



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA ARGENTINA

Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

“Efecto de la Deficiencia de Azufre Durante el Desarrollo de los Granos de Cebada sobre la Germinación y Crecimiento de Plantulas”

Trabajo final de graduación para optar por el título de:

Ingeniera agrónoma

María Florencia Rey Urreta

Directora:

Dra. Irma N. Roberts

Co-directora:

Ing. Agr. M. Florencia Galotta

ABREVIATURAS

DDI: días después de imbibición

LC: longitud de coleoptile

LR: longitud total de raicillas

N: nitrógeno

S: azufre

INDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCION	7
Historia y comercialización de cebada.....	7
Producción de cebada en Argentina.....	8
Calidad comercial del grano de cebada para malta	10
INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y AZUFRADA EN LOS PARAMETROS DE COMERCIALIZACIÓN	10
Fertilización nitrogenada.....	10
Fertilización azufrada.....	12
Geminación y dormición.....	13
Justificación	13
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos	13
Hipótesis.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Procedencia de los granos de cebada utilizados en este trabajo	14
Viabilidad de los granos	15
Evaluación del poder germinativo y parámetros de crecimiento.....	15
Análisis estadístico.....	16
RESULTADOS	16
Efecto de la deficiencia de S sobre el poder germinativo y la viabilidad de los granos.	16
Efecto de la deficiencia de S sobre el crecimiento de las plántulas.....	19
Dormición física en granos provenientes de plantas de cebada cultivadas en condiciones de deficiencia de S.....	¡Error! Marcador no definido.
Efecto de la remoción de glumelas sobre el crecimiento de las plántulas	26
DISCUSION Y CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	35
APÉNDICE	39

RESUMEN

El malteado es la germinación controlada de los granos de cebada en condiciones específicas de humedad y temperatura. Durante el malteado, todos los granos deben germinar para garantizar una malta de buena calidad. Se ha visto que la deficiencia de azufre (S) puede afectar negativamente la calidad maltera. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la deficiencia azufrada durante el crecimiento del cultivo de cebada sobre el poder germinativo de los granos y el crecimiento de plántulas en la siguiente generación. Los granos con los que se trabajó fueron el resultado de ensayos a campo realizados durante 2017 en 3 sitios ubicados en dos localidades de la provincia de Buenos Aires (2 sitios en 25 de Mayo y 1 sitio en Junín) en los cuales se sembró cebada cervecera cultivar Andreia. Los tratamientos de fertilización aplicados fueron: **CONTROL** (fertilización aplicada por el productor), **N250** (250 kg de nitrógeno por ha), **S20** (20 kg de S por ha), y el tratamiento combinado **N250+S20**. Se realizaron ensayos de germinación y medición de longitud de raicillas y coleoptile cada 24 h durante 5 días después de imbibición. En los tres sitios evaluados, la germinación de los granos, etapa determinante en el proceso de elaboración de malta, se redujo producto del tratamiento **N250** obteniéndose valores del 10% de germinación en promedio. El análisis del contenido de nutrientes en grano mostró que por efecto del tratamiento N250 la relación N:S de los granos fue mayor a 20, lo que sumado a la caída del rendimiento sería indicativo de una condición de deficiencia de azufre durante el crecimiento del cultivo. La pérdida de poder germinativo no se debió a una menor viabilidad de los embriones según pudo determinarse mediante el test de tetrazolio. La remoción de las glumelas arrojó una recuperación de la germinación de los granos del tratamiento **N250**, aunque sin alcanzar los valores del tratamiento **Control**. Estos resultados sugieren que, si bien los embriones de los granos deficientes se mantienen viables, habría una incapacidad de germinar impuesta por las glumelas y/o una pérdida de vigor. En todos los sitios y para los 4 tratamientos se observó una anticipación en el crecimiento de la plántula al retirar las glumelas. La velocidad de crecimiento de raíces y coleoptile también disminuyó en granos del tratamiento **N250** en comparación al **Control**, y pudo recuperarse mediante la remoción de las glumelas, indicando que la fracción de granos **N250** que logran germinar pueden desarrollar plántulas casi en forma similar a los granos **Control**. En conclusión, la deficiencia de S provocó una caída significativa del poder germinativo y crecimiento de las plántulas que pudieron recuperarse solo en una fracción de los granos deficientes mediante la remoción de las glumelas. La pérdida de poder germinativo podría deberse a un efecto de dormición impuesta por glumelas y/o a una reducción del vigor del embrión.

AGRADECIMIENTOS

A mis tutoras Irma Roberts y Florencia Galotta por mostrarme lo apasionante que resulta la investigación.

A mi familia; Analia, Carlos, Jorge y Rene por acompañarme, alentarme y compartir conmigo.

A los amigos que la distancia supo mantener.

A mis amigos y amigas que la facultad me regalo, por el tiempo compartido.

A la Universidad Católica Argentina por haber sido hogar tantos años y permitirme conocer personas únicas.

A mi país, Argentina, por las oportunidades que me brindo y tiene para brindarme.

INTRODUCCION

Historia y comercialización de cebada

Según la evidencia arqueológica hallada, la domesticación de la cebada se dio en la región del sudoeste asiático (comprendida entre el valle de los ríos Tigris, Euphrates y Jordan, denominada como "fertile crescent") hace 10.000 años atrás. La cebada junto con el trigo son considerados los cereales fundadores del inicio de la producción de alimentos (Brown et al., 2008).

La cebada pertenece a la familia de las poáceas, es una planta monoica, autógama. Entre las especies utilizadas para la producción se destacan *Hordeum vulgare* L. var. *distichum* denominada "cebada cervecera" con destino industrial y *Hordeum vulgare* L. var. *vulgare* denominada "cebada forrajera", utilizada en la alimentación animal.

Históricamente, la cebada consistió en una fuente de alimento en la dieta humana, pero fue remplazada por trigo y arroz. Actualmente el 55-60% de la producción es destinado a la alimentación animal, el 30-40% para la producción de malta y solamente un 2-3% para la alimentación humana (Ullrich, 2011).

Al presente, es el cuarto cereal de mayor importancia a nivel mundial con respecto a volumen de producción luego del maíz, arroz y trigo. La producción mundial para el año 2020 fue de 157 millones de toneladas (FAOSTAT 2022).

La cebada se cultiva en un amplio rango de condiciones edafo-climáticas. Se la puede hallar desde los 330 hasta 4200 metros sobre el nivel del mar (Taner, Muzaffer y Fazil 2004).

A nivel mundial, el área cosechada con cebada fue disminuyendo (Fig. 1). En la década de los 80 este cultivo abarcaba una superficie de 80 millones de hectáreas y al año 2020 la superficie global se encontró cercana a los 51,6 millones de hectáreas. En 40 años la superficie se redujo un 37,5%, por otra parte la producción mundial no disminuyó en la misma magnitud (Fig. 1), producto del aumento en la productividad por hectárea, explicado por el mejoramiento genético, control de enfermedades y tecnologías aplicadas (FAOSTAT, 2020) (Daverede, Míguez y Scanlan 2016; Lazzari et al. 2001).

Evolución de la producción mundial de cebada (1980-2020)

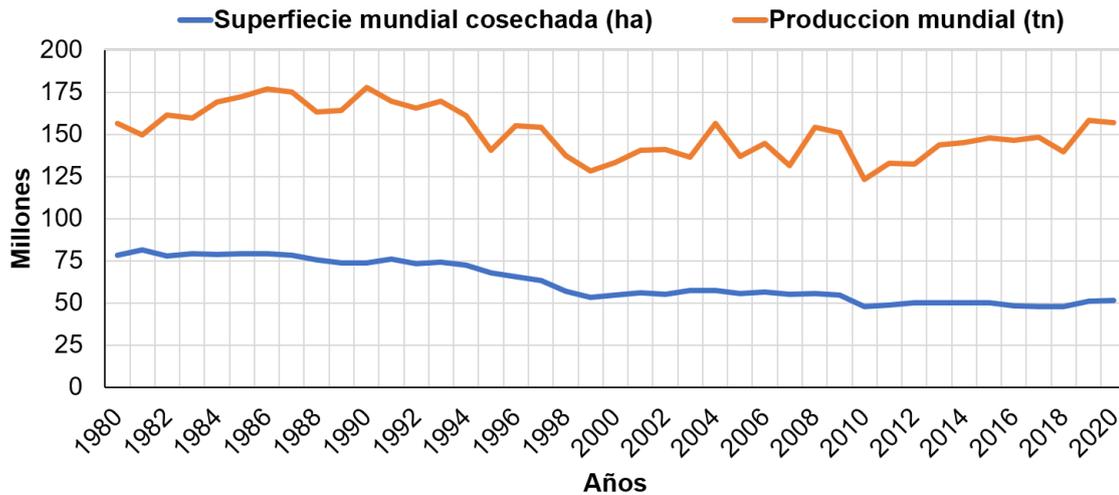


Figura 1: Evolución de la producción mundial de cebada (1980-2020). Gráfico propio en base a datos de Faostat 2022.

La producción mundial de cebada se concentra principalmente en Europa que en el año 2020 produjo casi el 46% de la cebada, siendo los países más importantes Francia, Alemania, y España. Asia concentra el 25% de la producción seguido por América con el 11%, Oceanía con el 10% y África con el 8%.

Si hablamos de países, Rusia se destaca como el mayor productor. En el 2020 la superficie cosechada fue de 8.267.448 hectáreas con un rendimiento promedio de 2.532 kg/ha, mientras que los países europeos que le siguen en importancia España, Alemania y Francia, se caracterizan por una alta productividad llegando a superar las 6 toneladas por hectárea de rendimiento. Por su parte, Australia, que es gran productor y abastecedor del mercado asiático, ocupó el sexto lugar.

En lo relativo a América, encontramos a Canadá como mayor productor con 10,7 millones de toneladas en el 2020 seguido por Argentina con una producción superior a los 5 millones de toneladas. Estados Unidos, un gran productor de granos, redujo la superficie de cebada en beneficio de otros cultivos.

El comercio mundial de cebada es cercano a las 27 millones de toneladas y los principales países importadores son China, con un fuerte crecimiento a partir del año 2016, Arabia Saudita, Irán y Japón (Cattaneo, 2020). Entre los exportadores, la Unión Europea ocupa el primer lugar seguido por Australia, Rusia y Ucrania. Argentina presenta un papel relevante, es el quinto exportador mundial de cebada aportando, según el promedio de los últimos 5 años, 2,6 millones de toneladas (Bolsa de cereales de Rosario, 2020).

Producción de cebada en Argentina

La cebada es el segundo cultivo invernal de importancia en la Argentina. En el año 2020 la cebada ocupó una superficie de 1.256.360 hectáreas con una producción de 5,11 millones de toneladas, significando un aumento en el área de producción del 40% comparado con el año 2009. Sin embargo, el área se encontró por debajo de la superficie máxima de 1.694.545 hectáreas registradas en el año 2012 con una producción de 5,12 millones de toneladas (Fig. 2).

Evolución del área cosechada y producción de cebada Argentina (2010-2020)

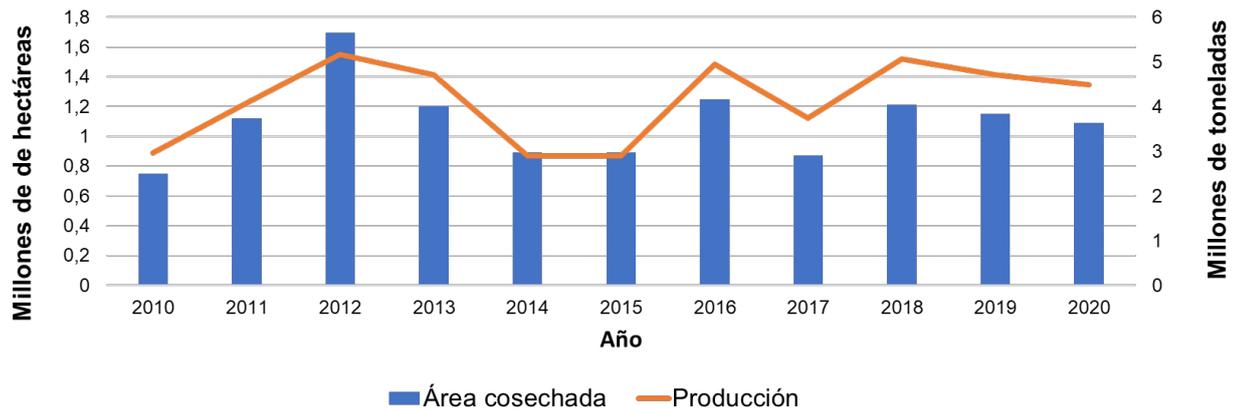


Figura 2: Evolución del área cosechada y la producción de cebada en Argentina (2010-2020). Gráfico propio en base a datos de Faostat 2022.

En nuestro país, el boom de este cultivo estuvo estimulado en primer lugar por la demanda de cebada cervecera para la producción de malta (De Bernardi, 2015) y en segundo lugar por los beneficios que otorga el cultivo al presentar un ciclo más corto y ser mejor antecesor para el cultivo de soja o maíz de segunda, lo que favorece la sustentabilidad en las rotaciones agrícolas (Prystupa y Ferraris, 2011).

El área de producción de cebada se puede dividir en 3 regiones, el sudeste de la provincia de Buenos Aires que representa la mayor superficie de este cultivo (50%), el sudoeste de Buenos Aires y este de La Pampa (25%), el centro-norte de Buenos Aires y sur de Santa Fe con 20% del área y el 5 % restante correspondiente a zonas marginales (Cattaneo, 2020).

La provincia de Buenos Aires es la principal proveedora de cebada cervecera con un aporte porcentual del 85% en las últimas campañas (ABECEB y FIEL, 2020). Además, en el sudoeste de esta provincia se encuentran la mayoría de las malterías en Argentina con una capacidad de producción de 550.000 toneladas de malta.

