



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**“ESTUDIO DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLAS DE GIRASOL  
(*Helianthus annuus* L.) DURANTE SU PROCESAMIENTO: un caso particular”**

Ing. Agr. Josefina Araujo- UNR

TRABAJO FINAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
**Especialista en Producción de Semillas de Cereales, Oleaginosas y Forrajeras**

**DIRECTOR:** Ignacio Rosasco \*

**CO- DIRECTOR:** Carlos Gosparini \*\*

AÑO: 2017



**“ESTUDIO DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLAS DE GIRASOL  
(*Helianthus annuus* L.) DURANTE SU PROCESAMIENTO: un caso particular”**

Josefina Araujo Heras

Ingeniera Agrónoma. Facultad de Ciencias Agrarias UNR.

Este Trabajo Final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado académico de Especialista en Producción de Semillas de Cereales, Oleaginosas y Forrajeras de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en Venado Tuerto (Tecnoseeds) y Zavalla (Facultad de Cs. Agrarias - UNR), durante el período comprendido entre septiembre 2013- Marzo 2014, bajo la dirección del Ing. Agr. Ignacio Rosasco y el Ing. Agr. Carlos Gosparini.

Autor: Josefina Araujo Heras

Director: Ing. Ignacio Rosasco

Co-Director: Ing. Carlos Gosparini

Defendida: 26 de Mayo de 2017

**Agradecimientos:**

Mi agradecimiento a la Facultad de Ciencias Agrarias UNR y a la empresa Tecnoseeds SA Venado Tuerto, por poner a disposición sus instalaciones y laboratorios donde se llevaron a cabo las determinaciones y análisis de éste Trabajo Final.

A la Dr. Adriana Salinas, por su donación de materiales y su colaboración en procedimientos y análisis de resultados.

A la Ing. Alicia Morant y al Ing. Carlos Gosparini, por colaborar durante todas las etapas de la tesis.

A la Dr. Raquel Benavidez por su aporte en el análisis e interpretación de datos.

### **Abreviaturas y Símbolos:**

ANOVA: Análisis de varianza

CC: centímetros cúbicos

C. ext: cuerpos extraños

G1: Grado 1

G1/G2: Grado 1 junto con Grado 2

G2: Grado 2

G3/G4: Grado 3 junto con Grado 4

G3: Grado 3

G4: Grado 4

H: horas

Mg: Miligramos

P: peso

PG: Prueba de germinación estándar

EA: Prueba de envejecimiento acelerado

CT: Prueba de frío

Sem: semilla

TZ: Tetrazolio

Tn: tonelada

CE: Prueba de conductividad eléctrica

CV: Coeficiente de variación

Pág.: Página

pl: Planta

Fig.: Figura

$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  : microsiemens por cm

t: Tonelada

ha: Hectárea

Kw: kilovatio

EEUU: Estados Unidos

ISTA: international seed testing association

FCA: Facultad de Ciencias Agrarias

ASAGIR: Asociación Argentina de Girasol

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

AOSA: Association of Official Seed Analysts

## **RESUMEN**

Se analizó la incidencia que tiene el procesamiento de semilla de girasol, sobre su calidad fisiológica, durante la secuencia operativa de la planta de procesamiento de Tecnoseeds Venado Tuerto.

Se utilizaron dos híbridos de cáscara negra. Se evaluaron ocho etapas de procesamiento: 1) Testigo (ingreso a la planta de procesamiento), 2) Prelimpieza, 3) Salida conjunta grado 1 y 2, 4) Salida conjunta grado 3 y 4, 5) Grado 1, 6) Grado 2, 7) Grado 3 y 8) Grado 4.

La calidad fisiológica de las semillas se determinó mediante las técnicas de Prueba de germinación estándar, Prueba de frío, Prueba de envejecimiento acelerado, Viabilidad por Prueba topográfica por Tetrazolio y Prueba de conductividad eléctrica a las 4 y 20 horas. Los resultados se analizaron mediante ANOVA y comparación de medias de Test de Tuckey y Duncan. Se encontró que durante las distintas etapas de procesamiento la calidad fisiológica de las semillas de girasol no fue afectada. Postulamos que, la capacidad de las semillas de girasol, de conservar su calidad fisiológica durante el procesamiento, podría atribuirse fundamentalmente a las características estructurales del aquenio, el cual presenta alta rigidez en su pericarpio y una cámara de aire que amortiguaría los potenciales daños mecánicos operados durante el procesamiento.

**ABSTRACT:**

**“Physiological quality during processing of sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.): a particular study”**

Our aim was to analyze the effect of each processing stage on the physiological quality of the sunflower achene. Two black oil sunflower seed hybrids from the seed processing plant of Tecnoseeds SA, were used to assess eight processing stages: 1) at the processing plant entry (control); 2) pre-cleaning stage; 3) 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> grade joint exit; 4) 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> joint exit; 5) 1<sup>st</sup> grade; 6) 2<sup>nd</sup> grade; 7) 3<sup>rd</sup> grade; and 8) 4<sup>th</sup> grade. The physiological quality was determined by the following methods: germination test, cold test, the accelerating ageing test, topographical tetrazolium test for viability, and conductivity test after four and twenty hours. The analysis of variance, Tukey and the Duncan test were performed and results showed that the physiological quality was not affected at any of the processing stages. Thus the capacity of the sunflower seed to keep its physiological quality during processing could be mainly due to the structural characteristics of the achene which shows high pericarp hardness and an air chamber that would buffer the potential mechanical damage during processing.

## **INDICE**

<i>Lista de tablas</i> .....	9
<i>Lista de figuras</i> .....	11
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<i>Hipótesis</i> .....	22
<i>Objetivo</i> .....	23
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	24
<i>Muestreo durante el Procesamiento</i> .....	26
<i>Análisis de calidad</i> .....	29
<i>Prueba de germinación estándar (PG)</i> .....	30
<i>Viabilidad por Tetrazolio (Tz)</i> .....	31
<i>Prueba de envejecimiento acelerado (EA)</i> .....	33
<i>Prueba de frío (CT)</i> .....	34
<i>Prueba de conductividad eléctrica (CE)</i> .....	35
<i>Análisis estadístico de los datos</i> .....	37
<b>RESULTADOS</b> .....	38
<b>DISCUSIÓN</b> .....	59
<b>CONCLUSIONES</b> .....	62
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	63
<b>ANEXO</b> .....	66

## **LISTA DE TABLAS**

- Tabla 1.** Área cultivada, rendimientos medios y producción .....Pág. 13
- Tabla 2.** Características agronómicas de los híbridos de girasol de cáscara negra utilizados en el experimento.....Pág. 25
- Tabla 3.** Valores promedios obtenidos, en los tratamientos de Prueba de germinación estándar (PG), Prueba de frío (CT), Prueba de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20), correspondientes al híbrido 1 y al híbrido 2, para la etapa de procesamiento correspondiente a la recepción del material (Testigo).....Pág. 50
- Tabla 4.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al híbrido 1 y al híbrido 2, para la segunda etapa del procesamiento o prelimpieza.....Pág. 52
- Tabla 5.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al híbrido 1 y al híbrido 2, para la tercera etapa del procesamiento o separación conjunta de grado 1 y grado 2.....Pág. 53
- Tabla 6.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la cuarta etapa del procesamiento o separación conjunta de grado 3 y grado 4. ....Pág. 54
- Tabla 7.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la quinta etapa del procesamiento o grado 1.....Pág. 55

**Tabla 8.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la sexta etapa del procesamiento o grado 2. ....Pág. 56

**Tabla 9.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la séptima etapa del procesamiento o grado 3. ....Pág. 57

**Tabla 10.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondiente al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la octava etapa del procesamiento o grado 4. ....Pág. 58

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1.** Evolución de la superficie sembrada con girasol, soja y maíz durante los últimos 19 años en Argentina (Ministerio de Agroindustria 2016).....Pág. 15
- Figura 2.** Esquema de un fruto (aquenio) de girasol con sus componentes.....Pág. 16
- Figura 3.** Imagen exterior y esquema interior de maquinaria de prelimpieza marca Carter Day, modelo 721.....Pág. 26
- Figura 4.** *Imagen de mesa vibradora marca Fosberg, modelo 220 P.....* Pág. 27
- Figura 5.** Imagen exterior y esquema interior de máquina clasificadora marca Sizers, modelo 212. ....Pág. 27
- Figura 6.** Detalles exterior e interior de homogeneizador de semillas tipo Boerner. ....Pág. 28
- Figura 7.** Imagen de Mini cámara de envejecimiento acelerado marca Cereal Tools. ....Pág. 34
- Figura 8.** Imagen estufa para realizar el test de envejecimiento acelerado.....Pág. 34
- Figura 9.** Imagen del equipo para medir conductividad eléctrica marca Minilab SAD 9000-S. ....Pág. 36
- Figura 10.** Prueba de germinación estándar promedio de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.....Pág. 38
- Figura 11.** Promedio de plántulas normales (%) obtenidas luego de la Prueba de Frío en muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas. ....Pág. 40
- Figura 12.** Promedio de plántulas normales (%) obtenidas luego de la Prueba de envejecimiento acelerado, en muestras de semillas de los híbridos de girasol estudiados (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.....Pág. 42

**Figura 13.** Valores promedios de viabilidad obtenidos por el método de Viabilidad por Tetrazolio de muestras de semillas de los híbridos en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.....Pág. 44

**Figura 14.** Valores promedios de prueba de conductividad eléctrica a las 4 h de incubación expresadas en  $\mu\text{S. cm}^{-1}$ , de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.....Pág. 46

**Figura 15.** Valores promedios de prueba de conductividad eléctrica a las 20 h de incubación expresadas en  $\mu\text{S. cm}^{-1}$ , de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.....Pág. 48

## **INTRODUCCIÓN**

El girasol (*Helianthus annuus* L.) pertenece a la familia de las Asteraceae, es una planta dicotiledonea anual, herbácea, estival y de  $2n=34$ . Es una especie originaria de Norte América, en la zona que actualmente ocupa la parte central de los EEUU y el noroeste de México. Los indígenas lo cultivaban usando su semilla para comerla tostada y también obtenían aceite para engrasarse el pelo, la cara y el cuerpo en general. A mediados del siglo XVI, el girasol, fue llevado a España como planta ornamental para luego consumir sus frutos. En el siglo XIX adquirió importancia como oleaginosa. Esta importancia se debió a la propiedad de su aceite que se congela a muy bajas temperaturas ( $-17^{\circ}\text{C}$ ). La especie, se adapta fácilmente a diferentes ambientes por lo que actualmente se lo cultiva en los cinco continentes. En la Tabla 1 se muestran datos sobre producción y rendimiento en los principales países productores. Se utiliza especialmente para la producción de aceite y en menor medida como ornamental, confitero y para la alimentación de aves. (FCA, Uncuyo, sf).

