



fcefn



**DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA**
Facultad de Ciencias Exactas
Físicas y Naturales - UNSJ

Universidad Nacional de San Juan

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Licenciatura en Biología

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE MICORRIZAS VESÍCULO
ARBUSCULARES (MVA) EN LA GERMINACIÓN Y
ESTABLECIMIENTO DE 3 PASTOS NATIVOS DE ZONAS
ÁRIDAS, BAJO ESTRÉS HÍDRICO”**

Alumno: Mercado, Ignacio Agustín

Directora: Lic. Carola Meglioli

Codirector: Dr. Emilio Paroldi

AÑO: 2023

Agradecimientos

En especial a mis padres, Guillermo y Beatriz, quienes me apoyaron desde el principio y quienes me enseñaron todo lo que hoy soy, son los grandes pilares de mi vida. Este logro se lo dedico a ellos, que siempre me van a acompañar.

A mis hermanos, hermanas y mis sobrinos, Juan, Paula, Lucía, Guadalupe, Santiago, Lorenzo, Iñaki, por el cariño, amistad, y estar siempre que los necesitaba.

A mi novia, compañera y amiga, Elisa, por su amor y acompañamiento incondicional.

A mis abuelos, Roberto y Victoria, por su acompañamiento y amor desde que tengo memoria.

A mi directora, Lic. Carola Meglioli por guiarme y enseñarme en esta instancia y por brindarme su tiempo, conocimientos y estar siempre predispuesta en cualquier momento.

A mis compañeros y compañeras de laboratorio, Mica, Wanda, Juan Pablo, por brindarme su ayuda para realizar este trabajo.

A mis amigos y amigas de la facultad, Franco, Cecilia, Juan Gabriel, Leandro, Elías, Fernando, Sofía, Valentina, Gabriela, Sara y a cada uno de mis compañeros y compañeras por ser de gran ayuda para mi formación como profesional.

Contenido

Nota aclaratoria sobre el título	4
Resumen	4
Introducción	6
Situación de las zonas áridas, estrés hídrico y germinación de semillas	6
Tratamiento de acondicionamiento osmótico de semillas	8
Familia Poaceae– Importancia	10
Micorrizas vesículo arbusculares.....	14
Objetivo general	16
Objetivos específicos.....	16
Hipótesis.....	16
Materiales y Métodos.....	16
Material Vegetal	16
Acondicionamiento osmótico de los cariopses	17
Evaluación de los niveles de tolerancia a estrés hídrico en cariopses normales y acondicionados osmóticamente	20
Efecto de micorrizas vesículo arbusculares sobre la germinación de cariopses acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico	22
Análisis de datos	24
Resultados.....	25
Acondicionamiento osmótico de los cariopses	25
Niveles de tolerancia al estrés hídrico en cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente	35
Efecto de micorrizas vesículo arbusculares sobre la germinación en cariopses acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico	38
Discusión	47
Acondicionamiento osmótico y tolerancia al estrés hídrico	47
Efecto de micorrizas vesículo arbusculares.....	49
Conclusiones	51
- Con respecto a los tratamientos de acondicionamiento osmótico	51
- Con respecto a la tolerancia al estrés hídrico de cariopses sin tratamientos previos.....	51
- Sobre la tolerancia al estrés hídrico de cariopses acondicionados osmóticamente	51
- Sobre el efecto de micorrizas vesículo arbusculares en cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente.	52
Conclusión general y perspectivas	52
Bibliografía.....	53

Nota aclaratoria sobre el título

El título original de este trabajo, es el que figura en la portada, sin embargo, el contenido no muestra resultados sobre el establecimiento de las plántulas de las diferentes especies. En su lugar, se muestran resultados obtenidos sobre el acondicionamiento osmótico de los cariopses como tratamiento pregerminativo para lograr una mayor tolerancia a las condiciones de estrés hídrico. Este cambio debió realizarse posteriormente a la presentación del plan de trabajo, ya que, por razones ajenas a nuestra voluntad, el experimento emplazado en el vivero para evaluar las plántulas, debió cancelarse y no se pudieron realizar las evaluaciones planificadas.

Resumen

Las zonas áridas ocupan casi 5.2 billones de hectáreas, al menos un tercio de la superficie terrestre, y son el soporte físico donde habita aproximadamente 1/5 de la población mundial. Dichas zonas, muestran una gran variabilidad estacional y temporal de las precipitaciones y una gran amplitud térmica. La interacción agua-vegetación en las zonas que presentan estas características, resulta de elevada importancia. En relación a esta interacción, el estrés hídrico es uno de los principales factores del ambiente que afecta a las plantas durante los diferentes estadios, incluyendo su germinación, crecimiento, supervivencia y reproducción. Existen diferentes técnicas para contrarrestar el efecto negativo del estrés hídrico. Una es el tratamiento de acondicionamiento osmótico, el cual se ha demostrado que favorece las características de emergencia, crecimiento y supervivencia de plantas, y mejora el porcentaje de germinación. Otra de las técnicas es la inoculación con micorrizas vesículo arbusculares, ya que las mismas protegen a las plantas hospederas contra los efectos perjudiciales del déficit de agua a través de diferentes mecanismos. Por otro lado, las especies de la familia Poaceae, constituyen los principales pastizales de zonas áridas y semiáridas de Argentina, y también son utilizados tanto en la recuperación de suelos degradados, cómo en los ecosistemas silvopastoriles. Son insuficientes los estudios que describen el proceso de germinación en especies nativas de la de ésta familia, a partir de cariopses previamente acondicionados osmóticamente, en combinación con el efecto de la presencia de micorrizas, es por ello que el objetivo general de la presente propuesta fue evaluar el efecto de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) en cariopses acondicionados osmóticamente de *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica* bajo condiciones de estrés hídrico en el proceso de germinación.

Para evaluar el tratamiento de mayor eficacia de acondicionamiento osmótico de los cariopses de cada especie, se evaluaron diferentes soluciones: agua, manitol y polietilenglicol 6000 (PEG), con distintos potenciales osmóticos (0, -0,5 y -1 MPa), considerando dos tiempos de exposición (6 y 12 hs). Para determinar los niveles de tolerancia al estrés hídrico de los cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente, se sembraron 25 cariopses con 4 repeticiones de cada especie en cajas de Petri con papel de germinación. Para simular condiciones de estrés hídrico, se las regó con soluciones de PEG con los siguientes

potenciales osmóticos: -0,3, -0,9 y -1,2 Mpa. La inoculación de las micorrizas se realizó sumergiendo cariopses sin tratamientos pre germinativos y acondicionados osmóticamente, en una solución de micorrizas durante 30 minutos, y luego fueron sembrados en cajas de Petri con papel de germinación. Los tratamientos controles (control, acondicionamiento osmótico, cariopses sin tratamiento previo inoculados con micorrizas y cariopses acondicionados osmóticamente inoculados con micorrizas) fueron regados con agua destilada, mientras que las condiciones de estrés hídrico se brindaron regando con las soluciones de PEG con los siguientes potenciales osmóticos (-0,3, -0,9 y -1,2 MPa). Con los resultados obtenidos se estimó el porcentaje de germinación, el tiempo medio de germinación (MTG), el índice de velocidad de emergencia radicular (ERI) y el índice de Timson (Ti). La presencia de hongos micorrícicos en las raíces de cada especie se evaluó, tiñendo las mismas con azul de tripán. Para estimar el grado de micorrización se aplicó el método de intersección de cuadrantes y se realizó la observación bajo microscopio estereoscópico.

Los resultados mostraron que el tratamiento de mayor eficacia para realizar el acondicionamiento osmótico de los cariopses de *Leptochloa crinita*, fue Manitol con un potencial osmótico de -1 MPa, con un tiempo de exposición de 12 hs. En la especie *Pappophorum caespitosum*, el tratamiento fue Polietilenglicol 6000 (PEG) con un potencial osmótico de -0,5 MPa, con 6 h de exposición; y para *Digitaria californica*, Manitol con un potencial osmótico de -0,5 MPa, durante 6 hs de exposición. El tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses fue efectivo para mejorar la germinación de las especies bajo las condiciones de estrés hídrico brindadas, principalmente bajo los potenciales osmóticos de -0,3 y -0,6 MPa. La inoculación con micorrizas vesículo arbusculares también mostró resultados positivos sobre el proceso de germinación bajo condiciones de estrés hídrico, especialmente bajo el estrés hídrico producido por la solución de PEG -0,3 MPa.

Teniendo en cuenta los resultados positivos de las tres especies en cuanto al acondicionamiento osmótico y la inoculación de micorrizas frente a las condiciones de estrés hídrico, características de los suelos de las zonas áridas de la provincia de San Juan, se recomienda sembrar en conjunto los cariopses tratados de las tres especies para la recuperación de los suelos degradados. Los resultados obtenidos, son promisorios para ser utilizados en programas de restauración ecológica de zonas áridas. Los cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas poseen mayor habilidad para tolerar las condiciones de aridez.

Introducción

Situación de las zonas áridas, estrés hídrico y germinación de semillas

El bioma del desierto se caracteriza por presentar un índice de aridez comprendido entre 0,05 y 0,65 (Middleton y Thomas, 1997). De acuerdo al Programa Ambiental de Naciones Unidas (ONU, 2005), aquellas regiones donde se presenta mencionado índice, pueden considerarse vulnerables a la desertificación. La desertificación es un proceso de degradación progresivo que reduce la capacidad productiva de los ecosistemas en el tiempo. Esta es la principal causa de la degradación de la tierra en regiones áridas, semiáridas y subhúmedas secas, conocidas como “tierras secas” o drylands en idioma inglés (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Azzouzi *et al.*, 2017). En este tipo de regiones, el agua representa el principal factor limitante para la productividad primaria neta (Newman *et al.*, 2006), además de que el balance hídrico resulta negativo, ya que aproximadamente el 95 % de las precipitaciones retornan a la atmósfera en forma de transpiración vegetal y evaporación directa (Schwinning *et al.*, 2004; Schlesinger y Jasechko, 2014).

Las zonas áridas ocupan casi 5,2 billones de hectáreas, al menos un tercio de la superficie terrestre, y son el soporte físico donde habita aproximadamente 1/5 de la población mundial (Baldi y Jobbágy, 2012; Maestre *et al.*, 2012). Estos ecosistemas presentan condiciones particulares, tales como la baja fertilidad de los suelos (Villagra *et al.*, 2017), una elevada concentración de metales, salinidad del suelo y sequías (Seguel Fuentealba, 2014). Dichas zonas muestran una gran variabilidad estacional y temporal de las precipitaciones, y una gran amplitud térmica (Romero *et al.*, 2013). Además de presentar estas características, las tierras áridas y semiáridas sufren una degradación constante que es producida por problemáticas ambientales complejas que se traducen en pérdida de productividad biológica y económica de las tierras agrícolas (Mata-Fernández *et al.*, 2014). Esta degradación está relacionada directamente con las actividades humanas, además de causas naturales como los procesos de erosión hídrica o eólica, el deterioro de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, la pérdida de cobertura vegetal y la consiguiente pérdida de diversidad biológica (Etchevers *et al.*, 2019).

La interacción agua-vegetación en las zonas que presentan estas características, resulta de elevada importancia. Diversos autores (Noy-Meir, 1973., Villagra *et al.*, 2017), ponen de manifiesto que el funcionamiento de los ecosistemas depende de la fracción de precipitación que puede ser absorbida por el suelo y aprovechada por la vegetación. Magliano *et al.* 2016 demuestra que además del dosel vegetal, la hojarasca ayuda a reducir la tasa de evaporación del agua contenida en el suelo. En relación a esta interacción, el estrés hídrico es uno de los principales factores del ambiente que afectan a las plantas durante los diferentes estadios de su desarrollo: germinación, crecimiento, supervivencia y reproducción (Fischer y Turner, 1978; Austin *et al.*, 2004; Mercado Mancera *et al.*, 2010). En este contexto, muchas especies

vegetales han adoptado cambios fisiológicos (Roussos *et al.*, 2010; Varone *et al.*, 2012), morfológicos (Tong *et al.*, 2019) y moleculares para contrarrestar dicho estrés (Marqués Gálvez, 2020).

Este fenómeno no solo ocurre cuando hay disponibilidad limitada del agua, sino también por temperaturas en el suelo extremadamente altas o bajas, elevados valores de salinidad, baja presión atmosférica o una combinación de los factores mencionados (Girón *et al.*, 2015; Drechsler *et al.*, 2019;). Así, se produce un desequilibrio entre la transpiración y la absorción de agua (Hammani *et al.*, 2013; Girón *et al.*, 2015) y los procesos esenciales en plantas de ambientes desérticos, como el crecimiento, debido a la pérdida de turgencia, que deriva en la reducción de volumen celular, y el aumento de solutos, que generan daños mecánicos celulares (Otárola & Arias, 2020).

Otro de los procesos afectados por el estrés abiótico es la absorción de agua por parte de las semillas. Este proceso constituye el primer paso para la germinación y es esencial para cambiar de un estado pasivo a uno de crecimiento (Taylor *et al.*, 1992). El déficit hídrico puede provocar un retraso o reducción en la germinación o puede impedirla completamente (Rosabal Ayan *et al.*, 2014). El proceso de absorción de agua por las semillas puede ser dividido en tres fases: imbibición, absorción retardada y germinación (Figura 1), y las semillas pueden permanecer viables si se presenta una deshidratación durante las primeras dos fases (Taylor *et al.*, 1992). Durante la hidratación (fase I) el flujo de agua en las semillas se produce por un gradiente de energía de un alto a un bajo potencial mátrico (Black, Bewley & Halmer, 2006). Durante la imbibición, la semilla seca, inactiva, rápidamente retoma la actividad metabólica (fase II) (Bewley *et al.*, 2012). La extensión de la radícula a través de las estructuras que rodean al embrión es el evento con que termina la germinación (fase III) y marca el comienzo del crecimiento de la plántula. En esta fase final se produce un incremento en la absorción de agua que conduce a la expansión de las células y finaliza con la germinación. La inducción de la fase III puede producir Proteínas Intrínsecas (PIP's) y Proteínas Tonoplásticas Intrínsecas (TIP's) que regulan el paso del agua a través de las membranas (Nonogaki, Bassel, & Bewley, 2010).

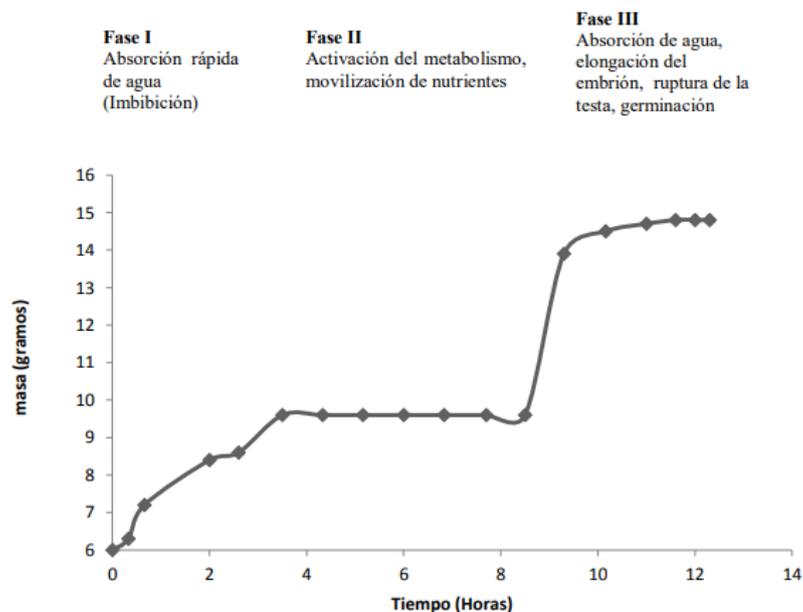


Figura 1: Curva del proceso de germinación en *Phaseolus vulgaris*. Tomado de Suárez & Melgarejo (2010).

Tratamiento de acondicionamiento osmótico de semillas

Se han desarrollado diversos métodos y tecnologías para producir cambios con el fin de mejorar la germinación de las semillas de uso agrícola y forestal. Unos de los más usados son los acondicionamientos (primings) (Bewley *et al.*, 2012; Paparella *et al.*, 2015). Son técnicas de hidratación de semillas con base en diferenciales de potencial osmótico entre la semilla y el medio que la rodea (Ghassemi – Golezani & Tajbaksh, 2012; Farooq *et al.*, 2006;). Con estos tratamientos se ha conseguido un mayor porcentaje y uniformidad de la germinación, mejor establecimiento del cultivo y aumento de biomasa en diferentes semillas de hortalizas (Duran & Retamal, 1998). Los acondicionamientos más comunes son el hídrico y el osmótico.

El acondicionamiento osmótico (AO) de semillas, consiste en un tratamiento de pregerminación que implica la limitación del período de imbibición o del agua disponible para las semillas (Figura 2); permite activar el metabolismo de la semilla sin que se produzca la protrusión de la radícula ni la pérdida de tolerancia a la desecación (Ibrahim, 2016). Dicho tratamiento, somete las semillas a una hidratación controlada en una solución osmótica (osmopriming), ya sea con sales inorgánicas (K_3PO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4$, $NaCl$, KNO_3 , KCl , Na_2SO_4) o con componentes orgánicos de bajo peso molecular (manitol, sorbitol, glicerol, sacarosa) y también con polietilenglicol (PEG) (Mora-Aguilar *et al.*, 2004; Mora-Aguilar *et al.*, 2006; Garruña Hernández *et al.*, 2014).

Este tipo de poli éter, ha sido muy utilizado en los programas de mejoramiento genético, y la selección in vitro de genotipos tolerantes a la sequía, el cual actúa por reducción del potencial hídrico y la disponibilidad de moléculas de agua en el medio de cultivo (Gopal e Iwama, 2007; Badran *et al.*, 2015)

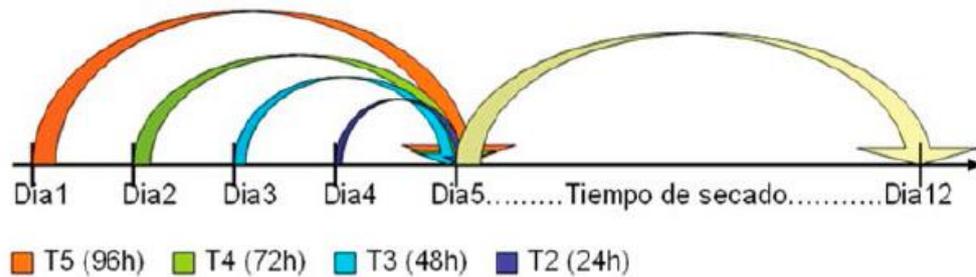


Figura 2: Diagrama del proceso de acondicionamiento osmótico de semillas de *Caesalpinia spinosa*. Tomado de López Medina & Gil Rivero (2017).

Esta técnica permite restringir de forma controlada la absorción de humedad por las semillas, ya que, al tomar agua de un medio con potencial hídrico negativo, se contribuye a reducir el ritmo de absorción de agua, facilitando el control de la imbibición (Varela & Arana, 2011). Si el potencial osmótico es suficientemente bajo, se puede llegar a producir una detención total de la absorción de agua al llegar a cierto contenido de humedad, igualando los potenciales dentro y fuera de la semilla (Rojo Hernández, 2005). Si la cantidad absorbida es la apropiada, se obtiene la detención del proceso de germinación en una fase conveniente del mismo. Al sembrar, si el potencial hídrico del suelo es mayor que el de la semilla desaparece el impedimento para que la imbibición continúe y la germinación siga su curso (Fu *et al.*, 1988).

El tratamiento de acondicionamiento osmótico tiene una ventaja adicional: si se alcanza la etapa de reorganización del metabolismo, el potencial osmótico detiene en ese punto la progresión de la germinación (Duran & Retamal, 1998). La consecuencia de este hecho es una mayor homogeneidad de la misma (Moreno *et al.*, 2013). Esa técnica adquiere una relevancia mayor en condiciones de estrés hídrico, ya que la germinación se activará cuando el potencial hídrico del suelo sea mayor que el de la semilla, favoreciendo las características de emergencia, crecimiento y supervivencia de plantas, al germinar las semillas con mayor velocidad (Aljaro & Wyneken, 1985), de una forma sincronizada, y mejorando el porcentaje de germinación (Rojo Hernández, 2005).

El acondicionamiento osmótico de las semillas surgió como una de las estrategias más prometedoras en las plantas de cultivo, para aliviar el estrés por sequía en los campos de agricultores (Bose *et al.*, 2018). Se ha logrado óptimos resultados en especies como: lenteja (*Lens culinaris Medik*) en agua, Tomate (*Solanum lycopersicum*) y Espárrago (*Asparagus officinalis*) con Polietilenglicol (PEG-8000) a -0.8 MPa de presión osmótica, y con PEG-8000 al 20% y 10°C el Raigrás italiano (*Lolium multiflorum*) y el Sorgo (*Sorghum bicolor*). Diversos autores (Pill *et al.*, 1991; Chang *et al.*, 2008; Ghassemi-Golezani & Tajbakhsh, 2012) afirman que dicha técnica conlleva a un aumento del porcentaje y tasa de germinación, del rendimiento general del cultivo y la producción de materia seca.

En cuanto a los pastos, se han realizado estudios con diferentes técnicas de acondicionamiento osmótico de semillas en especies de importancia forrajera como *Setaria phacelata* (Tamborelli & Fiant, 2020), *Leymus chinensis* (Ma *et al.*, 2018), diferentes especies del género *Cenchrus* (Hardegee & Emmerich, 1992; Qadir *et al.*, 2011; Nouman *et al.*, 2012), *Poa pratensis* (Pill & Korengen, 1997), *Eragrostis lehmanniana* y *Panicum coloratum* (Hardegee & Emmerich, 1992). Sin embargo, los estudios no son suficientes, y no se han realizado en especies nativas de la familia Poaceae como las de los géneros *Leptochloa*, *Pappophorum* o *Digitaria*, especies principales que componen los pastizales de las zonas áridas y semiáridas de Argentina.

