

## Plan de Gestión de Datos

<b>INFORMACION SOBRE EL PROYECTO</b>	
<b>1. – Título del Proyecto</b>	
<b>- Título del Proyecto (en castellano)</b>	
RECUBRIMIENTO Y AGLOMERACION DE SEMILLAS COMO TECNOLOGÍAS DE MEJORA EN LA IMPLANTACION DE ESPECIES FORRAJERAS NATIVAS	
<b>- Título del Proyecto (en ingles)</b>	
SEED COATING AND AGLOMERATION AS TECHNOLOGIES IN THE STABLISHMENT OF NATIVE FORAGE SPECIES	
<b>-Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen</b>	
<p>La ganadería de cría en nuestro país, se sustenta fundamentalmente de los pastizales. Aunque se han hecho importantes avances en el desarrollo de cultivares de forrajeras nativas para la mejora de la oferta forrajera, aún existen limitantes para su uso en la intersiembra de pastizales o cultivos puros debido a dificultades durante la siembra e implantación. En el presente proyecto se abordarán dos tecnologías: la aglomeración de semillas para siembra convencional y el recubrimiento de semillas para dispersión vía endozoica como tecnologías para mejorar la implantación de forrajeras nativas en pastizales o cultivos puros. El agrupamiento de semillas favorecería la germinación en suelos con costra superficial, debido a que la fuerza de penetración de plántulas emergentes aumenta con un mayor número de semillas sembradas en el mismo lugar. Esto sería particularmente valioso en suelos salinos donde la defloculación de los coloides, causada por la presencia de sales de sodio, genera una costra en la superficie del suelo. Los antecedentes evidencian respuestas diferentes en cuanto a la morfología de las semillas, especie y componentes utilizados para el peleteado. Uno de los objetivos de este proyecto es evaluar materiales del mercado argentino para generar aglomerados de semillas en especies forrajeras nativas y evaluar su efecto en la implantación. Otra técnica factible de incorporar es la utilización de la endozoica como mecanismo de siembra y dispersión. Esto práctica es frecuente entre productores ganaderos para algunas especies forrajeras donde los animales ingieren el forraje en estado reproductivo para luego ser dispersadas con las heces. No obstante, la eficiencia es muy baja debido al daño que genera la digestión ruminal sobre las semillas. Una tecnología que se podría adaptar al recubrimiento y protección de semillas, es la utilizada en la liberación controlada de fármacos, basada en recubrir compuestos con polímeros o capsulas proteicas. El objetivo de este proyecto es evaluar diversos compuestos y técnicas de peleteado que mejoren la eficiencia del pasaje ruminal y de la implantación de especies forrajeras nativas.</p>	
<b>-Descripción del Proyecto (en ingles) Resumen</b>	
Livestock farming in centre-north of Argentina primarily relies on grasslands. Despite significant progress in developing native forage cultivars to enhance forage supply,	

challenges persist in interseeding grasslands or pure crops due to sowing and implantation complexities. This project focuses on two technologies: seed agglomeration for traditional sowing and seed coating for endozoic dispersion, aiming to enhance the integration of native forages in grasslands or pure crops. Seed grouping can enhance germination in soils with surface crusts, as the force required for seedling emergence increases with a higher seed density. This is particularly beneficial in saline soils where sodium salts induce colloid deflocculation, forming a surface crust. Previous studies indicate varied responses based on seed morphology, species, and components used for pelleting. The project aims to assess materials available in the Argentine market for creating seed agglomerates in native forage species and studying their impact on implementation. Another potential technique to explore is the use of endozoic dispersion as a seeding method. While common among livestock producers for certain forage species, this method involves animals ingesting reproductive forage and dispersing it through feces, albeit with low efficiency due to seed damage during rumen digestion. An adaptation worth considering is applying technology similar to controlled drug release, utilizing polymer or protein capsules for seed coating and protection. The project's goal is to evaluate different compounds and pelleting methods to enhance rumen passage efficiency and the establishment of native forage species.