Tabla 1. Área cultivada, rendimientos medios y producción del girasol

País	Area(millones de has) †	Rendimiento (tn/ha) ‡	Producción (millones de toneladas)			
			2000/01	2001/02	2002/03	2003/04
FSU-12†	6,85	0,92	7,76	5,34	7,48	9,23
Argentina	2,92	1,74	3,05	3,70	3,40	2,90
Europa del Este	2,03	1,24	2,10	2,33	2,76	3,09
EEUU	1,21	1,52	1,61	1,58	1,13	1,19
Unión Europea	2,07	1,64	3,31	3,01	2,75	2,50
Total	20,48	1,19	23,29	21,24	23,72	25,08

† Ex Unión Soviética

‡ Promedio 1997/98-2001/02

*Fuente: El Cultivo de Girasol ASAGIR, Asociación Argentina de Girasol, 2003*

Las primeras referencias sobre girasol en la República Argentina se remontan al siglo XIX, cuando colonos de origen hebreo afincados en las provincias de Entre Ríos, Santa Fe y Buenos Aires realizan las primeras introducciones de semilla para su propio consumo. Su difusión, como cultivo, comienza en forma casi simultánea, en la Colonia Mauricio, partido de Carlos Casares, en el oeste de la Provincia de Buenos Aires y en Basavilbaso, Provincia de Entre Ríos a partir de 1900, por agricultores inmigrantes (ASAGIR, 2008).

El mercado argentino comercializa girasol para la obtención de aceite y girasol con pepitas de mayor tamaño para su uso en confitería. Además, tiene historia como proveedor de

aceite linoleico y harinas proteicas con destino a alimento animal. El girasol para aceite, cuantitativamente mayoritario, proviene de cultivares genéticamente orientados a alto contenido de aceite, alrededor de 50 %, de tipo linoleico y alto oleico con limitada oferta. El tipo medio oleico, patentado en Estados Unidos como NewSun, no se comercializa como tal en la Argentina, aunque numerosos cultivares actualmente disponibles, responden al tipo en determinadas condiciones ambientales. Hoy el mercado tiene un “commodity” y nichos para los diversificados (ASAGIR, 2008).

El producto del girasol es 50 % aceite y 20 % proteína, pero vale fundamentalmente por el aceite. Junto con la colza son las únicas especies anuales específicas aceiteras. La producción de aceite de girasol en la República Argentina continua siendo, mayoritariamente del tipo linoleico que es el aceite convencional y en los últimos años crece el alto oleico. En la campaña del 2007 se sembró un total de 2.67 millones de ha, de las cuales 0,35 millones de ha fueron del tipo alto oleico y 0,06 millones de ha fueron del tipo confitero.

Por otra parte, el cultivo de girasol, es importante porque ha sido siempre una alternativa en la rotación de cultivos en el área agrícola central de Argentina y una de las escasas opciones en ambientes desfavorables para otros cultivos. En la región semiárida y subhúmeda pampeana el déficit hídrico es la mayor restricción de la producción agrícola. Altas temperaturas estivales, acompañadas de elevadas tasas de evaporación condicionan el rendimiento de los cultivos. El girasol es moderadamente tolerante al estrés hídrico, conferido por un sistema radicular bien desarrollado (Jaafar et al., 1993; Dardanelli et al., 1997 citados por Montoya J.C., 2016); sumado a ello presenta resistencia a un estrés temporal (Pasda y Diepenbrock, 1990, citados por Montoya J. C., 2016). Estas ventajas comparativas que posee el girasol frente al cultivo de soja (Cox y Jolliff, 1986 citados por Montoya J. C., 2016) brindan estabilidad a la producción agrícola en las regiones semiáridas y sub-húmedas.

Por otro lado, nuestro país cuenta con ambientes agroecológicos sumamente favorables para su cultivo, situación que ha permitido que la Argentina se haya constituido en líder de esta oleaginosa. En las últimas décadas tanto el área sembrada como la producción fueron en ascenso hasta alcanzar sus máximos registros en la campaña 1998/99 con una superficie sembrada de 4,2 millones de hectáreas y una producción que superó los 7,1 millones de toneladas. En los años posteriores se produjeron incrementos en la producción de palma y de soja, que generaron una sobreoferta de aceites y una consecuente caída de los precios de las oleaginosas. La mayor demanda mundial de proteína vegetal, trajo como consecuencia la expansión del cultivo de la soja y el desplazamiento del resto de las especies estivales, a ambientes menos favorables (Centro de corredores y agentes de la bolsa de cereales, 2016).

A partir de 1997 la implementación masiva de la siembra directa y paralelamente la adopción de cultivos genéticamente modificados resistentes a Glifosato, en particular soja,

iniciaron un cambio profundo en los sistemas de producción del país. Durante la última década, el deterioro de la rentabilidad de los cultivos de maíz, trigo y girasol (FADA, 2015) propiciaron la expansión del cultivo de soja alcanzando 20 millones de ha sembradas (Ministerio de Agroindustria, 2016) (Fig. 1). Por otro lado, las restricciones a la exportación de carne y los cambios en los sistemas de producción bovina redujeron significativamente la superficie de verdes de invierno (Montoya, 2016).

Esta situación llevó a la disminución en la superficie implantada con girasol en las campañas 1999/2000 y 2000/2001, panorama que se modificó recién a partir del período 2001/02 al observarse un repunte de los precios internacionales. A pesar de la reducción operada en los volúmenes de granos recolectados en los últimos años, Argentina continúa encabezando el ranking de países productores, aportando para el ciclo agrícola 2001/02 el 16,9% del total del tonelaje mundial (Centro de corredores y agentes de la bolsa de cereales, 2016).

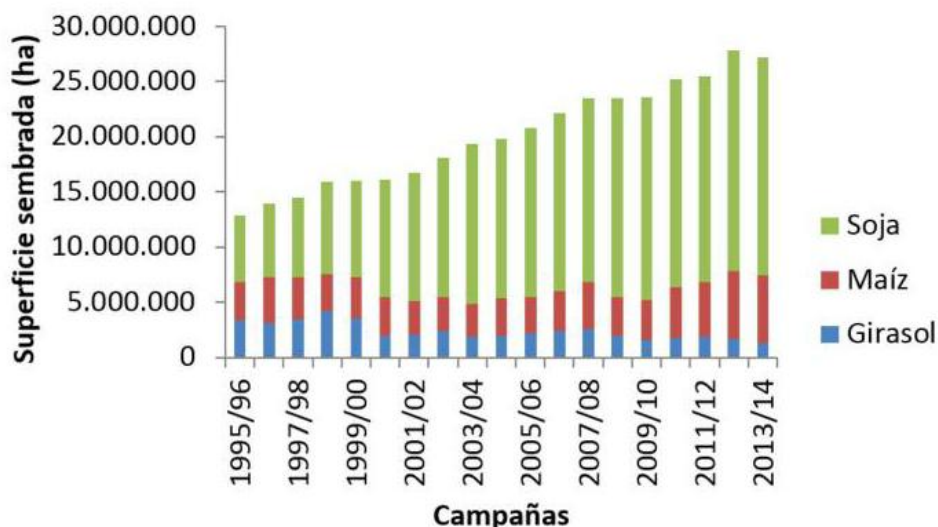
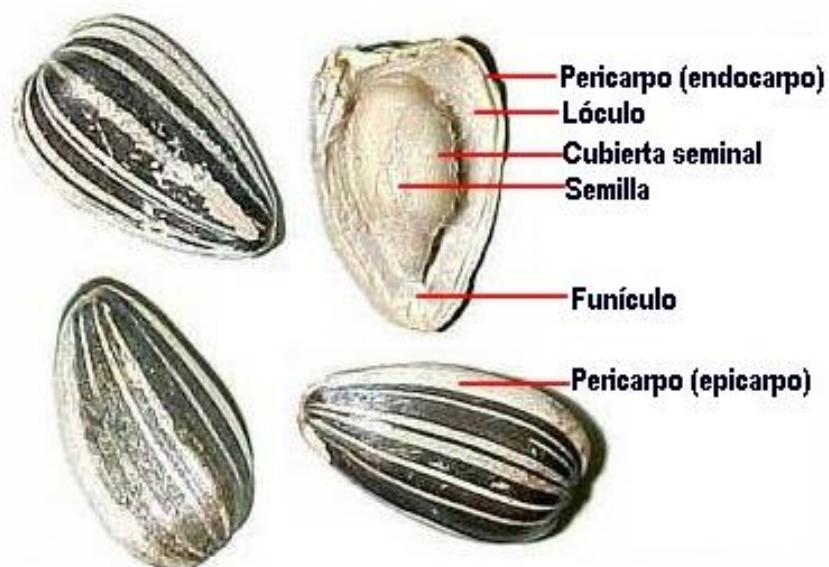


Figura 1. Evolución de la superficie sembrada (en hectáreas) con girasol, soja y maíz durante los últimos 19 años en Argentina (Ministerio de Agroindustria 2016).

El principal objetivo que se persigue en la producción de un cultivo de girasol es el rendimiento en aceite por unidad de superficie, resultante del peso de frutos por unidad de superficie y de la concentración de aceite de estos frutos (Aguirrezábal y Andrade, 1999).

El producto comercial o grano de girasol, no es estrictamente una semilla, a pesar de utilizar dicha denominación habitualmente. En realidad, se trata de un fruto denominado aquenio (de ovario ínfero o cipsela) y está constituido por la semilla y el pericarpio del fruto (Fig. 2) cita. El contenido de materia grasa varía entre el 42-55 % y las proteínas entre 9-20 %. El

peso del grano oscila entre 35 y 70 mg. El pericarpio o cáscara representa entre el 20-25 % del peso seco del mismo (Satorre et al., 2012).



*Figura 2: Esquema de un fruto (aquenio) de girasol con sus componentes*

En el presente trabajo se utilizará la palabra semilla para designar al fruto aquenio del girasol.

La semilla, de cualquier cultivo, es el material de partida para la producción agrícola, con el fin de alcanzar el máximo rendimiento, es condición indispensable que tenga una buena respuesta bajo las condiciones de siembra originando así, una plántula vigorosa. La germinación y la emergencia de las plántulas deben producirse en forma rápida y uniforme, para obtener un conjunto de plantas similares en tamaño y con una distribución por unidad de superficie que permita explotar óptimamente los recursos ambientales. Para lograr este objetivo es fundamental conocer los atributos de calidad del lote como ser: la viabilidad, la germinación y el vigor de la simiente a sembrar, como así también el efecto de los principales factores ambientales sobre la germinación y la emergencia de las plántulas: la humedad y la temperatura del suelo (Aguirrezábal, 2001).

La elección de la semilla es una de las claves de un cultivo exitoso. Actualmente se dispone de híbridos de girasol con rendimientos potenciales superiores a los 5.000 kilogramos por hectárea con más del 50% de aceite, cuando son cultivados en suelos profundos y con toda

la tecnología disponible. Aparte de las potencialidades genéticas, la semilla debe ser de buena calidad y producir una planta por cada semilla (Pereyra et al., 2001).

