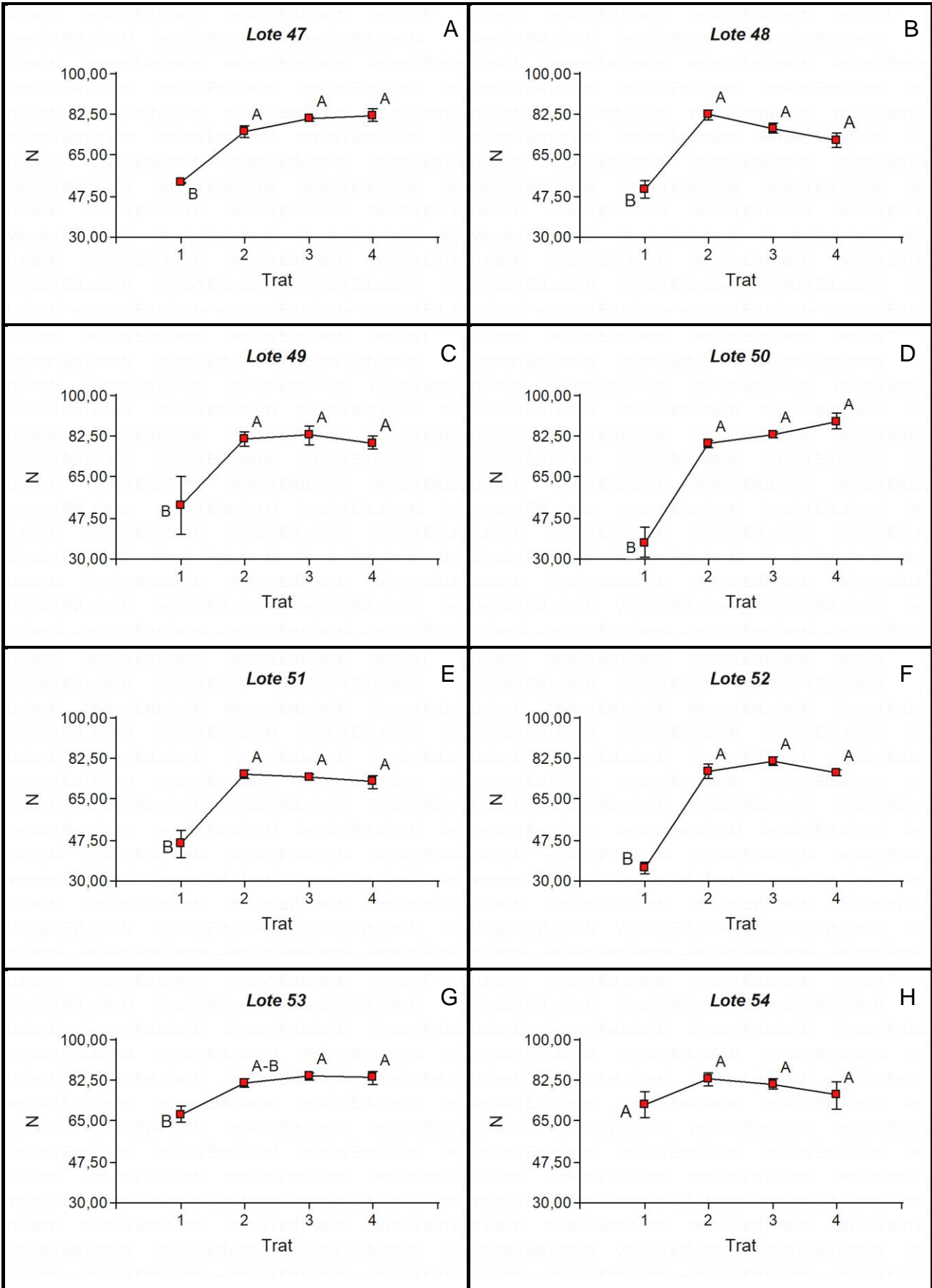
Al analizar los lotes con porcentajes de semillas muertas superiores al 9%, en alguno de sus tratamientos, se observa que el lote 55 es un caso especial, donde sólo el testigo se diferencia del resto con un porcentaje menor de semillas muertas (Figura 7 H). En el lote 57 se observa que ninguno de los tratamientos se diferencia significativamente del testigo (T1) (Figura 7 J). Por último, en el lote 58, el testigo T1 se diferencia de los tratamientos T3 y T4, pero no del tratamiento T2 (Figura 7 K).

Germinación de los lotes en sustrato tierra

Se presentan los resultados obtenidos en porcentajes de plántulas normales y anormales y de semillas muertas.

Porcentaje de plántulas normales

En esta prueba la interacción fue significativa entre las variables tratamiento y lotes ($p_{\text{value}} < 0,0001$). En la mayoría de los lotes hubo una marcada diferencia entre el testigo y los tratamientos de incrustado, los cuales presentaron un mayor porcentaje de plántulas normales. Los lotes que no siguieron este comportamiento fueron 53, 54, 56, 57 y 58.



