

Influencia del estado de madurez a cosecha sobre la calidad de semillas de alfalfa (*Medicago sativa* L.)

RENZI, J.P.^{1,2}; LASA J.C.^{1,2}; CANTAMUTTO, M.A.²

RESUMEN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) recién cosechada presenta dormición física debida a la dureza de sus tegumentos que puede afectar la producción de forraje en el primer año de implantación. Aunque se conoce que la temperatura y la humedad durante la fructificación son factores exógenos asociados a la dureza, se desconoce el efecto del grado de madurez a cosecha sobre la calidad de las semillas de alfalfa. Se recolectaron vainas en diferentes estados de madurez al inicio y en el fin de la fructificación de lotes comerciales de multiplicación de semilla de alfalfa del Valle Bonaerense del Río Colorado (VBRC). Al finalizar la estación de crecimiento, se realizaron pruebas de calidad, incluyendo la dureza de semilla. La cosecha a partir de vainas amarillas produjo los mayores valores de poder germinativo (plántulas normales + semillas duras). La recolección en vainas verdes aumentó el porcentaje de semillas muertas y plántulas anormales. Se observaron altos valores de dureza asociados a la cosecha con vainas amarillas que bajaron con la recolección en el estado de vainas marrones. Las vainas marrones del tercio superior del canopeo originaron semillas más duras que la de los estratos inferiores, posiblemente porque estas últimas estuvieron expuestas a un mayor período con fluctuaciones ambientales que habrían acelerado la pérdida de la dureza por envejecimiento.

Palabras claves: dormición física, estados de madurez, *Fabaceae*.

ABSTRACT

Alfalfa (Medicago sativa L.) seed recently harvested have high physical dormancy (hard seeds), which can affect forage production in the first year of establishment. Although it is known that the temperature, air moisture and water stress are exogenous factors associated with the hard seed, there are few information about the effects of harvest maturity stages on germination and physical dormancy of alfalfa. The study was conducted on commercial lots of alfalfa seed multiplication of the Colorado River Valley Bonaerense (VBRC). The pods were hand harvested at different maturity stages at the beginning and end of the fructification period. At the end of the growing season, seed were evaluated for germination and dormancy. The yellow pods stage harvest yields seeds with the highest germination (normal seedlings + hard seeds). Seeds obtained with the harvest of green pods showed a high proportion of mortality and abnormal seedlings. The harvest at yellow pods stage produced the higher physical dormancy, which decreased at the brown pods stage. The seed from brown pods of the upper canopy layer showed higher physical dormancy than the lower canopy layer. It could be addressed to a longer period exposition to environmental fluctuations that would have accelerated the lost of dormancy due by aging.

Keywords: physical dormancy, stage of development, *Fabaceae*.

1 Estación Experimental Agropecuaria Hilario Ascasubi, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, (8142) H. Ascasubi-Argentina. Correo electrónico: jrenzi@correo.inta.gov.ar

2 Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, (8000) Bahía Blanca - Argentina.

Recibido 11 de noviembre de 2010 // Aceptado 26 de agosto de 2011 // Publicado online 05 de octubre de 2011

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es el principal recurso forrajero de la Argentina (Basigalup *et al.*, 2007). En la Argentina, el Valle Bonaerense del Río Colorado (VBRC) se ha convertido en una región especializada en la producción de su semilla y abastece el 70% del mercado nacional (Moschetti *et al.*, 2008). Al igual que en la mayoría de las regiones productoras, una de las principales limitaciones que enfrenta este cultivo es el elevado grado de dormición física de semilla que, en casos extremos, puede inhibir completamente la germinación (Galussi, 2007). Aunque agrónomicamente podría aceptarse hasta un 40% de semillas duras (Bass *et al.*, 1988; Undersander, 1996), la dureza de la semilla es un problema que afecta las relaciones comerciales dentro del sector. Por ello, resulta imperioso profundizar el conocimiento de su origen y, así, desarrollar técnicas de cultivo y cosecha que minimicen el defecto.

