

COMPARACION DE LA VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS OBTENIDAS POR MEDIO DE LAS TECNICAS DE EXTRACCION FISICA POR LAVADO Y DE GERMINACION¹

Comparing the Viability of Seeds Obtained by the Physical Extraction Techniques VBP and VBP Plus Germination

ZULUAGA, M.S.², ACCIARESI, H.A.^{2,3} y CHIDICHIMO, H.O.^{2,3}

RESUMEN - El objetivo del presente trabajo fue comparar la viabilidad obtenida por la técnica de viabilidad por presión (VPP) respecto de la viabilidad obtenida por una combinación de la metodología VPP más germinación. Asimismo se trató de establecer si ambos procedimientos determinan la viabilidad de las mismas especies o si existen diferencias en las especies establecidas como viables. El número de semillas viables estimado por la técnica VPP fue de 3475 (9,85% del total del banco de semillas), en tanto el número de semillas no viables fue de 31795 (90,15% del total del banco de semillas). Luego de aplicar la técnica de germinación (5 ciclos) sobre ambas categorías, en las viables se obtuvo una germinación de 3286 semillas (9,32% del total del banco de semillas), no germinando 189 semillas (0,53% del total de dicho banco). Hubo un 7.23% adicional del banco de semillas que resultó viable por germinación, cuando previamente había sido considerado no viable por la técnica VPP. Los resultados alcanzados muestran que la técnica VPP realiza una subestimación significativa del banco de semillas, en tanto la sobreestimación no alcanzó niveles de significancia. Estos resultados ponen de manifiesto que con la técnica VPP no sólo se obtiene un menor número total de semillas viables, sino que no permitiría reflejar la verdadera proporción de semillas viables y no viables del banco total. Cuando se incorpora al análisis la técnica de germinación, se encuentra que la proporción del banco no es la misma de acuerdo a la metodología empleada, pues mientras la VPP establece, dentro del banco, semillas viables y no viables, se observó que aplicando la técnica de germinación algunas semillas consideradas viables no germinaron mientras que otras consideradas como no viables sí lo hicieron.

Palabras claves: semillas viables, ecología de malezas, banco de semillas, técnicas de estimación, manejo integrado de malezas.

ABSTRACT - *The objective of this study was to compare the viability of seeds obtained through the techniques "viability by pressure" (VBP) and "viability by pressure plus germination" (VBP-G). Thus, differences were established between the techniques regarding the weed seeds considered viable. A total of 3475 "viable" seeds m⁻² (9.85% of the total seed bank) and 31795 "non viable" seeds m⁻² (90.15% of the total seed bank) were determined by using the VBP method. After application of five germination cycles of both categories, 189 seeds m⁻² did not germinate although they had been estimated as "viable" by the VBP method. No significant differences ($p=0.15$, $f= 2.33$) were found between the viability values obtained by the VBP and germination methods. Thus, large differences in the "non-viable" category appeared, since 2549 seeds m⁻² germinated despite being estimated as "non-viable" by the VBP technique. The results showed that a significant soil seed bank estimate was obtained when applying the VBP technique, i.e., overestimation (VBP-VBP/G) did not reach a significant level (0.53% of the soil seed bank total). The use of VBP technique results in a lower "viable" seed number prediction and a modified seed bank proportion.*

Key words: weed ecology, seed viability, seed bank, estimating technique, integrated weed management.

¹ Recebido para publicação em 21.7.2003 e na forma revisada em 18.6.2004.

² Ingeniero Agrónomo. Cátedra de Cerealicultura. Departamento de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.(UNLP).Argentina. ³ Comisión de Investigaciones Científicas de Bs. As (CIC).Argentina, <mszuluaga@ceres.agro.unlp.edu.ar>.



INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la utilización de herbicidas ha sido la práctica de mayor uso para el control de malezas. Sin embargo la necesidad de disminuir los costos de producción y la presión de la sociedad en contra del uso sistemático de herbicidas indujo al desarrollo de una propuesta diferente, como el manejo integrado de malezas (Dessaint et al., 1996).