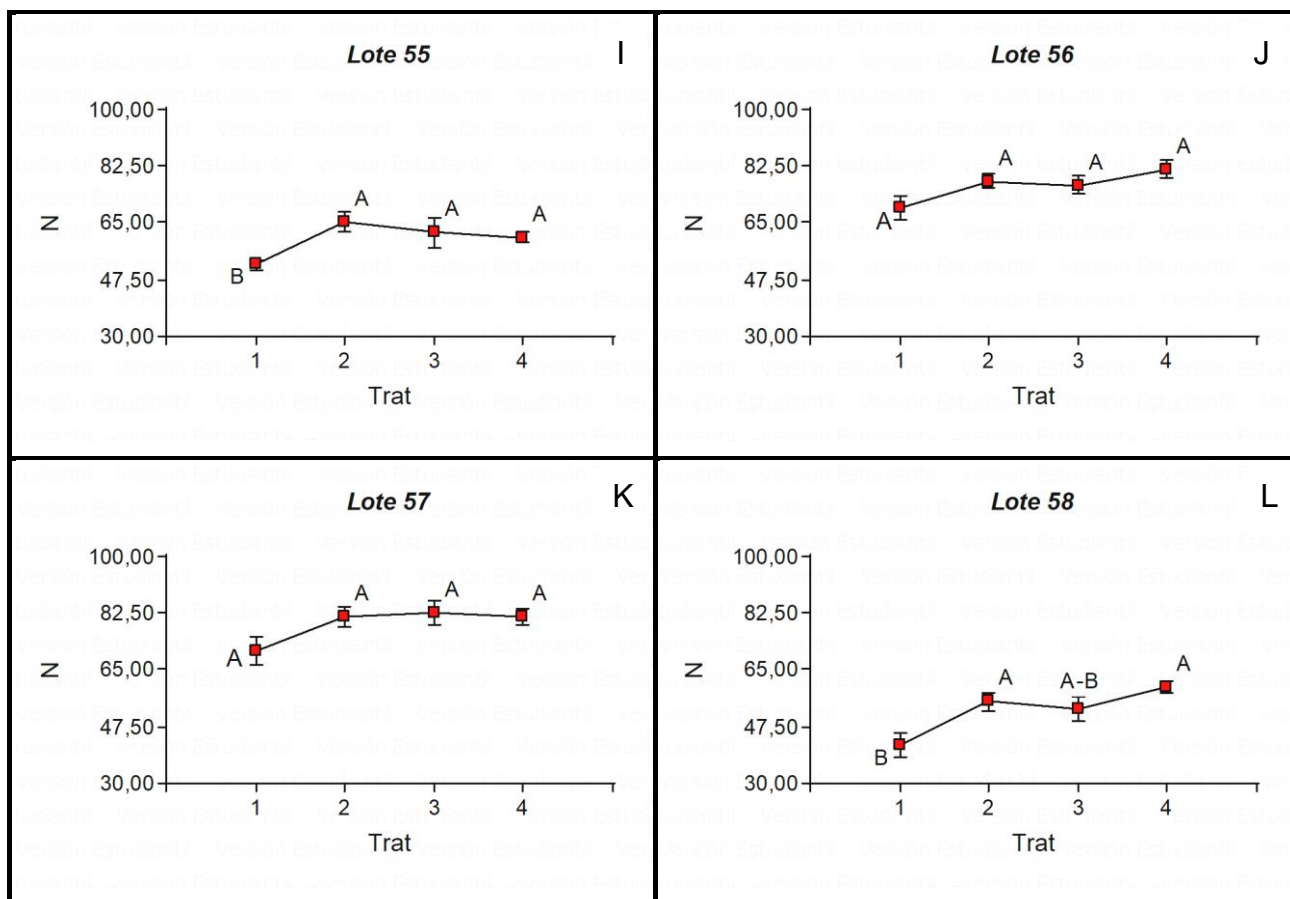


Figura 8: Porcentaje de plántulas normales promedio (N=PPN) obtenidas en el ensayo de germinación en tierra correspondiente a cada tratamiento, según lote. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En los lotes 54, 56 y 57 los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí (Figura 8 H, J, K). En cambio en los lotes 53 y 58 los tratamientos T2, T3 y T4 son estadísticamente iguales entre ellos (Figura 8 G, L).

En los demás lotes (47, 48, 49, 50, 51, 52 y 55) el testigo T1, presentó menor PPN y fue diferente a todos los tratamientos con incrustado sin diferencia significativa entre estos últimos (Figura 8 A, B, C, D, E, F, I).

Porcentaje de plántulas anormales

La interacción en este caso no fue significativa ($p_{\text{value}}: 0,0913$) por lo tanto las variables se analizan por separado.

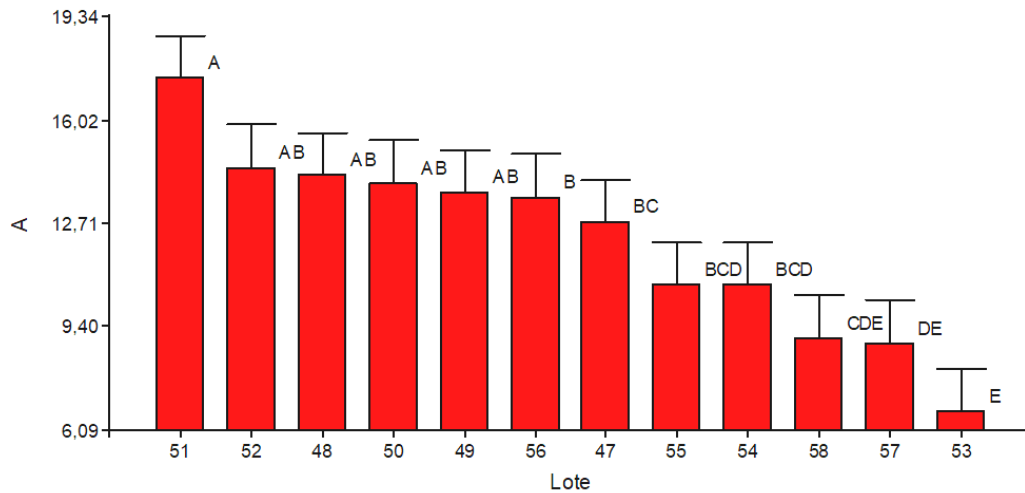


Figura 9: Porcentajes de plántulas anormales promedio (A=PPA) correspondientes a cada lote. Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Los valores de PPA que presentaron los lotes están comprendidos entre 7 y 18%. Los lotes con mayores valores fueron 48, 49, 50, 51 y 52 mientras los menores fueron los lotes 53, 57 y 58 (Figura 9).

