Validación del modelo de curvas de Conductividad Eléctrica en el tiempo en cultivares de soja y trigo

A. Peruzzo R. Pioli A. Salinas

A. Peruzzo [1]; R. Pioli [2] y A. Salinas [3]

1) Becaria CONICET. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino CC N° 14, Zavalla, Santa Fe, Argentina.
2) Profesor Asociado. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino CC N° 14, Zavalla, Santa Fe, Argentina.
3) Investigador CIUNR Cat. "B". Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Campo Experimental Villarino CC N° 14, Zavalla, Santa Fe, Argentina. E-mail: arsalinas@gmail.com.

RESUMEN

La integridad de la membrana, medida por la Conductividad Eléctrica (CE), se considera un indicador del vigor de muchas especies de semillas. El objetivo de este estudio se dividió en dos partes. La primera consistió en validar un modelo matemático empleado previamente en semillas de soja (*Glycine max* L. Merrill) para evaluar curvas de CE en el tiempo y valorar así distintos materiales. La segunda radicó en determinar el método de operación del equipo para cariopsis de trigo (*Triticum aestivum* L.). Se usaron 8 muestras de soja expuestas a distintos ambientes controlados de invernadero y de lotes de producción, que fueron cosechados tanto manual como mecánicamente entre 2010 y 2012 en la provincia de Santa Fe, Argentina. Además, se usaron 18 muestras de trigo expuestas también a condiciones ambientales controladas de invernadero y lotes de producción, provenientes del mismo período y la misma provincia. Todas las muestras se ajustaron a una humedad entre 10 y 14 % y se conservaron en bolsas de papel madera a 4 °C hasta su uso. Se midieron las curvas de CE para 100 semillas y cariopsis individuales de cada muestra durante 20 horas de inmersión a intervalos de 3 minutos, usando el analizador automático de semillas SAD 9000S. El comportamiento de todas las muestras de semillas de soja se ajustó favorablemente al modelo previamente propuesto. Además, las muestras de cariopsis presentaron curvas de acumulación de electrolitos lixiviados en el tiempo que se ajustaron de manera propicia a las condiciones sugeridas para el caso de soja. El método de evaluación del vigor a través de la medición de la CE individual permitió validar el modelo matemático de las curvas de CE en semillas de distintos cultivares de soja y de cariopsis de trigo. Este método fue eficiente además, para identificar muestras que presenten diferencias de potencialidad de emergencia a campo.

Palabras clave: *Glycine max, Triticum aestivum, Conductividad Eléctrica, Vigor, SAD 9000S.*

Electric Conductivity Model Curves validation over time in soybean and wheat cultivars

ABSTRACT

The membrane integrity, measured as electrical conductivity (EC), is considered an indicator of the strength of many species of seeds. The objective of this study was divided into two parts. The first one was to validate a mathematical model previously employed in soybean seeds to evaluate EC curves in time and thus assess different materials. The second consisted in determining the equipment operation method in wheat cariopsis of 8 samples of soybean, all of them exposed to greenhouse and field environments, and both manually and mechanically harvested in 2010 and 2012 in Santa Fe province, Argentina. Additionally, 18 samples of wheat also exposed to different greenhouse and environmental conditions from the same province were used. All samples were adjusted to a humidity between 10 and 14% and stored in paper bags at 4°C until use. CE curves for 100 individual seeds and caryopses of each sample were measured for 20 hours immersion in 3 minute intervals using automatic seed analyzer SAD 9000S. The behaviour of all soybean samples favourably adjusted to the model previously proposed. In addition, caryopses samples showed time accumulation electrolytes leaching curves that adjusted the suggested conditions for the case of soybean. The vigour evaluation method through measurement of individual EC allowed to validate the mathematical model of EC curves in seeds from different soybean and wheat cultivars. The method was also efficient to identify samples with differences in potential emergency in the field.