Familia Poaceae– Importancia

Una estrategia para la recuperación y protección de suelos degradados es implementar prácticas de manejo del suelo mediante la siembra de especies nativas forrajeras anuales o perennes (Passera *et al.* 1992; Blanco *et al.* 2005; Quiroga, Blanco y Oriente, 2009; Uliarte *et al.*, 2009; Quiroga y Correa, 2011). Especies de la familia Poaceae, como *Leptochloa crinita* (Lag.) Parodi, *Pappophorum caespitosum* Fries y *Digitaria californica* (Benth.) Henrard, típicas de zonas áridas y adaptadas a la escasez de agua, resultan una alternativa viable para la recuperación de suelos degradados en zonas áridas.

El término “gramíneas” se utiliza tradicionalmente para referirse a las plantas de la familia *Poaceae* (*Gramineae*). Esta familia está formada por 650 géneros y unas 12.000 especies distribuidas por todo el globo terrestre y aparecen casi en cualquier medio capaz de albergar vegetación (Biganzoli & Zuloaga, 2015). En su mayoría son plantas perennes, herbáceas, con tallos simples, redondos, huecos y divididos en nudos y entrenudos. Las plantas de esta familia constituyen aproximadamente el 20 % de la vegetación terrestre, son elementos importantes de sabanas, estepas, prados, pastizales, herbazales y céspedes urbanos (Mejía-Saulés & Aranda, 1992). También son importantes en la alimentación humana y animal, ya que cereales, como el trigo, maíz, cebada y centeno entre otros, pertenecen a esta familia (González & Chávez, 2016).

Especies de la familia *Poaceae*, constituyen una herramienta para disminuir el avance de la desertificación cubriendo el suelo, mediante dos factores como la producción y densidad de semillas, además del corto tiempo a la madurez y el establecimiento (70 a 90 días), ya que El mismo es logrado a partir de una rápida colonización del suelo (Carrillo *et al.*, 2017). Los pastizales se consideran uno de los componentes más importante del ecosistema pastoril: su aprovechamiento genera carne, leche, lana; además de tener un papel ecológico fundamental como protector sobre el suelo (Jiménez Escobar, 2019).

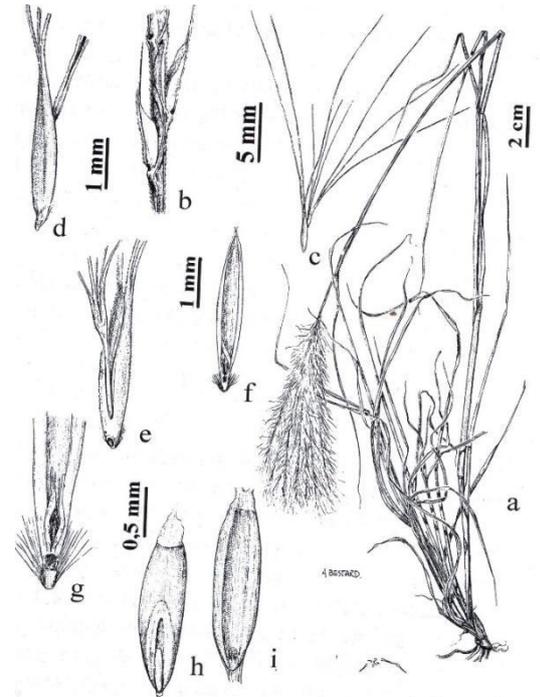
En relación con el cambio climático creciente y los procesos de degradación de ecosistemas en zonas áridas, los pastos forrajeros nativos han tomado un creciente interés debido a la adaptación edafoclimática de su región de origen, evitando así, la alteración de ambientes por parte de especies exóticas (Recio *et al.*, 2011). Autores como Silveti (2020) y Pensiero & Zabala (2017), sostienen que existe la necesidad de preservar los pastizales en los que se sustenta la ganadería y de usar recursos fitogenéticos naturales forrajeros para el incremento de la productividad y calidad de forraje de los mismos. En este sentido, los pobladores de una comunidad rural de Catamarca concluyen que las pasturas son excelentes forrajes, disponibles de primavera a otoño, siendo el alimento para todo tipo de ganado (incluyendo a los equinos), ya que estas especies no solo mantienen al animal si no también son consideradas de engorde, con alta palatabilidad y de buena calidad (Jiménez Escobar, 2019).

En lo que respecta a Argentina, se han reconocido unos 200 géneros dentro de la familia de las Poaceae, la mayoría nativas (Quarín, 1982). En San Juan se reconocen 66 géneros con 242 taxones pertenecientes a 4 subfamilias: *Arundinoideae*, *Pooideae*, *Chloridoideae* y *Panicoideae* (Rúgolo de Agrasar, 2009).

Dentro de la subfamilia *CHLORIDOIDEAE* (Cloridóideas), se encuentra la Tribu *CYNODONTEAE*, con 11 géneros, típicos de regiones semiáridas y de suelos arenosos y salobres, dónde se destaca la especie *Trichloris crinita* (Figura 3) (Bernardello, 2009). En el año 2012, el género *Trichloris* se incorporó a *Leptochloa* y la especie *T. crinita* pasó a llamarse *Leptochloa crinita* (Lag.) Parodi (Snow y Peterson, 2012). *L. crinita* es una de las especies más importantes en las regiones áridas, debido a su extensa área de distribución (Kozub *et al.*, 2017).

En Argentina es considerada una de las gramíneas más importantes en áreas de pastizales de la región árida occidental (Cavagnaro y Trione, 2007; Marinoni *et al.*, 2020). En la Ecorregión del Monte (Greco & Cavagnaro, 2005; Mora *et al.*, 2013; Klich, 2014), es apetecida por el ganado y considerada forrajera de calidad (Giorgetti *et al.*, 1997; Gil Báez, 2013; Randazzo *et al.*, 2019).

Figura 3: Detalle de las estructuras de la planta de *Leptochloa crinita*: a, planta; b, fragmento del raquis con glumas; c, antecios; d, antecios vista lateral; e, antecios vista ventral; f, pálea vista ventral; g, callo y base de la pálea con las lodículas soldadas; h, cariopses vista dorsal; i, cariopses vista ventral. Tomado de Flora de San Juan. Volumen IV.



Dentro de la misma subfamilia, se encuentra la Tribu *PAPPOPHOREAE*, con 5 géneros de los cuales 3 se distribuyen en Argentina, entre los que se encuentra la especie *Pappophorum caespitosum* Fries (Figura 4) (Bernardello, G. 2009). *Pappophorum caespitosum* es una especie perenne, cespitosa, de 5 a 80 cm de altura, con cañas simples y glabras. Presenta cariopses de 1 a 2,2 mm de longitud, ovados u oval-alargados, de color castaño, a veces traslúcido, con surco en su cara ventral e hilo punctiforme (Pensiero, 1986). Es una elegida para la recuperación de suelos degradados debido a que rápidamente ocupa el espacio aéreo y el suelo disponible, hasta formar pastizales de alta producción (Dalmaso *et al.*, 1983; Passera *et al.*, 1992). Es considera dentro de las gramíneas de alto valor forrajero (Villagra *et al.*, 2011).

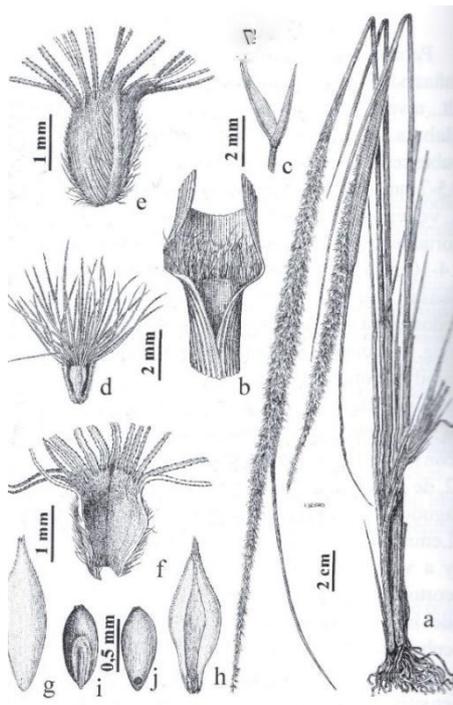


Figura 4: Detalle de *Pappophorum caespitosum*. a, planta; b, lígula; c, glumas; d, antecios; e, antecios inferior vista dorsal; f, antecio inferior vista ventral; g, pálea vista ventral; i, cariosopes, vista dorsal; j, cariosopes, vista ventral. Tomado de Flora de San Juan. Volumen IV.

Por otro lado, a la subfamilia *PANICOIDEAE*, Tribu *PANICEAE*, de regiones tropicales y subtropicales hasta templado-cálidas, pertenece la especie *Digitaria californica* (Benth.) Henrard (Figura 5), apetecida por el ganado, produce altos rendimientos de forraje y responde rápidamente a la defoliación por pastoreo (Ramírez *et al* 2001; Morales Nieto *et al.*, 2012). Se trata de plantas perennes, de 0,2 a 0,8 m de longitud, cespitosas, con rizomas cortos, engrosados, cubiertos de catafilos pilosos. La medida de los cariosopes oscila entre 1,3 y 2 mm de longitud (Vega *et al.*, 2009). Es considerada, además, una especie valiosa para la protección del suelo en zonas áridas (Dalmaso, 1994).

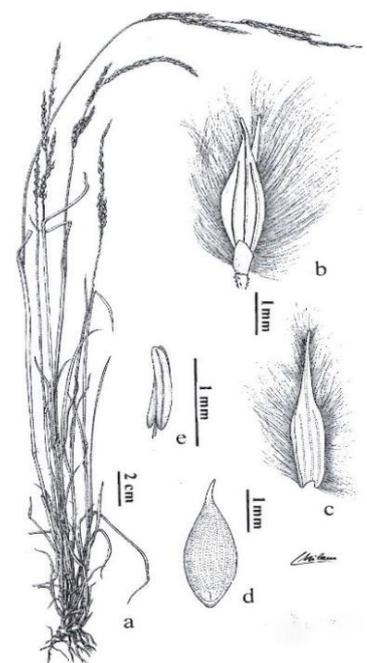


Figura 5: Detalle de *Digitaria californica*. a, planta; b, espiguilla, vista por el dorso de la gluma inferior y la lemma estéril; c, gluma superior, cara interna; d, antecio fructífero; e, estambre. Tomado de Flora de San Juan. Volumen IV

Micorrizas vesículo arbusculares

Las micorrizas son asociaciones simbióticas que se establecen entre los hongos del suelo y la mayoría de las plantas vasculares, donde ambos socios intercambian nutrientes y energía (Toro *et al.*, 2008; Barea *et al.*, 2011). Éste fenómeno está íntimamente relacionado con la capacidad adaptativa a ambientes desérticos que presentan las plantas y corresponde a la asociación planta-hongo más antigua y extendida en el mundo (Seguel Fuentealba, 2014).

Existen varios tipos de hongos micorrícicos, ectomicorrícicos, endomicorrícicos, ecto-endomicorrícicos, orquidoides y ericoides (Peterson *et al.*, 2006). Entre ellos, los más abundantes son los hongos endomicorrícicos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), tales como especies pertenecientes a los géneros *Gigaspora*, *Glomus* y *Acaulospora*, que se caracterizan porque sus hifas penetran en las células de las raíces formando estructuras de almacenamiento (vesículas) y de intercambio bidireccional de nutrientes y carbono (C) (arbúsculos) (Martinez & Pugnaire, 2009) (Figura 6).

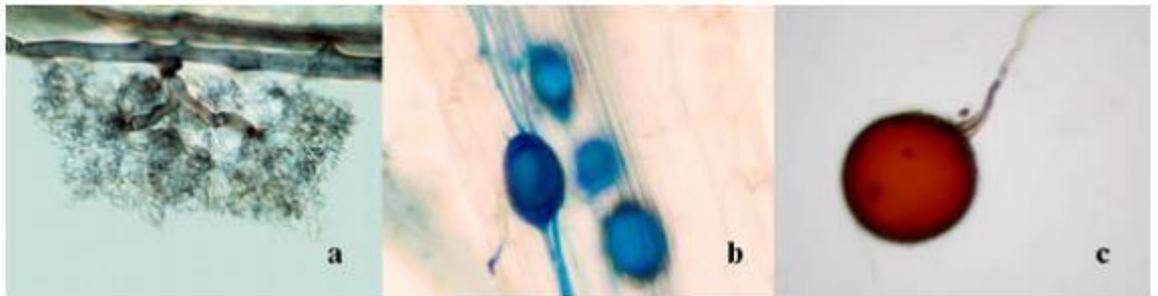


Figura 6: Hongos formadores de micorrizas arbusculares. a) Arbúsculos (Peterson *et al.*, 2006) b) Vesículas. c) Espora. Tomado de (Martinez & Pugnaire, 2009)

En las últimas décadas se ha obtenido una mayor conciencia de efectos positivos de dicha simbiosis en el rendimiento de las plantas (Schubert *et al.*, 2020). Se ha reportado que la asociación con micorrizas vesículo arbusculares puede proteger a las plantas hospederas contra los efectos perjudiciales del déficit de agua, a través de diferentes mecanismos (Ruiz Sánchez *et al.*, 2012). Algunas de estas estrategias por las cuales se favorecen ambos organismos, son la absorción directa y la transferencia de agua a través de las hifas fúngicas a la planta huésped (Velásquez & Sánchez, 2011), mejorando las propiedades de retención de agua del suelo debido al aumento de la masa fúngica, además de un mejor ajuste osmótico de las plantas asociadas con MVA (Garzón, 2016). Además, mejora el intercambio de gases en la planta y el uso del agua es más eficiente, protegiendo a la planta contra el daño oxidativo generado por el estrés hídrico (Ramírez Gómez, 2014).

Por otro lado, se ha reportado que los MVA se asocian con la capacidad de la planta para metabolizar el sodio (Na), disminuyendo la toxicidad en las hojas (Schubert *et al.*, 2020). Esta

contribución se torna fundamental en el establecimiento y crecimiento vegetal de plantas que se desarrollan en condiciones adversas, tales como las zonas áridas (Hajiboland, 2013).

En ecosistemas de zonas áridas y semiáridas, la vegetación se distribuye de manera parcheada, creando islas de acumulación de recursos (Pugnaire *et al.*, 1996) donde la red de micelio externo de HMA es muy abundante (Azcón Aguilar *et al.*, 2003) y juega un papel decisivo en la facilitación entre plantas (Moora y Zobel, 2009). Se ha demostrado que esta red es el principal recurso de inoculación micorrícica de las plántulas en zonas áridas (Sagadin, 2019; Joelson, 2021) lo que facilita su establecimiento y favorece la captación de agua y nutrientes del suelo (Santander *et al.*, 2014; Ramírez Gómez, 2014).

La redistribución hídrica es el mecanismo mediante el cual algunas especies vegetales desarrollan raíces pivotantes que absorben el agua de zonas profundas del suelo y lo transfieren a las capas superficiales durante la noche (Cadwell *et al.* 1998). Se ha observado que puede existir un movimiento bidireccional del agua entre las raíces de las plantas y las hifas de los HMA. Las plantas que llevan a cabo el proceso de redistribución hídrica son capaces de transferir agua a sus HMA, manteniendo la integridad y funcionalidad de estos en el suelo superficial seco. El agua se mueve desde las capas profundas hasta las superficiales a través de las raíces e hifas de las micorrizas ayudando a mantener la humedad en las capas superficiales (Querejeta *et al.*, 2007).

Si bien se han reportado estudios realizados con pastos como *Eragrostis cúrvala*, *Leptochloa dubia*, *Panicum coloratum* (Coronado *et al.*, 2002), *Achnatherum hymenoides* (Trent *et al.*, 1993; Reeves *et al.*, 1979), *Sporobolus cryptandrus* (Beauchamp *et al.*, 2009) y *Pappophorum vaginatum* (Torres *et al.*, 2011), los cuáles fueron inoculados con MVA, y en dónde se observó un aumento en la emergencia y establecimiento de plántulas, es escasa la información en ambientes áridos, sobre éste tipo de interacción con especies de *Poaceae* nativas.

Son aún insuficientes los estudios que describen el proceso de germinación en especies de la familia *Poaceae*, a partir de cariopses previamente acondicionados osmóticamente, en combinación con el efecto de la presencia de micorrizas, es por ello que el objetivo general de la presente propuesta es evaluar en la germinación, el efecto de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) a partir de cariopses acondicionados osmóticamente de tres especies de pastos de zonas áridas en condiciones de estrés hídrico.

Objetivo general

Evaluar el efecto del acondicionamiento osmótico de cariopses y de la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en el proceso de germinación de *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica* en condiciones de estrés hídrico

Objetivos específicos

1. Evaluar diferentes métodos de acondicionamiento osmótico de los cariopses de las especies *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*.
2. Estimar los niveles de tolerancia al estrés hídrico en el proceso de germinación de *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica* en cariopses normales y acondicionados osmóticamente.
3. Valorar el efecto de micorrizas vesículo arbusculares en el proceso de germinación de cariopses acondicionados osmóticamente de *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*, bajo condiciones de estrés hídrico.

Hipótesis

Los cariopses de *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica* osmóticamente acondicionados, poseen mayor tolerancia a las condiciones de estrés hídrico y germinan con mayor velocidad y de manera sincronizada.

La presencia de micorrizas vesículo arbusculares en los cariopses acondicionados osmóticamente de las tres especies bajo estudio, mejora la germinación de las especies en condiciones de estrés hídrico.

Materiales y Métodos

Material Vegetal

Los cariopses de *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica* se obtuvieron del banco de germoplasma del Gabinete de Recursos Vegetales, perteneciente al Departamento de Biología de la FCEFyN de la UNSJ. En el laboratorio de semillas del mencionado gabinete, se llevaron a cabo los experimentos de laboratorio.

La trilla de las espiguillas para obtener los cariopses desnudos de cada especie, se realizó manualmente a través de escarificado mecánico, el cual consistió en frotar las espiguillas en un cajón de madera con un fratacho, ambos forrados con una goma negra de canaletas finas (figura 7). Posteriormente, con el uso de una pinza de disección, se llevó a cabo la separación de los cariopses desnudos de los restos vegetales de las espiguillas (figura 8).



Figura 7: cajón y fratacho de madera forrados con goma de canaletas finas para escarificar las espiguillas de las especies en estudio.



Figura 8: separación manual de los carioses desnudos de los restos de las espiguillas.

Acondicionamiento osmótico de los carioses

Con el fin de determinar el tratamiento de acondicionamiento osmótico de mayor eficacia para *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica*, se aplicaron distintos agentes químicos con diferentes potenciales osmóticos y con dos tiempos de exposición: 6 y 12 hs. Estos tiempos de exposición al tratamiento de acondicionamiento osmótico, se seleccionaron teniendo en cuenta resultados previos de preensayos (com. pers.), de germinación, donde se registraron porcentajes de los mismos para las tres especies, superiores al 85 % a las 24 horas. Posteriormente, 100 carioses desnudos y limpios de cada especie, se colocaron en tubos de ensayo de 2,5 cm de diámetro con 5 ml de cada solución osmótica, y se aplicaron los siguientes tratamientos de acondicionamiento osmótico (figura 9):

- **Agua** (hidropriming). Cariopses sumergidos en agua destilada (0 MPa).
- **Manitol** Cariopses sumergidos en soluciones de manitol con dos potenciales osmóticos: -0,5 MPa y -1 MPa.
- **Polietilenglicol** (PEG 6000): carioses sumergidos en soluciones de Polietilenglicol 6000 (PEG) con potenciales osmóticos de -0,5 MPa y -1 MPa. Debido a que las soluciones de polietilenglicol son más densas que las de manitol, se aplicó burbujeo constante durante la exposición al tratamiento a fin de asegurar la viabilidad de los carioses mediante el aporte de oxígeno. El burbujeo se suministró con mangueras que ingresaban a cada tubo de ensayo conectadas a un aireador de pecera.