Dentro del desarrollo de este manejo integrado, el conocimiento de la dinámica del banco de semillas de malezas (composición, cantidad y distribución de semillas viables), es una etapa importante hacia el desarrollo de un manejo integrado de malezas (Cardina y Sparrow, 1996).

El entendimiento de esta dinámica puede ser utilizado en la predicción de futuras infestaciones de malezas dando la posibilidad de implementar medidas de prevención y control (entre otras: cultivares más competitivos, alelopatía, control biológico, control mecánico, control químico), sólo cuando y donde éstas fueran necesarias (Ball y Miller, 1989).

Debido a la importancia del conocimiento del banco de semillas, se han realizado diversos intentos para su caracterización: distintos autores han encarado el estudio por medio de la germinación de muestras de suelo (Brenchey y Warrington, 1930, Roberts, 1958, Feast y Roberts, 1973, Albrech y Forster, 1996), otros en cambio han llevado a cabo la germinación de las muestras y posterior separación física de las semillas remanentes (Cardina et al., 1996, Dessaint et al., 1997, Mulugeta y Stoltenberg, 1997). También se caracterizó el banco de semillas por medio de una extracción física por lavado (Hyde y Suckling, 1953, Malone, 1967, Fay y Olson, 1978, Standifer, 1980, Ball y Miller, 1989, Forcella, 1992, Yenish et al, 1992).

Feast y Roberts (1973) y Ball y Miller (1989), han promovido el uso de la extracción física por lavado (EFL), por sobre la germinación de las muestras, pues mientras la primer técnica permite conocer el número total de semillas del banco, la última sólo determina el número de semillas sin dormición.

No obstante cuando se emplea la EFL, la viabilidad de las semillas es estimada, en la

mayoría de los casos, por medio de la resistencia que ejerce la semilla a una suave presión realizada con pinzas finas, (Carretero, 1977, Roberts y Ricketts, 1979, Standifer, 1980, Ball y Miller, 1989, Forcella et al., 1992, Cardina et al., 1996). Se ha establecido que la ventaja de esta técnica radica en la facilidad y rapidez de la determinación de la viabilidad. El inconveniente que presenta esta técnica es la existencia en la muestra de semillas viables que no resistan la presión ejercida, siendo consideradas no viables y por ende no serán contadas dentro del banco de semillas de malezas. Asimismo, es posible que semillas no viables resistan la presión ejercida considerándose como integrantes del banco de semillas. De este modo no se tendría una estimación adecuada de la composición, cuantificación y proporción de las semillas dentro del banco.

Hasta el presente no se han llevado a cabo estudios que realicen una evaluación de la técnica de estimación de la viabilidad por presión (VPP), como así tampoco estudios que empleen una combinación de la técnica VPP con germinación.

En función de lo establecido y dada la importancia de la dinámica del banco de semillas y la difusión alcanzada por la técnica VPP, el objetivo del presente trabajo fue comparar la viabilidad obtenida por esta técnica con respecto a la viabilidad obtenida por una combinación de la metodología VPP más germinación. Asimismo se tratará de establecer si ambos procedimientos determinan la viabilidad de las mismas especies o si existen diferencias en las especies establecidas como viables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de ensayo y procedimiento de muestreo

Para el estudio de la viabilidad, las muestras se tomaron de un ensayo de evaluación de banco de semillas con distintos sistemas de labranza, en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (Universidad Nacional de La Plata), La Plata (Bs. As. Argentina, 34° 57' S, 57° 58' W).

El lote (argiudol típico), se encuentra bajo un rotación trigo/maíz, desde 1994. Se

seleccionaron dos franjas de terreno de 3 m de ancho x 70 m de largo, realizándose en cada una de ellas extracciones de muestras de suelo con calador (4,5 cm Ø), a una profundidad de 0-5 cm, en la primera quincena de septiembre de 1998 previo a la siembra de maíz. La superficie muestreada y el número de determinaciones siguió la metodología propuesta por Forcella (1984). Dentro de cada franja, se seleccionaron 10 parcelas de 3 m x 14 m, realizándose 15 extracciones parcela⁻¹, bajo un diseño en forma de W, agrupándose luego para formar una muestra compuesta (0,0239 m²). La superficie total muestreada aproximadamente fue de 0,239 m². Las muestras fueron identificadas y colocadas en bolsas de polietileno, almacenándose en la oscuridad a 4 °C durante (3 días) para prevenir la germinación hasta la extracción de las semillas.

