REGENERACIÓN DE PASTIZALES NATURALES POR GERMINACIÓN DE SEMILLAS: CONTROL DEL ESTADO DE DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS POR EL CONTENIDO HÍDRICO DEL SUELO

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE

DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

DOCTORANDO: FEDERICO PEDRO O. MOLLARD
DIRECTOR: RODOLFO A. SÁNCHEZ
CONSEJERA DE ESTUDIOS: MARTA COLLANTES

Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura
(IFEVA-FAUBA-CONICET)

Buenos Aires, Abril de 2007

REGENERACIÓN DE PASTIZALES NATURALES POR GERMINACIÓN DE SEMILLAS: CONTROL DEL ESTADO DE DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS POR EL CONTENIDO HÍDRICO DEL SUELO.

Nombre de los Jurados	Firma	Calificación
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....

REGENERACIÓN DE PASTIZALES NATURALES POR GERMINACIÓN DE SEMILLAS: CONTROL DEL ESTADO DE DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS POR EL CONTENIDO HÍDRICO DEL SUELO.

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue estudiar el efecto del contenido hídrico del suelo sobre la dormición de las semillas de algunas especies de los Pastizales Pampeanos. Se demostró que los distintos niveles de disponibilidad de agua afectaron de manera distinta la dormición de las semillas de *Bromus catharticus* y el rango de condiciones en los cuales pueden germinar. Las semillas que posmaduraron en seco adquirieron la capacidad de germinar en oscuridad o bajo luz filtrada por la vegetación. En cambio, las semillas que permanecieron hidratadas germinaron sólo bajo luz que indica la presencia de claros en la vegetación. En esta tesis también se demostró que las inundaciones afectaron el nivel de dormición de semillas de *Setaria parviflora* provenientes de un pastizal inundable. En particular, la inundación les indujo dormición secundaria y les promovió requerimientos de alternancia de temperaturas para germinar. Se observaron diferencias en la respuesta germinativa a la inundación entre poblaciones de semillas de *S. parviflora* provenientes de diferentes hábitats. Las semillas provenientes de pastizales serranos y de pastizales originados de sucesiones postagrícolas se despertaron

luego de permanecer un tiempo inundadas y no mostraron requerimientos específicos para terminar la dormición. En cambio, las semillas de los pastizales inundables, luego de haber permanecido inundadas, requieren nitratos en combinación con luz o temperaturas alternadas para germinar.

Los resultados de esta tesis ayudarán a comprender y predecir el período y las condiciones en las cuales se reclutan nuevos individuos en comunidades del pastizal, en especial en relación con los dos tipos de disturbios abióticos que ocurren en los Pastizales Pampeanos: sequías en verano e inundaciones inverno-primaverales.

Palabras clave: semillas, germinación, dormición de semillas, pastizales, inundación, sequía, Argentina.

THE REGENERATION OF GRASSLAND COMMUNITIES BY SEED GERMINATION. THE EFFECT OF WATER SOIL CONDITIONS OVER SEEDS DORMANCY LEVEL

ABSTRACT

The objective of this thesis was to study the effect of water soil content over seed dormancy of Pampa Grasslands species. Results demonstrated that different levels of water availability affected in distinct ways both dormancy of *Bromus catharticus* seeds and the range of conditions in which they can germinate. After-ripened seeds were able to germinate in darkness and under canopy filtered light. However, hydrated seeds only germinated in response to light related to canopy gaps. In addition, this thesis demonstrated that flooding affected dormancy level of *Setaria parviflora* seeds harvested in a temporary wetland grassland. Particularly, flooding induced secondary dormancy and imposed fluctuating temperatures requirements to germinate. It were shown differences in germination behavior between *S. parviflora* seed populations harvested in distinct habitats. Seeds from mountain grasslands and old fields lost dormancy under water and did not have specific requirements to germinate. On the other hand, seeds from flooding grasslands, after floods, required nitrate in combination with light or fluctuating temperatures for reach the maximum germination, both responses related to unflooded soil proprieties. Results of this thesis will help to understand the timing and conditions in which new individuals recruit in grassland communities.

Key Words: seed, germination, seed dormancy, grasslands, flooding, drought, Argentina.

Agradecimientos

A Rodolfo y Pedro por el apoyo y la posibilidad que me dieron de trabajar con ellos.
Al grupo Salado (Gustavo y Agustín) por sobrados motivos.
A Marta Collantes por que siempre atendió mis pedidos con mucha amabilidad.
A Rolando por su constante ayuda.
A mis compañeros de Sachs (Miriam, Pedro, Mirta, Carlos, Pablo y José), por su generosidad.
A Ceci y mi familia, por la comprensión y el apoyo.
Al IFEVA (Rafael, Juanca, Walter, Roberto, Javier, Santiago, Pedro, Guillermina y muchos más...)
Al CONICET.
Y, además, a Dios.

ACLARACIÓN

Una parte de los resultados de esta tesis han sido publicados en:

-**Mollard F,** Insausti P y R Sánchez. 2007. Flooding induces secondary dormancy in *Setaria parviflora* seeds. ***Seed Science Research*** 17: 55-62.

ÍNDICE

Resumen..... I

Abstract..... III

Agradecimientos..... IV

Aclaración..... V

Capítulo 1 Introducción General..... 1

1.1 Importancia de la germinación de semillas en la regeneración de la vegetación de los pastizales..... 2

1.2 Los factores ambientales y la dormición de las semillas..... 4

1.2.1 La atenuación de la dormición..... 5

1.2.2 Terminación de la dormición..... 8

1.3 Variabilidad intraespecífica en la dormición de las semillas..... 15

1.4 Los pastizales pampeanos..... 17

1.5 Antecedentes inmediatos del tema de tesis..... 20

1.6 Objetivos e hipótesis de trabajo..... 21

Capítulo 2 La disponibilidad de agua afecta a la dormición de las semillas de *Bromus catharticus*..... 23

Capítulo 3 Las inundaciones inducen dormición secundaria en las semillas de *Setaria parviflora*..... 43

Capítulo 4 Variabilidad intraespecífica en la dormición de las semillas de *Setaria parviflora*. Comportamiento germinativo de semillas provenientes de pastizales serranos, sucesiones postagrícolas y pastizales inundables..... 55

Discusión general..... 87

Bibliografía..... 98

Anexos..... 116

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Importancia de la germinación de las semillas en la regeneración de la vegetación de los pastizales

Actualmente es necesario comprender el aporte que tiene el reclutamiento de plántulas en el establecimiento de la estructura y dinámica de las comunidades vegetales para poder modelar y predecir los procesos de regeneración de la vegetación (Grime y Hillier, 1992). Este objetivo se hace particularmente importante para la recuperación de pastizales sometidos a diferentes niveles de degradación debido al uso de la tierra y al impacto del cambio climático global (Isselstein et al., 2002; Kleijn, 2003).

Las poblaciones vegetales pueden tener diferentes estrategias reproductivas. El éxito de un tipo de estrategia reproductiva en una comunidad está, en buena medida, asociado a la predictibilidad de los disturbios en el espacio y el tiempo (White y Pickett, 1985; Loucks et al., 1985; Grime y Hillier, 1992). La dinámica de los disturbios propios de cada comunidad selecciona a individuos que poseen un conjunto de rasgos que otorgan tolerancia al estrés o, más comúnmente, la capacidad de evitarlo a través de diferentes estrategias (Grime y Hillier, 1992). Una de estas estrategias es la facultad de pasar los momentos más adversos para la supervivencia en el estado de semillas, las cuales tienen mayor capacidad que las plantas de tolerar los factores del estrés del ambiente (Bewley y Black, 1994; Baskin y Baskin, 1998).

La presencia de un banco de semillas en el suelo permite la recuperación de las poblaciones de plantas adultas luego de un disturbio que afecta la vegetación

establecida (Grime, 1989). Diversas especies pueden acumular grandes números de semillas vivas en el suelo de modo permanente, en cambio, otras especies, presentan bancos de semillas transitorios más o menos importantes (Thompson y Grime, 1979). La capacidad de formar un banco de semillas más o menos permanente depende de una suma de factores como el número de semillas producidas, la forma y el tamaño de las semillas que facilita la entrada al suelo, la resistencia contra el ataque de los microrganismos, la evitación de la predación y mecanismos como la dormición que evitan la germinación en condiciones poco favorables para el establecimiento de las plántulas (Pons, 1991). Con respecto a esto, la transición de una semilla, que es tolerante a situaciones extremas en su ambiente, a una plántula que es extremadamente vulnerable a las mismas, es un momento de alto riesgo en el ciclo de vida de las plantas (Meyer et al., 1997; Lambers et al., 1998).

La regeneración y propagación de plantas en los pastizales involucra a la reproducción por órganos vegetativos (estolones, macollos) y a la germinación de las semillas (Bullock et al.,1995). Sin embargo, los pastizales son ambientes muy hostiles para el establecimiento de las plántulas ya que ocurren fuertes interacciones competitivas asimétricas con los adultos establecidos (Aguilera y Lauenroth, 1993). Así, los sitios con el canopeo muy cerrado tienden a ser muy resistentes a la colonización por plántulas (Grubb, 1977; Denslow, 1987; Bullock et al.,1995; Milbau et al. 2003). En pastizales con canopeo cerrado, pero que son afectados recurrentemente por disturbios, se generan claros donde adquieren importancia las estrategias de propagación reproductiva. Estos claros son sitios en la comunidad

vegetal en los cuales pueden llegar a establecerse nuevos individuos (Grime, 1979; Grubb, 1977; Tilman, 1982, Bullock, 2000). En los claros de la vegetación suelen presentarse recursos vacantes y condiciones predisponentes para la germinación de semillas e instalación de plántulas (Grubb, 1977); estas condiciones son las que determinarían el "sitio seguro" para germinar (Harper et al., 1965). La apertura de claros en la vegetación viene acompañada por modificaciones en las condiciones microambientales como cambios en la cantidad y calidad de luz (Fenner, 1985; Insausti et al., 1995; Casal y Sánchez, 1998), aumentos en la fluctuación diaria de las temperaturas (Thompson et al., 1977; Benech-Arnold et al., 2000) y aumentos de la disponibilidad de nitratos (Pons, 1989). Estos cambios actúan como señales que indican a las semillas el "sitio seguro" para germinar.

1.2 Los factores ambientales y la dormición de semillas

La dormición se puede definir como la imposibilidad de germinar por factores internos que tiene una semilla viable en condiciones adecuadas de humedad, de temperatura y del ambiente gaseoso (Benech-Arnold et al., 2000; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Es frecuente que las semillas, en el momento de la dispersión, tengan un nivel de dormición suficientemente alto como para no responder a los estímulos que inducen la germinación (Bewley y Black, 1994; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). En climas templados, la mayoría de las semillas se dispersan al final de la estación de crecimiento de las plantas que las producen. En estas circunstancias, la dormición juega un papel fundamental en la

supervivencia de los individuos posponiendo la emergencia de las plántulas hasta el momento en que las condiciones ambientales sean favorables para su desarrollo.

El estado de dormición restringe la gama de condiciones ambientales que permiten la germinación, de manera que, a medida que la dormición se pierde, las semillas van adquiriendo la capacidad de germinar en un rango cada vez más amplio de situaciones previamente no inductivas (Benech-Arnold et al., 2000; Fig. I.1). Esta pérdida gradual de la dormición depende de varios factores ambientales como el contenido de humedad, la temperatura y el ambiente gaseoso que rodea a las semillas (Bewley y Black, 1994; Benech-Arnold et al., 2000). Si bien muchas semillas pueden perder completa y permanentemente la dormición, en otras la dormición puede ser reimpuesta bajo condiciones subóptimas o supraóptimas de temperatura, humedad o disponibilidad de oxígeno (dormición secundaria, Hilhorst, 1998; Benech-Arnold et al., 2000; Fig. I.1). En estos casos, las poblaciones de semillas pueden exhibir un patrón cíclico de dormición (Karssen, 1982; Baskin y Baskin, 1986). En consecuencia, en respuesta a cambios ambientales estacionales, distintas fracciones de las poblaciones de semillas del banco del suelo pueden entrar y salir de la dormición durante el año (Baskin y Baskin, 1989; Thanos et al., 1989; Pons, 1984, 1991).

1.2.1 La atenuación de la dormición

En muchas especies, el paso de un nivel alto de dormición a uno bajo está sincronizado con los cambios en las estaciones del año. Esto se debe a que las

semillas no germinan dentro o inmediatamente antes de períodos de intenso estrés para las plantas como pueden ser los inviernos muy fríos o los períodos de sequías (Baskin y Baskin, 1998; Benech Arnold et al., 2000). El régimen de temperatura y el contenido hídrico del suelo son los principales factores ambientales que pueden regular el nivel de dormición de las semillas del banco del suelo (Baskin y Baskin, 1980; Bouwmeester y Karssen, 1992, 1993; Corbineau y Côme, 1995; Batlla y Benech-Arnold, 2005; Fig I.1).

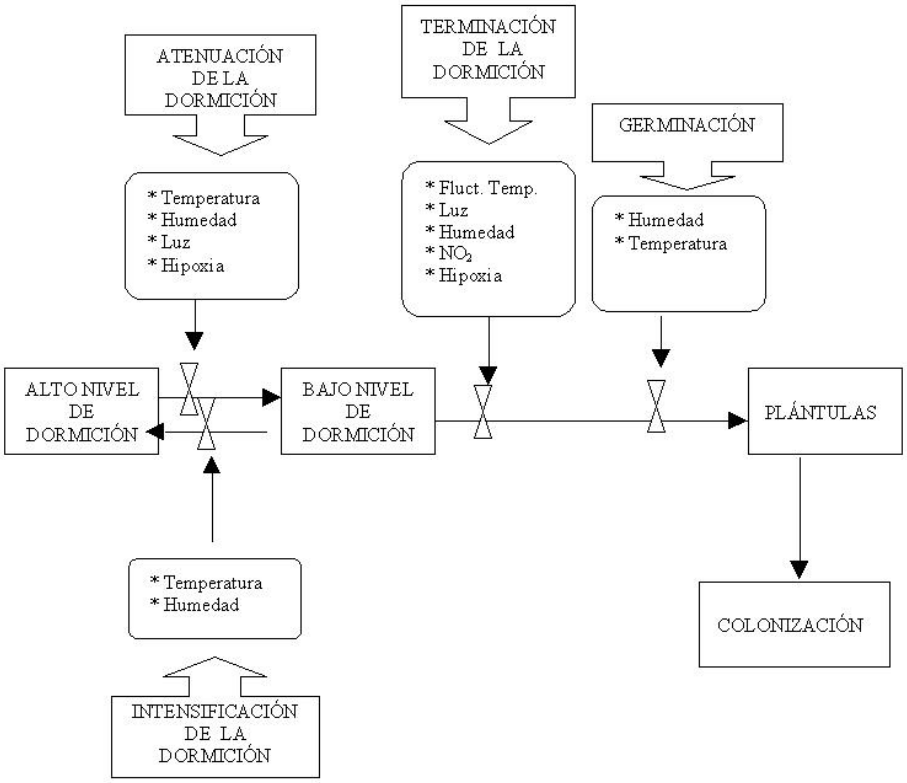

Figura I.1. Factores ambientales que controlan la atenuación y la terminación de la dormición de las semillas (Benech-Arnold et al., 2000).

Las semillas de muchas especies pueden atenuar su dormición cuando experimentan temperaturas relativamente bajas en condiciones húmedas (ej. estratificación). Este rango de temperaturas va desde los 0 hasta los 10ºC pero, en ocasiones, se observan respuestas a valores de 15ºC (Bewley y Black, 1994). La rapidez con que las semillas de estas especies atenúan la dormición tiene una relación inversamente proporcional con la temperatura (Bewley y Black, 1994). Este control de la germinación hace que las semillas de especies de verano pierdan la dormición durante el invierno y germinen durante la primavera que es la estación más apropiada para el crecimiento en climas templados (Lambers et al., 1998). Por otra parte, las semillas de algunas especies lentamente pierden su dormición cuando tienen bajo contenido hídrico (Bewley y Black, 1994; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Este proceso se detiene en semillas muy hidratadas o en semillas demasiado secas. En pastizales dominados por gramíneas perennes y con sequías estacionales intensas y prolongadas, las semillas del suelo de muchas especies de crecimiento invernal disminuyen su nivel de dormición durante la estación seca (Baskin y Baskin, 1998). Este patrón de dormición causa que las semillas de estas especies germinen en otoño, estación que en muchos ecosistemas está relacionada con el comienzo de un período de gran disponibilidad de agua en el suelo (Lambers et al., 1998).

1.2.2 Terminación de la dormición

Existen muchas especies cuyas semillas, aún cuando tienen un bajo nivel de dormición, para poder germinar requieren señales ambientales asociadas a un microhábitat favorable para el crecimiento de sus plántulas (terminación de la dormición). Las especies de los pastizales tienen semillas que germinan en respuesta a señales que indican la ausencia de un canopeo cerrado (Bullock, 2000). Estas señales ambientales, involucradas en la terminación de la dormición de las semillas, pueden ser cambios en el régimen térmico (Benech-Arnold et al., 1988, Koller, 1972; Probert, 1992), cambios en la cantidad y calidad de luz (Sauer y Struik, 1964; Wesson y Wareing, 1969; Holmes y Smith, 1977; Casal y Sánchez, 1998) o en la concentración de nitratos en el suelo (Pons, 1989; Hilhorst, 2000; Alboresi, 2005) (Fig. I.1).

Terminación de la dormición por luz

La terminación de la dormición de las semillas de numerosas especies se produce mediante la percepción de diferencias en la calidad y cantidad (flujo y duración de la exposición) de la luz a través de los fitocromos. Las longitudes de onda más eficientes para terminar la dormición son las de la banda espectral del rojo (R, 600-700 nm) (Fenner, 1985; Casal y Sánchez, 1998; Benech-Arnold et al., 2000). Los efectos promotores de la germinación de la luz R pueden frecuentemente ser revertidos con luz rojo lejano (RL, 700-800 nm) (Borthwick et al., 1952). Estos efectos antagónicos del R y del RL se explican por la acción de los fitocromos que

se caracterizan por tener dos formas interconvertibles, Pr y Pfr, con picos de absorción en el R y el RL respectivamente (Fig. I.2; Rüdiger y Thümmler, 1994). Estos picos de absorción coinciden con los espectros de acción para la ruptura de la dormición por luz (Casal y Sánchez, 1998). La forma Pr tiene su pico de absorción máxima en la región del espectro del R (λ=660 nm, Fig. I.2). La absorción de la luz por Pr provoca su transformación a Pfr permitiendo que las semillas sensibles terminen la dormición y germinen (Bewley y Black, 1994). Por su parte, la forma Pfr tiene su pico de absorción en la región del RL (λ=730 nm, Fig. I.2). Un pulso de RL inmediatamente después del pulso de R, provoca la rápida reversión de las moléculas de Pfr a Pr impidiendo la germinación de las semillas. Un rasgo importante de los espectros de absorción de las formas Pr y Pfr de los fitocromos es que existe una superposición entre ambas (Fig. I.2; Casal y Sánchez, 1998), por lo tanto, la fototransformación de los fitocromos ocurre en ambas direcciones estableciéndose un fotoequilibrio que depende de las longitudes de onda de la luz y de las irradiancias cuando éstas son muy bajas (Casal et al., 2003). Este fotoequilibrio se expresa como la relación Pfr/Ptotal, siendo Ptotal=Pr+Pfr. La permanencia del Pfr no sólo depende de la posible reversión efectuada por la luz RL sino que también de su degradación y de la reversión a Pr en oscuridad (Casal et al., 2003).

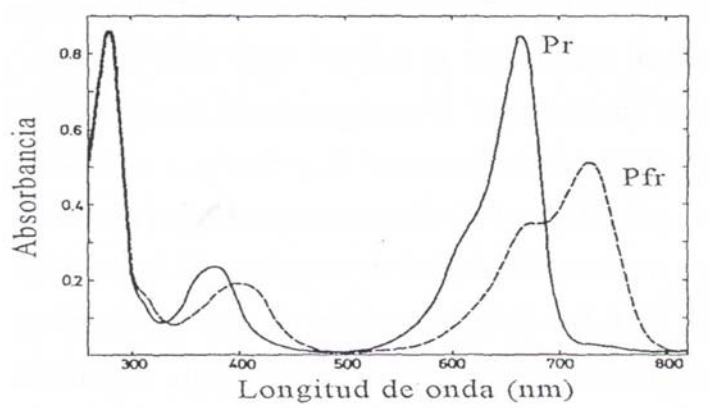

Fig. I.2. Espectros de absorción de los fitocromos en sus formas Pr y Pfr (Rüdiger y Thümmler, 1994).

Se han clasificado diferentes modos de acción de la luz dependiendo del fotoequilibrio necesario para obtener la respuesta, del flujo y de la posibilidad o no de revertir la acción. Así, el modo de acción llamado VLFR (de Very Low Fluence Response) puede ser inducido por fotoequilibrios muy bajos, inclusive aquellos que se producen por pulsos muy cortos de luz RL (Casal et al., 2003). Otro modo de acción es el LFR (Low Fluence Response), donde se requieren niveles de Pfr/Ptotal mucho más altos para lograr la respuesta. Además, las LFRs son las clásicas respuestas R-RL reversibles que son inducidas por un pulso de R e inhibidas por un pulso consiguiente de RL (Casal et al., 1998, 2003). Por último está el modo HIR (High Irradiance Response) que se da cuando la respuesta, en este caso de inhibición de la germinación, requiere de exposiciones muy prolongadas a la luz (Gorski y Gorska, 1979; Casal et al., 2003).

Existen distintos fitocromos dependiendo de la estructura de la apoproteina (Mathews y Sharrock, 1997; Pratt et al., 1997). Algunos de estos fitocromos se pueden asociar a diferentes modos de acción. Así, el fitocromo B está involucrado en las clásicas respuestas LFR que requieren valores de Pfr/Ptotal relativamente

altos (mayores al 10^{-1}%) y su forma Pfr es muy estable (Casal et al., 2003). En cambio, las respuestas VLFR y HIR se asocian con el fitocromo A. Este fitocromo se sintetiza en las semillas hidratadas en su forma Pr en oscuridad y pulsos con bajas irradiancias de luz lo convierten a la forma Pfr que es muy inestable y se degrada con facilidad. Una alta sensibilidad de las semillas al Pfr del fitocromo A hace que éstas germinen a pesar de que el fotoequilibrio Pfr/Ptotal sea muy bajo (menor al 10^{-1}%) a través de una respuesta VLFR. En cambio, la continua exposición a la luz provoca que el fitocromo A cicle entre sus formas Pr y Pfr. Existen evidencias que indican que este efecto podría estar implicado en el modo de acción HIR (Frankland, 1986).

La respuesta de las semillas a las diferentes longitudes de onda de la luz tiene un importante significado ecológico. Cuando la luz natural atraviesa o refleja en los tejidos vegetales verdes es alterada por la clorofila que absorbe especialmente en el R y trasmite y refleja las longitudes de onda mayores a 700 nm (RL) (Fig. I.3). Así, la presencia de la vegetación modifica la intensidad y composición espectral de la luz que llega al suelo y de esta manera disminuye la relación entre la radiación en las bandas espectrales del rojo (600–700 nm) y el rojo lejano (700–800 nm) (Holmes y Smith, 1977; Fenner, 1985; Casal et al., 2003). Esto hace que se establezcan distintos fotoequilibrios en las semillas dependiendo de la cobertura del canopeo. Así, cuando se elimina la vegetación se producen condiciones de altas relaciones R/RL que permiten que las semillas que tienen este requerimiento germinen en condiciones de menor competencia con las plantas vecinas (Casal y Sánchez, 1998).

En los pastizales pampeanos, las semillas de *Lolium multiflorum* L. germinan en los espacios raleados por el pastoreo vacuno y esto se asocia con los cambios en la composición espectral de la luz luego de la apertura del canopeo (Deregibus et al., 1994). En este caso la germinación está mediada por la acción de una LFR (Deregibus et al., 1994). Otra respuesta germinativa mediada por una LFR en estos mismos pastizales es la germinación de semillas de *Ambrosia tenuifolia* Spreng. luego de la eliminación del canopeo por las inundaciones (Insausti et al., 1995).

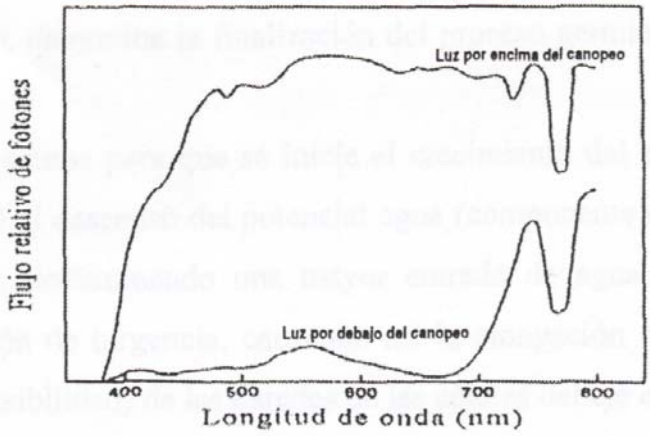

Fig. I.3. Distribución espectral de la luz natural antes y después de atravesar un canopeo vegetal (Smith, 1979).

Dependiendo de los factores ambientales experimentados durante la permanencia de las semillas en el suelo, éstas pasan por cambios en la sensibilidad a la luz y de esta manera en la respuesta a los diferentes modos de acción de los fitocromos. Por ejemplo, las semillas de *Datura ferox* L. que permanecen enterradas en el suelo durante varios meses adquieren la capacidad de responder a la luz a través de una VLFR, en cambio, las semillas almacenadas en seco sólo responden a la luz mediante un modo de acción LFR (Scopel et al., 1991).