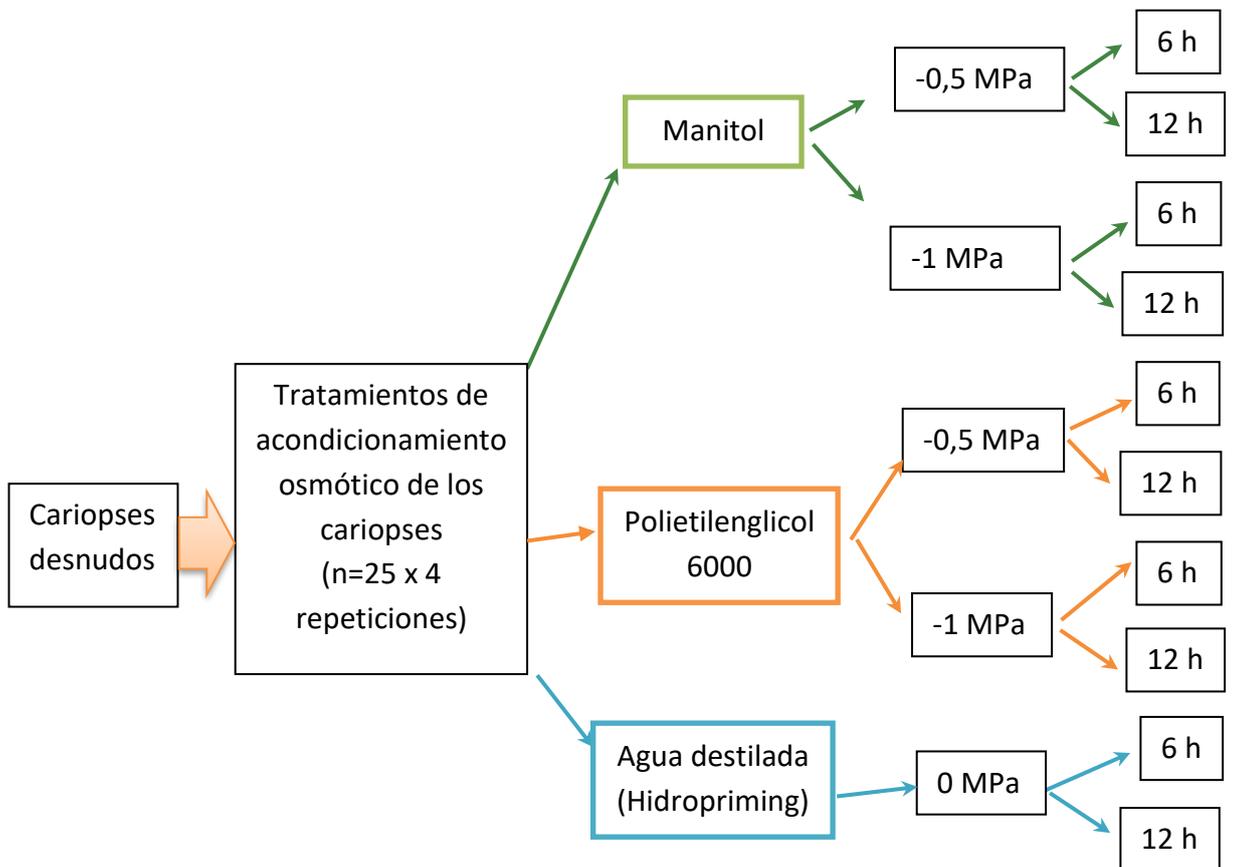


Figura 9: tratamientos de acondicionamiento osmótico, potenciales osmóticos de las soluciones y tiempos de exposición aplicados a los cariopses de las especies *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*

Los potenciales osmóticos de las soluciones de Manitol y de Polietilenglicol se elaboraron siguiendo la relación empírica de Vant`Hoff (Salisbury y Ross, 1994):

$$\psi_0 = CiRT$$

Considerando:

ψ_0 = potencial osmótico en Mega Pascales (MPa)

C= concentración de la solución, expresada como molalidad (moles de soluto por kg de agua)

i= constante para la ionización del soluto

R= constante de los gases (0,00831 kg MPa mol K)

T= temperatura absoluta (°K) = °C + 273.

Una vez cumplidos los tiempos de exposición (6 y 12 hs) de cada tratamiento de acondicionamiento osmótico, los cariopses fueron lavados 3 veces con agua destilada en tamiz Zonytest Malla 80, 177 micrones, y luego se secaron a temperatura ambiente hasta peso constante (48 hs). A continuación, se sembraron 25 cariopses de cada especie sobre papel de filtro neutro (S&S) en cajas de Petri estériles de 9 cm de diámetro, con 4 repeticiones. Todos los tratamientos fueron regados con 5 ml de agua destilada.

Las cajas de Petri se colocaron al azar en cámara de germinación a 25 °C (cte.) con un fotoperiodo de 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad. Se registró la germinación cada 24 hs durante 7 días, considerando a un cariopse germinado cuando la radícula se volvió visible (2 mm). Con los resultados registrados se realizaron las siguientes estimaciones:

- **Porcentaje de germinación (PG)**, siguiendo la siguiente ecuación:

$$PG = n * 100/N$$

Dónde:

n: número de semillas germinadas

N: número total de semillas sembradas

- **Tiempo medio de germinación (MTG)**, de acuerdo a Bewley y Black (1986):

$$MTG = \frac{\sum D * n}{\sum nt}$$

Considerando:

D: número de días registrados desde el inicio de la germinación

n: número de semillas germinadas el día D

nt: número total de semillas sembradas

El MTG se define como el tiempo que tarda en germinar el 50 % del total de semillas sembradas. Los resultados se clasificaron de acuerdo a Jurado y Westoby (1992):

Germinación Rápida: cuando el 50 % de las semillas germina entre los días 1 y 3.

Germinación Media: cuando se obtuvo el 50 % de la germinación total entre los días 4 y 6.

Germinación lenta: cuando se obtuvo el 50 % de la germinación total posterior al día 6.

- **Índice de emergencia radicular (ERI)**, siguiendo a Shmueli y Goldberg (1971):

$$ERI = \frac{\sum Xn(c - n)}{N}$$

Dónde:

Xn: es el número de semillas germinadas contadas el día n

c: número de días desde la siembra hasta que terminó la emergencia

n: número de día en que se realizó el conteo, expresado en días después de la siembra.

N: número total de semillas sembradas

Este índice muestra el tiempo en días, que necesitan los cariopses para que emerja la radícula. Valores bajos de ERI, indican una buena velocidad de las semillas para germinar en las condiciones brindadas.

- **Índice de Timson (T)**: definido mediante la ecuación (Duran Altisient y Pérez García, 1984):

$$Ti = \sum G/t$$

Considerando:

Ti= coeficiente de Timson

G: porcentaje de germinación en cada intervalo de tiempo (días)

T: periodo total de germinación (n° de días)

Un valor de 100 en la escala de Timson, indica que todos los cariopses germinaron en 1 día, mientras que 0 indica que ninguno germinó. Este índice permite probar períodos de tiempo de cualquier longitud y no necesita transformación previa para su análisis estadístico (Dalzotto y Lallana, 2013).

2. Evaluación de los niveles de tolerancia a estrés hídrico en cariopses normales y acondicionados osmóticamente

Se tomaron cariopses sin tratamientos pre germinativos y también provenientes de los tratamientos de acondicionamiento osmótico de mejor performance de cada especie de acuerdo a los resultados obtenidos en el punto 1, se los remojó durante 3 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % y posteriormente se los lavó 3 veces con agua destilada. Luego se sembraron por separado 25 cariopses normales y 25 cariopses osmoacondicionados de cada especie en cajas de Petri estériles de 9 cm de diámetro con papel de filtro neutro (S&S), con 4 repeticiones por tratamiento y se regaron con las soluciones osmóticas que se detallan a continuación (Figura 10):

Control: cariopses desnudos de cada especie sin tratamiento de acondicionamiento osmótico, regados con 6 ml de agua destilada.

Control de cariopses osmoacondicionados: cariopses de cada especie acondicionados osmóticamente con el tratamiento de mejor performance determinado anteriormente, regados con 6 ml de agua destilada.

Control de estrés hídrico: cariopses sin tratamientos pre germinativos regados con 6 ml de solución de PEG 6000 con potenciales osmóticos de -0,3, -0,6, -0,9 y -1,2 MPa.

Estrés hídrico: cariopses de las tres especies acondicionados osmóticamente, regados con 6 ml solución de PEG 6000 con potenciales osmóticos de -0,3, -0,6, -0,9 y -1,2 MPa.

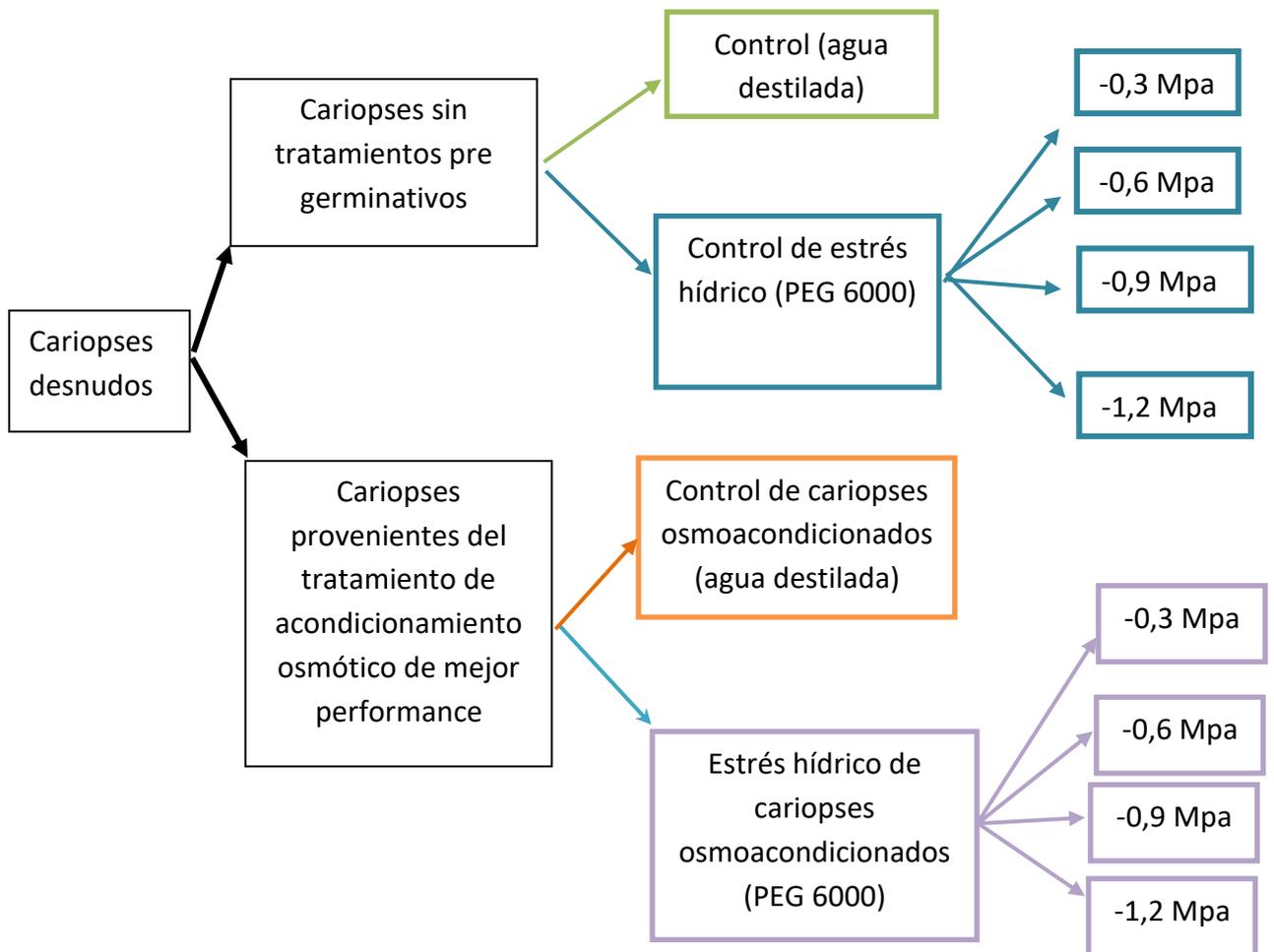


Figura 10: Cariopses sin tratamientos pre germinativos, cariopses provenientes de los tratamientos de acondicionamientos osmótico y potenciales osmóticos de las soluciones aplicados a los cariopses de las especies *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*

Cada caja de Petri fue sellada con una doble capa de papel film a fin de minimizar la evaporación de las soluciones regantes y mantener constante dentro de cada unidad los potenciales osmóticos de riego aplicados. Las cajas se dispusieron al azar en cámara de germinación a 25 °C (cte.) y con un fotoperiodo de 12hs de luz y 12hs de oscuridad. Los potenciales osmóticos de las soluciones regantes se estimaron siguiendo la ecuación de Vant`Hoff (Salisbury y Ross, 1994), de acuerdo a lo detallado en el punto 1. Se estimó el porcentaje de germinación (G), de acuerdo a lo expresado en el punto 1.

Efecto de micorrizas vesículo arbusculares sobre la germinación de cariopses acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico

Se evaluó el efecto de la inoculación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) comerciales en el proceso de germinación de los cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente de las especies *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*, bajo condiciones de estrés hídrico.

Para ello, se tomaron cariopses acondicionados osmóticamente con el método de mayor eficacia seleccionado para cada especie, según los resultados obtenidos en el objetivo anterior. La inoculación de los cariopses sin tratamiento previo y los acondicionados osmóticamente con los HMA, se realizó sumergiendo a los mismos durante 30 minutos a temperatura ambiente, en la solución acuosa de micorrizas comerciales. Se usó el producto denominado Micorrizas de Biotecnología Organix, BIOSANIT, el cual se encuentra aprobado por SENASA, el cual fue adquirido en 2021 y se conservó en frío (4°C) hasta su uso.

Posteriormente se sembraron 25 cariopses de cada especie por tratamiento en cajas de Petri estériles de 9 cm de diámetro sobre papel de germinación neutro (S&S), con 4 repeticiones, y se dispusieron al azar en cámara de germinación con una temperatura de 25°C (cte.) y un fotoperiodo de 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad. Los tratamientos de riego aplicados, fueron (Figura 11):

Tratamientos controles

- Control: cariopses de las 3 especies sin ningún tratamiento previo, regados con 5 ml de agua destilada.
- Cariopses acondicionados osmóticamente y regados con 5 ml de agua destilada.
- Cariopses sin tratamiento previo inoculados con micorrizas y regados con 5 ml de agua destilada.
- Cariopses acondicionados osmóticamente, inoculados con micorrizas y regados con agua destilada (5ml).

Tratamientos de estrés hídrico

- Cariopses sin tratamiento previo, inoculados con micorrizas y regados con soluciones de Polietilenglicol con potenciales osmóticos de -0,3, -0,6 y -0,9 MPa.
- Cariopses acondicionados osmóticamente, inoculados con micorrizas y regados con soluciones de polietilenglicol con potenciales osmóticos de -0,3, -0,6 y -0,9 MPa.

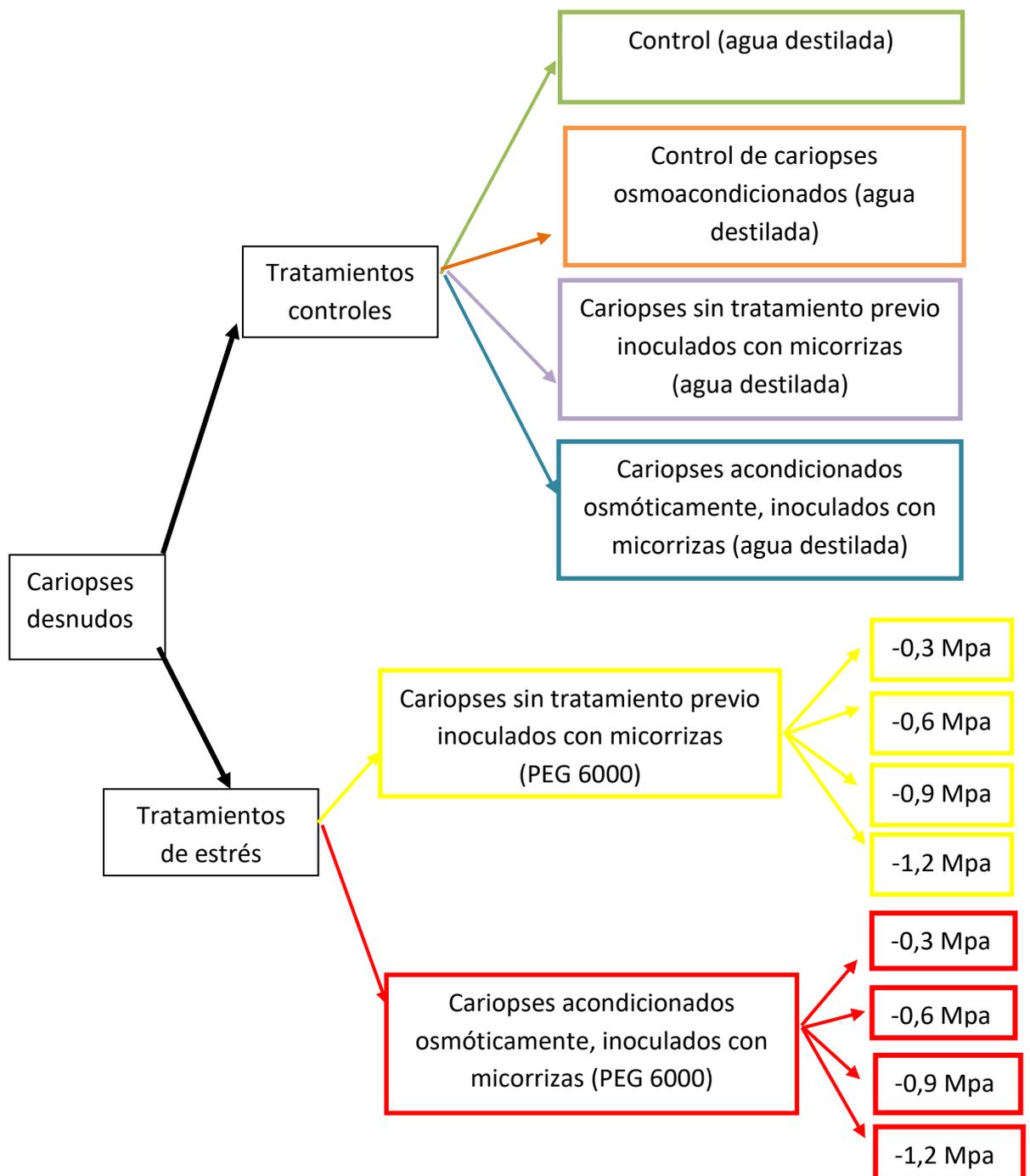


Figura 11: Tratamientos de estrés hídrico aplicados a cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente, inoculados y sin inoculación de micorrizas vesículo arbusculares de las especies *L. crinita*, *P. caespitosum* y *D. californica*.

Los potenciales osmóticos de las soluciones regantes se estimaron con la ecuación de Vant`Hoff (Salisbury y Ross, 1994), de acuerdo a la ecuación detallada en el punto 1.

Se estimaron las variables porcentaje de germinación, TMG, ERI e Índice Timson (Ti) para cada especie y para cada tratamiento de acuerdo a las ecuaciones expresadas en el punto 1.

Las radículas se utilizaron para realizar la estimación del grado de micorrización en cada especie y bajo cada tratamiento aplicado. Para ello, se realizó un pool de radículas con las obtenidas en cada repetición de cada tratamiento. A continuación, las radículas de mayor longitud se cortaron en trozos de 1 cm de longitud. Para clarificar las raíces, las mismas se colocaron en tubos de ensayo y se les agregó solución de KOH al 10 % hasta cubrir las. Posteriormente se calentaron a 90 °C por 10 minutos en baño María. Luego, se eliminó el KOH y se lavaron las raíces tres veces con agua destilada. Posteriormente se les añadió HCl y se dejaron entre 2 y 4 minutos hasta que se observó a las raicillas translúcidas. Se eliminó el HCl y se realizaron tres lavados nuevamente con agua destilada. Por último, se cubrieron las raíces con Azul de Tripán al 0,05 % y nuevamente se colocaron a baño maría a 90 °C durante 3 minutos. Se eliminó el Azul de Tripán y las raíces quedaron teñidas para su observación en lupa. Se usó un microscopio estereoscópico Carl Zeiss, modelo Stemi 305 (Sieverding, 1983).

Se utilizó el método de intersección de cuadrantes, para lo cual se colocaron las raíces teñidas en una caja de Petri de 9 cm de diámetro con una malla cuadrículada dibujada en el exterior de 1 x 1 cm y se contabilizó cuántas raíces micorrizadas se encontraban en la intersección raíz-línea de la cuadrícula para luego obtener un porcentaje de raíces colonizadas. El porcentaje de colonización micorrízica arbuscular se cuantificó de acuerdo con la metodología de Giovanetti y Mosse (1980). Se contaron 100 intersecciones de raíces con las líneas del retículo trazado en la caja de Petri. La placa fue recorrida tres veces para cada tratamiento, mediante desplazamientos en líneas rectas paralelas. La presencia de micorrización en cada intersección representó la colonización micorrízica de la raíz. El porcentaje de raíz colonizada se estimó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de raíz colonizada} = \left(\frac{\text{Total de cm colonizados}}{L} \right) \times 100$$

Considerando:

L: longitud total de raíz (cm)

Total, cm colonizados: intersecciones colonizadas (cm) + intersecciones no colonizadas (cm)

Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó con el software Infostat Profesional (versión 2020). Se utilizó la prueba de Shapiro Wilks para comprobar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para los casos de análisis de valores de porcentaje, correspondientes a los experimentos de germinación, al no presentar una distribución normal, los resultados fueron transformados con la función Raíz cuadrada del Arcoseno. Los resultados se analizaron mediante un modelo ANOVA de tres vías y, en los casos en que el análisis fue significativo, se utilizó el test de LSD Fisher como prueba a posteriori de separación de medias.

Resultados

Acondicionamiento osmótico de los cariopses

Los tratamientos aplicados para producir el acondicionamiento osmótico de los cariopses en cada especie, mostraron diferentes resultados de acuerdo a la solución regante aplicada, al potencial osmótico de la solución y al tiempo de exposición de los cariopses a los tratamientos.

Los resultados obtenidos del efecto de cada factor aplicado sobre los cariopses (solución regante, potencial osmótico y tiempo de exposición) como así también de sus interacciones sobre cada una de las variables (G, TMG, ERI y Ti), mostraron respuestas diferentes en cada especie. En *L. crinita*, se encontró que, de los factores aplicados individualmente, sólo fue significativo el tiempo de exposición para la variable MTG (tabla 1). Para el porcentaje de germinación, el ERI y el índice de Ti, fue significativa ($p < 0,05$) la interacción de los factores tiempo de exposición y la solución regante usada para producir el acondicionamiento osmótico (Polietilenglicol, Manitol o agua destilada) (tabla 1).

Tabla 1: valores de p para cada factor aplicado (solución regante, potencial osmótico y tiempo de exposición) y sus interacciones en el porcentaje de germinación, MTG, ER y Ti a los cariopses de *Leptochloa crinita*.