La dureza e impermeabilidad del tegumento limitan la imbibición del agua y de esa forma se demora la germinación. En las partidas frescas, recientemente cosechadas, la mayoría de las semillas duras están vivas (Galussi, 2007). Cuando la siembra no se realiza inmediatamente luego de la cosecha, la dureza no es tan importante debido a que se pierde gradualmente durante el envejecimiento de la semilla. Sin embargo, este cambio benéfico no ocurre siempre del mismo modo ya que depende del genotipo, permeabilidad inicial del tegumento y condiciones de almacenamiento (Bingham y Kojis, 1995; Acharya *et al.*, 1998; Galussi, 2007).

La dureza física se genera durante el desarrollo de la semilla en la planta madre (Bass *et al.*, 1988). La temperatura, humedad ambiental y eventos de sequía durante la fructificación son factores exógenos que pueden afectar la dureza (Acharya *et al.*, 1998; Shock *et al.*, 2007), aunque también existen componentes genéticos (Bingham y Kojis, 1995). La temperatura del canopeo durante el llenado de las semillas ha mostrado efectos contradictorios sobre la dormición física. Mientras Acharya *et al.* (1998) y Cupic *et al.* (2005) observaron que con el incremento de la temperatura durante la fructificación disminuyó la dureza. Bass *et al.* (1988) y Galussi (2007) hallaron un efecto opuesto. El estrés hídrico tampoco tiene un efecto consistente sobre la dormición física (Abu-Shakra *et al.*, 1969; Shock *et al.*, 2007).

La alfalfa es una leguminosa forrajera cuyas plantas adultas producen una corona basal de la que emergen 8-12 tallos que pueden alcanzar una altura superior al medio metro (Annicchiarico, 2006). La floración y fructificación que ocurre a partir de las yemas localizadas en las axilas de las hojas, es gradual y generalmente indeterminado, y el ápice continúa diferenciando órganos tanto vegetativos como reproductivos (Rodríguez, 2007). En los cultivos para semilla se observa que su llenado ocurre en forma gradual durante el

período de mayor crecimiento del cultivo durante la floración. Esta situación determina que existan diferentes capas de semillas formadas bajo condiciones ambientales diferentes, de acuerdo a la posición del canopeo en la que se generó el fruto (Teuber y Brick, 1988).

En *Vicia villosa* Roth., que es otra leguminosa forrajera pero de ciclo invernal, hemos observado que la dormición física aumenta con el atraso de la cosecha (Renzi y Cantamutto, 2009). Ello podría deberse a que la vicia concentra la fructificación a partir del cese del período con heladas y los primeros frutos crecen durante la primera etapa de la primavera, con temperaturas frescas. No se conoce la dinámica de la generación de la dureza en la alfalfa ni su relación con la posición del fruto en el canopeo. Si la alfalfa respondiera igual que la vicia, una técnica sencilla para disminuir la dureza sería el adelanto de la cosecha. Los objetivos de este trabajo fueron estudiar el efecto del grado de madurez a cosecha y la posición de las vainas en diferentes estratos del canopeo sobre la dormición física de semilla de alfalfa.