Los informes de la Bolsa de cereales de Rosario (2020) arrojaron un consumo interno promedio de los últimos 5 años de 1,1 millones de toneladas, de las cuales el 80% se destina para malteado y balanceados, y menos del 0,1% para consumo animal, contrariamente a lo que sucede en el resto del mundo.

Calidad comercial del grano de cebada para malta

La producción de cebada cervecera en la Argentina en la mayoría de los casos se realiza por contratos previo a la siembra, permitiendo una integración vertical productor-acopio-maltería-exportador (Cattaneo, 2011). En los contratos se pacta la variedad a sembrar y la cantidad de hectáreas para así de este modo las malterías obtener la cebada necesaria en cantidad y calidad.

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) a través de la resolución conjunta número 67/2002 y 345/20002 definió a la cebada malteada o malta como: “el grano de cebada cervecera sometido a germinación parcial y posterior deshidratación y/o tostado en condiciones tecnológicas adecuadas”. Por consiguiente, la producción de malta es un proceso biológico en el cual la calidad del grano tiene un factor fundamental para obtener un adecuado producto que pueda ser utilizado por la industria para la elaboración de cerveza (Savin y Aguinga, 2011).

Para la obtención de malta, el grano debe ser sometido a diferentes procesos, los cuales se denominan remojo, germinación y secado.

El remojo busca aumentar la humedad de los granos, dado que estos son almacenados con 12% de humedad. Los granos de cebada son colocados en grandes cubas donde se adiciona agua llevando la humedad a 40-42%, desencadenando la germinación, segunda etapa de este proceso, en la cual se producen las enzimas necesarias que modificarán el endosperma.

En la tercera etapa denominada secado, se aplica una corriente de aire caliente para disminuir la humedad del grano. El producto de este proceso se denomina malta, que será utilizado para la producción de cerveza.

Las normas de calidad para la comercialización de cebada están estandarizadas a través de la resolución 27/2013 de Senasa, la cual fue modificada en el año 2013 para poder cumplir con los requisitos del mercado nacional e internacional, permitiendo una mayor competitividad al productor argentino (CACBB, 2013).

Las actuales bases de comercialización establecen que la capacidad germinativa debe ser como mínimo del 98%. Los granos que no germinan se los denominan granos crudos y no producirán enzimas para la transformación de los gránulos de almidón (Arias, 1991). El segundo parámetro importante es el calibre de los granos, el 85% de los cuales debe presentar un calibre mayor a 2,5 mm. Los granos de menor tamaño presentan menor cantidad de carbohidratos y por lo tanto menor calidad maltera (Fox, 2010). El tercer parámetro de importancia es el contenido proteico, el cual debe ser como mínimo de 9,5% y como máximo de 13%. Además, se establece un máximo de 0,5% de materias extrañas, y un máximo de 0,5% de granos quebrados.

Todos estos parámetros pueden ser alterados por las condiciones ambientales que enfrenta el cultivo, siendo los más importantes la disponibilidad de nitrógeno, disponibilidad hídrica y las altas temperaturas (Savin y Aguinga, 2011).

INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y AZUFRADE EN LOS PARAMETROS DE COMERCIALIZACIÓN

Fertilización nitrogenada

El nitrógeno es considerado el nutriente más limitante en la producción de granos en la región pampeana, presentando un papel central en la nutrición de cultivos debido a que es el componente de las proteínas, ácidos nucleicos (ADN, ARN) y molécula de clorofila. Una adecuada nutrición nitrogenada producirá mayor intercepción de la

energía solar que se traducirá en mayor biomasa aérea (Echeverría y Rozas, 2015). La biomasa aérea acumulada es particionada a grano, generalmente entre el 30-50%, denominado índice de cosecha (Miralles et al., 2011a).

El nitrógeno (N) se encuentra disponible para las plantas en forma inorgánica como aniones amonio y nitrato que representa menos del 10% del N total del suelo, gracias al proceso de mineralización de la materia orgánica y fertilizantes inorgánicos/orgánicos. La fracción orgánica del nitrógeno representa 85-95% del N total del suelo (Palma y Segat, 2011).

La utilización de fertilizantes nitrogenados persigue el objetivo de aumentar el rendimiento esperado. El rendimiento puede ser expresado como el número de granos m^{-2} por el peso de estos. El número de granos por superficie es el componente que mejor explica la variabilidad del rendimiento en cebada (Prystupa et al., 2004) y otros cultivos (Safler et al., 2010).

En general el efecto de la fertilización nitrogenada depende del contenido de N en el suelo, los requerimientos del cultivo y las condiciones ambientales. En suelos con bajo nivel de N, pequeñas dosis producirán aumentos importantes en el rendimiento pero al ir aumentando la dosis la respuesta, traducida como kg de grano kg^{-1} de nutriente, disminuye (Prystupa, 2012). Se observó que el contenido hídrico del suelo a la siembra de cebada afecta la respuesta de la fertilización nitrogenada, amplificando el rendimiento a dosis crecientes de humedad y N (Abeledo y Miralles, 2012).

Fue observado en Uruguay por Baethgen et al., (1995) que la fertilización nitrogenada en cebada aumenta el número de granos por superficie al igual que Ross et al., (2011) y Orcellet et al., (2015) en el sudeste bonaerense. El aumento del número de granos por superficie se explica por un aumento en el número de espiguillas fértiles por espiga y/o por un aumento de espigas provenientes de macollos (Miralles, Arisnabarreta y Alzuega 2011b).

La fertilización nitrogenada tiene un efecto en el contenido de N del grano produciendo un aumento de proteína (Daverede et al., 2016; Lazzari et al., 2001). Lo mismo fue observado por Prystupa et al., (2008) quienes advirtieron que bajo fertilización nitrogenada, las plantas de cebada cultivadas en sitios de bajo potencial de rendimiento presentaban granos con alto contenido proteico y viceversa. Los autores elaboraron un índice que relaciona el N disponible (suelo + fertilizante) y el rendimiento. Dicho índice presentó una asociación significativa con el contenido de proteína, por lo cual el cociente N disponible y rendimiento afecta el contenido proteico del grano.

Este índice permite determinar cuánto N disponible es necesario por tonelada de grano, con un nivel de proteína entre 10-12%. Los valores de N disponible requerido se ubicaron entre 22,1 y 44 $Kg N Tn^{-1}$ grano para suelos del área de difusión de cebada en la provincia de Buenos Aires durante las campañas 2005 y 2006.

El contenido proteico del grano es muy importante por su influencia en el producto final. Niveles bajos de proteína producen cervezas con poca espuma y de corta duración, esta es producida por el ascenso de CO_2 que arrastra polipéptidos de medio y alto peso molecular (Savin y Aguinga, 2011; Steiner et al., 2011). Por el contrario, niveles elevados de proteína disminuyen el extracto de malta (Baxter, 1981) y la estabilidad coloidal (Kunce, 2006).

Las fertilizaciones nitrogenadas deben ser realizadas para mantener un balance entre los objetivos de rendimiento y calidad que permitan al productor una adecuada comercialización.

Fertilización azufrada

Luego del N y fosforo (P), el azufre (S) es el tercer nutriente limitante en la producción de granos en la región pampeana (Garcia y Darwich, 2009) siendo el componente de aminoácidos (cisteína y metionina) y biomoléculas como el glutatión, coenzimas y vitaminas (Maldonado, 2013).

En el suelo se encuentra en forma orgánica e inorgánica. Los suelos de pradera presentan más del 95% del S en forma orgánica y los suelos cultivados presentan el 50% del S en esta forma. La relación N:S en el suelo es muy importante ya que el reservorio de ambos nutrientes se encuentra en mayor proporción en la materia orgánica.

La absorción de este nutriente es realizada de forma activa por las raíces de las plantas en forma de sulfato (SO_4^{2-}) y siendo transportado con gasto de energía hasta los plástidos donde es reducido a sulfuro (S^{-2}), este se conjuga con serina (O-acetil-L-serina) obteniéndose la primera forma orgánica del azufre denominado cisteína que luego es convertido en metionina y glutatión. Los compuestos secundarios derivados del azufre tienen un papel importante en la defensa de la planta ante patógenos (Hell et al., 2010).

En menor medida puede ser absorbido por vía estomática como dióxido de azufre (SO_2), gas que se encuentra en la atmósfera en concentraciones de 0,1 mg a 0,2 mg m^{-3} (Maddoni et al., 2011; Mengel, 2000).

La fertilización con S en la región pampeana fue adquiriendo mayor importancia en los últimos años gracias a las investigaciones realizadas, en las cuales se observó respuesta (aumento del rendimiento) a la fertilización con este nutriente en cultivos de maíz (Pagani et al., 2009; Prystupa, Savin, et al., 2004), soja (Gutierrez Boem et al., 2007; Salvagiotti et al., 2012) y trigo (Reussi Calvo et al., 2006).

En una revisión bibliográfica se resaltó la importancia de la fertilización azufrada en trigo para la obtención de productos con una adecuada calidad panadera y nutricional (Wang et al. 2007).

Álvarez y Steinbach (2013) al realizar un meta-análisis de la información disponible sobre fertilización azufrada sobre trigo, maíz y soja en la región pampeana encontraron una respuesta generalizada a la fertilización con este nutriente, presentando requerimientos de azufre de 5, 4 y 4,5 kg de S por tonelada de grano respectivamente, mientras que los requerimientos registrados para cebada se ubican en 4 kg de S/tn de grano (Garcia y Correndo, 2016).

En la región pampeana estudios realizados por Michiels y Degenhart, (2004) encontraron respuesta a la fertilización azufrada como aumento del rendimiento sobre la variedad Scarlet de cebada en la zona de Bragado. Lo mismo se observó en dos sitios correspondiente al partido de General Arenales en el marco de una red de ensayos de 19 experimentos realizados en la zona de producción de cebada en la provincia de Buenos Aires. En estos ensayos, el porcentaje de proteína en grano tendió a disminuir un 0,27% por el agregado de S (Prystupa et al., 2008). En el Reino Unido, se observó el efecto de la fertilización azufrada en cebada como aumento del rendimiento en 5 de 8 experimentos llevados a cabo entre los años 2003 y 2004 (Zhao et al., 2006).

El efecto de la fertilización azufrada también afecta la composición de las proteínas del grano de cebada. Las hordeínas son el mayor depósito proteico en el grano y se las puede clasificar como B, C, D y gamma (γ). Ya en 1983, Shewry et al., reportaron que plantas de cebada cultivadas bajo deficiencia de S, presentaron granos con mayor proporción de la fracción C, la cual constituye la fracción pobre en contenido de S.

Por su parte, Prystupa et al. (2019) observaron un aumento de las hordeínas B por efecto de la fertilización azufrada en 3 sitios correspondiente a la localidad de Junín, aunque tal observación no se mantuvo en los otros sitios evaluados en la localidad de Baigorrita.

Germinación y dormición

Para que la germinación ocurra es imprescindible que la semilla entre en contacto con agua, oxígeno y exista una temperatura adecuada. Se considera que la semilla ha germinado cuando la radícula emerge de los tegumentos (Soriano, 1982).

Algunas semillas ante condiciones favorables no germinan pudiendo estar bajo efectos de dormición, esta es una incapacidad interna de la semilla para germinar en condiciones ambientales favorables. Superada la dormición, las semillas pueden germinar (Benech-Arnold et al., 2000).

La dormición es común en especies silvestres, utilizada como estrategia adaptativa permitiendo que la germinación se distribuya en el tiempo y espacio (Benech-Arnold et al., 2000; Hilhorst, 2003).

La dormición de los granos es gobernada por una amplia variedad de fenómenos presentado un control genético y ambiental. Las fitohormonas son las reguladoras de muchos procesos fisiológicos que ocurren en las plantas, al momento de la germinación un balance alto de ácido absísico/giberilinas inhibe la germinación.

Para maltear, la cebada cervecera debe presentar una rápida, homogénea y completa germinación (Ullrich et al., 2009). Problemas en la germinación producen grandes inconvenientes en la industria.

Justificación

A la fecha, no existen estudios que investiguen el efecto de la deficiencia de S en plantas de cebada sobre el proceso de germinación de los granos formados bajo tales condiciones y su implicancia en la calidad de la malta producida. Resultados preliminares de nuestro grupo muestran que los granos de cebada provenientes de plantas cultivadas en condiciones de deficiencia de S ven afectada su capacidad de germinar y desarrollar plántulas normalmente. Sin embargo, tal disminución del poder germinativo no estaría mediada por una pérdida de viabilidad según se pudo determinar por el test de tetrazolio.

Por otro lado, un mayor conocimiento de los efectos de la fertilización y la deficiencia de determinados nutrientes sobre la calidad de los granos de cebada permitiría realizar un manejo adecuado de los recursos con el fin de asegurar los niveles de calidad requeridos por la industria.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Determinar la relación entre la deficiencia de S experimentada por un cultivo de cebada durante su crecimiento sobre la germinación y crecimiento de plántulas en la siguiente generación.

Objetivos específicos

1. Determinar cómo se afecta el poder germinativo de los granos de cebada provenientes

de plantas cultivadas en condiciones de deficiencia de S.

2. Determinar cómo se afecta el crecimiento de las plántulas de cebada post-germinación de los granos provenientes de plantas cultivadas en condiciones de deficiencia de S.
3. Determinar el efecto de remoción de glumelas sobre la germinación de los granos provenientes de plantas de cebada cultivadas en condiciones de deficiencia de S.

Hipótesis

La hipótesis asociada a los objetivos establece que una baja disponibilidad de S durante el crecimiento del cultivo afectará negativamente el desarrollo de los granos de manera que aquellos granos provenientes de plantas deficientes de S evidenciarán una disminución del poder germinativo, así como también una menor velocidad de crecimiento de raíces y coleoptiles, con respecto a los granos provenientes de plantas que no sufrieron deficiencia de dicho nutriente. La pérdida de poder germinativo en los granos provenientes de plantas deficientes de S no estará relacionada con una pérdida de viabilidad, sino que estará asociada a un efecto de dormición impuesta por glumelas ausente en los granos de plantas no deficientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedencia de los granos de cebada utilizados en este trabajo

En el marco de una red de ensayos realizados en el año 2017 por investigadores de la Cátedra de Fertilidad y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, se evaluaron diferentes tratamientos de fertilización en cultivos comerciales de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L., cultivar Andreia) ubicados al norte de la provincia de Buenos Aires.