	Gl	% de Germinación		MTG		ERI		Ti	
		F	p	F	P	F	p	F	p
Solución regante (SR)	3	0,57	0,6407	6,79	0,0011	0,53	0,6656	0,86	0,4718
Potencial osmótico (PO)	1	0,01	0,9330	0,46	0,5030	0,07	0,7923	0,00	>0,9999
Tiempo de exposición (T)	1	1,10	0,3010	4,99	0,0324	0,29	0,5968	1,27	0,2671
SR * PO	1	1,29	0,2651	0,58	0,4516	0,49	0,4908	0,64	0,4311
SR * T	2	7,69	0,0018	7,86	0,0016	6,39	0,0045	7,44	0,0022
PO * T	1	0,50	0,4832	0,26	0,6149	0,28	0,5991	0,07	0,7921
SR * T * PO	1	0,46	0,5044	0,35	0,5576	0,58	0,4508	0,64	0,4311

En la combinación de los tres factores, el porcentaje de germinación más elevado ($73,22 \pm 4,22$) se encontró cuando el tratamiento de acondicionamiento osmótico aplicado a los cariopses se realizó con Polietilenglicol 6000 (PEG) con un potencial osmótico de -0,5 MPa con 12 horas de exposición, mientras que el más bajo ($55,80 \pm 4,22$) se registró cuando el tratamiento se realizó también con PEG, pero con un potencial osmótico -1 Mpa y con 6 horas de exposición. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre este tratamiento, y aquellos en los que se aplicó riego con Manitol -1 MPa ($55,88 \pm 4,22$) y manitol -0,5 MPa ($56,37 \pm 4,22$), ambos tratamientos con 12h de exposición (Figura 12).

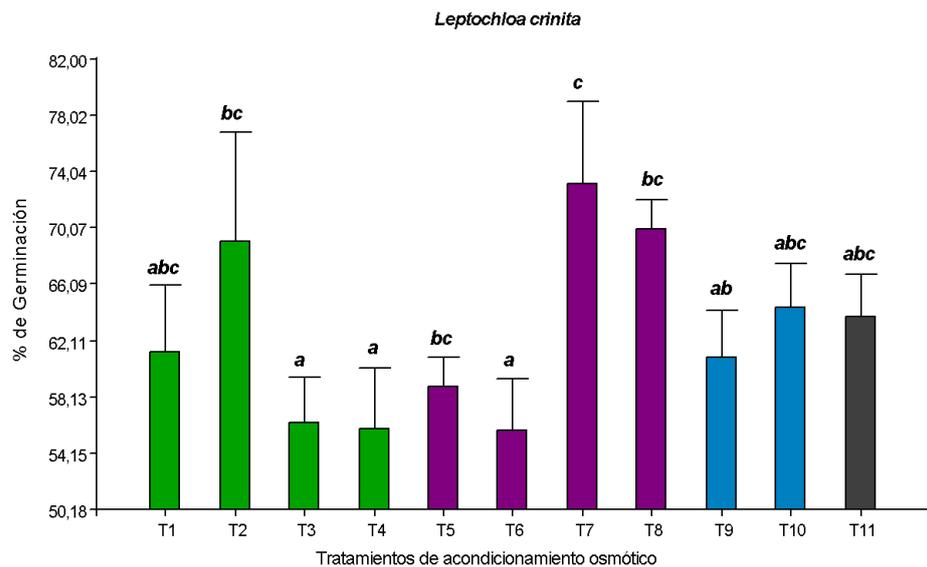


Figura 12: valores medios de porcentaje de germinación registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y para cada tiempo de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicado a los cariopses de la especie *L. crinita*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control.

En *P. caespitosum*, los resultados mostraron que el factor solución regante (PEG, Manitol o agua destilada), tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) en todas las variables evaluadas (Tabla 2). El tiempo de exposición (6 y 12 hs) fue significativo solo para el ERI. En cuanto a la interacción de factores, se registró que la interacción de los factores solución regante y potencial osmótico, fue significativa para las cuatro variables estudiadas (tabla 2). Para el ERI, también resultó significativa la interacción de los factores potencial osmótico y tiempo de exposición (tabla 2).

Tabla 2: valores de p para el porcentaje de germinación, TMG, ERI e índice Ti de acuerdo a los factores individuales y sus interacciones aplicados a los cariopses de *P. caespitosum*.

	gl	% de Germinación		MTG		ERI		Ti	
		F	p	F	p	F	p	F	p
Solución regante (SR)	3	6,89	0,0010	2,90	0,0497	8,13	0,0003	7,10	0,0008
Potencial osmótico (PO)	1	2,03	0,1634	0,85	0,3639	0,68	0,4153	0,85	0,3645
Tiempo de exposición (T)	1	0,88	0,3545	0,84	0,3657	10,38	0,0029	3,30	0,0785
SR * PO	1	10,40	0,0028	6,95	0,0127	7,82	0,0085	8,84	0,0055
SR * T	2	0,18	0,8379	1,47	0,2439	0,73	0,4916	0,22	0,8014
PO * T	1	1,56	0,2211	0,09	0,7714	5,93	0,0205	3,25	0,0808
SR * T * PO	1	0,53	0,4719	0,01	0,9338	1,93	0,1744	1,13	0,2956

El máximo porcentaje de germinación ($70,82 \pm 4,17$) se encontró bajo la exposición de los cariopses durante 12 horas a la solución de Manitol con un potencial osmótico de $-0,5$ MPa. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tiempos de exposición (6 y 12 hs), cuando el acondicionamiento osmótico se realizó con Manitol $-0,5$ MPa (máxima germinación registrada en esta especie). El menor porcentaje de germinación se registró cuando se aplicó PEG $-0,5$ MPa durante 6 horas para realizar el acondicionamiento osmótico de los cariopses. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre este tratamiento de acondicionamiento osmótico y el tratamiento control, como así tampoco con los llevados a cabo con PEG (Figura 13).

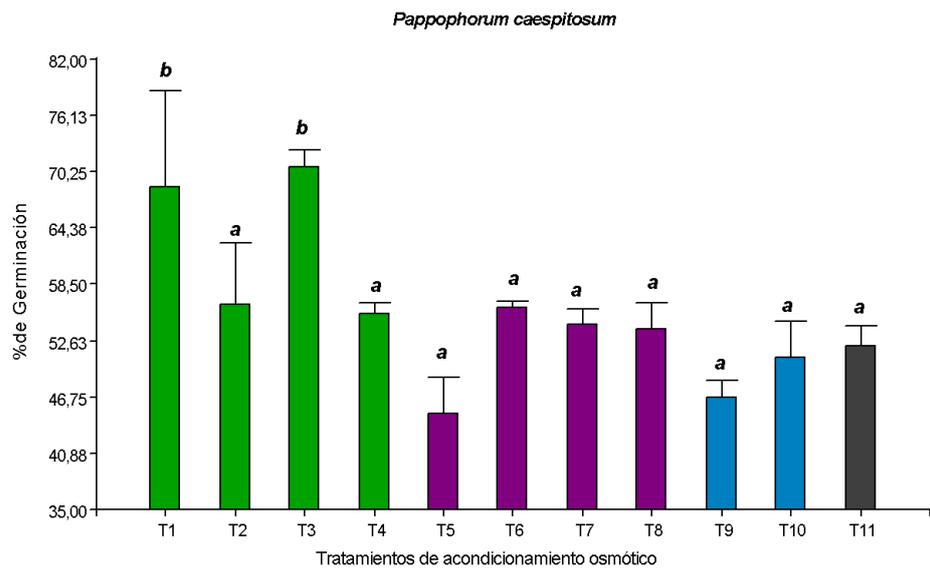


Figura 13: valores medios de porcentaje de germinación registrados para cada Tratamiento de acondicionamiento osmótico y para cada tiempo de exposición (T1: Manitol $-0,5$ MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol $-0,5$ MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG $-0,5$ Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG $-0,5$ Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicado a los cariopses de la especie *P. caespitosum*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control.

Los factores potencial osmótico y tiempo de exposición resultaron significativos para *Digitaria californica*, al igual que la interacción de los tres factores aplicados a sus cariopses para realizar el acondicionamiento osmótico (tabla 3). En el TMG, las interacciones de los factores que se mostraron significativas fueron solución regante y tiempo de exposición, potencial osmótico y tiempo de exposición, y también la triple interacción entre los factores. En el ERI, sólo resultaron significativos los efectos de cada factor aplicado de manera independiente (tabla 3). El potencial osmótico y el tiempo de exposición, como factores independientes, mostraron un efecto significativo en el índice de Timson, al igual que la triple interacción de los factores aplicados a sus cariopses (tabla 3).

Tabla 3: valores de p para el porcentaje de germinación, TMG, ERI e índice Ti de acuerdo a los factores individuales y sus interacciones aplicados a los cariopses de *Digitaria californica*.

	gl	% de Germinación		MTG		ERI		Ti	
		F	p	F	p	F	p	F	p
Solución regante (SR)	3	1,38	0,2666	2,49	0,0778	3,18	0,0366	1,53	0,2246
Potencial osmótico (PO)	1	10,07	0,0033	3,49	0,0708	10,36	0,0029	9,49	0,0041
Tiempo de exposición (T)	1	8,63	0,0060	0,08	0,7789	15,42	0,0004	8,59	0,0061
SR * PO	1	0,65	0,4260	0,73	0,3990	1,55	0,2223	1,55	0,2217
SR * T	2	0,64	0,5329	7,64	0,0019	0,22	0,8062	1,35	0,2723
PO * T	1	0,01	0,9427	4,23	0,0476	0,00	>0,9999	0,73	0,4003
SR * T * PO	1	6,32	0,0170	9,42	0,0043	3,90	0,0566	7,22	0,0112

El mayor porcentaje de germinación en esta especie ($83,01 \pm 5,01$) se encontró cuando el acondicionamiento osmótico de los cariopses se realizó durante 12 horas con PEG -1MPa. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y los tratamientos control, Manitol -1 MPa/12h, Manitol -0,5 MPa/12h y Manitol -1 MPa/6h. El tratamiento con Manitol -0,5 Mpa durante 6 horas tuvo como resultado el menor valor de porcentaje de germinación ($51,31 \pm 5,01$) en esta especie (Figura 14).

Los resultados registrados de porcentajes de germinación a partir de cariopses osmóticamente acondicionados en las tres especies, superaron los valores medios obtenidos para el tratamiento control (cariopses desnudos sin tratamiento de acondicionamiento osmótico regados con agua destilada).

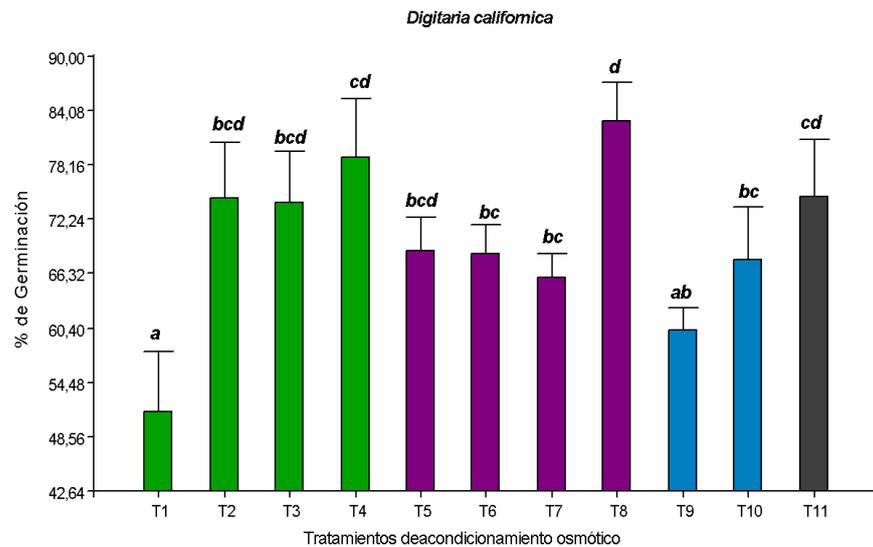


Figura 14: valores medios de porcentaje de germinación registrados para cada Tratamiento de acondicionamiento osmótico y para cada tiempo de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3: Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicado a los cariopses de la especie *D. californica*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

La variable tiempo medio de germinación (MTG) y los índices de velocidad de emergencia (ERI) y de Timson (Ti) estimados, también mostraron respuestas diferentes en cada especie (tabla 4). El MTG no fue significativo en la especie *P. caespitosum* cuando fue estimado a partir de los resultados obtenidos de cariopses acondicionados osmóticamente (tabla 1). El ERI y el índice de Timson, no fueron significativos para la especie *L. crinita*.

Tabla 4: valores de p obtenidos para el Tiempo Medio de Germinación (MTG), el índice de velocidad de emergencia (ERI) e índice de Timson (Ti) a partir de cariopses acondicionados osmóticamente de las especies *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica*.

	<i>L. crinita</i>			<i>P. caespitosum</i>			<i>D. californica</i>		
	p	gl	F	p	gl	F	p	gl	F
MTG	0,0007	10	4,27	0,0610	10	2,04	0,0011	10	4,07
ERI	0,1480	10	1,61	0,0001	10	5,26	0,0010	10	4,12
Ti	0,0650	10	2,01	0,0014	10	3,91	0,0032	10	3,49

Las especies *L. crinita* y *D. californica* mostraron diferentes resultados en el MTG. Debido a que esta variable indica en días, el tiempo necesario para que germine el 50 % de los cariopses, se espera encontrar valores bajos. En la especie *Leptochloa crinita* se encontró el valor más bajo ($1,09 \pm 0,08$) de MTG cuando el tratamiento de acondicionamiento osmótico se realizó con Manitol -0,5 MPa con 12 h de exposición (figura 15). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre este tratamiento y los tratamientos PEG -1MPa y Manitol -1 MPa con 6 y 12 horas de exposición respectivamente. El valor más elevado de MTG ($1,64 \pm 0,08$) se registró bajo el tratamiento de agua destilada (hidropriming) y con 12 h de exposición (figura 15). Es importante destacar que los cariopses de *L. crinita*, bajo los tratamientos de acondicionamiento osmótico aplicados, necesitaron menos de 48 hs para germinar.

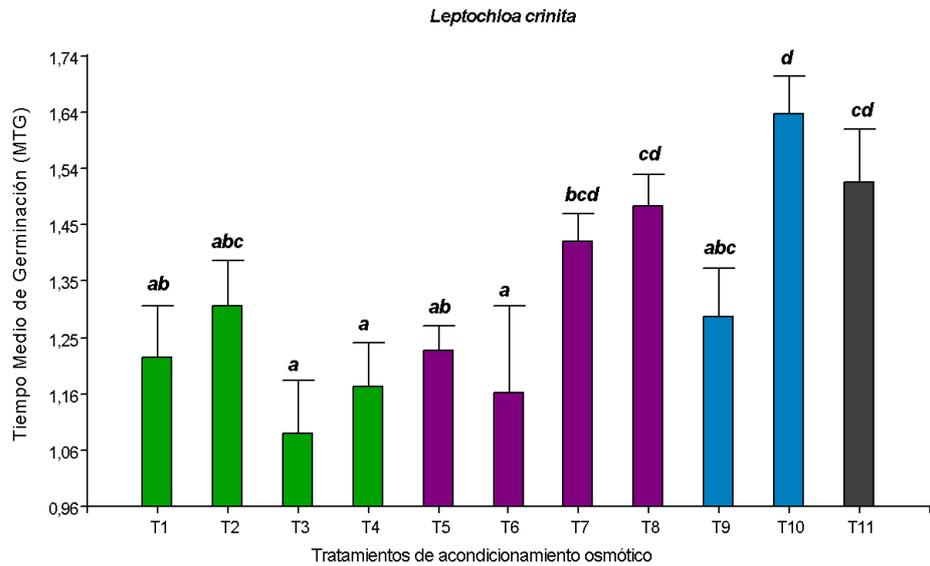


Figura 15: valores medios de Tiempo Medio de Germinación (MTG) registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y para cada tiempo de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicado a los cariopses de *Leptochloa crinita*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

Los resultados obtenidos del MTG en la especie *Digitaria californica*, mostraron que el valor más bajo ($1,17 \pm 0,11$) se encontró cuando el tratamiento de acondicionamiento osmótico se realizó con Manitol -0,5 MPa con 6 h de exposición, mientras que el valor más elevado ($1,94 \pm 0,11$) se obtuvo bajo el tratamiento control (figura 16). No se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento Control y Manitol -0,5 MPa con 12 h de exposición.

De acuerdo a la clasificación de Jurado y Westoby (1992), la germinación de las tres especies es rápida ya que las mismas necesitaron menos de dos días para que germine el 50% del total sembrado.

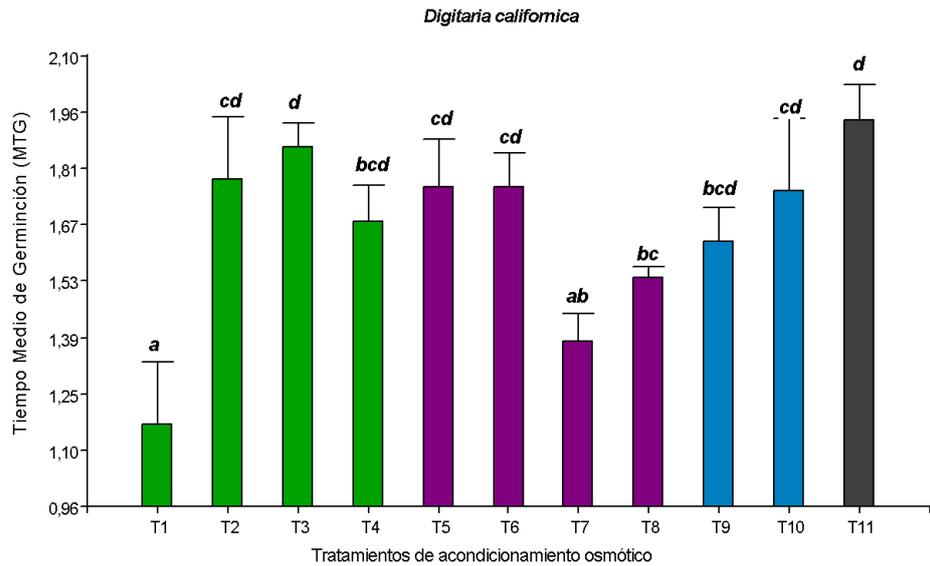


Figura 16: valores de Tiempo Medio de Germinación (MTG) registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) y para tiempo de exposición (6 y 12 h) aplicado a los cariopses de *Digitaria californica*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

De manera similar al MTG, en el índice de emergencia radicular (ERI), también se espera obtener valores bajos, ya que este índice muestra el tiempo, en días, que necesitan los cariopses para que emerja la radícula. En la especie *L. crinita*, este índice no fue significativo ($p > 0,05$) (tabla 1).

En el caso de la especie *Pappophorum caespitosum*, el menor valor del ERI ($1,27 \pm 0,18$) se registró bajo el tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses con agua destilada con 6 hs de duración. En el tratamiento de acondicionamiento osmótico de con PEG -0,5 Mpa con 6 horas de duración, se encontró una media de $1,28 (\pm 0,18)$, valor muy cercano al tratamiento anteriormente mencionado, por lo cual no se encontraron diferencias significativas entre esos tratamientos. Los resultados indicaron que el valor más elevado de ERI ($2,68 \pm 0,18$) se obtuvo cuando el tratamiento aplicado para realizar el acondicionamiento osmótico de los cariopses fue Manitol -0,5 MPa con 12 h de exposición (figura 17).

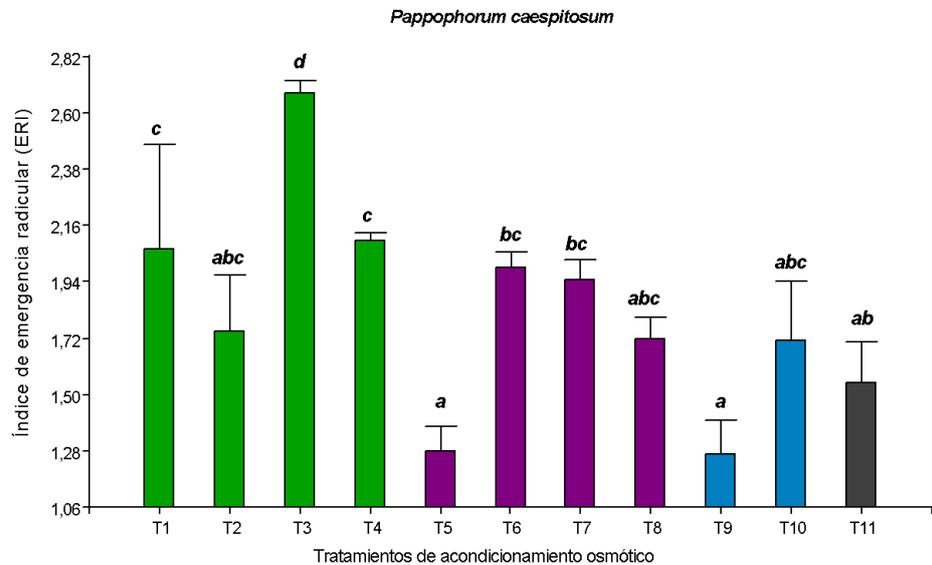


Figura 18: valores del índice de emergencia radicular (ERI) para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y en los diferentes tiempos de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicados a los cariopses de *Pappophorum Caespitosum*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

En *Digitaria californica*, el menor valor de ERI ($1,62 \pm 0,07$), se observó con Manitol -0,5 MPa con 6 h de exposición para acondicionar osmóticamente a los cariopses, mientras que el valor más elevado ($3,31 \pm 0,07$) se obtuvo bajo el tratamiento de PEG -1 MPa con 12 h de duración (figura 18).