Keywords: *Glycine max, Triticum aestivum, Electric Conductivity, Vigour, SAD 9000S.*

Introducción

Las técnicas de diagnóstico fisiológico en semillas permiten corroborar su calidad y brindan información útil para la toma de decisiones con respecto a la aptitud de diferentes lotes (Copeland y Mc Donald, 2001; Tekrony, 2003; ISTA, 2012). Mediante este tipo de técnicas se puede evaluar el daño ocasionado por: i) la colonización fúngica de las semillas (Soave y Wetzel, 1987), ii) el deterioro inducido por micotoxinas fúngicas (Popinigis, 1985) iii) el ataque de insectos (Neethirajan y col., 2007), iv) los estrés ambientales, tales como salinidad (Afzal y col., 2005), almacenamiento (Vieira y col., 2001; de Alencar y col., 2006), anegamiento (Hsu y col., 2000), productos químicos (Krishnasamy y Seshu, 1990), entre otros.

Dentro de las técnicas de diagnóstico fisiológico, aquellas que evalúan el vigor de las semillas son muy importantes para el productor, ya que permiten evaluar el potencial de emergencia y posterior establecimiento de las plántulas en el lote (Vieira y col., 2004; Afzal y col., 2005; Muasya y col., 2008). La Prueba de CE es una de las más importantes técnicas de evaluación del vigor en semillas de distintas especies. En las Reglas internacionales de semillas de ISTA (2012), se indica que esta técnica permite la evaluación de todas las especies cultivadas. Muchos autores han confirmado que la prueba de CE es un indicador más eficiente de la emergencia a campo que la prueba de Germinación Estándar para el caso de *Glycine max* L. Merrill (Vieira y col., 1999; Vieira y col., 2001; Vieira y col., 2004), *Pisum sativum* L. (Vieira y col., 1999), *Sorghum bicolor* L. Moench (Hsu y col., 2000), *Triticum aestivum* L. (Soltani y col., 2001; Afzal y col., 2005), *Archontophoenix alexandrae* (F.Muell.) H.Wendl. & Drude (Martins y col., 2003), *Zea mays* L. (Wambugu y col., 2009; Araújo y col., 2014), entre otros. Debido a su alta capacidad de resolución, confiabilidad y excelentes resultados obtenidos en diferentes especies, es recomendada por los laboratorios de análisis de semillas.

La prueba de CE es un método indirecto que implica la evaluación del vigor mediante la medición de características de la semilla asociadas con algún aspecto del rendimiento de plántulas (ISTA, 2012). La medida de la CE del agua que contiene a una semilla da una estimación del vigor de la misma, donde las semillas envejecidas y dañadas mecánica o ambientalmente muestran más CE que las semillas sanas (Edge y Burries, 1970; Loeffler y col. 1988; Hampton, 1995). Esta técnica se basa en la existencia de una alta correlación entre el deterioro de las semillas y la pérdida de electrolitos (Keeling, 1974; Powell, 1986).

A pesar de que la prueba de CE se realiza normalmente usando un grupo de semillas (CE masal) (Hsu y col., 2000; Matthews y col., 2009), hace unos años se introdujo una modificación a la metodología proponiendo la medición de CE individual de semillas (Hamman *et al.*, 2001). A fin de automatizar la medición individual de CE en semillas, la empresa Consultar Ingeniería Informática (1998) desarrolló junto a investigadores de la Estación Experimental Agropecuaria Oliveros-INTA el Analizador Automático de Semillas SAD 9000-S. El mismo es en sí mismo un conductímetro múltiple con capacidad para analizar hasta 100 semillas simultáneamente, obteniendo resultados que pueden expresarse en CE individual por gramo de semillas. El SAD 9000-S realiza la medición de la conductividad eléctrica de los exudados de cada una de las semillas en forma objetiva. Desde un punto de vista teórico, este equipo puede evaluar cualquier especie de semilla, obteniéndose resultados de vigour individual con una gran confiabilidad y de una manera rápida y precisa. Salinas y col. (2010) han realizado una estandarización de la prueba para la óptima utilización del equipo, de manera que los resultados del análisis puedan compararse y repetirse entre diferentes laboratorios.