MATERIALES Y MÉTODOS

En seis lotes de producción comercial de semilla de alfalfa del VBRC, cultivar Monarca INTA, grupo 8, (39°52'S 62°39'O, 39°47'S 62°23'O, 39°20'S 62°45'O y 39°23'S 62°23'O) se muestrearon vainas (n=500) con diferentes grados de madurez establecidos de acuerdo al criterio visual indicado en la Imagen 1 (Renzi y Cantamutto, 2007); verde, amarilla y marrón. En cada lote se estimó la contribución relativa de cada estado de madurez (fig. 1). En cada muestreo, realizados en el estado inicial (2 de febrero de 2010) y final (2 de marzo de 2010) de la fructificación, se determinó la biomasa por semilla, utilizando una muestra (n=100) obtenida por trilla manual de las vainas (n=4). En el muestreo final de uno de los lotes se seleccionaron plantas (n=20) con la totalidad de sus vainas en el estado marrón. En este caso las vainas se agruparon en tres estratos, considerando la altura total de la planta: superior (tercio superior), medio (tercio medio) y basal (tercio basal). Una semana luego de finalizada la fructificación (10 de marzo de 2010), se realizó la prueba de germinación. Se utilizaron cajas de Petri, sustrato de papel, con el sistema "between paper", colocando 100 semillas por repetición (n=4). A los 14 días se realizó el conteo de plántulas normales, anormales, semillas duras, frescas no germinadas y muertas, para el cálculo del porcentaje de germinación (PG) (ISTA, 2004). Se consideraron, plántulas normales, las que presentaron un buen estado de sus órganos esenciales para su posterior crecimiento. Plántulas anormales, aquellas con una o más de sus estructuras esenciales defectuosas o ausentes. Semillas duras, fueron las que, al finalizar el ensayo de germinación, no se habían hidratado debido a la impermeabilidad

del tegumento. Semillas frescas no germinadas, fueron aquellas que absorbieron agua y se hincharon, pero no germinaron ni entraron en estado de putrefacción. Semillas muertas, se consideraron las que se desintegraron al ser presionadas al término del período del ensayo (ISTA, 2004).

Se realizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) de los parámetros de calidad de semilla y estado de madurez de las vainas. Los parámetros de las vainas se analizaron mediante ANOVA. Antes del procesamiento estadístico los valores de porcentuales fueron transformados a arco-seno de la raíz cuadrada. Las medias se compararon mediante LSD ($p < 0,05$) utilizándose INFOSTAT (2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El manejo del cultivo y las condiciones ambientales durante la maduración pueden afectar la dureza de la semilla de alfalfa (Bingham y Kojis, 1995; Acharya *et al.*, 1998,

Shock *et al.*, 2007). Bajo las condiciones de estudio la contribución relativa de las vainas verdes sobre el total de órganos fructíferos fue del $51,8 \pm 26,2\%$ al comenzar la fructificación y se redujo al $5,0 \pm 2,0\%$ al finalizar ese período. En este último estado, la proporción de vainas marrones superó el 80% para todos los lotes relevados (fig. 1).

La proporción de plántulas normales y semillas duras para cada estado de madurez a cosecha difirió entre lotes (tab. 1), mientras que la proporción de plántulas anormales, semillas muertas, frescas y la biomasa por semilla no lo hizo. Independientemente del sitio, en el VBRC la cosecha en el estado de vaina amarilla produjo los mayores valores de plántulas normales más semillas duras. Este hallazgo permitiría recomendar el estado de vainas amarillas para el comienzo de la cosecha, utilizando métodos que aceleren la maduración, como desecantes foliares (Moschetti *et al.*, 2008).

El estado de madurez a cosecha afectó la calidad de semilla de alfalfa (fig. 2). El llenado de las semillas se asoció con el grado de maduración de las vainas. El mejor llenado



Imagen 1. Estados de madurez de las vainas de alfalfa a cosecha.