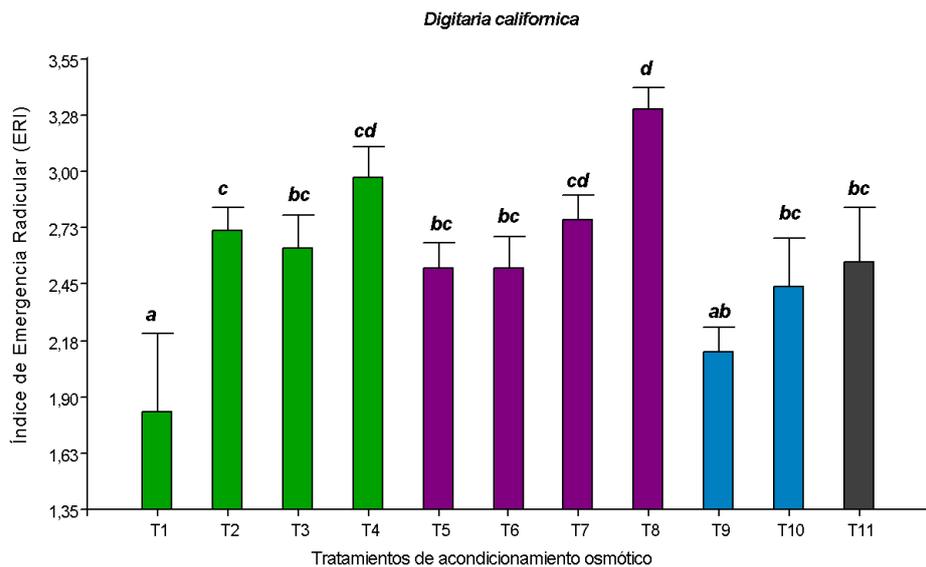


Figura 18: valores del índice de emergencia radicular (ERI) registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y en los diferentes tiempos de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3: Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicado a los cariopses de *Digitaria californica*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

Del mismo modo que el ERI, el índice de Timson fue significativo sólo para las especies *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica* (tabla 1). Este índice muestra la germinación diaria, por lo cual se espera obtener valores altos, ya que mientras mayor sea el valor obtenido, mayor es la cantidad de cariopses germinados el primer día y, por ende, mayor es la velocidad de germinación. Además, al ser estimado a partir de la sumatoria de los porcentajes diarios de germinación, alcanza valores superiores a los registrados de porcentaje final de germinación. Valores del 100 % o cercanos del índice de Timson indican que la mayoría de los cariopses germinaron el primer día. Para *P. caespitosum*, el valor más alto de este índice ($87,40 \pm 5,92$) se encontró bajo el mismo tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses: 12 hs en Manitol -0,5 MPa. El valor más bajo valor del índice de Timson se registró bajo el tratamiento con agua destilada durante 6 h ($47,40 \pm 5,92$). No se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y el de PEG-0,5 MPa con 6 h de exposición ($48,40 \pm 5,92$) (figura 19).

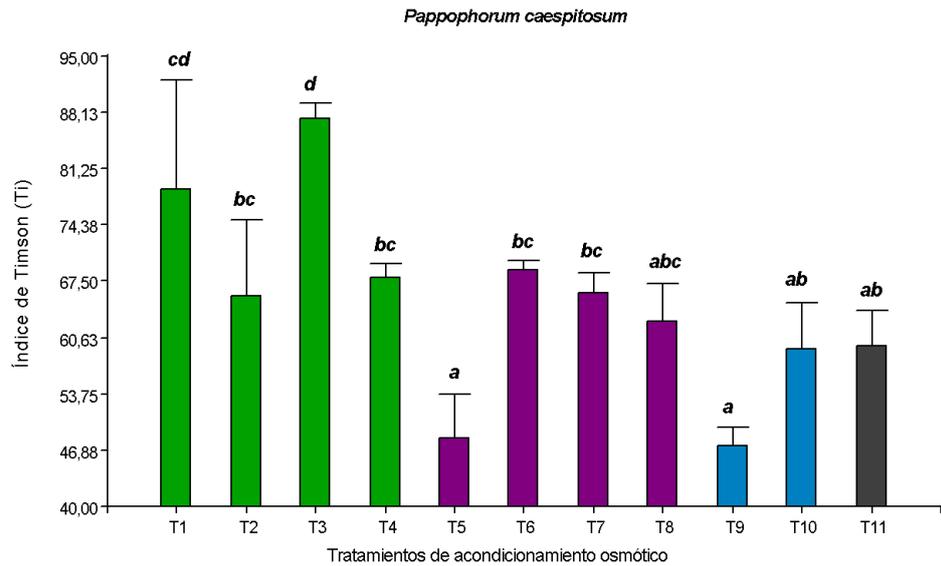


Figura 19: valores del índice de Timson (Ti) registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y en los diferentes tiempos de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicados a los cariopses de *Pappophorum Caespitosum*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control

En el caso de la especie *Digitaria californica*, el menor valor del Ti ($60,00 \pm 5,39$) se registró bajo el tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses con Manitol -0,5 MPa con 6 hs de duración. Los resultados indicaron que el valor más elevado de Ti ($97,00 \pm 5,39$) se obtuvo cuando el tratamiento aplicado para realizar el acondicionamiento osmótico de los cariopses se obtuvo con el tratamiento de PEG -1 Mpa con 12h de duración. En el tratamiento de acondicionamiento osmótico con Manitol -1 MPa con 12h de duración, se encontró una media de $93,00 (\pm 5,39)$, valor muy cercano al tratamiento anteriormente mencionado, por lo cual no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos (figura 20).

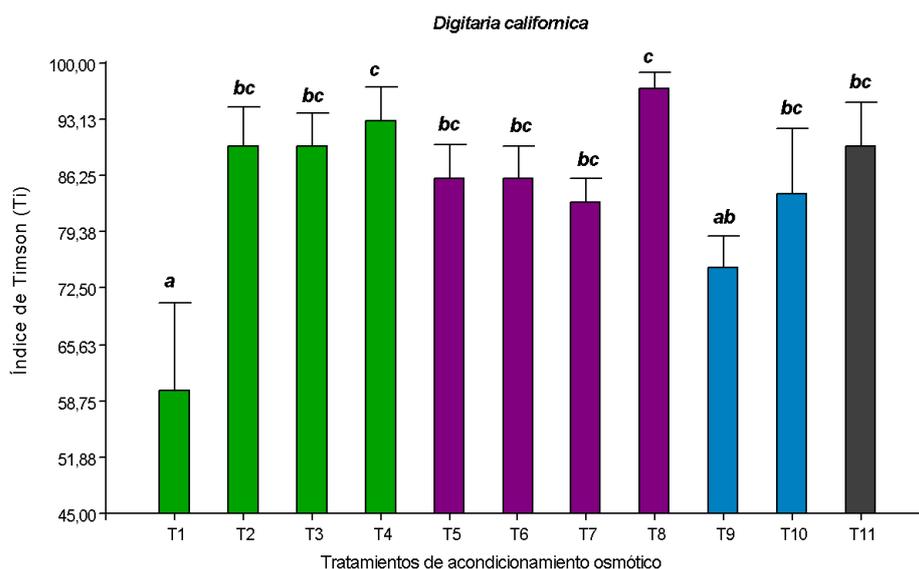


Figura 20: valores del índice de Timson (Ti) registrados para cada tratamiento de acondicionamiento osmótico y en los diferentes tiempos de exposición (T1: Manitol -0,5 MPa/6h; T2: Manitol -1 MPa/6h; T3 Manitol -0,5 MPa/12h; T4: Manitol -1 MPa/12h; T5: PEG -0,5 Mpa/6h; T6: PEG -1 Mpa/6h; T7: PEG -0,5 Mpa/12h; T8: PEG -1 Mpa/12h; T9: H2O Dest 0 Mpa/6h; T10: H2O Dest 0 Mpa/12h; T11: Control) aplicados a los cariopses de *Digitaria californica*. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Verde: Manitol, violeta: PEG, celeste: H2O, negro: control.

Niveles de tolerancia al estrés hídrico en cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente

Los resultados obtenidos del experimento donde se sometieron los cariopses de las tres especies en estudio sin tratamientos previos a escalas de estrés hídrico, en general, mostraron resultados similares en cuanto a la disminución de la germinación a medida que el potencial osmótico de la solución regante se hizo más negativo. Esta tendencia se observó también en los resultados de germinación a partir de cariopses que recibieron el tratamiento pre germinativo de acondicionamiento osmótico solo que, en todos los casos, los valores observados siempre fueron superiores a los obtenidos de cariopses sin tratamientos previos.

En *Leptochloa crinita*, el valor más elevado de porcentaje de germinación ($84,23 \pm 3,46$) se encontró en el tratamiento control del acondicionamiento osmótico (cariopses acondicionados osmóticamente regados con agua destilada). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y el tratamiento control ($76,98 \pm 3,46$) del experimento (cariopses sin tratamientos previos regados con agua), AO PEG -0,3 MPa ($81,35 \pm 3,46$) y AO -0,6 MPa ($78,90 \pm 3,46$). No se encontraron diferencias significativas entre los valores más bajos de porcentaje de germinación los cuales se registraron bajo los tratamientos de riego con PEG-1,2 MPa, tanto a partir de cariopses sin tratamientos previos ($34,93 \pm 3,46$) como acondicionados osmóticamente ($36,23 \pm 3,46$) (Figura 21).

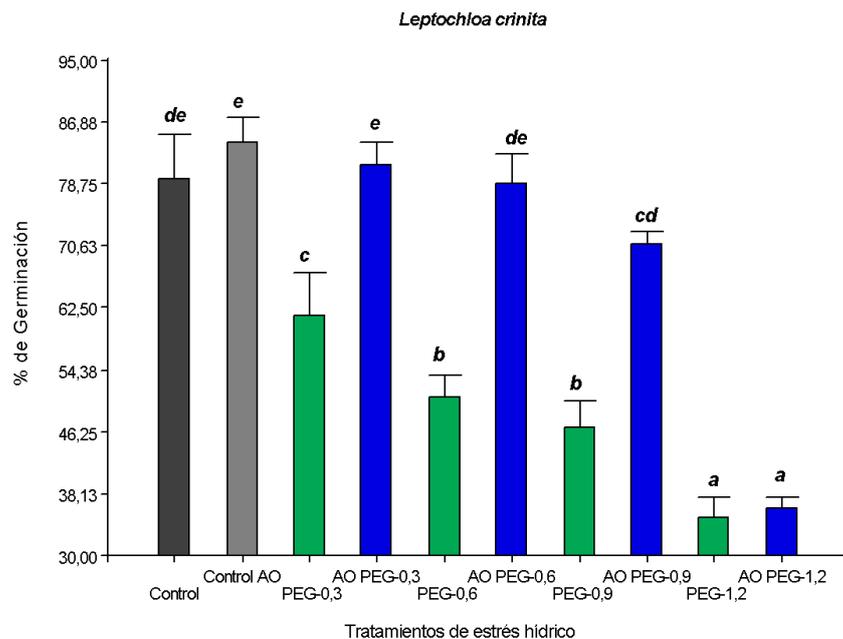


Figura 21: Porcentajes de germinación bajo condiciones de estrés hídrico aplicado a cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente de la especie *Leptochloa crinita*. Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego se expresan en Megapascales (-0,3; -0,6; -0,9 y -1,2 MPa). Tratamientos Control y Control AO: 0 MPa. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes combinaciones de agentes químicos. Negro: Control, gris: control + AO, verde: PEG, azul: AO + PEG.

Como se observa en la figura 21, bajo los mismos potenciales osmóticos de riego, los porcentajes de germinación fueron más elevados cuando el experimento de germinación se inició con los cariopses que recibieron el tratamiento pre germinativo de acondicionamiento osmótico, a excepción de la solución de riego más negativa (-1,2 MPa), donde no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación, entre los dos tipos de cariopses evaluados.

En *Pappophorum caespitosum* también se observó un descenso escalonado del porcentaje de germinación a medida que los potenciales osmóticos de las soluciones de riego fueron más negativos. El mayor porcentaje de germinación se registró bajo el tratamiento control del acondicionamiento osmótico ($59,36 \pm 1,65$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento, el tratamiento control y el tratamiento de estrés hídrico con el potencial osmótico de -0,3 MPa a partir de cariopses con el tratamiento pre germinativo de osmoacondicionamiento (figura 22).

En esta especie no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación, en los tratamientos de estrés hídrico donde se aplicaron potenciales osmóticos de valores intermedios (-0,6 y -0,9 MPa). El estrés hídrico provocado por la solución de PEG -0,6 MPa,

permitió germinar el 40,39% ($\pm 1,65$) de los cariopses, mientras que el porcentaje de germinación bajo la solución de riego de -0,9 MPa, fue del 38,60% ($\pm 1,65$), en ambos casos, cuando se partió de cariopses acondicionados osmóticamente (figura 22).

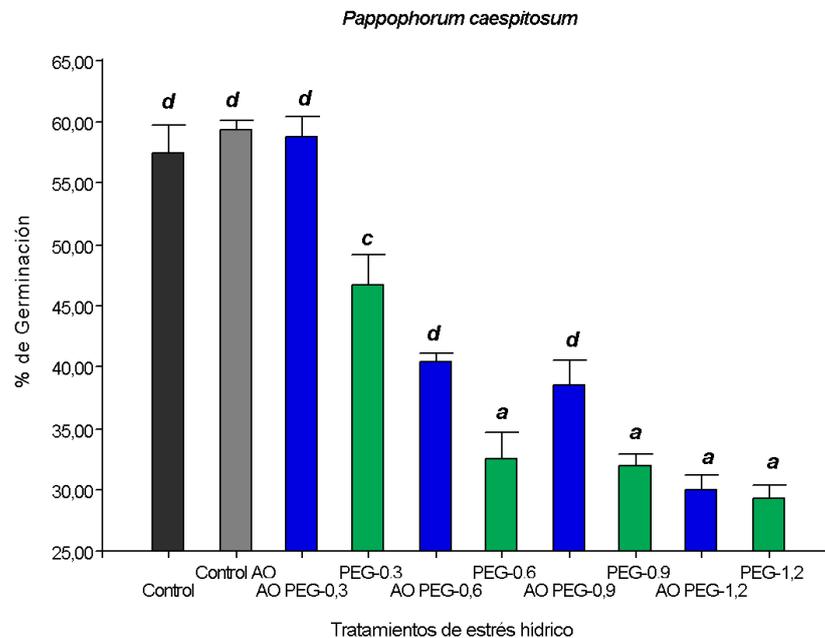


Figura 23: Porcentaje de germinación registrado en *Pappophorum caespitosum* bajo condiciones de estrés hídrico a partir de cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente. Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego, se expresan en Megapascales (-0,3; -0,6; -0,9 y -1,2 MPa). Control AO: control del acondicionamiento osmótico de los cariopses. Tratamientos Control y Control AO: 0 MPa. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Negro: Control, gris: control + AO, verde: PEG, azul: AO + PEG.

Similar a la respuesta encontrada en *L. crinita*, en *P. caespitosum* se registró que en los tratamientos de estrés hídrico con potenciales osmóticos de -0,3; -0,6 y -0,9 MPa, los cariopses que previamente fueron osmoacondicionados mostraron porcentajes de germinación más elevados con respecto a los valores de germinación observados a partir de los cariopses que no recibieron ningún tratamiento previo. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la germinación bajo los tratamientos de riego con las soluciones de -0,6; -0,9 y -1,2 MPa, cuando se usaron cariopses que no fueron tratados previamente (figura 23).

La respuesta registrada bajo los diferentes potenciales osmóticos de riego en *Digitaria californica*, también fue similar a la observada en *L. crinita* y *P. caespitosum*, ya que el porcentaje de germinación disminuyó a medida que el potencial osmótico de la solución de riego se hizo más negativa. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos controles, aunque el porcentaje de germinación mayor se encontró cuando se partió de cariopses previamente osmoacondicionados ($83,01 \pm 2,88$). El porcentaje de germinación a partir de cariopses sin tratamientos previos fue de $78,90\% (\pm 2,88)$.

En los cuatro potenciales osmóticos aplicados a los cariopses para inducir las condiciones de estrés hídrico, se encontró que el porcentaje de germinación fue mayor cuando se usaron los cariopses previamente acondicionados osmóticamente, con respecto a los que no recibieron ningún tratamiento previo, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre estas condiciones (figura 24).

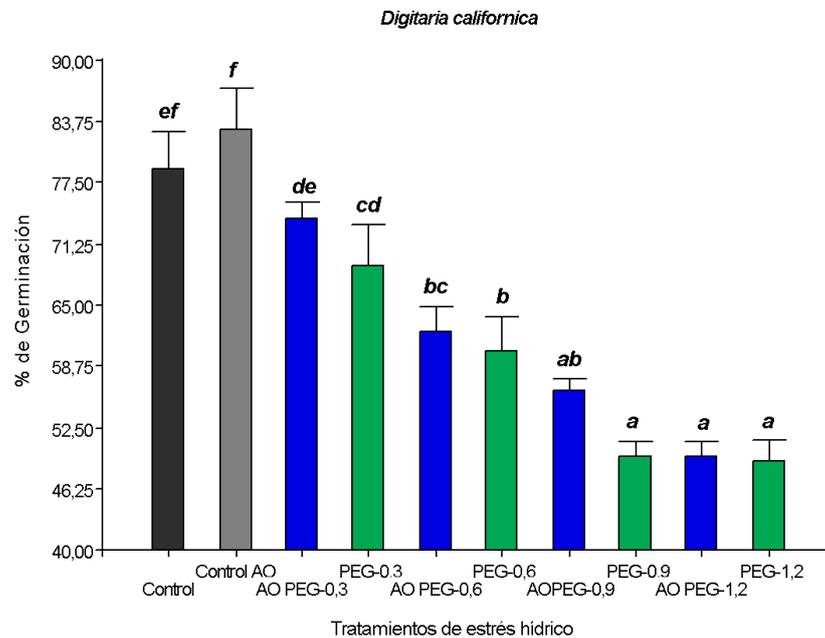


Figura 24: Porcentaje de germinación registrado en *Pappophorum caespitosum* bajo condiciones de estrés hídrico a partir de cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente. Control AO: control del tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses. Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego, se expresan en Megapascuales (-0,3; -0,6; -0,9 y -1,2 MPa). Tratamientos Control y Control AO: 0 MPa. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$), test LSD Fisher. Diferentes colores indican diferentes agentes químicos. Negro: Control, gris: Control AO, verde: PEG, azul: AO + PEG.

En esta especie, a diferencia de *L. crinita* y de *P. caespitosum*, en la condición de estrés hídrico más severa (-1,2 MPa), se registró un porcentaje de germinación cercano al 50 % ($49,07 \pm 2,88$ para cariopses sin tratamiento previo y $49,62 \pm 2,88$ en el caso de cariopses acondicionados osmóticamente) (figura 24).

Efecto de micorrizas vesículo arbusculares sobre la germinación en cariopses acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico

Se realizó la inoculación con micorrizas vesículo arbusculares de los cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente de las tres especies en estudio, y se evaluó la germinación en condiciones de estrés hídrico. En este caso, los potenciales osmóticos de las soluciones de riego fueron -0,3, -0,6 y -0,9 MPa. No se aplicó el potencial osmótico de -1,2 MPa, debido a que, bajo este nivel de estrés hídrico, los porcentajes de germinación registrados en los experimentos anteriores fueron muy bajos, principalmente en las especies

L. crinita y *P. caespitosum*, y el efecto de la presencia de micorrizas en el proceso de germinación, puede observarse en las otras tres soluciones de riego.

Las respuestas observadas respecto a la inoculación de micorrizas, el acondicionamiento osmótico y al estrés hídrico, fueron muy diferentes. En *L. crinita* no se registró germinación bajo los tratamientos de estrés hídrico cuando los cariopses inoculados con micorrizas no recibieron tratamientos pre germinativos (figura 25). A partir de cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas, se registró un porcentaje de germinación bajo, con respecto a los tratamientos controles. Bajo el tratamiento de riego de -0,3 MPa, el porcentaje de germinación alcanzado, fue de 33,74% ($\pm 2,29$). Los valores de germinación bajo los otros tratamientos de estrés hídrico de -0,6 y -0,9 MPa, fueron menores (26,57% y 24,24 $\pm 2,29$ respectivamente), y no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos (figura 25).

Con respecto a los tratamientos de control, los valores más elevados de porcentaje de germinación ($77,24 \pm 1,66$) se encontraron en el tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses, seguido del tratamiento control (cariopses sin tratamientos pre germinativos regados con agua destilada). Se observaron también diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos cariopses sin tratamiento pre germinativos inoculados con micorrizas (M) y regados con agua destilada y cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas (AO M) regados con agua destilada (figura 25).

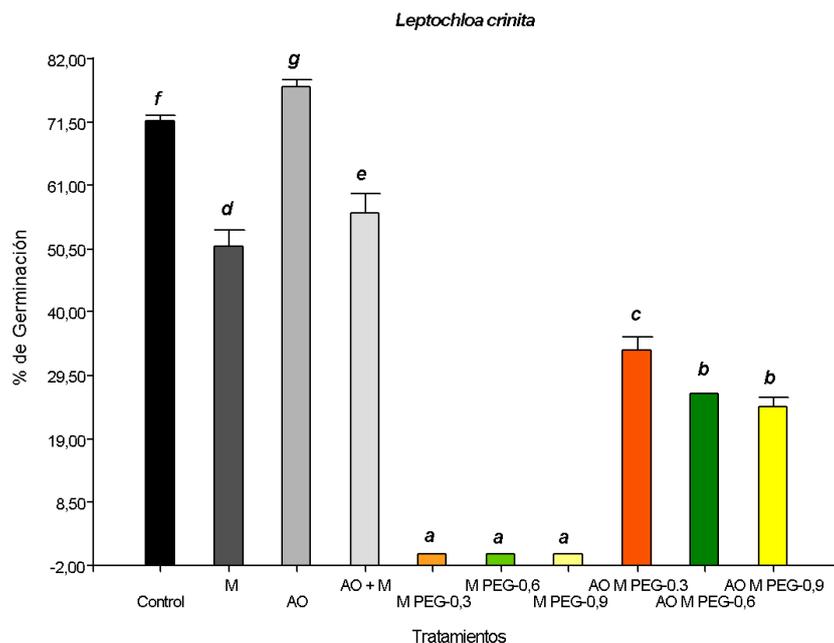


Figura 25: valores medios de porcentaje de germinación registrados para la especie *L. crinita*, bajo condiciones de estrés hídrico (PEG) a partir de cariopses sin tratamiento previo, acondicionados osmóticamente (AO) e inoculados con micorrizas (M). Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego (0: agua destilada, PEG -0,3, -0,6 y -0,9) son expresadas en Megapascales (MPa). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$). Diferentes colores indican diferentes tratamientos.