Terminación de la dormición por alternancia de temperaturas

El suelo puede experimentar fluctuaciones diarias más o menos altas de temperatura dependiendo de la cobertura del canopeo (Insausti et al., inédito; Fig. I.4). Las semillas del banco del suelo están sujetas a esas mismas fluctuaciones de temperatura que pueden inducir la terminación de la dormición siempre y cuando sobrepasen una mínima amplitud (Totterdell y Roberts, 1980; Probert et al., 1986; Bewley y Black, 1994). En cambio, por abajo de esa amplitud o a temperaturas constantes, las mismas poblaciones de semillas permanecen dormidas y no germinan. Este mecanismo tiene una gran importancia ecológica al impedir la germinación de semillas enterradas a mucha profundidad o localizadas bajo canopeos muy cerrados. Esto se debe a que en estos lugares, la amplitud diaria de temperaturas es baja. En cambio, las semillas localizadas en una porción superficial del suelo sin vegetación perciben las alternancias de temperatura necesarias para germinar (Thompson y Grime, 1983; Benech-Arnold et al., 1988; Benech-Arnold et al., 2000). Este mecanismo también permite inducir la germinación de semillas de humedales. En estos ecosistemas, una gran amplitud de temperaturas indica la ausencia de inundaciones en el sitio de emergencia de las plántulas (Lambers et al., 1998).

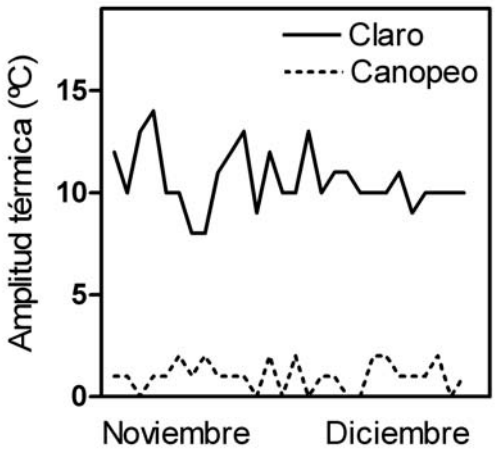

Figura I. 4. Amplitud térmica del suelo superficial de un pastizal en un claro y un sitio con el canopeo intacto (Insausti *et al*., inédito).

Terminación de la dormición por nitratos

Otro factor ambiental que termina la dormición de las semillas y estimula su germinación es la presencia de nitratos en el suelo (Pons, 1989; Hilhorst, 2000; Adkins, 2002; Alboresi, 2005) (Fig. I.5). Los suelos sobre los cuales crece una gran biomasa de plantas adultas tienen un ambiente pobre en nitratos. En cambio cuando la vegetación es eliminada, la mineralización y nitrificación continúan mientras que disminuye la absorción de nitratos o amonio por las plantas. Esto hace que aumenten los niveles de nitratos a concentraciones que pueden percibir las semillas y que provocan la inducción de la germinación (Fig. I.5). Por lo tanto, esta respuesta a los nitratos también funciona como un mecanismo de percepción de claros en la vegetación (Fenner, 1985; Lambers et al., 1998).

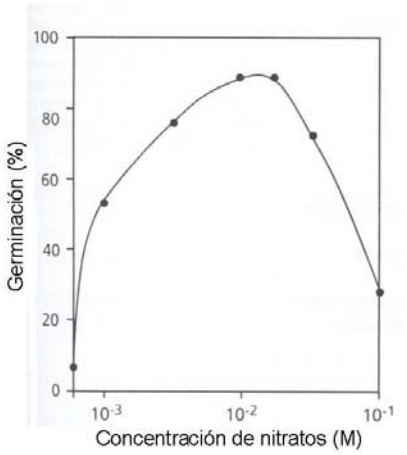

Figura I.5. Porcentaje de germinación de las semillas de *Epilobium montanum* incubadas en diferentes concentraciones de KNO_3 (Lambers et al., 1998).

1.3 Variabilidad intraespecífica en la dormición de las semillas

Es frecuente que las semillas de una misma especie cosechadas en distintas localidades exhiban respuestas diferentes frente a los factores ambientales que regulan la dormición y la germinación (Allen y Meyer, 1998; Baskin y Baskin, 1998). Además de la influencia del ambiente sobre la planta madre (Cresswell y Grime, 1981; Roach y Wulff, 1987; Andersson y Milberg, 1998) y de la secuencia de eventos experimentados por las semillas durante la exposición a los factores ambientales del suelo, las diferencias en comportamiento germinativo de las semillas de diferentes zonas también pueden deberse a la variación genética entre poblaciones (Leiss y Müller-Schärer, 2001; Meyer et al., 1997).

El hábitat es un factor preponderante en la selección natural de los mecanismos de regulación de la germinación (Meyer et al., 1997; Allen y Meyer, 1998). Para que

ocurra adaptación local en las poblaciones debe haber una base de variabilidad genotípica que se expresa en el fenotipo, sobre la cual pueda operar la selección natural (Leiss y Müller-Schärer, 2001). Sin embargo, la plasticidad fenotípica de los individuos también permite la persistencia de una población en el hábitat que ocupa. Esta plasticidad fenotípica en la dormición de semillas se selecciona preponderantemente en ambientes donde existe mucha impredictibilidad acerca del momento más favorable para germinar (Silvertown y Lovett Doust, 1993).

Para estudiar la variación en el comportamiento de las semillas de poblaciones pertenecientes a distintos ambientes, controlando la influencia de los factores ambientales luego de la dispersión, se pueden usar técnicas de entierros de semillas en jardines uniformes (Baskin y Baskin, 1998). Durante el entierro en jardines uniformes, las semillas de las distintas poblaciones son sometidas a los mismos factores ambientales en un único hábitat. Por otra parte, en la técnica de los transplantes o entierros recíprocos, las poblaciones son transplantadas en los ambientes de otras poblaciones con controles en su misma localidad de origen. De esta manera se pueden estudiar los efectos de los eventos experimentados por las semillas durante la exposición a los factores ambientales luego de la dispersión. La técnica de los transplantes recíprocos se considera un método apto para el análisis de la variación en los rasgos de historias de vida ya que puede señalar los efectos ambientales, genéticos y maternos (ej. morfología de las estructuras acompañantes como los frutos) y las posibles interacciones entre ellos que indicarían la posible adaptación local (Leiss y Müller-Schärer, 2001). Si los individuos locales superan en

alguno de los componentes del *fitness* a los individuos de otra localidad, esto es una evidencia que sugiere la posibilidad de que haya actuado la selección natural y de que exista una adaptación a las condiciones locales (Leiss y Müller-Schärer, 2001). Con respecto a esto, para poder asegurar que la variación se debe a la acción de la selección natural, los diferentes rasgos que caracterizan a las poblaciones deben estar correlacionados con las diferencias del hábitat (Heslop-Harrison, 1964).

1.4 Los Pastizales Pampeanos

Los Pastizales Pampeanos, a pesar de su relativa uniformidad topográfica, climática y florística, se pueden dividir en diferentes subregiones con características propias (León, 1991; Cabrera, 1994; Burkart et al., 2005). Estas subregiones (Pampa Ondulada, Pampa Deprimida, Pampa Interior, Pampa Austral y Pampa Mesopotámica; Fig. I.6) son un mosaico de estepas graminosas y praderas formadas por pastos, hierbas dicotiledóneas y algunos pocos arbustos (León, 1991; Batista et al., 2005; Burkart et al., 2005). Dentro de estas subregiones hay dos grandes grupos de vegetación: las Praderas de Mesófitas y las Praderas Húmedas de Mesófitas (Batista et al., 2005; Burkart et al., 2005). Las Praderas de Mesófitas están asociadas a áreas con relieve positivo y suelos bien drenados con horizonte superficial profundo (ej. argiudoles, hapludoles, etc.), en cambio, las Praderas Húmedas de Mesófitas están asociadas a planicies con poca pendiente y con horizontes superficiales del suelo poco profundos y escasamente drenados (ej., natracuoles) (Batista et al., 2005; Burkart et al., 2005). Las Praderas de Mesófitas son abundantes

en la Pampa Ondulada, en cambio, las Praderas Húmedas de Mesófitas tienen una importancia muy marcada en la Pampa Deprimida (Burkart et al., 2005).

Los Pastizales Pampeanos están sujetos a dos tipos de disturbios que afectan al funcionamiento de los ecosistemas y la supervivencia de las plantas: las sequías y las inundaciones (Ameghino, 1886; Soriano, 1991; Insausti et al., 1999). Esto se debe a que hay excesos de lluvias en invierno y déficits en verano (Soriano, 1991). Las sequías de verano ocurren en todo el pastizal pampeano, en cambio, las inundaciones sólo ocurren en la Pampa Deprimida o en áreas con relieve negativo en las otras subregiones (Burkart et al., 2005).

Figura I.6. Subregiones de los Pastizales Pampeanos. A: Pampa Ondulada, B: Pampa Interior, C: Pampa Austral, D: Pampa Deprimida, E: Pampa Mesopotámica (Adaptado de Soriano, 1991).

Las especies componentes de los Pastizales Pampeanos pueden dividirse en dos grupos funcionales principales: dicotiledóneas, generalmente herbáceas, y graminoides, grupo que incluye tanto a las gramíneas como a otros taxones con

forma de vida similar (ciperáceas, juncáceas, etc.) (Insausti et al., 2005). En esta tesis se estudiaron dos especies de gramíneas representativas de los Pastizales Pampeanos: *Bromus catharticus* Vahl. y *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelén. Esto permite que los resultados encontrados en estas especies puedan ser comparadas en el futuro con los de otras especies del pastizal.

Bromus catharticus Vahl. (Festucoideae) es una gramínea bienal o perenne de vida corta, de crecimiento invernal, que habita en las Praderas de Mesófitas de los pastizales pampeanos en suelos profundos, no inundables (Burkart et al., 1990, 2005; Batista et al., 2005). La floración tiene dos picos, uno abundante, primaveral y otro menor en otoño. La principal época de dispersión de sus semillas es a comienzos del verano. Las semillas permanecen durante esa estación en el banco del suelo y germinan durante el otoño.

Setaria parviflora (Poir.) Kerguelén (Panicoideae) es una gramínea perenne de crecimiento estival que habita en las Praderas de Mesófitas y en las Praderas Húmedas de Mesófitas, en varias comunidades y condiciones edáficas (Batista et al., 2005). La dispersión de sus semillas es a fines de verano. Las semillas pasan el invierno en el banco del suelo y germinan durante la primavera o el verano.

1.5 Antecedentes inmediatos del tema de tesis

Se sabe que las condiciones de humedad del sustrato durante la atenuación de la dormición de las semillas de malezas pueden afectar la sensibilidad de éstas a las señales ambientales que inducen la germinación (Batlla y Benech-Arnold, 2006).

Aún así, existe escasa información acerca de la dinámica de la atenuación de la dormición de las semillas a diferentes valores de contenido hídrico del sustrato (Batlla et al., 2004) y no existen datos de estudios donde se analice este fenómeno en semillas de banco del suelo con la vegetación intacta, hechos a campo o en mesocosmos (bloques del suelo con la vegetación sin alterar). Existen escasos trabajos previos donde se estudie el efecto de la disponibilidad de agua de las semillas de pastizales sobre su dormición (Rodriguez et al., 1998).

Las inundaciones pueden afectar el nivel de dormición de las semillas. La respuesta de las semillas a la inundación depende de la especie, si bien hay muchas que no responden a este tipo de disturbio, algunas semillas de humedales aumentan el porcentaje de germinación luego de pasar un período en condiciones de anegamiento (Blanco et al., 1995; Baskin y Baskin, 1998). A pesar de esto, en la bibliografía son escasas las referencias acerca de los cambios en la sensibilidad a las señales que terminan la dormición luego de una inundación (Insausti et al., 1995; Baskin et al., 2000).

Dormición y germinación de semillas en los pastizales pampeanos: relación con los disturbios

La herbivoría y la inundación son ejemplos de disturbios que dan origen a claros donde se instalan plántulas que provienen de la germinación de semillas (Bullock et al., 1995; Insausti et al., 1995). La herbivoría genera espacios descubiertos que presentan un ambiente distinto al del canopeo intacto, particularmente en lo que se

refiere a la luz y la temperatura, debido a la miniaturización de las matas de pastos y al achatamiento de la estructura de la vegetación (Oesterheld y Sala, 1990; Deregibus et al., 1994). Por su parte, la inundación impone condiciones de estrés en muchas especies debido a los cambios que determina en las propiedades del suelo (Ponnamperuna, 1984; Taboada y Lavado, 1986; Koslowski, 1997). En los pastizales de la Pampa Deprimida, la inundación reduce el número de especies presentes y provoca la muerte o la disminución en biomasa de las dicotiledóneas (Insausti y Soriano, 1987; Chaneton et al., 1988; Insausti, 1996; Insausti et al., 1999). Este efecto, al igual que el pastoreo, permite la llegada al suelo de radiación con alta relación R/RL y la ocurrencia de mayores amplitudes de temperatura, señales que favorecen la terminación de la dormición de las semillas y su germinación (Deregibus et al., 1994; Insausti et al., 1995).

1.6 Objetivos e hipótesis de trabajo

El objetivo de esta tesis fue estudiar el rol del agua del suelo en la modificación del nivel de dormición de semillas de gramíneas de los Pastizales Pampeanos. Específicamente se estudió si el contenido de agua en el suelo condiciona la dormición de las semillas de *Bromus catharticus* y su percepción de las señales relacionadas con la apertura del canopeo. Además se analizó el efecto de los contenidos hídricos altos que ocurren, por ejemplo, durante las inundaciones, en la regulación de la dormición de las semillas de *Setaria parviflora* de diferentes

comunidades dentro de un pastizal de la Pampa Deprimida y en semillas provenientes de pastizales no inundables.

Hipótesis

Hipótesis 1: El potencial agua del suelo afecta el nivel de dormición de las semillas de *Bromus catharticus* y modifica su sensibilidad a las señales lumínicas asociadas a los claros de la vegetación.

Hipótesis 2: Las inundaciones afectan el nivel de dormición de las semillas de *Setaria parviflora* y modifican su sensibilidad a los factores ambientales que terminan la dormición: luz, temperaturas alternadas y concentración de nitratos.

Hipótesis 3: Hay diferencias en la regulación del nivel de dormición de las semillas por las inundaciones entre poblaciones de una misma especie residentes en diferentes hábitats.

CAPÍTULO II

LA DISPONIBILIDAD DE AGUA AFECTA A LA DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS DE *BROMUS CATHARTICUS* VAHL.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones ambientales que experimentan las semillas luego de su dispersión afectan su nivel de dormición y el tiempo durante el cual permanecen dormidas (Derkx y Karssen, 1993). El régimen de temperaturas es uno de los principales factores ambientales que pueden regular el nivel de dormición de las semillas del banco del suelo (Baskin y Baskin, 1980; Bouwmeester y Karssen, 1992, 1993). Sin embargo, otros factores como el contenido hídrico del suelo también pueden incidir en la determinación del estado de dormición de las semillas (Benech-Arnold et al., 2000; Batlla y Benech-Arnold, 2006).

La sensibilidad de las semillas a los factores que terminan la dormición y promueven la germinación puede ser modificada por las condiciones ambientales (Gallagher y Cardina, 1998; Pritchard et al., 1999; Probert, 2000). Las semillas de algunas gramíneas, como *Dactylis glomerata* L., pierden la dormición cuando posmaduran en seco y esta pérdida de dormición viene acompañada por requerimientos de temperatura menos específicos para la germinación (Probert, 2000). Así, durante la incubación de las semillas en distintas condiciones de disponibilidad de agua, se puede afectar diferencialmente la sensibilidad a los requerimientos de señales ambientales vinculadas con la apertura de claros en la vegetación (Benech-Arnold et al., 2000). Cuando se abre un claro en el canopeo, el aumento en la relación entre las radiaciones roja y rojo lejano (R/RL) que llega al suelo es percibida por los fitocromos y estimula la germinación de las semillas de la

mayoría de las especies sensibles (Holmes y Smith, 1977; Fenner, 1995, Casal y Sánchez, 1998). Por otra parte, la luz también puede tener efectos inhibitorios sobre la germinación. La percepción por parte de los fitocromos de la luz con baja relación R/RL suministrada continuamente o por pulsos puede revertir los efectos de la luz con alta relación R/RL o incluso provocar la inhibición de la germinación de las semillas comparada con la oscuridad (Gorski et al., 1978; Frankland, 1986; Casal y Sánchez, 1998). Sin embargo, las irradiancias continuas con luz con alta relación R/RL también pueden tener efectos inhibitorios sobre la germinación de determinadas semillas (Hilton, 1984; Ellis et al. 1986; Appenroth et al., 2006).

En las semillas de muchas gramíneas que se comportan como malezas de cultivos, o que habitan en sabanas, se atenúa la dormición durante el almacenamiento en seco o en el suelo durante la estación seca (Mott, 1978; Baskin y Baskin, 1998). Por ejemplo, las semillas de *Lolium rigidum* Gaudin tienen la capacidad de perder la dormición a contenidos hídricos bajos (Steadman, 2004). Sin embargo, en las semillas hidratadas de *L. rigidum* L. se atenúa la dormición más lentamente cuando permanecen incubadas por debajo de los –3 MPa (Steadman, 2004). Valores de potencial agua de esta magnitud pueden ocurrir durante las sequías en el suelo superficial de algunos pastizales (Soriano, 1991). Por su parte, Bair y colaboradores (2006) encontraron que las semillas de *Bromus tectorum* posmaduran en seco a potenciales agua inferiores a los –40 MPa. Este valor extremadamente bajo de potencial agua de las semillas corresponde a las que sufren un proceso de deshidratación en el aire (Hadas, 2004), similar a las condiciones que

ocurren durante la posmaduración en seco, hecho que puede suceder en semillas que tengan poco contacto con el suelo o se hallan expuestas en la superficie. Por otra parte, las semillas incubadas en un rango de valores relativamente altos de potencial agua, entre los –1 y –1,5 MPa, sufren cambios moleculares y bioquímicos diferentes a los que ocurren en semillas secas o embebidas en agua (Bray, 1995). Algunos de estos cambios podrían afectar diferentes procesos que determinan, en última instancia, el nivel de dormición de las semillas (de Miguel y Sánchez, 1992; Ni y Bradford, 1992; Chen y Bradford, 2000; Sánchez et al., 2002; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Entonces, los cambios en el nivel y la expresión de la dormición se pueden dar a valores de disponibilidad de agua que ocurren en situaciones extremas (ej. sequías, poco contacto semilla-sustrato), pero también a valores del agua útil para las plantas adultas.

El hecho de que en los pastizales que sufren sequías estacionales, las semillas del suelo disminuyan su nivel de dormición durante la estación seca hace que éstas germinen en otoño, estación que en muchos ecosistemas, como en los pastizales pampeanos, está relacionada con el comienzo de un período de gran disponibilidad de agua en el suelo (Soriano, 1991; Lambers et al., 1998). A pesar de la importancia ecológica de estos procesos, los trabajos que estudiaron el efecto de la disponibilidad de agua sobre la dormición están hechos en semillas embebidas en soluciones osmóticas, en cámaras con control de humedad atmosférica o en macetas. Sin embargo, no existen trabajos donde se someta a las semillas a los factores ambientales en las condiciones más naturales posibles, por ejemplo, en el banco de

semillas del suelo sin alterar. En este caso, el uso de mesocosmos con bloques de pastizal con el suelo y la vegetación intactos pueden ayudar a realizar experimentos en condiciones controladas y a la vez más cercanos a aquellas que ocurren en el campo (Lawton, 1995).

Bromus catharticus es una especie bienal o perenne que se regenera exclusivamente por semillas y que está muy difundida en pastizales, estepas y sabanas de Sudamérica templada. Tiene floración primaveral que se extiende hasta el verano tardío y sus semillas germinan en otoño. La alta palatabilidad de esta especie hace que sea muy seleccionada por el ganado y que su abundancia disminuya rápidamente en pasturas y pastizales sobrepastoreados (Burkart, 1969).

El objetivo de este capítulo es estudiar el efecto de la disponibilidad de agua de las semillas de *Bromus catharticus* sobre su nivel de dormición y su sensibilidad a los factores que la terminan. Para alcanzar el objetivo propuesto se hicieron experimentos en condiciones controladas de laboratorio y en mesocosmos extraídos de los pastizales pampeanos y puestos en invernáculo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimentos en laboratorio

Las semillas de *Bromus catharticus* se cosecharon en un pastizal de la localidad de Monte (partido de San Miguel del Monte, provincia de Buenos Aires) en diciembre del 2004 y diciembre del 2005. Una parte de las semillas cosechadas fue

rápidamente puesta a germinar para determinar su nivel de dormición al momento de la dispersión en los tratamientos de germinación que se mencionan posteriormente. El resto de las semillas fue almacenada en cámara a -10ºC hasta su uso.

Preincubación de las semillas en oscuridad. Se realizaron experimentos donde se incubaron las semillas de *B. catharticus* en oscuridad en diferentes soluciones de polietilenglicol (PEG) 6000 en incubadora a 25ºC continuos: 1) Las semillas del 2004 se incubaron en soluciones de PEG de -0.8 y -1.5 MPa 2) Las semillas del 2005 se incubaron en soluciones de PEG a -3 y -5 MPa. En ambos casos hubo otras dos condiciones: 1) semillas embebidas en agua destilada y 2) semillas no embebidas. Cada diez días se renovó el medio de imbibición de las semillas bajo luz verde de muy baja intensidad (Burkart y Sánchez, 1969). Al final del período de incubación (dos semanas o un mes) se registró el nivel de dormición de las semillas poniéndolas a germinar bajo diferentes condiciones de temperatura (15, 20 y 25ºC) y luz: a) R: pulsos diarios de 20 minutos de luz con alta relación R/RL (Tabla II.1) provistos por dos tubos fluorescentes Philips 40W/15 cubiertos con acetato rojo, b) RL: pulsos diarios de 20 minutos de luz con baja relación R/RL (Tabla II.1) provistos por una lámpara incandescente Osram de 150W filtrada con 10 cm de agua y filtros Schott RG9 (Schott, Mainz, Alemania) y c) oscuridad. Se contó con 4 repeticiones con 25 semillas cada una. Luego de 10 días de incubación se contaron las semillas germinadas. Además, se realizó otro experimento adicional para determinar la reversión por RL del efecto promotor de la germinación de la luz R. En este caso, en un lote de semillas embebidas o no en agua durante un mes a 25ºC

se realizaron los tratamientos a), b) y c) mencionados anteriormente y un nuevo tratamiento donde los pulsos diarios de 20 minutos de luz con alta relación R/RL fueron seguidos por pulsos diarios de 20 minutos de luz con baja relación R/RL.

Tratamiento	R/RL	Irradiancia µmoles fotones $m^{-2}s^{-1}$
R	4,09	18
RL	0,002	6,3
Osc	-	-

Tabla II.1. Tratamientos lumínicos durante la germinación de las semillas de *Bromus catharticus*.

Preincubación de las semillas en luz. Las semillas se incubaron no embebidas, embebidas en agua destilada o en una solución de PEG de –0,8 MPa en una cámara a 25ºC continuos bajo los siguientes tratamientos de luz (fotoperíodo= 14 h de luz/10 h de oscuridad): 1) R: Pretratamiento con alta relación R/RL (Tabla II.2) que se consiguió con la siguiente combinación de filtros: a) malla tejida de plástico gris con agujeros de 1 mm^2, b) acrílico Cristal transparente (Acrílicos Paolini, Buenos Aires, Argentina) c) filtro rojo Lee nº 781 que excluye la luz azul (Lee filters, USA) y c) filtro difusor Lee nº 216 (Lee filters, USA) 2) RL: Pretratamiento con baja relación R/RL (Tabla II.2) que se consiguió con la siguiente combinación de filtros: a) acrílico Azul Paolini nº 2031 de 2,4 mm de espesor, agujereado, que excluye la luz roja (Acrílicos Paolini, Buenos Aires, Argentina), b) acrílico Cristal transparente (Acrílicos Paolini, Buenos Aires, Argentina) c) filtro rojo Lee nº 781 que excluye la luz azul (Lee filters, USA) y c) filtro difusor Lee nº 216 (Lee filters, USA) y 3)

oscuridad. Las fuentes de luz fueron tubos fluorescentes Philips 36W/930 TLD 90 de Luxe y lámparas incandescentes de 40W reflectoras (General Electric, Budapest, Hungría). Cada diez días se renovó el medio de incubación de las semillas. La renovación del medio de incubación de las semillas que permanecieron en oscuridad se realizó bajo luz verde de muy baja intensidad (<0,06 µmoles fotones $m^{-2}s^{-1}$), en cambio, en los otros dos tratamientos, la renovación se realizó bajo los respectivos filtros durante el período de luz. Luego de un mes, las semillas se pusieron a germinar durante 10 días en agua destilada a 15 y 20ºC en los mismos tratamientos de luz que en los experimentos anteriores (Tabla II.1). Se contó con 4 repeticiones con 25 semillas cada una.

Tratamiento	R/RL	Irradiancia µmoles fotones $m^{-2}s^{-1}$
R	1,78	9,8
RL	0,12	5,8
Osc	-	-

Tabla II.2. Condiciones lumínicas durante la preincubación de las semillas de *Bromus catharticus*.

En todos los experimentos de laboratorio, el porcentaje de germinación se transformó de acuerdo al arcoseno $\sqrt{x}$ y los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVAs de un factor (Sokal and Rohlf, 1969).

Experimentos en mesocosmos

En diciembre del año 2005 se extrajeron bloques de suelo del pastizal de 0,40 x 0,27 x 0,15 cm con la vegetación intacta luego de la dispersión de las semillas de *Bromus catharticus*. Los bloques se colocaron en bateas y se llevaron a un invernáculo con temperatura controlada que simulaba las temperaturas de verano. Una vez allí se sometieron a los siguientes tratamientos durante dos meses: 1) Riego: los bloques fueron regados diariamente a capacidad de campo y 2) Sequía superficial: los bloques sólo fueron regados por debajo con el fin de mantener viva la vegetación. Se hicieron mediciones continuas del contenido hídrico volumétrico con sensores FDR marca ECHO Probes (Decagon, USA) conectados a un datalogger Campbell 21-X (Campbell Scientific Ltd., USA). Los valores correspondientes de potencial agua se determinaron usando una curva de retención hídrica del suelo de los bloques. Se midió la temperatura del suelo de los bloques de pastizal con termistores conectados a un datalogger HOBO H08-006-04 (Onset Computer Corp., Bourne, MA, USA). Luego de dos meses del inicio de los tratamientos, se realizó un registro inicial del número de plántulas de *B. catharticus* emergidas bajo el canopeo, se regaron todos los bloques a capacidad de campo y se bajó la temperatura del invernáculo para simular las condiciones térmicas del otoño. En ese momento se cortó la vegetación al ras y se dejó la mitad de los bloques expuestos a la luz natural del sol. La otra mitad se cubrió con filtros que excluyen la luz roja y permiten que a las semillas llegue una baja relación R/RL (acrílico Azul Paolini nº 2031 de 2,4 mm de espesor). En los bloques descubiertos, la radiación PAR al mediodía con cielo

descubierto fue de 1870 µmoles $m^{-2}s^{-1}$ y la relación R/RL fue de 1,20. Bajo los filtros, la radiación PAR al mediodía fue de 380 µmoles $m^{-2}s^{-1}$ y la relación R/RL fue de 0,01. A las 5 y 30 PM la relación R/RL de los bloques descubiertos fue de 1,10 y bajo los filtros de 0,08. Luego de dos semanas en estas condiciones se contaron las plántulas emergidas de *B. catharticus* y se analizaron los datos con un test no paramétrico de Kruskal-Wallis con comparaciones *a posteriori* (α=0,05) (Sokal and Rohlf, 1969).