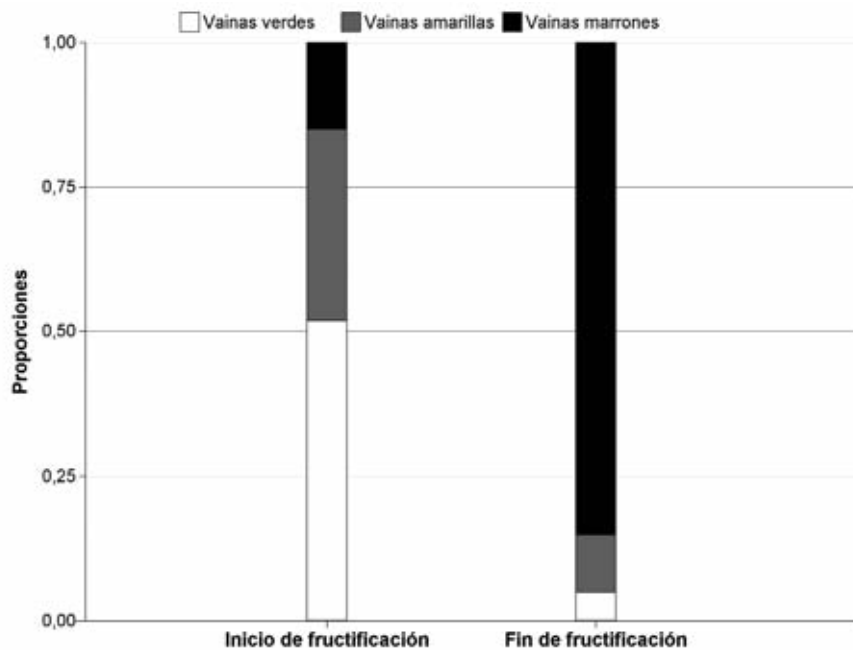


Figura 1. Proporción de vainas por estado de madurez en los dos momentos de cosecha evaluados.

Lotes de multiplicación	Estado de madurez de las vainas					
	verde		amarilla		marrón	
	N	D	N	D	N	D
A	25,5 ^c	33,0 ^b	44,0 ^a	55,5 ^a	75,5 ^c	24,0 ^a
B	5,5 ^{ab}	29,0 ^b	sd	sd	72,5 ^c	27,0 ^a
C	3,0 ^a	31,0 ^b	13,0 ^a	73,0 ^b	27,0 ^a	70,5 ^c
D	6,0 ^{ab}	45,5 ^c	23,5 ^b	71,0 ^b	71,0 ^c	28,5 ^a
E	10,5 ^{ab}	0,0 ^a	sd	sd	48,0 ^b	50,0 ^b
F	13,5 ^b	0,5 ^a	sd	sd	40,0 ^b	56,5 ^b
LSD	10,0	8,5	8,1	12,8	9,8	10,0

Tabla 1. Plántulas normales (N) y semillas duras (D) para cada estado de madurez de vaina en los lotes muestreados. Valores promedio de dos cosechas (inicio y fin de fructificación). Para cada estado de madurez letras distintas difieren significativamente ($p < 0,05$).

se tuvo en las vainas marrones, cuyas semillas pesaron $2,65 \pm 0,20$ mg, mientras que las obtenidas con vainas amarillas o verdes lograron menos del 80% de ese valor. Las semillas procedentes de vainas verdes presentaron elevada mortalidad (44,6%) y elevada proporción de plántulas anormales (24%). Ambos defectos disminuyeron a niveles despreciables ($< 2\%$) en el caso de las vainas amarillas y marrones. No hubo diferencias entre los tres estados de

madurez para el porcentaje de semillas frescas, siendo en todos los casos menor al 0,5% (fig. 3.a).

La dormición física aumentó significativamente ($p < 0,001$) con el avance de la maduración. Al pasar del estado vaina verde a vaina amarilla aumentó la proporción de semillas duras, de 23,3 a 66,5% (fig. 3.a). Al alcanzar el estado de vainas marrones, se produjo una moderada caída de la du-