En la tabla 5 se observan los resultados obtenidos para las variables tiempo medio de germinación (MTG), índice de velocidad de emergencia (ERI) e índice de Timson (Ti). En el MTG, el valor más bajo ($0,28 \pm 0,13$) fue encontrado en cariopses acondicionados osmóticamente inoculados con micorrizas y con un estrés hídrico de $-0,9$ MPa. Bajo este mismo tratamiento, se encontró el valor más bajo para el ERI.

Tabla 5: valores medios obtenidos para el Tiempo Medio de Germinación (MTG), el índice de velocidad de emergencia (ERI) e índice de Timson (Ti) a partir de cariopses sin tratamientos previos, acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas vesículo arbusculares de la especie *Leptochloa crinita*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$).

	MTG	ERI	Ti
Acondicionamiento osmótico (AO)	$1,39 \pm 0,13$ e	$3,36 \pm 0,10$ e	$19,00 \pm 0,52$ f
Control	$0,85 \pm 0,13$ d	$3,26 \pm 0,10$ e	$18,00 \pm 0,52$ f
AO + Micorrizas (M)	$0,92 \pm 0,13$ d	$2,53 \pm 0,10$ d	$13,80 \pm 0,52$ e
M	$0,74 \pm 0,13$ cd	$2,26 \pm 0,10$ d	$12,00 \pm 0,52$ d
AO + M + PEG-0,3Mpa	$0,60 \pm 0,13$ bcd	$0,95 \pm 0,10$ c	$6,20 \pm 0,52$ c
AO + M + PEG-0,6Mpa	$0,37 \pm 0,13$ abc	$0,63 \pm 0,10$ b	$4,00 \pm 0,52$ b
AO + M + PEG-0,9MPa	$0,28 \pm 0,13$ ab	$0,57 \pm 0,10$ b	$3,40 \pm 0,52$ b
M + PEG-0,3Mpa	$0,00 \pm 0,13$ a	$0,00 \pm 0,10$ a	$0,00 \pm 0,52$ a
M + PEG-0,6Mpa	$0,00 \pm 0,13$ a	$0,00 \pm 0,10$ a	$0,00 \pm 0,52$ a
M + PEG-0,9Mpa	$0,00 \pm 0,13$ a	$0,00 \pm 0,10$ a	$0,00 \pm 0,52$ a

El índice de Timson mostró el valor más elevado ($19\% \pm 0,52$) en el tratamiento de acondicionamiento osmótico aplicado a los cariopses (Tabla 5). No se encontraron diferencias significativas en el Ti, entre este tratamiento y el tratamiento control.

El grado de colonización de las raíces de *L. crinita* por parte de los hongos micorrízicos fue en general, bajo. El mayor porcentaje de colonización ($33,33\%$) se encontró en el tratamiento donde se inocularon las micorrizas en los cariopses acondicionados osmóticamente y luego se sometieron a un estrés hídrico de $-0,3$ MPa, seguido del tratamiento donde las micorrizas se inocularon sobre cariopses que no habían recibido tratamientos pre-germinativos ($32,35\%$) (tabla 6).

Tabla 6: grado de micorrización de las raíces de la especie *Leptochloa crinita*, expresado en porcentaje, a partir de cariopses sin tratamientos pre germinativos y acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico.

Tratamientos	Grado de micorrización de las raíces (%)
Control (C)	0
C + Micorriza (M)	32,35
Acondicionamiento osmótico (AO)	0
AO + M	26,66
M + PEG -0,3Mpa	23,07
M + PEG -0,6Mpa	14,28
M + PEG -0,9Mpa	12,50
AO + M + PEG -0,3 Mpa	33,33
AO + M + PEG -0,6 Mpa	11,12
AO + M + PEG -0,9 Mpa	0

Los resultados obtenidos en la especie *Pappophorum caespitosum* ante los cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente inoculados con micorrizas y bajo las condiciones de estrés hídrico, fueron muy diferentes a las observadas en *L. crinita*. En *P. caespitosum* se registró el valor más elevado de germinación (53,62 % \pm 4,11) bajo el tratamiento realizado a partir de cariopses sin tratamiento previo, inoculados con micorrizas y con un estrés hídrico dado por la solución de riego de -0,3 MPa. No se encontraron diferencias significativas en porcentaje de germinación entre este tratamiento y el tratamiento control, sin tratamiento previo inoculado con micorriza (M), acondicionamiento osmótico, sin tratamiento previo inoculado con micorrizas y estrés hídrico con un potencial osmótico de -0,6 MPa (figura 26).

Los porcentajes de germinación más bajos se observaron bajo los tres potenciales osmóticos de estrés hídrico, cuando la inoculación de las micorrizas se realizó en los cariopses que previamente fueron osmoacondicionados (figura 26).

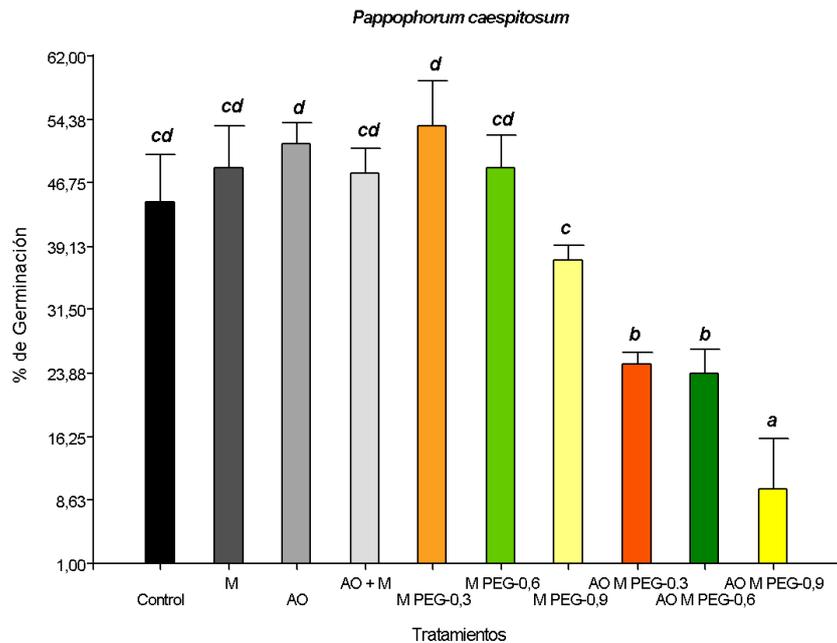


Figura 26: valores medios de porcentaje de germinación registrados para la especie *P. caespitosum*, bajo condiciones de estrés hídrico (PEG) a partir de cariopses sin tratamiento previo, acondicionados osmóticamente (AO) e inoculados con micorrizas (M). Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego (0: agua destilada, PEG -0,3, -0,6 y -0,9) son expresadas en Megapascuales (MPa). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$). Diferentes colores indican diferentes tratamientos.

En *P. caespitosum* las variables MTG, ERI y Ti fueron significativas ($p < 0,0001$). El valor más bajo de MTG ($0,20 \pm 0,16$) se encontró en el tratamiento donde se usaron cariopses sin tratamientos previos, inoculados con micorrizas y bajo estrés hídrico de -0,9 Mpa (Tabla 7). No se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y los mismos tratamientos con respecto a la condición de los cariopses, pero si bajo las otras condiciones de estrés hídrico (-0,6 y -0,9 Mpa).

El menor valor más bajo de ERI, se detectó en el tratamiento con cariopses acondicionados osmóticamente, inoculados con micorrizas y bajo un estrés hídrico de -0,9 MPa. No se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y aquellos donde se usaron las mismas condiciones para los cariopses pero bajo los otros potenciales osmóticos de riego (-0,6 y -0,3 MPa) (Tabla 7).

Los resultados obtenidos sobre el índice de Timson, mostraron el mayor valor ($12,80 \pm 1,21$) cuando se usaron cariopses sin tratamientos pre germinativos, inoculados con micorrizas y bajo el potencial osmótico más bajo (-0,3 MPa) aplicado para generar el estrés hídrico.

Tabla 7: Tiempo Medio de Germinación (MTG), índice de velocidad de emergencia (ERI) e índice de Timson (Ti) a partir de cariopses sin tratamientos previos y osmóticamente acondicionados bajo condiciones de estrés hídrico, de la especie *Pappophorum caespitosum* (AO: acondicionamiento osmótico, M: inoculación con micorrizas, PEG: polietilenglicol). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$).

<i>Pappophorum caespitosum</i>			
	MTG	ERI	Ti
Acondicionamiento osmótico (AO)	1,33 \pm 0,16 c	1,72 \pm 0,17 cd	12,20 \pm 1,21 c
Control	1,02 \pm 0,16 bc	1,43 \pm 0,17 c	9,80 \pm 1,24 bc
AO + Micorrizas (M)	1,32 \pm 0,16 c	1,43 \pm 0,17 c	11,00 \pm 1,21 c
M	1,20 \pm 0,16 c	1,60 \pm 0,17 cd	11,20 \pm 1,21 c
AO + M + PEG-0,3MPa	1,27 \pm 0,16 c	0,50 \pm 0,17 ab	3,60 \pm 1,21 a
AO + M + PEG-0,6MPa	1,29 \pm 0,16 c	0,64 \pm 0,17 ab	3,40 \pm 1,21 a
AO + M + PEG-0,9MPa	1,22 \pm 0,16 c	0,10 \pm 0,17 a	1,20 \pm 1,21 a
M + PEG-0,3Mpa	0,40 \pm 0,16 a	1,93 \pm 0,17 d	12,80 \pm 1,21 c
M + PEG-0,6Mpa	0,61 \pm 0,16 ab	1,51 \pm 0,17 cd	11,20 \pm 1,21 c
M + PEG-0,9MPa	0,20 \pm 0,16 a	0,63 \pm 0,17 b	7,40 \pm 1,21 b

Con respecto al grado de micorrización de las raíces durante el proceso de germinación, también se observaron valores bajos. El porcentaje de colonización de las raíces de *P. caespitosum* por parte de las micorrizas más elevado (42,02%), se encontró en el tratamiento donde se realizó la inoculación de las micorrizas sobre los cariopses que no habían recibido tratamientos pre germinativos (tabla 8). Bajo el potencial osmótico de la solución riego más negativo (-0,9 MPa), no se registró colonización de las raíces en ninguna de las condiciones de los cariopses (sin tratamiento pre germinativo y acondicionados osmóticamente) (tabla 8).

Tabla 8: grado de micorrización de las raíces de la especie *Pappophorum caespitosum*, expresado en porcentaje, a partir de cariopses sin tratamientos pre germinativos y acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico.

<i>Pappophorum caespitosum</i>	
Tratamientos	Grado de micorrización de las raíces (%)
Control (C)	0
C + Micorriza (M)	42,02
Acondicionamiento osmótico (AO)	0
AO + M	14,11
Control + M + PEG -0,3Mpa	19,48
Control + M + PEG -0,6Mpa	6,06
Control + M + PEG -0,9Mpa	0
AO + M + PEG -0,3 Mpa	28,57
AO + M + PEG -0,6 Mpa	14,28
AO + M + PEG -0,9 Mpa	0

La respuesta observada en la especie *Digitaria californica* fue muy diferente a la registrada en las otras dos especies. El porcentaje más elevado de germinación ($61,40\% \pm 3,12$) se registró bajo el tratamiento de cariopses acondicionados osmóticamente. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre este tratamiento y los demás tratamientos controles (control, sin tratamiento previo inoculado con micorrizas y cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas, todos regados con agua destilada (figura 27).

Con respecto a la germinación bajo condiciones de estrés hídrico, el mayor valor de porcentaje de germinación ($38,55 \pm 2,88$) se obtuvo cuando se partió de cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas, bajo la condición de estrés brindada por la solución de riego de Polietilenglicol de $-0,3$ MPa (figura 27).

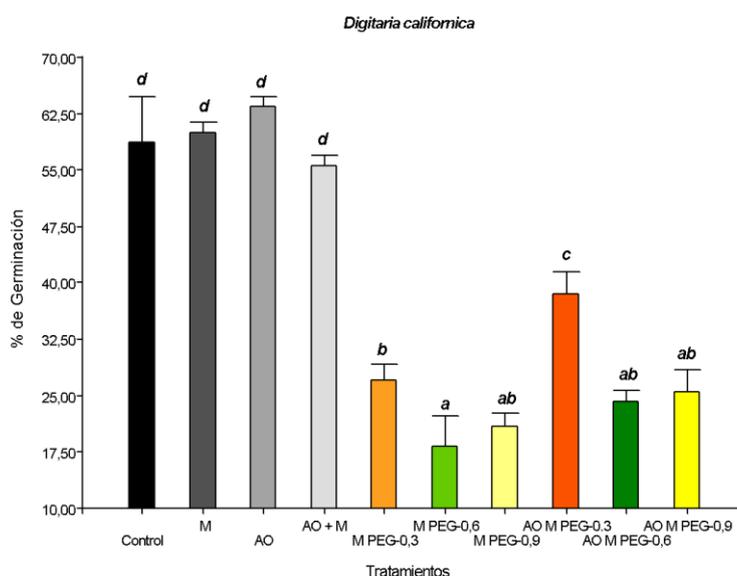


Figura 27: valores medios de porcentaje de germinación registrados para la especie *D. californica*, bajo condiciones de estrés hídrico (PEG) a partir de cariopses sin tratamiento previo, acondicionados osmóticamente (AO) e inoculados con micorrizas (M). Los potenciales osmóticos de las soluciones de riego (0: agua destilada, PEG $-0,3$, $-0,6$ y $-0,9$) son expresadas en Megapascuales (MPa). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$). Diferentes colores indican diferentes tratamientos.

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre algunos tratamientos para las variables tiempo medio de germinación (MTG), el índice de velocidad de emergencia (ERI) y el índice de Timson (Ti) en la especie *D. californica* (tabla 6).

El valor más bajo de MTG ($0,16 \pm 0,10$) se encontró en el tratamiento de estrés hídrico con un potencial osmótico de $-0,6$ MPa cuando se usaron cariopses sin tratamientos previos e

inoculados con micorrizas. No se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y el mismo tratamiento sobre los cariopses, pero en los otros potenciales osmóticos de estrés hídrico (-0,9 y -0,3 MPa), y tampoco con el tratamiento de cariopses acondicionados osmóticamente inoculados con micorrizas y bajo un estrés hídrico de -0,6 MPa (Tabla 9).

En el índice de emergencia radicular (ERI) se observó el mismo resultado: el valor más bajo (0,39 ±0,11) se encontró bajo el tratamiento de cariopses sin tratamientos previos, inoculados con micorrizas y bajo un estrés hídrico de -0,6 MPa.

Tabla 9: valores medios obtenidos para las variables Tiempo Medio de Germinación (MTG), índice de velocidad de emergencia (ERI) e índice de Timson (Ti) a partir de cariopses sin tratamientos previos y osmóticamente acondicionados bajo condiciones de estrés hídrico, de la especie *Digitaria Californica* (AO: acondicionamiento osmótico, M: inoculación con micorrizas, PEG: polietilenglicol). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos (LSD Fisher, $\alpha < 0,05$).

<i>Digitaria californica</i>			
	MTG	ERI	Ti
AO + Micorrizas (M)	1,22 ±0,10 cd	2,18 ±0,13 c	13,60±0,84 c
Acondicionamiento osmótico (AO)	1,34 ±0,10 d	2,66 ±0,13 d	16,00±0,84 c
M	1,31 ±0,10 cd	2,44 ±0,13 cd	15,00±0,84 c
Control	1,25 ±0,10 cd	2,35 ±0,13 cd	14,40±0,84 c
AO + M + PEG-0,3Mpa	1,05 ±0,10 c	0,90 ±0,13 b	7,80±0,84 b
AO + M + PEG-0,6Mpa	0,27 ±0,10 ab	0,58 ±0,13 ab	3,40±0,84 a
AO + M + PEG-0,9Mpa	0,47 ±0,10 b	0,48 ±0,13 a	3,80±0,84 a
M + PEG-0,3Mpa	0,35 ±0,10 ab	0,70 ±0,13 ab	4,20±0,84 a
M + PEG-0,6Mpa	0,16 ±0,10 a	0,39 ±0,11 a	2,20±0,84 a
M + PEG-0,9Mpa	0,23 ±0,10 ab	0,42 ±0,13 a	2,60±0,84 a

Los resultados de la estimación del índice de Timson, mostraron al mayor valor (16,00% ±0,84) bajo el tratamiento de acondicionamiento osmótico de los cariopses (tabla 9). No se encontraron diferencias significativas entre este tratamiento y el resto de los tratamientos controles (tratamientos regados con agua destilada -0 MPa- acondicionamiento osmótico e inoculación con micorrizas, cariopses sin tratamientos pre germinativos inoculados con micorrizas y control).

El grado de micorrización de las raíces de *D. californica* fue, en general, más elevado con respecto a las otras dos especies evaluadas. Se registró un 50% de colonización de las raíces durante el proceso de germinación en el tratamiento donde las micorrizas se inocularon sobre los cariopses no habían recibido tratamientos pre germinativos (tabla 10).

Tabla 10: grado de micorrización de las raíces de la especie *Digitaria californica*, expresado en porcentaje, a partir de cariopses sin tratamientos pre germinativos y acondicionados osmóticamente bajo condiciones de estrés hídrico.

<i>Digitaria californica</i>	
Tratamientos	Grado de micorrización de las raíces (%)
Control (C)	0
C + Micorriza (M)	50
Acondicionamiento osmótico (AO)	0
AO + M	42,85
Control + M + PEG -0,3Mpa	30
Control + M + PEG -0,6Mpa	14,28
Control + M + PEG -0,9Mpa	0
AO + M + PEG -0,3 Mpa	36,36
AO + M + PEG -0,6 Mpa	28,57
AO + M + PEG -0,9 Mpa	22,22

Discusión

Acondicionamiento osmótico y tolerancia al estrés hídrico

Se conocen muchas técnicas para realizar el acondicionamiento osmótico de semillas que se clasifican de acuerdo al tratamiento que se utiliza para realizarlo, siendo los más usados el acondicionamiento osmótico con agua (hidropriming) con sustancias osmóticas (osmopriming), sales, hormonas y sustancias sólidas como arena (Ibrahim 2016; Maiti & Pramanik, 2013). Bajo diferentes factores, como el potencial de agua, la duración de pre tratamiento de osmoacondicionamiento, la temperatura, el vigor de las semillas y las condiciones de conservación afectan la respuesta de las semillas en el momento de la germinación. Es por ello que es tan importante encontrar y optimizar el tratamiento más eficaz de acondicionamiento osmótico de las semillas para obtener mejores resultados (Parera & Cantliffe, 1994).

En este contexto, diversos autores (Tamborelli & Fiant, 2020; Orta *et al.*, 1998; Jett, Welbaum & Morse, 1996) mencionan al agua como el agente más eficiente para realizar el acondicionamiento osmótico de semillas debido a que es simple de aplicar y es más económico. Tamborelli & Fiant (2020) informaron que la especie *Setaria sphacelata*, un pasto C4 originario de África, brinda mejores resultados de germinación al realizar el acondicionamiento osmótico con agua, en comparación con la imbibición realizada en nitrato de potasio (KNO₃). También Baioni (2021), obtuvo los mayores resultados de germinación cuando realizó el acondicionamiento osmótico con agua en cariopses de *Panicum coloratum* var. *coloratum*, en comparación con el tratamiento de acondicionamiento realizado con cloruro de calcio (ClCa₂) al 2 %.

En este trabajo, los mejores resultados de germinación y de TMG se obtuvieron cuando el tratamiento de acondicionamiento osmótico se hizo con Manitol o PEG en las especies evaluadas, en comparación con los resultados obtenidos bajo el tratamiento donde se aplicó agua para producir el acondicionamiento osmótico. En *L. crinita* y *D. californica* el tratamiento con Manitol fue el que mostró mejores resultados, y en *P. caespitosum* fue con PEG.

La especie *P. caespitosum* mostró resultados similares a los de Baque *et al.* (2016), quienes encontraron mayores porcentajes de germinación en trigo (*Triticum aestivum*) cuando realizaron el acondicionamiento osmótico de los cariopses con PEG, en relación al tratamiento control (agua). También en el pasto *Piptatherum miliaceum*, originario de la cuenca mediterránea con importancia para producción de bioenergía, Lerna & Mauromicale (2020) encontraron un aumento significativo en la germinación de esta especie al aplicar ácido sulfúrico (H₂SO₄) primero para romper la dormancia de los cariopses, y luego PEG -1 MPa + GA3 (ácido giberélico) para realizar el acondicionamiento osmótico. Moradi *et al* (2012), realizaron el acondicionamiento osmótico de cariopses de la especie *Agropyron elongatum* y encontraron mejores resultados tanto de germinación como también de tolerancia al estrés

hídrico bajo los tratamientos con urea y con PEG, respecto al tratamiento con agua. Por otro lado, en diferentes especies pertenecientes al género *Bromus*, Tavili *et al* (2011) registraron valores más elevados de germinación y mayor velocidad de germinación bajo el tratamiento de acondicionamiento osmótico con PEG respecto al tratamiento de acondicionamiento con agua.

En cuanto a los tiempos de exposición al tratamiento de acondicionamiento osmótico, en otras especies herbáceas como *Zygophyllum simplex*, Hussain *et al* (2022) expusieron las semillas de esa especie durante 6 y 12 h a agentes como peróxido de hidrógeno, ácido ascórbico y nitroprusiato de sodio, y no obtuvieron diferencias significativas entre los tiempos de exposición en los tratamientos aplicados. En el trabajo realizado por Moradi *et al* (2012), evaluaron cinco tiempos de exposición al tratamiento de acondicionamiento osmótico, y encontraron en los tiempos de menor duración (12 y 24 hs), valores más elevados de porcentaje de germinación en la especie *A. elongatum*, mientras que los tiempos de mayor duración de los tratamientos de acondicionamiento osmótico, brindaron mayor tolerancia a las condiciones de estrés hídrico.