Los tratamientos aplicados fueron:

1. **Control:** sin fertilización adicional (sólo la empleada por el productor)
2. **N250:** 250 kg N ha⁻¹ en estadio de 2 hojas - inicio de macollaje.
3. **S20:** 20 kg S ha⁻¹ en estadio de 2 hojas - inicio de macollaje.
4. **N250+S20:** 250 kg N ha⁻¹ + 20 kg S ha⁻¹ en estadio de 2 hojas - inicio de macollaje.

La fertilización se realizó al voleo. Se empleó urea como fuente de nitrógeno y yeso para la fertilización azufrada. Cabe señalar que todas las parcelas contaron con una fertilización al momento de la siembra que consistió en la aplicación normal realizada por el productor y el agregado de 20 kg de superfosfato triple para evitar deficiencias de P.

El diseño experimental fue en bloques aleatorizados con 3 repeticiones. Las dimensiones de las parcelas fueron de 4 metros de ancho por 16 metros de largo.

La cosecha de los granos en madurez se realizó de forma manual. Para el trillado de los granos se utilizó una trilladora estacionaria. Los granos se almacenaron en cámara fría hasta el momento de su evaluación.

Los granos utilizados en esta tesis corresponden a los sitios 43 (25 de Mayo 1), 44 (25 de Mayo 2) y 48 (Junín). En la siguiente tabla (Tabla 1) se detallan las coordenadas de los sitios y las características pre-siembra según lo informado por Gómez et al. (2017):

N.º de sitio	Localidad	Coordenadas	Fecha de siembra	Antecesor
43	25 de Mayo	35° 35' 20.76" S 60° 11' 53.34" O	28-06	Soja
44	25 de Mayo	35° 35' 12.72" S; 60° 11' 33.48" O	19-06	Soja
48	Junín	34°38'25.92" S; 60°56'48" O	21-07	Soja

Tabla 1: Geolocalización y características pre-siembra de los sitios evaluados (Gómez et al. 2017)

A continuación, en la Tabla 3 se describen las características edáficas de los sitios estudiados:

N.º de sitio	MO (%)	pH 1:2.5 (0-20cm)	PBray (ppm)	N-NO ₃ ⁻ (0-60 cm) (kg ha ⁻¹)	S-SO ₄ ⁻ (0-20 cm) (ppm)	Agua útil (0-100 cm) (mm)
43	1.40	5.8	18.1	27	4.5	140
44	1.55	6.1	7.9	37	7.7	206
48	1.30	6.0	16.5	32	5.5	181

Tabla 2: Características edáficas de los sitios evaluados (Gómez et al. 2017)

Viabilidad de los granos

La viabilidad de los granos de cebada se evaluó a través de la prueba de tetrazolio, la cual permite una rápida estimación de la capacidad germinativa de las semillas, incluidas aquellas que presentan dormición.

Primeramente, se sumergieron los granos (20 por parcela) en agua destilada durante 18h a 20°C. Inmediatamente transcurrido el tiempo de incubación se realizó un corte transversal reservando una de las mitades para colocarlas en una solución acuosa de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1% durante 3 h a 30°C en oscuridad. Seguidamente se determinó la viabilidad de los granos en función de la tinción del tejido embrionario y los resultados se registraron fotográficamente.

Evaluación del poder germinativo y parámetros de crecimiento.

Para realizar los ensayos de germinación, los granos se desinfectaron superficialmente con NaOCl 0,3% (p/v) durante 20 minutos, removiendo con espátula cada 5 minutos, y se enjuagaron con abundante agua destilada.

A continuación, se realizó un paso de imbibición en el cual los granos desinfectados se cubrieron con agua destilada y se incubaron a 19° C por 30 h en oscuridad,

retirándolos del agua dos veces durante un periodo de una hora para favorecer la oxigenación.

Finalizado dicho periodo, 20 granos de cada muestra (parcela) se pusieron a germinar en bandejas con papel de filtro humedecido con 30 ml de agua destilada. Las bandejas se cerraron con una bolsa de plástico para mantener la humedad y se incubaron en cámara de germinación a 22°C en oscuridad total hasta el momento de evaluar poder germinativo y parámetros de crecimiento.

Las evaluaciones se realizaron a partir del fin del periodo de imbibición (tiempo 0 h) y luego cada 24 h hasta alcanzar los 5 días después de la imbibición (DDI). El poder germinativo se determinó como porcentaje de granos germinados siguiendo la evolución de una misma bandeja en el tiempo. Para la medición de los parámetros de crecimiento de las plántulas (largo de coleóptile y largo total de raicillas) se trabajó con bandejas independientes para cada día de muestreo por tratarse de un procedimiento destructivo.

Por otro lado, se realizaron ensayos de germinación de granos a los que previamente se les quitaron las glumelas en forma manual. Con estos granos sin glumelas se empleó el mismo procedimiento descrito más arriba para la imbibición, la germinación y la evaluación del poder germinativo y parámetros de crecimiento.

En todos los casos, la unidad muestral fue 1 bandeja (conteniendo 20 granos) y se trabajó con 3 réplicas biológicas por cada tratamiento y tiempo de muestreo.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se evaluaron mediante el análisis estadístico de la varianza y la prueba de comparaciones múltiples de LSD Fisher considerando diferencias significativas con $p < 0,05$.

RESULTADOS

Efecto de la deficiencia de S sobre el poder germinativo y la viabilidad de los granos.

En general para todos los sitios, el mayor poder germinativo se registró en los granos del tratamiento **Control** y el menor para los tratamientos **N250**, mientras que los tratamientos **S20** y **N250+S20** presentaron valores intermedios o, en algunos casos, cercanos al control.

Para las muestras del sitio 43 (Figura 3A) el mayor porcentaje de germinación se observó en los granos de los tratamientos **Control**, el cual fue del 93% al día 3 después de imbibición. Tanto la fertilización azufrada como la nitrogenada, por separado o combinadas, produjeron una reducción del poder germinativo que varió entre el 70% en los granos del tratamiento **S20** hasta el 13% en los granos **N250**, mientras que el tratamiento doblemente fertilizado presentó un % de germinación intermedio (35%). En los tratamientos **N250** y **N250+S20**, el % de germinación no aumentó más allá del segundo día después de imbibición. Por su parte, los granos de plantas fertilizadas solo con S alcanzaron el máximo de germinación entre el segundo y tercer DDI.

En el sitio 44 (Figura 3B), los granos provenientes del tratamiento **Control** alcanzaron un porcentaje de germinación del 70% al tercer DDI. La fertilización azufrada produjo un % de germinación similar al **Control**, con un valor máximo alcanzado del 73% entre los días 3 y 4 DDI. Por su parte, los tratamientos **N250+S20** y **N250** produjeron una reducción del poder germinativo registrándose valores del 43% para la fertilización

combinada y de apenas un 8% cuando solo se aplicó N. En ambos tratamientos el porcentaje de germinación no aumentó más allá del día 3 después de imbibición.

Para el sitio 48 (Figura 3C), los granos del tratamiento **Control** presentaron un poder germinativo del 91% alcanzando el máximo de germinación al día 2 después de imbibición. La fertilización azufrada, nitrogenada y su combinación produjeron una pérdida de poder germinativo, ubicándose alrededor del 80% para el tratamiento **S20**. Los granos del tratamiento **N250+S20** presentaron un comportamiento intermedio presentando un 68% de germinación. Mientras que la fertilización con nitrógeno arrojó un porcentaje de germinación del 10%, no aumentando más allá del tercer día después de imbibición. Por su parte, los granos provenientes de los tratamientos **N250+S20** y **S20** alcanzaron el máximo de germinación entre el tercer y cuarto día después de imbibición.

En todos los sitios, la pérdida del poder germinativo producto del agregado de nitrógeno fue muy notoria con un promedio de solo un 10% de granos germinados y significando esto una disminución del 90% con respecto al tratamiento **Control**. En el sitio 44 (Figura 3B) se observaron los valores más bajos de germinación para los tratamientos **Control**, **S20** y **N250**, mientras que los sitios 43 y 48 presentaron un comportamiento similar.

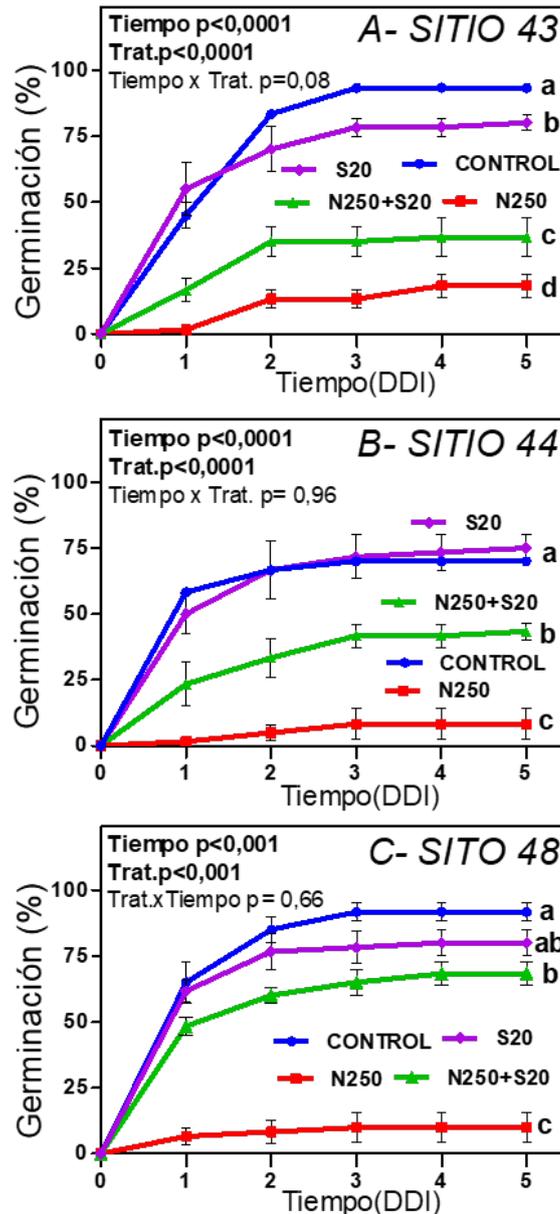


Figura 3: **A)** Porcentaje de germinación del sitio 43 (25 de Mayo) **B)** sitio 44 (25 de Mayo) **C)** sitio 48 (Junín) en función de los días desde imbibición de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos llenos), **S20** (en violeta, rombos llenos), **N250+S20** (en verde, triángulos llenos) y **N250** (en rojo, cuadrados llenos). Se muestra la media \pm el error estándar ($n=3$). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de p obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Se indican con letras las diferencias significativas entre los 4 tratamientos solo para el día 5

Evaluación de viabilidad mediante la prueba de tetrazolio

Habiendo encontrado diferencias tan importantes en el poder germinativo de los granos provenientes de los 4 tratamientos de fertilización se decidió realizar una prueba de viabilidad según el método estándar del tetrazolio. Se muestran a continuación los resultados para los granos provenientes del sitio 43 de 25 de Mayo y 48 de Junín (Figura 4). Como puede observarse, el % de viabilidad para los 4 tratamientos de los dos sitios fue mayor al 98% y no se registraron diferencias significativas en ningún caso. Con respecto al sitio 44, se obtuvieron resultados

similares, pero los resultados no se incluyeron en esta tesis debido a que fueron evaluados por otro colaborador del equipo de trabajo.

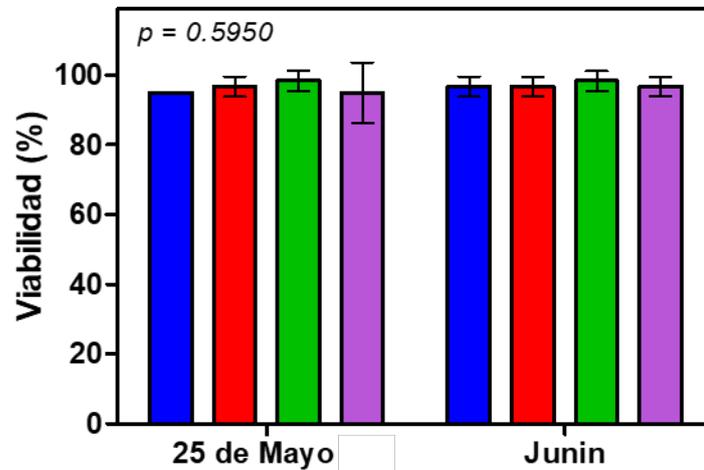


Figura 4: Porcentaje de viabilidad de los granos de cebada recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul), **S20** (en violeta), **N250+S20** (en verde) y **N250** (en rojo) del ensayo realizado en las localidades de 25 de Mayo (sitio 43) y Junín (sitio 48). Se muestra la media \pm el error estándar (n=3). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 1 factor y en el gráfico se muestra el valor de p obtenido.

Efecto de la deficiencia de S sobre el crecimiento de las plántulas

La velocidad de crecimiento de las plántulas se evaluó como longitud total de raicillas (LR) y longitud de coleoptile (LC) en función del tiempo.

En el sitio 43 (25 de Mayo) no se observaron diferencias estadísticamente significativas para las mediciones de LR de los tratamientos **Control**, **N250+S20** y **S20**, pero sí hubo diferencias entre éstos y el tratamiento **N250**. Los granos provenientes de plantas que sufrieron limitación de S durante su crecimiento, desarrollaron plántulas más chicas, con raicillas más cortas a lo largo de todo el ensayo (Figura 5A). Con respecto al parámetro LC, si bien se observó una tendencia a un menor crecimiento de la parte aérea de las plántulas originadas a partir de los granos **N250**, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

El crecimiento de raicillas fue apreciable luego del primer DDI para los tratamientos **Control**, **N250+S20** y **S20** mientras el tratamiento **N250** vio retrasado su crecimiento registrándose las primeras mediciones luego del segundo DDI. Por su parte el crecimiento de coleoptile pudo ser apreciable a partir del segundo DDI para los 4 tratamientos.