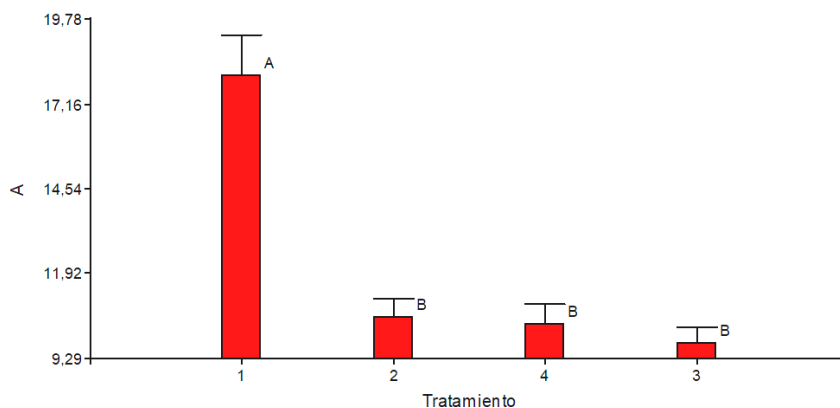
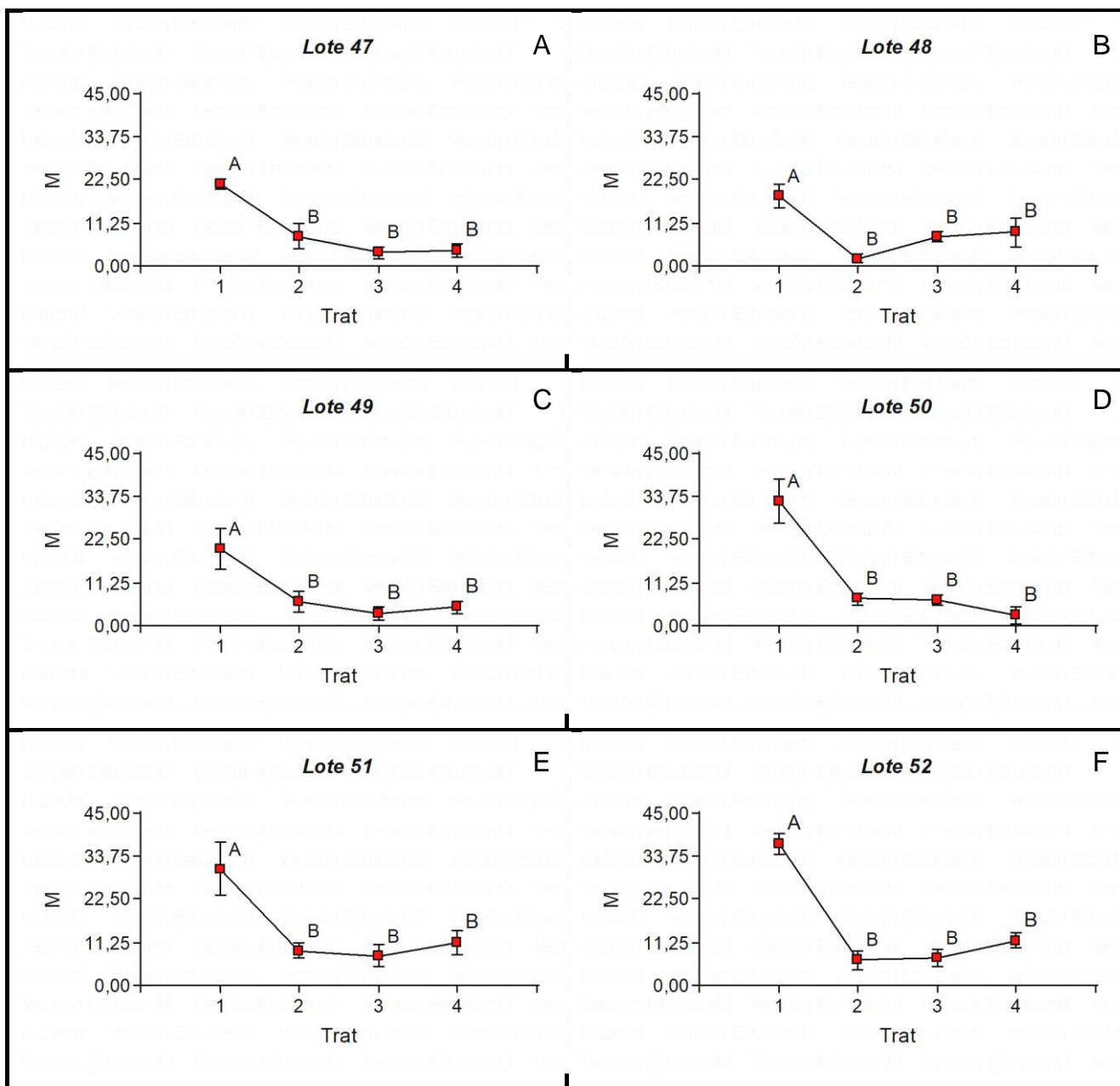


Figura 10: Porcentajes de plántulas anormales promedio (A=PPA) correspondientes a cada tratamiento. Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Todos los tratamientos de incrustado produjeron menor PPA que el testigo, con diferencias entre cercanas al 10%.

Porcentaje de semillas muertas

En este caso la interacción entre las variables fue significativa, $p_{\text{value}} < 0,0001$.



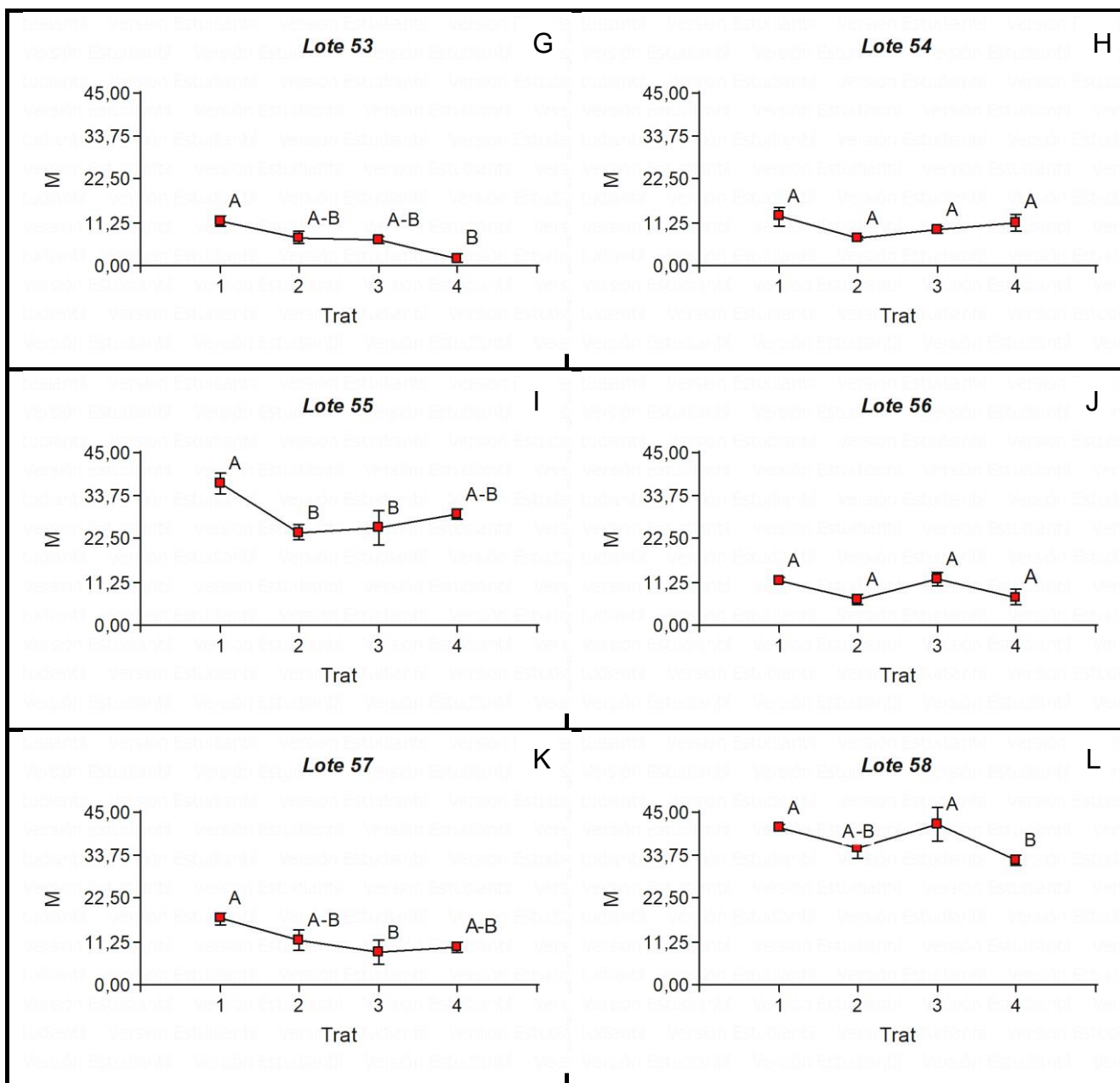


Figura 11: Porcentajes de semillas muertas promedio (M=PSM) para cada tratamiento, según lote. Letras distintas indican diferencia significativas (P < 0.05).