La mayoría de las plantas cultivadas (cereales, hortícolas, cespitosas y otros cultivos industriales) son susceptibles a las condiciones de estrés abiótico (estrés hídrico y salino), con la consiguiente reducción de la productividad debido a una nutrición inadecuada. Debido a ello, existe una gran cantidad de estudios sobre especies tolerantes al estrés hídrico y a la salinidad, que muestran la preponderancia que ha adquirido esta condición, en los últimos años (Ramírez-Suárez & Hernández-Olivera, 2016). En este sentido, en el trabajo realizado por Di Giambatista *et al* (2010), encontraron que a 25°C, el porcentaje de germinación de *Trichloris crinita* no mostró diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento de estrés hídrico brindado por la solución de PEG -0,5 MPa, alcanzando valores aproximados de germinación del 85%. Observaron que el porcentaje de germinación en esta especie, disminuyó abruptamente al aplicar el riego con una solución de -1 MPa y que con un riego con un potencial osmótico de -1,5 MPa, la germinación de la especie no supera el 30%. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos en este trabajo, ya que cuando se aplicó una solución de riego de PEG -1,2 MPa, se obtuvo un porcentaje de germinación del 35 %. Estas diferencias en la germinación bajo condiciones de estrés hídrico podrían deberse a que, en este trabajo, se usaron en todos los experimentos, cariopses desnudos, sin restos de la espiguilla, por lo cual las radículas no encontraron barreras físicas en el momento de la germinación logrando mayores porcentajes de germinación, aún en las soluciones de riego con potenciales osmóticos más negativos.

Kloster *et al* (2016), evaluaron la germinación de seis poblaciones de *Trichloris cinita* bajo diferentes potenciales osmóticos (-0,5, -0,8 y -1 MPa) con soluciones de polietilenglicol y encontraron que en la mayoría de las poblaciones se produjo un descenso de la germinación de más del 50 % con la solución de riego de PEG -1 MPa. Solo en la población evaluada

proveniente de Naicó (La Pampa), obtuvieron un porcentaje de germinación similar al obtenido en este trabajo (30 %) con la solución de riego de -1,2 MPa.

En el mismo trabajo de Di Giambatista *et al* (2010), se analizó la germinación de la especie *Digitaria eriantha* cv. *sudafricana* bajo condiciones de estrés abiótico. En esta especie encontraron que el porcentaje de germinación no alcanzó el 20 % bajo ninguno de los potenciales osmóticos de riego aplicados (-0,5; -1 y -1,5 MPa). En *Digitaria californica*, encontramos que bajo la solución de riego de PEG -1,2 MPa, se logró un porcentaje de germinación del 49%, resultados que sugieren que esta especie es tolerante a este nivel de estrés hídrico en el proceso de germinación.

Un factor que podría estar relacionado con la tolerancia al estrés abiótico en las especies evaluadas es el tamaño de las semillas (cariopses) de las especies en estudio. Zabala *et al* (2011) encontraron una correlación positiva entre el tamaño del cariopse en especies del género *Trichloris* y el porcentaje final de germinación, por lo cual es posible que a medida que el tamaño de las semillas disminuye, también lo hace su germinación, como así también su capacidad para tolerar condiciones de estrés abiótico. En los resultados informados por Marinoni (2017), el tamaño de los cariopses de *Trichloris crinita* está relacionado con la tolerancia al estrés osmótico.

Efecto de micorrizas vesículo arbusculares

Varga (2015), evaluó el efecto de micorrizas vesículo arbusculares en la germinación de semillas y establecimiento de plántulas de *Geranium sylvaticum*. Los resultados mostraron que la presencia de esporas de micorrizas vesículo arbusculares, tuvo un efecto negativo sobre la germinación de semillas de dicha planta. Los resultados obtenidos en este trabajo no concuerdan con los del estudio anterior ya que, en las especies evaluadas en este trabajo se registró un efecto positivo en la germinación, en la mayoría de los tratamientos que implican la inoculación de micorrizas incluso bajo las condiciones de estrés hídrico.

En el estudio realizado por Ávila *et al.* (2003), se determinó el efecto de las cepas de *Bradyrhizobium* y micorrizas vesículo arbusculares en la producción de semillas de kudúz (*Pueraria phaseoloides*). En el ensayo se emplearon cinco tratamientos, que consistían en un testigo absoluto, *Bradyrhizobium*, micorrizas vesículo arbusculares, *Bradyrhizobium* más micorrizas vesículo arbusculares y un control con nitrógeno (25 kg/ha). Los resultados mostraron un efecto positivo en la producción de semillas cuando las plantas fueron inoculadas con *Bradyrhizobium* más micorrizas vesículo-arbusculares (633 y 682 kg/ha para el primer y segundo año, respectivamente), la cual difirió significativamente del testigo. La semilla presentó buena calidad y el porcentaje de germinación fue superior (84%) cuando se coinoculó. En contraste con el trabajo anterior, en la presente propuesta, se observó que la germinación máxima (49,75 %) en la especie *P. caespitosum*, se registró bajo el tratamiento realizado a partir de inoculación con micorrizas vesículo arbusculares sobre cariopses

acondicionados osmóticamente. Estos resultados destacan que la presencia de micorrizas, influye positivamente en la germinación de *P. caespitosum*.

Brevedan *et al* (2013), encontraron que la disponibilidad de humedad impuso severas limitaciones a la germinación de las semillas de *Digitaria eriantha*, y concluyeron que cuanto menor es el potencial hídrico, menor es el porcentaje de germinación y la velocidad de germinación en esta especie. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, coinciden con los mencionados anteriormente, al observarse un descenso del porcentaje de germinación en la especie *Digitaria californica*, a medida que el potencial osmótico se volvía más negativo. Por otro lado, en esta especie, se registró un porcentaje de germinación del 38,60%, cuando el experimento se llevó a cabo con cariopses acondicionados osmóticamente, inoculados con micorrizas y regados con la solución de PEG-0,3 MPa. Este resultado difiere del trabajo anterior mencionado, en el cuál en *Digitaria eriantha*, se encuentran menores porcentajes de germinación con valores similares de potencial. Estos resultados sugieren que *Digitaria californica* ciertos tolera niveles de estrés hídrico con mayor eficiencia que la especie *D. eriantha*, a partir de la inoculación de micorrizas y la combinación de este tratamiento con el acondicionamiento osmótico.

Ortiz *et al* (2015) estudiaron la contribución de micorrizas arbusculares y bacterias, a la mejora de la tolerancia a la sequía de las plantas en condiciones naturales del suelo. En este trabajo, los autores concluyeron que el grado de colonización de micorrizas vesículo arbusculares, no se relaciona con las condiciones de sequía. En este estudio se observaron porcentajes de raíces micorrizadas en las tres especies en estudio, hasta una concentración de potencial osmótico de -0,6 Mpa (PEG). En contraposición con el trabajo mencionado, los resultados muestran que el grado de micorrización está relacionado negativamente con niveles elevados de estrés hídrico, los cuáles pueden ser ocasionados por condiciones de sequía. Sin embargo, hubo colonización de las raíces en condiciones de estrés hídrico en las tres especies estudiadas, ya sea a partir de cariopses sin tratamientos previos como también a partir de los cariopses acondicionados osmóticamente.

Askari *et al* (2019), evaluaron el efecto combinado, bajo condiciones de estrés hídrico, del acondicionamiento osmótico de las semillas y la inoculación de dos especies de micorrizas en la producción de granos de sésamo (N. C. de la especie?), y encontraron una relación positiva entre ambos tratamientos, ya que el osmoacondicionamiento de las semillas aceleró el proceso de germinación y junto con las micorrizas, lograron las condiciones necesarias para que la producción de granos no decaiga bajo las condiciones de estrés hídrico. En este trabajo, si bien no se evaluó la producción de las especies estudiadas bajo las condiciones mencionadas, se comparten los resultados obtenidos, ya que la combinación del acondicionamiento osmótico de los cariopses junto con la inoculación de los hongos micorrízicos, brindaron características para que los pastos estudiados toleren condiciones de estrés hídrico de hasta -0,6 MPa.

Conclusiones

Las tres especies evaluadas en este trabajo mostraron respuestas muy diferentes en los diferentes experimentos que se realizaron, tanto en el acondicionamiento osmótico como en la tolerancia al estrés hídrico, a partir de los cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas. De acuerdo a los resultados obtenidos en cada uno de los ítems evaluados para las especies *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica*, se puede concluir:

- Con respecto a los tratamientos de acondicionamiento osmótico

De los tratamientos aplicados en este trabajo para realizar el acondicionamiento osmótico de los cariopses de *Leptochloa crinita*, la aplicación de Manitol con un potencial osmótico de -1 MPa, con un tiempo de exposición de 12 h, es el que mostró mejores resultados.

En la especie *Pappophorum caespitosum*, el tratamiento más eficaz para acondicionar osmóticamente los cariopses fue Polietilenglicol 6000 (PEG) con un potencial osmótico de -0,5 MPa, con 6 h de exposición.

Para *Digitaria californica*, el método de acondicionamiento osmótico de sus cariopses de mayor eficacia fue Manitol con un potencial osmótico de -0,5MPa, durante 6 h de exposición.

- Con respecto a la tolerancia al estrés hídrico de cariopses sin tratamientos previos

Se puede concluir que la germinación de las tres especies evaluadas a un mismo potencial osmótico, fueron significativamente tolerantes al estrés hídrico, simulado a partir de los potenciales osmóticos de las soluciones de riego preparadas con PEG.

Digitaria californica posee mayor tolerancia al estrés hídrico, ya que mantuvo un porcentaje de germinación por arriba del 50 % aún con la solución de riego aplicada con el potencial osmótico más negativo (-1,2 MPa).

- Sobre la tolerancia al estrés hídrico de cariopses acondicionados osmóticamente

Bajo las condiciones de estrés hídrico aplicadas se obtuvo una mayor germinación a partir de los cariopses acondicionados osmóticamente, en relación a los cariopses que no recibieron ningún pre tratamiento, por lo cual, se puede concluir:

El acondicionamiento osmótico de los cariopses de *Leptochloa crinita* y *Pappophorum caespitosum* brindó una elevada tolerancia a las condiciones de estrés hídrico hasta un potencial osmótico de -0,9 MPa.

La tolerancia de los cariopses de *Digitaria californica* en el proceso de germinación no se modifica con el acondicionamiento osmótico de los cariopses.

- Sobre el efecto de micorrizas vesículo arbusculares en cariopses sin tratamientos previos y acondicionados osmóticamente.

En las especies *Leptochloa crinita* y *Digitaria californica*, la combinación de los tratamientos de acondicionamiento osmótico y la inoculación con micorrizas, aumentaron la tolerancia al estrés hídrico, en mayor medida que estos factores por separado.

En la especie *Pappophorum caespitosum*, la inoculación de micorrizas brindó una elevada tolerancia al hídrico, a partir de cariopses sin tratamiento pregerminativo.

En relación con el grado de micorrización, las raíces de las especies

En relación al grado de micorrización, los hongos formadores de micorrizas arbusculares pueden colonizar las raíces de *Leptochloa crinita*, *Pappophorum caespitosum* y *Digitaria californica* bajo condiciones de estrés hídrico con un potencial osmótico de -0,6Mpa.

Conclusión general y perspectivas

Teniendo en cuenta los resultados positivos de las tres especies en cuanto al acondicionamiento osmótico y la inoculación de micorrizas frente a las condiciones de estrés hídrico características de los suelos de las zonas áridas de la provincia de San Juan, se recomienda sembrar en conjunto los cariopses tratados de las tres especies para la recuperación de los suelos degradados.

Los resultados obtenidos, son promisorios para ser utilizados en programas de restauración ecológica de zonas áridas. Los cariopses acondicionados osmóticamente e inoculados con micorrizas, poseen mayor habilidad para tolerar las condiciones de aridez.

Estudios sobre la tolerancia al estrés salino, se consideran necesarios y complementarios a los resultados obtenidos en este trabajo, para conocer de manera más completa la respuesta de estas especies a las condiciones de estrés abiótico, de modo de que, en caso de ser usadas en programas y proyectos sobre recuperación de suelos degradados de zonas áridas, obtener mejores resultados.

Bibliografía

- Aljaro, A., & Wyneken, L. (1985). Acondicionamiento osmótico de semilla de pimiento (*Capsicum annuum* L.) y sus efectos sobre la germinación y emergencia. *Agricultura Técnica (Santiago)*, 45(4): 293-302.
- Arditti, J. & Ghani, A. K. A. (2000). Tansley Review No. 110. Numerical and physical properties for chid seeds and their biological implications. *New Phytol.* 145:367 – 421.
- Askari, A.; Ardakani; M.R.; Paknejad, F. & Hosseini, Y. (2019). Effects of mycorrhizal symbiosis and seed priming on yield and water use efficiency of sesame under drought stress condition. *Scientia Horticulturae* 257: 108749.
- Austin, A., Yahdjian, L., Stark, J., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D. & Schaeffer, S., (2004). Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141: 221–235.
- Ávila, U., Hernández, M. E., & Pasarón, I. (2003). Efecto de *Bradyrhizobium* sp. y micorrizas vesículo-arbusculares en la producción de semillas de *Pueraria phaseoloides*. *Pastos y Forrajes*, 26(4).
- Azcón-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldán, A., Bautista, S., Vallejo, R., & Barea, J.M., (2003). Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* 22: 29-37.
- Azzouzi, S. A., Vidal-Pantaleoni, A., & Bentounes, H. A. (2017). Desertification monitoring in Biskra, Algeria, with Landsat imagery by means of supervised classification and change detection methods. *IEEE Access*, 5, 9065-9072.
- Báez, C. G., Agüero, R. O., Ernst, R. D., & Ruiz, M. A. (2015). Caracterización morfológica, biomasa aérea y calidad en distintas poblaciones de *Trichloris crinita*. *Archivos de zootecnia*, 64(245): 49-56.
- Badran, A. E., Abd Alhady, M. R., & Hassan, W. A. (2015). In vitro evaluation of some traits in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) under drought stress and their relationship on stevioside content. *American Journal of Plant Sciences*, 6(05), 746.
- Baioni, S.S. (2021). Implantación de *Panicum coloratum*: acondicionamiento pregerminativo, tolerancia a la deficiencia de agua y salinidad, evaluación de la maduración y retención de semillas. Tesis de maestría. Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Sur.
- Baldi, G. & Jobbágy, E. G. (2012). Land use in the dry subtropics: Vegetation composition and production across contrasting human contexts. *Journal of Arid Environments*, 76: 115-127.
- Barea, J. M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez-Castro, I., Navarro-Fernández, C., & López- García, A., (2011). Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *Journal Arid Environments*. 75, 1292–1301.
- Batty, A. L., Dixon, K. W., Brundrett, M., & Sivasithamparam, K. (2001). Constraints to symbiotic germination of terrestrial orchid seed in a mediterranean bushland. *New phytologist*, 152(3), 511-520.
- Baque, A.; Nahar, M.; Yeasmin, M.; Quamruzzaman, M.; Rahman, A.; Azad, M.J. & Biswas, P.K. (2016). Germination behavior of wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by polyethylene glycol (PEG). *Universal Journal of Agricultural Research*, 4: 86-91.
- Beauchamp, V.B. Walz, C.; & Shafroth, P.B. (2009). Salinity tolerance and mycorrhizal responsiveness of native xeroriparian plants in semi-arid western USA. *Applied Soil Ecology*, 43(2-3): 175-184.
- Bewley, J.D. & Black, M. (1986). Dormancy and the control of germination. In *Seeds: Physiology of Development and Germination* (eds. J.D. Bewley and M. Black), pp. 175-235, *Plenum Press, New York*.

- Bewley, J. D., Bradford, K.; & Hilhorst, H. (2012). Seeds: physiology of development, germination and dormancy. *Springer Science & Business Media*.
- Bernardello, G. (2009). Flora de San Juan: República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 44(3-4): 458-458.
- Biganzoli, F.; & Zuloaga, F. (2015). Análisis de diversidad de la familia *Poaceae* en la región austral de América del Sur. *Rodriguésia*, 66: 337-351.
- Black, M., Bewley, J. D., & Halmer, P. (2006). The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology and Uses. *Wallingford: CABI*.
- Blanco, G. M., Viveros, D. R. C., Arreaza, L. C.; & Obando, A. M. R. (2005). Evaluación nutricional del ensilaje de *Sambucus peruviana*, *Acacia decurrens* y *Avena sativa*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 6(2): 81-85.
- Bose, B., Kumar, M., Sighal, R., & Mondal, S., (2018). Impact of seed priming on the modulation of physico-chemical and molecular processes during germination, growth, and development of crops, in: Rakshit, A., Singh, A.B. (Eds.), *Advances in seed priming. Springer Nature Singapore*, 2: 33-40.
- Bourziza, R., Hammani, A., Kuper, M., & Bouaziz, A. (2015). Water saving in arid regions: comparison of innovative techniques for irrigation of young date palms. *International Journal of Environmental and Ecological Engineering*, 8(11): 771-776.
- Brevedan, RE, Busso, CA, Fioretti, MN, Toribio, MB, Baioni, SS, Torres, YA, Fernández, OA, Giorgetti, HD, Bentivegna, D, Entío, J, Ithurrart, L, Montenegro, O, Mujica, M, de las, M, Rodríguez, G, & Tucac, G (2013) Water stress and temperature effects on germination and early seedling growth of *Digitaria eriantha*. *Afr J Agric Res* 32: 4345–4353.
- Carrillo, A. R. Q., Jiménez, L. M., Villanueva-Ávalos, J. F. (2017). Recursos genéticos de gramíneas para el pastoreo extensivo. Condición actual y urgencia de su conservación ante el cambio climático. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 21(3): 63-86.
- Cavagnaro, J.B.; Trione, S.O. (2007). Physiological, morphological and biochemical responses to shade of *Trichloris crinita*, a forage Grass from the arid zone of Argentina. *Journal of Arid Environments* 68: 337–347.
- Chang, D. C., Hur, O. S., Park, C. S., & Kim, S. Y. (2008). Seed potato (*Solanum tuberosum*) production using plug derived from hydroponic minitubers. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 49(5): 298-304.
- Coronado, M. H. E., Romo, R. L. C., Cerecedo, M. S., Castillo, A. M., Márquez, M. H. R., & Castro, J. J. (2002). Emergencia y sobrevivencia de gramíneas inoculadas con biofertilizantes en condiciones de invernadero. *Técnica Pecuaria en México, Ciudad de México*, 42(3): 459-475.
- Dalmasso, A.; Cavagnaro, J.; Borsetto, O. y Passera, C. (1983). Curva de producción forrajera de *Pappophorum caespitosum*. *Deserta* 7: 40–47.
- Dalmasso, A. (1994). Fenología de cinco Gramíneas nativas de interés forrajero. *Multequina* 3: 9-34.
- Dalzotto, C.A.; Lallana, V.H. (2013). Viabilidad, germinación asimbiótica y vigor de tres especies de orquídeas nativas. *Revista Científica Agropecuaria* 17(1-2): 39-47.
- Di Giambatista, G., Garbero, M., Ruiz, M., Giulietti, A., & Pedranzani, H. (2010). Germinación de *Trichloris crinita* y *Digitaria eriantha* en condiciones de estrés abiótico. *Pastos y forrajes*, 33(4): 1-1.
- Drechsler, K., Kisekka, I., & Upadhyaya, S. (2019). A comprehensive stress indicator for evaluating plant water status in almond trees. *Agricultural Water Management*, 216: 214-223.

- Duran-Altisent, J.M.; Pérez García, F. (1984). Aspectos fisiológicos de la germinación de las semillas E.T.S.I.A. *Universidad Politécnica de Madrid*. 245 p.
- Duran Altisent, J. M., & Retamal Parra, N. (1998). Matrix and osmotic priming of horticultural seeds. *Agricultura (España)*.
- Etchevers, H. C., Dupin, E., Le Douarin, N. M. (2019). The diverse neural crest: from embryology to human pathology. *Development*, 146(5): 169821.
- Farooq, M., Barsa, S., Wahid, A. (2006). Priming offield-sown rice seed enhances germination, seedling establishment, allometry and yield. *Plant growth regulation*, 49(2): 285-294.
- Fischer, R. A., Turner, N. C. (1978). Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology*, 29(1): 277-317.
- Fu, J. R., Lu, X. H., Chen, R. Z., Zhang, B. Z., Liu, Z. S. (1988). Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigor and some biochemical activities. *Seed Science and Technology*, 16(1): 197-212.
- Ghassemi-Golezani, K., & Tajbakhsh, Z. (2012). Relationship of plant biomass and grain filling with grain yield of maize cultivars. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 4(20): 1536-1539.
- Garruña-Hernández, R., Latournerie-Moreno, L., Ayala-Garay, O., Santamaría, J. M., Pinzón-López, L. (2014). Acondicionamiento pre-siembra: una opción para incrementar la germinación de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* acq.). *Agrociencia*, 48(4): 413-423.
- Garzón, L. P. (2016). Importancia de las Micorrizas Arbusculares (Ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. *Revista Luna Azul (On Line)*, (42): 217-234.
- Gehring, C. A., Sthultz, C. M., Flores-Rentería, L., Whipple, A. V., Whitham, T. G. (2017). Tree genetics defines fungal partner communities that may confer drought tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(42): 11169-11174.
- Giorgetti, H.; Montenegro, H.; Rodríguez, G.; Busso, C.; Montani, T.; Burgos, M.; Flemmer, A.; Toribio, M., Horvitz, S. (1997). The comparative influence of past management and rain fallon range herbaceous standing crop in east-central Argentina: 14 years of observations. *Journal of Arid Environments* 36: 623-637.
- Giovanetti M, Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- Girón, I.F., Corell, M., Galindo, A., Torrecillas, E., Morales, D., Dell'Amico, J., Moriana, A. (2015). Changes in the physiological response between leaves and fruits during a moderate water stress in table olive trees. *Agricultural Water Management*, 148: 280-286.
- González, S., Chávez, L. C. (2016). *Zea mays* L. "maíz morado" (Poaceae), un cereal utilizado como alimento en el Perú pre hispánico. *Arnaldoa*, 23(1): 295-316.
- Gopal, J., & Iwama, K. (2007). In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant cell reports*, 26, 693-700.
- Greco, S.A.; Cavagnaro, J.B. (2005). Growth characteristics associated with biomass production in three varieties of *Trichloris crinita* (Poaceae) a forage grass native to the arid regions of Argentina. *The Rangeland Journal* 27: 135-142.
- Hardegree, S.P.; Emmerich, W.E. (1992). Effect of Matric-Priming Duration and Priming Water Potential On Germination of Four Grasses. *Journal of Experimental Botany* 43(2): 233-238.