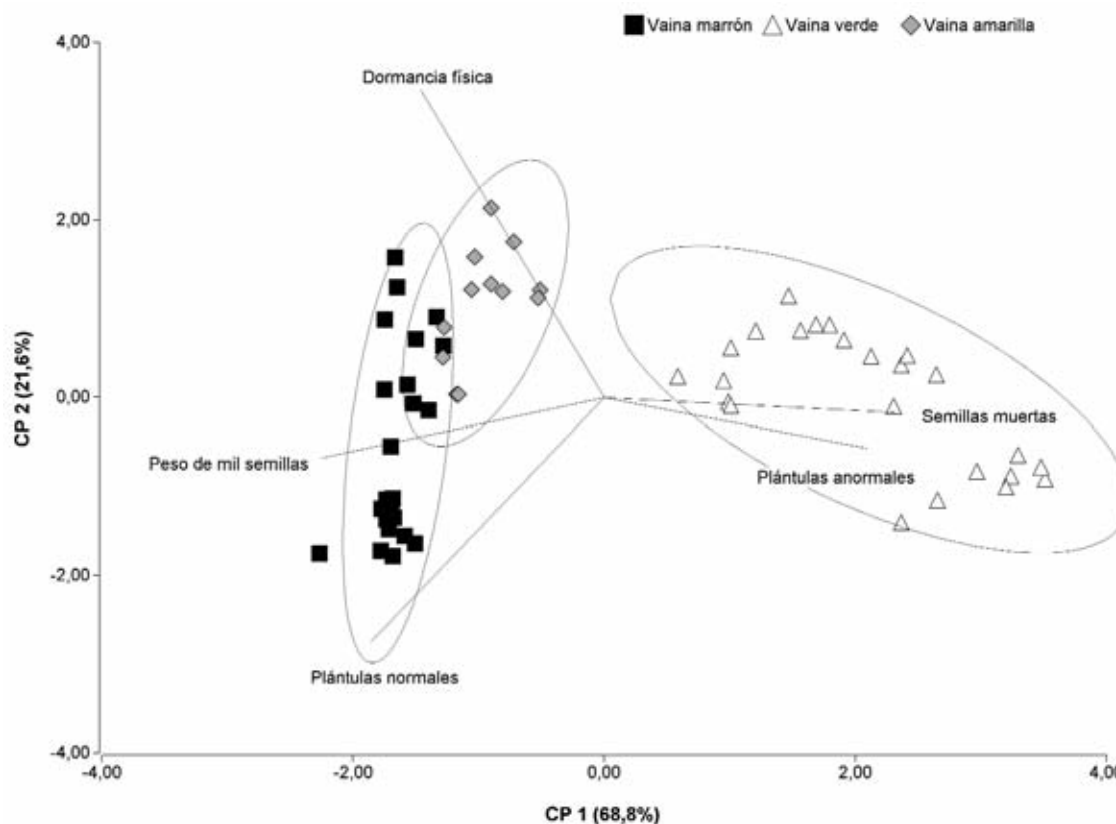


Figura 2. Efecto del grado de madurez a cosecha sobre la calidad de la semilla de alfalfa. Se muestran los dos primeros componentes (CP) del análisis de componentes principales.