En los lotes 54 y 56 no existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 11 H, J). Pero en los lotes 47, 48, 49, 50, 51 y 52, el tratamiento T1 se diferenció significativamente de los demás, con valores que van desde 18 hasta 37% de semillas muertas según el lote (Figura 11 A, B, C, D, E, F).

En el lote 53 la diferencia significativa se dio entre el testigo y el T4, mientras que en el lote 57 la diferencia se dio entre el testigo y T3 (Figura 11 G y K).

En el lote 55 los tratamientos de incrustado disminuyeron el PSM, sin diferencia entre T1 y T4. Tampoco hubo diferencias significativas entre los tratamientos T2, T3 y T4 (Figura 11 I).

En el lote 58 el T4 disminuyó significativamente el PSM. Los demás tratamientos no presentaron diferencias entre ellos (Figura 11 L).

Ensayo de vigor

Se evaluó el índice de vigor y la materia seca de las plántulas normales logradas.

Índice de vigor

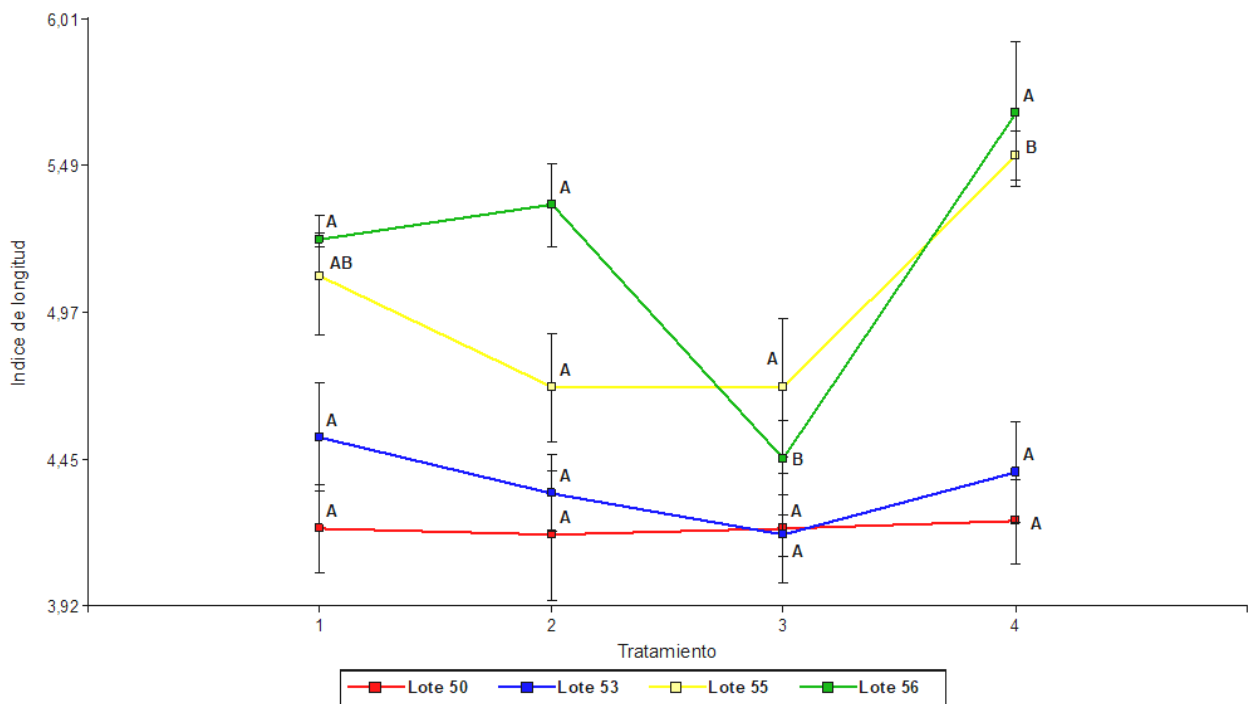


Figura 17: Índice de vigor correspondientes a cada tratamiento, según lote. Para cada lote letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En los lotes 50 y 53 los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos. En el lote 55 el testigo T1 no presentó diferencia con ninguno de los otros tratamientos.

Pero en el lote 56 solo se diferenció el tratamiento T3 con un índice significativamente menor (Figura 17).