Resulta trabajoso conseguir semillas que cumplan con todos los aspectos de calidad, y que los mismos se mantengan inalterados hasta el momento en que la semilla es utilizada. Mantener los máximos niveles de longevidad y calidad dependerá de la eficiencia con la cual se realice el procesamiento y el almacenamiento hasta el momento de una nueva siembra. En pos de este logro existen un conjunto de operaciones, posteriores a la cosecha, que se conocen como acondicionamiento o procesamiento al que se somete un lote de semillas con el fin de maximizar la cantidad de semilla pura con el más alto grado de uniformidad, vigor y germinación (Badiali, 2016).

Las semillas difieren en su tamaño (longitud, ancho y espesor), peso específico, forma, textura superficial, conductividad eléctrica y color. Estas características hacen posible mejorar la calidad de un lote de semillas mediante la separación de todos los materiales indeseables que lo contaminan. Para hacer estas separaciones se requieren máquinas especiales que las realizan basándose en las características físicas de los materiales. (Badiali, 2016).

El procesamiento es una parte muy importante en el sistema de cualquier programa organizado de producción de semillas. Se basa en los principios de lograr el máximo porcentaje de semilla pura con la mínima pérdida durante las operaciones y conservando la calidad de las semillas en cada etapa del acondicionamiento. (Badiali, 2016).

El procesamiento de semilla de girasol está afectado en gran medida por el tipo de equipo que se disponga y manejo que se le brinde al mismo, así como la disposición dentro de la planta y los conocimientos sobre las características propias de la especie. Para que el procesamiento sea eficiente, las semillas deberán ser sometidas a diversas operaciones realizadas en cadena, con variantes de acuerdo con la especie, el grado y el tipo de impurezas que estén presentes en el lote. Además, se deben tener presente siempre los requisitos comerciales que se deban satisfacer (Badiali, 2016).

El proceso se realiza en varias etapas, a este respecto, la secuencia de operaciones necesarias para el acondicionamiento de un lote de semillas dependerá de las circunstancias y las condiciones en que se reciben las semillas. Estas pueden ser dañadas mecánicamente por los procesos de cosecha y trilla, así como durante la maquinación, procesamiento y transporte (ISTA, 2003; Craviotto, 2010).

Teniendo en cuenta además el daño que puede producirse en base a su morfología tanto las semillas de maíz (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) como las de girasol (*Helianthus annuus* L.) están menos expuestas al daño mecánico dado que en realidad son frutos, en los primeros dos casos se trata de cariopses, donde el pericarpio se encuentra íntimamente

soldado a la semilla misma. En el caso del girasol que es un aquenio el pericarpio es mucho más grueso y no existe un contacto tan estrecho con la semilla.

Durante el procesamiento las semillas de girasol pasan por una serie de equipos/maquinarias, donde sufren rozamientos y caídas. Además, durante el almacenamiento y el transporte las semillas que quedan por debajo de un acopio de bolsas, o en la parte inferior de una disposición a granel pueden quebrarse por el peso que deben soportar mientras permanecen en esa posición, o durante los procesos de carga y descarga.

Para el caso del girasol, los daños mecánicos más frecuentes durante el procesamiento son:

- 1) daños leves en forma de roturas microscópicas especialmente del pericarpio
- 2) daños graves visibles fácilmente por el ojo humano, como rajaduras, roturas, etc.
- 3) daños internos que afectan a menudo al embrión o semilla en su totalidad y sólo son detectados durante la germinación.

Como consecuencias de dichos daños se pueden producir:

- \*Pérdidas de tejidos y pérdida de viabilidad
- \*Pérdida de capacidad para regular el contenido de agua
- \*Incremento en la susceptibilidad al ataque por parte de microorganismos

(Morant, 2002).

Por lo tanto, la detección de potenciales daños mecánicos en la recepción y durante cada una de las distintas etapas del acondicionamiento, brinda herramientas para poder reducirlos. Permitiendo ajustar el uso de cada una de las maquinarias para aumentar la eficiencia del proceso y mejorar así los resultados obtenidos.

La recepción es la operación inicial y se realiza después de la cosecha cuando la semilla es transportada desde el lote de producción e ingresa a la planta de acondicionamiento. Durante la cosecha se recogen un sinnúmero de materiales indeseables que acompañan a las semillas y que no pueden eliminarse totalmente, lo que significa que estas sean transportadas a la planta con restos de tallos, capítulos, paja, semillas inmaduras, semillas de malezas y de otros cultivos. Las características físicas de estos contaminantes es el fundamento de las operaciones de prelimpieza y limpieza, que permitirán separar las semillas del resto de materiales indeseables (Badiali, 2016).

La prelimpieza o desbrozado es la separación de los materiales más gruesos que requiere realizarse a gran capacidad de trabajo para no interrumpir la tarea de recepción. En general se trata de eliminar los materiales más grandes y más pequeños que las semillas y en lo

posible eliminar el polvo. Esto aumentará la eficiencia del secado al disminuir la presencia de material húmedo indeseable, la masa de semillas fluirá más fácilmente en las máquinas y en el equipo, aumentando la capacidad de la limpieza. Las prelimpiadoras más comunes son la desbrozadora, el aspirador, la máquina de aire, zarandas planas y las zarandas cilíndricas. (Badiali, 2016).

Por otro lado, dentro de una misma especie las dimensiones de las semillas son variables debido a la variabilidad genética normal así como a las influencias del medio ambiente durante el desarrollo seminal. La clasificación por tamaños facilita la futura siembra mecánica de las semillas. Los métodos de clasificación difieren poco de los que se emplean en el proceso de limpieza. La separación por cribado y tamizado, mediante cilindros, por aventamiento, por flotación y sobre la base del peso específico son todos métodos eficaces para clasificar las semillas por tamaños. (Depósito de documentos de la FAO, sf).

Entre las ventajas más destacables de la limpieza y clasificación debe enfatizarse el logro de semilla de tamaño y forma uniforme, que permite una mejor regulación de las máquinas sembradoras, así como la germinación y emergencia uniforme y un alto vigor (Morant, 2002).

La operación de limpieza de la semilla depende en mayor medida de la habilidad y destreza de los operarios a cargo de este proceso en el manejo y regulación de las maquinarias. Ya que la limpieza y clasificación deben ser realizadas con la mayor eficiencia (máxima capacidad de separación y mínima pérdida de semillas), de otra manera el costo de la operación aumenta en forma notable (Morant et al., 2004).

Prácticamente en ningún caso, la cantidad de semilla lograda después del procesamiento coincide con la cantidad ingresada. Esta diferencia entre ambas magnitudes se debe efectivamente a la merma producida durante el procesamiento (Craviotto et al., 2001).

La merma tiene varias causas entre las que pueden citarse la presencia de:

a) materia inerte como fragmentos de semilla y toda otra materia y estructuras no definidas como semilla pura u otra semilla. Esta puede disminuirse y aún evitarse regulando apropiadamente la cosechadora (Cortés, 2011).

b) semillas de malezas y semillas de otras especies: son las semillas de cualquier especie distinta a la semilla pura (que no fueron controladas apropiadamente en el campo a través de medidas eficientes de manejo).

La magnitud de las mermas por materias inertes y semillas de otras especies es muy variable entre los diferentes lotes. Dicha magnitud, y el estado final de Pureza físico botánica de los lotes, dependerán fundamentalmente de las exigencias de cada empresa de semillas. De ahí

que un mismo lote o lotes, con porcentajes similares de Pureza, puedan presentar diferentes mermas luego de su procesamiento.

El presente trabajo surgió a raíz de la inquietud originada durante la visita a una planta de procesamiento de la empresa Tecnoseeds. Durante la mencionada visita, se cuestionó a los responsables de la planta sobre cómo y en qué magnitud se afectaba la calidad final de la semilla de girasol durante la secuencia operativa de dicha planta, las que incluyen: recepción, acondicionamiento, limpieza, y envasado. En función de ese cuestionamiento, la empresa puso a disposición sus instalaciones para poder llevar adelante las correspondientes evaluaciones sobre los potenciales perjuicios que podrían sufrir las semillas de girasol durante el procesamiento.

La empresa Tecnoseeds SA presta los servicios de producción de semilla híbrida de maíz y girasol; investigación; cosecha; secado en espiga; clasificación. Procesamiento y clasificación de semilla de maíz, girasol y sorgo. Laboratorio, certificado por INASE y producción de semillas en contraestación.

Para determinar la calidad de las semillas, fundamentalmente, las que serán destinadas a la siembra de cultivos, se utilizan una serie de procedimientos que permiten evaluar parámetros fisiológicos. Estas evaluaciones se realizan siguiendo protocolos enmarcados en Reglas internacionales generadas por el International Seed Testing Association (ISTA), siendo una herramienta fundamental para todo laboratorio de semillas enmarcado bajo estas normas. La principal finalidad de ISTA es desarrollar, adoptar y publicar procedimientos estandarizados para el muestreo, análisis de semillas y promover la aplicación uniforme de estos procedimientos para la evaluación de la calidad de lotes de semillas que circulan en el comercio internacional (FAO, 2007).

De acuerdo al informe técnico de FAO (2010), hay cuatro parámetros básicos, que definen los atributos de calidad de las semillas.

-Calidad física de la semilla.

-Calidad fisiológica que se refiere a los aspectos del rendimiento de la semilla.

-Calidad genética que se relaciona con características genéticas específicas de la variedad de semillas.

-Calidad sanitaria, se refiere a la presencia de enfermedades y plagas dentro de un lote de semillas.

Las reglas utilizadas para evaluar la calidad de las semillas incluyen pruebas de Pureza, pruebas de Germinación en diferentes sustratos (normalizados según la especie), pruebas de Vigor, pruebas de Sanidad y análisis de Viabilidad por tetrazolio, entre otras.

Según las normas ISTA (2012) la semilla pura corresponde a la especie indicada por el solicitante, o que se encuentre como predominante en la prueba, y debe incluir todas las variedades botánicas y cultivares de la especie considerada. En cuanto a la Germinación de una semilla, es una prueba sobre la aparición y el desarrollo de la plántula hasta una etapa donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no capaz de desarrollar hacia el establecimiento satisfactorio de una planta en condiciones favorables en el campo.

El Vigor de las semillas es la suma de aquellas propiedades que determinan la actividad y el rendimiento de lotes de semillas de aceptable germinación en una amplia gama de ambientes. El Vigor de la semilla no es una única propiedad medible, se trata de un concepto que describe varias características asociadas con los siguientes aspectos de la performance del lote de semillas:

- Tasa y uniformidad de germinación de las semillas y crecimiento de las plántulas.
- Capacidad de emergencia de las semillas bajo condiciones desfavorables del medio ambiente.
- Performance después del almacenamiento, especialmente la retención de la capacidad de germinar.