- Hajiboland, R. (2013). Role of arbuscular mycorrhiza in amelioration of salinity. In Salt stress in plants (pp. 301-354). Springer, New York, NY.
- Hussain, S.; Nisar, F.; Bhatt, A.; Nielsen, B.L.; Bilquees Gul, B.; Hameed, A. (2022). Redox priming alleviates dormancy and improves salinity tolerance of seeds and seedlings of medicinal halophyte *Zygophyllum simplex* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 30: 1-12.
- Ibrahim, E. A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192: 38-46.
- Ierna, A., Mauromicale, G. (2020). Improved seed germination and biomass yield in five Mediterranean ecotypes of *Piptatherum miliaceum*—A native grass species for bioenergy purposes. *Industrial Crops and Products*, 143: 111891.
- Jett, L. W.; Welbaum, G. E.; Morse, R. D. (1996). Effects of matrix and osmotic priming treatments on broccoli seed germination. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121(3): 423-429.
- Jiménez-Escobar, N.D. (2019). Ciclo de las plantas forrajeras: dinámicas y prácticas de una comunidad ganadera del Chaco Seco, Argentina. *Ethnobotany Research and Applications*, 18: 1-22.
- Joelson, N. Z. (2021). El rol de tres especies de hongos ectomicorrícicos en la tolerancia a la sequía de plántulas de *Pinus ponderosa*. Bachelor's thesis, Universidad Nacional del Comahue. Centro Regional Universitario Bariloche.
- Jurado, E.; Westoby, M. (1992). Germination biology of selected central Australian plants. *Australian Journal of Ecology* 17: 341-348.
- Klich, M. G. 2014. "Range Management and Cows, Consumption of *Trichloris crinita*." In *Options Méditerranéennes. Mediterranean Forage Resources*. 109: 317-20.
- Kloster, D., M. A. Ruiz, and R. D. Ernst. 2016. Germinación y crecimiento inicial de poblaciones de *Trichloris crinita* (Lag.). *Parodi* ante condiciones de estrés hídrico. *Semiárida Revista* 26:39–54.
- Kozub, P.C.; Barboza, K.; Galdeano, F.; Quarín, C.L.; Cavagnaro, J.V.; Cavagnaro, P.F. (2017). Reproductive biology of the native forage Grass *Trichloris crinita* (Poaceae, Chloridoideae). *Plant Biology* 19: 444-453
- Lehto, T., & Zwiazek, J. J. (2011). Ectomycorrhizas and water relations of trees: a review. *Mycorrhiza*, 21(2): 71-90.
- López Medina, S. E., Gil Rivero, A. E. (2017). Efecto del acondicionamiento osmótico en la germinación de semillas de *Caesalpinia spinosa* (Feuillée ex Molina) Kuntze (Fabaceae)" taya. *Arnaldoa*, 24(1): 333-342.
- Ma, Hong-Yuan; Dan-DanZhao, Dan-Dan; Ning, Qiu-Rui, Wei, Ji-Ping, Li, Yang, Wang, Ming-Ming; Liu, Xiao-Long; Jiang, Chang-Jie; Liang, Zheng-Wei. (2018). A Multi-year Beneficial Effect of Seed Priming with Gibberellic Acid-3 (GA3) on Plant Growth and Production in a Perennial Grass, *Leymus chinensis*. *Nature Scientific Reports* 8: 13214.
- Maestre, F. T., Salguero-Gómez, R., Quero, J. L. (2012). It is getting hotter in here: determining and projecting the impacts of global environmental change on drylands. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1606): 3062-3075.
- Magliano, P. N., Fernández, R. J., Giménez, R., Marchesini, V. A., Páez, R. A., Jobbágy, E. G. (2016). Cambios en la partición de flujos de agua en el Chaco Árido al reemplazar bosques por pasturas. *Ecología austral*, 26(2): 95-106.

- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergencies and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- Maiti, R.; Pramanik, K. (2013). Vegetable Seed Priming: a Low Cost, Simple and Powerful Techniques for Farmers' Livelihood. *International Journal of Bio-resource and Stress Management* 4(4): 475-481.
- Marinoni, L. del R.; Richard, G.A.; Bustos, D.; Taleisnik, E.L.; Jose F. Pensiero, J.F.; Zabala, J.M. (2020). Differential response of *Trichloris* ecotypes from different hábitats to drought and salt stress. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 32: 213-229.
- Marqués-Gálvez, J. E., Morte, A., Navarro-Ródenas, A. (2020). Spring stomatal response to vapor pressure deficit as a marker for desert truffle fruiting. *Mycorrhiza*, 30(4): 503-512.
- Martínez, L.B., Pugnaire, F.I. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas* 18(2): 44-54.
- Mata-Fernández, I., Rodríguez-Gamiño, M. L., López-Blanco, J., & Vela-Correa, G. (2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente*, 1(5): 26-35.
- Mejía-Saulrs, M. T., and P. Dfivila. (1992). Gramíneas útiles de México. Cuadernos del Instituto de Biología 16. Instituto de Biología, *Universidad Nacional Autónoma de México*.
- Mercado-Mancera, G., Troyo-Diéguez, E., Aguirre-Gómez, A., Murillo-Amador, B., Beltrán-Morales, L. F., García-Hernández, J. L. (2010). Calibración y aplicación del índice de aridez de De Martonne para el análisis del déficit hídrico como estimador de la aridez y desertificación en zonas áridas. *Universidad y ciencia*, 26(1): 51-64.
- Middleton, N., Thomas, D. (1997), *World Atlas of Desertification*, 2nd ed., Copublished in the US, Central and South America by John Wiley, Arnold.
- Millennium Ecosystem Assessment. (2005). Ecosistemas y bienestar humanos. Síntesis sobre desertificación. Evaluación de los ecosistemas del milenio. *World Resources Institute*, Washington, DC.
- Moora, M., Zobel, M. (2010). Arbuscular mycorrhizae and plant-plant interactions: impact of invisible world on visible patterns. *Positive plant interactions and community dynamics*: 79-98.
- Mora-Aguilar, R.; Rodríguez-Pérez, J.; Peña-Lomelí, A. y Campos-Ángeles, D. (2004). Acondicionamiento osmótico de semillas de papa (*Solanum tuberosum* L.) con soluciones salinas. *Revista Chapingo*. Serie Horticultura 10 (1): 15-21.
- Mora-Aguilar, R.; Ireta-Hernández, M.F.; Rodríguez-Pérez, J.E.; Martínez-Solís, J. (2006). Acondicionamiento osmótico de semillas de *Brassica oleracea* L. *Revista Chapingo* Serie Horticultura 12(1): 105-112.
- Mora, S.; Cabral, D.; Rosales, I. (2013). Establecimiento de Pasto Plumerito (*Trichloris crinita* Parodi) en el año de siembra. *Revista de la Facultad de Agronomía de la UNLPam* 22: 119-122.
- Moradi, A.; Sharif Zadeh, F.; Tavakol Afshari, R.; Maali Amiri, R. (2012). The effects of priming and drought stress treatments on some physiological characteristics of tall wheat grass (*Agropyron elangatum*) seeds. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4 (10): 596-603.
- Morales Nieto, C. R., Melgoza Castillo, A., Jurado Guerra, P., Martínez Salvador, M., Avendaño Arrazate, C. (2012). Caracterización fenotípica y molecular de poblaciones de zacate punta blanca (*Digitaria californica* (Benth.) Henr.). *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(2): 171-184.
- Moreno, B.; S. Jiménez. (2013). Efecto del acondicionamiento osmótico en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. var. *Santa Clara*). *Conexión Agropecuaria*, 3 (2): 11-17.

- Newman, B. D., Wilcox, B. P., Archer, S. R., Breshears, D. D., Dahm, C. N., Duffy, C. J., Vivoni, E. R. (2006). Eco hydrology of water- limited environments: A scientific vision. *Water resources research*, 42(6).
- Nonogaki, H., Bassel, G. W., Bewley, J. D. (2010). Germination still a mystery. *Plant Science*, 179(6): 574-581.
- Nouman, W.; Basra, S.M.A.; Siddiqui, M.T.; Khan, R.A.; Mehmood, S. (2012). Seed priming improves the growth and nutritional quality of range land grasses. *Int. J. Agric. Biol.*, 14: 751–756.
- Noy-Meir, I. (1973). Desert ecosystems: environment and producers. *Annual review of ecology and systematics*, 25-51.
- ONU. (2005). Objetivos de Desarrollo del Milenio: Una mirada desde América Latina y el Caribe. Santiago, Chile. *CEPAL*. p333.
- Orta, R.; Sánchez, J.; Muñoz, B.; Calvo, E. (1998). Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana* 121: 1-8.
- Otárola, J. C. V., Arias, D. (2020). Efectos del estrés hídrico en crecimiento y desarrollo fisiológico de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. *Colombia forestal*, 23(1): 20-34.
- Otero Ospina, J. T., Bayman, P. (2009). Germinación simbiótica y asimbiótica en semillas de orquídeas epífitas. *Acta Agronómica*, 58(4): 270-276.
- Paparella, S., Araújo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A. (2015). Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant cell reports*, 34(8): 1281-1293.
- Parera, C.A.; Cantliffe, D.J. (1994). Presowing seed priming. *Horticultural Reviews* 16, 109-141.
- Pascual, J.A., García, C., Hernández, T., Moreno, J.L., Ros, M. (2000). Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(13): 1877-1883.
- Passera, C.B.; Borsetto, O.; Candia, R.; Stasi, C. (1992). Shrub control and seeding influences on grazing capacity in Argentina. *Journal of Range Management* 45:480-482.
- Pensiero, J. F (1986). Revisión de las especies argentinas del género *Pappophorum* (Gramineae-Eragrostoideae-Pappophoreae). *Darwiniana*, 65-87.
- Pensiero, J. F., Zabala, J. M. (2017). Recursos Fitogenéticos Forrajeros Nativos y Naturalizados para los Bajos Submeridionales: prospección y priorización de especies para planes de introducción a cultivo. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 16(1): 67-98.
- Peterson, R.L., Massicotte H.B., Melville, L.H., Phillips, F. (2006). Mycorrhiza: anatomy and cell biology (electronic resource). *NRC Research Press*.
- Pérez, A., Rojas, J., Montes, D. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECI*, 3(2): 366-385.
- Pill, W. G., Frett, J. J., Morneau, D. C. (1991). Germination and seedling emergence of primed tomato and asparagus seeds under adverse conditions. *HortScience*, 26(9): 1160-1162.
- Pill, W.G.; Korengel, T.K. (1997). Seed Priming Advances the Germination of Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.). *Journal of Turfgrass Management* 2(1): 27-43.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2005). Communicating Sustainability: how to produce effective public campaigns.

- Pugnaire, F.I., Haase, P., Puigdefábregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* 17:1420-1426.
- Qadir, I.; Khan, Z.H.; Khan, R.A.; Afzal, I. (2001). Evaluating the potential of seed priming techniques in improving germination and early seedling growth of various rangeland and grasses. *Pak. J. Bot.*, 43(6): 2797-2800.
- Quarín, C. L. (1982). Recuentos cromosómicos en gramíneas de Argentina subtropical. *Hickenia*, 1: 13-73.
- Querejeta JI, Estrada-Medina H, Allen MF, Jimenez-Osornio JJ. (2007). Water source partitioning among trees growing on shallow karst soils in a seasonally dry tropical climate. *Oecologia* 152: 26–36.
- Quiroga, A., Correa, R. J. (2011). Gramíneas forrajeras presentes en el Chaco Árido de Catamarca. *Revista de Divulgación Técnica Agrícola y Agroindustrial* (16): 1-12.
- Quiroga, E., Blanco, L., Oriente, E. (2009). Evaluación de estrategias de rehabilitación de pastizales áridos. *Ecología austral*, 19(2): 107-117.
- Ramírez Gómez, M. M. (2014). Evaluación de la diversidad de Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares (HFMA) y su relación con el establecimiento de simbiosis con *Physalis peruviana* L. *Instituto de Biotecnología (IBUN)*.
- Ramírez Lozano, R. G., Enríquez Martell, A., Lozano González, F. (2001). Valor nutricional y degradabilidad ruminal del zacate buffel y nueve zacates nativos del NE de México. *Ciencia UANL*, 4(3).
- Ramírez-Suárez, W.M.; Hernández-Olivera, L.A. (2016). Tolerancia a la salinidad de especies cespitosas. Artículo de revisión. *Pastos y forrajes* 39(4): 235-245.
- Randazzo, C.P.; Ferri, A.M.; Carabajal Paladino, L.; Andres, A.N.; Ingala, L.R. (2019). Cross-species transfer of SSR markers in *Setaria phacelata* and *Trichloris crinita* sp. *Agronomía Colombiana* 37(2): 112-119.
- Reeves, F. B., Wagner, D., Moorman, T., Kiel, J. (1979). The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments. *American Journal of Botany*, 66(1): 6-13.
- Recio, L. P., Lima, F. C., Duran, A. O. (2011). Uso y manejo de forrajes nativos en la sabana inundable de la Orinoquia. *Unillanos. Bogotá*.
- Rojo Hernández, C. (2005). Acondicionamiento osmótico de simientes de girasol (*Helianthus annuus* L.) para el avance de la germinación en siembras precoces para zonas áridas. Doctoral dissertation, *Agrónomos*.
- Romero, H., Smith, P., Mendonça, M., Méndez, M. (2013). Macro y mesoclimas del altiplano andino y desierto de Atacama: desafíos y estrategias de adaptación social ante su variabilidad. *Revista de Geografía Norte Grande* 55: 19-41.
- Roussos, P. A., Denaxa, N. K., Damvakaris, T., Stournaras, V., Argyrokastritis, I. (2010). Effect of alleviating products with different modes of action on physiology and yield of olive under drought. *Scientia horticulturae*, 125(4): 700-711.
- Rosabal Ayan, L., Martínez González, L., Reyes Guerrero, Y., Dell'Amico Rodríguez, J., Núñez Vázquez, M. (2014). Aspectos fisiológicos, bioquímicos y expresión de genes en condiciones de déficit hídrico. Influencia en el proceso de germinación. *Cultivos Tropicales*, 35(3): 24-35.
- Rúgolo de Agrasar, Z.E. (2009). 7. GRAMINEAE, Gramíneas. *Poaceae* (nombres alternativos). En *Flora de San Juan. Volumen IV: Monocotiledóneas*. Director: Roberto Kiesling. Editorial Fundación Universidad Nacional de San Juan.

- Ruiz Sánchez, M., Polón Pérez, R., Vázquez Del Llano, B., Muñoz Hernández, Y., Cuéllar Olivero, N., Ruiz-Lozano, J. M. (2012). La simbiosis micorrízica arbuscular en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estrés hídrico: Parte I. Mejora la respuesta fisiológica. *Cultivos tropicales*, 33(4): 47-52.
- Sagadin, M. B. (2019). Identificación y caracterización de los hongos micorrícicos arbusculares autóctonos en simbiosis con *Prosopis alba* y los mecanismos fisiológicos/bioquímicos relacionados con la tolerancia a sequía (*Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba*).
- Salisbury, F. B., Ross, C. W. (1994). Fisiología Vegetal [Plant Physiology]. Mexico: Grupo editorial Iberoamericana.
- Santander, C., Olave, J., García, S., Vidal, C., Aguilera, P., Borie, F., Cornejo, P. (2014). Micorrizas arbusculares y su efecto nodriza en condiciones hídricas limitantes. *Exp. Rev. Transf. Cient*, 4: 59-61.
- Schlesinger, W. H., Jasechko, S. (2014). Transpiration in the global water cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*, 189: 115-117.
- Schwinning, S.; Sala, O.E. Loik, M. E. & Ehleringer, J. R. (2004). Thresholds, memory, and seasonality: understanding pulse dynamics in arid/semi-arid ecosystems. *Oecologia*, 141(2): 191-193.
- Shmueli, M., Goldberg, D. (1971) Sprinkle furrow and trickle irrigation of musk melon in an arid zone. *Hortic. Sci.* 6: 557-559.
- Schubert, R., Werner, S., Cirka, H., Rödel, P., Tandron Moya, Y., Mock, H. P., Hause, B. (2020). Effects of Arbuscular Mycorrhization On Fruit Quality in Industrialized Tomato Production. *International journal of molecular sciences*, 21(19): 7029.
- Seguel Fuentealba, A. (2014). El potencial de las micorrizas arbusculares en la agricultura desarrollada en zonas áridas y semiáridas. *Idesia (Arica)*, 32(1): 3-8.
- Sieverding, E. (1983). Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo arbuscular en el laboratorio. *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Proyecto micorriza*. 356 p.
- Silvetti, F. (2020). Representaciones campesinas sobre los servicios forrajeros del Chaco Seco en Córdoba, Argentina. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 19(1): 81-95.
- Snow, N.; Peterson, P.M. (2012). Nomenclatural notes on *Dinebra*, *Diplachne*, *Disakisperma*, and *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae). *Phytoneuron* 71: 1-2.
- Suárez, D., Melgarejo, L. M. (2010). Biología y germinación de semillas. *Experimentos en fisiología vegetal*, 13-25.
- Tamborelli, M. R. y Fiant, S. E. (2020). Efecto de tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la viabilidad y germinación de semillas de *Setaria phacelata*. *AGRISCIENTIA* 37 (2): 35-43.
- Taylor, A. G.; Prusinski, J.; Hill, H. J.; Dickson, M. D. (1992). Influence of seed hydration on seedling performance. *Hort Technology* 2: 336-344.
- Tavili, A.; Zare, S.; Moosavi, S.A.; and Enayati, A. (2011). Effects of seed priming on germination characteristics of *Bromus* Species under salt and drought conditions. *American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Science* 10(2): 163-168.
- Tong, X., Mu, Y., Zhang, J., Meng, P. & Li, J. (2019). Water stress controls on carbon flux and water use efficiency in a warm-temperate mixed plantation. *Journal of Hydrology*, 571(1): 669-678.

- Toro, M., Bazó, I., López, M. (2008). Micorrizas arbusculares y bacterias promotoras de crecimiento vegetal, biofertilizantes nativos de sistemas agrícolas bajo manejo conservacionista. *Agronomía Tropical*, 58(3): 215-221.
- Torres, Y. A., Busso, C., Montenegro, O., Ithurrart, L., Giorgetti, H., Rodríguez, G., Tucut, G. (2011). Defoliation effects on the arbuscular mycorrhizas of ten perennial Grass genotypes in arid Patagonia, Argentina. *Applied Soil Ecology*, 49: 208-214.
- Trent, J.D., Svejcar, A. J., Bethlenfalvay, G.J (1993). Growth and nutrition of combinations of native and introduced plants and mycorrhizal fungi in a semiarid range. *Agriculture, ecosystems & environment*.45(1-2): 13-23.
- Uliarte, E. M., Del Monte, R. F., Parera, C. A., Catania, C. D., Avagnina de del Monte, M. S. (2009). Influencia del manejo de suelo mediante coberturas vegetales establecidas en el desarrollo vegetativo, la producción y las características de vinos en viñedos bajo riego superficial (cv. Malbec). *Bulletin de l'OIV*, 82(938-40): 205-227.
- Vacacela Quizhpe, V. M. (2012). Micorrizas, Agronomía. *Universidad de Pinar del Río "Hnos Saiz Montes de Oca", Ecuador*.
- Varela, S. A., Arana, M. V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *EEA Bariloche, INTA*.
- Varga, S. (2015). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and maternal plant sex on seed germination and early plant establishment. *American journal of botany*, 102(3): 358-366.
- Varone, L., Ribas-Carbo, M., Cardona, C., Gallé, A., Medrano, H., Gratani, J. y Flexas, J. (2012). Stomatal and non stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany*. 75: 235-247.
- Vega, A. S., Rua, G. H., Fabbri, L. T., Rúgolo de Agrasar, Z. E. (2009). A morphology-based cladistic analysis of *Digitaria* (*Poaceae*, *Panicoideae*, *Paniceae*). *Systematic Botany*, 34(2): 312-323.
- Velásquez Pomar, D. C., Sánchez de Prager, M. (2011). Efecto de vinazas sobre hongos que forman micorriza arbuscular en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(1): 5755-5767.
- Villagra, P. E., Giordano, C., Alvarez, J. A., Bruno Cavagnaro, J., Guevara, A., Sartor, C., Greco, S. (2011). Ser planta en el desierto: estrategias de uso de agua y resistencia al estrés hídrico en el Monte Central de Argentina. *Ecología austral*, 21(1): 29-42.
- Villagra, P. E., Passera, C. B., Greco, S., Sartor, C., Aranibar, J. N., Meglioli, P. A. Riveros, C. V. (2017). Uso de plantas nativas en la restauración y recuperación productiva de ambientes salinos de las zonas áridas de la región del Monte, Argentina. *Ambientes salinos y alcalinos de la Argentina. Universidad Católica de Córdoba-Orientación Gráfica Editora, Córdoba, Argentina*: 419-444.
- Zabala, J.M.; Widerhonor, O.; Pensiero, J.F. (2011). Germination patterns of species of the genus *Trichloris* in arid and semiarid environments. *Seed Science & Technology* 39: 338-353.