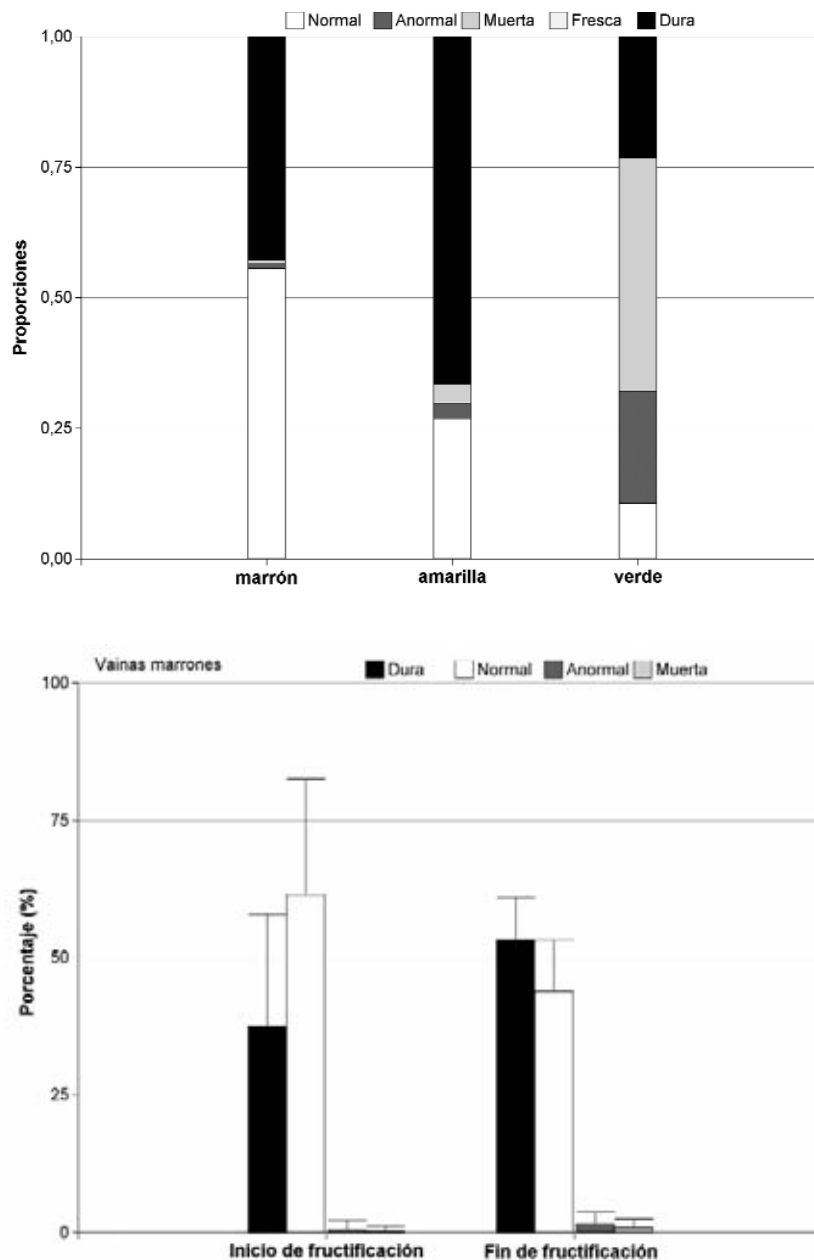


Figura 3. Calidad de semilla de alfalfa obtenida de vainas de tres diferentes grados de maduración en el inicio de la fructificación: verde, amarilla y marrón (a). Calidad de semilla proveniente de vainas marrones cosechadas al inicio y al final del periodo de fructificación del cultivo (b).

reza, que disminuyó a 42,8%. Estos resultados se contraponen con los hallados en *Vicia villosa* Roth., en la cual la dureza de la semilla aumentó con la maduración (Renzi y Cantamutto, 2009). Posiblemente la cosecha mecánica disminuiría la dormición física, debido a la abrasión y las fisuras ocasionadas al tegumento aumentarían su permeabilidad (Bass *et al.*, 1988).

La proporción de plántulas normales aumentó con la maduración y se maximizó en el estado de vaina marrón, cuando alcanzó el 55,7% (fig. 3.a). No se observaron diferencias en el porcentaje de semillas duras para los dos momentos de cosecha (fig. 3.b). Considerando conjuntamente

semillas duras y plántulas normales, no se observaron diferencias entre el estado de vaina amarilla (93,3%) y vaina marrón (98,4%). Sin embargo, las semillas obtenidas con la cosecha en el estado de vaina verde germinaron sólo en un 33,8% de los casos (fig. 3.a).

En el caso de la cosecha en el estado de vaina marrón, se observó que la proporción de semillas duras del estrato superior de la planta fue significativamente superior al de los otros estratos (fig. 4). Una tendencia similar pero en el sentido opuesto se observó en el porcentaje de plántulas normales, que fue significativamente menor en la semilla obtenida en el estrato superior de las vainas marrones.