El objetivo de este trabajo consistió en validar el modelo matemático de las curvas de CE sugeridas para distintos cultivares de soja y determinar el método de operación del equipo para cariopsis de distintos cultivares de trigo.

Materiales y Métodos

Material Vegetal. Se utilizaron cuatro cultivares de soja, algunos de ellos provenientes de lotes de producción de la provincia de Santa Fe y otros procedentes de un invernadero desarrollado en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR (Tabla 1). De la misma manera, se evaluaron diez cultivares de trigo, bajo las mismas condiciones (provenientes de lotes de producción y otros producidos en invernadero en la misma Facultad, Tabla 2).

Los cultivares de soja y trigo de lotes de producción fueron cosechados mecánicamente, mientras que aquellos producidos en invernadero se cosecharon manualmente.

Determinación del Contenido de Humedad en granos. Se midió el contenido de humedad de las semillas de soja y los cariopsis de trigo y se ajustaron, cuando fue necesario, dentro del rango aceptable para ISTA (10 al 14%). Cuando se contaba con 100 g o más de semillas o cariopsis, se utilizó un humidímetro (equipo Motomco999-frtactil, Argentina). En el caso de no poder utilizarlo, la determinación se realizó mediante el método de estufa a temperatura constante (estufa de secado sistema BLAST serie SE70SDB, Argentina) (ISTA, 2012). El cálculo de humedad para cada réplica se llevó a cabo utilizando una balanza de precisión con tres decimales y se expresó como porcentaje.

Prueba de CE. Se midió la conductividad eléctrica de 100 semillas de soja o cariopsis de trigo individualmente durante 20 h de inmersión, a intervalos de 3 min (Salinas y col., 2010). La lectura se realizó utilizando el analizador automático SAD 9000-S (MR Consultar Ingeniería Informática, Rosario, Argentina). El equipo consiste en un cabezal múltiple de 100 pares de electrodos, una interfaz y un programa de computadora que

permite la medición de la conductividad del lixiviado de semillas individuales y la manipulación de datos de CE. Cada semilla o cariopsis se colocó en un recipiente de plástico que contenía 7 mL de agua destilada estéril (CE entre 0 a 5 $\mu S.cm^{-1}$). Se pesó el grupo de 100 semillas o cariopsis de cada tratamiento antes de la inmersión. Para esta prueba se consideró a cada semilla o cariopsis como una repetición estadística. La interpretación del comportamiento de la CE a lo largo de tiempo se llevó a cabo a través del programa Graph Pad Prism (Graph Pad Software, Inc. La Jolla, CA, EE.UU.), de acuerdo con una previa elección del modelo estadístico (Salinas y col., 2010). Se calcularon los valores del coeficiente de determinación (R^2) para los valores de las curvas. Los tratamientos fueron caracterizados y agrupados por ANAVA para los dos parámetros principales de las curvas (Infostat, 2014).

Resultados y Discusión

Determinación del Contenido de Humedad en Semillas y Cariopsis. La humedad de las semillas y cariopsis se consideró aceptable dentro de los valores recomendados para la realización de la prueba de CE (entre el 10 y el 14 %). La diferencia máxima entre las dos repeticiones para cada muestra no excedió el 0,2 %.

Prueba de CE. Los resultados de la prueba de vigour por CE mostraron diferencias entre los cultivares, tanto en las muestras de soja como en las de trigo. Entre las muestras de soja (Figura 1), las que mostraron la más alta CE, es decir el vigour más bajo, fueron los Ms 2 y Ms 3, ambas provenientes de producción en invernadero. El vigour más alto se observó en las muestras Ms 6, Ms 7 y Ms 8. El resto de los materiales mostraron performances intermedias. En todos los casos el R2 superó el valor de 0,98, exhibiendo así que el modelo matemático propuesto se ajustó muy bien a los datos obtenidos.