Por su parte, la sanidad de la semilla se refiere principalmente a la presencia o ausencia de organismos causantes de enfermedades, tales como hongos, bacterias, virus y plagas animales, incluyendo nematodos e insectos, además del estado fisiológico donde la deficiencia de algún oligoelemento podría estar implicada (Pioli, 2007). Finalmente, el análisis Topográfico por tetrazolio es una prueba bioquímica que puede ser utilizada para hacer una evaluación rápida de la Viabilidad de las semillas. También para detectar la presencia de brotado y varios tipos de daños tanto en cosecha como durante el procesamiento (daños por calor, daños mecánicos, daños por insectos, etc.) (ISTA, 2016).

**Hipótesis:**

La secuencia operativa de la planta de procesamiento Tecnoseeds SA Venado Tuerto incide negativamente sobre la calidad fisiológica de las semillas de girasol.

**Objetivo:**

Determinar la incidencia que tiene la secuencia operativa de la planta de procesamiento Tecnoseeds Venado Tuerto sobre la calidad fisiológica de las semillas de girasol.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Parte del trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de la planta de procesamiento de semillas de la empresa Tecnoseeds SA, ubicada en la localidad de Venado Tuerto, provincia de Santa Fe (33° 75' S; 61° 97' O), y el resto en el Laboratorio de Biodiversidad de la Facultad de Ciencias Agrarias UNR, ubicado en Zavalla, Provincia de Santa Fe (33° 01' S, 60° 53' O).

Los genotipos utilizados fueron dos híbridos de girasol cáscara negra: denominados híbrido 1, el cual se comenzó a analizar a partir del 23 de septiembre de 2013 e híbrido 2, que se comenzó a analizar a partir del 21 de octubre de 2013. Las distintas fechas se originaron por razones operativas propias de la empresa. En la Tabla 2 se muestran sus características agronómicas.

Tabla 2: Características agronómicas de los dos híbridos de girasol de cáscara negra utilizados en el experimento.

<b>Características</b>	<b>Híbrido 1</b>	<b>Híbrido 2</b>
<i>Ciclo</i>	Largo	Largo
<i>Materia grasa</i>	Muy alta	Media
<i>Madurez relativa Norte</i>	103	106
<i>Madurez relativa Oeste</i>	116	114
<i>Madurez relativa Sur</i>	126	sin determinar
<i>Días a floración Norte</i>	72	74
<i>Días a floración Oeste</i>	70	70
<i>Días a floración Sur</i>	77	sin determinar
<i>Densidad de pl a cosecha/m<sup>2</sup> buenas condiciones</i>	4,5/5	4,5/5
<i>Densidad de pl a cosecha/m<sup>2</sup> otras condiciones</i>	4/4,5	4/4,5
<b>Interacción con el ambiente</b>		
<i>Resistencia al vuelco/quebrado</i>	Muy bueno	Muy bueno
<i>Estabilidad/ adaptabilidad</i>	Bueno	Muy bueno
<i>Competitividad</i>	Ciclo completo con muy alto potencial en buenos ambientes	Altísimo rendimiento en grano. Muy estable aún en ambientes limitantes
<i>Zona de adaptación</i>	Norte-centro-oeste	Norte-centro-oeste

### **Muestreo durante el procesamiento**

La cadena de procesamiento de semillas de la planta de Tecnoseeds SA Venado Tuerto se compone de ocho etapas, las que comprenden desde la recepción hasta la salida al sector comercial. En cada una de ellas, se obtuvieron muestras representativas de aquenios destinadas a realizar las determinaciones de calidad fisiológica.

El procedimiento de muestreo utilizado se describe a continuación:

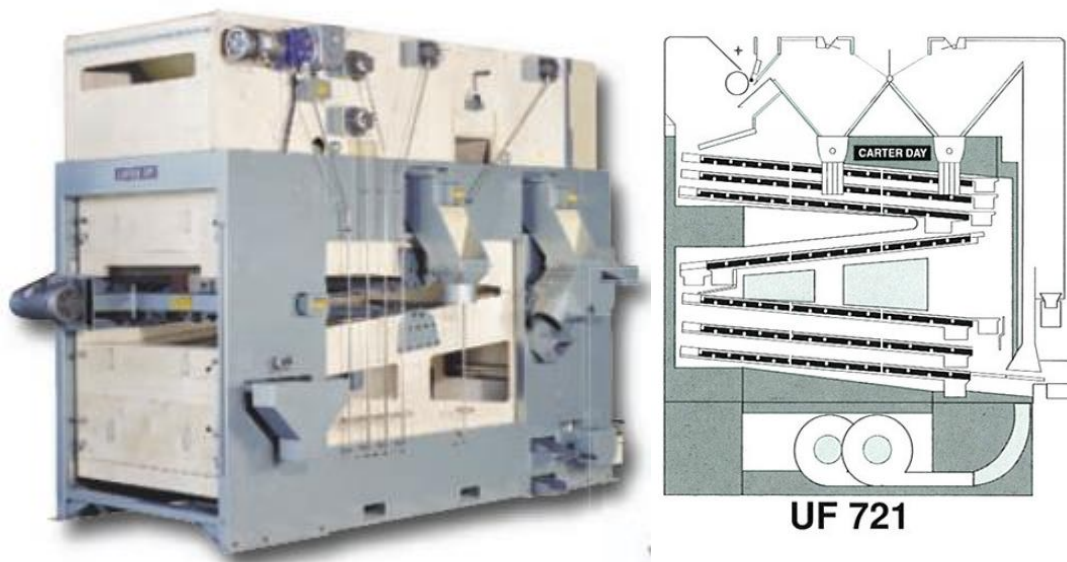
Al momento del ingreso a planta. Dependiendo del peso de los graneles al ingreso, se tomaron dos muestras por cada t de semilla ingresada, si el granel fue menor a 10 t, y una muestra por t si el granel era mayor a 10 t. El peso de cada muestra fue de 2 kg.

Para semillas almacenadas en bolsones de 1000 kg: si había entre 1 a 10 costales se tomó una muestra de cada uno de los bolsones; cuando eran más de 10 costales se muestrearon al azar un 10% del total de los bolsones. El peso de cada muestra fue de 2 kg.

Las muestras se tomaron en diferentes puntos para que el material sea representativo del total de cada lote; posteriormente se mezclaron adecuadamente y se dividieron en sublotos de 1 a 2 kg, luego se colocaron en recipientes herméticos y se almacenaron en un ambiente oscuro y fresco hasta su análisis.

Una vez ingresadas las semillas fueron sometidas a una prelimpieza, la misma se realizó en una máquina Carter Day modelo 721. Dicha máquina está compuesta por siete zarandas que le dan un área de trabajo de 21 m<sup>2</sup> y se encuentra accionada por un motor de 5,5 Kw (Fig. 3).

Posteriormente las semillas pasaron por una vibradora modelo 220-P marca Fosberg de 269 (Fig. 4), y luego fueron separadas en una clasificadora marca Sizers modelo 212, con cilindros Carter Day (Fig. 5).



*Figura 3. Imagen exterior y esquema interior de maquinaria de prelimpieza Carter Day, modelo 721.*



Figura 4. Imagen de mesa vibradora marca Fosberg, modelo 220-P.

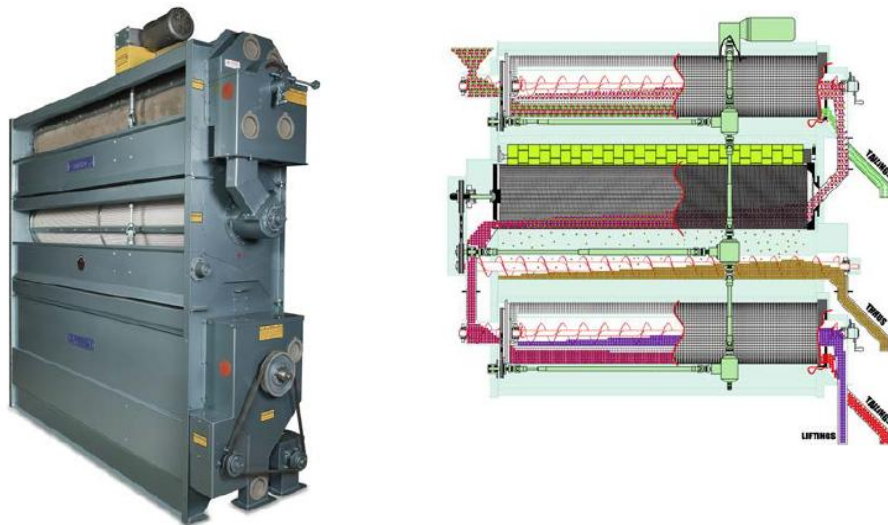


Figura 5. Imagen exterior y esquema interior de máquina clasificadora marca Sizers,

El paso a través de los cilindros permite realizar la separación de las semillas de girasol en grados o gradeo, que corresponden al tamaño del aquenio que está asociado a su distribución dentro del capítulo de girasol.

Sitios de muestreo:

Para la realización del experimento se tomaron ocho sitios de muestreo.

- 1.- Ingreso a los silos o recepción (corresponde al testigo)
- 2.- Salida de la prelimpieza

- 3.- Salida conjunta de la clasificadora: semillas grado 1 y 2 (zaranda 17 límite superior, zaranda 16 y 14).
- 4.- Salida conjunta de la clasificadora: semillas grado 3 y 4 (zaranda 14 límite superior, zaranda 11 y 10).
- 5.- Semillas en grado 1 (sobre zaranda número 16, redonda, 6,75 mm)
- 6.- Semillas en grado 2 (sobre zaranda número 14, redonda de 5,56 mm)
- 7.- Semillas en grado 3 (sobre zaranda número 11, redonda de 4,37 mm)
- 8.- Semillas en grado 4 (debajo de zaranda número 10, redonda de 3,97 mm)

Posteriormente, las muestras se llevaron al laboratorio adonde se extrajo 1Kg de semillas para su clasificación manual a efectos de compararla con la clasificación mecánica. Para el gradeo se pasaron las muestras por un homogeneizador tipo Boerner o cuarteador de granos metálico, de pie, con celdas dirigidas a dos bocas de salida que conducen a sendos recipientes (Fig. 6). Las muestras se procesaron dos veces por el homogeneizador, en la primer pasada se obtuvo el material para gradear por una de las bocas de salida, mientras que el material separado en la otra boca se guardó como testigo de la muestra en una bolsa sellada de 500 g donde se indicó el lote, grado y origen. De la segunda pasada se extrajeron las muestras de trabajo de 250 g cada una y para la determinación de Pureza Físico Botánica de 100 g. Las cantidades restantes muestreadas se conservaron al finalizar los análisis.



*Figura 6. Detalles exterior e interior de homogeneizador de semillas tipo Boerner.*

### **Análisis de calidad**

Todos los análisis de calidad se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por las Reglas ISTA (2012). Se realizó un análisis de Pureza físico-botánica en todos los materiales, abarcando cada sitio de muestreo, cuyo resultado sirvió como base de referencia con la cual poder comparar.