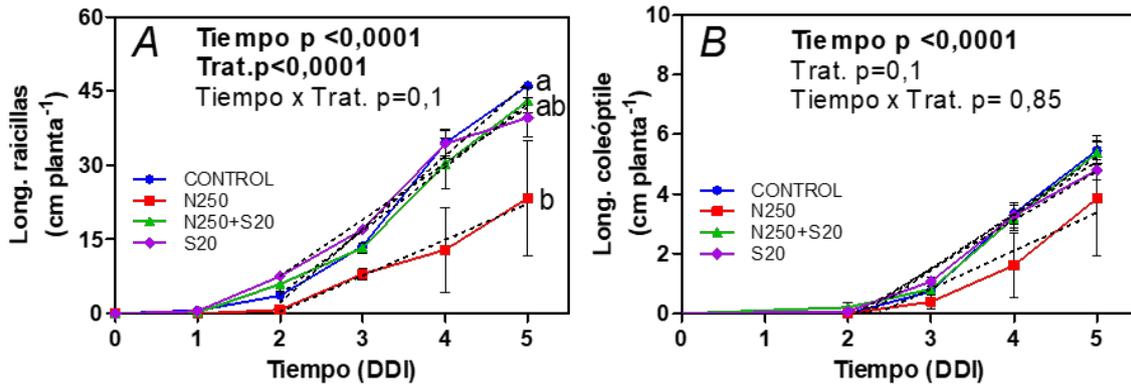


Figura 5: **A)** Longitud total de raíces (cm/planta) **B)** Longitud del coleoptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos llenos), **S20** (en violeta, rombos llenos), **N250+S20** (en verde, triángulos llenos) y **N250** (en rojo, cuadrados llenos) del ensayo realizado en la localidad 25 de Mayo (sitio 43). Se muestra la media \pm el error estándar ($n=3$). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de p obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de los parámetros LR y LC para el tiempo 2-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

Con el fin de cuantificar la velocidad de crecimiento, tanto del sistema radicular como de la parte aérea, se ajustaron sendas regresiones lineales para el set de datos considerando el periodo 2-5 DDI (Tabla 3). Para los granos de los tratamientos **Control**, **S20** y **N250+S20**, la velocidad de crecimiento del sistema radicular fue en promedio de 11,24 cm/planta.día observándose una diferencia con el tratamiento **N250** que tuvo una velocidad de crecimiento de raíces de 7,26 cm/planta.día. Por otra parte, el tratamiento **Control** presentó una velocidad de crecimiento de coleoptile de 1,9 cm/día, mientras el tratamiento **N250** arrojó una velocidad de 1,27 cm/planta.día.

25 DE MAYO (sitio 43)	Tratamiento	Pendiente	R ²	valor p
LR	Control	14,8 \pm 1,45	0,98	0,0095
	N250	7,26 \pm 0,75	0,97	0,01
	N250+S20	12,85 \pm 1,32	0,97	0,01
	S20	11,35 \pm 1,57	0,96	0,01
LC	Control	1,9 \pm 0,27	0,96	0,02
	N250	1,27 \pm 0,29	0,9	0,04
	N250+S20	1,79 \pm 0,28	0,95	0,02
	S20	1,64 \pm 0,15	0,98	0,009

Tabla 3: Valores del análisis de regresión para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) y coleoptile (cm/planta.día), ambos en el periodo 2-5 DDI para los granos de los 4 tratamientos aplicados en el sitio 43 de la localidad de 25 de Mayo.

En la Figura 6 se muestran los resultados del crecimiento de plántulas para los granos del sitio 44 (25 de Mayo) durante los primeros 5 días post-germinación. En relación con el parámetro LR, se observaron diferencias significativas entre el tratamiento **N250** y

los tratamientos restantes (aunque esta diferencia se pierde al día 5), mientras que no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para LC a lo largo de todo el ensayo.

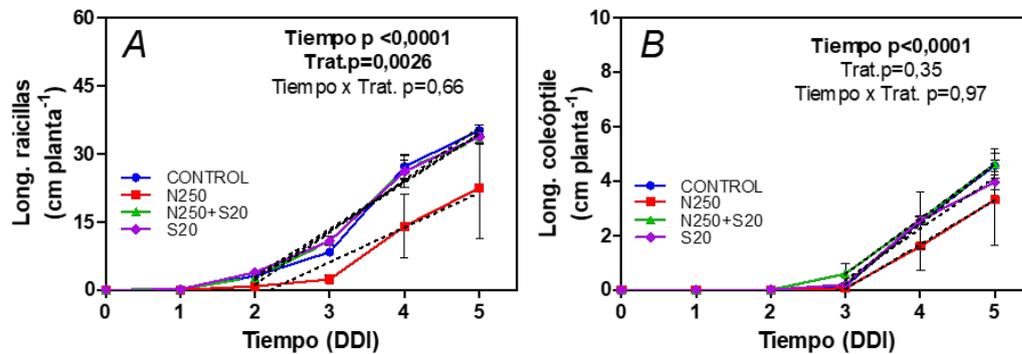


Figura 6: A) Longitud total de raíces (cm/planta) **B)** Longitud del coleóptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos llenos), **S20** (en violeta, rombos llenos), **N250+S20** (en verde, triángulos llenos) y **N250** (en rojo, cuadrados llenos) del ensayo realizado en la localidad 25 de Mayo (sitio 44). Se muestra la media \pm el error estándar (n=3). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de *p* obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de los parámetros LR para el tiempo 2-5 DDI y LC para el tiempo 3-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

La velocidad de crecimiento de raicillas se evaluó para el periodo 2-5 DDI (Tabla 4), debido al nulo crecimiento del sistema radicular en los granos del tratamiento **N250** durante las primeras 48 h después de imbibición. Las regresiones realizadas arrojaron una velocidad de crecimiento de raicillas muy similar para los tratamientos **Control**, **N250+S20** y **S20**, siendo en promedio de 10,91cm/planta.día, mientras que la velocidad de crecimiento fue bastante menor para el tratamiento **N250** (7,64cm/planta.día).

La evaluación de la velocidad de crecimiento para LC se realizó para el periodo 3-5 DDI (Tabla 4) por ser el periodo de mayor crecimiento en todos los tratamientos. El promedio de la velocidad de crecimiento de coleóptile fue de 1,93 cm/planta.día considerando los 4 tratamientos. Si bien se observó una tendencia a una menor velocidad de crecimiento del coleóptile en los granos **N250**, no se pudo confirmar una diferencia estadística entre dicho tratamiento y el resto.

25 DE MAYO (sitio 44)	Tratamiento	Pendiente	R ²	valor p
LR	Control	11,53±1,7	0,95	0,02
	N250	7,64±1,45	0,93	0,03
	N250+S20	10,71±1,2	0,97	0,013
	S20	10,49±1,14	0,97	0,01
LC	Control	2,21±0,10	0,99	0,02
	N250	1,62±0,51	0,99	0,01
	N250+S20	2,02±0,025	0,9	0,0001
	S20	1,88±0,27	0,97	0,007

Tabla 4: Valores del análisis de regresión para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) en el periodo 2-5 DDI y coleoptile (cm/planta.día) en el periodo 3-5 DDI para los granos de los 4 tratamientos aplicados en la localidad de 25 de Mayo (sitio 44).

En la Figura 7 se muestran los datos de longitud de raicillas y coleoptile para los granos recolectados en la localidad de Junín. Tanto para LR como para LC, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre **N250** y el resto de los tratamientos. Sin embargo, para el valor de LR estas diferencias se perdieron al quinto DDI. Por el contrario, el valor de LC del tratamiento **N250** al final del ensayo fue significativamente menor que los tratamientos **Control** y **S20** que presentaron un comportamiento similar, mientras el tratamiento **N250+S20** registro el mayor valor de longitud de coleoptile al quinto DDI.

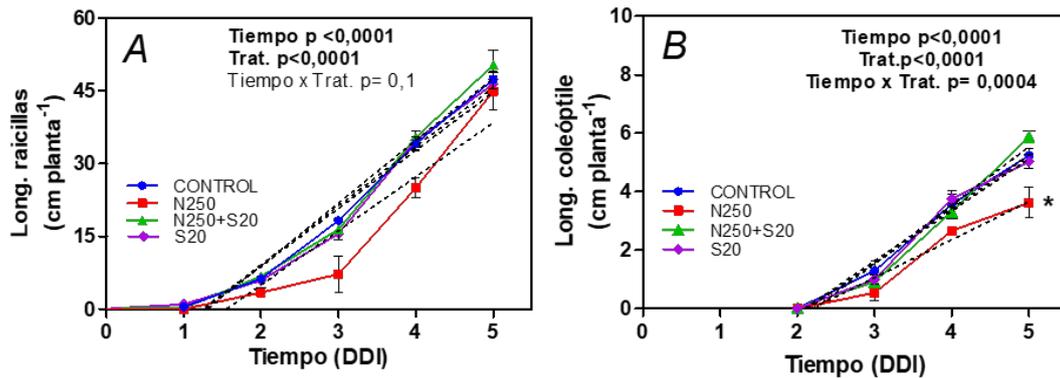


Figura 7: A) Longitud total de raíces (cm/planta) **B)** Longitud del coleóptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **CONTROL** (en azul, círculos llenos), **S20** (en violeta, rombos llenos), **N250+S20** (en verde, triángulos llenos) y **N250** (en rojo, cuadrados llenos) del ensayo realizado en la localidad Junín (sitio 48). Se muestra la media \pm el error estándar ($n=3$). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de p obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. El asterisco (*) representa diferencia significativa respecto de los tratamientos CONTROL, N250+S20 y S20 para N250 al día 5. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de LR para el tiempo 1-5 DDI y para LC tiempo 2-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

Para el análisis de la velocidad de crecimiento de raicillas se realizó una regresión (Tabla 5), para el periodo de tiempo 1-5 DDI, observándose una menor velocidad de crecimiento inicial de raicillas de los granos provenientes del tratamiento **N250**, sin embargo los 4 tratamientos presentaron una velocidad promedio de crecimiento de las raicillas de 12,03 cm/planta.día.

En la tabla 5 se muestran los valores de velocidad de crecimiento correspondiente a LC para el periodo 2-5 DDI. El crecimiento de coleóptile fue apreciable luego del segundo DDI. Los tratamientos **CONTROL**, **N250+S20** y **S20** en promedio arrojaron una velocidad de crecimiento de 1,85 cm/planta.día, por su parte el tratamiento **N250** presentó una velocidad menor (1,29 cm/planta.día).

JUNIN (sitio 48)	Tratamiento	Pendiente	R ²	valor p
LR	Control	12,14±0,58	0,97	0,0001
	N250	11,12±1,36	0,84	0,0001
	N250+S20	12,86±0,83	0,94	0,0001
	S20	11,95±0,75	0,95	0,0001
LC	Control	1,79±0,12	0,98	0,052
	N250	1,29±0,20	0,95	0,02
	N250+S20	1,99±0,28	0,96	0,019
	S20	1,78±0,23	0,96	0,016

Tabla 5: Valores del análisis de regresión para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) para el período 1-5 DDI y coleoptile (cm/planta.día) en el periodo 2-5 DDI para los granos de los 4 tratamientos aplicados en la localidad de Junín.

Efecto de la remoción de glumelas sobre el % de germinación

La remoción manual de las glumelas de los granos de los tres sitios evaluados dio como resultado un aumento del poder germinativo. Los tratamientos fertilizados con azufre (**S20**) y la combinación azufre más nitrógeno (**N250+S20**) presentaron valores de germinación similares al tratamiento **Control**. Por su parte, los granos producto de la fertilización nitrogenada (**N250**) arrojaron un poder germinativo mayor que los granos **N250** con glumelas intactas (Figuras 3 y 8).

Los granos provenientes del sitio 43 (Figura 8A) mostraron un porcentaje de germinación para el tratamiento **Control** del 95% alcanzado al tercer día después de imbibición, lo cual representa valores máximos de germinación similares a los de los granos con glumelas (Figura 3A). Tanto el tratamiento de doble fertilización como el **S20**, aumentaron su % máximo de germinación respecto de los granos con glumelas, alcanzando valores promedio del 90% y 80%, respectivamente. Por su parte los granos sin glumelas del tratamiento **N250** también mejoraron su desempeño germinativo respecto de los granos con glumelas (13%, Figura 3A) registrando un máximo de 55% de germinación al segundo día después de imbibición.

En el caso del sitio 44 (Figura 8B), los granos provenientes de los tratamientos **Control** y **S20** presentaron un % de germinación del 80%, no aumentando el poder germinativo de estos tratamientos más allá del día 3 después de imbibición y superando el % de germinación alcanzado con glumelas de 70% y 73% respectivamente (Figura 3). El tratamiento fertilizado con nitrógeno y azufre presentó un porcentaje de germinación máximo del 78 % alcanzado entre el tercer y cuarto día DDI superando el registro de germinación con glumelas del 43% (Figura 3). Los granos del tratamiento **N250** arrojaron un poder germinativo del 51% alcanzando el máximo valor al 2 día después de imbibición y presentando una gran evolución comparado con el 8% de germinación con glumelas intactas (Figura 3).

Para las muestras del sitio 48 (Figura 8C) el poder germinativo fue del 88% para el tratamiento **Control** y 85% para el tratamiento doblemente fertilizado (**N250+S20**), alcanzando el máximo de germinación entre el tercer y cuarto día después de imbibición en ambos casos. En forma similar, el tratamiento **S20** arrojó valores de germinación del

83%, mejorando su desempeño germinativo con respecto a los granos con glumelas (68%, Figura 3), y no aumentando más allá del tercer día después de imbibición. Por otra parte, los granos provenientes de plantas fertilizadas solo con nitrógeno presentaron un poder germinativo del 43% al segundo DDI, aumentando su máximo de germinación comparado con el valor obtenido con glumelas que fue apenas del 10% (Figura 3).