Materia seca individual

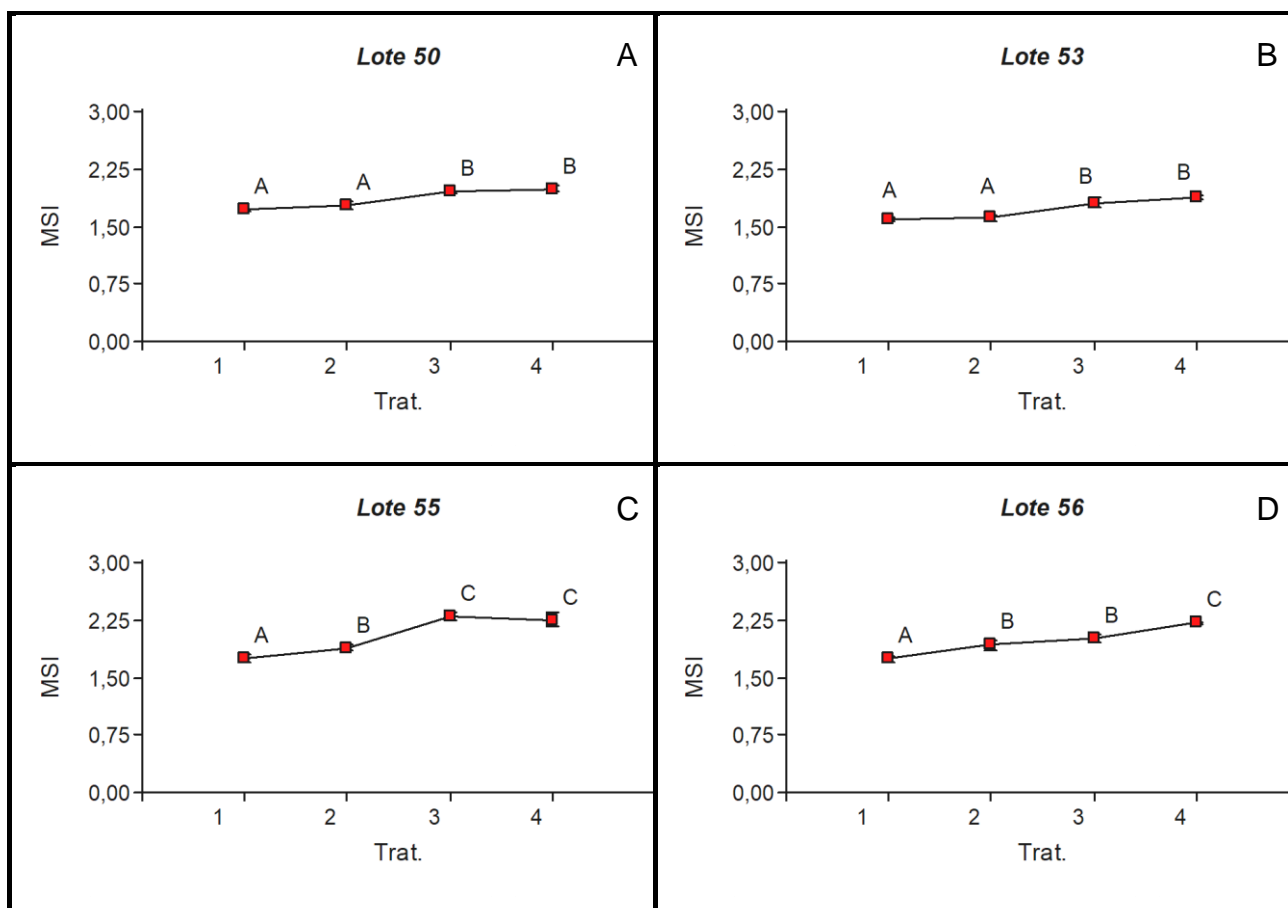


Figura 18: Materia seca individual (MSI) de plántulas correspondientes a cada lote y tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En los lotes 50 y 53 la producción de la materia seca individual (MSI) de las plántulas tuvo el mismo comportamiento. Los tratamientos T1 y T2 no tuvieron diferencias significativas y lo mismo sucedió con los tratamientos T3 y T4 (Figura 18 A y B).

En los lotes 55 y 56 los tratamientos de incrustado provocaron incrementos en la materia seca de las plántulas. El menor valor correspondió al testigo sin tratar con diferencias significativas respecto a todos los otros. T2 y T3 no se diferenciaron entre ellos en el lote 56 pero si en el 55 (Figura 18 C y D).

En ningún caso la materia seca del testigo superó la MS de plántulas obtenidas de semillas incrustadas.

Germinación luego de un año

En esta prueba se analizaron los cuatro lotes seleccionados en la caracterización inicial.

Porcentaje de plántulas normales promedio

En este caso, los lotes y los tratamientos no presentaron interacción entre ellos (p_{value} : 0,1902), por lo tanto cada factor se analizó por separado.

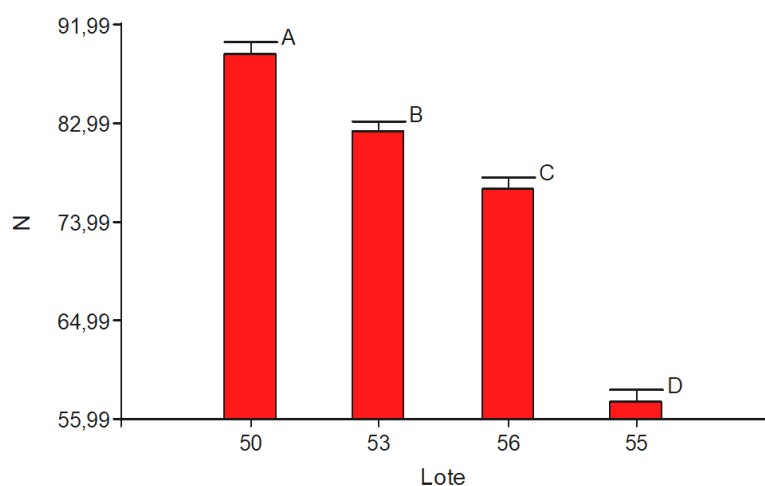


Figura 12: Porcentaje de plántulas normales promedio (N=PPN) correspondiente a cada lote de semillas; promedio. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Todos los lotes evaluados difirieron en el PPN entre ellos.

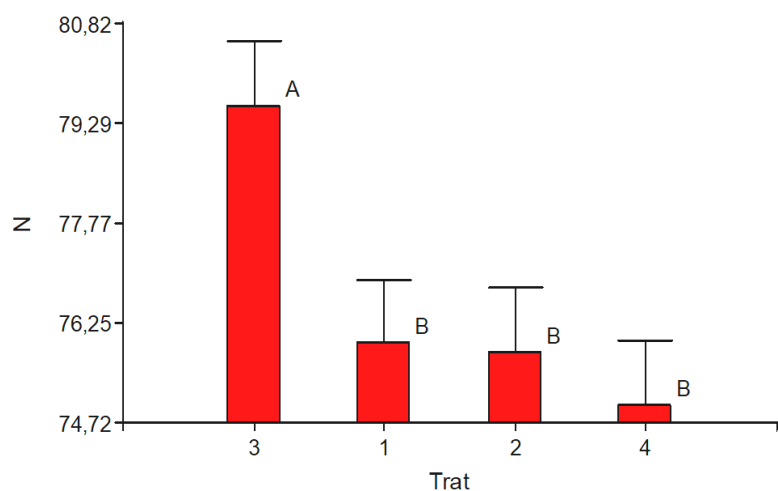


Figura 13: Porcentaje de plántulas normales promedio (N=PPN) correspondiente a cada tratamiento de incrustado. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El único tratamiento que difirió estadísticamente del resto es el tratamiento T3 que presentó el mayor número de plántulas normales.

Porcentaje de plántulas anormales

Aquí tampoco hubo interacción entre los dos factores (lote y tratamiento) por lo que se analizaron de manera independiente ($p_{\text{value}}: 0,3733$).