### **Pureza físico – botánica**

El análisis de Pureza de los materiales obtenidos de las calibradoras se realizó de acuerdo a la normativa vigente (ISTA, 2012). Se determinó manualmente la composición porcentual en peso de la muestra analizada y por inferencia la composición del lote, así como la identidad de las diferentes especies de semilla y partículas inertes que constituyen la muestra. Se determinaron tres componentes:

- Semilla pura: se refiere a la especie definida por el solicitante, que debe incluir todas las variedades botánicas y cultivares de esa especie.
- Materia inerte: fragmentos de semilla y toda otra materia y estructuras no definidas como semilla pura u otra semilla.
- Otras semillas: son las semillas de cualquier especie distinta a la semilla pura.

El cálculo de pureza se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Pureza (\%)} = 100 - (\text{material inerte} + \text{semillas de otras especies}).$$

El concepto de “Semilla Pura” para girasol según el capítulo 3 de pureza de las reglas ISTA (2012), incluye:

- . Aquenio con o sin hipanto (receptáculo cóncavo de las flores con ovario ínfero, sobre el nacen el cáliz, la corola y los estambres. Casi siempre está formado por la fusión de las bases de los verticilos florales inferiores: sépalos, pétalos y androceo (estambres) entre sí, de forma tubular, o con o sin papus, a menos que la semilla no esté presente.
- . Porción de aquenio más grande que la mitad de su tamaño original, a menos que la semilla no esté presente.
- . Semilla con la testa / pericarpio parcial o enteramente removido.
- . Porción de semilla más grande que la mitad de su tamaño original con la testa / pericarpio parcial o enteramente removido.

El material inerte incluye a aquellas semillas cuyo tamaño sea igual o inferior a la mitad de su tamaño inicial, restos de flores, tallos, hojas, tierra, piedras.

En “semillas de *otras especies*” se incluyeron a todas las semillas de cualquier especie distinta a la de la semilla pura.

### **Determinaciones de calidad fisiológica:**

#### **Prueba de germinación estándar (PG)**

Las estructuras esenciales de la plántula normal para girasol son: sistema radicular, dos cotiledones y eje caulinar ortótropo. Es fundamental para categorizar como normal una plántula de girasol, tener perfectamente constituida la raíz principal, raíces secundarias aún bien desarrolladas, no reemplazan la principal para categorizarla como normal.

Las plántulas anormales no muestran el potencial de convertirse en una planta normal cuando se cultiva en suelo de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Incluye plántulas dañadas, deformadas, decaídas, anomalías en el sistema radicular, en los cotiledones y hoja primaria.

Según ISTA como sustratos en esta prueba se admiten para girasol papel o arena, pudiendo hacerse “entre papel (BP)”, “sobre papel (TP)”, “en arena (S)”, “sobre arena” (TS) o sustrato orgánico (SO). La temperatura utilizada es de 20 a 30 grados centígrados, y el conteo final para evaluación de la prueba se realiza a los 10 días (ISTA, 2012).

En esta ocasión, se sembraron para cada híbrido 4 repeticiones de 50 semillas puras cada una. Para cada repetición se usó una bandeja de 1,5 Kg de sustrato mezcla de dos partes de arena y una de tierra estéril con el agregado de 130 cc de agua, las bandejas se mantuvieron durante 10 días en cámara de germinación a temperatura constante de 25 °C.

El conteo final para evaluación de la prueba se realizó a los 10 días (ISTA, 2012). El resultado de la prueba de germinación se expresó como porcentaje en número de plántulas normales, anormales, semillas duras, frescas y muertas. Los porcentajes se redondearon al número entero más próximo.

Para la evaluación de las plántulas se tuvo en cuenta el criterio del Manual de Evaluación de plántulas de ISTA (2003). Donde se describen en detalle a las plántulas normales, anormales, semillas frescas, duras y muertas. De la siguiente manera se considera:

-semilla dura: a toda semilla que permaneció dura al final del período de prueba, debido a que no absorbió agua.

-semilla fresca: a toda semilla que a causa de la latencia fracasó en germinar bajo las condiciones de la prueba de germinación, pero que permaneció limpia y firme y tiene el potencial de convertirse en una planta normal.

-semilla muerta: es una semilla que no es ni dura, ni fresca, ni pudo haber producido cualquier parte de una planta.

-otras categorías: comprende a semillas vacías, semillas sin embrión, semillas dañadas por insectos (ISTA, 2012).

### **Viabilidad por Tetrazolio (Tz)**

La prueba de tetrazolio es una prueba bioquímica que puede ser utilizada para hacer una evaluación rápida de la viabilidad. También se puede utilizar para determinar la viabilidad de semillas individuales al final de una prueba de germinación, especialmente donde se sospecha la latencia; para identificar varios tipos de daños como por ejemplo los daños por calor, daños mecánicos, insectos, y para resolver los problemas encontrados en una prueba de germinación cuando las anomalías de las plántulas no son claras o se sospecha tratamiento con productos químicos (ISTA, 2012).

Se utilizó una solución incolora de cloruro de 2,3,5 trifenil tetrazolio como un indicador para revelar los procesos de óxido reducción que tienen lugar dentro de las células vivas. La hidrogenación del cloruro de 2,3,5 trifenil tetrazolio en las células con actividad metabólica genera una sustancia de color rojo, estable y no difusible, llamado formazán. Esto hace que sea posible distinguir las partes vivas coloreadas de rojo respecto de las zonas incoloras que corresponden a tejidos muertos de las semillas.

Se analizaron 4 repeticiones de 50 semillas cada una, en cada uno de los ocho sitios muestreados, (un total de 32 muestras y 1600 semillas) para cada híbrido estudiado. Para ello las semillas se dejaron en remojo durante toda una noche, al día siguiente se retiró con sumo cuidado el pericarpio y el tegumento transparente, que es impermeable al tetrazolio. Para retirar el tegumento los aquenios se cortaron longitudinalmente en forma parcial, a través de los cotiledones. A continuación se colocaron en la solución de tetrazolio al 0,1%, durante 3 horas a una temperatura de 30 °C. Transcurrido este periodo de tiempo, las semillas se retiraron de la estufa, se eliminó el tetrazolio y se lavaron con abundante agua corriente. Las semillas quedaron sumergidas en agua y se evalúa una por una.

Posteriormente se procedió a realizar el conteo de las semillas correspondientes a cada una de las fracciones establecidas en el Manual Tetrazolium Testing Handbook - AOSA (2000) (1: viable sin defectos, 2: defectos moderados, 3: defectos severos, 4: no viable).

A las semillas clasificadas como no viables, se le realizó luego, la correspondiente prueba de germinación estándar explicada anteriormente para corroborar el análisis

Para la clasificación:

Los resultados de viabilidad fueron expresados como Porcentaje de Semillas Viables, obtenido de la sumatoria de las dos primeras categorías de viabilidad.

- Viables sin defectos: aquellas que presentaron una tinción roja normal, además:
  - Toda semilla coloreada uniformemente y buena turgencia de los tejidos
- Viables con defectos moderados:
  - Defectos leves en el ápice de la raíz:
    - El ápice de la raíz se tiñe ligeramente de rojo más intenso que el resto de las semillas o aparece un manchado un poco menos que el resto de las semillas.
    - aceptable si el ápice de la raíz queda sin tinción.
- Viables con defectos severos:
  - 1/3 del área sin teñir, deteriorada o perdida en el extremo distal de ambos cotiledones.
  - Área longitudinal superficial sin teñir o deteriorada sobre un cotiledón.
  - Radícula completa de color rojo oscuro.
  - Anillo de color rojo oscuro sobre el área de unión del eje embrionario con los cotiledones.
  - Áreas de color rojo oscuro o sin teñir en el eje embrionario sobre la corteza pero sin llegar al cilindro central
- No viable: (anormal o sin teñir) las que presentaron:
  - Áreas sin teñir como estrías externas y/o internas sobre ambos cotiledones.
  - Cualquier parte esencial de la semilla sin teñir. Área en el eje embrionario- yema, corteza y cilindro central.
  - Daño excesivo en la radícula, mayor a un tercio de la misma. Radícula sin teñir.
  - Los cotiledones dañados en una superficie mayor a un tercio del área, o deteriorado o roto cerca del punto de unión de los cotiledones con el eje radícula-hipocótilo.
  - Las semillas inmaduras
  - Semillas rotas, área sin tinción o de otro color diferente al rojo o blanco alrededor de un área dañada.

- Semillas con coloraciones diferentes a rojo o blanco (oscuras marrón amarillo claro o gris).

--Área sin teñir en la zona de unión eje radícula-hipocótilo con los cotiledones, incluyendo la yema y considerando el estado de los vasos de conducción.

### **Prueba de envejecimiento acelerado (EA)**

La prueba de EA, fue desarrollada inicialmente para estimar la longevidad de la semilla en almacenamiento comercial y ha sido utilizada para predecir el tiempo de vida de un número de diferentes especies. Posteriormente ha sido utilizada como un indicador de vigor de la semilla en una amplia gama de especies de cultivo y se ha relacionado con éxito con emergencia en el campo (ISTA, 2012). Según las Reglas ISTA (2012), se define al vigor como: "la suma total de las propiedades de la semilla que determinan el nivel de actividad y el rendimiento del lote de semillas de germinación aceptable en un amplio rango de ambientes. Semillas que se desempeñan bien se denominan "semillas de alto vigor". Los aspectos del rendimiento asociados con el vigor de semillas incluyen: tasa y uniformidad de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas; ámbito de actuación, incluyendo medida, tasa y uniformidad de emergencia de las plántulas y rendimiento después del almacenamiento y el transporte, particularmente la retención de la capacidad de germinación.

Para la ejecución de la Prueba de EA se utilizó el método de las mini cámaras de EA colocadas dentro de una estufa. Se utilizaron mini cámara de EA marca Cereal Tools (Fig. 7). Las mismas son cajas cilíndricas de plástico, con soportes en su interior donde se apoya una cesta metálica que hace de sostén a las semillas, en su interior se coloca un volumen de 150 cc de agua. La mini cámara se colocó en una estufa (Fig. 8) donde las semillas son sometidas a una temperatura alta específica durante un tiempo determinado dependiendo de la especie. Durante el período de envejecimiento, las semillas absorben la humedad del ambiente dentro de la caja y son estresadas por la alta temperatura a medida que aumenta la humedad de la semilla a un nivel uniforme. Luego del periodo de estrés se retiran de la estufa y se siembran, siguiendo los pasos de PG explicados anteriormente. El resultado de la germinación luego del estrés por EA será, similar o menor a la germinación estándar, según sea la semilla de alto o de medio a bajo vigor, respectivamente. Por lo tanto, los resultados pueden ser utilizados para clasificar los lotes de semillas de acuerdo a su vigor y para la toma de decisiones en cuanto a la capacidad de almacenamiento o plantación potencial de cada lote de semillas.