En los tres sitios evaluados, los tratamientos **Control**, **N250+S20** y **S20** presentaron un comportamiento similar en cuanto a % de germinación, encontrándose diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento **N250**, que presentó un menor % de germinación (Figura 8).

En el sitio 44, los granos del tratamiento **N250** presentaron la mayor recuperación de la germinación siendo un 637% superior comparado con el % de germinación con glumelas, mientras en los sitios 43 y 48 la recuperación de la germinación para los granos de este tratamiento se incrementó un 426%. Los granos provenientes del tratamiento **N250+S20** sin glumelas vieron incrementada la germinación un 300% comparado con el % de germinación con glumelas (sitio 43), mientras en los sitios 44 y 48, el incremento fue del 181% y 125% para el tratamiento doble fertilizado.

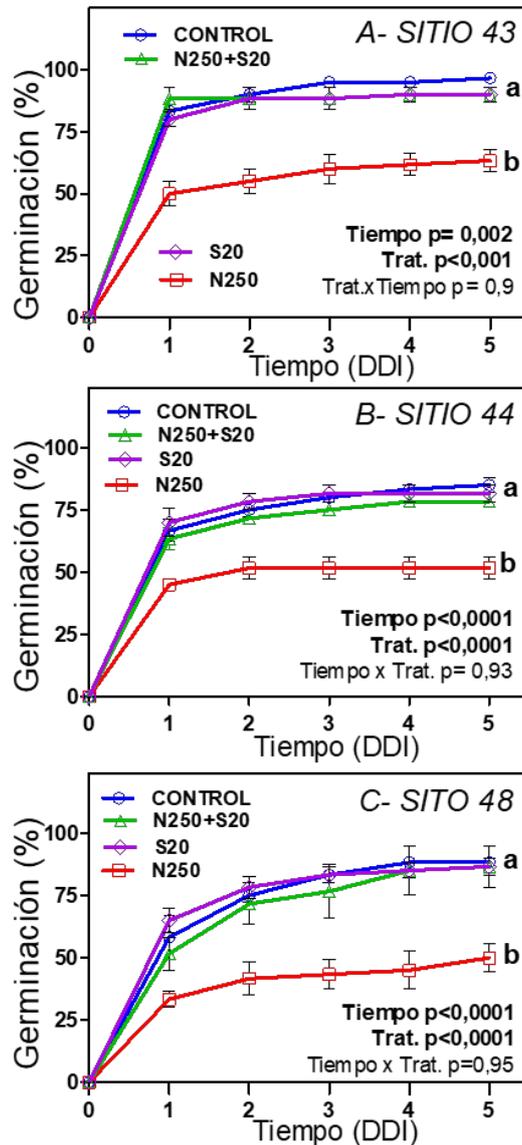


Figura 8: **A)** Porcentaje de germinación del sitio 43 (25 de Mayo) **B)** sitio 44 (25 de Mayo) **C)** sitio 48 (Junín) en función de los días desde imbibición de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos vacíos), **S20** (en violeta, rombos vacíos), **N250+S20** (en verde, triángulos vacíos) y **N250** (en rojo, cuadrados vacíos) a los cuales se les quitaron las glumelas. Se muestra la media \pm el error estándar (n=3). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de p obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Se indican con letras las diferencias significativas entre los 4 tratamientos solo para el día 5

Efecto de la remoción de glumelas sobre el crecimiento de las plántulas

A continuación, se evaluó el crecimiento de las plántulas durante la germinación de los granos, a los que previamente se les retiraron las glumelas, mediante el registro de la longitud de coleoptile y de raicillas en función del tiempo.

En la Figura 9 se observan los resultados de LC y LR sin glumelas correspondiente al sitio 43. Para el parámetro longitud de raicillas, hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, las mismas se registraron entre **N250** y **S20** (desde el primer al cuarto DDI) y entre **N250** y **Control** (al segundo y cuarto DDI), sin embargo, la

comparación de LR al quinto DDI muestra que las plántulas de los cuatro tratamientos presentaron valores similares de desarrollo del sistema radicular. En cuanto a la longitud de coleoptile, se verificaron diferencias significativas entre **N250 y S20** (al primer y tercer DDI) y entre **N250 y N250+S20** (al segundo y cuarto DDI). Sin embargo, al quinto DDI las mediciones de coleoptile para el tratamiento **N250** no presentaron diferencias con los demás tratamientos. Por otra parte, el tratamiento **Control** difirió de los tratamientos **N250+S20 y S20** al 5 DDI.

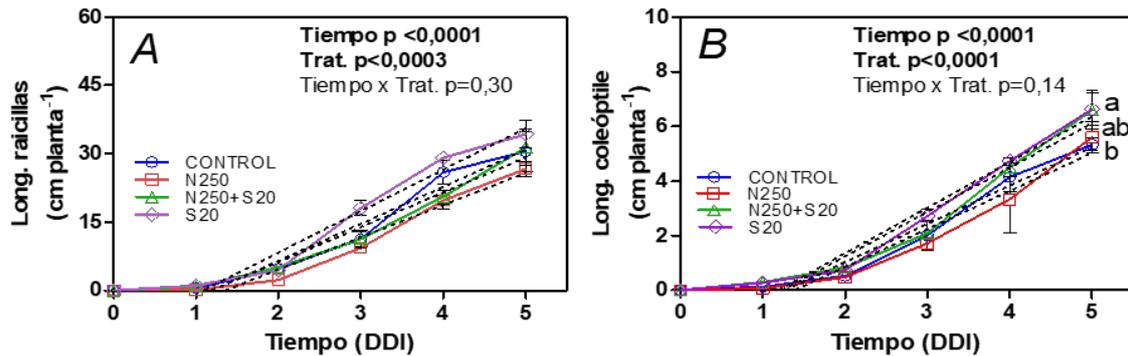


Figura 9: A) Longitud total de raicillas (cm/planta) **B)** Longitud del coleoptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos vacíos), **S20** (en violeta, rombos vacíos), **N250+S20** (en verde, triángulos vacíos) y **N250** (en rojo, cuadrados vacíos) del ensayo realizado en la localidad 25 de mayo (sitio 43), a los cuales se les quitaron las glumelas. Se muestra la media \pm el error estándar (n=3). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de *p* obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Se indican con letras las diferencias significativas entre los 4 tratamientos solo para el día 5. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de los parámetros LR y LC para el tiempo 1-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

En los ensayos sin glumelas, fue posible registrar el crecimiento de LR y LC a partir de las primeras 24 h después de imbibición. Por tal motivo, las regresiones para estimar la velocidad de crecimiento de los parámetros mencionados se realizaron para el periodo de tiempo 1-5 DDI (Tabla 6). El tratamiento **N250** presentó una velocidad de crecimiento de las raicillas de 6,56 cm/planta.día, observándose una menor velocidad que el tratamiento **S20** (9,09 cm/planta.día). Por otra parte, los tratamientos **Control** y **N250+S20** presentaron un comportamiento similar tanto al tratamiento nitrogenado como azufrado. Con respecto a la velocidad de crecimiento de coleoptile los 4 tratamientos mostraron valores similares (1,52 cm/planta.día).

25 DE MAYO (sitio 43)	Tratamiento	Pendiente	R ²	valor p
LR SIN GLUMELAS	Control	8,11±0,98	0,95	0,003
	N250	6,56±1,29	0,96	0,003
	N250+S20	8,74±1,74	0,96	0,002
	S20	9,09±0,94	0,96	0,002
LC SIN GLUMELAS	Control	1,40±0,16	0,96	0,003
	N250	1,39±0,20	0,94	0,006
	N250+S20	1,62±0,22	0,94	0,005
	S20	1,69±0,17	0,96	0,002

Tabla 6: Valores del análisis de regresión para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) y coleoptile (cm/planta.día) sin glumelas para los granos de los 4 tratamientos aplicados en la localidad de 25 de Mayo.

Los granos sin glumelas del sitio 44 (Figura 10) presentaron un crecimiento tanto de raíces como de parte aérea bastante similar para los 4 tratamientos. Cuando hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, las mismas se registraron entre **N250** y **S20** (al segundo y tercer DDI) y entre **N250** y **Control** (al segundo DDI) con respecto a LR. Además, **N250** presentó un menor desarrollo de coleoptile con respecto a los tratamientos **S20** y **Control**, si bien estas diferencias se perdieron al quinto DDI.

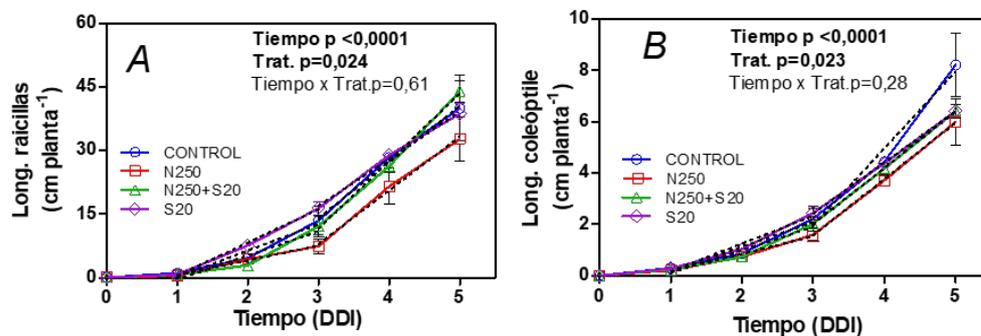


Figura 10: **A)** Longitud total de raíces (cm/planta) **B)** Longitud del coleoptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **Control** (en azul, círculos vacíos), **S20** (en violeta, rombos vacíos), **N250+S20** (en verde, triángulos vacíos) y **N250** (en rojo, cuadrados vacíos) del ensayo realizado en la localidad 25 de Mayo (stio 44), a los cuales se les quitaron las glumelas. Se muestra la media ± el error estándar (n=3). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de *p* obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de los parámetros LR y LC para el tiempo 1-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

En base a la dinámica de las curvas mostradas en los gráficos de la Figura 10, para este sitio se ajustaron dos regresiones lineales para cada tratamiento y parámetro,

siendo los rangos de tiempo seleccionados 1-3 y 3-5 DDI (Tabla 7). Para el parámetro longitud total de raicillas, el tratamiento **N250** presento una menor velocidad inicial de crecimiento (1-3 DDI) la cual fue de 3,5 cm/planta.día mientras que el tratamiento **S20** presento la mayor velocidad inicial de crecimiento siendo un 224% superior al tratamiento **N250** (7,82 cm/planta.día). Por otra parte, los tratamientos **N250+S20** y **Control** presentaron un comportamiento intermedio siendo su velocidad inicial de 5,96 cm/planta.día.

Para el periodo de tiempo 3-5 DDI, las pendientes de las regresiones mostraron una velocidad de crecimiento mayor para el tratamiento **N250+S20**, la cual fue de 15,95 cm/planta.día, mientras que el tratamiento **S20** presento la menor velocidad de crecimiento (11,12 cm/planta.día). Por otra parte, los tratamientos **N250** y **Control** presentaron un comportamiento intermedio.

En cuanto al parámetro LC, el tratamiento **N250** registro la menor velocidad inicial de crecimiento (0,68 cm/planta.día) siendo significativamente diferente solo de S20. En el segundo tramo de tiempo, 3-5 DDI, el tratamiento **Control** presento una velocidad de crecimiento de 2,99 cm/planta.día, mientras que los coleoptiles de los granos **N250** crecieron a una velocidad de 2,2 cm/planta.día sin llegar a ser estadísticamente diferente del resto de los tratamientos.

25 DE MAYO (sitio 44)	Tratamiento	Pendiente 1-3 DDI	R ²	valor p	Pendiente 3-5 DDI	R ²	valor p
LR SIN GLUMELAS	Control	6,21±1,45	0,72	0,0037	13,24±3,2	0,7	0,003
	N250	3,50±0,81	0,72	0,0036	12,65±2,64	0,76	0,002
	N250+S20	5,71±1,24	0,75	0,0025	15,95±1,49	0,94	<0,0001
	S20	7,82±0,73	0,94	<0,0001	11,12±1,2	0,91	<0,0001
LC SIN GLUMELAS	Control	0,96±0,18	0,8	0,0011	2,99±0,51	0,82	0,0007
	N250	0,68±0,10	0,84	0,0004	2,2±0,36	0,84	0,0005
	N250+S20	0,89±0,13	0,85	0,0004	2,2±0,14	0,97	<0,0001
	S20	1,08±0,12	0,91	<0,0001	1,95±0,15	0,95	<0,0001

Tabla 7: Valores del análisis de regresión en dos tramos (1-3 y 3-5 DDI) para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) y coleoptile (cm/planta.día) sin glumelas para los granos de los 4 tratamientos aplicados en la localidad de 25 de Mayo.