**-Palabras Clave descriptivas del Proyecto (en castellano)**

Peleteado de semillas ; aglomeración de semillas

**- Palabras Clave descriptivas del Proyecto (en ingles)**

Seed coating; seed agglomeration

**2 – Datos del Director/ar del Proyecto**

**- Nombre y Apellido**

Juan Marcelo Zabala

**- Unidad Académica**

Facultad de Ciencias Agrarias

**- Teléfono oficial de contacto**

3496420639

**-Teléfono movil de contacto**

3496536540

**-E-mail del Director/a del Proyecto**

[jmzabala@fca.unl.edu.ar](mailto:jmzabala@fca.unl.edu.ar)

**DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO**

**-Describe la toma de muestras / datos a realizar**

### Aglomeración de semillas

Las evaluaciones se llevarán a cabo para cada especie por separado. Por un lado, se evaluará la firmeza y solidez de la estructura del aglomerado. Para ello se utilizará una muestra de 30 aglomerados, de cada tipo de aglomerado (según adhesivo y técnica de aglomeración) y se le aplicará una fuerza conocida utilizando un medidor de firmeza de frutos o penetrómetro, y se registrará el valor al cual el aglomerado se rompe (Sikhao et al., 2015). Adicionalmente, se tomarán otra muestra de 30 aglomerados y se pondrán individualmente en tubos Eppendorf con 30 ml de agua y se registrará el tiempo necesario para la disolución completa y se registrará la cantidad de semillas por aglomerado (Sikhao et al., 2015).

Una muestra de los aglomerados será incubada a temperatura y humedad óptima de germinación (Quiroga et al., 2009; Zabala et al., 2011; Marinoni et al., 2017) en bandejas con papel de filtro humedecidas con agua destilada estéril y puestas en cámara de germinación junto a semillas solitarias como testigo. Se utilizarán cuatro repeticiones de 25 aglomerados y cuatro repeticiones de semillas desnudas en proporción a las semillas contenidas en la muestra de aglomerados, lo que se utilizará como testigo, y se registrará el porcentaje inicial y final de germinación.

Por otro lado, para cada tipo de aglomerado se realizará una prueba en ambiente controlado en diferentes sustratos, humedad edáfica y profundidad de siembra. Se utilizarán dos sustratos: suelo fértil (horizonte superficial de Argiudol Típico serie Esperanza) y suelo salino (horizonte superficial de Natracualf Típico serie Río Salado), a dos contenidos hídricos: capacidad de campo (CC, determinado por análisis de laboratorio de cada suelo) y 50 % de CC. Se analizarán dos profundidades de siembra (0,5 cm y 1,5 cm). De esta manera quedan definidos ocho tratamientos. Se utilizarán macetas de 15x30x15 cm donde se sembrarán los diferentes tipos de aglomerados y semillas desnudas (en una cantidad que se corresponda con las que contienen los aglomerados). Los contenedores serán puestos en invernadero con ambiente controlado a 30/20 °C (12/12 h) e iluminación natural, durante la primavera. Se utilizarán cuatro repeticiones de 30 aglomerados, para cada tipo de aglomerado, y semillas en una cantidad proporcional. Se evaluará la velocidad de emergencia, a través de la tasa de germinación de Maguire (1962) durante los primeros 14 días. A los 30 días, se registrará el número final de plantas emergidas, el área foliar total (evaluada con un equipo de fenotipado Lab Scanalyser ubicado en la FCA-UNL) y el peso fresco y seco de raíces y parte aérea por plántula al finalizar el ensayo (promedio del total de plántulas emergidas). Al momento de la siembra, todos los contenedores estarán a capacidad de campo. Los contenedores serán pesados cada dos días, para evaluar el contenido hídrico correspondiente, agregando agua en casa de ser necesario, dependiendo del tratamiento.

### Recubrimiento para dispersión endozoica

El análisis de la resistencia mecánica (en extensión y compresión) y reológica de los compuestos y la capacidad de biodegradación in-vitro de las películas en medios simulados (PBS y medio ácido) y en condiciones de tierra permitirá estimar la capacidad del recubrimiento de resistir el acopio, de protección de la semilla en medios extremos y su posterior germinación. En este sentido, estos estudios permitirán establecer correlaciones entre la microestructura y la formulación con el desempeño, permitiendo optimizar la formulación para lograr la mayor resistencia a medios agresivos del tracto digestivo del animal (mantener la viabilidad de la semilla) y permitir la germinación final de la semilla.