El test de EA se realizó en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Se colocaron un total de 200 semillas en 8 cajas de envejecimiento por cada híbrido, una sola repetición por tratamiento, en total 16 cajas, cada una correspondiente a un sitio de muestreo. Las cajas de envejecimiento se colocaron en la estufa, marca Blast Serie SE70SDB, a 41 °C por 72 h. Durante el traslado a estufa las mini cámaras se manipularon cuidadosamente para que las

semillas no se mojen con el agua. A las 72 horas, se retiraron las semillas y se sembraron para una prueba de PG. Finalmente se hizo el conteo de las plantas a los 10 días, los resultados se expresaron en % de plántulas normales, anormales, semillas duras, frescas y muertas, coincidente con lo detallado para PG (ISTA, 2012).



*Figura 7. Imagen de Mini cámara de envejecimiento acelerado marca Cereal Tools.*



*Figura 8. Imagen de la estufa donde se realizó el test de envejecimiento acelerado*

### **Prueba de Frío o Prueba de frío (CT)**

La capacidad de las semillas para germinar y emerger en el suelo frío y húmedo se ve afectada por el genotipo, la calidad de las semillas, tanto física y fisiológica, patógenos y tratamiento de semillas. La prueba de frío intenta medir el impacto de los efectos combinados de todos estos factores (Craviotto, et al. 2001).

Para la realización de la Prueba de Frío se utilizaron bandejas de 1,5 kg de capacidad con un sustrato constituido por una mezcla de 2 partes de arena y 1 de tierra sin esterilizar, y el agregado de 130 cc de agua. Se utilizaron cuatro repeticiones por sitio de muestreo, una en cada bandeja, con 50 semillas por bandeja, las cuales se ubicaron en cámara fría a 10 °C durante 5 días. Posteriormente fueron llevadas a una cámara de germinación a 25 °C por el término de 7 días. Finalmente se realizó la evaluación y el conteo de plántulas de acuerdo a los criterios de evaluación de PG mencionados anteriormente del Manual de Evaluación de Plántulas de ISTA (2003).

### **Prueba de conductividad eléctrica (CE):**

Esta prueba proporciona una medida de las fugas de electrolitos de los tejidos vegetales dañados y fue reconocido por primera vez para las semillas de varias especies de cultivos (AOSA, 1983; Hampton y Tekrony, 1995).

La medición de conductividad del agua en el que una muestra se ha embebido permite identificar lotes de semillas que tienen una alta germinación de laboratorio, pero pobre potencial de emergencia en el campo (AOSA, 1983, Hampton y Tekrony, 1995). Los lotes de semillas que tienen mayor liberación/lixiviación de electrolitos al medio de imbibición se clasifican como “de bajo vigor”, mientras que aquellos con menores valores de liberación de electrolitos son considerados “de alto vigor” (AOSA 1983, Hampton y Tekrony 1995). Aunque las mediciones de conductividad eléctrica se hacen generalmente con un equipo de medición masal, existen otros equipos que permite determinar la salida de electrolitos en semillas individuales.

Cuanto mayor sea la velocidad en que la semilla es capaz de restablecer la integridad de las membranas celulares, la salida de electrolitos al medio de imbibición resulta inferior. Las semillas de vigor alto al hidratarse son capaces de reorganizar sus membranas con mayor rapidez y reparar cualquier daño en mayor medida, que las semillas de bajo vigor. En consecuencia, la fuga de electrolitos en las semillas de alto vigor es menor que la medida a partir de semillas de bajo vigor (ISTA, 2012).

Para medir la CE de los tratamientos se utilizó el equipo Analizador de Conductividad eléctrica de semillas individuales, SAD 9000-S, disponible en la Facultad de Ciencias Agrarias UNR (Fig. 9). Este equipo además de complementar los demás métodos de investigación, aporta velocidad en el análisis y por consiguiente, en la toma de decisiones. En 24 horas se puede obtener además de la CE, un conjunto de determinaciones como: estimación de PG, estimación de Vigor, valores de dormición, etc. El equipo fue diseñado y construido bajo normas de calidad ISO 9001:2008 y de seguridad eléctrica exigidas por el Mercosur. La base metrológica está realizada bajo normas ISO 17025 de Laboratorio de Ensayos. El equipo

consta de: un cabezal múltiple de medición (RS232USB), gradilla o bandeja múltiple de lixiviación, modulo dosificador - agitador, bandeja lavadora, software y controlador de datos. (Fior et al., 2012).

Para determinar la CE se utilizó una repetición de 100 semillas para cada sitio de muestreo. Previamente se contaron las semillas 100 de cada sitio y se pesaron para incorporar este dato al programa y obtener el valor de CE por gramo. Se utilizaron bandejas con celdas individuales las cuales fueron lavadas y enjuagadas nuevamente con agua destilada deionizada. Se utilizó agua con baja CE (entre 0 a 5 micro Siemens por cm ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )). Cada una de las 100 celdas de cada bandeja se llenó con 8 cc de agua deionizada por medio del dosificador múltiple que dispone el equipo. Se colocó 1 semilla por celda y luego las bandejas se ubicaron en una cámara de incubación a 25 °C durante 20 horas. A las 4 horas se retiraron las bandejas y se realizó una primera lectura, se colocaron nuevamente en la cámara y se realizó una segunda lectura a las 20 horas de incubación. Se hace en dos tiempos distintos ya que se puede comparar la estabilidad de los valores resultantes del análisis, a las 4 horas las membranas se desorganizan cuando recién ingresa el agua a la semilla y luego se va estabilizando con el tiempo. Se espera que a las 20 horas los valores sean más estables y parejos.

El equipo calcula directamente la conductividad eléctrica promedio por gramo de peso de semilla en cada medición dividiendo la CE promedio de la muestra por el peso promedio de las 100 semillas incorporados al programa:

Si bien para girasol la determinación de CE de semillas individuales no se encuentra normalizada por ISTA (2012), se utilizó la prueba ya que la CE es un método para estimar la integridad de membranas celulares, el deterioro y brinda información sobre la calidad de un lote de semilla en forma rápida.



*Figura 9. Imagen del equipo para medir conductividad eléctrica marca Minilab SAD 9000-S.*

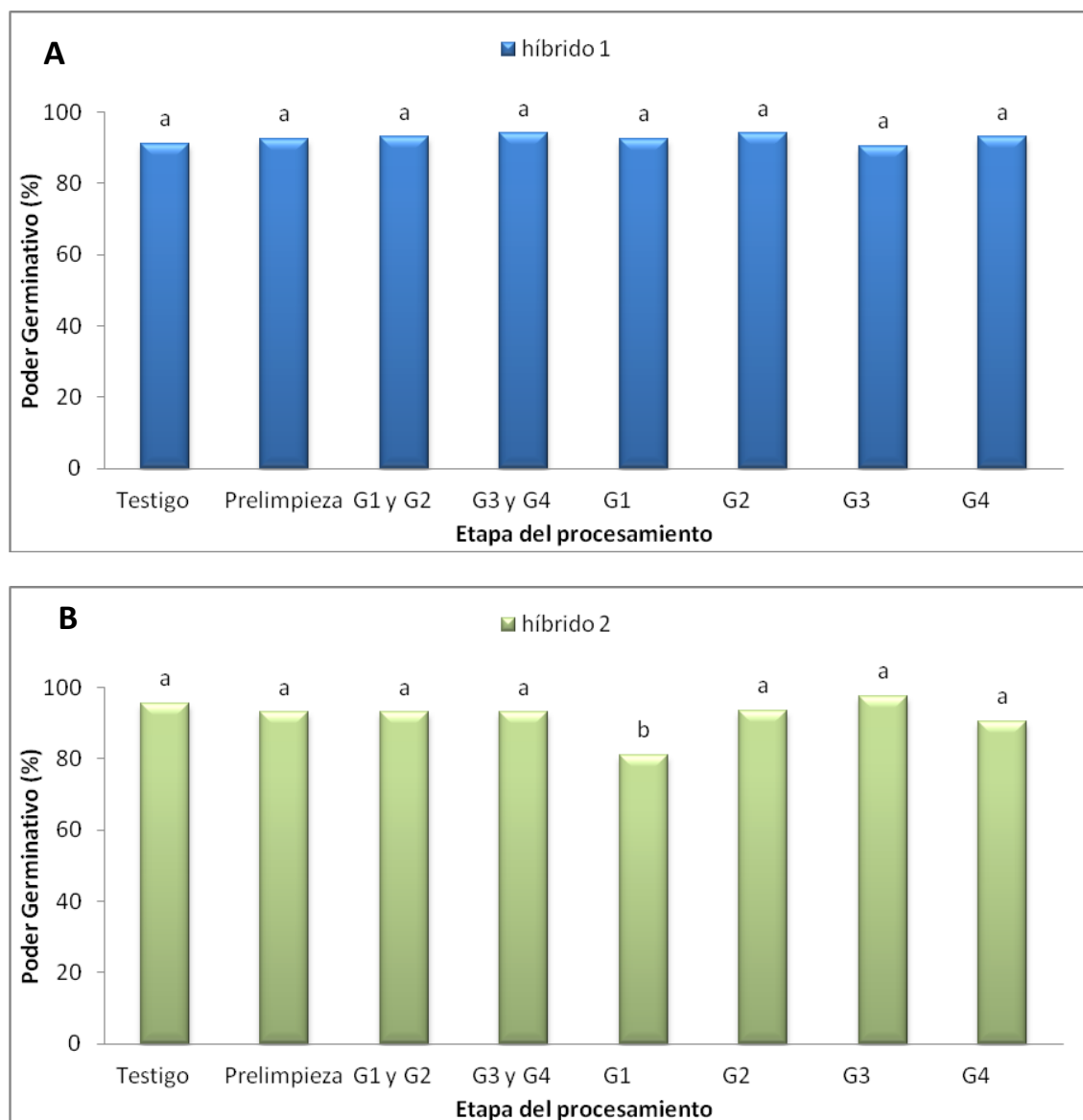
### **Análisis estadístico de los datos**

Los datos resultantes del trabajo se sometieron a un Análisis de la Varianza (ANOVA) mediante el programa estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2012). Posteriormente para detectar posibles diferencias entre las medias se aplicó un Test de medias de Tuckey con un nivel de significancia de 0,1 % y de 0,5%. Para el caso de la Prueba topográfica por tetrazolio específicamente, se utilizó también el Test de Duncan, ya que la precisión de dicho test mostró diferencias significativas, en tanto, que el test de Tuckey no las halló.

## RESULTADOS

### Prueba de germinación estándar (PG)

En la Figura 10 se puede observar detalladamente el comportamiento de cada tratamiento para la variable plántulas normales obtenidas en la Prueba de germinación estándar en cada uno de los híbridos estudiados.