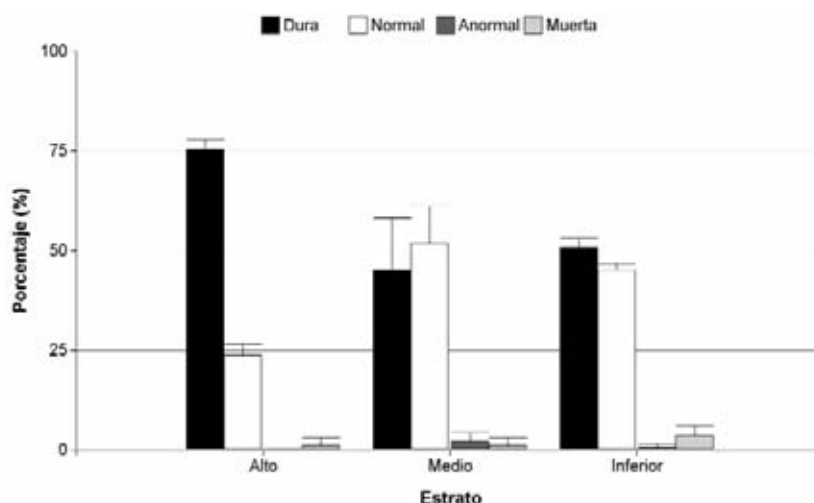


Figura 4. Calidad de la semilla obtenida de vainas marrones localizadas en el tercio superior (arriba), medio e inferior (abajo) de las plantas de alfalfa.

Aunque otros autores han hallado que las condiciones ambientales durante la formación de la semilla inciden sobre el porcentaje de semillas duras (Baskin y Baskin, 1998; Cupic *et al.*, 2005; Shock *et al.*, 2007), en nuestro estudio las vainas marrones produjeron un grado de dureza que no difirió en los dos períodos de cosecha. Sin embargo, las vainas marrones produjeron diferente grado de dureza de acuerdo a la posición de la vaina en la planta. Bass *et al.* (1988) menciona a la temperatura como el principal factor que influye sobre la dormición física en semillas de alfalfa inmediatamente después de la maduración. Probablemente las semillas de los dos estratos inferiores del canopeo se formaron antes que la del estrato superior y habrían estado expuestas a temperaturas elevadas y contrastantes que produjeron un envejecimiento de la semilla en la planta (Hall *et al.*, 1997; Acharya *et al.*, 1998) antes de la cosecha. El envejecimiento causado por las alternancias de temperaturas habría aumentado la permeabilidad del tegumento, lo que no habría ocurrido en las semillas del estrato superior formadas al final de la fructificación y sometidas a un menor tiempo de exposición a las fluctuaciones de temperatura.

CONCLUSIONES

Para las condiciones del VBRC se observó que la cosecha a partir del estado de vaina amarilla maximizó el poder germinativo de las semillas considerando los valores de plántulas normales + semillas duras. La cosecha anticipada, en el estado de vaina verde, produjo un elevado porcentaje de semillas muertas y plántulas anormales. Se observaron altos valores de dureza asociados a la cosecha con vainas amarillas y una disminución de la dureza con cosecha en el estado de vainas marrones. Se observó un gradiente de dureza de la semilla de las vainas marrones que estuvo asociado a la ubicación dentro de la planta. La dureza fue mayor en la semilla formada en las vainas marrones ubica-

das en el tercio superior de los tallos. Posiblemente ello fue debido a que esas vainas estuvieron expuestas a una menor alternancia a variables climáticas, debido a que se originaron en las flores cuajadas al final de la floración.

En alfalfa, la decisión del estado óptimo para cosechar la semilla es un aspecto crucial y difícil de determinar debido al patrón de madurez indeterminado y dehiscencia de las vainas por sobremaduración. La cosecha mecánica, cuando predomina el estado de vainas con color amarillo, disminuiría el riesgo de pérdidas por dehiscencia sin afectar los valores de germinación (plántulas normales + semillas duras). No obstante, si el objetivo fuera realizar una inmediata comercialización de la semilla con bajo nivel de dormición física, sería recomendable cosechar cuando la totalidad de las vainas se encuentren completamente maduras, en el estado de color marrón oscuro.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto PE-AEFP-261831 por el apoyo financiero para la realización de este estudio. Al Ing. Agr. Carlos Coito por permitirnos el ingreso a los lotes de multiplicación de semilla de alfalfa.