En la Figura 11 se muestran los resultados de la evaluación del crecimiento de coleoptile y raicillas en los granos desprovistos de glumelas del sitio 48. En ningún caso, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

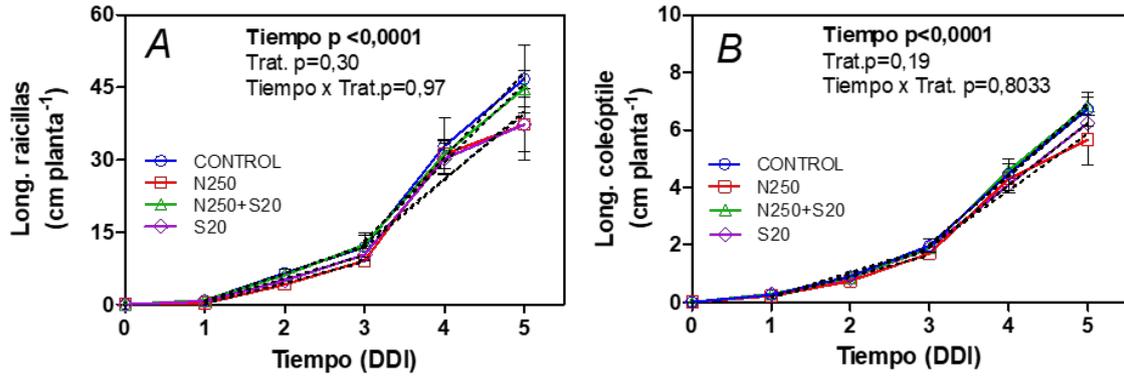


Figura 11: A) Longitud total de raíces (cm/planta) **B)** Longitud del coleóptile (cm/planta) en función del tiempo de incubación medido en días después de imbibición (DDI) de granos recolectados de plantas sometidas a los tratamientos **CONTROL** (en azul, círculos vacíos), **S20** (en violeta, rombos vacíos), **N250+S20** (en verde, triángulos vacíos) y **N250** (en rojo, cuadrados vacíos) del ensayo realizado en la localidad Junín (sitio 48), a los cuales se les quitaron las glumelas. Se muestra la media \pm el error estándar ($n=3$). Los datos se analizaron mediante ANOVA de 2 factores y en el gráfico se muestran los valores de p obtenidos para los factores tratamiento, tiempo y su interacción. Las líneas punteadas representan las regresiones ajustadas de los parámetros LR y LC para el tiempo 1-5 DDI, de cada tratamiento evaluado.

En función a la dinámica de las curvas de la Figura 10, se ajustaron regresiones lineales en dos tramos (1-3 y 3-5 DDI) para determinar la velocidad de crecimiento de LR y LC. El tratamiento **N250+S20** presentó una velocidad inicial de crecimiento de las raicillas mayor (5,77 cm/planta.día) que el tratamiento **N250** (4,38 cm/planta.día), mientras que para el periodo de tiempo 3-5 DDI la velocidad de crecimiento promedio de raicillas fue de 15,31 cm/planta.día sin registrarse diferencias entre tratamientos.

Por su parte, la velocidad de crecimiento para el parámetro longitud de coleóptile presentó una velocidad inicial de crecimiento promedio para los 4 tratamientos de 0,8 cm/planta.día, mientras que para el periodo de tiempo 3-5 DDI el promedio de velocidad se encontró en 2,2 cm/planta.día, sin registrarse diferencias entre tratamientos.

JUNIN (sitio 48)	Tratamiento	Pendiente 1-3 DDI	R ²	valor p	Pendiente 3-5 DDI	R ²	valor p
LR SIN GLUMELAS	Control	5,22±0,95	0,82	0,0007	17,45±3,6	0,76	0,002
	N250	4,38±0,21	0,98	<0,0001	14,13±3,4	0,7	0,004
	N250+S20	5,77±1,05	0,81	0,0009	16,2±2,16	0,89	0,0001
	S20	4,82±0,56	0,91	<0,0001	13,46±2,88	0,75	0,0023
LC SIN GLUMELAS	Control	0,85±0,09	0,91	<0,0001	2,37±0,3	0,88	0,0002
	N250	0,74±0,08	0,91	<0,0001	1,97±0,36	0,81	0,0009
	N250+S20	0,81±0,06	0,95	<0,0001	2,46±0,15	0,97	0,0001
	S20	0,8±0,07	0,94	<0,0001	2,1±0,12	0,97	0,0001

Tabla 8: Valores del análisis de regresión en dos tramos (1-3 y 3-5 DDI) para estimar la velocidad de crecimiento de raicillas (cm/planta.día) y coleoptile (cm/planta.día) sin glumelas para los granos de los 4 tratamientos aplicados en la localidad de Junín.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Para evaluar la disponibilidad de S en el suelo se realizan análisis pre-siembra que cuantifican el contenido de S-sulfatos en el perfil; Garcia et al.(2006) estableció un umbral tentativo de 10 ppm de S-SO₄ (0-20 cm) en suelo para observar respuesta al agregado de fertilizante azufrado luego de realizar ensayos durante 4 años en el sur santafesino donde se muestrearon 22 sitios para trigo y soja de segunda. Sin embargo para (Carciochi et al., 2015), existe una falta de asociación entre la respuesta a la fertilización y la concentración de sulfatos en el suelo. Por lo cual, el límite para que se considere un suelo deficiente en S es muy ambiguo estando influenciado por muchos factores entre los que se mencionan la historia agronómica del lote, el contenido de MO y el nivel de la napa freática. Esto pone un límite práctico a la posibilidad de realizar ensayos a campo para evaluar el efecto de la deficiencia de S sobre el cultivo de cebada, dado que la confirmación de la deficiencia ocurre una vez finalizado el ensayo. Para salvar tales dificultades, en esta tesis, se tomaron dos medidas prácticas: 1) realizar los ensayos en lotes con historial reciente de deficiencia de S y 2) la aplicación de una alta dosis de nitrógeno en forma de urea en el tratamiento **N250** como mecanismo para elevar la relación N:S en el sustrato y de esta forma inducir la deficiencia de S. Se incluyó además un tratamiento **Control** consistente en la fertilización base que aplica el productor y que representa la probabilidad de ocurrencia de deficiencia de S en ese suelo en las condiciones típicas de una producción comercial. La fertilización con S tiene por finalidad determinar si el control se encontraba o no en condiciones de deficiencia de dicho nutriente y el tratamiento doblemente fertilizado se incluyó con la intención de determinar posibles efectos de interacción entre ambos nutrientes. En estudios preliminares observamos que los granos de cebada producidos bajo condiciones de deficiencia de S presentaban una disminución del poder germinativo en la siguiente generación. En este trabajo se buscó confirmar el efecto de la deficiencia de azufre durante el desarrollo de los granos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L., cultivar Andreia) sobre el poder germinativo y crecimiento de las plántulas, además de evaluar si la remoción manual de las glumelas permite recuperar la capacidad germinativa de los granos deficientes de S.

Los resultados de los colabores con respecto a estos sitios indicaron que en el sitio 43, producto del tratamiento **N250** el rendimiento se vio afectado negativamente (por efecto de la deficiencia azufrada inducida) así como también el calibre de los granos (Tabla 9, Apéndice). Sin embargo, el nivel de proteína (9,51%) se encontró en el rango apto para la comercialización como cebada cervecera, condición que el tratamiento **Control** no logro alcanzar (5,81%). Al mismo tiempo, la adición de 250 kg de nitrógeno/ha, disminuyó el poder germinativo un 86% comparado con el tratamiento **Control** (Figura 3), lo que estaría impactando negativamente sobre la calidad de la malta que se pueda obtener con esos granos. La adición de 20 kg de azufre disminuyo el rendimiento, probablemente debido a que se indujo la deficiencia de otro nutriente. Por otra parte, el tratamiento **N250+S20** permitió subsanar la deficiencia de azufre causada por la aplicación de N a la vez que incrementó el contenido proteico de los granos.

En forma similar, en el sitio 48 la dosis de nitrógeno además de producir una disminución del poder germinativo del 89%, redujo el rendimiento y el calibre; aumentando el % de proteína un 174% comparado con el % de proteína del tratamiento **Control** (6,75%) (Tabla 9, Apéndice). Estos resultados indican que la aplicación de N en altas dosis, indujo una condición de deficiencia de S para el cultivo. Por su parte, la aplicación de 20 kg de azufre evidencio un rendimiento similar al tratamiento **Control**, de lo que se puede inferir que el tratamiento Control no era deficiente en S.

En el sitio 44, al igual que los otros dos sitios, el tratamiento **Control** no alcanzó un nivel de proteína apto según las normas de comercialización como cebada cervecera. La

fertilización con N, aumento la proteína un 166% pero disminuyó el calibre un 30% con respecto al tratamiento **Control** (Tabla 9, Apéndice). En cuanto al rendimiento, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos **N250** y **Control**. Sin embargo, es necesario destacar que el cultivo a cosecha se encontraba volcado por un crecimiento excesivo producto del agregado de N, por lo que los datos de rendimiento podrían ser difíciles de interpretar. Al igual que en los dos sitios anteriores, la germinación de los granos provenientes del tratamiento **N250** disminuyó un 88% comparada con el tratamiento **Control**, sugiriendo que es probable que también en este sitio las plantas fertilizadas con alto N experimentarían condiciones de deficiencia de S.

En los tres sitios, el tratamiento nitrogenado produjo un aumento de la cantidad de N en grano (proteína) repercutiendo en la relación N:S, siendo esta mayor a 20:1 (Tabla 9, Apéndice). En trigo, se ha sugerido una relación N:S en grano de 17:1 como umbral para determinar deficiencia de azufre (Gooding M.J. y P.W. Davies(1997). El agregado de nitrógeno además de reducir el poder germinativo, redujo el calibre de los granos, como consecuencia de una mayor oferta de nitrógeno, que produce un aumento del número de macollos que originaron granos más pequeños (Ellis y Marshall, 1998).

Una posibilidad es que el bajo poder germinativo pueda ser provocado por la muerte embrionaria. La viabilidad del embrión puede determinarse a través de la prueba de tetrazolio que mide de forma indirecta la actividad respiratoria como coloración del tejido vivo. Este método se basa en la actividad de la enzima deshidrogenasa que participa en la respiración mitocondrial, la cual puede reducir una sal de tetrazolio produciendo un compuesto colorado, estable y no difusible llamado trifeníl-formazan (França-Neto y Krzyzanowski, 2019). En este trabajo, el 98% de los granos de los 4 tratamientos evaluados arrojaron una tinción colorada, por lo cual se puede concluir que el bajo poder germinativo del tratamiento **N250** no está asociado a una muerte embrionaria o pérdida de viabilidad.

Cuando se realizaron ensayos de germinación previa remoción manual de glumelas, en los tres sitios evaluados se incrementó el porcentaje de germinación, a excepción del tratamiento **Control** en el sitio 48. Pero por otra parte en cada sitio evaluado la remoción de las glumelas permitió que los tratamientos **N250+S20** y **S20** alcancen los mismos valores de germinación que el tratamiento **Control**. Los granos provenientes del tratamiento **N250** también aumentaron los valores de germinación; en promedio los % de germinación con glumelas se encontraban cercanos al 10% mientras que los % de germinación sin glumelas alcanzaron valores del 50% de germinación. Este efecto de dormición impuesto por las glumelas fue oportunamente descrito por Benech-Arnold et al.,(1999) en los cultivares *B 1215* y *Palomar* quienes observaron un aumento de la germinación en granos del 60%, luego de remover las glumelas y poner a incubar los granos. El mecanismo de la dormición impuesta por glumelas se debe a que luego de la imbibición, el oxígeno es retenido producto de la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos que se encuentran en los tejidos que forman las glumelas generando una condición de hipoxia que impide la respiración de las células embrionarias bloqueando su germinación y posterior desarrollo (Lenoir et al., 1986). En todos los casos, la remoción de las glumelas permitió observar en forma más temprana la emergencia tanto de raicillas como de coleoptile. La remoción de las glumelas de los granos provenientes del tratamiento **N250** impactó en una mayor longitud alcanzada de coleoptile en los tres sitios y una mayor longitud de raicillas en los sitios 43 y 44 comparado con los resultados con glumelas.

La bibliografía disponible sobre la deficiencia de azufre en cebada y su efecto en la próxima generación es muy escasa. Sin embargo, estudios recientes para colza, especie que tiene altos requerimientos de azufre (absorbe 12 kg S/ton de grano),

arrojaron reducciones en la germinación y vigor cuando la planta que dio origen a esas semillas se encontraba con deficiencia de azufre (D'hooghe et al., 2019).

Más allá del efecto de las glumelas que se pudo comprobar en esta tesis, en ningún caso el porcentaje de germinación de los granos del tratamiento **N250** alcanzó los valores de germinación del tratamiento **Control**, por lo cual es posible que los niveles de alguna/s hormona/s estén alterados en los granos deficientes de S. La información disponible sobre los efectos de la deficiencia de azufre en la planta madre y los posibles efectos a nivel hormonal en la siguiente generación son muy escasos. La relación existente entre el azufre y las hormonas puede explicarse a nivel de la asimilación en la planta de este macronutriente. El S es reducido de sulfato a sulfuro e incorporado como grupo sulfhidrilo o grupo tiol (-SH) a los aminoácidos cisteína y metionina, siendo la metionina el precursor del etileno (Adams y Yang 1979). Estudios sugieren que, entre otras vías, el etileno estimula las vías de señalización y biosíntesis de giberilinas en *Arabidopsis thaliana* (Chiwocha et al., 2005). Por otra parte investigaciones realizadas con inhibidores de etileno (tiosulfato de plata) sobre cebada arrojaron disminuciones en la germinación del 40% y del 50% en el crecimiento de la parte aérea de la plántula, comparado con el tratamiento control, mientras que la aplicación de un precursor del etileno, el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico, provocó un aumento del 140% del crecimiento de la parte aérea comparado con el control. Confirmando la importancia del etileno en la germinación de la semilla (Locke, 2000).

Por consiguiente, en este trabajo podemos concluir que la deficiencia de azufre durante el crecimiento del cultivo, evidenciada a posteriori como una relación en grano de N:S mayor a 20, provoca una disminución en la germinación, aunque sin comprometer la viabilidad de la semilla. La pérdida de poder germinativo podría deberse a un efecto de dormición impuesta por glumelas y/o a una reducción del vigor del embrión.