RESULTADOS

Experimentos en laboratorio

Preincubación en oscuridad. Las semillas recientemente cosechadas de *Bromus catharticus* del año 2004 germinaron cerca del 60% a 15ºC bajo pulsos de luz roja (Rp). A 15ºC no se observó germinación en oscuridad ni bajo pulsos de rojo lejano (RLp). Las semillas puestas a 20 o 25ºC no germinaron. Después de permanecer durante dos semanas en los diferentes tratamientos de preincubación, las semillas irradiadas con Rp germinaron en todas las temperaturas (Fig. II.1a,b,c). Remarcablemente, a 20 y 25ºC una fracción de las semillas preincubadas en agua permaneció sin germinar ($p<0,05$; Fig. II.1b,c). A 25ºC, las semillas posmaduradas en seco germinaron en un mayor porcentaje cuando fueron irradiadas con Rp con respecto a las semillas embebidas (Fig. II.1c). Además, una fracción de las semillas posmaduradas en seco adquirió la capacidad de germinar en oscuridad y RLp, esto

no ocurrió en las semillas preincubadas en agua o en las soluciones osmóticas (Fig. II.1a,b,c).

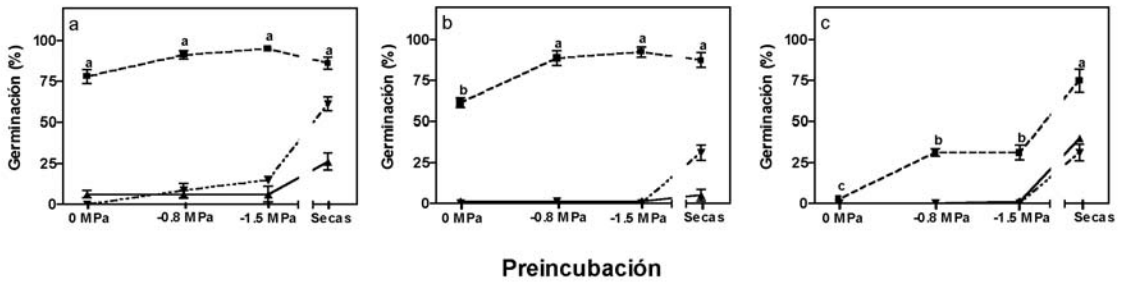

Fig. II.1. Germinación (%) de las semillas de *Bromus catharticus* preincubadas durante dos semanas en diferentes condiciones de imbibición o posmaduradas en seco a 25ºC. Luego de la preincubación, las semillas se pusieron a germinar a 15ºC (a), a 20ºC (b) o a 25ºC (c) y se trataron con pulsos diarios de luz R (cuadrados y línea partida), pulsos diarios de luz RL (triángulo y línea llena) o en oscuridad (triángulo y línea partida). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias significativas (α=0,05).

La germinación inicial de las semillas de *B. catharticus* del año 2005 fue cercana al 35% a 15ºC y bajo Rp, no germinaron en oscuridad ni bajo RLp. Todas las semillas permanecieron dormidas cuando fueron puestas a germinar a 20 y 25ºC. Después de un mes de los tratamientos de preincubación, las semillas irradiadas con Rp a 15ºC, mostraron diferencias en el porcentaje de germinación entre condiciones, las semillas preincubadas en agua germinaron menos que en el resto de los tratamientos de preincubación ($p<0,05$; Fig. II.2a). También se encontraron diferencias significativas entre tratamientos de preincubación cuando las semillas fueron sometidas a Rp a 20ºC. Sin embargo, en este caso, todas las semillas incubadas durante 1 mes en agua destilada o a -3 MPa permanecieron dormidas, en cambio, germinó una fracción de las semillas incubadas a –5 MPa y las posmaduradas en seco (Fig. II.2b). Las semillas no germinaron a 25ºC.

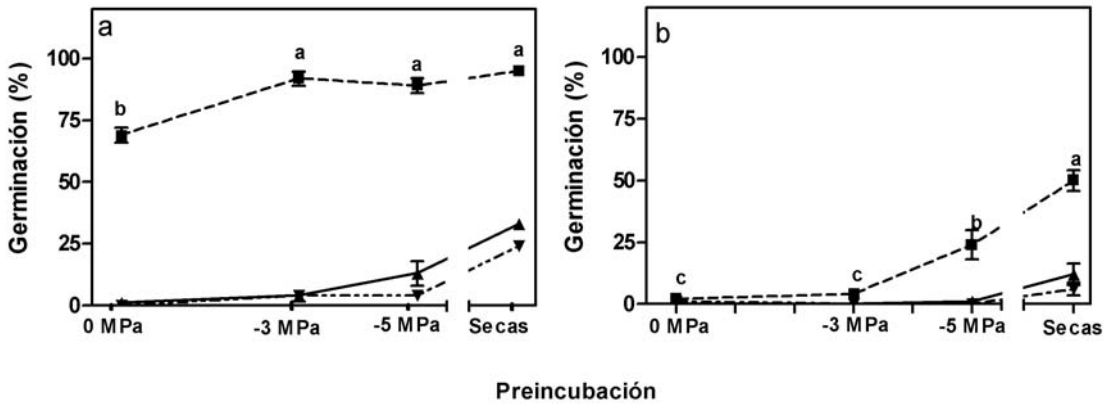

Fig. II.2. Germinación (%) de semillas cosechadas en diciembre de 2005 y preincubadas durante un mes en diferentes condiciones de imbibición a 25ºC. Luego de la preincubación, las semillas se pusieron a germinar a 15ºC (a) o a 20ºC (b) y se trataron con pulsos diarios de luz R (cuadrados y línea partida), pulsos diarios de luz RL (triángulo y línea llena) o en oscuridad (triángulo y línea partida). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias significativas (α=0,05).

Las semillas preincubadas durante un mes en agua destilada germinaron cuando fueron expuestas a Rp pero permanecieron dormidas en respuesta a RLp o en oscuridad (Fig. II.3a). Además, en estas semillas, el efecto promotor de Rp sobre la germinación fue inhibido por un posterior pulso de rojo lejano (Fig. II.3a). En cambio, las semillas posmaduradas en seco germinaron considerablemente en todos los tratamientos (Fig. II.3b).

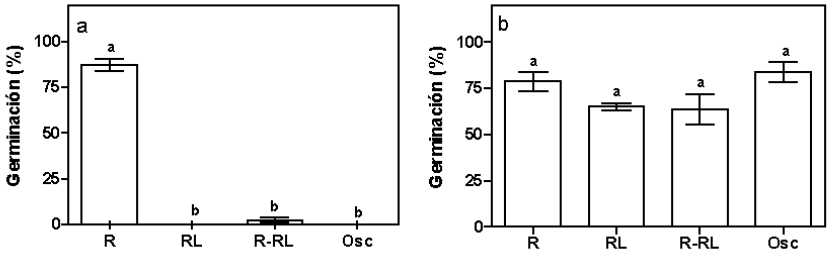

Fig. II.3. Germinación (%) de semillas de *Bromus catharticus* preincubadas en agua destilada (a) o posmaduradas en seco (b) durante un mes a 25ºC. Luego de la preincubación, las semillas se pusieron a germinar a 15ºC y se trataron con pulsos diarios de luz R, pulsos diarios de luz RL, pulsos diarios de luz R seguidos de pulsos de RL o en oscuridad. Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias significativas (α=0,05).

Preincubación en luz. En los experimentos de laboratorio conducidos en oscuridad se observó que la preincubación de las semillas de *B. catharticus* a diferentes disponibilidades hídricas modificaron de distinta manera su dormición. Esto motivó que se evaluara este efecto bajo fotoperíodos diarios de 14 hs de luz roja (Rc), de luz rojo lejano (RLc) o en oscuridad constante. Remarcablemente, las semillas preincubadas en agua e irradiadas con Rc permanecieron dormidas cuando se pusieron a germinar a 15 o 20ºC bajo cualquier tratamiento de luz (Fig. II.4a,b). En cambio, una fracción significativa de las semillas preincubadas a -0,8 MPa germinó en respuesta a Rp (Fig. II.4a,b). Por su parte, las semillas posmaduradas en seco germinaron en un alto porcentaje bajo todos los tratamientos de luz (Fig. II.4a,b). Cuando las semillas preincubadas en RLc se pusieron a germinar a 15ºC bajo Rp no se observaron diferencias entre tratamientos de preincubación (Fig. II.4c). Sin embargo, a 20ºC, las semillas preincubadas en agua germinaron significativamente menos con respecto a los otros tratamientos (Fig. II.4d). En las semillas

preincubadas en oscuridad constante se observó que una fracción mayor de las semillas preincubadas en agua destilada permaneció dormida en comparación con las semillas preincubadas a –0,8 MPa o las posmaduradas en seco (Fig. II.4,e,f).

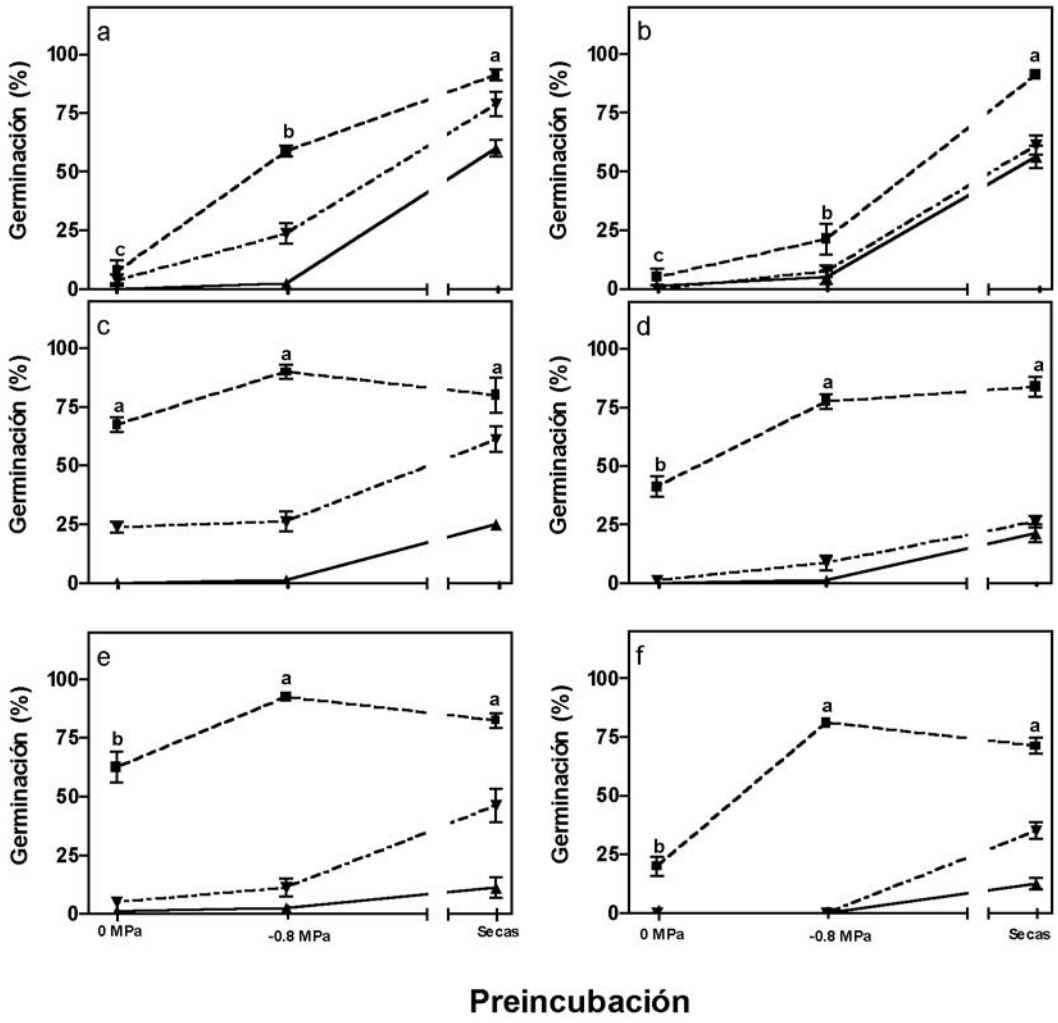

Fig. II.4. Germinación (%) de semillas de *Bromus catharticus* preincubadas durante un mes a 25ºC en diferentes condiciones de imbibición y bajo tres tratamientos de luz continua en un fotoperíodo diario de 14 horas. Luz roja (a, b), luz rojo lejano (c, d) y oscuridad (e, f). Luego de la preincubación, las semillas se pusieron a germinar a 15ºC (a, c, d) o a 20ºC (b, d, f). Durante el test de germinación las semillas se trataron con pulsos diarios de luz R (cuadrados y línea partida), pulsos diarios de luz RL (triángulo y línea llena) o en oscuridad (triángulo y línea partida). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias significativas (α=0,05).

Experimento de mesocosmos en invernáculo

Se registraron temperaturas de verano en los bloques de pastizal durante la imposición de los tratamientos de riego (Fig. II.5a). Al momento de la apertura del canopeo, la temperatura de los bloques disminuyó, asemejándose a la que ocurre en el pastizal durante el otoño (Fig. II.5a). Se diferenciaron claramente las marchas del potencial agua del suelo superficial de los dos tratamientos de riego (Fig. II.5b). Mientras que los bloques de pastizal regados diariamente tuvieron un potencial agua cercano a capacidad de campo, los bloques sometidos a sequía mostraron potenciales agua menores, excepto en el día 31 donde se simuló una lluvia que mojó superficialmente el suelo (Fig. II.5b).

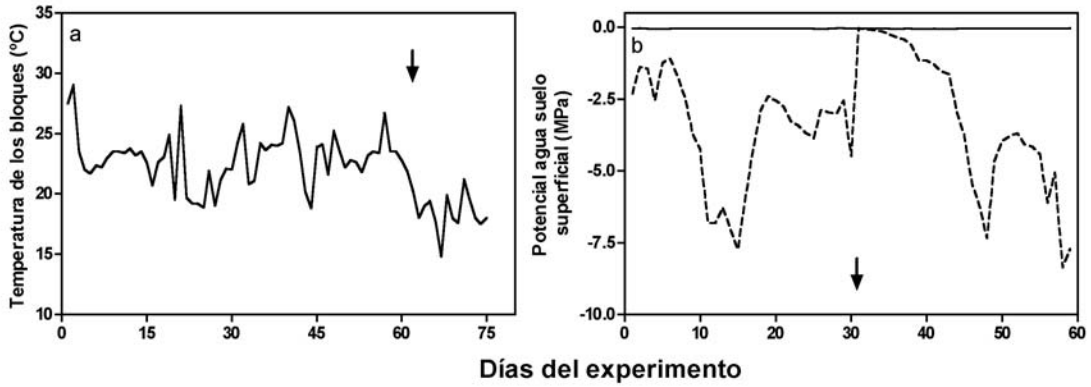

Fig. II.5. Promedio de la marcha de la temperatura y del potencial agua de suelo superficial de los bloques de pastizal. Temperatura de los bloques en invernáculo (a). La flecha indica el momento en que se regaron superficialmente todos los bloques, se cortó el canopeo y se instalaron los filtros de luz. Potencial agua del suelo de los dos tipos de tratamientos de riego (b). Bloques de pastizal regados diariamente (línea llena) y bloques sometidos a sequía superficial (línea partida). Se promedió el valor de tres repeticiones por tratamiento de riego. La flecha indica el día 31 en que se regaron superficialmente los bloques.

Terminado el período experimental donde se impusieron los tratamientos de riego, habían emergido más plántulas en los bloques regados superficialmente que en aquellos donde se simuló sequía (H=10,32; *P*=0,0155). Sin embargo, las mayores diferencias entre tratamientos se registraron luego de la segunda parte del experimento donde se impusieron los tratamientos de luz (H=17,98, *P*<0,001)(Fig. II.6). Una vez regados superficialmente todos los bloques y abierto el canopeo, el pretratamiento de sequía tuvo un considerable efecto promotor de la emergencia con respecto al de riego continuo, dentro de un mismo tratamiento de luz (Fig. II.6). Así, la mayor emergencia se obtuvo cuando en los bloques que sufrieron sequía superficial se permitió la incidencia de la luz natural. En cambio, el menor número de plántulas se registró en los bloques regados donde al momento de la apertura del canopeo se excluyó la luz roja (Fig. II.6).

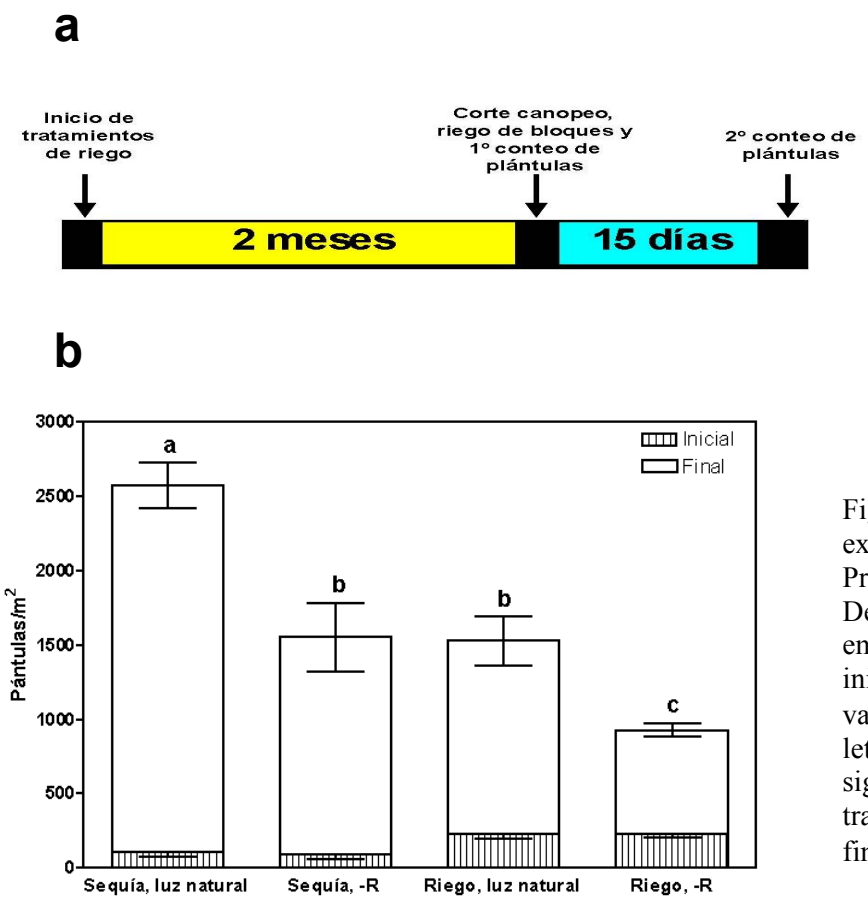

Fig. II.6. Resultados del experimento de mesocosmos. Protocolo experimental (a). Densidad de plántulas emergidas durante el conteo inicial y final (b). Los valores son medias ± ES. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en el conteo final de plántulas (α=0,05).

DISCUSIÓN

Los resultados de este capítulo de la tesis sugieren que por lo menos existen tres niveles de disponibilidad de agua del medio que afectan de manera distinta el proceso de atenuación de la dormición de las semillas de *Bromus catharticus*. Uno de los niveles de disponibilidad de agua comprende los valores cercanos a 0 MPa y hace que una fracción de las semillas preincubadas en estas condiciones no germine, aún después de que hayan recibido los requerimientos de luz roja para terminar la dormición (Fig. II.1,4). Existe información que indica que la permanencia de las

semillas dentro de este nivel permite que sucedan varios procesos fisiológicos relacionados con la terminación de la dormición de las semillas, procesos que no ocurren a potenciales agua más bajos (de Miguel y Sánchez, 1992). Sin embargo, no existen trabajos que indiquen que la permanencia de las semillas hidratadas en este nivel pueda afectar la atenuación de su dormición. El segundo nivel comprende a las semillas hidratadas aproximadamente a –0,8 MPa hasta un valor menor a los –5MPa pero mayor a aquellos que presentan las semillas que posmaduran en seco. En este nivel, las semillas de *B. catharticus* disminuyen su dormición manteniendo los requerimientos de luz roja para germinar. El último nivel involucra a las semillas de *B. catharticus* que posmaduran en seco. En éste, las semillas disminuyen su dormición con mayor intensidad y germinan en un rango más amplio de condiciones que las semillas hidratadas (Bewley y Black, 1994, Probert, 2000; Steadman, 2004; Fig. II.1,2,3,4). En muchas de las semillas que posmaduran en seco no se atenúa la dormición o incluso se puede intensificar cuando permanecen en condiciones hidratadas (Bewley y Black, 1994). Por ejemplo, las semillas de *Bromus tectorum* de las estepas arbustivas de Utah no se despiertan y pierden viabilidad a potenciales agua por arriba de los -40 MPa (Bair et al., 2006). Esto no ocurrió en *B. catharticus* donde, al igual que en las semillas de plantas de *Lolium rigidum* que se comportan como malezas de cultivos de trigo, las semillas hidratadas en oscuridad atenuaron la dormición a potenciales agua altos y germinaron en presencia de luz (Steadman, 2004; Fig. II.1,2,3,4). Las diferencias entre las especies provenientes de las estepas, los cultivos de trigo de Australia y los pastizales pampeanos, sugiere la existencia de

diferencias interespecíficas posiblemente asociadas al hábitat (Steadman, 2004; Bair et al., 2006).

La germinación de las semillas de numerosas especies de los pastizales se inhibe por la acción de los fitocromos debido a la percepción de la luz filtrada por el canopeo (Silvertown, 1980; Insausti et al., 1995). Las semillas de *Bromus catharticus* cuya dormición disminuyó cuando fueron preincubadas con amplia disponibilidad de agua en laboratorio no tuvieron la capacidad de germinar bajo condiciones lumínicas relacionadas con un canopeo intacto o con un entierro profundo en el suelo: luz con baja relación R/RL y oscuridad. En estas semillas, el efecto promotor de la germinación de los pulsos de luz R pudo revertirse por un inmediato pulso de RL. En cambio, un considerable porcentaje de las semillas posmaduradas en seco germinó en oscuridad o bajo pulsos de rojo lejano. Estos resultados indican que la germinación permanece estrechamente regulada por la acción de los fitocromos en las semillas embebidas, hecho que no ocurre en las semillas posmaduradas en seco. Los fotoperíodos relativamente largos de luz blanca o roja inhiben la germinación de las semillas de algunas especies (ej. *Bromus sterilis*) durante el período en que la luz es aplicada (Negbi y Koller, 1964; Hilton, 1984). En el caso de *B. catharticus* se observó que el efecto inhibidor de la luz R continua provocó que germinen menos semillas que a cosecha, aún después de trasladarse a oscuridad continua. Por lo tanto, la irradiancia con luz R continua intensifica la dormición de las semillas de *B. catharticus*. El efecto de la luz RL continua sobre la dormición de las semillas fue similar al de la oscuridad pero

diferente al del R continuo. Esto indicaría que la inhibición con luz R continuo no forma parte de un HIR clásico sino que es parte de una respuesta diferente a las altas irradiancias de luz (Casal y Sánchez, 1998; Appenroth et al., 2006).

En este capítulo se probó la importancia del contenido hídrico del suelo sobre la atenuación de la dormición de las semillas del banco de un pastizal. Se observó que la emergencia de plántulas de *B. catharticus* fue mayor en los bloques de pastizal sometidos a sequía que en los bloques que permanecieron a capacidad de campo. Varios trabajos sobre germinación de semillas de ecosistemas dominados por pastos muestran que la emergencia es mayor en los años más húmedos o que sólo está restringida a años con lluvias por encima de lo normal (Lauenroth et al., 1994; Defosse et al., 1997; Marone et al., 2000; Bisigato y Bertiller, 2004). Sin embargo, en estos ecosistemas puede haber una ausencia de reclutamiento en años excesivamente húmedos (Lauenroth et al., 1994) o una germinación muy elevada cuando una sequía prolongada se interrumpe por abundantes lluvias (Marone et al., 2000). Así, la distribución intraestacional de las precipitaciones sería un importante factor de control del reclutamiento de plántulas en los ecosistemas dominados por pastos (Lauenroth et al., 1994). Los resultados de este capítulo de la tesis aportan evidencia experimental directa sobre la importancia de un período de sequía en los pastizales donde una considerable fracción de las semillas disminuiría intensamente la dormición, seguido de una estación lluviosa donde, la alta disponibilidad de agua, permitiría la germinación y establecimiento de las plántulas.

Una importante cantidad de plántulas de los bloques sometidos a sequía emergieron bajo condiciones de luz que semejaron la presencia de plantas adultas establecidas. Este comportamiento, aunque significativo, fue menos importante en los bloques a capacidad de campo. Esto indica que parte de las semillas de *Bromus catharticus* que pierden su dormición en el suelo pueden germinar bajo la vegetación establecida. En este caso, además de la emergencia, resulta imprescindible estudiar la supervivencia posterior de las plántulas para comprender la importancia de la germinación bajo el canopeo sobre la dinámica poblacional de *Bromus catharticus*.

CAPÍTULO III

LA INUNDACIÓN INDUCE DORMICIÓN SECUNDARIA EN LAS SEMILLAS DE *SETARIA PARVIFLORA*.