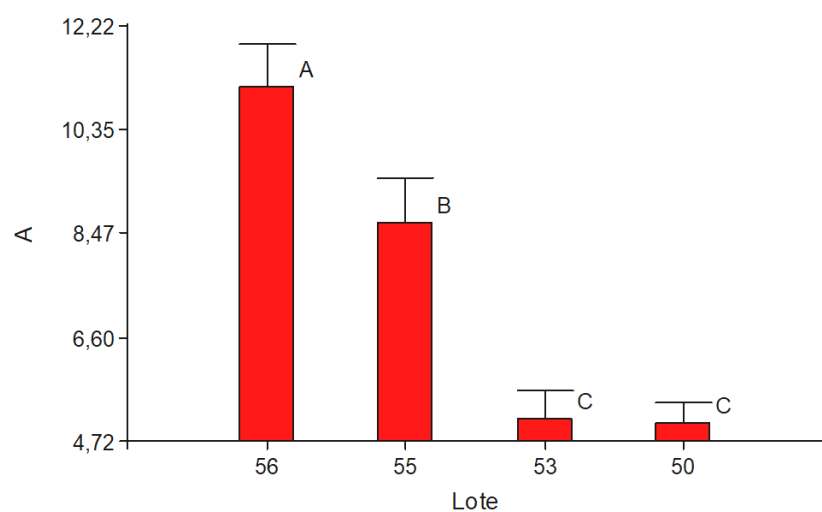


Figura 14: Porcentaje de plántulas anormales promedio (A=PPA) correspondiente a cada lote de semillas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El lote 56 es el que mayor porcentaje de plántulas anormales presentó, le sigue el lote 55 y por último los lotes 50 y 53 que no presentaron diferencias significativas entre ellos.

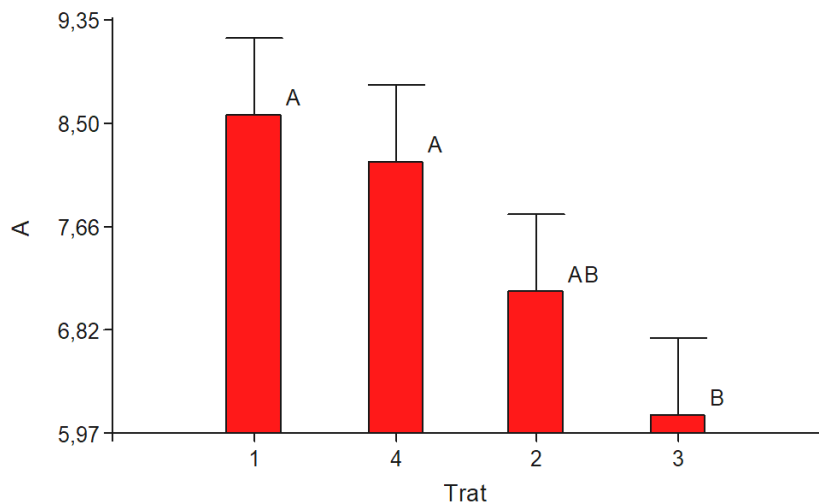


Figura 15: Porcentaje de plántulas anormales promedio (A=PPA) correspondiente a cada tratamiento de incrustado. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los tratamientos T1, T2 y T4 son estadísticamente iguales. El tratamiento T3 presentó menor PPA que los tratamientos T1 y T4.

Porcentaje de semillas muertas

En este caso, contrariamente a lo que sucede en los porcentajes de las plántulas normales y anormales, la interacción entre los lotes y los tratamientos fue significativa ($p_{\text{value}}: 0,0524$)

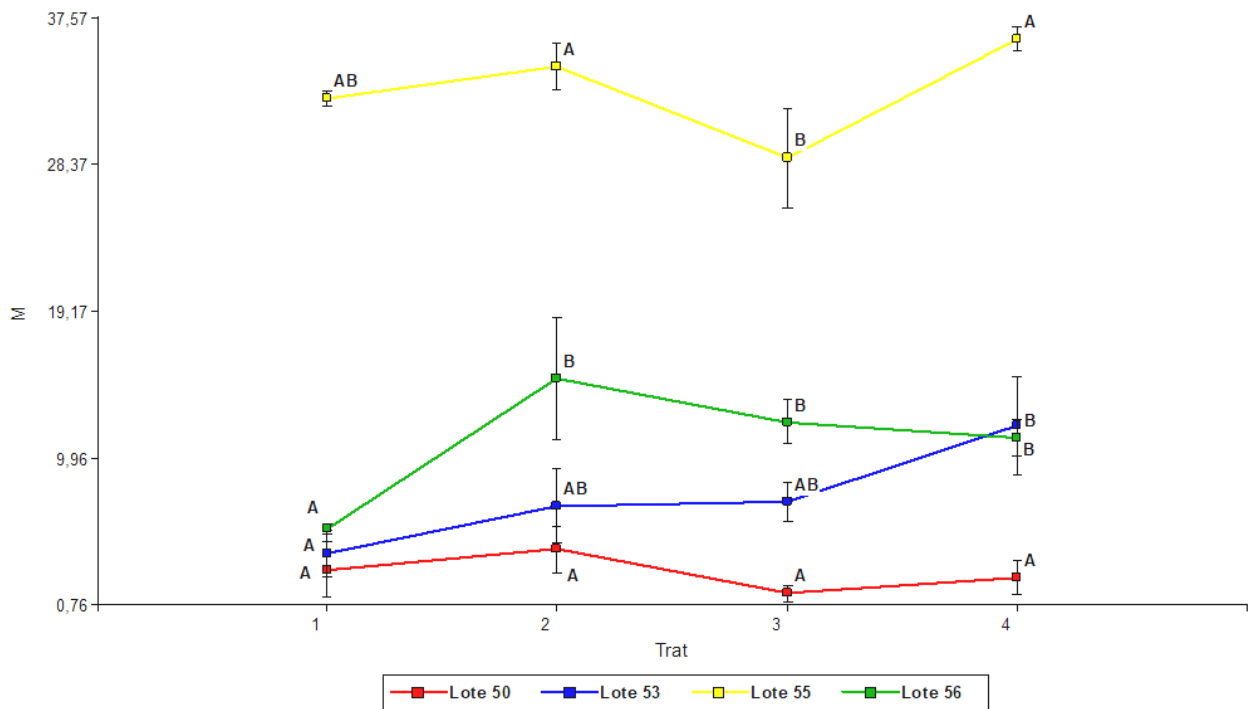


Figura 16: Porcentajes de semillas muertas promedio (M=PPM) correspondientes a cada lote según tratamiento. Para cada lote letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En el lote 50, que presentó los menores PSM, no hubo diferencia entre los tratamientos. En el lote 53 la diferencia se da entre el T1 y T4, los valores estuvieron comprendidos entre 4 y 12 % de SM. En el lote 56 el tratamiento T1 tuvo un valor de PSM significativamente menor que los otros. En el lote 55 el testigo no tuvo diferencias con los tratamientos de incrustado (Figura 16).

Discusión

La caracterización inicial de los lotes es un punto clave para poder comprender su comportamiento según los distintos tratamientos y las distintas condiciones a las que se sometieron.