BIBLIOGRAFÍA

- ABECEB, & FIEL. (2020). Analisis de cadena de valor. In *AGROINDUSTRIA CERVECERA*.
- Abeledo, L. G., & Miralles, D. J. (2012). ¿Qué cambios presentaron en los últimos años los sistemas de producción de trigo y cebada en Argentina? In S. Valle, C. Lizana, & D. Calderini (Eds.), *Sistemas de Producción de Trigo y Cebada: Decisiones de manejo en base a conceptos ecofisiológicos para optimizar el rendimiento, la calidad y el uso de los recursos Susana* (Issue July 2014, pp. 39–53). <http://www.metrice.udl.cat/es/>
- Adams, D. O., & Yang, S. F. (1979). Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(1), 170–174. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.1.170>
- Álvarez, R. ., & Steinbach, H. S. (2013). Eficiencia de respuesta de trigo , maíz y soja a la fertilización azufrada en la región pampeana argentina. *Conicet*, 11–17.
- Arias, G. (1991). *CALIDAD INDUSTRIAL DE LA CEBADA CERVECERA*. [http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos compartidos/111219220807120028.pdf](http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807120028.pdf)
- Baethgen, W. E., Christianson, C. B., & Lamothe, A. G. (1995). Nitrogen fertilizer effects on growth, grain yield, and yield components of malting barley. *Field Crops Research*, 43(2), 87–99. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00034-N](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00034-N)
- Baxter, E. D. (1981). No Title. *Brewing Research Foundation, Nutfield, Redhill, Surrey*, 87, 173–176. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/j.2050-0416.1981.tb04011.x>
- Benech-Arnold, R. L., Giallorenzi, M. C., Frank, J., & Rodriguez, V. (1999). Termination of hull-imposed dormancy in developing barley grains is correlated with changes in embryonic ABA levels and sensitivity. *Seed Science Research*, 9(1), 39–47. <https://doi.org/10.1017/S0960258599000045>
- Benech-Arnold, R. L., Sánchez, R. A., Forcella, F., Kruk, B. C., & Ghera, C. M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research*, 67(2), 105–122. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00087-3)
- Bolsa de cereales de Rosario. (2020). *La cebada 2019/20 deja un abultado stock final y perspectivas bajistas | Bolsa de Comercio de Rosario*. <https://bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/la-cebada>
- Brown, T. A., Jones, M. K., Powell, W., & Allaby, R. G. (2008). The complex origins of domesticated crops in the Fertile Crescent. *Trends in Ecology & Evolution*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.09.008>
- CACBB. (2013). *NORMA V - CEBADA" ANEXO B. CEBADA FORRAJERA*. [https://cacbb.com.ar/normativa/estandares/Norma V - Cebada Cervecera y Forrajera- R SENASA 27-2013 - A partir de Oct 2014.pdf](https://cacbb.com.ar/normativa/estandares/Norma%20V%20-%20Cebada%20Cervecera%20y%20Forrajera-%20SENASA%2027-2013%20-%20A%20partir%20de%20Oct%202014.pdf)
- Carciochi, W. D., Divito, G. A., Calvo, N. I. R., & Echeverría, H. E. (2015). *De La Región Pampeana Argentina ?7620*, 22–28.
- Cattaneo, M. (2011). Los mercados de cebada cervecera en Argentina y el mundo. In D. J. Miralles, R. L. Benech-Arnold, & L. G. Abeledo (Eds.), *Cebada cervecera* (pp. 275–283).
- Cattaneo, M. (2020). (1) *Charla: Evolución del Cultivo de Cebada en Argentina | Ciclo de*

Charlas CEBA - YouTube. <https://www.youtube.com/watch?reload=9&v=EH6-L79PhIQ&t=1913s>

- Chiwocha, S. D. S., Cutler, A. J., Abrams, S. R., Ambrose, S. J., Yang, J., Ross, A. R. S., & Kermode, A. R. (2005). The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. *The Plant Journal*, 42(1), 35–48.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02359.x>
- D'hooghe, P., Picot, D., Brunel-Muguet, S., Kopriva, S., Avice, J. C., & Trouverie, J. (2019). Germinative and post-germinative behaviours of *Brassica napus* seeds are impacted by the severity of s limitation applied to the parent plants. *Plants*, 8(1), 5–7.
<https://doi.org/10.3390/plants8010012>
- Daverede, I. C., Míguez, F. H., & Scanlan, J. (2016). Effect of Fertilization and Fungicide Application in the Argentine Pampas. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology Malting Barley Quality Parameters* :, 3(9), 1–8.
- De Bernardi, L. A. (2015). *PERFIL DE LA CEBADA*.
- Echeverría, H. E., & Rozas, H. S. (2015). Nitrogeno. In H. E. Echeverría & F. O. Garcia (Eds.), *Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivo* (2nd ed.). INTA PP - Buenos Aires.
- Ellis, R. P., & Marshall, B. (1998). Growth, yield and grain quality of barley. In *Plant development and rate of germination* (pp. 1021–1029).
- FAOSTAT. (2020). *No Title*. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fox, G. P. (2010). Chemical composition in barley grains and malt quality. *Advanced Topics in Science and Technology in China*, 63–98. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01279-2_3
- França-Neto, J. de B., & Krzyzanowski, F. C. (2019). Tetrazolium: An important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science*, 41(3), 359–366.
<https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3223104>
- García, F. O., Boxler, M., Minteguiaga, R., Pozzi, R., Firpo, G., Marin Deza, G., & Berardo, A. (2006). Resultados y conclusiones de los primeros seis años 2000-2005. *La Red de Nutrición de La Región CREA Sur de Santa Fe*.
- García, F. O., & Correndo, A. A. (n.d.). *CALCULO DE REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES*. IPNI.
- García, F. O., & Darwich, N. (2009). La fertilización: tecnología para ostener la producción de nuestros suelos. In D. Ricci (Ed.), *La Argentina 2050, la revolución tecnológica del agro*. CASAFA.
- Gooding M.J., & P.W. Davies. (1997). Wheat Production and utilization. *CAB International*.
- Gutierrez Boem, F. H., Prystupa, P., & Ferraris, G. (2007). Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. *Journal of Plant Nutrition*, 30(1), 93–104.
<https://doi.org/10.1080/01904160601055095>
- Hell, R., Khan, M. S., & Wirtz, M. (2010). Cellular biology of sulfur and its functions in plants. In *Plant Cell Monographs* (Vol. 17, Issue April 2015). https://doi.org/10.1007/978-3-642-10613-2_11
- Hilhorst, H. W. M. (2003). SEED DORMANCY | Development of Dormancy. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 1317–1323. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227050-9/00060-0>
- Kunze, W. (2006). No Title. In *Tecnología para cerveceros y malterosmalteros*. VLB Berlin.

- Lazzari, M. A., Landriscini, M. R., Cantamutto, M. A., Miglierina, A. M., Rosell, R. A., Möckel, F. E., & Echagüe, M. E. (2001). Absorción De Nitrogeno por Cebada Cervecera En Dos Suelos Del Sur Bonaerense, Argentina. *Ciencia Del Suelo*, 19(2), 101–108.
- Lenoir, C., Corbinean, F., & Come, D. (1986). *Barley (Hordeum vulgare) seed donnancy as related to glumella characteristics*. 301–307.
- Locke, J. M. (2000). Contrasting effects of ethylene perception and biosynthesis inhibitors on germination and seedling growth of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Experimental Botany*, 51(352), 1843–1849. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.352.1843>
- Maddoni, G. A., Vilarino, P., & Garcia de Salamone, I. (2011). Dinamica de los nutirentes en el sistema suelo planta. In E. H. Satorre, R. L. Benech-Arnold, G. A. Safler, E. B. De la fuente, D. J. Miralles, M. E. Otegui, & R. Savin (Eds.), *Produccion de granos* (pp. 458–459).
- Maldonado, J. M. (2013). Asimilacion de nitrogeno y azufre. In J. Azcón-Bieto & M. Talón (Eds.), *Fundamentos de fisiologia vegetal* (2nd ed., pp. 287–290). McGrawHill.
- Mengel, K. (2000). *Principios de Nutrición Vegetal*.
- Michiels, C., & Degenhart, S. (2004). Ensayo de Fertilización en Cebada Cervecera, variedad Scarlett. *Informaciones Agronómicas Del Cono Sur*, 22, 4.
- Miralles, D. J., Arisnabarreta, S., & Alzuega, I. (2011a). Desarrollo ontogenico y generacion del rendimiento. In D. J. Miralles, R. L. Benech-Arnold, & G. L. Abeledo (Eds.), *Cebada cervecera*. UBAAgronomía PP - Buenos Aires.
- Miralles, D. J., Arisnabarreta, S., & Alzuega, I. (2011b). Desarrollo ontogenico y generacion del rendimiento. In D. J. Miralles, R. L. Benech-Arnold, & L. G. Abeledo (Eds.), *Cebada cervecera* (pp. 18–28).
- Orcellet, J. M., Ignacio, N., Calvo, R., & Rozas, H. S. (2015). *Eficiencia De Uso De Nitrógeno En Cebada En El Sudeste Bonaerense :June*.
- Pagani, A., Echeverría, H. E., & Rozas, H. S. (2009). Respuesta a nitrógeno y azufre en el cultivo de maíz en diferentes ambientes de la provincia de buenos aires. *Ciencia Del Suelo*, 27(1), 21–29.
- Palma, M., & Segat, A. L. (2011). Nitrogeno del suelo. In M. E. Conti (Ed.), *Edafología, bases y aplicaciones ambientales argentina* (pp. 273–279). UBA.Facultad Agronomía PP - Buenos Aires.
- Prystupa, Berrgh, R., Loewy, T., Ventimiglia, L., Gutierrez Boem, F. H., & Couretot, L. (2008). Fertilización nitrogenada y azufrada en cebada cervecera cv. Scarlett. *Informaciones Agronomicas*, 38, 5–11.
- Prystupa, P. (2012). Nitrogeno. In R. Alvarez, P. Prystupa, V. Rodriguez, & C. Alvarez (Eds.), *Fertilización de cultivos y pastura*. Facultad de Agronomía, Uba PP - Buenos Aires.
- Prystupa, P., & Ferraris, G. (2011). Nutricion mineral y fertilizacion. In D. J. Miralles, R. L. Benech-Arnold, & G. L. Abeledo (Eds.), *Cebada cervecera* (pp. 54–58).
- Prystupa, P., Peton, A., Pagano, E., & Gutierrez-Boem, F. H. G. (2019). Sulphur fertilization of barley crops improves malt extract and fermentability. *Journal of Cereal Science*, 85(June 2018), 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.12.014>
- Prystupa, P., Savin, R., & Slafer, G. A. (2004). Grain number and its relationship with dry matter, N and P in the spikes at heading in response to N x P fertilization in barley. *Field*

- Crops Research*, 90(2–3), 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.03.001>
- Reussi Calvo, N., Echeverría, H., Barbieri, P., & Rozas, H. S. (2006). Nitrógeno y azufre en trigo: ¿Rendimiento y proteína? *Australian Journal of Agricultural Research*, 30, 2004–2006.
- Ross, F., Massigoge, J., & Zamora, M. (2011). *Fertilización de cebada cervecera en el centro sur bonaerense* (Vol. 5, Issue 7500).
- Safler, G. A., Miralles, D. J., Savin, R., Whitechurch, E. M., & Gonzalez, F. G. (2010). Ciclo ontogenico, dinamica del desarrollo y generacion del rendimiento y la calidad del trigo. In E. H. Satorre, R. L. Benech-Arnold, G. A. Safler, E. De la Fuente, D. J. Miralles, M. E. Otegui, & R. Savin (Eds.), *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo* (1st ed., pp. 118–124). Facultad de Agronomía PP - Buenos Aires.
- Salvagiotti, F., Ferraris, G., Quiroga, A., Barraco, M., Vivas, H., Prystupa, P., Echeverría, H., & Gutiérrez Boem, F. H. (2012). Identifying sulfur deficient fields by using sulfur content; N: S ratio and nutrient stoichiometric relationships in soybean seeds. *Field Crops Research*, 135, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.07.011>
- Savin, R., & Aguinga, A. (2011). Los requerimientos de la industria: calidad comercial e industrial y sus determinantes. In D. J. Miralles, R. L. Benech-Arnold, & L. G. Abeledo (Eds.), *Cebada cervecera* (pp. 205–214).
- Shewry, P. R., Franklin, J., Parmar, S., Smith, S. J., & Mifflin, B. J. (1983). The Effects of Sulphur Starvation on the Amino Acid and Protein Compositions of Barley Grain. *Journal of Cereal Science*, 1(1), 21–31. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(83\)80005-8](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(83)80005-8)
- Soriano, A. (1982). La germinación y el establecimiento de las plantas como episodios ecológicos. *Jornada Académica (9 y 10 de Diciembre, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba)*, 58–65.
- Steiner, E., Gastl, M., & Becker, T. (2011). Protein changes during malting and brewing with focus on haze and foam formation : a review. *Eur Food Res Technol*, 190–204. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1412-6>
- Taner, A., Muzaffer, A., & Fazil, D. (2004). Barley: Post-harvest Operations. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 1–64. <http://www.fao.org/3/a-au997e.pdf>
- Ullrich, S. E. (2011). Significance, Adaptation, Production, and Trade of Barley. *Barley: Production, Improvement, and Uses*, 3–13. <https://doi.org/10.1002/9780470958636.ch1>
- Ullrich, S. E., Lee, H., Clancy, J. A., del Blanco, I. A., Jitkov, V. A., Kleinhofs, A., Han, F., Prada, D., Romagosa, I., & Molina-Cano, J. L. (2009). Genetic relationships between preharvest sprouting and dormancy in barley. *Euphytica*, 168(3), 331–345. <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9936-1>
- Wang, Z.-H., Li, S.-X., & Malhi, S. (2007). Effect of phytate and storage conditions on the development of the ‘hard-to-cook.’ *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1237. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Zhao, F. J., Fortune, S., Barbosa, V. L., McGrath, S. P., Stobart, R., Bilsborrow, P. E., Booth, E. J., Brown, A., & Robson, P. (2006). Effects of sulphur on yield and malting quality of barley. *Journal of Cereal Science*, 43(3), 369–377. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.003>