En trigo (Figura 2), las muestras que presen-

Tabla 1. Muestras de semillas de soja utilizadas para la evaluación de las curvas de Conductividad Eléctrica

Muestra Nº.	Origen	Cultivar	Ciudad, año de recolección
Ms 1	Producción en invernadero	CSOSU.1 (a)	Zavalla, 2012
Ms 2		CSOSU.1 (b)	Zavalla, 2012
Ms 3		CSOSU.1 (c)	Zavalla, 2012
Ms 4		CSOSU.1 (d)	Zavalla, 2012
Ms 5	Lotes de producción	CSOSU.1	Venado Tuerto, 2010
Ms 6		A3700	Salto, 2010
Ms 7		Torcacita 58	Salto, 2010
Ms 8		NA3731	Salto, 2010

(a) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de arveja, (b) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de haba, (c) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de soja, (d) control sin inocular de invernadero.

Tabla 2. Muestras de cariopsis de trigo utilizadas para la evaluación de calidad sanitaria

Muestra Nº.	Origen	Cultivar	Ciudad, año de recolección
Mt 1	Producción en invernadero	Federal (a)	Zavalla, 2012
Mt 2		Federal (b)	Zavalla, 2012
Mt 3		Federal (c)	Zavalla, 2012
Mt 4		Federal (d)	Zavalla, 2012
Mt 5		BioINTA 1006 (a)	Zavalla, 2012
Mt 6		BioINTA 1006 (b)	Zavalla, 2012
Mt 7		BioINTA 1006 (c)	Zavalla, 2012
Mt 8		BioINTA 1006 (d)	Zavalla, 2012
Mt 9	Lotes de producción	Federal	Oliveros, 2010
Mt 10		BioINTA 1006	Oliveros, 2010
Mt 11		Gavilán	Pujato, 2010
Mt 12		Cronox	Pujato, 2010
Mt 13		Baguette 9	Casilda, 2010
Mt 14		Baguette 11	Fuentes, 2010
Mt 15		Baguette 17	Casilda, 2010
Mt 16		ACA315	Casilda, 2010
Mt 17		Themix 1	Casilda, 2010
Mt 18		Themix 2	Casilda, 2010

(a) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de arveja, (b) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de haba, (c) Inoculación con aislamiento fúngico proveniente de soja, (d) control sin inocular de invernadero.

taron la más alta CE fueron Mt 5, Mt 6 y Mt 9. El vigor más alto se observó en los cultivares Mt 2, Mt 4, Mt 8, Mt 10, Mt 11, Mt 12, Mt 13, Mt 14, Mt 15, Mt 16, Mt 17 y Mt 18. El resto de las muestras mostraron desempeños intermedios. En todas las curvas obtenidas el R2 fue superior a 0,98, presentando un buen ajuste estadístico con el modelo matemático propuesto

Se realizó un Análisis Multivariado de Componentes Principales para confirmar que la ecuación matemática propuesta permitiera clasificar distintos tipos de muestras de acuerdo al valor del vigor. En las Tablas 3 y 4 se presentan los valores de los parámetros Bmax y Kd para las distintas curvas de soja y trigo, respectivamente. El parámetro Bmax se refiere a la asíntota de la curva; cuanto menor es el valor de la asíntota, menor es el deterioro de la semilla. Por otro lado, el parámetro Kd se refiere al tiempo que se requiere para alcanzar un valor de CE igual a la mitad de la asíntota. En este caso, se evalúa la velocidad de lixiviación de los iones.

Los valores de Componentes Principales permitieron agrupar las distintas muestras de soja (Figura 3) y trigo (Figura 4) a través de las variables sugeridas por este método. De esta manera, fue posible diferenciar el vigor de las muestras de soja y trigo de acuerdo con los coeficientes Kd y Bmax de las curvas. El primer Componente Principal (CP) separó los valores más altos del parámetro Bmax a la derecha de la gráfica de los valores más bajos de la izquierda. El segundo CP dividió las muestras de acuerdo con los valores más altos del coeficiente Kd arriba y los más bajos por debajo.