INTRODUCCIÓN

La regulación del nivel de dormición de las semillas por parte del ambiente posibilita que la germinación ocurra en la época más favorable para el crecimiento de las plántulas. El régimen de temperatura es uno de los principales factores ambientales que pueden regular la dormición de las semillas del banco del suelo (Baskin y Baskin, 1980; Bouwmeester et Karssen, 1992, 1993; Batlla y Benech-Arnold, 2005). Sin embargo, otros factores como el ambiente gaseoso del suelo pueden incidir en la determinación del estado de dormición de las semillas particularmente en hábitats inundados (Corbineau y Côme, 1995; Baskin et al., 2000). Dentro de los componentes gaseosos del suelo, la mayor o menor disponibilidad de oxígeno es una de las causas más importantes que pueden afectar la dormición de las semillas. El efecto de las inundaciones sobre la dormición de las semillas depende de la especie que se trate, las semillas de algunas especies entran en dormición secundaria cuando el suelo está inundado, en cambio, otras, atenúan su nivel de dormición (Insausti et al. 1995; Crawford, 2003). En muchas poblaciones una vez que se alcanza un nivel de dormición bajo, se debe terminar mediante distintos tipos de señales ambientales para que pueda producirse la germinación (Benech-Arnold et al., 2000). En semillas de especies pertenecientes a pastizales la dormición se termina cuando son expuestas a la luz o a temperaturas alternadas, señales que están relacionadas con los claros en la vegetación (Thompson y Grime, 1983; Insausti et al., 1995).

Los cambios en el nivel de dormición alteran la sensibilidad de las semillas a los factores que la terminan (Benech-Arnold et al., 2000; Batlla y Benech-Arnold, 2005). Así, las diferentes condiciones experimentadas por las semillas, que modifican su nivel de dormición, también cambian su respuesta a las señales ambientales que posibilitan la germinación (Probert et al., 1985; Noronha et al. 1997; Steadman, 2004). Esta respuesta a las condiciones ambientales durante la posmaduración de las semillas también depende de cada especie en particular, en *Ambrosia tenuifolia*, la inmersión en agua de las semillas provoca un aumento de su sensibilidad a la luz (Insausti et al., 1995), sin embargo, la ausencia de oxígeno causada por las inundaciones puede generar la pérdida de los requerimientos de luz para germinar en las semillas de *Schoenoplectus purshianus* (Fernald) MT Stong. (Baskin et al, 2000).

Las especies del género *Setaria* L. tienen eficientes mecanismos de dormición (Dekker, 2000). En particular, presentan requerimientos de estratificación en frío que les permiten a las semillas atenuar su dormición durante el invierno posibilitando así la sincronización de la germinación con la llegada de la primavera (Dekker, 2000). Además, las semillas presentan una respuesta positiva de la germinación a la alternancia de temperaturas (Dekker, 2000). En *Setaria faberii* L., Dekker y Hargrove (2002) observaron que la salida de la dormición de las semillas está regulada por la tasa de absorción del oxígeno disuelto en el agua de imbibición.

Setaria parviflora (Poir.) Kerguélen es una especie perenne, megatérmica de amplia distribución geográfica y ecológica que habita en diferentes ecosistemas

sometidos a frecuentes disturbios (Dekker, 2000). En los pastizales naturales de la Pampa Deprimida (Provincia de Buenos Aires, Argentina), habita en comunidades situadas en relieves planos con poca pendiente sometidas a inundaciones y en comunidades situadas en posiciones topográficas más altas con suelos mejor drenados, donde ese disturbio no sucede. Sus semillas se dispersan durante el verano y la germinación ocurre en primavera tardía, luego del período de inundación que ocurre durante el invierno o a principios de la primavera.

El objetivo de este capítulo fue estudiar los efectos de las inundaciones inverno-primaverales sobre la dormición de las semillas de *Setaria parviflora* provenientes de dos comunidades de los pastizales de la Pampa Deprimida. Se estudió como este disturbio modula la capacidad de las semillas de percibir las señales asociadas con la apertura de los claros en la vegetación.

MATERIALES Y MÉTODOS

En marzo de 2003 se cosecharon semillas maduras de *Setaria parviflora* en dos poblaciones situadas en sendas comunidades dentro del paisaje Las Chilcas de la Pampa Deprimida, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Burkart *et al*., 1990): 1) Comunidad no inundable (Alto) caracterizado por la presencia de *Melica brasiliana* Ard., *Borreria dasycephala* (Cham. & Schltdl.) Bacigalupo & E. L. Cabral y *Echium plantagineum* L. variante típica asociada a suelos bien drenados, libres de inundaciones y situados en las partes relativamente altas del paisaje y 2) Comunidad inundable (Bajo) caracterizada por *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi,

Ambrosia tenuifolia Spreng., *Eclipta bellidioides* (Spreng.) Sch. Bip. ex S.F. y *Mentha pulegium* L. situada en una posición topográfica más baja con respecto a la comunidad anterior (Fig. III.1). Las semillas se guardaron en bolsas de papel en laboratorio (20 ± 2ºC).

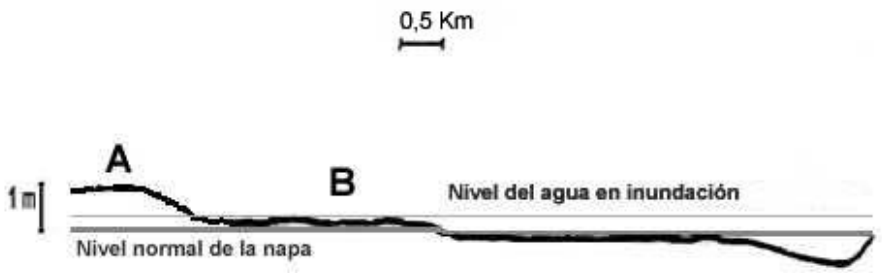

Fig. III.1. Esquema del relieve del pastizal de la Pampa Deprimida donde se realizaron las cosechas de las semillas de *S. parviflora* y los experimentos de campo. A: Alto, B: Bajo.

Antes del inicio de los experimentos se evaluó la germinación con los mismos tratamientos que se mencionan posteriormente. La germinación se evaluó en dos momentos: 1) inmediatamente después de la cosecha y 2) luego de tres meses de almacenadas.

Pretratamientos de las semillas

Con el propósito de estudiar el efecto de las inundaciones sobre el estado de dormición de las semillas de *Setaria parviflora*, se las sometió a diferentes pretratamientos a campo y en laboratorio, para luego, evaluar su germinación en ambos casos bajo las mismas condiciones controladas de laboratorio.

Pretratamientos de campo. Se realizó un experimento de entierros recíprocos de las semillas entre las dos comunidades de origen de las poblaciones de *Setaria parviflora*. El 5 de junio de 2003 se colocaron grupos de 800 semillas dentro de bolsas de tela de poliéster de trama abierta (10 x 8 cm) y se enterraron a 3 cm de profundidad en las dos comunidades. Durante estos pretratamientos se registraron diariamente la temperatura del suelo con termistores y el contenido hídrico volumétrico del suelo con sensores ECHO Probes EC-10 (Decagon Devices, Pullman, USA) instalados en dataloggers Campbell 21-X (Campbell Scientific, Logan, USA).

Se exhumaron las semillas en oscuridad en dos fechas, la primera durante la primavera (27 de noviembre de 2003) a los 6 meses de enterradas, durante el período de inundaciones. La segunda exhumación se realizó durante el verano (23 de enero de 2004) a los 8 meses de enterradas.

Pretratamientos de laboratorio. Se estratificaron las semillas en grupos de 800, puestas en cajas de plástico de 15 x 10 x 6 cm sobre algodón cubierto de papel blanco absorbente humedecido con agua destilada. Otros grupos de semillas se sumergieron bajo 5 cm de agua destilada en las mismas cajas, éstas etuvieron envueltas en polietileno negro opaco y se mantuvieron en incubadora a 5ºC durante 3 meses.

Tratamientos de germinación

Luego de los pretratamientos, las semillas se pusieron a germinar en cajas de poliestireno cristal transparente de 6 x 7 x 1 cm conteniendo algodón y papel blanco absorbente saturados con agua. Se realizaron cuatro repeticiones con 25 semillas cada una de los siguientes tratamientos: 1) R: pulsos de luz roja durante 20 min por día (Tabla III.1), provista por dos tubos fluorescentes Philips TL 40W/15 cubiertos con acetato rojo (La Casa del Acetato, Buenos Aires, Argentina), 2) RL: pulsos de luz rojo lejano durante 20 min por día (Tabla III.1), provista por una lámpara Osram incandescente de cuarzo de 150 W filtradas con 10 cm de agua y filtros Schott RG9 (Schott, Mainz, Germany) de 2 mm de espesor y 3) oscuridad. Estos tratamientos lumínicos se combinaron en un arreglo factorial con dos tratamientos de temperatura 1) Temperatura alternada 20/30ºC (9/15 h día^{-1}) similar al promedio de la temperatura máxima y al promedio de la temperatura mínima que experimentan las semillas en los claros de la vegetación del pastizal, los tratamientos de luz se dieron durante la fase de alta temperatura y 2) temperatura constante de 25ºC.

Tratamiento	λ_{max} nm	R/RL	Irradiancia µmoles fotones $m^{-2}s^{-1}$
R	610	4,09	18
RL	760	0,002	6,3
Osc	-	-	-

Tabla III.1. Tratamientos lumínicos durante la germinación de las semillas de *Setaria parviflora.*

Las semillas se distribuyeron dentro de las cajas bajo luz verde de muy baja intensidad (Burkart y Sánchez, 1969). Las cajas se cubrieron con polietileno negro opaco. A continuación, se expusieron durante 5 días seguidos a los tratamientos de

luz y luego de 10 días se contó el número de semillas germinadas. En el cálculo del porcentaje de germinación se descontaron las semillas muertas a la cantidad total de semillas por caja (Herron et al., 2000). La distinción entre semillas vivas y muertas se realizó en cada repetición sobre la base de la firmeza de las semillas determinada al sujetarlas con una pinza histológica (Steadman, 2004). Al mismo tiempo con otro grupo de semillas sometidas a los mismos pretratamientos se realizaron test con cloruro de tetrazolio (solución de 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (w/v) durante 24 h en oscuridad a 25ºC) para comprobar la viabilidad. Los porcentajes de germinación fueron transformados a proporciones y vueltos a transformar según la fórmula arcoseno $\sqrt{x}$ (Sokal y Rohlf, 1969). Los datos transformados fueron analizados usando análisis de varianza de dos vías (temperatura y luz). Las comparaciones múltiples se realizaron con el test de Tukey ($P<0,05$) (Sokal y Rohlf, 1969). Las diferencias en el comportamiento germinativo entre las poblaciones de semillas cosechadas en el Alto y el Bajo se determinaron por el estudio de la triple interacción: población x temperatura x luz usando un análisis de varianza de tres vías (Sokal y Rohlf, 1969).

RESULTADOS

El porcentaje de germinación de las semillas de *Setaria parviflora* recientemente cosechadas en ambas poblaciones fue nulo en todos los tratamientos de luz y regímenes de temperatura. Sin embargo, luego de tres meses de almacenamiento en laboratorio, las semillas del Alto germinaron más de un 70% cuando se expusieron a

la luz roja, esta germinación fue significativamente mayor que la ocurrida en oscuridad (Fig. III.2a). Por su parte, las semillas del Bajo germinaron en todos los tratamientos a los que fueron expuestas sin mostrar grandes diferencias en las respuestas a ellos (Fig. III.2b). La viabilidad de las semillas cosechadas en el Alto fue del 92% y las del Bajo fue del 96% (b). Este fue el comportamiento de las semillas antes del inicio de los experimentos que se describen abajo.

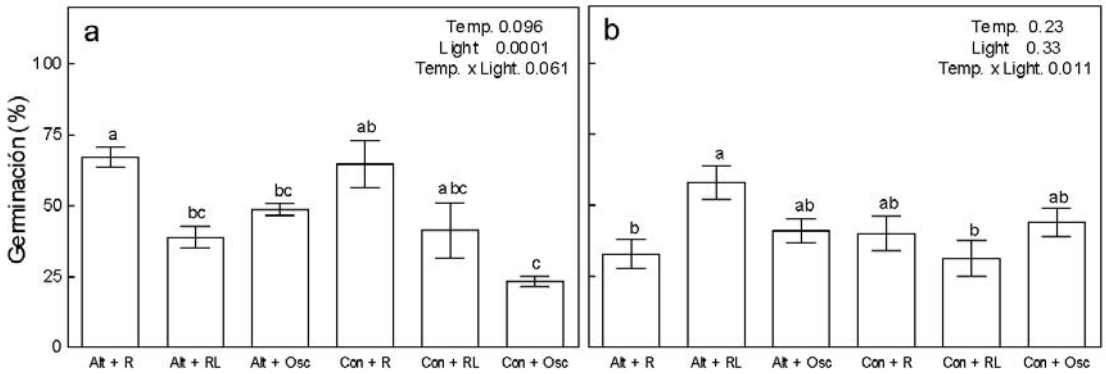

Fig. III.2. Germinación (%) de las semillas de *Setaria parviflora* bajo diferentes tratamientos de luz y temperaura antes del inicio de los experimentos. Semillas cosechadas en el Alto (a) y en el Bajo (b). Alt: Temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: Luz con alto R/RL, RL: Luz con bajo R/RL, Osc: Oscuridad. Los valores son medias ± ES. La significación del ANOVA de dos vías aparece dentro de cada panel (df_{Error}= 18). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Experimento de entierros recíprocos en el campo

Durante el tiempo en que las semillas permanecieron enterradas, el suelo del Bajo estuvo inundado durante varios períodos en el invierno y la primavera, hecho que no ocurrió en el Alto (Fig. III.3a). La primera exhumación de las semillas en el campo se realizó durante una inundación que afectó a la comunidad del Bajo, la segunda exhumación se realizó durante una sequía que afectó a las dos comunidades (Fig.

III.3a). Las semillas enterradas en ambas comunidades estuvieron expuestas a temperaturas medias diarias similares (Fig. III.3b).

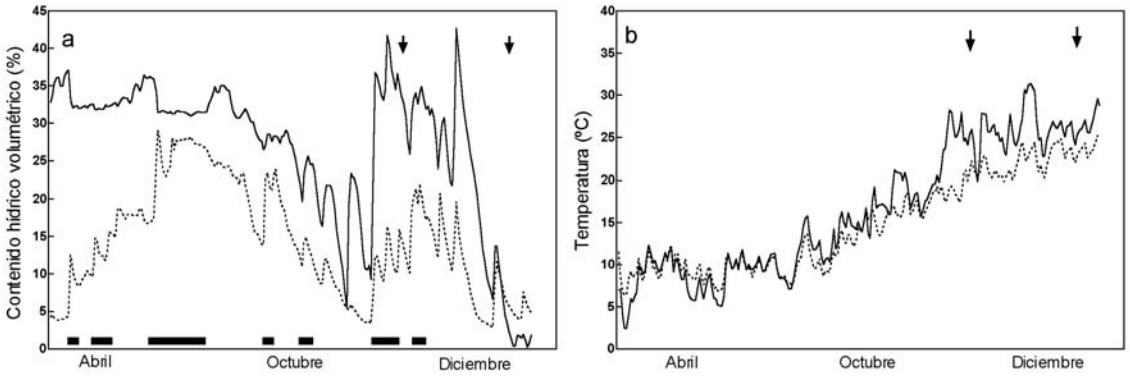

Fig. III.3. Marcha del contenido hídrico volumétrico (a) y la temperatura del suelo (b) del Alto (líneas discontinuas) y del Bajo (líneas continuas) durante el experimento de entierros recíprocos en el campo. La línea negra horizontal sobre el eje de absisas de (a) indica el período de inundaciones en el Bajo. Las flechas indican las fechas de exhumación de las semillas.

Las diferencias en el ambiente del suelo tuvieron una gran influencia sobre la dormición de las semillas de *Setaria parviflora* de ambas poblaciones pero la afectaron de una manera similar. Las semillas exhumadas en la comunidad del Alto durante la primavera germinaron en un mayor porcentaje que las exhumadas en el Bajo (Fig. III.4). Mientras que las semillas enterradas en el Alto germinaron más que antes de los entierros (Fig. III.4a,c), las enterradas en el Bajo germinaron menos y requirieron temperaturas alternadas para terminar la dormición (Fig. III.4b,d). No existieron diferencias significativas en el comportamiento germinativo entre las semillas cosechadas en el Alto y en el Bajo exhumadas de la comunidad del Alto (población x temperatura x luz: P = 0,289). Por otra parte, las semillas cosechadas en el Alto y enterradas en el Bajo fueron más afectadas por el entierro que las

semillas cosechadas en el Bajo (población x temperatura x luz: P = 0,023). La viabilidad de las semillas cosechadas y enterradas en el Alto fue del 84%, la de las semillas cosechadas en el Alto y enterradas en el Bajo fue del 92%, la de las semillas cosechadas en el Bajo y enterradas en el Alto fue del 80% y la de las semillas cosechadas y enterradas en el Bajo fue del 84%.

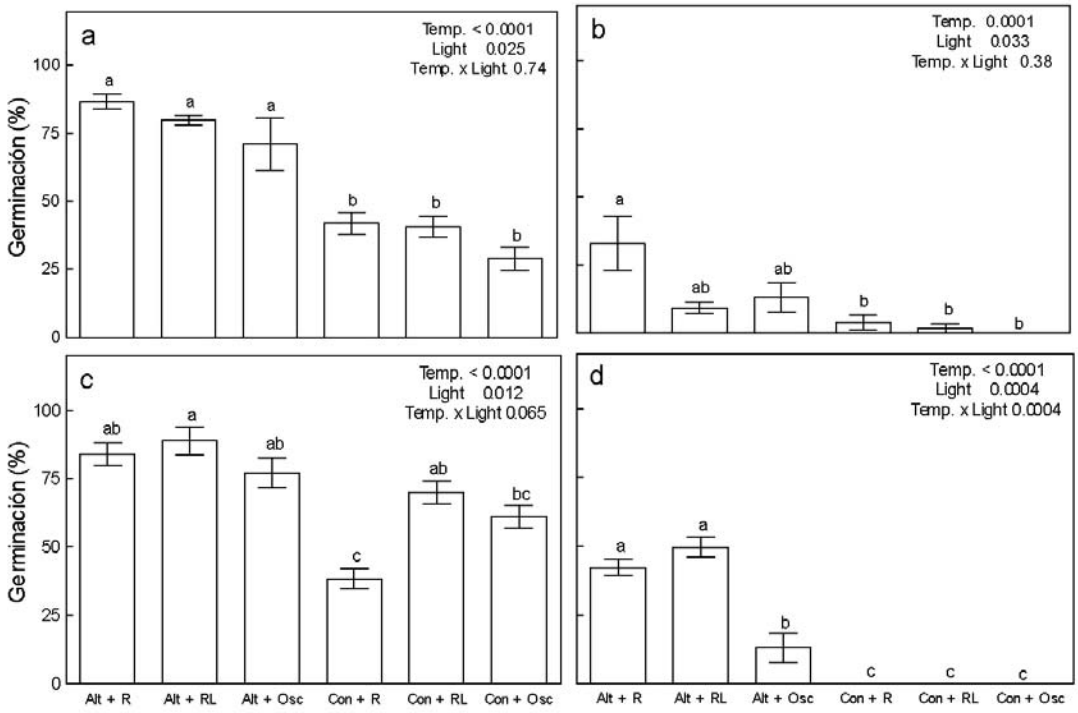

Fig. III.4. Germinación (%) bajo diferentes tratamientos de temperatura y luz de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el Alto (a, b) o en el Bajo (c, d). Las semillas permanecieron enterradas durante 6 meses en el Alto (a, c) o en el Bajo (b, d). Alt: Temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: Luz con alto R/RL, RL: Luz con bajo R/RL, Osc: Oscuridad. Los valores son medias ± ES. La significación del ANOVA de dos vías aparece dentro de cada panel (df_{Error}= 18). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

La germinación de las semillas de *Setaria parviflora* exhumadas durante la sequía de verano fue mayor que en la anterior fecha de exhumación, particularmente en las

condiciones más estimulantes: temperaturas alternadas en combinación con luz (Fig. III.5). Los menores valores de germinación se observaron a temperaturas constantes en ausencia de luz roja, especialmente en las semillas enterradas en el Bajo (Fig. III.5b,d). Se observó que las semillas provenientes de ambas poblaciones enterradas en el Alto mostraron un comportamiento germinativo parecido frente a los tratamientos de temperatura y luz (Fig. III.5a, c; población x temperatura x luz: P = 0,680). Sin embargo, para la misma fecha, las semillas cosechadas en el Bajo estuvieron menos dormidas que las cosechadas en el Alto luego de su exhumación en el Bajo (población x temperatura x luz: P = 0,018). La viabilidad de las semillas cosechadas y enterradas en el Alto fue del 88%, la de las semillas cosechadas en el Alto y enterradas en el Bajo fue del 72%, la de las semillas cosechadas en el Bajo y enterradas en el Alto fue del 76% y la de las semillas cosechadas y enterradas en el Bajo fue del 80%.

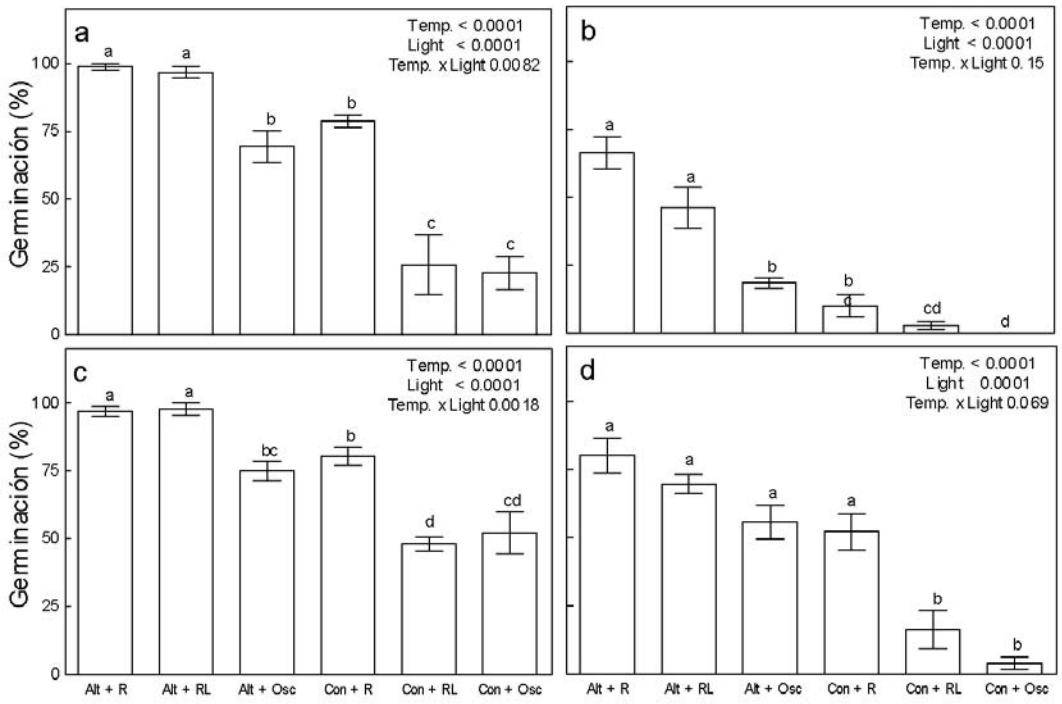

Fig. III.5. Germinación (%) bajo diferentes tratamientos de temperatura y luz de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el Alto (a, b) o en el Bajo (c, d). Las semillas permanecieron enterradas durante 8 meses en el Alto (a, c) o en el Bajo (b, d). Alt: Temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: Luz con alto R/RL, RL: Luz con bajo R/RL, Osc: Oscuridad. Los valores son medias ± ES. La significación del ANOVA de dos vías aparece dentro de cada panel (df_{Error}= 18). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Experimento en laboratorio

Las condiciones del suelo en el experimento de campo sugirieron que la inmersión en agua fue el factor predominante que moduló la dormición secundaria de las semillas de *S. parviflora*. Para probar ésto se hizo un experimento en condiciones controladas de laboratorio.

La incubación de las semillas de *Setaria parviflora* de ambas poblaciones en condiciones de anegamiento disminuyó su capacidad de germinar a temperatura continua (Fig. III.6b, d). La disminución del porcentaje de germinación a

temperatura continua con respecto a la germinación registrada a temperaturas alternadas fue cercana al 45% en las semillas provenientes del Alto y del 42% en las semillas originarias del Bajo (Fig. III.6b, d). En las semillas preincubadas embebidas la diferencia entre el porcentaje de germinación a temperaturas alternadas y a temperatura continua fue menos notable, las semillas originarias del Alto germinaron en promedio un 20% menos a temperaturas continuas que a temperaturas alternadas, en las semillas del Bajo esta disminución fue del 10% (Fig. III.5a, c). El comportamiento de las semillas cosechadas en ambas comunidades no difirió luego de la inmersión en agua (Fig. III.6b, d; población x temperatura x luz: $P = 0{,}354$). Las semillas cosechadas en el Alto estuvieron menos dormidas que las del Bajo después de la preincubación en condiciones hidratadas, sin embargo no se observaron diferencias entre poblaciones en respuesta a los tratamientos (Fig. III.6a, c; población x temperatura x luz: $P = 0{,}486$). La viabilidad de las semillas cosechadas y enterradas en el Alto fue del 92%, la de las semillas cosechadas en el Alto y enterradas en el Bajo fue del 88%, la de las semillas cosechadas en el Bajo y enterradas en el Alto fue del 92% y la de las semillas cosechadas y enterradas en el Bajo fue del 92%.