APÉNDICE

Localidad	Tratamiento	Rendimiento (kg/ha)	Calibre (%)	Proteína (%)	N en grano (mg N/g PS)	S en grano (mg S/g PS)	Relación N/S
25 DE MAYO (sitio 43)	Control	4561 ± 425 a	90,98 ± 0,26 a	5,81 ± 0,99 a	9,3 ± 1,59 a	0,87 ± 0,14 a	10,73 ± 1,45 a
	N250	3798 ± 267 b	76,33 ± 6,21 b	9,51 ± 0,48 b	15,22 ± 0,77 b	0,69 ± 0,09 b	22,24 ± 1,74 b
	S20	3719 ± 191 b	89,31 ± 0,94 a	6,32 ± 0,94 a	10,11 ± 1,51 a	0,85 ± 0,003 ab	11,96 ± 1,81 a
	N+S	5180 ± 447 a	85,65 ± 4,30 a	13,11 ± 0,36 c	20,98 ± 0,57 c	0,91 ± 0,09 b	23,13 ± 1,91 b
25 DE MAYO (sitio 44)	Control	6153 ± 551 ab	92,86 ± 0,66 a	6,96 ± 1,26 a	11,14 ± 2,02 a	0,7 ± 0,07 a	14,43 ± 2,35 a
	N250	6189 ± 540 ab	78,55 ± 1,78 b	11,58 ± 0,84 b	18,53 ± 1,34 b	0,92 ± 0,06 b	20,23 ± 2,9 b
	S20	5598 ± 891 a	93,15 ± 1,17 a	7,14 ± 0,31 a	11,43 ± 0,5 a	0,96 ± 0,05 b	11,81 ± 0,75 a
	N+S	7116 ± 207 b	86,38 ± 4,71 c	12,14 ± 0,76 b	19,43 ± 1,22 b	0,97 ± 0,03 b	20,20 ± 1,54 b
JUNIN (sitio 48)	Control	4285 ± 284 a	94,94 ± 0,37 a	6,75 ± 1,39 a	10,8 ± 2,23 a	0,7 ± 0,07 ab	15,35 ± 2,75 a
	N250	3052 ± 118 b	66,39 ± 6,29 b	11,79 ± 0,34 b	18,86 ± 0,54 b	0,58 ± 0,04 a	32,76 ± 3,16 b
	S20	4576 ± 923 a	94,85 ± 1,29 a	5,10 ± 2,06 a	8,17 ± 3,3 a	0,83 ± 0,05 b	9,79 ± 3,40 a
	N+S	5360 ± 607 a	74,56 ± 3,58 c	9,79 ± 0,8 b	15,66 ± 1,29 b	1,05 ± 0,09 c	15,06 ± 2,48 a

Tabla 9: Resumen de las distintas variables analizadas en los ensayos de campo realizados por Gomez et al. (2017). Los valores representan la media ± la desviación estándar (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas con p<0,1 (azul), p<0,05 (verde) y p<0,01 (rojo) a partir de un ANOVA de 1 factor seguido de una comparación con el método LSD Fisher.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEOPTILE S43 CON G..	60	0,86	0,80	55,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	226,98	19	11,95	13,29	<0,0001
TIEMPO	214,87	4	53,72	59,75	<0,0001
TRATAMIENTO	5,93	3	1,98	2,20	0,1033
TIEMPO*TRATAMIENTO	6,18	12	0,52	0,57	0,8505
Error	35,96	40	0,90		
Total	262,94	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,78237

Error: 0,8991 gl: 40

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
1	0,00	12	0,27	A
2	0,07	12	0,27	A
3	0,76	12	0,27	A
4	2,87	12	0,27	B
5	4,88	12	0,27	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,69977

Error: 0,8991 gl: 40

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
N250	1,17	15	0,24	A
S20	1,85	15	0,24	A B
Control	1,91	15	0,24	B
N250+S20	1,92	15	0,24	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 12: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleptile con glumelas correspondiente al sitio 43

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S43 CON GL..	60	0,89	0,84	38,79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14250,97	19	750,05	17,72	<0,0001
TIEMPO	12174,78	4	3043,69	71,91	<0,0001
TRATAMIENTO	1216,44	3	405,48	9,58	0,0001
TIEMPO*TRATAMIENTO	859,76	12	71,65	1,69	0,1053
Error	1693,15	40	42,33		
Total	15944,12	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=5,36815

Error: 42,3288 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

1	0,32	12	1,88	A
2	4,50	12	1,88	A
3	12,97	12	1,88	B
4	28,04	12	1,88	C
5	38,03	12	1,88	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,80142

Error: 42,3288 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

N250	9,02	15	1,68	A
N250+S20	18,57	15	1,68	B
Control	19,70	15	1,68	B
S20	19,80	15	1,68	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 13: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas con glumelas correspondiente al sitio 43

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEOPTILE S44 CON G..	60	0,84	0,76	66,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	167,28	19	8,80	11,04	<0,0001
TIEMPO	161,34	4	40,33	50,57	<0,0001
TRATAMIENTO	2,68	3	0,89	1,12	0,3516
TIEMPO*TRATAMIENTO	3,26	12	0,27	0,34	0,9760
Error	31,90	40	0,80		
Total	199,18	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,73687

Error: 0,7976 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

1	0,00	12	0,26	A
2	1,7E-03	12	0,26	A
3	0,25	12	0,26	A
4	2,31	12	0,26	B
5	4,12	12	0,26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,65907

Error: 0,7976 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

N250	1,00	15	0,23	A
S20	1,34	15	0,23	A
Control	1,45	15	0,23	A
N250+S20	1,56	15	0,23	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 14: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleptile con glumelas correspondiente al sitio 44.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S44 CON GL..	60	0,89	0,83	42,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9663,37	19	508,60	16,22	<0,0001
TIEMPO	8841,25	4	2210,31	70,48	<0,0001
TRATAMIENTO	528,07	3	176,02	5,61	0,0026
TIEMPO*TRATAMIENTO	294,05	12	24,50	0,78	0,6657
Error	1254,41	40	31,36		
Total	10917,78	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,62057

Error: 31,3601 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

1	0,10	12	1,62	A
2	2,64	12	1,62	A
3	8,01	12	1,62	B
4	23,45	12	1,62	C
5	31,14	12	1,62	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,13277

Error: 31,3601 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

N250	7,93	15	1,45	A
N250+S20	14,64	15	1,45	B
Control	14,76	15	1,45	B
S20	14,93	15	1,45	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas con glumelas correspondiente al sitio 44

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEPTILE S48 CON GL..	60	0,98	0,97	19,82

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	243,76	19	12,83	96,15	<0,0001
TIEMPO	232,68	4	58,17	435,96	<0,0001
TRATAMIENTO	4,64	3	1,55	11,59	<0,0001
TIEMPO*TRATAMIENTO	6,44	12	0,54	4,02	0,0004
Error	5,34	40	0,13		
Total	249,10	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,30139

Error: 0,1334 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
1	0,00	12	0,11	A
2	0,01	12	0,11	A
3	0,93	12	0,11	B
4	3,33	12	0,11	C
5	4,94	12	0,11	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,26957

Error: 0,1334 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
N250	1,36	15	0,09	A
S20	1,95	15	0,09	B
Control	2,02	15	0,09	B
N250+S20	2,03	15	0,09	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,60279

Error: 0,1334 gl: 40

TIEMPO TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.			
1 N250+S20	0,00	3	0,21	A		
2 S20	0,00	3	0,21	A		
1 Control	0,00	3	0,21	A		
2 N250	0,00	3	0,21	A		
1 S20	0,00	3	0,21	A		
1 N250	0,00	3	0,21	A		
2 Control	0,01	3	0,21	A		
2 N250+S20	0,04	3	0,21	A		
3 N250	0,54	3	0,21	A	B	
3 N250+S20	0,92	3	0,21		B	C
3 S20	0,99	3	0,21		B	C
3 Control	1,29	3	0,21			C
4 N250	2,66	3	0,21			D
4 N250+S20	3,32	3	0,21			E
4 Control	3,57	3	0,21			E
5 N250	3,62	3	0,21			E
4 S20	3,75	3	0,21			E
5 S20	5,03	3	0,21			F
5 Control	5,24	3	0,21			F
5 N250+S20	5,88	3	0,21			G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Tabla 16: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleptile con glumelas correspondiente al sitio 48.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S48 CON GL..	60	0,98	0,97	15,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18651,23	19	981,64	103,62	<0,0001
TIEMPO	18149,88	4	4537,47	478,95	<0,0001
TRATAMIENTO	309,91	3	103,30	10,90	<0,0001
TIEMPO*TRATAMIENTO	191,44	12	15,95	1,68	0,1075
Error	378,95	40	9,47		
Total	19030,19	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,53963

Error: 9,4739 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
1	0,47	12	0,89	A
2	5,61	12	0,89	B
3	14,38	12	0,89	C
4	32,29	12	0,89	D
5	47,23	12	0,89	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,27151

Error: 9,4739 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
N250	16,12	15	0,79	A
S20	20,74	15	0,79	B
Control	21,29	15	0,79	B
N250+S20	21,83	15	0,79	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 17: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas con glumelas correspondiente al sitio 48.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEOPTILE S43 SIN G..	60	0,98	0,96	16,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	299,03	19	15,74	86,30	<0,0001
TIEMPO	289,63	4	72,41	397,04	<0,0001
TRATAMIENTO	5,97	3	1,99	10,91	<0,0001
TIEMPO*TRATAMIENTO	3,43	12	0,29	1,57	0,1410
Error	7,29	40	0,18		
Total	306,32	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,35235

Error: 0,1824 gl: 40

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
1	0,20	12	0,12	A
2	0,65	12	0,12	B
3	2,14	12	0,12	C
4	4,18	12	0,12	D
5	6,04	12	0,12	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,31515

Error: 0,1824 gl: 40

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
N250	2,25	15	0,11	A
Control	2,43	15	0,11	A
N250+S20	2,87	15	0,11	B
S20	3,02	15	0,11	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 18: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleoptile sin glumelas correspondiente al sitio 43.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S43 SIN GL..	60	0,95	0,93	22,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8246,65	19	434,03	39,96	<0,0001
TIEMPO	7835,01	4	1958,75	180,33	<0,0001
TRATAMIENTO	253,57	3	84,52	7,78	0,0003
TIEMPO*TRATAMIENTO	158,07	12	13,17	1,21	0,3083
Error	434,47	40	10,86		
Total	8681,12	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,71930

Error: 10,8618 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
1	0,70	12	0,95	A
2	4,20	12	0,95	B
3	12,54	12	0,95	C
4	23,89	12	0,95	D
5	30,76	12	0,95	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,43222

Error: 10,8618 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
N250	11,69	15	0,85	A
N250+S20	13,90	15	0,85	A B
Control	14,64	15	0,85	B
S20	17,44	15	0,85	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas con glumelas correspondiente al sitio 44.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEPTILE S44 SIN GL..	60	0,95	0,93	23,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	352,50	19	18,55	42,50	<0,0001
TIEMPO	341,39	4	85,35	195,50	<0,0001
TRATAMIENTO	4,60	3	1,53	3,51	0,0237
TIEMPO*TRATAMIENTO	6,51	12	0,54	1,24	0,2894
Error	17,46	40	0,44		
Total	369,96	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,54517

Error: 0,4366 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

1	0,25	12	0,19	A
2	0,84	12	0,19	B
3	2,06	12	0,19	C
4	4,18	12	0,19	D
5	6,76	12	0,19	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,48761

Error: 0,4366 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

N250	2,45	15	0,17	A
N250+S20	2,71	15	0,17	A
S20	2,91	15	0,17	A B
Control	3,21	15	0,17	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleptile sin glumelas correspondiente al sitio 44.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S44 SIN GL..	60	0,93	0,90	28,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12410,48	19	653,18	29,13	<0,0001
TIEMPO	11949,25	4	2987,31	133,23	<0,0001
TRATAMIENTO	235,24	3	78,41	3,50	0,0241
TIEMPO*TRATAMIENTO	225,99	12	18,83	0,84	0,6105
Error	896,91	40	22,42		
Total	13307,38	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,90706

Error: 22,4227 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
1	0,70	12	1,37	A
2	4,85	12	1,37	B
3	12,33	12	1,37	C
4	26,27	12	1,37	D
5	38,81	12	1,37	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=3,49458

Error: 22,4227 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
N250	13,26	15	1,22	A
N250+S20	17,18	15	1,22	B
Control	17,47	15	1,22	B
S20	18,45	15	1,22	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas sin glumelas correspondiente al sitio 44.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. COLEOPTILE S48 SIN G..	60	0,97	0,95	18,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	318,36	19	16,76	62,14	<0,0001
TIEMPO	315,19	4	78,80	292,21	<0,0001
TRATAMIENTO	1,34	3	0,45	1,66	0,1917
TIEMPO*TRATAMIENTO	1,84	12	0,15	0,57	0,8543
Error	10,79	40	0,27		
Total	329,15	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,42846

Error: 0,2697 gl: 40

TIEMPO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
1	0,26	12	0,15	A
2	0,84	12	0,15	B
3	1,87	12	0,15	C
4	4,36	12	0,15	D
5	6,36	12	0,15	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,38323

Error: 0,2697 gl: 40

TRATAMIENTO Medias n E.E.

	Medias	n	E.E.	
N250	2,53	15	0,13	A
S20	2,67	15	0,13	A
Control	2,86	15	0,13	A
N250+S20	2,89	15	0,13	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de coleptile sin glumelas correspondiente al sitio 48.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LONG. RAICILLAS S48 SIN GL..	60	0,92	0,88	32,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15149,20	19	797,33	23,29	<0,0001
TIEMPO	14885,39	4	3721,35	108,72	<0,0001
TRATAMIENTO	127,51	3	42,50	1,24	0,3073
TIEMPO*TRATAMIENTO	136,30	12	11,36	0,33	0,9784
Error	1369,16	40	34,23		
Total	16518,36	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,82729

Error: 34,2289 gl: 40

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
1	0,68	12	1,69	A
2	5,45	12	1,69	A
3	10,93	12	1,69	B
4	31,35	12	1,69	C
5	41,55	12	1,69	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,31766

Error: 34,2289 gl: 40

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
N250	16,39	15	1,51	A
S20	16,73	15	1,51	A
N250+S20	19,08	15	1,51	A
Control	19,77	15	1,51	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 15: Análisis de Anova y LSD Fisher para el parámetro longitud de raicillas sin glumelas correspondiente al sitio 48.