En este trabajo se corroboró que la medición del vigor en semillas de soja y trigo mediante la prueba de CE es un método eficiente para la determinación de esta cualidad.

Los cariopsis de trigo presentaron diferencias estadísticamente significativas en las curvas de lixiviación durante 20 horas. Por otro lado, el tiempo mínimo de lixiviación para alcanzar la estabilización de las semillas de soja

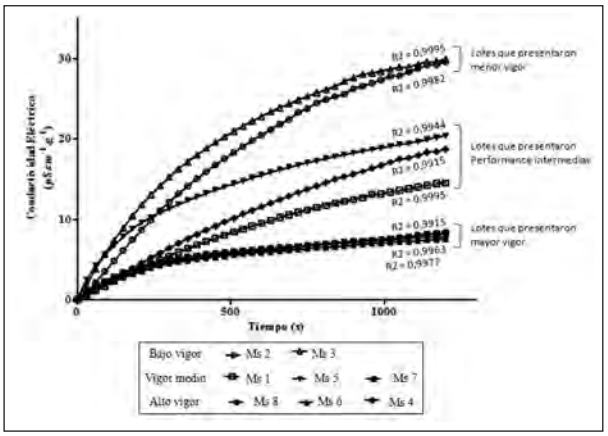

Figura 1. Curva de ajuste de la CE (µS.cm^{-1}.g^{-1}) en muestras de soja durante veinte horas.

Tabla 3. Valores de los parámetros Bmax y Kd para las curvas de CE de semillas de soja

Muestra Nº.	Parámetros de la curva	
	Bmax	*Kd*
Ms 1	0,4591	31,990
Ms 2	1,1800	38,650
Ms 3	0,2660	7,685
Ms 4	0,6427	36,240
Ms 5	0,3456	13,800
Ms 6	0,0817	8,556
Ms 7	0,1456	13,770
Ms 8	0,1001	9,866

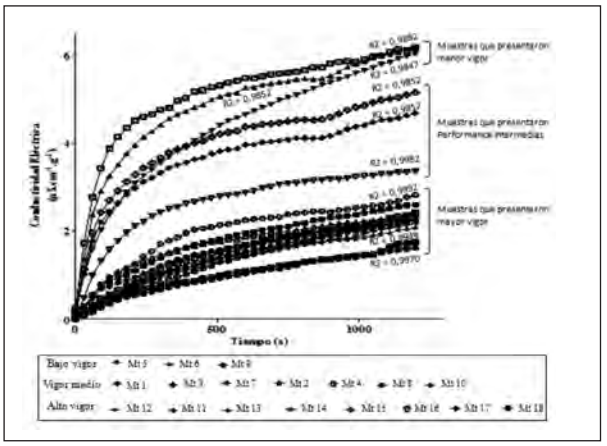

Figura 2. Curva de ajuste de la Conductividad Eléctrica (µS.cm^{-1}.g^{-1}) en muestras de trigo durante veinte horas

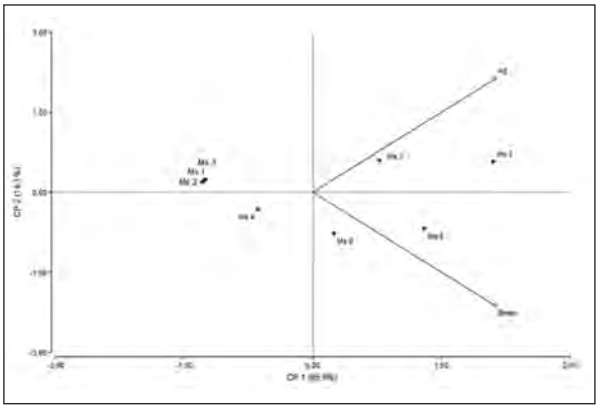

Figura 3. Biplot del primer y segundo CP en semillas de soja para las muestras expuestas a diferentes condiciones ambientales

Tabla 4. Valores de los parámetros Bmax y Kd para las curvas de CE de cariopsis de trigo