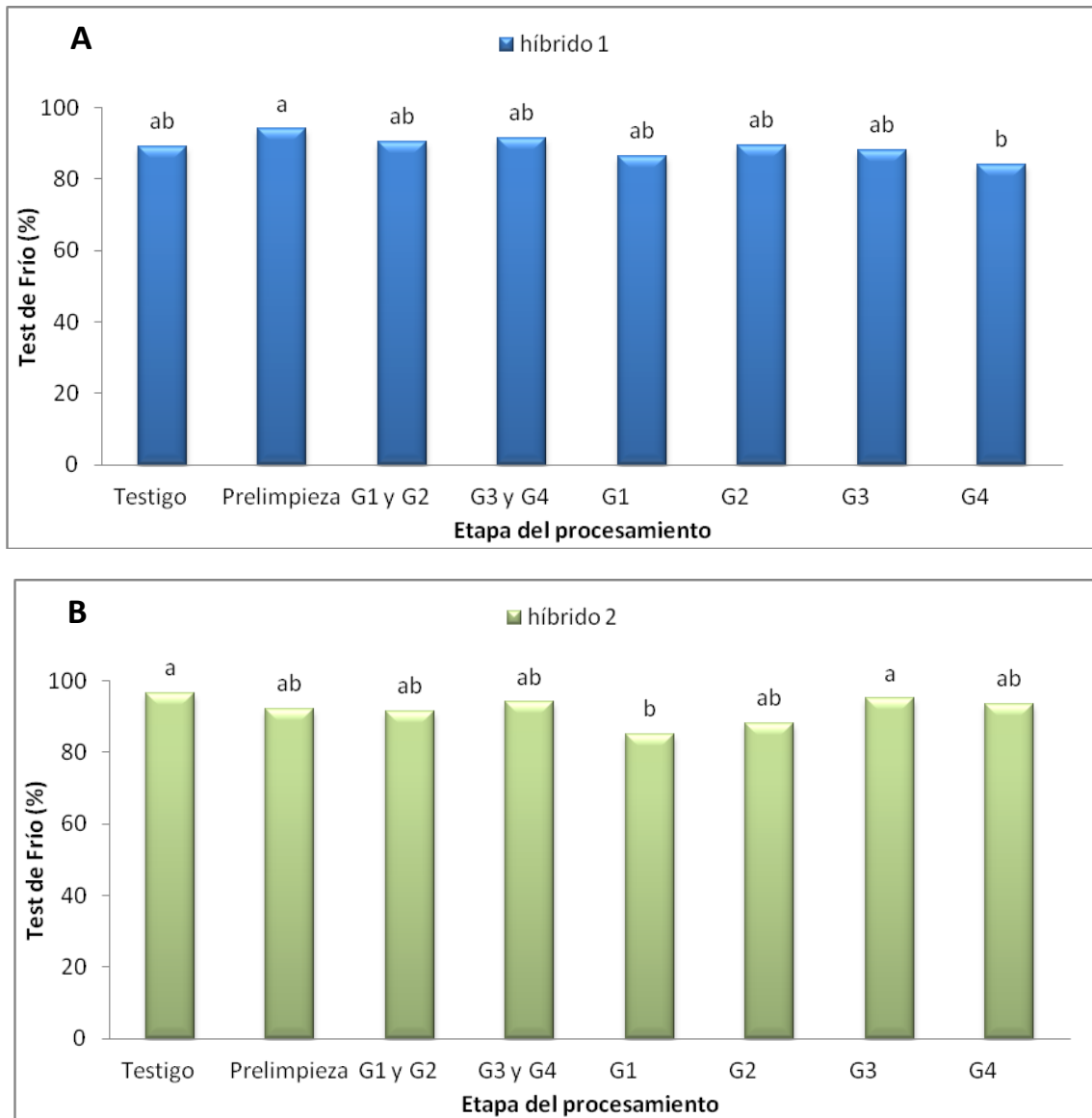
**Figura 10.** Prueba de germinación estándar promedio de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas. (Letras distintas sobre las barras muestran diferencias significativas, Tuckey  $\alpha= 0,01$ ).

Se realizó inicialmente un ANOVA donde se aprecia la existencia de interacción significativa para híbrido x tratamiento. Luego se procedió a realizar el desglose de la interacción para ubicar si esa interacción corresponde a ambos híbridos o a uno en particular. Del análisis de interacción híbrido x tratamiento se observó la existencia de diferencias significativas entre tratamientos dentro del Híbrido 2. Esto significa que el PG promedio de al menos un tratamiento difiere del resto. Para interpretar este resultado se procedió a realizar un test de comparaciones múltiples mediante Tukey entre tratamientos para el híbrido 2.

Según la incidencia del procesamiento sobre la calidad fisiológica de la semilla de girasol se puede observar que para el Híbrido 1 no se registran diferencias significativas en el PG para los distintos tratamientos, oscilando entre un valor de 91% a un valor de 94 % (Fig. 10 A). En tanto que para el híbrido 2 se observa una disminución significativa solo para G1 (81%) respecto del resto de los tratamientos (Fig. 10 B). Apreciándose que este comportamiento se verifica en las semillas de mayor tamaño de la muestra.

### Prueba de frío (CT)

En la Figura 11 se puede observar detalladamente el comportamiento de cada tratamiento para la variable plántulas normales obtenidas en la Prueba de frío en cada uno de los híbridos estudiados.



**Figura 11.** Promedio de plántulas normales (%) obtenidas luego de la Prueba de Frío en muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2, obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas. (Letras distintas sobre las barras muestran diferencias significativas, (Tukey  $\alpha= 0,05$  para Híbrido 1 y  $\alpha= 0,01$  para Híbrido 2).

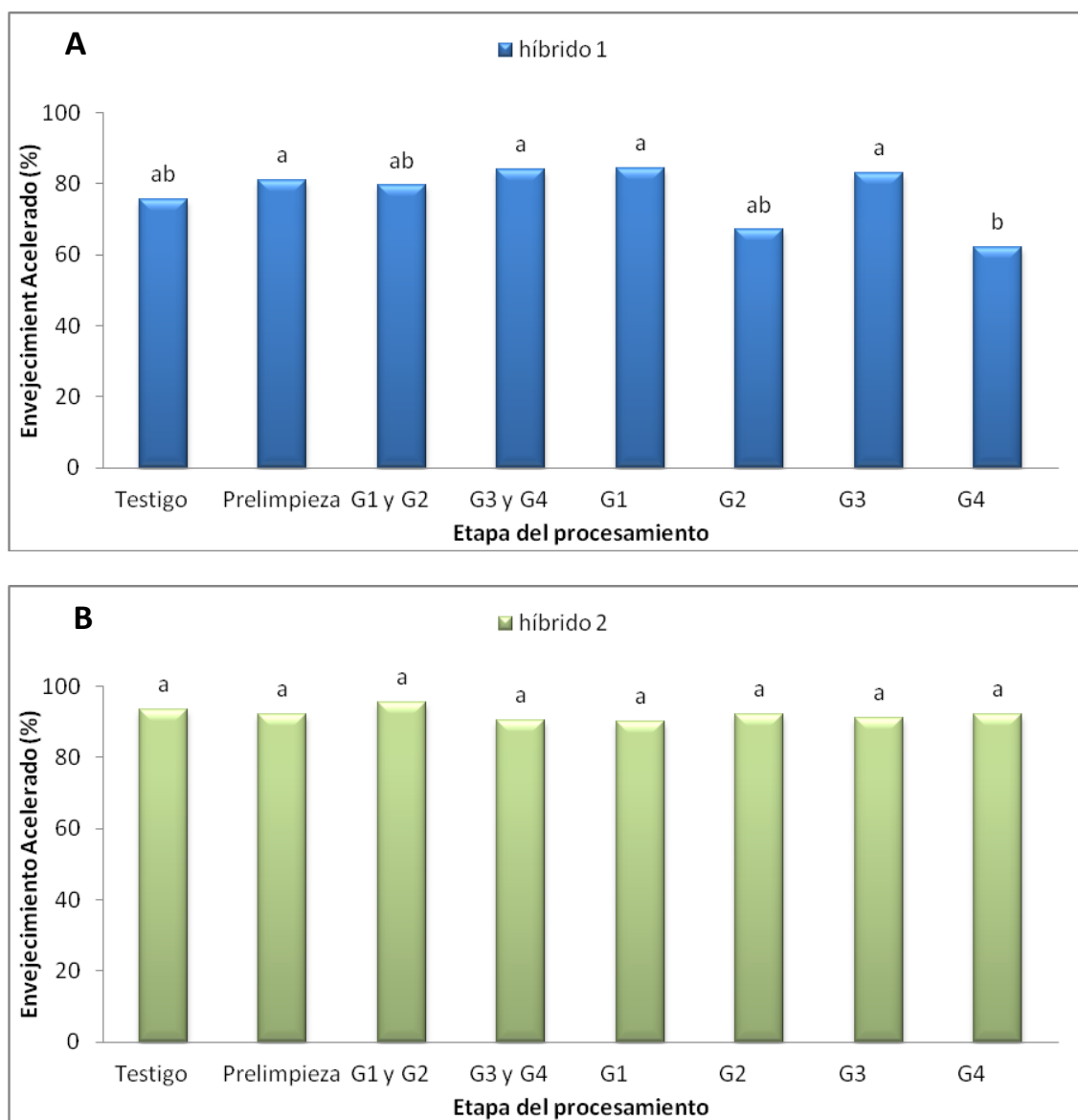
Con respecto al análisis de la variable porcentaje de plántulas normales obtenidas luego de la Prueba de frío, el ANOVA reveló la existencia de interacción significativa entre los híbridos y los tratamientos, esto indica que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido. Por lo tanto no se pueden analizar los factores híbrido y tratamiento en forma conjunta. En tanto, si se realizó el desglose de la interacción para determinar cómo se comportan los tratamientos dentro de cada híbrido.

Este análisis reveló la existencia de diferencias significativas entre tratamientos tanto para el Híbrido 1, como para el Híbrido 2, a un nivel de significancia del 1 y 5%, respectivamente. Por lo tanto se realizó el test de comparaciones múltiples Tukey para poder evaluar cómo difieren los tratamientos dentro de cada híbrido.

Del análisis de los resultados del Híbrido 1 se observa que existen diferencias significativas entre los promedios de plántulas normales obtenidas por la Prueba de frío (CT) para prelimpieza se observa el mayor valor (94 %) y para G4, el menor valor (84 %), en tanto que para el resto de los tratamientos muestran un comportamiento intermedio (Fig. 11A). Por otra parte, para el Híbrido 2, se registraron diferencias altamente significativas entre el Testigo y G3, que presentaron los mayores valores (97 y 95 %, respectivamente) y G1 que presentó el menor valor (85 %). En tanto que para el resto de los tratamientos mostraron un comportamiento intermedio (Fig. 11B).

### Prueba de envejecimiento acelerado (EA)

En la Figura 12 se puede observar detalladamente el comportamiento de cada tratamiento para la variable plántulas normales obtenidas en la Prueba de envejecimiento acelerado en cada uno de los híbridos estudiados.



**Figura 12.** Promedio de plántulas normales (%) obtenidas luego de la Prueba de envejecimiento acelerado, en muestras de semillas de los híbridos de girasol analizados A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2), obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas. (Letras distintas sobre las barras muestran diferencias significativas, (Tuckey  $\alpha=0,01$ ).