La mayoría de los lotes presentaron valores de PG aceptables comprendidos entre 80 y 90%, Nocelli y Odorizzi (2016) determinaron valores de PG de 91% en un ensayo realizado en condiciones de campo. Los valores de PG obtenidos en este trabajo se corresponden a valores de CE bajos, lo que demuestra la integridad de las membranas y la buena calidad de las semillas. Algunos lotes presentaron valores de PG menores al 80% y sólo uno (lote 58) tuvo 62%. Estos valores por debajo del 80%, se corresponden a una elevada conductividad eléctrica y porcentajes de humedad altos, además tuvieron los mayores porcentajes de plántulas anormales y los menores porcentajes de semillas duras. En el caso del lote 58 su bajo valor de PG se relaciona al elevado porcentaje de semillas muertas en la prueba de germinación sobre papel y al porcentaje de humedad de las semillas superior al 9%, que explicaría este comportamiento.

En los lotes de mayor PG los valores entre 80 y 90% se corresponden a bajos porcentajes de semillas muertas y alto porcentaje de semillas duras. La conductividad en estos lotes fue desde 180 hasta 271 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

La prueba de conductividad, utilizada para evaluar el vigor de las semillas (ISTA, 2017), es un buen indicador del estado de las membranas, las cuales desempeñan un rol importante en la conservación y en la germinación de las semillas.

Los lotes presentaron variabilidad en origen genético y también en atributos de calidad fisiológica. Todos con buen grado de madurez expresada en el peso de las mil semillas comprendido entre 2.1 y 2.6 g que coinciden con el rango determinado por Lus (2013). El material evaluado en el trabajo, proveniente de cuatro criaderos diferentes, puede considerarse representativo de la calidad comercial de semilla de alfalfa.

Germinación luego de aplicar los tratamientos

En la prueba de germinación en laboratorio, con sustrato papel en rollos, se presentó interacción significativa para plántulas normales, anormales y semillas muertas entre lote y tratamiento de incrustado. Es por esto que los tratamientos de incrustado no manifiestan

efectos de incremento o disminución del número de plántulas normales y anormales, que siga una tendencia aplicable al conjunto de los lotes inmediatamente a la aplicación de los tratamientos. En cuanto a las semillas muertas tampoco se registró una clara tendencia en las respuestas. En el lote de inferior calidad inicial (PG inicial de 62% y PSM de 26,3) los tratamientos de incrustado redujeron la cantidad de semillas muertas respecto al testigo sin tratar. El efecto inmediato de los tratamientos en condiciones de laboratorio tuvo respuestas contradictorias, mientras en algunos incrementó el PPN en otros lo disminuyó.

Germinación en tierra

En la mayoría de los lotes, los tratamientos mostraron una respuesta positiva en cuanto al PPN marcando diferencias significativas con respecto a la semilla sin tratar (testigo T1). En estos casos la aplicación del tratamiento significó un aumento considerable en el porcentaje de plántulas normales obtenidas. Esto quiere decir que frente a un sustrato que contiene patógenos propios de un lote donde hubo una implantación de alfalfa y se asemeja a una situación real, los tratamientos de incrustado manifiestan un comportamiento favorable. La semilla que recibió tratamiento de incrustado tuvo una mejor germinación, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de incrustado T2, T3 y T4, por lo que no sería conveniente ni económicamente rentable exceder un 25% de incrustado. Lus (2013) recomienda no exceder el 50 % de agregado para evitar efectos no deseados. Mientras que Nocelli y Odorizzi (2016), al evaluar a campo los efectos de diferentes cantidades de agregado encontraron que un incremento por encima del 20 % afecta negativamente la cantidad de plantas de alfalfa logradas en la implantación. La existencia de interacción en la variable plántulas normales y semillas muertas indica que no se puede esperar una respuesta uniforme, independiente de la calidad de la semilla.

La exigencia de las condiciones experimentales de esta prueba, que son las que se asemejan a las condiciones normales de implantación, provocó mayores porcentajes de plántulas anormales y de semillas muertas, particularmente en la semilla sin tratar, comparado con la prueba de germinación estándar.

En ensayos a campo Nocelli y Odorizzi (2016) encontraron que incrementos de inerte superiores al 20% provocaron disminuciones de estand de plantas y de rendimiento de forraje.

Ensayos de vigor

a. Índice de vigor

El índice de vigor no respondió de la misma manera en los cuatro lotes evaluados, se registraron diferencias entre los lotes pero no entre los tratamientos de incrustado. No hay antecedentes de la utilización de este índice para medir el vigor de las semillas de alfalfa y los resultados de este trabajo no recomendarían su utilización con este propósito.

Por otra parte, con el intento de relacionar esta variable con una situación real de campo, se realizó un análisis de regresión simple entre este índice y el PPN en tierra, obteniéndose un R^2 igual a 0, lo que indica que estas variables no están correlacionadas.

b. Materia seca individual

El crecimiento y desarrollo de las plántulas se ve favorecido con los tratamientos de incrustado, es por esto que el porcentaje de materia seca de las plántulas se incrementó a medida que el porcentaje de incrustado también lo hacía. Esto indica que el tratamiento de incrustado de las semillas presenta una ventaja en estos ensayos sin aporte adicional de nutrientes. Sin embargo, en condiciones de campo, la disponibilidad de nutrientes existe y se podrían obtener otros resultados.

Germinación luego de un año de almacenamiento

En este ensayo solo se registró interacción entre lote y tratamiento para la variable porcentaje de semillas muertas. Cabe destacar que los lotes evaluados en esta prueba representan a cada uno de los cuadrantes del análisis de componentes principales. Por esta razón se considera importante analizar el comportamiento de cada uno de los lotes, porque cada uno representa una situación distinta.

El lote 53 cuya calidad inicial se caracterizó por elevado número de semillas duras (22%) y un PPN de 68, en esta prueba registró un incremento en el PPN llegando al 82%, con bajo PPA y las semillas muertas del testigo se incrementaron con el mayor peso del incrustado.

El comportamiento del lote 50 indicaría que la baja conductividad inicial ($186 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) estuvo asociada a su capacidad de almacenamiento, ya que presentó el mayor PPN con valores superiores a los registrados al inicio del ensayo. Esta respuesta positiva puede deberse a la caída en el porcentaje de semillas duras manteniendo el PPA y el PSM.

Luego de 11 meses de almacenamiento, en el lote 55 se observó que su PPN disminuyó un 25%, provocado por el incremento en el PSM y debido a que al inicio del ensayo presentó valores de humedad y CE elevados (8% y $250 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente). Esto indicaría que se trata de un lote de baja calidad inicial en el cual no sería indicado realizar tratamiento de incrustado.

En el lote 56, al igual que en el 55, el PPN disminuyó luego de 11 meses pero en menor magnitud (9% menos) comparado con el valor obtenido en la prueba de germinación inicial. A pesar de que el valor de CE en este lote fue elevado, es el porcentaje de humedad (6%) el responsable de que la semilla pueda conservarse en mejores condiciones y la disminución en el PPN no sea tan notoria como lo es en el lote 55.

Con relación a las semillas muertas se registró efecto significativo favorable de los tratamientos de incrustado sin diferencia entre ellos.

