

## ESTANDARIZACIÓN NACIONAL DEL MÉTODO DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA PARA ANALIZAR EL VIGOR DE SEMILLAS EN GIRASOL



Instituto de Investigación sobre Producción Agropecuaria, Ambiente y Salud (IIPAAS)

**Expositor: Dr. LÓPEZ, César**

Grupo de Trabajo: C. Szemruch, C. Gallo, M. Murcia, M. Esquivel, M. Aranguren, F. García, J. Medina, D. Rondanini

<http://www.iipaas.com.ar>

### INTRODUCCIÓN

**Importancia de la producción de semillas de oleaginosas.** Argentina juega un papel importante en el mercado mundial de semillas ubicándose como el 2º productor de Sudamérica, el 3º en América y el 9º en el mundo (ASA, 2014). La producción de semillas híbridas de girasol ocupa un lugar relevante con más de 40 empresas que liberan al mercado local e internacional, genética de avanzada (ASAGIR, 2016). El promedio de producción de semilla híbrida para el período 2002-2015 fue de 27.248 t (CORFO Río Colorado, 2016). Gran parte de esta actividad se concentra en la provincia de Buenos Aires agrupando empresas, industrias e instituciones públicas vinculadas a la producción, industrialización y comercialización de semillas (ASA, 2016). Desde el punto de vista estratégico, se plantea la necesidad de que nuestro país incorpore modelos de producción innovadores que impliquen incrementos en el valor agregado y ocupación intensiva de mano de obra calificada (MINCyT, 2015) y la industria productora de semillas de girasol cumple con esas cualidades.

**Regulación nacional e internacional de la producción de semillas.** El empleo de semillas de alta calidad es de gran relevancia, ya que mejora la probabilidad de obtener una emergencia rápida y uniforme en los cultivos. Se estima que las pérdidas económicas por uso de semilla de mala calidad en Argentina superan los 300 millones de pesos al año, afectando cultivos de cereales, oleaginosas y forrajeras (Casini, 2004). A nivel nacional, la evaluación de la calidad de semillas es sostenida por una red de laboratorios estatales y privados de gran experiencia, excelencia y prestigio. A nivel internacional la calidad de las semillas se verifica de acuerdo a los estándares propuestos por la *International Seed Testing Association (ISTA)*.

**Definición y evaluación del vigor de semillas.** El vigor se define como “la suma de las propiedades que determinan la actividad y performance de los lotes de semillas para una germinación aceptable en un amplio rango de ambientes” (ISTA, 2015). Un lote de semillas es vigoroso si es potencialmente capaz de desempeñarse bien, incluso bajo condiciones ambientales que no son óptimas para la especie (ISTA, 2015). En la actualidad se utilizan numerosos test de vigor para diferentes especies vegetales, sin embargo solo unos pocos se encuentran estandarizados y son recomendados por las reglas de la ISTA, en base a su exactitud, reproducibilidad y repetibilidad.

**Vigor de las semillas de girasol.** Los métodos como el envejecimiento acelerado, el deterioro controlado y el test de tetrazolio, requieren excesivo tiempo de evaluación y personal altamente capacitado para el análisis de los resultados. Ello se contrapone con las exigencias de la industria semillera que requiere procedimientos sencillos, rápidos y de bajo costo (Vieira *et al.*, 2004). Además, los test que involucran la germinación de las semillas se ven afectados por los niveles de dormición, los cuales pueden ser elevados en girasol. Por tal razón, la conductividad eléctrica constituye un test de vigor promisorio ya que produce resultados más rápidos (< 24 h) en comparación con otros test y puede ser usado para acortar el período de decisión en las recomendaciones de siembra y venta de la industria de semillas (Silva *et al.*, 2013).

**Conductividad eléctrica en semillas de girasol.** El test de conductividad eléctrica (CE) tiene como objetivo evaluar el grado de daño causado en las membranas celulares como resultado del deterioro de las semillas (ISTA, 2015). Este test fue aplicado en girasol por Braz *et al.* (2008). Recientemente, los rangos de conductividad para la clasificación de los lotes de girasol de acuerdo a su vigor fueron sugeridos por Szemruch *et al.* (2015) identificando a las semillas de vigor alto cuando la CE es de <70  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , de vigor medio cuando se encuentra entre 70 y 110  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , de vigor bajo cuando la CE es >110  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , e inadecuadas para la siembra cuando la CE es > 160  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ .

**Validación del método de Conductividad Eléctrica.** La ISTA tiene como objetivo uniformar los test de evaluación de semillas a través de las Reglas Internacionales para Análisis de Semillas. Antes que un método sea aceptado en las Reglas ISTA, debe someterse a un estudio colaborativo entre laboratorios (*Collaboratively Validated Methods*) para asegurar que brinda resultados confiables y reproducibles de acuerdo con las especificaciones dadas. Se entiende por “validación” al proceso de definición de un método analítico y su confirmación para medir el vigor de las semillas, con una exactitud adecuada. En esta definición está implícita la necesidad de evaluar el rendimiento del método, es decir, su exactitud, reproducibilidad y repetibilidad. El método para determinar vigor en girasol mediante la CE aún no se ha propuesto como protocolo estandarizado en las Reglas ISTA. Como paso previo para esta consideración, se plantea la necesidad de iniciar su validación entre laboratorios a nivel nacional.

## OBJETIVO GENERAL

Validar a nivel nacional el test de conductividad eléctrica para medir el vigor en semillas de girasol.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Confirmar la clasificación del vigor en base al test de CE propuesta en los estudios precedentes.
2. Evaluar la exactitud, reproducibilidad y repetibilidad del test de CE entre y dentro de los laboratorios participantes.
3. Confeccionar un protocolo nacional como paso previo para ser propuesto al Comité de Vigor de la ISTA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron semillas pertenecientes al genotipo IL01 de grano negro estriado y composición de aceite tradicional.

**Tratamientos.** De acuerdo al procedimiento establecido para la validación (ISTA, 2007), la conductividad de los lotes de semillas se evaluó en forma simultánea en 4 laboratorios siguiendo el mismo procedimiento:

1. Laboratorio de Análisis de Semillas de la EEA del INTA Oliveros.
2. Laboratorio de Semillas de la Unidad Integrada EEA INTA-Balcarce y FCA, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP).
3. Laboratorio de Calidad de Semillas de la Bolsa de Comercio de Comercio de Santa Fe.
4. Laboratorio de Calidad de Semillas de la FCA, Universidad Nacional de Lomas de Zamora (UNLZ).

**Almacenamiento.** Las semillas se almacenaron en 3 condiciones contrastantes para crear los niveles de vigor:

- Vigor Alto (Lote 3): almacenamiento a  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Vigor Medio (Lote 1): almacenamiento a temperatura ambiente (entre  $18$  y  $25^{\circ}\text{C}$ )
- Vigor Bajo (Lote 2): almacenamiento a  $28-30^{\circ}\text{C}$

A los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento se midió simultáneamente en los 4 laboratorios la Conductividad Eléctrica (CE): en embriones sin pericarpio sobre 4 repeticiones de 100 semillas colocadas en 75 ml de agua destilada a  $25^{\circ}\text{C}$  por 24 h, usando un conductímetro (Orion 120, Boston, USA) según Braz *et al.* (2008). Los valores de vigor se expresaron en  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  y se clasificaron en base a los rangos identificados por Szemruch *et al.* (2015).

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Se aplicó un diseño en bloques completamente aleatorizados, asignando los bloques a los laboratorios participantes, aleatorizando los lotes o el tiempo de almacenamiento dentro de ellos. Se realizó análisis de varianza (ANVA) y comparación de medias mediante el test LSD con un nivel de significancia del 5%.

**Resultados.** La conductividad a los 3 meses de almacenamiento la CE fue de  $46 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , en promedio para los 4 laboratorios (línea horizontal en los paneles de la Figura 1). A los 9 meses de almacenamiento osciló entre los  $46$  y  $66 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  (Figura 1). Dicho rango de valores fue menor a los  $70 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ , con lo cual las semillas se mantuvieron dentro de la categoría alto vigor.

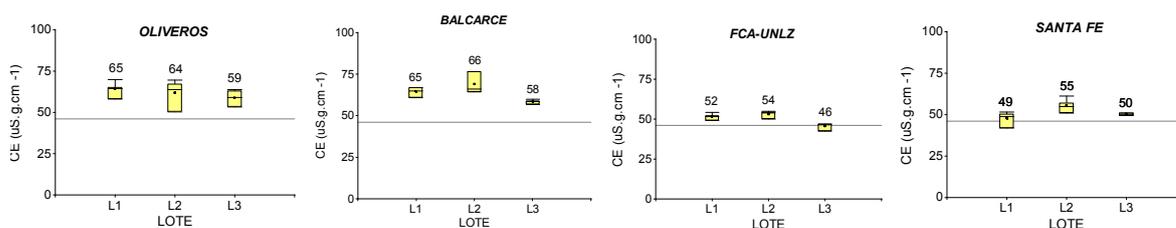


Figura 1. Conductividad Eléctrica (CE) a los 9 meses de almacenamiento en Oliveros, Balcarce, FCA-UNLZ y Santa Fe, para los diferentes lotes (L1, L2 y L3). La línea punteada horizontal indica valor mínimo de CE o máximo de vigor (promedio entre laboratorios a los 3 meses de almacenamiento). Las barras indican el error estándar