Muestra Nº.	Parámetros de la curva	
	Bmax	*Kd*
Mt 1	3,793	172,6
Mt 2	2,757	260,3
Mt 3	5,388	130,7
Mt 4	6,337	85,18
Mt 5	7,169	293,1
Mt 6	6,492	130,7
Mt 7	4,888	130,7
Mt 8	3,375	415,0
Mt 9	3,382	310,0
Mt 10	2,973	415,0
Mt 11	3,667	810,7
Mt 12	3,372	798,1
Mt 13	3,322	708,8
Mt 14	3,884	826,1
Mt 15	5,234	1570
Mt 16	3,593	664,2
Mt 17	2,907	1014
Mt 18	2,744	8,396

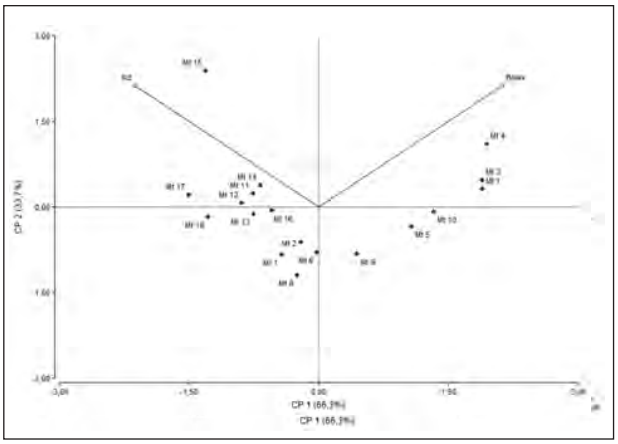

Figura 4. Biplot del primer y segundo CP en cariopsis de trigo para las muestras expuestas a diferentes condiciones ambientales.

fue de 20 horas, tal cual lo sugerido por Salinas y col. (2010). A su vez, los resultados de las curvas de lixiviación en trigo durante el mismo tiempo de remojo confirman que el período de exposición de los cariopsis es suficiente para mostrar diferencias estadísticamente significativas entre las muestras. No obstante, sería interesante realizar estudios de tiempos de lixiviación para muestras de semillas de otras especies. Considerando que la medición de CE masal lleva como mínimo 24 horas (Mohammadi y col., 2011; Sadeghi y col., 2011), se propone en este trabajo el análisis de un elevado número de muestras en un menor tiempo. El tiempo de lixiviación de 20 horas para soja y trigo, sigue siendo hasta la fecha muy similar a lo usado generalmente en laboratorios de análisis de semillas.

Conclusión

El método de evaluación del vigor a través de la medición de la CE individual, permite validar el modelo matemático de las curvas de CE en semillas de distintos cultivares de soja y de cariopsis de trigo y es eficiente además, para identificar muestras que presenten diferencias de potencialidad de emergencia a campo.

Bibliografía

AFZAL I., BASRA S. M. A., IQBAL A. 2005. The effects of seed soaking with plant growth regulators on seedling vigour of wheat under salinity stress. Journal of Stress Physiology & Biochemistry 1(1): 6-14.

ARAÚJO É. de O., VITORINO A. C. T., MERCANTE F. M., NUNES D. P., SCALON S. de P. Q. 2014. Remove from marked records quality of corn seed in response to nitrogen fertilization and inoculation with diazotrophic bacteria. Revista Brasileira de Ciencias Agrárias 9(2): 159-165.

CONSULTAR INGENIERÍA INFORMÁTICA. Analizador Automático de Semillas SAD 9000-S. Versión 4.1.0 serial.

COPELAND L. O., MCDONALD M. B. 2001. Seed germination. Principles of Seed Science and Technology. Springer US. 72-123.

DE ALENCAR E. R., FARONI L. R. D. A., DE LACERDA FILHO A. F., FERREIRA L. G., MENEGHITTI M. R. 2006. Influence of different storage conditions on soybean grain quality. In: Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection, ABRAPOS, Passo Fundo, RS, Brazil, 15-18 October 2006. (pp. 30-37). Brazilian Post-Harvest Association (ABRAPOS).