Después de 11 meses de almacenamiento de las semillas tratadas no se registran diferencias entre las dosis de agregado, confirmando que tratándose de una semilla de buena calidad sería suficiente un tratamiento de 25% de incrustado para mejorar el desempeño de la misma sin necesidad de incurrir en gastos mayores aplicando dosis más elevadas de inerte.

Conclusiones

Las conclusiones de este trabajo surgen de la evaluación de lotes de diferente calidad genética y fisiológica, en los cuales fueron evaluados tratamientos de incrustado con diferentes cantidades de agregado de material inerte.

Cuando los ensayos se realizan en condiciones de laboratorio, los tratamientos afectan la germinación de las semillas de manera diferente según el origen-estado de las semillas, pero no se observa un comportamiento que siga una tendencia definida.

En cambio cuando las condiciones en laboratorio se asemejan a una situación real de campo, aparece claramente el efecto favorable de los tratamientos, sin diferencias por

cantidad de inerte. Por lo tanto es suficiente un tratamiento de incrustado del 25% para lograr un buen desempeño de las semillas. Mayores incrementos de inerte serían recomendables para lograr mejores condiciones de siembra en lotes de semilla de bajo peso.

Después de almacenarse, en las semillas tratadas no se registran diferencias de germinación entre las dosis de agregado, sin embargo en lotes de baja calidad no se recomienda el tratamiento de incrustado. En este caso los tratamientos reducen el porcentaje de semillas muertas sin diferencias entre ellos

El crecimiento y desarrollo de las plántulas expresado como MS por plántula, se ve favorecido con los tratamientos de incrustado (vigor) cuando el ensayo se realiza sin aporte de nutrientes adicionales.

Perspectivas

Sería de interés realizar un análisis económico para evaluar las ventajas que aporta el tratamiento de incrustado de las semillas y así relacionar los costos producidos por incorporar esta tecnología con los incrementos en el precio de las semillas, para esclarecer a los productores sobre esta cuestión.

Además sería interesante realizar las mismas experiencias llevadas a cabo en este trabajo en condiciones de campo y luego relacionar los resultados obtenidos con las respuestas en laboratorio.

Medir las diferencias en la eficiencia de implantación, teniendo en cuenta el efecto de la relación peso-volumen de la semilla, es otro punto a considerar en un futuro.

Bibliografía

- Basigalup, D. H. (2007). El cultivo de la Alfalfa en Argentina. EEA INTA Manfredi. Ediciones INTA, capítulos 1 y 18.
- Basigalup, D. H. (2017). Alfalfa seed production in Argentina. 9th International Herbage Seed Conference. Pergamino, Argentina. October 31 to November 2.
- Black, M.; Bewley, J.D.; Halmer, P. (2006). The encyclopedia of seeds. Science, technology and uses. Ed. by Black M., Bewley J.D., Halmer P., CABI, Wallingford, UK, p 85; 485; 712-713. Cámara de Semilleristas de la Bolsa de Cereales (CSBC), (2016). Anuario 2015. p 27.
- Capalbo, M. R.; Solá, S. (2007). Técnica del pildorado: un plus para la semilla. <http://www.nuevoabc rural.com.ar/vertex.php?id=928> (Consultado 10 de Septiembre de 2017).
- Di Rienzo J.A.; Casanoves F.; Balzarini M.G.; Gonzalez L.; Tablada M.; Robledo C.W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Elgasim A. K.; Abusuwar A. O. (2011). Effect of sowing methods, seeding rates and cutting managements on seed yield of alfalfa (*Medicago sativa L.*). International Journal of Science and Nature. Vol 2(3): 570-574. ISSN 2229-6441.
- Gemell G.; McDonald W. (2017). Inoculating and pelleting pasture legume seed. Primefact 1537, 4th. april 2017, replace Agfact P2.2.7.
- Gonzalez S. (2013). Uso de curasemillas en Alfalfa. Reunión Técnica (La Estanzuela, Colonia, UY). El éxito productivo de una pastura con leguminosas perennes comienza en su implantación. La Estanzuela, INIA. Serie Actividades de Difusión no. 711
- Heritage Seeds, 2018. Advanced seed coating technology. Agricote. <https://www.heritage seeds.com.au/research-development/agronomic-advice/advanced-seed-coating-technology> (Consultado el 16 de Junio de 2018).
- Instituto Nacional de Semillas (INASE), (2012). Producción de semilla fiscalizada 2011-2012. <https://www.inase.gov.ar/images/stories/estadisticas/certificacion/2011-12.pdf> (Consultado el 23 de Julio de 2016)
- INTA, (2008). Una Buena implantación es clave. Área de Desarrollo Rural. EEA INTA Rafaela. www.produccion-animal.com.ar 2p (Consultado el 18 de diciembre de 2017)

- International Seed Testing Association (ISTA), (2015). International Rules for Seed Testing. Vol. 2015. . Published by The International Seed Testing Association (ISTA). Switzerland. ISSN 2310-3655.
- Justice, O. L.; Bass, L. N. (1978). Principles and practices of seed storage. Agriculture Handbook N° 506. USDA, Agriculture Research Service. 289p
- Lus, J. (2013). Impacto productivo del peso de 1000 semillas en Alfalfa. Gappnews, año 9, n°22. 6p
- Odorizzi, A.S.; Arolfo, V.; Basigalup, D.H. y Solá S. (2017). Efecto del porcentaje de pildorado sobre la implantación y productividad de alfalfa (*Medicago sativa* L.). Agriscientia 34: 71-7.
- Leep, R.; DeYoung, J. and Doo-Hong, M. (2008). Coated Alfalfa Seed, is it worth it? Department of Crop and Soil Sciences. Michigan State University. <https://forage.msu.edu/extension/coated-alfalfa-seed-is-it-worth-it/> (Consultado el 5 de Febrero de 2017)
- Nocelli, D. (2016). Efecto del incremento en el pildorado sobre la implantación y productividad de la alfalfa (*Medicago sativa* L.). https://inta.gov.ar/sites/default/files/tesina_damian_nocelli.pdf (Consultado el 17 de junio de 2018)
- Parera, F. (2011). Importancia técnica de la semilla de alfalfa peleteada. www.forrtec.com.ar/newsletter/forratec_newsletter_31_12_2011.html (Consultado el 5 de Mayo de 2016).
- Scott, J. (1989). Seed coatings and treatments and their effects on plant establishment. Department of Agronomy and Soil Science University of New England Armidale, New South Wales 2351, Australia.
- Scotti, C.; Gnocchi, G. (2004). Seed Size and Fertility Relationships of WI 643 Alfalfa Grown at Lodi, Italy.
- Talley, B. (2012). Status and new developments in seed coatings. <http://www.progressiveforage.com/forage-production/planting/status-and-new-developments-in-seed-coatings> (Consultado el 25 de Mayo de 2017).