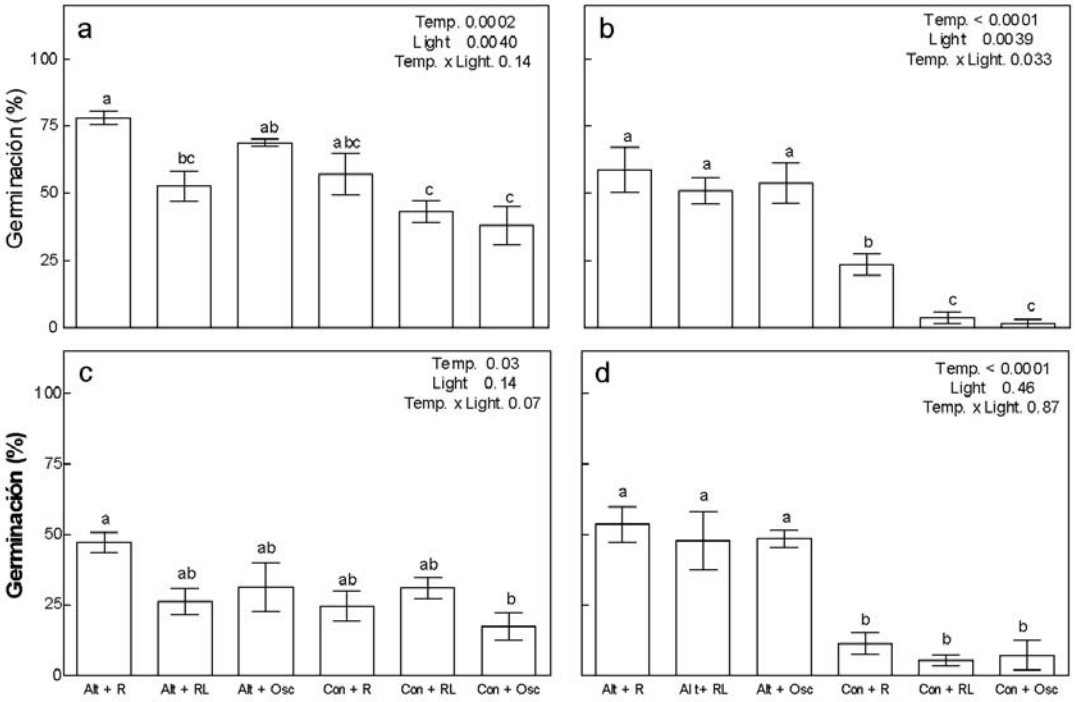

Fig. III.6. Germinación (%) bajo diferentes tratamientos de temperatura y luz de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el Alto (a, b) o en el Bajo (c, d). Las semillas permanecieron incubadas en papel blanco saturado con agua (a, c) o sumergidas en agua (b, d) durante 90 d a 5ºC. Alt: Temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: Luz con alto R/RL, RL: Luz con bajo R/RL, Osc: Oscuridad. Los valores son medias ± ES. La significación del ANOVA de dos vías aparece dentro de cada panel (df_{Error}= 18). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$).

DISCUSIÓN

Las semillas entran en dormición secundaria cuando detectan condiciones ambientales que indican que, en caso de germinar, la supervivencia de las plántulas estará comprometida (Bouwmeester y Karssen, 1992; Hilhorst, 1998). Las inundaciones tienen un rol principal en muchos hábitats debido a sus consecuencias negativas sobre la supervivencia de las plántulas (Crawford, 2003). Los resultados de este capítulo revelaron que una proporción alta de las semillas de *Setaria*

parviflora entran en dormición secundaria durante su permanencia en un suelo inundado, a diferencia de las semillas enterradas en un área cercana no inundable donde las semillas continuaron con la pérdida de la dormición primaria.

La alternancia de temperaturas, como señal ambiental que promueve la germinación de las semillas, es parte de un mecanismo que les permite percibir condiciones ambientales particulares (Thompson et al., 1977; Benech-Arnold et al., 2000). Las semillas de especies pertenecientes a humedales presentan con mayor frecuencia el requerimiento de alternancias de temperaturas que las semillas de especies pertenecientes a otros hábitats, como por ejemplo los pastizales no inundables (Thompson y Grime, 1983). La sensibilidad a la alternancia de temperaturas es un carácter que posiblemente esté muy fuertemente seleccionado en humedales donde, a medida que baja la profundidad del agua, su efecto aislador disminuye y el suelo empieza a experimentar grandes fluctuaciones de temperatura (Thompson y Grime, 1983; Pons y Schroder, 1986; Ekstam y Forseby, 1999). Además, la alternancia de temperaturas adquiere importancia como señal capaz de indicar la presencia de claros en la vegetación, al igual que otras señales como la luz con alta relación R/RL percibida por los fitocromos (Casal y Sánchez, 1998). Se encontró que las semillas de *Ambrosia tenuifolia* provenientes de los pastizales de la Pampa Deprimida germinan en respuesta a la luz con alta relación R/RL en los claros que se producen por la muerte de plantas luego de las inundaciones (Insausti et al., 1995). En las poblaciones estudiadas de *S. parviflora* se observó que la entrada en dormición secundaria se expresó como un aumento en la dependencia de

la alternancia de temperaturas para germinar. Además, para alcanzar la máxima germinación, ese requerimiento debe estar acompañado por señales de luz con alta relación R/RL. La dormición secundaria de las semillas de *S. parviflora* se pierde lentamente luego de terminado el período de inundaciones y aún se detectó dos meses después, durante el verano. Así, la inducción de la dormición secundaria en las semillas de *S. parviflora* impediría no sólo la emergencia de las plántulas cuando el área está inundada (Pons y Schroder, 1986; Ekstam y Forseby, 1999) sino que, además, atrasaría la germinación de una importante fracción de la población hasta pasado el período de inundaciones.

Dentro de una especie, el hábitat es un factor preponderante en la selección natural de los mecanismos de regulación de la germinación (Meyer et al. 1997; Donohue et al., 2005). Remarcablemente, en las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en la población de la comunidad no inundable se observó esencialmente el mismo comportamiento frente a la inundación que en las semillas cosechadas en la comunidad inundable. La ausencia de diferencias sustanciales en el comportamiento germinativo en respuesta a las inundaciones entre las dos poblaciones podría deberse a que la proximidad entre las comunidades es alta. Sin embargo, algunas diferencias se detectaron en el nivel de la dormición secundaria inducido por las inundaciones en cada una de las poblaciones. Estas diferencias se notaron en el experimento de campo pero no luego de la inmersión en agua en condiciones controladas de laboratorio lo que significaría que existe algún otro factor edáfico implicado en la determinación de la dormición.

Estos resultados apoyan la hipótesis que el requerimiento de alternancia de temperaturas puede ayudar a las semillas a prevenir la germinación durante una inundación y, además, demuestran que la inundación es en sí una señal ambiental que induce la respuesta a la alternancia de temperaturas.

CAPÍTULO IV

VARIABILIDAD INTRAESPECÍFICA EN LA DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS DE *SETARIA PARVIFLORA*. COMPORTAMIENTO DE LAS SEMILLAS PROVENIENTES DE PASTIZALES SERRANOS, SUCESIONES POST-AGRÍCOLAS Y PASTIZALES INUNDABLES.

INTRODUCCIÓN

Las plántulas de las especies que tienen amplia distribución geográfica y ecológica están sujetas a diferentes factores de mortalidad a lo largo de su rango ambiental (Vandvik y Vange, 2003). Esto hace que la selección natural beneficie o perjudique a distintos rasgos en los diversos hábitats y, así, que provoque, entre poblaciones localmente adaptadas, variantes fenotípicas de origen genotípico en la respuesta de la germinación a los factores ambientales (Vandvik y Vange, 2003, Donohue et al., 2005). Así, el estudio de la relación entre el comportamiento germinativo de las poblaciones y sus diferentes hábitats puede permitir la detección de estrategias asociadas con la dormición de las semillas que favorezcan la supervivencia de los individuos.

Muchas de las especies de los pastizales pueden encontrarse en una gran variedad de hábitats y, aunque presentan requerimientos específicos para terminar la dormición, tienen la capacidad de germinar en una amplio rango de condiciones ambientales (Vandvik y Vange, 2003). En cambio, las semillas de las especies de humedales tienden a ser más especialistas en su comportamiento y sus plántulas pueden reclutarse en un rango estrecho de condiciones (Moore y Keddy, 1988; Bakker et al., 2007). En las especies de humedales temporarios la dormición secundaria se refuerza en condiciones desfavorables. Por su parte, las semillas de las especies asociadas a sistemas agrícolas como las malezas o las sucesionales tempranas, también entran en dormición secundaria cuando experimentan condiciones ambientales subóptimas (por ejemplo, anoxia en el suelo) (Bazzaz,

1996; Benech-Arnold et al., 2000). Así, especies como *Setaria parviflora*, con una amplitud ecológica que abarca todos estos hábitats, podrían tener poblaciones localmente adaptadas (ecotipos) con respecto a su respuesta a los factores ambientales que afectan la dormición de sus semillas.

El nivel de dormición de las semillas puede verse afectado por las inundaciones (Insausti et al., 1995; Baskin y Baskin, 1998; Capítulo 3). En el capítulo anterior observé que las semillas de plantas de *Setaria parviflora* provenientes de dos comunidades de la Pampa Deprimida, una inundable y otra no, luego de permanecer un tiempo sumergidas en agua entraron en dormición secundaria. Esta respuesta podría considerarse adaptativa, preferencialmente en ecosistemas inundables (Capítulo 3). Así, el comportamiento parecido frente a la inundación en ambas poblaciones sugeriría que esta respuesta podría ser característica de la especie.

Las señales que terminan la dormición y promueven la germinación, como la luz, la alternancia de temperaturas y los nitratos, están generalmente asociadas a la percepción por parte de las semillas de los claros en la vegetación (Probert et al., 1986; Pons, 1989; Casal y Sánchez, 1998). Sin embargo, la alternancia de temperaturas también está asociada al hábitat, siendo más frecuente en las especies de humedales que en las de otros ambientes (Thompson y Grime, 1983). Por otra parte, Hilhorst y Karssen (2000) sugieren que la presencia de nitratos podrían indicar características del hábitat que están relacionados con el tipo y pH del suelo, su humedad y las prácticas de cultivo. Las inundaciones también provocan cambios en la concentración de nitratos en el suelo. Esto ocurre debido a que el proceso de

nitrificación depende de la disponibilidad de oxígeno, en cambio, la denitrificación se ve favorecida en condiciones de anaerobiosis como las que predominan en condiciones de inundación (Koschorreck y Darwich, 2003). Por lo tanto, es probable que para las especies adaptadas a ecosistemas inundables, la presencia de nitratos en el medio pueda ser otra señal ambiental que indique a las semillas la ausencia de inundaciones. Además de la concentración externa de nitratos, la respuesta a ellos depende de la sensibilidad de las semillas. En *Sisymbrium officinale* (L.) Scop, el ritmo de dormición estacional está acompañado por cambios en la sensibilidad a la luz y a los nitratos, siendo más baja en los momentos donde la dormición es profunda (Bewley y Black, 1994). Así, la sensibilidad a los nitratos también podría ser un rasgo que diferencie a las poblaciones de una especie según su hábitat. Hasta el momento no existen trabajos en la bibliografía donde se explore la posibilidad de que la disponibilidad de nitratos actúe como una señal que indique a las semillas la ausencia de inundaciones.

El objetivo de este capítulo es estudiar si la dormición de las semillas de *Setaria parviflora* pertenecientes a distintos hábitats se expresa en forma diferencial frente a la inundación y a las señales ambientales que terminan la dormición. Las posibles diferencias se buscaron entre poblaciones de *S. parviflora* pertenecientes a pastizales serranos, sucesiones post-agrícolas y pastizales inundables, debido a que es posible que las diferencias ambientales entre estos hábitats redunden en diferentes estrategias en la regulación de la germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localidades de colección de las semillas

En marzo de 2004 y de 2006 se cosecharon semillas de *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelén en el Cerro El Cuadrado, departamento de Punilla, provincia de Córdoba (31º07'39,2''S 64º21' 34,9''W) a los 1030 msm, exposición de la ladera sudeste. Es un pastizal serrano templado subhúmedo, de pastos cespitosos altos que habitan en un suelo somero formado sobre un sustrato granítico. Sus especies más representativas son: *Festuca hieronymi* Hack., *Festuca tucumanica* E.B. Alexeeb, *Paspalum cromyorrhyzon* Trin ex Döll, *Stipa eriostachya* H.B.K., *Stipa tenuissima* Trin., *Deyeuxia hieronymi* (Hack.) Türpe, *Melica* sp., *Briza* sp. y dicotiledóneas como *Eryngium nudicaule* Lam., *Eryngium agavifolium* Griseb., *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze, etc. La temperatura media de Enero es 22,2ºC, la temperatura media de Julio es 10,1ºC y las precipitaciones son de 825 mm anuales.

En marzo de 2004 se cosecharon semillas de *S. parviflora* en la Estancia San Rafael, localidad de Manuel Ocampo, partido de Pergamino, provincia de Buenos Aires (33º44'32,8''S 60º34'2,5''W)a los 88msm. Es un pastizal proveniente de una sucesión post-agrícola dominada por gramíneas como *Festuca arundinacea* Schreb., *Paspalum dilatatum* Poir., *Cynodon dactilon* (L.) Pers., *Stipa neesiana* Trin. & Rupr. y dicotiledóneas como *Spergularia* sp. y *Baccharis pingraea* D.C. Es suelo es un Argiudol típico. En marzo de 2006 las semillas se cosecharon en la Estación Experimental INTA Pergamino. El pastizal también provino de una sucesión post-

agrícola dominada por gramíneas como *Paspalum dilatatum*, *Cynodon dactilon* y *Bromus catharticus* así como dicotiledóneas como *Carduus acanthoides* L., *Baccharis sp., Conyza sp.*, etc.. La temperatura media de Enero es 23,3ºC, la temperatura media de Julio es 9,2ºC y las precipitaciones son de 1021 mm anuales.

En marzo de 2004 y de 2006 se cosecharon semillas en la Estancia Las Chilcas, partido de Pila, provincia de Buenos Aires. El sitio es un área representativa de los pastizales inundables de la Pampa Deprimida (Burkart et al., 1990) (36º13'22,6''S 58º18'35,9''W) a los 27msm. Las semillas se cosecharon en un pastizal inundable (Bajo) de *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi, *Ambrosia tenuifolia, Jaegeria hirta* (Lag.) Less. *y Mentha pulegium* L.El suelo es un Natracuol típico. La temperatura media de Enero es 21,9ºC, la temperatura media de Julio es 8,1ºC, las precipitaciones son de 1024 mm anuales.

Las semillas cosechadas en el año 2004 de las diferentes poblaciones se almacenaron en bolsas de papel en laboratorio durante 3 meses antes del comienzo de los pretratamientos (temperatura: 20 ± 2ºC). En cambio, las semillas del año 2006 se almacenaron en cámara a –10ºC inmediatamente después de la cosecha y hasta la imposición de los pretratamientos.

Pretratamientos de las semillas

Se sometió a las semillas de *Setaria parviflora* a pretratamientos en el laboratorio y a campo con el propósito de estudiar el efecto de las diferentes condiciones sobre

su dormición. En todos los casos se evaluó la germinación de las semillas en condiciones controladas de laboratorio.

Pretratamientos en el laboratorio. Las semillas de todas las poblaciones de *Setaria parviflora,* cosechadas en los años 2004 y 2006, se estratificaron en grupos de 200 y fueron dispuestas en cajas de plástico de 15 x 10 x 6 cm sobre algodón cubierto de papel blanco absorbente humedecido con agua destilada. Otros grupos de semillas se sumergieron bajo 5 cm de agua destilada en cajas similares. Las cajas se envolvieron en polietileno negro opaco y se mantuvieron en incubadora a 5ºC durante 2 meses.

Pretratamientos en mesocosmos. Semillas de las poblaciones de *Setaria parviflora* del año 2006 se enterraron en junio de ese mismo año en el suelo de un pastizal de la Pampa Deprimida. Se colocaron grupos de 200 semillas dentro de bolsas de tela de poliéster de trama abierta (10 x 8 cm) y se enterraron a 3 cm de profundidad. Luego de permanecer enterradas durante dos meses, las semillas se exhumaron en oscuridad junto con el suelo asociado (mesocosmos) y se colocaron en cajones de 20 x 20 x 25 cm con orificios de drenaje. La mitad de los mesocosmos se inundaron (profundidad= 2cm). La otra mitad fue diariamente regada, permitiendo el drenaje de los cajones. Luego de 20 días se exhumaron las semillas en oscuridad y se llevaron a germinar al laboratorio.

Pretratamientos de Campo. Las semillas de todas la poblaciones de *Setaria parviflora* del año 2006 se enterraron en dos comunidades situadas en la Estancia Las Chilcas, partido de Pila, provincia de Buenos Aires: 1) Comunidad no inundable

(Alto) de *Melica brasiliana* Ard., *Borreria dasycephala* (Cham. & Schlidl) Bacigalupo y E.L. Cabral y *Echium plantagineum* L. variante típica, asociada a suelos bien drenados y 2) Comunidad inundable (Bajo) mencionada anteriormente. El 14 de junio de 2006 se colocaron grupos de 200 semillas dentro de bolsas de tela de poliéster de trama abierta (10 x 8 cm) y se enterraron a 3 cm de profundidad en las dos comunidades. Las semillas se exhumaron en oscuridad en dos oportunidades, el 24 de agosto de 2006 y el 3 de febrero de 2007. Luego de la exhumación las semillas se pusieron a germinar en condiciones controladas de laboratorio.

Tratamientos de germinación

Las semillas de *Setaria parviflora* se pusieron a germinar en cajas de poliestireno cristal transparente de 6 x 7 x 1 cm conteniendo algodón y papel blanco absorbente saturados con agua destilada (cosecha del 2004) o papel de filtro saturado con agua destilada o con KNO_3 0,05 M (cosecha del 2006). Esta concentración de nitratos es la óptima para promover la germinación de las semillas dormidas y, además, es representativa de la situación de muchos suelos (Hilhorst, 2000). Sobre las semillas cosechadas en el 2004 se realizaron cuatro repeticiones con 25 semillas cada una de los siguientes tratamientos: 1) R: pulsos de luz roja durante 20 min por día (TablaIV.1), provista por dos tubos fluorescentes Philips TL 40W/15 cubiertos con acetato rojo (La Casa del Acetato, Buenos Aires, Argentina), 2) RL: pulsos de luz rojo lejano durante 20 min por día (TablaIV.1), provista por una lámpara Osram incandescente de cuarzo de 150W filtradas con 10 cm de agua y filtros Schott RG9

(Schott, Mainz, Germany) de 2 mm de espesor y 3) oscuridad. Estos tratamientos lumínicos se combinaron con dos tratamientos de temperatura: a) Temperatura alternada 20/30ºC (9/15 h día^{-1}) similar al promedio de la temperatura máxima y al promedio de la temperatura mínima que experimentan las semillas en los claros de la vegetación del pastizal, los tratamientos de luz se dieron durante la fase de alta temperatura y b) Temperatura constante de 25ºC. Las semillas del 2006 se pusieron a germinar bajo los tratamientos 1) (R), 3) (oscuridad) y bajo el tratamiento de temperaturas alternadas 20/30ºC (9/15 h día^{-1}) en oscuridad. En este caso se agregaron otros dos tratamientos a temperatura constante (25ºC): I) Incubación en solución de KNO_3 0,05M y pulsos de luz roja durante 20 min por día y II) Incubación en solución de KNO_3 0,05M en oscuridad.

Tratamiento	λ_{max} nm	R/RL	Irradiancia µmoles fotones $m^{-2}s^{-1}$
R	610	4,09	18
RL	760	0,002	6,3
Osc	-	-	-

Tabla IV.1. Tratamientos lumínicos durante la germinación de las semillas de *Setaria parviflora.*

Las semillas se distribuyeron dentro de las cajas bajo luz verde de muy baja intensidad (Burkart y Sánchez, 1969). Las cajas fueron cubiertas con polietileno negro opaco. Se registró el porcentaje de germinación luego de diez días de incubación en los diferentes tratamientos. En el cálculo del porcentaje de germinación se descontaron las semillas muertas a la cantidad total de semillas por caja (Herron et al., 2000). La distinción entre vivas y muertas se realizó en cada repetición sobre la base de la firmeza de las semillas determinada al sujetarlas con

una pinza histológica (Steadman, 2004). Este procedimiento no se realizó en las semillas exhumadas en el campo el 31 de diciembre de 2007, en este caso se determinaron las semillas potencialmente viables antes de ponerlas a germinar. En todos los casos, con otro grupo de semillas sometidas a los mismos pretratamientos, se realizaron test con cloruro de tetrazolio para estudiar la viabilidad. El porcentaje de germinación se transformó de acuerdo al arcoseno $\sqrt{x}$ y los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVAs. Las comparaciones múltiples se realizaron con el test de Tukey ($P<0,05$) (Sokal y Rohlf, 1969).

RESULTADOS

La inmersión en agua bajo condiciones controladas indujo diferencias en la dormición entre las poblaciones de Setaria parviflora

Las semillas de las distintas poblaciones de *Setaria parviflora* se incubaron en laboratorio sobre papel blanco absorbente saturado con agua y en condiciones de inmersión para luego evaluar el efecto de los pretratamientos sobre la dormición. Antes del inicio de estos pretratamientos, una pequeña proporción de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el 2004 estaba despierta. Hubo diferencias significativas en la respuesta de las tres poblaciones a los distintos tratamientos de temperatura y de luz (Tabla Anexo I.1; Fig. IV.1). La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado fue del 96%, la de Pergamino y Las Chilcas fue del 92%.

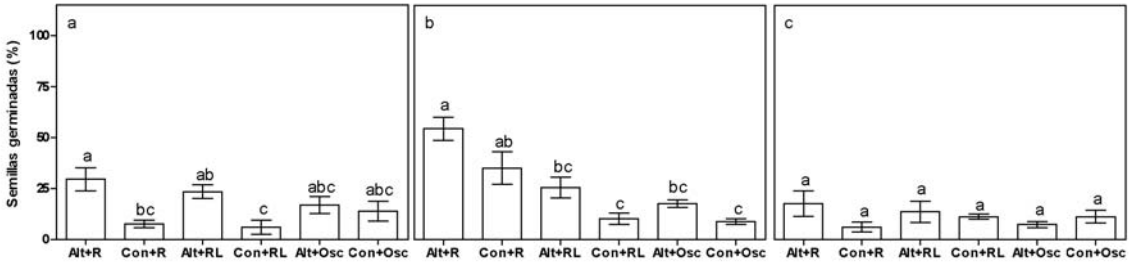

Fig. IV.1. Porcentaje de germinación bajo tratamientos luz y temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el año 2004 antes del comienzo de los pretratamientos. Semillas cosechadas en Cerro El Cuadrado (a), en Pergamino (b), en Las Chilcas (c). Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: luz con alta relación R/RL, RL: luz con baja relación R/RL, Osc: oscuridad. Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$).

Los pretratamientos de incubación en el laboratorio tuvieron una considerable influencia sobre el comportamiento germinativo de las semillas de las diferentes poblaciones de *Setaria parviflora*. Las semillas que permanecieron inundadas a 5ºC germinaron diferencialmente frente a los tratamientos de temperatura (Tabla Anexo I.1; Fig. IV.2). Luego de la inmersión en agua la única población cuya germinación fue promovida por las temperaturas alternadas en todos los tratamientos lumínicos fue la de las Chilcas (Fig. IV.2e). En contraste, las semillas del Cerro El Cuadrado y de Pergamino germinaron en altos porcentajes en todos los tratamientos (Fig. IV.2a,c). Luego de estar embebidas durante dos meses a 5ºC, las distintas poblaciones de semillas de *S. parviflora* también germinaron de manera diferente frente a los tratamientos de temperatura (Tabla Anexo I.1; Fig. IV.2). En este caso, la germinación de las semillas del Cerro El Cuadrado fue promovida por las temperaturas alternadas, esto no ocurrió en las demás poblaciones donde las semillas tuvieron valores de germinación considerablemente altos en todos los tratamientos

(Fig. IV.2b,d,f). La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado, sumergidas en agua y embebidas fue del 88% y del 84% respectivamente, asimismo, la viabilidad de las de Pergamino fue del 80% y 84%, la de las semillas de Las Chilcas fue del 92% para las semillas sumergidas y del 88% en las embebidas.

Estos resultados indican que las semillas sumergidas del Cerro El Cuadrado pierden considerablemente la dormición estando inundadas, hecho que no ocurre en las semillas de los pastizales inundables de Las Chilcas. En cambio, cuando no están sumergidas, las semillas de las Chilcas diminuyen más intensamente su dormición que las del Cerro El Cuadrado.