EDGE O. T., BURRIES J. S. 1970. Seedling vigour in soybeans. Proceedings Association of Official Seed Analysts. Ed. AOSA. Ithaca, NY, p.149-157.

HAMMAN B., HALMAJAN H., EGLI D. B. 2001. Single seed conductivity and seedling emergence in soybean. Seed Science and Technology 29(3): 575-586.

HAMPTON J. G. 1995. Conductivity test. In: Seed Vigour Testing Seminar, Handbook. Copenhagen: [Proceedings]. International Seed Testing Association, p. 10-28.

HSU F., LIN J., CHANG S. 2000. Effects of waterlogging on seed germination, electric conductivity of seed leakage and developments of hypocotyl and radicle in sudan grass. Bot. Bull. Acad. Sin. 41: 267-273.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, 2012. 362 p.

KEELING B. L. 1974. Soybean seed rot and the relation of seed exudates to host susceptibility. Phytopathology 64(11): 1445-1447.

KRISHNASAMY V., SESHU D. V. 1990. Phosphine fumigation influence on rice seed germination and vigour. Crop science 30(1): 82-85.

LOEFFLER T. M., TEKRONY D. M., EGLI D. B. 1988. The bulk conductivity test as an indicator of soybean quality. Journal of Seed Technology 12(1): 37-53.

MARTINS C. C., BOVI M. L. A., NAKAGAWA J. 2003. Desiccation effects on germination and vigour of King palm seeds. Hortic. Bras. 21(1): 88-92.

MATTHEWS S., DEMIR I., CELIKKOL T., KENANOGLU B. B., MAVI K. 2009. Vigour tests for cabbage seeds using electrical conductivity and controlled deterioration to estimate relative emergence in transplant modules. Seed Science and Technology 37(3): 736-746.

MUASYA R. M., LOMMEN W. J. M., MUUI C. W., STRUIK P. C. 2008. How weather during development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) affects the crop's maximum attainable seed quality. NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences 56(1): 85-100.

NEETHIRAJAN S., KARUNAKARAN C., JAYAS D. S., WHITE N. D. G. 2007. Detection techniques for stored-product insects in grain. Food Control 18(2): 157-162.

POPINIGIS F. 1985. Fisiologia da semente. Ministerio da Agricultura Brasil. Brasilia, 289 p.

POWELL A. A. 1986. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. Journal of Seed Technology 10(2): 81-100.

SALINAS A. R., CRAVIOTTO R. M., BELTRÁN C., BISARO V., YOLDJIAN A. M. 2010. Electrical conductivity of soybean seed cultivars and adjusted models of leakage curves along the time. Revista Caatinga 23(1): 1-7.

SOAVE J., WETZEL M. M. V. 1987. Patologia de sementes. Campinas, Brazil: Fundação Cargill.

SOLTANI A., ZEINALI E., GALESHI S., LATIFI N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigour traits in wheat from the Caspian Sea coast of Iran. Seed science and technology 29(3): 653-662.

TEKRONY D. M. 2003. Precision is an essential component in seed vigour testing. Seed Science and Technology 31(2): 435-447.

VIEIRA R. D., PAIVA-AGUERO J. A., PERECIN D., BITTENCOURT S. R. M. 1999. Correlation of electrical conductivity and other vigour tests with field emergence of soybean seedlings. Seed science and technology 27(1): 67-75.

VIEIRA R. D., TEKRONY D. M., EGLI D. B., RUCKER M. 2001. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. Seed science and technology 29(3): 599-608.

VIEIRA R. D., NETO A. S., BITTENCOURT S. R. M., PANOBIANCO M. 2004. Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. Scientia Agricola 61(2): 164-168.

WAMBUGU P. W., MATHENGE P. W., AUMA E. O., VAN RHEENEN H. A. 2009. Efficacy of traditional maize (*Zea mays* L.) seed storage methods in western Kenya. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development 9(4).