Extracción y determinación de viabilidad

Se realizó la técnica EFL para la extracción de las semillas, determinándose la viabilidad por medio de la técnica VPP. La EFL siguió la metodología propuesta por Cardina y Sparrow (1996). La misma consistió en separar las semillas del suelo colocando cada muestra en tamices de malla de 4000 µ y 240 µ, bajo una presión ejercida por una corriente de agua. El contenido retenido por cada tamiz fue secado al aire durante 48 h. Posteriormente las semillas se extrajeron e identificaron mediante el uso de un lupa. Para determinar la viabilidad se realizó la técnica VPP así las semillas que resistieron una suave presión realizada mediante una pinza fina fueron consideradas viables. De este modo se establecieron dos grupos. Las consideradas viables fueron puestas a germinar durante 12 días a 21 °C, en cajas de petri sobre un papel Whatman n° 1 con el agregado de 3 mL de ácido giberélico (AG) 2,9 mM (Fay y Olson, 1978), realizándose 5 ciclos de germinación. En tanto, aquellas consideradas no viables fueron también puestas a germinar en las mismas condiciones. Para ello se colocaron en bolsas de malla de 240 µ enterradas en el suelo a 5 cm de profundidad durante el período octubre-diciembre.

Luego de los respectivos ciclos, en cada grupo se contaron e identificaron las que germinaron.



Análisis estadísticos

Se empleó un análisis de varianza previa transformación de los valores (log). De este modo, dada la amplitud de los valores se obtuvo una relación de proporciones entre medias de tratamientos en vez de una relación aritmética. Se utilizó un test de tukey para la comparación de medias de tratamientos ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición del banco de semillas

En la Tabla 1 se detallan las especies encontradas en el banco de semillas por medio de la técnica EFL. Se observó que el 78% del banco de semillas aproximadamente correspondió a *Apium leptophyllum*, *Anthemis cotula*,

Tabla 1 - Especies componentes del banco total de semillas determinadas por la técnica EFL. Estación Experimental Fac. Cs. Agr. y Ftiles. La Plata. Argentina. Setiembre 1998

Nombre Científico
<i>Amaranthus</i> sp.
<i>Ammi majus</i>
<i>Anagallis arvensis</i>
<i>Anthemis cotula</i>
<i>Apium leptophyllum</i>
<i>Brassica campestris</i>
<i>Briza minor</i>
<i>Cerastium glomeratum</i>
<i>Chenopodium album</i>
<i>Coronopus didymus</i>
<i>Cynodon dactylon</i>
<i>Digitaria sanguinalis</i>
<i>Echinochloa crusgalli</i>
<i>Gamochaeta spicata</i>
<i>Lolium multiflorum</i>
<i>Picris echioides</i>
<i>Plantago lanceolata</i>
<i>Poa annua</i>
<i>Polygonum aviculare</i>
<i>Portulaca oleracea</i>
<i>Setaria</i> sp.
<i>Sonchus oleraceus</i>
<i>Sorghum halepense</i>
<i>Stachys arvensis</i>
<i>Stellaria media</i>
<i>Triodanis biflora</i>
<i>Veronica persica</i>

Gamochaeta spicata y *Digitaria sanguinalis*. Así Forcella (1992), determinó que *Amaranthus retroflexus* y *Chenopodium album* dominaban el banco de semillas, en tanto que Cardina et al., (1991), determinaron que el banco estaba compuesto en más del 90% por 7 especies de malezas, *Chenopodium album*, *Amaranthus* sp., *Panicum dicotomiflorum*, *Setaria faberi*, *Polygonum pensylvanicum*, *Abutilon theophrasti* y *Solanum ptycanthum*.