El análisis de varianza reveló diferencias significativas en la CE tanto entre lotes ( $p=0.0025$ ) como entre laboratorios ( $p>0.0001$ ). La CE fue mayor en el lote 2, intermedia en el lote 1 y menor en el lote 3 (Tabla 1), coincidiendo con lo esperado de acuerdo al tipo de almacenamiento (mayor vigor en el lote 3, vigor intermedio en el lote 1 y menor vigor en el lote 2).

**Tabla 1. Conductividad eléctrica (CE) en semillas sin pericarpio para los diferentes lotes (promedio de los 4 laboratorios) medidas a los 9 meses de almacenamiento**

LOTE	CE ( $\mu\text{s cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	
L2	60	A
L1	57	A B
L3	54	B

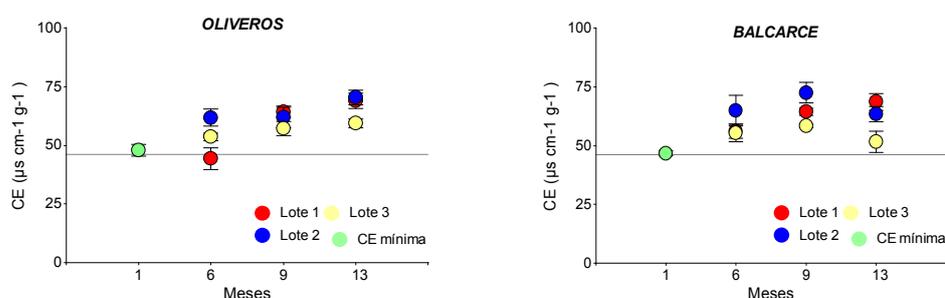
**Tabla 2. Conductividad eléctrica (CE) en semillas peladas para los diferentes laboratorios (promedio de todos los lotes)**

Laboratorio	CE ( $\mu\text{s cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	
BALCARCE	64	A
OLIVEROS	62	A
SANTA FE	52	B
FCA-UNLZ	50	B

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

Para la validación es importante que no haya diferencias significativas entre laboratorios. En cuanto a esto, se identificaron dos grupos (Tabla 2), Balcarce y Oliveros (similares entre sí) por un lado y FCA-UNLZ y Santa Fe por el otro (también similares entre sí). Esto indicó diferencias en los resultados entre los grupos de laboratorios y la necesidad de ajustar detalles en la metodología empleada, posiblemente en el proceso de remoción de la cáscara, la cual puede generar daños al embrión o bien diferencias en la temperatura ambiente durante la medición.

También, se observó un aumento progresivo en los valores de CE, especialmente en los lotes 1 y 2, almacenados en las peores condiciones. Se espera que las diferencias en el tiempo se magnifiquen conforme avanza el tiempo de almacenamiento y el deterioro de las semillas.



**Figura 2. Evolución de Conductividad Eléctrica (CE) para los lotes 1, 2 y 3 de semilla de girasol durante 13 meses de almacenamiento, medida en laboratorios de Oliveros y Balcarce. La línea punteada horizontal indica valor mínimo de CE o máximo de vigor (promedio entre laboratorios a los 3 meses de almacenamiento). Las barras indican el error estándar.**

## CONCLUSIONES

El método de CE en semillas sin pericarpio resultó efectivo para identificar y clasificar los lotes de girasol de acuerdo a su vigor. La comparación entre laboratorios resultó satisfactoria. Las pequeñas diferencias entre grupos de laboratorios requieren ajustar detalles en la metodología empleada. Para la propuesta definitiva del test, el análisis de la exactitud, reproducibilidad y repetibilidad del test requiere: (I) complementar estos resultados preliminares con el análisis de la CE durante mayor tiempo de almacenamiento que permita explorar mayores niveles de deterioro, (II) incluir una mayor cantidad de lotes y (III) realizar la correlación con la emergencia a campo.