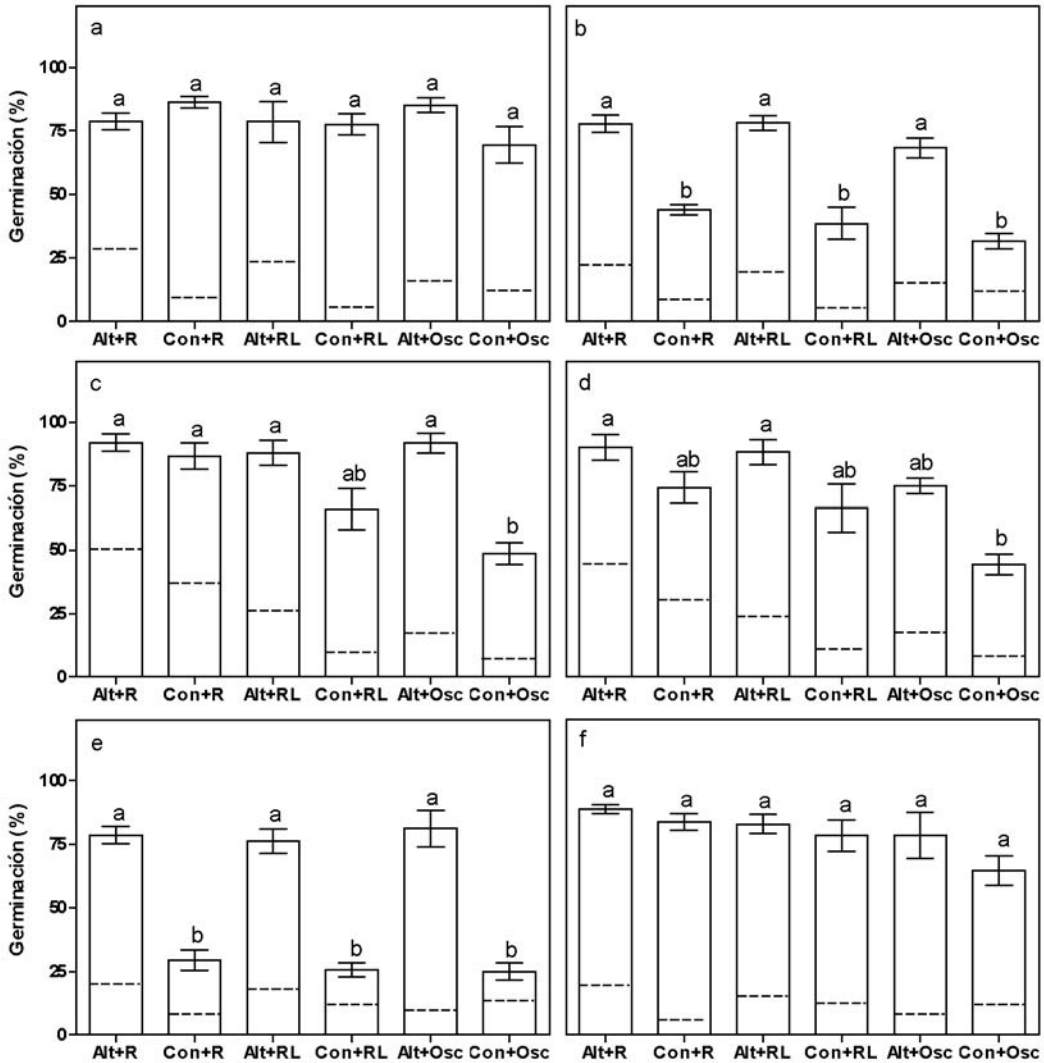

Fig. IV.2. Porcentaje de germinación bajo diferentes tratamientos de luz y temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el año 2004 y después de permanecer sumergidas en agua (a,c,e) o embebidas (b,d,f) durante dos meses a 5ºC. Semillas cosechadas en el Cerro El Cuadrado (a,b), semillas cosechadas en Pergamino (c,d), semillas cosechadas en Las Chilcas (e,f). Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC), Con: Temperatura continua (25ºC), R: luz con alta relación R/RL, RL: luz con baja relación R/RL, Osc: oscuridad. Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$). Las líneas discontínuas sobre cada columna indican la germinación inicial antes de los pretratamientos.

Las semillas de todas las poblaciones de *S. parviflora* del año 2006 no germinaron inmediatamente después del almacenamiento en seco a –10ºC. En las

semillas de estas poblaciones la inmersión provocó diferencias en la respuesta a los tratamientos (Tabla Anexo I.2; Fig. IV.3a,c,e). Las semillas de los pastizales serranos del Cerro El Cuadrado perdieron en gran medida la dormición primaria y germinaron considerablemente en muchos de los tratamientos (Fig. IV.3a) especialmente en los tratamientos relacionados con la presencia de nitratos en el medio (Fig. IV.3a). Este comportamiento no se observó en las semillas de Pergamino ni en las de Las Chilcas que permanecieron en su mayoría dormidas (Fig. IV.3c,e). Estas mismas poblaciones, después de haber permanecido embebidas a 5ºC durante 3 meses, también mostraron diferencias entre ellas en el porcentaje de germinación en respuesta a los diferentes tratamientos (Tabla Anexo I.2; Fig. IV.3b,d,f). Estas diferencias se debieron principalmente a la capacidad que adquirieron las semillas embebidas del Cerro El Cuadrado de germinar en presencia de nitratos, especialmente en combinación con luz (Fig. IV.3b). Este efecto también se observó en las semillas de Pergamino aunque con mucha menor intensidad (Fig. IV. 3d) y no se observó en las semillas de Las Chilcas (Fig. IV. 3f). La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado, sumergidas en agua y embebidas fue del 84% y del 88% respectivamente, asimismo, la viabilidad de las de Pergamino fue del 64% y 70%, la de las semillas de Las Chilcas fue del 84% en ambos pretratamientos.

Los resultados de ambos experimentos realizados en el laboratorio fueron congruentes en cuanto a que la atenuación de la dormición de las semillas del Cerro El Cuadrado es más conspicua en condiciones de inmersión en agua que en el caso de las semillas embebidas.

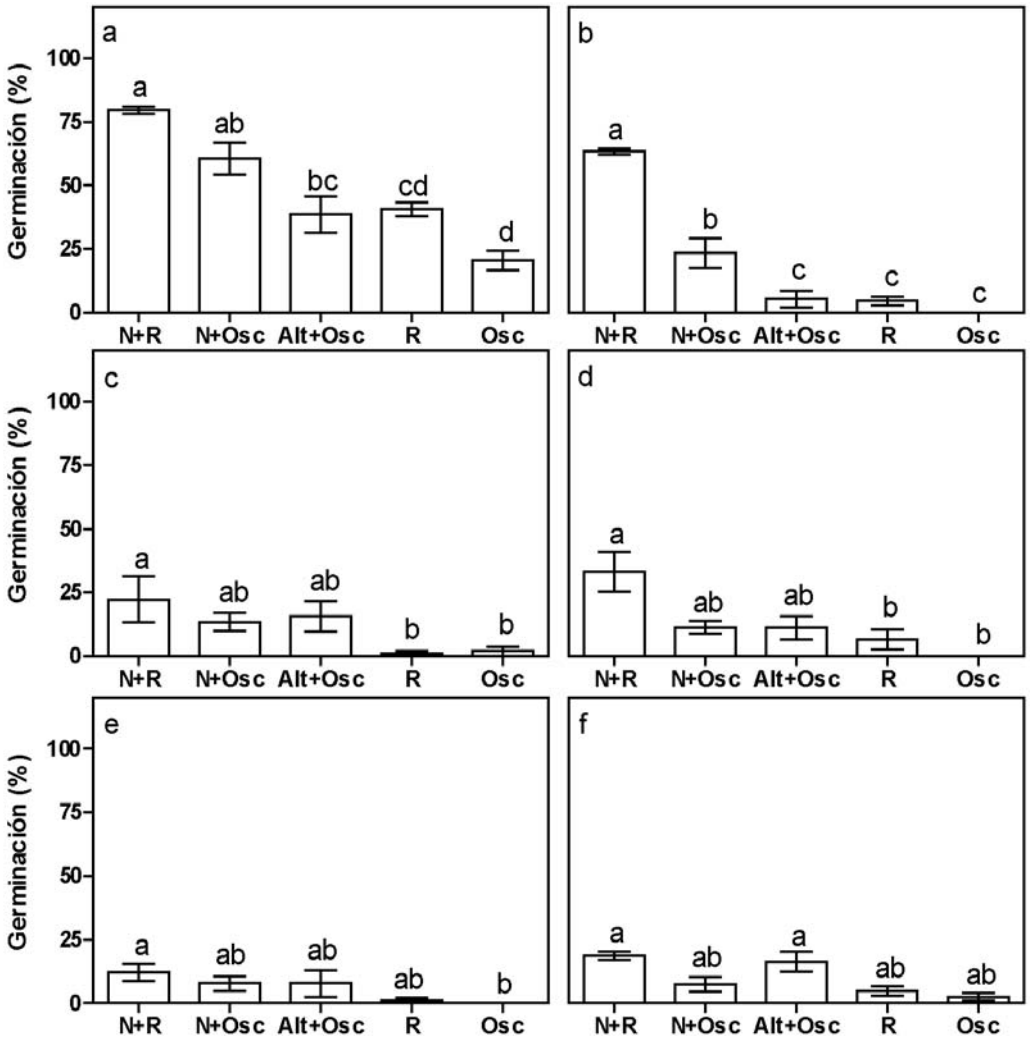

Fig. IV.3 Porcentaje de germinación bajo diferentes tratamientos de nitratos, luz y de temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el año 2006 y después de permanecer sumergidas en agua (a,c,e) o embebidas (b,d,f) durante dos meses a 5ºC. Semillas cosechadas en Cerro El Cuadrado (a,b), en Pergamino (c,d), en Las Chilcas (e,f). N: solución de KNO_3 0,05M, R: luz con alta relación R/RL, Osc: oscuridad, Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$).

La inundación en los mesocosmos también afectó diferencialmente a la dormición de las semillas de las poblaciones de Setaria parviflora

En los ensayos en mesocosmos se repitieron buena parte de los efectos que tuvieron los pretratamientos de laboratorio sobre la dormición de las semillas de las diferentes poblaciones de *Setaria parviflora*. Las poblaciones de semillas de los mesocosmos inundados mostraron diferencias significativas entre ellas en la germinación como respuesta a los tratamientos (Anexo I.3; Fig. IV.4a,c,e). Esto también se observó en las semillas de los mesocosmos drenados (Anexo I.3; Fig. IV. 4b,d,f). Las semillas del Cerro El Cuadrado de los mesocosmos inundados se despertaron y germinaron considerablemente en todos los tratamientos (Fig. IV.4a), en cambio, las semillas de los mesocosmos drenados germinaron considerablemente sólo a temperaturas alternadas. Las semillas de Las Chilcas de los mesocosmos inundados mostraron requerimientos de alternancia de temperaturas o de nitratos en presencia de luz para alcanzar la máxima germinación (Fig. IV.4d). En cambio, las semillas de los mesocosmos drenados germinaron en un alto porcentaje y no discriminaron entre tratamientos (Fig. IV.4f). Por su parte, las semillas de Pergamino de los mesocosmos tanto inundados como drenados no mostraron en general requerimientos específicos para germinar (Fig. IV.4d,c). La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado enterradas tanto en los mesocosmos inundados como en los drenados fue del 96%, asimismo, la viabilidad de las de Pergamino fue del 60% y 56%, respectivamente, la de las semillas de Las Chilcas fue del 68% para las semillas enterradas en los mesocosmos inundados y del 64% para las enterradas en los drenados.

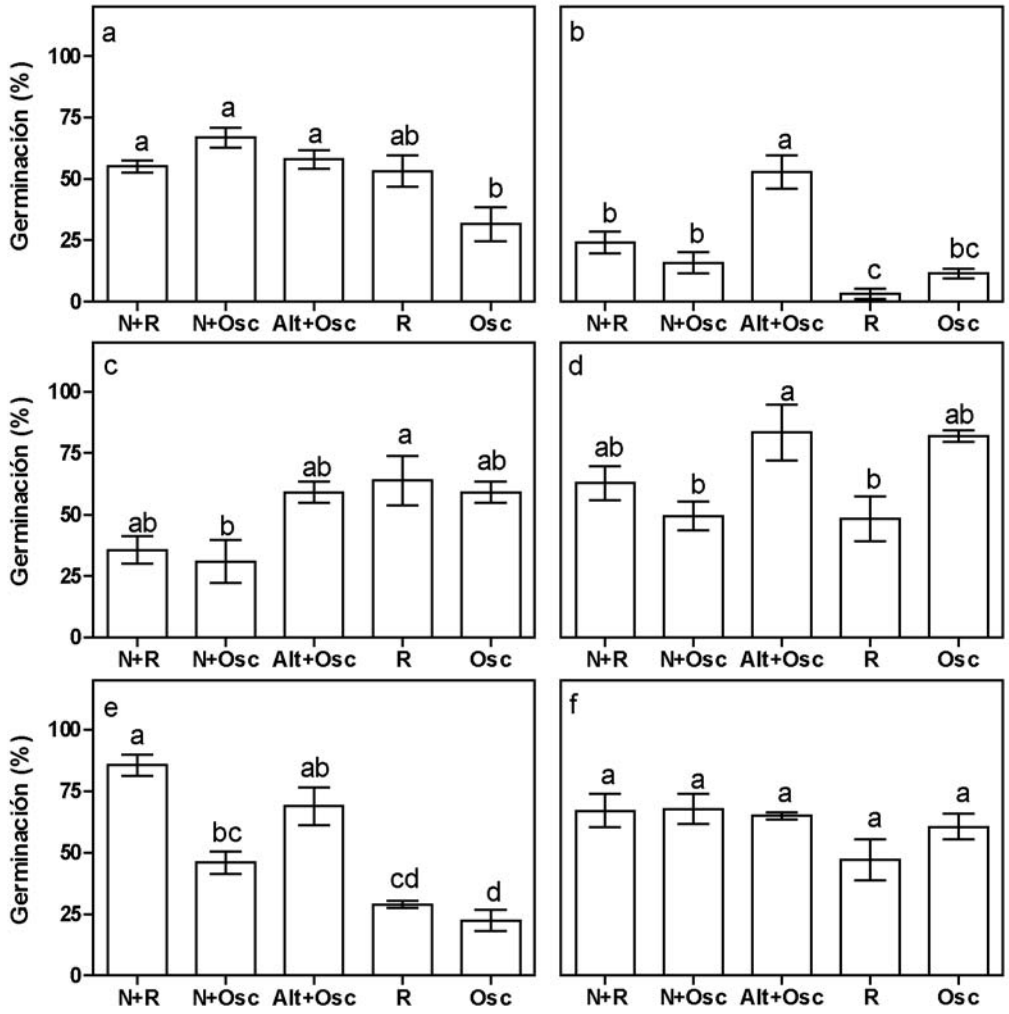

Fig. IV.4 Porcentaje de germinación bajo tratamientos de nitratos, luz y temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* que permanecieron durante 20 días en mesocosmos inundados (a,c,e) o regados diariamente (b,d,f). Semillas cosechadas en cerro El Cuadrado (a,b), en Pergamino (c,d), en Las Chilcas (e,f). N: solución de KNO_3 0,05M, R: luz con alta relación R/RL, Osc: oscuridad, Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$).

Las semillas de las poblaciones de Setaria parviflora mostraron diferencias en su comportamiento germinativo luego de estar enterradas en el campo

Las semillas de las distintas poblaciones de *Setaria parviflora* se enterraron en una comunidad inundable y en una no inundable del pastizal para evaluar el efecto

de las condiciones edáficas sobre la dormición. El suelo de la comunidad inundable donde estaban enterradas las semillas permaneció anegado durante varios períodos previos a la fecha de exhumación (Fig. IV.5). Las semillas exhumadas en esta comunidad inundable mostraron diferencias significativas entre poblaciones en la respuesta germinativa frente a los tratamientos (Tabla Anexo I.4; Fig. IV.6a,c,e). Las semillas de los pastizales serranos del Cerro El Cuadrado germinaron considerablemente en todos los tratamientos (Fig. IV.6a). Lo mismo ocurrió con las semillas de Pergamino (Fig. IV.6c). En cambio, las semillas de Las Chilcas enterradas en la comunidad inundable germinaron substancialmente menos a temperatura constante. Estas semillas mostraron que la combinación de nitratos y luz por una parte, y las temperaturas alternadas por otra, aumentaron significativamente la germinación comparado con los tratamientos a temperatura continua (Fig. IV.6e). Las poblaciones de semillas exhumadas de la comunidad no inundable (Alto) también mostraron diferencias en la germinación en respuesta a los tratamientos (Tabla Anexo I.4; Fig. IV.6b,d,f). Las semillas del Cerro El Cuadrado germinaron en respuesta a los nitratos y a las temperaturas alternadas, en cambio, una fracción importante de las semillas permaneció dormida a temperaturas constantes sin nitratos (Fig. IV.6b). Las semillas de Pergamino germinaron especialmente a temperaturas alternadas, el resto de los tratamientos no tuvieron mayores efectos que el control (Fig. IV.6d). Por su parte, las semillas de Las Chilcas exhumadas del Alto germinaron con similares porcentajes cercanos al 25% en todos los tratamientos (Fig. IV.6f). La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado, enterradas en el Bajo y

en el Alto fue del 92% y del 96% respectivamente, asimismo, la viabilidad de las de Pergamino fue del 72% tanto en el Alto como en el Bajo y la de las semillas de Las Chilcas fue del 72% para las semillas enterradas en el Alto y del 80% para las enterradas en el Bajo.

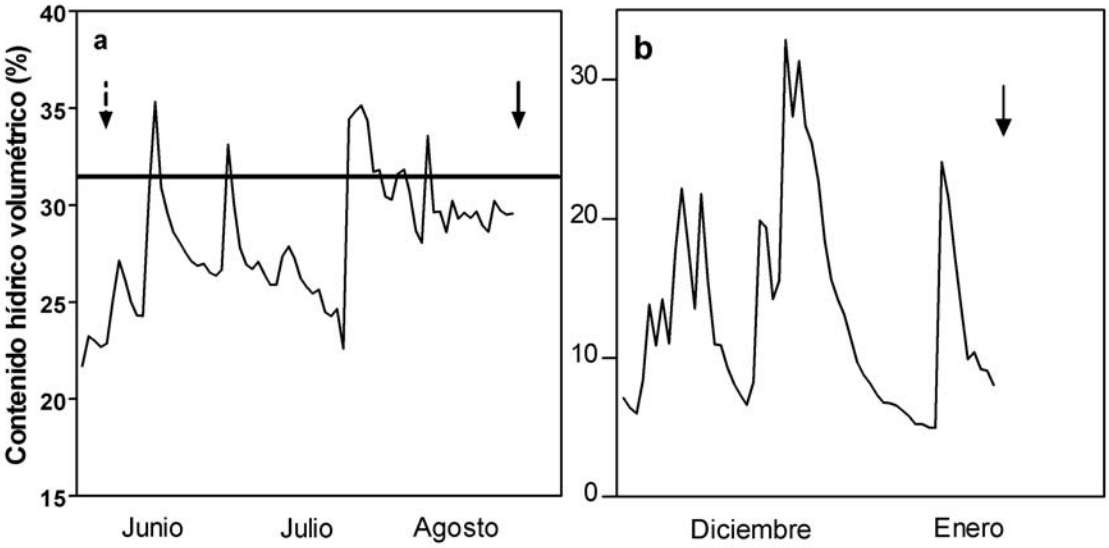

Fig. IV.5. Contenido hídrico volumétrico del suelo del Bajo antes de la exhumación del invierno (a) y de la de verano (b). La línea horizontal en (b) representa el contenido hídrico del suelo anegado. La flecha con línea discontínua indica el momento de entierro (a) las que tienen línea contínua indican el momento de exhumación de las semillas (a, b).

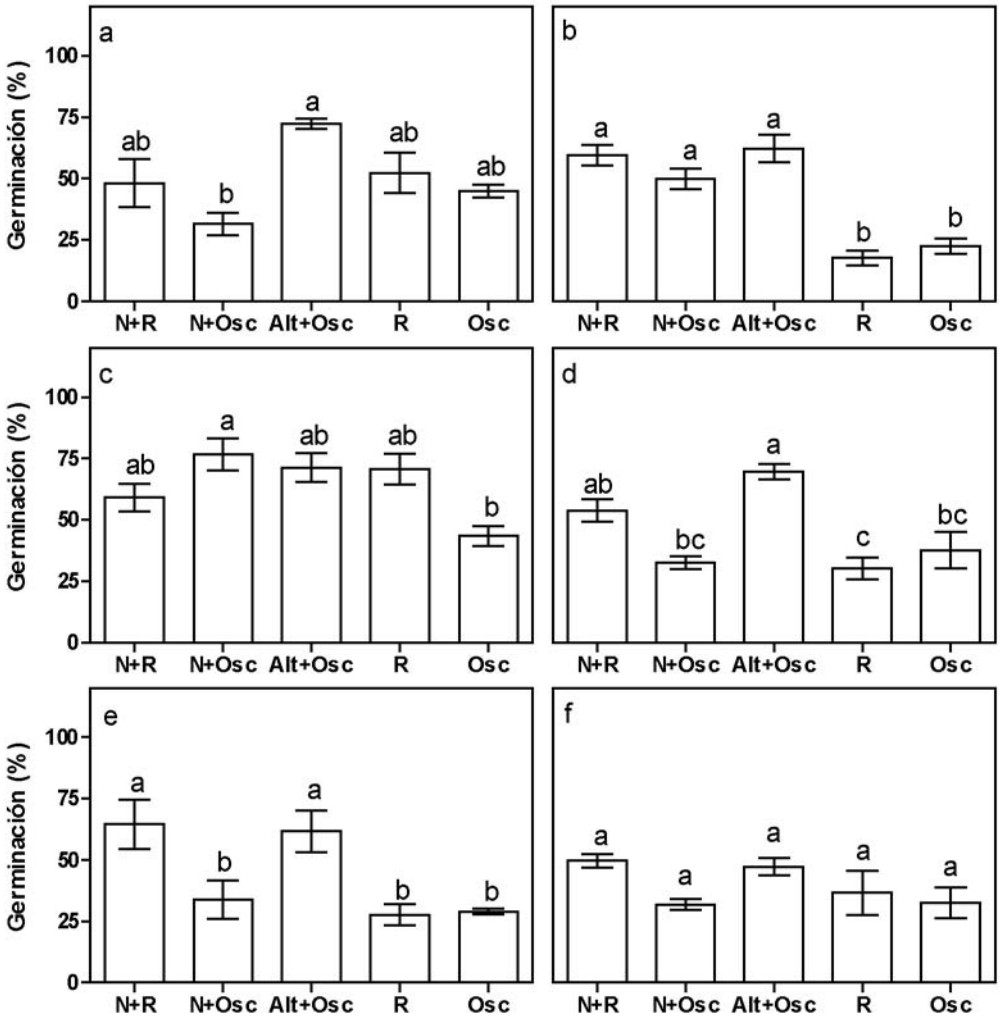

Fig. IV.6 Porcentaje de germinación bajo tratamientos de nitratos, luz y temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* enterradas en el Bajo (a,c,e) o en el Alto (b,d,f) y exhumadas en agosto del 2006. Semillas cosechadas en Cerro El Cuadrado (a,b), en Pergamino (c,d), en Las Chilcas (e,f). N: solución de KNO_3 0,05M, R: luz con alta relación R/RL, Osc: oscuridad, Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$).

Las semillas de *Setaria parviflora* enterradas en el campo se exhumaron durante una sequía en verano (Fig. IV.5b). Las semillas de las poblaciones se diferenciaron entre ellas en la respuesta germinativa a los tratamientos (Tabla Anexo I.4; Fig.

IV.7). Sin embargo, las semillas de cada una de las poblaciones enterradas tanto en el Bajo o como en el Alto adquirieron una respuesta parecida frente a los tratamientos de terminación de la dormición (Fig. IV.7). Las semillas del Cerro El Cuadrado se durmieron con respecto a la exhumación de fines del invierno y sólo germinaron en respuesta a las temperaturas alternadas (Fig. IV.7a,b). Un comportamiento parecido tuvieron las semillas de Las Chilcas, en este caso además germinaron considerablemente en el tratamiento de nitratos y luz roja (Fig. IV.7e,f). En cambio las semillas de Pergamino mostraron escasas diferencias entre tratamientos en el porcentaje de germinación (Fig. IV.7c,d). Además, estas semillas tuvieron baja viabilidad y se observó la presencia de plántulas en las bolsas exhumadas. Este hecho indica que las semillas estaban despiertas y con capacidad de germinar bajo tierra en condiciones de oscuridad y de escasa fluctuación diaria de temperaturas. La viabilidad de las semillas del Cerro El Cuadrado, enterradas en el Bajo y en el Alto fue del 98% y del 96% respectivamente, asimismo, la viabilidad de las de Pergamino fue del 29% en el Bajo y del 29% en el Alto y la de las semillas de Las Chilcas fue del 65% para las enterradas en el Bajo y del 70% para las enterradas en el Alto.