Las formulaciones para las que se obtenga resultados aceptables en el paso anterior serán sometidas a una evaluación de citotoxicidad que se realizará a través de un servicio brindado por el ICiVet Litoral (UNL-CONICET). El protocolo a desarrollar se basa en el procedimiento: International Standard ISO-10993-5 (Third edition 2009-06-01), Biological evaluation of medical devices —Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

Las formulaciones poliméricas que superen las instancias previas, serán utilizadas para recubrir las semillas. En primera instancia se utilizarán semillas del cultivar MANCEBO de *Macroptilium lathyroides*, especie con la que se han desarrollado los estudios previos y con la que ya se han logrado avances. Posteriormente, se aplicará la formulación optimizada y la técnica de recubrimiento desarrollada en *Lotus tenuis* y *Leptochloa crinita*. Estas especies son forrajeras nativas de Argentina con cierta tolerancia a salinidad y/o inundación, valiosas a incorporar en los pastizales naturales. Para el recubrimiento de las semillas se utilizará el tambor rotativo experimental HR160 ® Hoopmann Equipment, que se encuentra en proceso de adquisición a través del préstamo BIRF 8867-AR del programa GIRSAR. Se colocará dentro del tambor una cantidad conocida de semillas equivalente a 100 semillas, y se ajustará la dosis de la formulación polimérica y velocidad del tambor para lograr diferentes tamaños de película de 0.25, 0.5 y 1 mm de espesor.

Se evaluará el efecto de la digestión ruminal in vitro y la digestión ácida en semillas recubiertas. Para ambas pruebas se contratará el servicio del Laboratorio de Análisis de Forrajes de la EEA-INTA Rafaela. Semillas recubiertas serán incubadas durante 48 horas en el medio de cultivo descrito para un equipo Daisy II, a una temperatura de 39° C, con agitación continua. Se utilizarán cinco bolsas de nylon por tratamiento (especie, formulación polimérica y tamaños de película), con 50 semillas recubiertas por bolsa. Pasado el tiempo las bolsas serán enjuagadas con agua destilada fría, para detener la digestión y se someterán a la prueba de digestión ácida. Para simular la digestión ácida (en abomaso) se colocarán las muestras que provienen del proceso anterior, en una solución de pepsina y ácido clorhídrico por 4 horas (1 g de pepsina por cada litro de HCL

0,1 N). Las semillas, luego de ambos procesos, serán enjuagadas y sometidas a un test de viabilidad por Tetrazolio y de poder germinativo en condiciones óptimas de temperatura y humedad para cada especie. A tal fin, se colocarán 50 semillas por cada tratamiento en una solución de Tetrazolio al 1-2 % dependiendo la especie durante 24 horas a 28 °C. Luego de ese lapso las semillas se enjuagarán y se cortarán transversalmente para evaluar la coloración, indicadora de la viabilidad de la semillas. Las semillas que fueron sometidas a las pruebas de digestión serán sometidas a un test de poder germinativo en condiciones óptimas de temperatura y humedad (Marinoni et al. 2017, 2018; ISTA, 2018), en bandejas con papel de filtro, con cuatro repeticiones de 25 semillas por tratamiento de recubrimiento y especie. Se evaluará la tasa de germinación de Maguire (1962) y el porcentaje final de germinación a los 21 días.

Adicionalmente, una muestra de semillas será puestas a germinar en un sustrato conteniendo suelo salino (horizonte superficial de Natracualf Típico serie Río Salado), con y sin heces en superficie (Giusti, 2022), en macetas de 15x30x15. Se evaluará el porcentaje de emergencia, a través de la tasa de germinación de Maguire (1962) durante los primeros 14 días. A los 30 días, se registrará el número final de plantas emergidas, el área foliar total (evaluada con un equipo de fenotipado Lab Scanalyser ubicado en la FCA-UNL) y el peso fresco y seco de raíces y parte aérea por plántula al finalizar el ensayo (promedio del total de plántulas emergidas).

<b>– Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad / ser de acceso público? (marque X)</b>	
	<b>SI. Elija una de las opciones:</b>
	no se inició el proceso de evaluación de patentabilidad, pero podría ser protegible
<b>– Período de Confidencialidad: Es el periodo durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El periodo máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad / serán de acceso público.</b>	
<b>Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con “X”.</b>	
	<b>1 (UN) año</b>
	<b>2 (DOS) años</b>
	<b>3 (TRES) años X</b>
	<b>4 (CUATRO) año</b>



	<b>5 (CINCO) años</b>
	<b>Otro.</b>
	<b>Motivos: En el transcurso del proyecto se realizarán las averiguaciones pertinentes para ver si es factible la protección de resultados y de que manera.</b>