BIBLIOGRAFÍA

- ABU-SHAKRA, S.; AKHTAR, M.; BRAY, D.W. 1969. Influence of irrigation interval and plant density on alfalfa seed production. *Agronomy Journal* 61:569-571.
- ACHARYA, S.N.; STOUT, D.G.; BROOKE, B.; THOMPSON, D. 1998. Cultivar and storage effects on germination and hard seed content of alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science* 79:201-208.
- ANNICCHIARICO, P. 2006. Diversity, genetic structure, distinctness and agronomic value of Italian lucerne (*Medicago sativa* L.) landraces. *Euphytica* 148:269-282.

- BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. 1998. Causes of within-species variations in seed dormancy and germination characteristics. Pages 181-237 in C.C. BASKIN and J.J. BASKIN eds. *Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego: Academic Press.
- BASIGALUP, D.H., ROSSANIGO, R. 2007. Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. pag 13-25 en D.H. BASIGALUP ed. *El cultivo de Alfalfa en la Argentina*. Ediciones INTA. 479p.
- BASS, L. N.; GUNN, C. R.; HESTERMAN, O. B.; ROOS, E. E. 1988. Seed physiology, seedling performance and seed sprouting. Pages 961-983 in A. A. HANSON *et al.*, eds. *Alfalfa and alfalfa improvement*. Agronomy Monograph N.º. 29. ASA Inc., Madison, WI.
- BINGHAN, E.T.; KOJIS, W.P. 1995. Can Hard Seeds in Alfalfa be Genetically Scarified?. Report to the American Seed Research Foundation 29:1-17.
- CUPIC, T.; POPOVIC, S.; GRLJUSIC, S.; TUCAK, M.; ANDRIC, L.; SIMIC, B. 2005. Effect of storage time on alfalfa seed quality. *Journal Central European Agriculture* 6:65-68.
- GALUSSI, A. 2007. Cuestiones sobre semillas duras de leguminosas forrajeras. *Análisis de semillas* 1:40-43.
- HALL, J.W.; STOUT, D.G.; BROOKE, B.M. 1997. Alfalfa seed germination tests and stand establishment: The role of hard (water impermeable) seed. *Canadian Journal of Plant Science* 78:295-300.
- INFOSTAT. 2010. Grupo Infostat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. *International Rules for Seed Testing*. ISTA, Zürich, 335 pp.
- MOSCHETTI, J.C., ECHEVERRÍA, E., MARTÍNEZ, E., AVA-LOS, M. 2008. Producción de semilla de alfalfa en la Argentina. Ediciones INTA. 58p.
- RENZI, J.P.; CANTAMUTTO, M.A. 2007. Influencia del estado de madurez a cosecha sobre la calidad de semillas de *Vicia villosa* Roth. y *V. sativa* L. *Análisis de semillas* 3:97-101.
- RENZI, J.P.; CANTAMUTTO, M.A. 2009. Dormancia y germinación en semillas de *Vicia villosa* Roth. *Análisis de semillas* 9:84-89.
- RODRIGUEZ, N.E. 2007. Morfología de la alfalfa. pag 27-44 en D.H. BASIGALUP ed. *El cultivo de Alfalfa en la Argentina*. Ediciones INTA. 479p.
- SHOCK, C.C.; FEIBERT, E.B.G.; SAUNDERS, L.D.; KLAUZER, J. 2007. Deficit Irrigation for Optimum Alfalfa Seed Yield and Quality. *Agronomy Journal* 99:992-998.
- TEUBER, L.R., BRICK, M.A. 1988. Morphology and Anatomy. Pages 125-162 in A. A. HANSON *et al.*, eds. *Alfalfa and alfalfa improvement*. Agronomy Monograph No. 29. ASA Inc., Madison, WI.
- UNDERSANDER, D., ALBRECHT, K., DEGENHART, N., MOUTREY, J., MCCASLIN, M. 2001. Hard Seed in Alfalfa. Extension-University of Wisconsin. (<http://www.uwex.edu/ces/forage/pubs/hardsd.htm>, verificado: 25 de agosto de 2010).