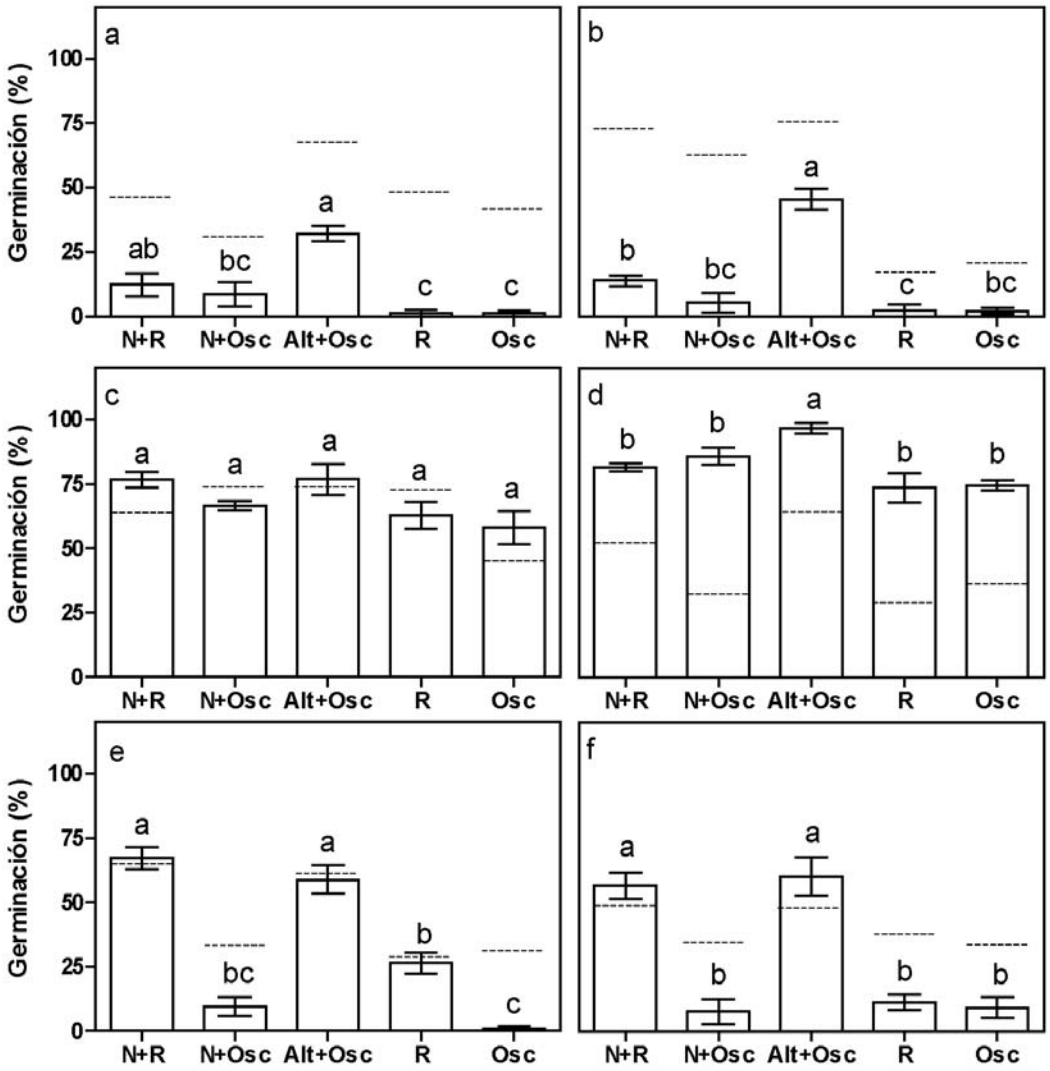

Fig. IV.7. Porcentaje de germinación bajo tratamientos de nitratos, luz y temperatura de las semillas de *Setaria parviflora* enterradas en el Bajo (a,c,e) o en el Alto (b,d,f) y exhumadas en febrero del 2007. Semillas cosechadas en Cerro El Cuadrado (a,b), en Pergamino (c,d), en Las Chilcas (e,f). N: solución de KNO_3 0,05M, R: luz con alta relación R/RL, Osc: oscuridad, Alt: temperaturas alternadas (20-30ºC). Los valores son medias ± ES. Las diferentes letras indican diferencias entre tratamientos ($p<0,05$). Las líneas discontínuas horizontales sobre cada columna indican la germinación de agosto de 2006.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que las distintas poblaciones de semillas de *Setaria parviflora* se comportaron de diferente manera frente a las condiciones ambientales experimentadas durante su dormición. Las semillas provenientes de un pastizal serrano no inundable (Cerro El Cuadrado) se despertaron después de permanecer sumergidas que cuando estuvieron embebidas en agua. Durante los períodos de inundación estas semillas perdieron requisitos específicos de señales ambientales para terminar la dormición. Por su parte, las semillas cosechadas en los pastizales provenientes de una sucesión post-agrícola de la Pampa Ondulada (Pergamino) no mostraron grandes diferencias en la expresión de la dormición luego de permanecer sumergidas o embebidas en agua y germinaron de manera parecida en todos los tratamientos de terminación de la dormición. En contraste, las semillas provenientes de un pastizal inundable (Las Chilcas) luego de pasar un tiempo en condiciones de inmersión, no se despertaron como las semillas de las otras procedencias y mantuvieron los requisitos específicos para germinar (ej. alternancia de temperaturas) y los perdieron estando embebidas. Estas diferencias demuestran la existencia de una importante variación fenotípica entre las poblaciones de semillas de *S. parviflora* provenientes de hábitats muy diferentes. Así, teniendo en cuenta que tanto en los pastizales serranos como en los de la Pampa Ondulada no ocurren inundaciones, se podría pensar que estas poblaciones no están adaptadas a este disturbio, y sí lo están las poblaciones de los pastizales inundables de la Pampa

Deprimida (Mollard et al., 2007; Capítulo 3). La ausencia de dormición y de requerimientos específicos para terminarla durante una estación donde ocurren frecuentes pulsos de inundación y anegamiento del suelo, situación común en humedales temporarios, significa la inexistencia de un obstáculo que podría prevenir la germinación durante esos períodos y favorecer la supervivencia de los individuos. Por lo tanto, la pérdida de la dormición de las semillas de *S. parviflora* del pastizal serrano y de las sucesiones post-agrícolas cuando están inundadas, podría representar una falta de adaptación a este disturbio inexistente en estos tipos de hábitats.

Si bien todas las poblaciones de *S. parviflora* mostraron en algún ensayo un efecto promotor de la germinación por los nitratos, este efecto fue más frecuente y notable en las semillas provenientes de los pastizales inundables y, estuvo asociado a los tratamientos de inundación o al anegamiento del suelo. Este comportamiento refuerza la hipótesis que los nitratos pueden ser una señal para las semillas relacionada con el régimen de inundaciones. Sin embargo, la hipótesis de que los nitratos puedan indicar, a las semillas de humedales, la ausencia de inundaciones podría ser reforzada por un estudio comparativo entre especies provenientes de diferentes ecosistemas como el realizado por Thompson y Grime (1983) para la respuesta a las temperaturas alternadas. En numerosos casos se observó que la promoción de la germinación de las semillas de *Setaria parviflora* por los nitratos sólo ocurría si las semillas eran irradiadas con pulsos de luz roja. Esta interacción entre ambos factores ha sido reconocida previamente en varias especies provenientes

de diferentes hábitats (Hilhorst y Karssen, 2000; Pons, 1989; Hartmann et al., 1997; Batak et al., 2002). Este requerimiento de dos señales distintas para lograr la misma respuesta (germinación) podría indicar que es una estrategia muy eficiente que le permite a las semillas de *Setaria parviflora* detectar tanto la ausencia de competencia por luz como la ausencia de raíces funcionales en el claro y así de competencia por los recursos del suelo.

Los resultados muestran que, dependiendo en gran medida de las condiciones ambientales experimentadas, tanto la población de los pastizales inundables como la de los pastizales serranos mantienen en general más requerimientos para terminar la dormición que las semillas de los pastizales provenientes de una sucesión post-agrícola. Esto se observa especialmente en la exhumación en el campo en verano, donde las semillas del Cerro El Cuadrado y de Las Chilcas entraron en dormición secundaria con respecto a la exhumación del invierno anterior y adquieren requerimientos más específicos para germinar (Fig. IV.7). Esto no ocurrió en las semillas de Pergamino, que, en cambio, germinaron en el suelo y presentaron pocas diferencias entre la germinación en los tratamientos más eficientes para terminar la dormición y los controles de oscuridad y temperatura continua. Las poblaciones del Cerro El Cuadrado y de Las Chilcas pertenecen a comunidades formadas por plantas perennes y robustas que crecen en sitios con recursos limitados y, donde es importante la competencia por recursos durante todas las estaciones del año. Por lo tanto el establecimiento de las plántulas sería más exitoso en los claros de la vegetación, con mayor disponibilidad de recursos y competencia relajada (Bullock,

2000). En estas condiciones, se hacen muy necesarios los requerimientos por parte de las semillas de señales ambientales que indiquen la presencia de los claros. En cambio, las poblaciones de *S. parviflora* de Pergamino se podrían considerar como más ruderales debido a que estos pastizales sucesionales se encuentran inmersos en una matriz formada por campos agrícolas, con hábitats muy fértiles debido a la incorporación de nutrientes y donde las labranzas periódicamente eliminan totalmente la vegetación establecida que podría ejercer competencia por los recursos. En estos ambientes, la emergencia y establecimiento de las plántulas de *S. parviflora* estarían asociados a ese tipo de disturbios y la presencia de mecanismos para detectar claros en la vegetación no serían tan necesarios para la regeneración de las poblaciones.

En conclusión, se observaron distintas estrategias en el comportamiento de las semillas de las diferentes poblaciones de *Setaria parviflora* que podrían estar relacionadas con los hábitats de origen: 1) Requerimientos de alternancia de temperaturas o de nitratos en el suelo para alcanzar la máxima germinación luego de una inundación en poblaciones provenientes de un pastizal inundable, 2) Requerimientos de señales ambientales asociadas a la ocurrencia de claros en la vegetación en las poblaciones provenientes de pastizales dominados por especies perennes con limitaciones en sus recursos del suelo (Cerro El Cuadrado y Las Chilcas) y 3) Una menor dependencia de los requerimientos de señales ambientales que promueven la germinación de semillas provenientes de los pastizales

sucesionales de campos agrícolas. Estas estrategias seguramente favorecen la supervivencia de los individuos en sus respectivos hábitats.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de esta tesis fue estudiar el efecto del contenido hídrico del suelo sobre la dormición de las semillas de gramíneas de los Pastizales Pampeanos. De acuerdo con lo postulado en la Hipótesis 1 de la Introducción General, los diferentes niveles de disponibilidad de agua afectaron la dormición de las semillas de *Bromus catharticus* y el rango de condiciones en los cuales las semillas germinan. El mismo involucró tanto a las temperaturas de germinación como a la percepción de las señales lumínicas asociadas con la presencia o no de claros en la vegetación (Capítulo 2). En esta tesis también se corroboró lo propuesto en la Hipótesis 2: las inundaciones afectaron el nivel de dormición de las semillas de *Setaria parviflora* y su sensibilidad a los factores ambientales que la terminan, en particular les indujo dormición secundaria y les promovió un requerimiento de alternancia de temperaturas para germinar (Capítulo 3). Además, se puso a prueba y se corroboró la Hipótesis 3: Existen diferencias en la regulación por las inundaciones del nivel de dormición de las semillas de *S. parviflora* provenientes de diferentes hábitats (Capítulo 4).

En esta Discusión General comentaré el posible significado ecológico del comportamiento de las semillas de *B. catharticus* y de *S. parviflora* dentro del contexto de los principales disturbios que sufren las plantas en los Pastizales Pampeanos.

Significado ecológico del efecto del agua en la atenuación de la dormición de las semillas de Bromus catharticus de los Pastizales Pampeanos

La posmaduración en seco es un proceso en el cual las semillas pierden la dormición primaria cuando están almacenadas con bajos contenidos hídricos (Bewley y Black, 1994). Este proceso ocurre en las semillas de gramíneas invernales que se dispersan dormidas a comienzos del verano (Allen y Meyer, 1998; Gallagher et al., 2004). En muchos ecosistemas, el verano es la estación seca donde las lluvias ocasionales pueden permitir la germinación de las semillas pero no la supervivencia de las plántulas. Durante esta estación se pierde la dormición primaria permitiendo la germinación con la llegada de las lluvias del otoño (Allen y Meyer, 1998; Gallagher et al., 2004). Por ejemplo, la dormición de las semillas maduras evita la germinación al final de la estación húmeda en algunos ecosistemas semiáridos dominados por gramíneas como las sabanas. En estos ecosistemas, los requerimientos de altas temperaturas que atenúan la dormición se satisfacen durante la estación seca que sigue a la dispersión y luego, las semillas de los pastos germinan en gran cantidad al comienzo de la estación húmeda posterior (Mott, 1978). Por otra parte, la tasa de pérdida de la dormición de diferentes poblaciones de *Bromus tectorum* está relacionada con el riesgo de germinación prematura durante el verano en cada uno de los diferentes habitats de origen (Meyer et al., 1997). Así, las poblaciones de los hábitats más impredecibles con respecto a las precipitaciones son las que tienen las semillas que más lentamente se despiertan (Meyer et al., 1997)

Durante la posmaduración en seco, las semillas aumentan el rango de condiciones ambientales donde pueden germinar. Por ejemplo, las semillas con requerimientos de luz adquieren la capacidad de germinar en oscuridad y las semillas con requerimientos de nitratos, la pierden (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Uno de los resultados de esta pérdida de condiciones específicas para germinar es que, por ejemplo, luego de la posmaduración de las poblaciones de *Bromus tectorum* de hábitats muy contrastantes, desaparecen las diferencias en el comportamiento germinativo que existían previamente (Meyer et al., 1997).

Las semillas de *Bromus catharticus* también disminuyen su dormición luego de pasar un período a potenciales agua bajos en el suelo durante el verano (Capítulo 2). Esto les permitiría llegar despiertas al otoño y germinar luego de las lluvias. Sin embargo, durante la posmaduración en seco una fracción más o menos alta de las semillas adquiere la capacidad de germinar bajo pulsos de luz rojo lejano y en oscuridad (Capítulo 2), situaciones que ocurren bajo la cobertura de plantas adultas establecidas. Esto sugeriría que este proceso no necesariamente implica una mayor adaptación al ambiente, por lo menos en pastizales mésicos donde la cobertura de la vegetación es alta y la posibilidad de supervivencia de las plántulas en competencia por los recursos con plantas perennes establecidas sería mínima (Thompson, 1992). Sin embargo, en sitios con exceso de pastoreo o en ecosistemas más áridos donde también habita *B. catharticus*, la cobertura de la vegetación es menor. En estos sitios no sería tan importante la percepción de los claros al momento de la germinación de las semillas para maximizar las probabilidades de supervivencia de los individuos.

Por otra parte, existe una fracción de las semillas de *B. catharticus* que conserva los requerimientos de luz roja para germinar, inclusive, luego de permanecer incubadas a potenciales agua muy bajos o en condiciones no hidratadas durante un tiempo considerable (Capítulo 2). Por lo tanto, también existe una fracción de semillas que germinaría exclusivamente en los claros de la vegetación. Esta fracción es más importante en las semillas que permanecen hidratadas a altos valores de potencial agua del sustrato. Existe una relación proporcional entre la biomasa de la vegetación y la cantidad de precipitaciones anuales (Sala et al., 1988). Así, el hecho de que las semillas que atenúan su dormición en suelos húmedos mantengan los requerimientos de luz para germinar indica la importancia de este comportamiento para ajustar la germinación de las semillas a la presencia de claros. La existencia de fracciones con distinto comportamiento mejoraría la persistencia de la especie debido a que en muchos hábitats la selección natural de diferentes caracteres puede variar en el espacio y el tiempo (Meyer y Allen, 1999; Donohue et al., 2005). Además de la presencia de fracciones de la población con diversos niveles de dormición, las plantas de *B. catharticus* tienen otro rasgo que les permitiría producir propágulos con diferente comportamiento germinativo: luego de la abundante floración primaveral, *Bromus catharticus* tiene una floración otoñal, menos abundante. Los efectos del ambiente materno durante la maduración podrían provocar diferencias en la dormición de las maduradas en otoño con respecto a las de primavera. Esta posibilidad todavía no ha sido explorada.

La pérdida de la dormición en condiciones de poca disponibilidad de agua,

como fenómeno en el cual parte de las semillas del banco pierde los requerimientos de luz para germinar también se observó en *Lolium multiflorum* L (Rodriguez et al., 1998). Estos resultados sugieren que la atenuación de la dormición de las semillas llevada a cabo bajo diferentes condiciones de disponibilidad de agua en el suelo podría resultar importante en controlar la germinación y el establecimiento de las diferentes especies de los pastizales, especialmente cuando la vegetación permanece intacta o no es eliminada del todo. En este caso, además de la germinación, resulta imprescindible estudiar la supervivencia posterior de las plántulas de cada una de las especies para comprender su posible contribución a la composición de las comunidades vegetales de los pastizales.

Significado ecológico del efecto de las inundaciones en la imposición de la dormición secundaria en semillas de Setaria parviflora

Las inundaciones imponen condiciones de estrés muy grandes a las plántulas de las especies no tolerantes (Crawford, 2003). En los suelos inundados, rápidamente baja la concentración de oxígeno disuelto y esto trae aparejado numerosos cambios en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Ponamperuma, 1984). Después de las inundaciones, la recuperación de las propiedades originales de los suelos drenados demora un tiempo relativamente largo. Los suelos anóxicos acumulan compuestos fitotóxicos por procesos microbianos de reducción que

inhiben fuertemente el crecimiento de las raíces y pueden subsistir por varias semanas luego del drenaje del suelo (Ponamperuma, 1984; Visser et al., 1997). Esto significa que los efectos deletéreos de las inundaciones sobre las plántulas pueden permanecer aún cuando la inundación se ha retirado. Además, la primavera es un período de incertidumbre acerca de si realmente ha pasado el período de inundaciones o si, la ocurrencia de nuevas precipitaciones volverá a anegar los suelos (Crawford, 2003). Esta situación también ocurre en los pastizales de la Pampa Deprimida.

En ecosistemas donde hay riesgos de inundaciones, las plantas incapaces de sobrevivir sumergidas tienen semillas que, por lo general, no germinan hasta que perciban señales indicadoras de que ha desaparecido el riesgo de sufrir anoxia por la inmersión (Crawford, 2003). Se ha propuesto que el requerimiento de alternancia de temperaturas es la principal señal que indica a las semillas de humedales que la inundación ha terminado (Thompson y Grime, 1983; Pons y Schroder, 1986; Ekstam y Forsby, 1999). Esto se debe a que a medida que disminuye la profundidad del agua, el suelo empieza a tener mayor amplitud entre las temperaturas máxima y la mínima (Thompson y Grime, 1983; Pons y Schroder, 1986; Ekstam y Forsby, 1999). Sin embargo, estos autores no consideran los cambios en las propiedades de los suelos, que pueden persistir un tiempo luego de que la inundación ha concluido.

Las semillas de *Setaria parviflora* provenientes de un pastizal que sufre inundaciones inverno-primaverales tienen la capacidad de entrar en dormición secundaria o de retardar la pérdida de la dormición primaria luego de permanecer un

tiempo sumergidas en agua (Capítulo 3,4). Esta imposición de la dormición secudaria se refleja en los requerimientos de percibir temperaturas alternadas por parte de las semillas para germinar. Esto significa que para las semillas de *S. parviflora* de la Pampa Deprimida, el requerimiento de alternancia de temperaturas no es constitutivo sino inducido por la inmersión bajo agua. Además, una fracción importante de las semillas, luego de exhumarse durante una inundación, permanecieron dormidas, aún luego de exponerse a temperaturas alternadas. Parte de esta fracción de semillas que permanece dormida se despierta entrado el verano (Capítulo 3). Esto significa que la dormición secundaria impuesta a las semillas por la inundación permite a algunas de ellas permanecer dormidas en los períodos donde el suelo no está anegado durante la primavera temprana, época en la cual se producen pulsos de inundación que podrían ser perjudiciales para las plántulas recién emergidas o donde las propiedades químicas y biológicas de los suelos no son las óptimas para su supervivencia (Capítulo 3). Este comportamiento, el cual posterga la germinación hasta un tiempo bastante después del final de la inundación no había sido tenido en cuenta hasta el momento. Con respecto a ésto, los requerimientos de nitratos que manifiestan las semillas de *S. parviflora* luego de pasar un tiempo sumergidas indican la importancia de esta señal, más asociada con las características edáficas del sitio, en promover la germinación.

La existencia del mecanismo que impone la dormición secundaria y del requerimiento de alternancia de temperaturas o de nitratos para germinar en las semillas que pasaron un tiempo sumergidas no ha sido investigado en otras especies

de los pastizales. La comprensión de esta estrategia ayudará a modelar y pedecir la estacionalidad de la emergencia de las plántulas en ecosistemas como los pastizales de la Pampa Deprimida donde la primavera, además de ser la estación más favorable para las plántulas desde el punto de vista del clima, también es la más desfavorable desde el punto de vista de las condiciones edáficas debido a las inundaciones.

Significado ecológico de las diferencias en el comportamiento germinativo entre poblaciones de Setaria parviflora provenientes de distintos pastizales

La diferenciación genética entre poblaciones se puede producir cuando las condiciones ambientales y biológicas que pueden actuar como factores de selección varían espacialmente en el área donde reside una especie (Grant, 1989). Sin embargo, varios trabajos documentan diferenciación genética entre poblaciones de plantas a pequeñas escalas de unos pocos centímetros o metros (Grant, 1989; Linhart y Grant, 1996; Bischoff et al., 2006). Por otra parte, en estos casos donde los factores de selección varían en áreas más pequeñas, es común y adquiere más importancia el polimorfismo poblacional o a la plasticidad fenotípica de los individuos. Con respecto a los mecanismos regulatorios de la germinación se han observado diferencias entre poblaciones que están asociadas al hábitat (Linhart, 1988; Meyer et al., 1997; Donohue et al., 2005). Por ejemplo, en lotes adyacentes de un pastizal con diferente historia de manejo, se detectó la existencia de dos ecotipos de *Galium spurium* L. var. *echinospermon* que se diferencian en que las semillas de una población germinan en otoño en cambio las del otro lote germinan en primavera,

lo que sin duda son grandes cambios cualitativos en la fenología de la germinación entre poblaciones simpátricas de una especie (Masuda y Washitani, 1992).

Las inundaciones, como fuerza de selección natural, tienen la capacidad de inducir cambios genotípicos y adaptación local entre poblaciones y dentro de poblaciones que habitan en gradientes topográficos a pequeñas escalas (Linhart, 1988; Loreti y Oesterheld, 1996; Lenssen et al., 2004; Mollard et al., 2007). En el Capítulo 3, se observó que las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en una comunidad no inundable de la Pampa Deprimida tuvieron un comportamiento parecido frente a la inundación, que las semillas cosechadas en una comunidad inundable de la misma región. En ambos casos las semillas luego de la inundación entraron en dormición secundaria y adquirieron un requerimiento de temperaturas alternadas para germinar. Sin embargo, las dos poblaciones son muy contiguas debido a que la distancia entre ellas es de cerca de 3,5 kilómetros. Además, las comunidades vegetales no inundables del pastizal ocupan un porcentaje bajo del área total del paisaje (Burkart et al. 1990), por lo tanto, es alta la posibilidad de flujo génico a través de la dispersión de semillas o por polinización cruzada desde las comunidades inundables. Debido a que la dispersión puede contrarrestar los efectos de la selección natural (Grant, 1989), esto podría explicar la ausencia de notables variaciones en la respuesta germinativa entre ambas poblaciones. Por otra parte, el hecho de que los requerimientos de temperaturas alternadas para germinar sean inducibles y no constitutivos sugieren que la plasticidad fenotípica en el comportamiento germinativo es una estrategia adquirida por las poblaciones de *S.*

parviflora de la Pampa Deprimida que contribuye a evitar la germinación en circunstancias edáficas desfavorables.

Cuando la distancia que separa a las poblaciones es lo suficientemente grande como para evitar el cruzamiento entre ellas, ya sea por efectos de la distancia *per se* como por diferencias en la fenología, con la existencia de presiones de selección medianas a bajas alcanza para que se produzca diferenciación genética (Grant, 1989; Silvertown & Lovet Doust, 1991). Las poblaciones alopátricas de *S. parviflora* estudiadas mostraron grandes diferencias entre ellas en el nivel y salida de la dormición frente a las diversas condiciones ambientales (Capítulo 4). Las semillas cosechadas en la Pampa Deprimida, además del requerimiento de alternancia de temperaturas, manifestaron requerimientos de nitratos en presencia de luz para germinar luego de las inundaciones (Capítulos 3 y 4). Paralelamente, el hecho que las semillas del pastizal de altura del Cerro El Cuadrado se despierten en condiciones inundadas y que las semillas de Pergamino no tengan una respuesta específica a este estrés (Capítulo 4) indicaría que el rasgo observado en las semillas de la Pampa Deprimida no es general en toda la especie. Así, las diferencias en los requerimientos de pérdida de la dormición entre poblaciones podría explicar en parte la posibilidad que tiene *Setaria parviflora* para ocupar diversos hábitats.

BIBLIOGRAFÍA

-Aguilera MO y WK Lauenroth. 1993. Seedling establishment in adult neighbourhoods: intraspecific constraits in the regeneration of the bunchgrass *Bouteloua gracilis*. Journal of Ecology 81: 253-261.

-Adkins SW, Bellairs SM y DS Loch. 2002. Seed dormancy mechanisms in warm season grass species. Euphytica 8: 13-20.

-Alboresi A, Gestin C, Leydecker M-T, Bedu M, Meyer C y H-N Troung. 2005. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in Arabidopsis. Plant, Cell and Environment 28: 500-512.

-Allen PS y SE Meyer. 1998. Ecological aspects of seed dormancy loss. Seed Science Research 8: 183-191.

-Ameghino F. 1884. Las secas y las inundaciones de la provoncia de Buenos Aires. Obras de retención y no obras de desagüe. Ministerio de asuntos agrarios de la provincia de Buenos Aires.

-Andersson L y Milberg P. 2002. Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. Seed Science Research. 8: 29-38.

-Appenroth K-J, Lenk G, Goldau L, y R Sharma. 2006. Tomato seed germination: Regulation of different response modes by phytochrome B2 and phytochrome A. Plant, Cell and Environment. 29: 701-709.

-Bakker C, van Bodegom PM, Nelissen HJM, Aerts R y WHO Ernst. 2007. Preference of wet dune species for waterlogged conditions can be explained by adaptations and specific recruitment requirements. Aquatic Botany 86: 37-45.

-Bair, NB, Meyer, SE, y PS Allen. 2006. A hydrothermal after-ripening time model for seed dormancy loss in *Bromus tectorum* L. Seed Science Research 16: 17-28.

-Ballard TO, Foley ME y TT Bauman. 1996. Germination, viability and protein changes during cold stratification of giant ragweed (*Ambrosia trifida*) seeds. Journal of Plant Physiology 149: 229-232.

-Baskin CC y JM Baskin. 1998. Seeds, ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego, CA.

-Baskin CC, Baskin JM y EW Chester. 2000. Effect of flooding on the annual dormancy cycle and on germination of seeds of the summer annual *Schoenoplectus purshianus* (CYPERACEAE). Aquatic Botany 67: 109-116.

-Baskin JM y CC Baskin. 1980. Ecophysiology of secondary dormancy in seeds of *Ambrosia artemisiifolia*. Ecology 6: 475-480.

-Baskin JM y CC Baskin. 1982. Germination ecophysiology of *Arenaria glabra*, a winter annual of sandstone and granite outcrops of southeastern USA. American Journal of Botany 69: 973-978.

-Baskin JM y CC Baskin. 1989. Role of temperature, light, and date: seeds were exhumed from soil on germination of four wetland perennials. Aquatic Botany 35:387-394.

-Batak I, Devic M, Giba Z, Grubisic D, Poff KL y R Konjevic. 2002. The effects of potassium nitrate and NO-donors on phytochrome A- and phytochrome B-specific induced germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. Seed Science Research 12: 253-259.

-Batista WB, Taboada MA, Lavado RS, Perelman SB y RJC León. 2005. Asociación entre comunidades vegetales y suelos en el pastizal de la Pampa Deprimida. En: Oesterheld M, Aguiar MR, Ghersa, CM y Paruelo JM. La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando J.C. León. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.

-Batlla D, Kruk BC y R Benech-Arnold. 2004. Modeling changes in dormancy in weed soil seed banks: Implications for the prediction of weed emergence. En: R. Benech-Arnold y RA Sánchez (eds.) Handbook of seed physiology. Applications to agriculture. The Haworth Press. New York.

-Batlla D y RL Benech-Arnold. 2005. Changes in the light sensitivity of buried *Poligonum aviculare* seeds in relation to cold-induced dormancy loss: development of a predictive model. New Phytologist 165: 445-452.