Cuantificación del banco de semillas

La técnica EFL determinó 35270 (n=10) semillas totales m⁻² integrantes del banco

El número de semillas viables estimado por la técnica VPP fue de 3475 (9,85% del total del banco de semillas), en tanto el número de semillas no viables fue de 31795 (90,15% del total del banco de semillas).

Luego de aplicar la técnica de germinación (5 ciclos) sobre ambas categorías, en las viables se obtuvo una germinación de 3286 semillas (9,32% del total del banco de semillas), no germinando 189 semillas (0,53% del total de dicho banco).

Los valores de viabilidad estimada por la VPP y por germinación no tuvieron diferencias mínimas significativas (DMS) ($p < 0.05$, $f = 2.33$) entre sí (Tabla 2). Dentro de esta categoría no existieron diferencias en la viabilidad estimada por ambas técnicas. No obstante las diferencias surgieron en la categoría no viables (No VPP). Hubo 189 semillas que habiendo sido estimadas previamente como viables por la técnica VPP no germinaron. Por otra parte 2549 semillas germinaron habiendo sido clasificadas previamente como no viables por la técnica VPP (Tabla 2). De haber finalizado el estudio con la estimación de la no viabilidad por la técnica VPP, se hubiese omitido considerar un 7.23% adicional semillas que resultó viable por germinación, cuando previamente había sido considerado no viable por la técnica VPP.

De este modo, el banco total de semillas determinado por la combinación de las dos metodologías (VPP y germinación) esta compuesto por 5835 (16,54% del total), en tanto la estimación alcanzada por la técnica VPP fue de un 6,69% menor ($p < 0.05$, $f = 5.24$).

Los resultados alcanzados muestran que la técnica VPP realiza una subestimación significativa del banco de semillas, en tanto la sobreestimación (VPP – VPP/G) alcanzó niveles muy bajos, no significativos (0.53% del total del banco) (Tabla 2).

Las semillas consideradas viables por la técnica VPP que no germinaron (VPP/No G) correspondieron a *Apium leptophyllum*, *Briza minor*, *Coronopus didymus*, *Sonchus oleraceus* y *Cerastium glomeratum*, en tanto las consideradas no viables que posteriormente germinaron (No VPP/G) correspondieron a *Amaranthus* sp., *Anagallis arvensis*, *Convolvulus arvensis*, *Cynodon dactylon*, *Chenopodium album*, *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli*, *Gamochaeta spicata*, *Setaria* sp., *Stachis arvensis*.

Estos resultados ponen de manifiesto que con la técnica VPP no sólo se obtiene un menor número total de semillas viables, sino que tampoco permitiría reflejar la verdadera proporción del banco total. Cuando se incorpora al análisis el estudio de la viabilidad la técnica de germinación, se encuentra que la proporción del banco no es la misma de acuerdo a la metodología empleada, pues mientras la VPP establece semillas viables y no viables, se observó que la técnica de germinación estableció que en algunos casos algunas semillas consideradas viables no germinaron mientras que otras consideradas como no viables sí lo hicieron.

Tabla 2 - Viabilidad del banco de semillas determinado por la técnica VPP. Estación Experimental Fac. Cs. Agr. y Ftales. La Plata. Argentina. Setiembre 1998.

Semillas	Número de semillas m ⁻² (%)
Totales	35270 a (100)
No VPP	31795 a (90.15)
No VPP/No G	29246 b (82.92)
VPP	3475 c (9.85)
VPP/G	3286 c (9.32)
VPP/No G (VPP – VPP/G)	189 (0.53)
No VPP/G	2549 d (7.23)
DMS ($p < 0.05$)	1.18

Valores entre paréntesis indican porcentaje respecto al total.

Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente entre sí. Tukey 5%.

De este modo, una estimación inadecuada del número de semillas viables totales como de la proporción de especies dentro del banco de semillas condicionará las conclusiones acerca de las respuestas diferenciales de las especies ante distintos tratamientos, tales como sistemas de labranza, cultivos, tipos y dosis de herbicidas.