-Bazzaz FA. 1996. Plants in changing environments. Linking physiological, population, and community ecology. Cambridge University Press. Cambridge.

-Benech Arnold RL, Ghersa CM, Sánchez RA y AE García Fernández. 1988. The role of fluctuating temperatures in the germination and establishment of *Sorghum halepense* (L.) Pers. Regulation of germination under leaf canopies. Functional Ecology 2: 311-318.

-Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Forcella F, Kruk B y CM Ghersa. 2000. Environmental control of dormancy in weed soil seed banks. Fields Crops Research 67: 105-122.

-Bewley JD y M Black. 1994. Seeds. Physiology of Development and Germination. New York.

-Bischoff A, Crémieux L, Smilauerova M, Lawson CS, Mortimer SR, Dolezal J, Lanta V, Edwards AR , Brook AJ , Macel M, Leps J, Steinger T, Müller-Schärer H. 2006. Detecting local adaptation in widespread grassland species - The importance of scale and local plant community. Journal of Ecology 94: 1130-1142.

-Bisigato AJ y MB Bertiller. 2004. Seedling recruitment of perennial grasses in degrded areas of the Patagonian Monte. Journal of Range Management 57: 191-196.

-Blanco MA, Schrauf GE y VA Deregibus. 1995. Efecto de las condiciones de incubación y pre-icubación sobre el comportamiento germinativo de poblaciones de *Paspalum dilatatum* Poir. de la Pampa Deprimida. Ecología Austral 5: 140-155.

-Bouwmeester HJ y CM Karssen. 1992. The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. Oecologia 90: 88-94.

-Bouwmeester HJ y CM Karssen. 1993. Annual changes in dormancy and germination in seeds of *Sysimbrium officinale* (L.) Scop. New Phytologist 124: 179-191.

-Bradford KJ. 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. Weed Science 50: 248-260.

-Bray CM. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. En: Kigel J y Galili G (eds.). Seed development and germination. Marcel Dekker Inc. New York.

-Bullock JM. 2000. Gaps and seedling colonization. En Fenner, M. (Ed.) Seeds. The ecology of regeneration in plant communities. Cabi Publishing. Southampton. UK.

-Bullock JM, Clear Hill B, Silvertown J y M Sutton. 1995. Gap colonization as a source of grassland community change: effects of gap size and grazing on the rate and mode of colonization by different species. Oikos 72: 273-282.

-Burkart, A. 1969. Flora ilustrada de Entre Ríos. Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.

-Burkart, A. 1975. Evolution of grasses and grasslands in South America. Taxon 24: 53-66.

-Burkart SE, León RJC y CP Movia. 1990. Inventario fitosociológico del pastizal de la depresión del Salado (Prov. Bs.As.) en un área representativa de sus principales ambientes. Darwiniana 30: 27-69.

-Burkart SE y RA Sánchez. 1969. Interaction between an inhibitor present in the seeds of *Datura ferox* and light in the control of germination. Botanical Gazette 130: 42-47.

-Burkart SE, Garbulsky MF, Ghersa CM, Guerschman JP, León RJC, Oesterheld M, y SB Perelman. 2005. Las comunidades potenciales del pastizal pampeano bonaerense. En: M Oesterheld, MR Aguiar, CM Ghersa y JM Paruelo (eds.) La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando J.C. León. Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.

-Casal JJ y RA Sánchez. 1998. Phytochromes and seed germination. Seed Science Research 8: 317-329.

-Casal JJ, Luccioni LG, Oliverio KA y HE Boccalandro. 2003. Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in Arabidopsis. Photochemistry and Photobiological Sciences 2: 625-636.

-Chaneton EJ, Facelli JM y RJC León. 1988. Floristic changes induced by flooding on grazed and ungrazed lowland grasslands in Argentina. Journal of Range Management 41: 497-501.

-Chaneton EJ. 1995. Heterogeneidad espacial de la vegetación en diferentes escalas: influencia de las condiciones ambientales y del pastoreo en un pastizal de la Pampa deprimida. Tesis de Magister Scientae. Escuela para Graduados-Fac. Agronomía (UBA).

-Chaneton EJ y P Insausti. 1995. Dinámica del Nitrógeno en sitios con diferente historia de pastoreo en un pastizal de la Pampa Deprimida. Resúmenes de la XVII Reunión Argentina de Ecología. Mar del Plata.

-Chen F y KJ Bradford. 2000 Expression of an expansin is associated with endosperm weakening during tomato seed germination Plant Physiology, 124: 1265-1274.

-Christensen M, Meyer SE y PS Allen. 1996. A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. Seed Science Research 6: 1-9.

-Corbineau F y D Côme. 1995. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. En J Kigel J y G Galili (eds). Seed development and germination. Marcel Dekker. New York, USA.

-Crawford RMM. 2003. Seasonal differences in plant responses to flooding and anoxia. Canadian Journal of Botany 81: 1224-1246.

-Cresswell EG y JP Grime. 1981. Induction of a light requirement during seed development and its ecological consequences. Nature 291: 583-585.

-D'Angela E, Facelli JM y E Jacobo. 1988. The role of the permanent soil seed bank in early stages of a post-agricultural succession in the Inland Pampa, Argentina. Vegetatio 74: 39-45.

-Defosse GE, Bertiller MB y R Robberecht. 1997. Effects of topography, soil moisture, wind and grazing on Festuca seedlings in a Patagonian grassland. Journal of Vegetation Science 8: 677-684.

-Dekker J. 2000. Emergent weedy foxtail (*Setaria spp*.) seed germinability behavior. En: Black M, Bradford KJ y J Vásquez-Ramos (Eds.). Seed biology: advances and applications. CAB International. Wallingford, UK.

-Dekker J y M Hargrove. 2002. Weedy adaptation in *Setaria spp*. V. Effects of gaseous environment on giant foxtail (*Setaria faberii*) (Poaceae) seed germination. American Journal of Botany 89: 410-416.

-de Miguel L y RA Sánchez. 1992. Phytochrome-induced germination, endosperm softening and embryo growth potential in *Datura ferox* seeds: Sensitivity to low water potential and time to escape to FR reversal. Journal of Experimental Botany 43: 969-974.

-Denslow JS. 1987. Tropical rainforest gaps and tree species diversity. Annual Review of Ecology and Systematics 18: 431-451.

-Deregibus VA, Casal JJ, Jacobo EJ, Gibson D, Kauffman M y AM Rodriguez. 1994. Evidence that heavy grazing may promote the germination of *Lolium multiflorum* seeds via phytochrome-mediated perception of high red/far red ratios. Functional Ecology 8: 536-542.

-Derkx MPM y CM Karssen. 1993. Effects of light and temperature on seed dormancy and gibberellin-stimulated germination in *Arabidopsis thaliana*: Studies with gibberellin-deficient and -insensitive mutants. Physiologia Plantarum 89: 360-368.

-Donohue K, Dorn L, Griffith C, Kim E, Aguilera A, Polisetty CR y J Schmitt. 2005. The evolutionary ecology of seed germination of *Arabidopsis thaliana*: variable natural selection on germination timing. Evolution 59: 758-770.

-Ekstam B y Å Forseby. 1999. Germination response of *Phragmites australis* and *Typha latifolia* to diurnal fluctuations in temperature. Seed Science Research 9: 157-163.

-Ellis RH, Hong TD y EH Roberts. 1986. The response of seeds of *Bromus sterilis* L. and *Bromus mollis* L. to withe light of varying photon flux density and photoperiod. New Phytologist 104: 485-496.

-Fenner M. 1995. Ecology of seed banks. En: J Kigel y G Galili, (eds). Seed Development and Germination. Marcel Dekker, New York

-Finch-Savage WE y G Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171: 501-523.

-Frankland B. 1986. Perception of light quantity. En RE Kendrick y GHM Kronenberg (eds) Photomorphogenesis in plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

-Gallagher RS y J Cardina. 1998. Phytochrome-mediated *Amaranthus* germination II: Development of very low fluence sensitivity. Weed Science 46: 53-58.

-Grant V. 1989. Especiación vegetal. Editorial Limusa. México.

-Grime JP. 1979. Plant strategies and vegetation processes. John Willey and Sons. Chichester, New York.

-Grime JP.1981. The role of seed dormancy in vegetation dynamics. Annals of Applied Biology 98: 555-558.

-Grime JP. 1989. Seed banks in ecological perspective. En Allessio Leck M, Thomas Parker V y RL Simpson. (eds.) Ecology of soil seed banks. Academic Press, Inc. San Diego. CA. USA.

-Grime JP y SH Hillier. 1992. The contribution of seedling regeneration to the structure and dynamics of plant communities and larger units of landscape. En M Fenner (ed.). Seed: The ecology of regeneration in plant communities. CABI Publishing. Wallingford. UK.

-Grimoldi AA y J Loreti. 2001. Caracterización del régimen hídrico de tres comunidades vegetales de los pastizales de la Pampa Deprimida. 1° Reunión Binacional De Ecología. Bariloche Abril 2001. Libro de resúmenes pág. 128.

-Gorski T y K Gorska. 1979. Inhibitory effects of full daylight on the germination of *Lactuca sativa* L. Planta 144: 121-124.

-Grubb PJ. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. Biological Review 52: 107-145

-Hadas A. 2004. Seedbed preparation-The soil physical environment of germinating seeds. En: Benech-Arnold RL y Sánchez RA (eds.). Handbook of seed physiology. Applications to agriculture. Food Products Press. The Haworth Reference Press. New York.

-Hartmann K, Krooss C y A Mollwo. 1997. Phytochrome-mediated photocontrol of the germination of the Scentless Mayweed, *Matricaria inodora* L., and its sensitization by nitrate and temperature. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 40: 240-252.

-Harper JL, Williams JT y GR Sagar. 1965. The behaviour of seeds in the soil: I. The heterogeneity of soil surfaces and its role in determining the establishment of plants. Journal of Ecology 53: 273-286.

-Harper JL. 1977. Population biology of plants. Academic Press, London.

-Herron H, Clemens J y DH Greer. 2000. Contrasting seed germination responses to red and far-red light in *Leptospermum scoparium* and *Melicytus ramiflorus*. Australian Journal of Plant Physiology 27: 1069-1076.

-Heslop-Harrison J. 1964. Forty years of genecology. Adv. Ecol. Res. 2: 159-247.

-Hilhorst HWM. 1998. The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research* 8: 77-90.

-Hilhorst HWM y CM Karssen. 2000. Effect of chemical environment in seed germination. En: M Fenner (ed.). Seeds: The ecology of regeneration in plant communities. 2º edición. CABI Publishing. Wallingford. UK.

-Hilton JR. 1984. The influence of temperature and moisture status on the photoinhibition of seed germination in *Bromus sterilis* L. by the far-red absorbing form of phytochrome. New Phytologist 97: 369-374.

-Holmes MG y H Smith. 1977. The function of phytochrome in the natural environment. II. The influence of vegetation canopies on the spectral energy distribution of natural daylight. Photochemical Photobiology 25: 539-545.

-Isselstein J, Tallowin JRB y REN Smith. 2002. Factors affecting seed germination and seedling establishment of fen-meadow species. Restoration Ecology 10: 173–184.

-Insausti P. 1996. Respuestas estructurales y funcionales a las inundaciones de un pastizal de la Depresión del Salado (Prov. de Buenos Aires). Tesis de Magister Scientiae, Escuela para Graduados, Facultad de Agronomía, U.B.A.

-Insausti P, Chaneton EJ y A Soriano. 1999. Flooding reverted grazing effects on plant community structure in mesocosms of lowland grassland. Oikos 84: 266-276.

-Insausti P y A Soriano. 1987. Efecto del anegamiento prolongado en un pastizal de la Depresión del Salado (Provincia de Buenos Aires, Argentina): dinámica del pastizal en conjunto y de *Ambrosia tenuifolia*. Darwiniana 28: 397-403.

-Insausti P, Soriano A y RA Sanchez. 1995. Effect of flood-induced factors on seed germination of *Ambrosia tenuifolia*. Oecologia 103: 127-132.

-Kleijn D. 2003. Can establishment characteristics explain the poor colonization success of late successional grassland species on ex-arable land? Restoration Ecology 11: 131–138.

-Koller D. 1972. Environmental control of seed germination. En: TT Koslowswski (ed.) Seed Biology Vol. II. Academic Press. London

-Koschorreck M y A Darwich. 2003. Nitrogen dynamics in seasonally flooded soils in the Amazon floodplain. Wetlands Ecology and Management 11: 317-330.

-Koslowski TT. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. Tree Physiology Monograph 1: 1-29.

-Lambers H, Stuart Chapin III F y TL Pons. 1998. Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag. New York.

-Lauenroth WK, Sala OE, Coffin DP y TB Kirchner. 1994.The importance of soil water in the recruitment of *Bouteloua gracilis* in the shortgrass steppe. Ecological Applications 4: 741-749.

-Lavado RS y MA Taboada. 1988. Water, salt and sodium dynamics in a Natraquoll in Argentina. Catena 15: 577-594.

-Lawton JH. 1995. Ecological experiments with model systems. Science 269: 328-331.

-Leiss KA y H Müller-Schärer. 2001. Performance of reciprocally sown populations of *Senecio vulgaris* from ruderal and agricultural habitats. Oecologia 128: 210-216.

-Lenssen JPM., Van Kleunen M, Fischer M, De Kroon H. 2004 Local adaptation of the clonal plant *Ranunculus reptans* to flooding along a small-scale gradient Journal of Ecology 92: 696-706.

-Linhart YB. 1988. Intrapopulation differentiation in annual plants. III. The contrasting effects of intra- and interspecific competition. Evolution 42: 1047-1064.

-Linhart YB y MC Grant. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. Annual Review of Ecology and Systematics 27: 237-277.

-Loreti J y M Oesterheld. 1996. Intraespecific variation in the resistance to flooding and drought in populations of *Paspalum dilatatum* from different topographic positions. Oecologia 108: 279-284.

-Loucks OL, Plumb-Mentjes ML. y D Rogers. 1985. Gap processes and large-scale disturbances in sand prairies. In ST Pickett y PS White. (eds.) The ecology of natural disturbance and patch dynamics: 71-83. Academic Press, Orlando, Fl.

-Marone L, Horno ME, R González Del Solar.2000. Post-dispersal fate of seeds in the Monte desert of Argentina: patterns of germination in successive wet and dry years. Journal of Ecology 88: 940-949.

-Masuda M y I Washitani. 1992 Differentiation of spring emerging and autumn emerging ecotypes in *Galium spurium* L. var. *echinospermon*. Oecologia 89: 42-46.

-Mathews S y RA Sharrock. 1997. Phytochrome gene diversity**.** Plant, Cell and Environmen*t* 20: 666-671.

-Messina CD, Hansen JW y AJ Hall. 1999. Land allocation conditioned on El Niño-Southern Oscillation phases in the Pampas of Argentina. Agricultural Systems 60: 197-212.

-Meyer SE, Allen PS y J Beckstead. 1997. Seed germination regulation *in Bromus tectorum* (Poaceae) and its ecological significance. Oikos 78: 475-485.

-Meyer SE y PS Allen. 1999a. Ecological genetics of seed germination regulation in *Bromus tectorum* L. I. Phenotypic variance among and within populations. Oecologia 120: 27-34.

-Meyer SE y PS Allen. 1999b. Ecological genetics of seed germination regulation in *Bromus tectorum* L. II. Reactions norms in response to a water stress gradient imposed during seed maturation. Oecologia 120: 35-43.

-Milbau A, Nijs I, van Peer L, Reheul D y B De Cauwer. 2003. Disentangling invasiveness and invasibility during invasion in synthesized grassland communities. New Phytologist 159: 657-667.

-Mollard F, Insausti P y R Sánchez. 2007. Flooding induces secondary dormancy in *Setaria parviflora* seeds. Seed Science Research 17: 55-62.

-Moore DRJ y PA Keddy. 1988. Effects of a water depth gradient on the germination of lakeshore plants. Canadian Journal of Botany 66:548-552.

-Mott JJ. 1978. Dormancy and germination of five native grass species from savannah woodland communities of the Northern Territory. Australian Journal of Botany 26: 621-631.

-Ni B.-R y KJ Bradford. 1992. Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. Plant Physiology 98: 1057-1068 .

-Negbi M y D. Koller. 1964. Dual action of white light in the photocontrol of germination of *Oryzopsis miliacea.* Plant Physiology 39: 247-253.

-Noronha A, Andersson L y P Milberg. 1997. Rate of change in dormancy level and light requirement in weed seeds during stratification. *Annals of Botany* 80: 795-801.

-Oesterheld M y OE Sala. 1990. Effects of grazing on seedling establishment: the role of seed and safe-site availability. Journal of Vegetation Science 1:353-358.

-Paruelo JM y OE Sala. 1990. Caracterización de las inundaciones en la Depresión del Salado (Buenos Aires, Argentina): dinámica de la capa freática. Turrialba 40: 5-11.

-Ponnamperuma FN. 1984. Effects of flooding on soils. En: TT Kozlowski (ed.). Flooding and Plant Growth. Academic Press, Florida.

-Pons TL. 1984. Possible significance of changes in the light requeriment of *Cirsium palustre* seeds after dispersal in ash coppice. Plant Cell and Environment 7: 263-268.

-Pons TL. 1989. Breaking of seed dormancy by nitrate as a gap detection mechanism. Annals of Botany 63: 139-143.

-Pons TL. 1991. Induction of dark dormancy in seeds: its importance for the seed bank in the soil. Functional Ecology 5: 669-675.

-Pons TL y HFJM Schroder. 1986. Significance of temperature fluctuation and oxygen concentration for germination of the rice field weeds *Fimbristylis littoralis* and *Scirpus juncoides*. Oecologia 68: 315-319.

-Pratt LH, Cordonnier-Pratt MM, Kelmenson PM, Lazarova GI, Kubota T y RM Alba. 1997. The phytochrome gene family in tomato *(Solanum lycopersicum* L.). Plant, Cell and Environment 20: 672-677.

-Pritchard HW, Steadman KJ, Nash JV y C Jones. 1999. Kinetics of dormancy release and the high temperature germination response in *Aesculus hippocastanum* seeds. Journal of Experimental Botany 50: 1507-1514

-Probert R. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. En Fenner, M. (Ed.) Seeds. The ecology of regeneration in plant communities. Cabi Publishing. Southampton. UK.

-Probert RJ, Smith RD y P Birch. 1985. Germination responses to light and alternating temperatures in European populations of *Dactylis glomerata* L. I. Variability in relation to origin. New Phytologist 99: 305-3l6.

-Reader RJ. 1991. Relationship between seedling emergence and species frequency on a gradient of ground cover density in abandoned pasture. Canadian Journal of Botany 69:1397-1401.

-Rodriguez AM, Jacobo EJ y VA Deregibus. 1998. Germination behaviour of Italian ryegrass in flooding pampa rangelands. Seed Science Research 8: 521-528.

-Roach DA y RD Wulff. 1987. Maternal effects in plants. Annual Rewiew of Ecology and Systematics 18: 209-235.

-Rüdiger W y F Thümmler. 1994. The phytochrome chromophore. En RE Kendrick y GHM Kronenberg (eds) Photomorphogenesis in plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

-Sala OE, Oesterheld M, León RJC y A Soriano. 1986. Grazing effects upon plant community structure in subhumid grasslands of Argentina. Vegetatio 67: 27-32.

-Sala OE, Parton WJ, Joyce LA y WK Lauenroth. 1988. Primary production of the central grassland region of the United States: Spatial pattern and major controls. Ecology 69: 40-45.

-Sanchez RA, De Miguel L, Lima C y RM De Lederkremer. 2002. Effect of low water potential on phytochrome-induced germination, endosperm softening and cell-wall mannan degradation in *Datura ferox* seeds. Seed Science Research 12: 155-163.

-Sauer J y G Struik. 1964. A possible ecological relation between soil disturbance, light-flash, and seed germination. Ecology 45: 884-886.

-Schlichting CD y M Pigliucci. 1998. Phenotypic evolution. A reaction norm perspective. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA. USA.

-Scopel AL, Ballaré C y RA Sánchez. 1991. Induction of extreme light sensitivity in buried weed seeds and its role in the perception of soil cultivations. Plant, Cell and Environment 14: 501-508

-Sierra EM y ER Montecinos. 1990. Cronología de inundaciones y sequías en la Depresión del Salado. Revista de la Facultad de Agronomía 11: 35-45.

-Silvertown JW. 1980. Leaf-canopy-induced seed dormancy in a grassland flora. New Phytologist 85: 109-118.

-Silvertown JW y J Lovett Doust. 1993. Introduction to Plant Population Biology. Oxford, Blackwell Science Ltd.

-Sokal RR y FJ Rohlf. 1969. Biometry. San Francisco. USA: Freeman.

-Soriano A. 1991. Río de la Plata Grasslands. En: Coupland RT, ed. Ecosystems of the World 8A. Natural Grasslands. Introduction and Western Hemisphere. Elsevier, Amsterdam.

-Steadman KJ. 2004. Dormancy release during hydrated storage in *Lolium rigidum* seeds is dependent on temperature, light quality, and hydration status. Journal of Experimental Botany 55: 929-937.

-Taboada MA. y RS Lavado. 1986. Características del régimen ácuico de un Natracuol de la Pampa Deprimida. Ciencia del Suelo 4: 66-71.

-Tilman D. 1982. Resource competition and community structure. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.

-Thanos CA, Georghiou K y F Skarou. 1989. *Glacium flavum* seed germination -an ecophysiological approach. Annals of Botany 63:121-130.

-Thompson K. 1992. Functional ecology of soil seed banks Fenner, M. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. Wallingford, UK: CABI Publishing.

-Thompson K, Grime JP y G Mason. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations in temperature. Nature 267: 147-149.

-Thompson K y JP Grime. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. Journal of Ecology 67: 893-921.

-Thompson K y JP Grime. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally fluctuating temperatures. Journal of Applied Ecology 20:141-156.

-Totterdell S y EH Roberts. 1980. Characteristics of alternating temperatures which stimulate loss of dormancy in seeds of *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. Plant Cell and Environment 3: 3-12.

-Vandvik V y V Vange. 2003. Germination ecology of the clonal herb *Knautia arvensis*: regeneration strategy and geographic variation. Journal of Vegetation Science 14: 591-600.

-Visser EJW, Nabben RHM, Blom CWPM y LACJ Voesenek. 1997 Elongation by primary lateral roots and adventitious roots during conditions of hypoxia and high ethylene concentrations. Plant, Cell and Environment 20: 647-653.

-Wesson G y PF Wareing. 1969. The induction of light sensitivity in weeds seeds by burial. Journal of Experimental Botany 20: 414-425.

-White PS y STA Pickett. 1985. The ecology of natural disturbance and patch dynamics. Academic Press, Orlando.

ANEXO I

Tabla 1. Análisis mediante ANOVA de tres factores de la germinación de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el año 2004. Germinación de las semillas al inicio del experimento y luego de permanecer embebidas o sumergidas en agua destilada durante dos meses a 5ºC. Las semillas fueron puestas a germinar bajo distintos tratamientos de temperatura y de luz.

		Inicial		Inundadas		Embebidas	
Fuente de Variación	gl	F	p	F	p	F	p
Modelo	17	6,49	**<0,001**	12,51	**<0,001**	9,25	**<0,001**
Población	2	13,42	**<0,001**	33,78	**<0,001**	24,37	**<0,001**
Temperatura	1	25,42	**<0,001**	77,38	**<0,001**	64,63	**<0,001**
Luz	2	8,51	**<0,001**	3,06	0,055	12,52	**<0,001**
PxT	2	3,33	**0,043**	19,90	**<0,001**	6,77	**0,002**
PxL	4	5,84	**<0,001**	1,65	0,176	0,98	0,428
TxL	2	3,62	**0,033**	6,29	**0,003**	0,34	0,710
PxTxL	4	0,93	0,454	0,66	0,619	0,18	0,949
Error	54						

Tabla 2. Análisis mediante ANOVA de dos factores de la germinación de las semillas de *Setaria parviflora* cosechadas en el año 2006 y embebidas o sumergidas en agua destilada durante dos meses a 5ºC. Las semillas fueron puestas a germinar bajo distintos tratamientos de temperatura y de luz en presencia o en ausencia de nitratos.

		Inundadas		Embebidas	
Fuente de Variación	gl	F	p	F	p
Modelo	14	19,85	**<0,001**	12,53	**<0,001**
Población	2	59,63	**<0,001**	1,96	0,152
Tratamientos	4	22,44	**<0,001**	33,81	**<0,001**
PxT	8	8,61	**<0,001**	4,54	**<0,001**
Error	45				

Tabla 3. Resultados del ANOVA de dos factores acerca de la germinación de las semillas enterrradas en mesocosmos drenados o inundados durante 20 días. Las semillas luego de la exhumación fueron puestas a germinar en laboratorio bajo distintos tratamientos de temperatura y de luz en presencia o en ausencia de nitratos.

Mesocosmos		Inundados		Drenados	
Fuente de Variación	gl	F	p	F	p
Modelo	14	9,31	**<0,001**	16,86	**<0,001**
Población	2	0,37	0,691	76,11	**<0,001**
Tratamientos	4	8,19	**<0,001**	13,96	**<0,001**
PxT	8	12,10	**<0,001**	3,50	**0,003**
Error	45				

Tabla 4. Resultados del ANOVA de dos factores acerca de la germinación de las semillas de *Setaria parviflora* enterradas en el Alto y en el Bajo y exhumadas en invierno y en verano. Luego de la exhumación las semillas fueron puestas a germinar en laboratorio bajo distintos tratamientos de temperatura y de luz en presencia o en ausencia de nitratos.

Exhumación de Invierno		Alto		Bajo	
Fuente de Variación	gl	F	p	F	p
Modelo	14	11,99	**<0,001**	6,46	**<0,001**
Población	2	8,00	**0,001**	13,17	**<0,001**
Tratamientos	4	31,85	**<0,001**	7,69	**<0,001**
PxT	8	3,05	**0,008**	4,16	**<0,001**
Error	45				
Exhumación de verano		Alto		Bajo	
Modelo	14	45.2	**<0,001**	22.53	**<0,001**
Población	2	223.31	**<0,001**	36.74	**<0,001**
Tratamientos	4	37.96	**<0,001**	43.58	**<0,001**
PxT	8	4.3	**0,0007**	8.45	**<0,001**
Error	45				