En función de los resultados encontrados, aquellos estudios de la dinámica del banco total de semillas que empleen la EFL y la VPP deberían necesariamente analizar la viabilidad posterior por medio de una prueba de germinación de las distintas fracciones obtenidas con la VPP. Sólo de esta manera se podrá obtener un comportamiento no sesgado, producto de la utilización de metodologías separadas.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ALBRECHT, H.; FORSTER, E. M. The weed seed bank of soils in a landscape segment in southern Bavaria. I. Seed content, species composition and spatial variability. **Vegetatio**, v. 125, p. 1-10, 1996.
- BALL, D. A.; MILLER, S. D. A comparison of techniques for estimation of arable soil seedbanks and their relationship to weed flora. **Weed Res.**, v. 29, p. 365-373, 1989.
- BRENCHLEY, W. E.; WARRINGTON, K. The weed seed population of arable soil. I. Numerical estimation of viable seeds and observations on their natural dormancy. **Journal Ecol.**, v. 18, p. 235-272, 1930.
- CARDINA, J.; SPARROW, D. A comparison of methods to predict weed seedling populations from the soil seedbank. **Weed Sci.**, v. 44, p. 46-51, 1996.
- CARDINA, J., SPARROW, D.; Mc COY, E. L. Spatial relationships between seedbank and seedling populations of *Chenopodium album* and annual grasses. **Weed Sci.**, v. 44, p. 298-308, 1996.
- CARRETERO, J. L. Estimación del contenido de semillas de malas hierbas de un suelo agrícola como predicción de su flora adventicia. **An. Inst. Bot.**, v. 34, p. 267-278, 1977.
- DESSAINT, F.; CHADOEUF, R.; BARRALIS, G. Nine years' soil seedbank and weed vegetation relationships in an arable field without weed control. **J. Appl. Ecol.**, v. 34, p. 123-130, 1997.
- DESSAINT, F. et al. Precision of soil seedbank sampling: how many cores? **Weed Res.**, v. 36, p. 143-151, 1996.
- FAY, P. K.; OLSON, W. A. Technique for separating weed seed from soil. **Weed Sci.**, v. 26, p. 530-553, 1978.
- FEAST, P. M.; ROBERTS, H. A. Notes on estimation of viable weed seeds in soil samples. **Weed Res.**, v. 13, p. 110-113, 1973.
- FORCELLA, F. Prediction of weed seedlings densities from buried seed reserves. **Weed Res.**, v. 32, p. 29-38, 1992.
- FORCELLA, F. et al. Weed seedbanks of the U.S. corn belt: Magnitud, variation, emergence, and application. **Weed Sci.**, v. 40, p. 636-644, 1992.
- FORCELLA, F. A species-area curve for buried viable seed. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 35, p. 645-652, 1984.
- HYDE, E.; SUCKLING, F. Dormant seeds of clover and other legumes in agricultural soils. **N. Z. J. Sci. Technol. Sec. A.**, v. 34, p. 375-385, 1953.
- MALONE, C. R. A Rapid method for enumeration of viable seeds in soil. **Weeds**, v. 15, p. 381-382, 1967.
- MULUGETA, D.; STOLTENBERG, D. E. Seedbank characterization and emergence of a weed community in a moalboard plow system. **Weed Sci.**, v. 45, p. 54-60, 1997.
- ROBERTS, H. A. Studies on the seeds of vegetable crop. I. Initial effects of different cropping on the weed seeds in the soil. **J. Ecol.**, v. 46, p. 759-768, 1958.
- ROBERTS, H. A.; RICKETTS, M. E. Quantitative relationship between the weed flora after cultivation and the seed population in the soil. **Weed Res.**, v. 19, p. 269-275, 1979.
- STANDIFER, L. C. A technique for estimating weed seed populations in cultivated soil. **Weed Sci.**, v. 28, p. 134-138, 1980.
- YENISH, J. P.; DOLL, J.; BUHLER, D. Effects of tillage on vertical distribution and viability of weed seed in soil. **Weed Sci.**, v. 40, p. 429-433, 1992.