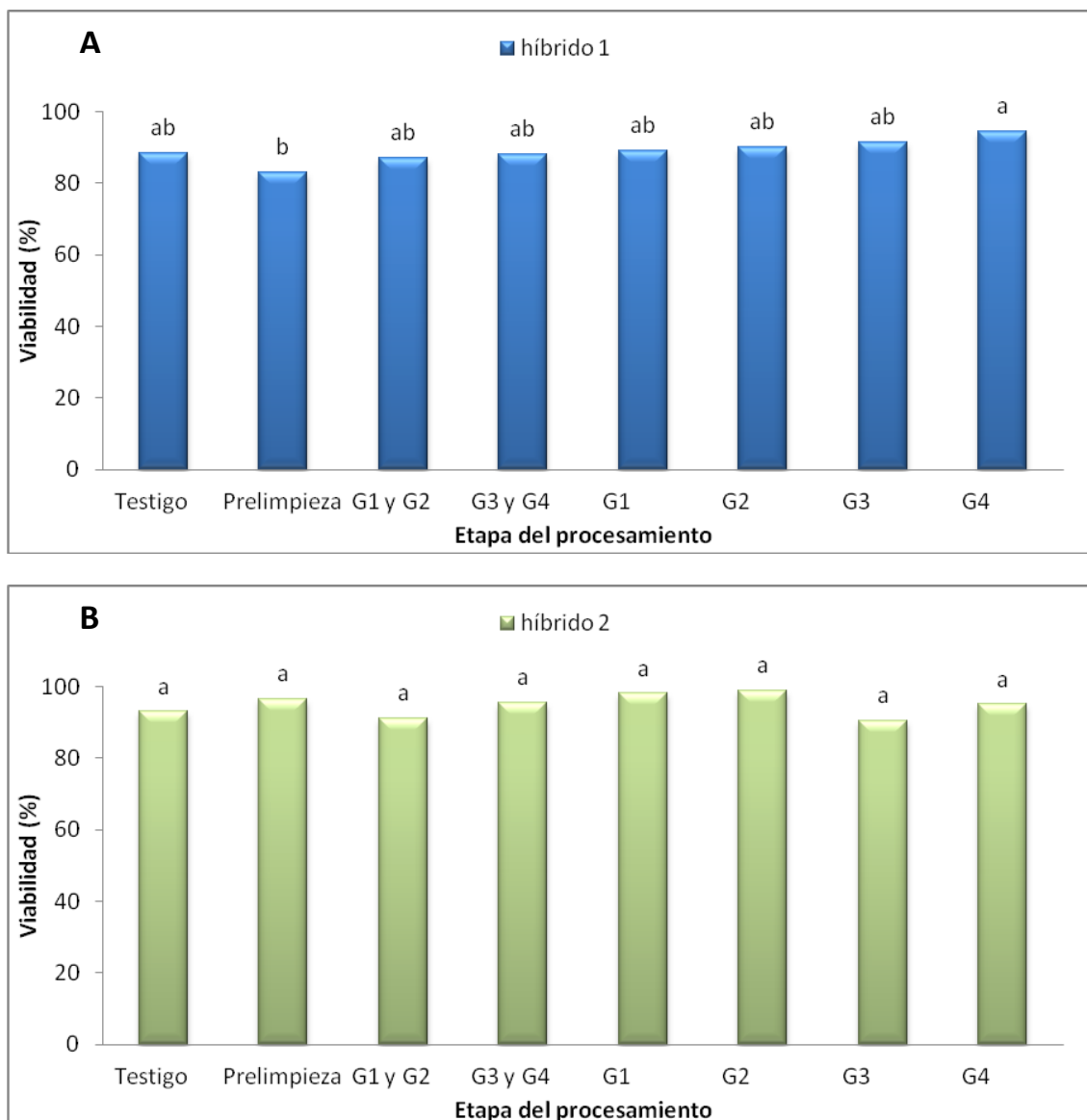
En el estudio de la variable porcentaje de plántulas normales obtenidas en la Prueba de EA, de acuerdo a los resultados obtenidos en el ANOVA se observó que existe interacción entre híbridos y tratamientos, indicando que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada uno de los híbridos estudiados. Por lo tanto se realiza el desglose de la interacción que permite evaluar cómo es ese comportamiento.

Dentro del Híbrido 1 se observan diferencias significativas entre tratamientos, por lo que para la Prueba de envejecimiento acelerado al menos un tratamiento difiere del resto, para determinar el comportamiento de los distintos tratamientos para el Híbrido 1 se realiza el test correspondiente. Por otro lado, el Híbrido 2 no muestra diferencias entre los tratamientos.

Se observa que para el Híbrido 1 el tratamiento G1 presenta el mayor valor (85 %) y el tratamiento G4 presenta el menor valor (62 %), los restantes manifiestan un comportamiento intermedio (Fig. 12A). Para todos los tratamientos estudiados del Híbrido 2, los valores de plántulas normales luego de la Prueba de EA fueron superiores a los del Híbrido 1, verificándose valores superiores al 90 % (Fig. 12A y Fig. 12B) esto es indicativo de un mayor vigor de este híbrido.

**Prueba topográfica por tetrazolio (Tz):**

En la Figura 13 se puede observar detalladamente el comportamiento de cada tratamiento para la variable número de semillas viables obtenidas en la Prueba topográfica por tetrazolio en cada uno de los híbridos estudiados.



**Figura 13.** Valores promedios de semillas viables obtenidos por la prueba de Viabilidad por Tetrazolio de muestras de semillas de los híbridos en estudio A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2, obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas.

En el análisis de la variable número de semillas viables obtenidas por la Prueba topográfica por Tetrazolio se observa interacción entre híbridos y tratamientos a un nivel de significación del 5 %, indicando que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido.

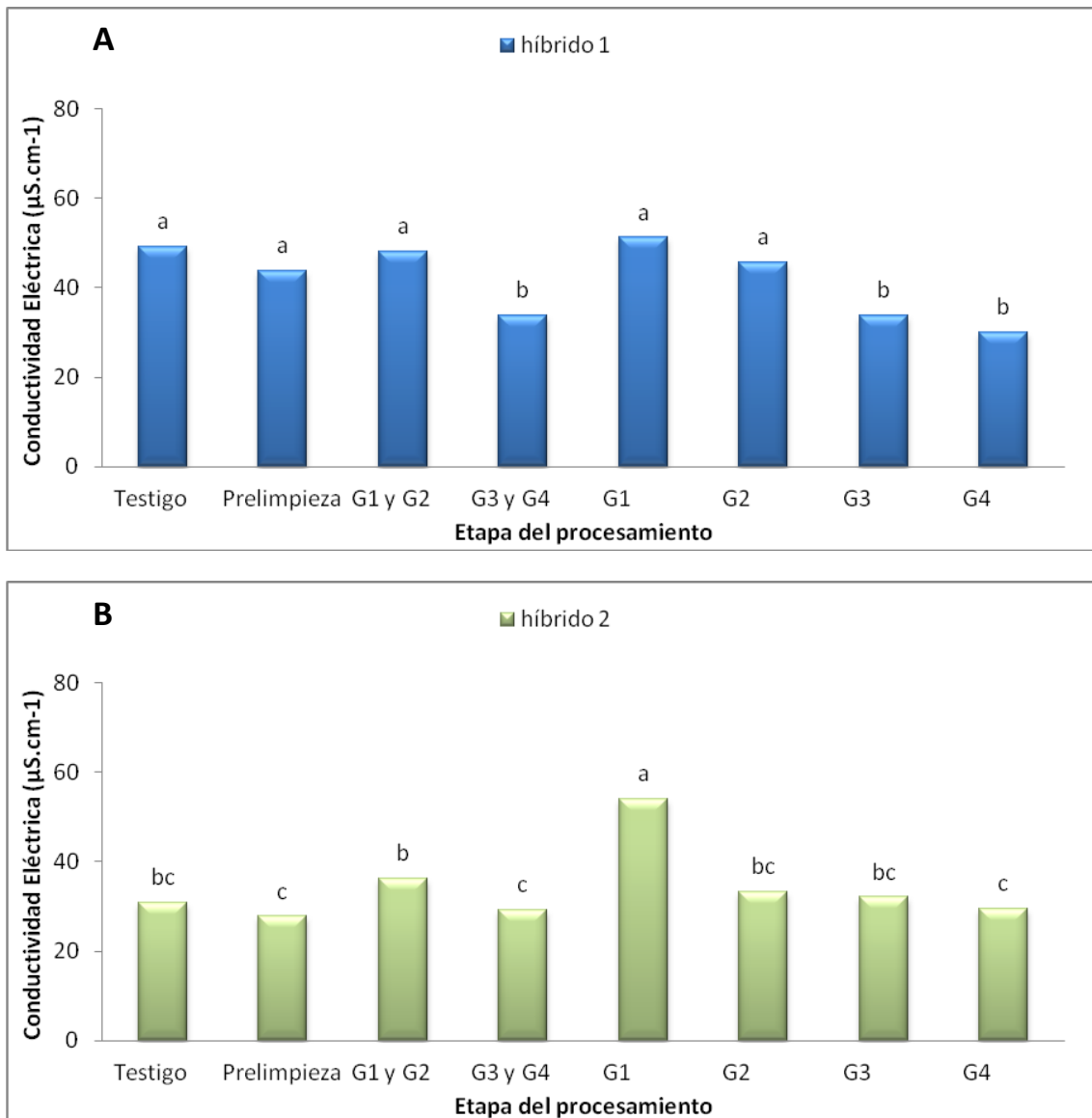
En el desglose de la interacción se verifican diferencias significativas entre tratamientos para la variable en estudio. No se detectaron diferencias significativas con el test de Tukey, por lo tanto se recurrió a Duncan con  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo al ANOVA y al desglose posterior de la interacción híbrido x tratamiento, resultó significativa entre tratamientos dentro del Híbrido 1. Detectándose para la variable semillas viables determinadas en la Prueba topográfica por tetrazolio el valor inferior de 83 % correspondiente a la prelimpieza y un valor superior de 95 % para G4, corroborándose diferencia significativa entre esos tratamientos, en tanto que no existe diferencia con el resto de los tratamientos (Fig. 13A). Para el Híbrido 2 no se registraron diferencias entre los distintos tratamientos. Nuevamente los mayores valores de cada tratamiento correspondieron al Híbrido 2, oscilando entre 91 al 99 % (Fig. 13A vs Fig. 13B).

## Prueba de conductividad eléctrica (CE)

### 4 horas de incubación:

En la Figura 14 se observa el valor de CE de semillas individuales luego de 4 h de incubación expresados en  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , medido en cada uno de los tratamientos y para cada uno de los híbridos estudiados.



**Figura 14.** Valores promedios de prueba de conductividad eléctrica a las 4 h de incubación expresados en  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2, obtenidos al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidas. (Letras distintas sobre las barras muestran diferencias significativas, (Tuckey 0,01)).

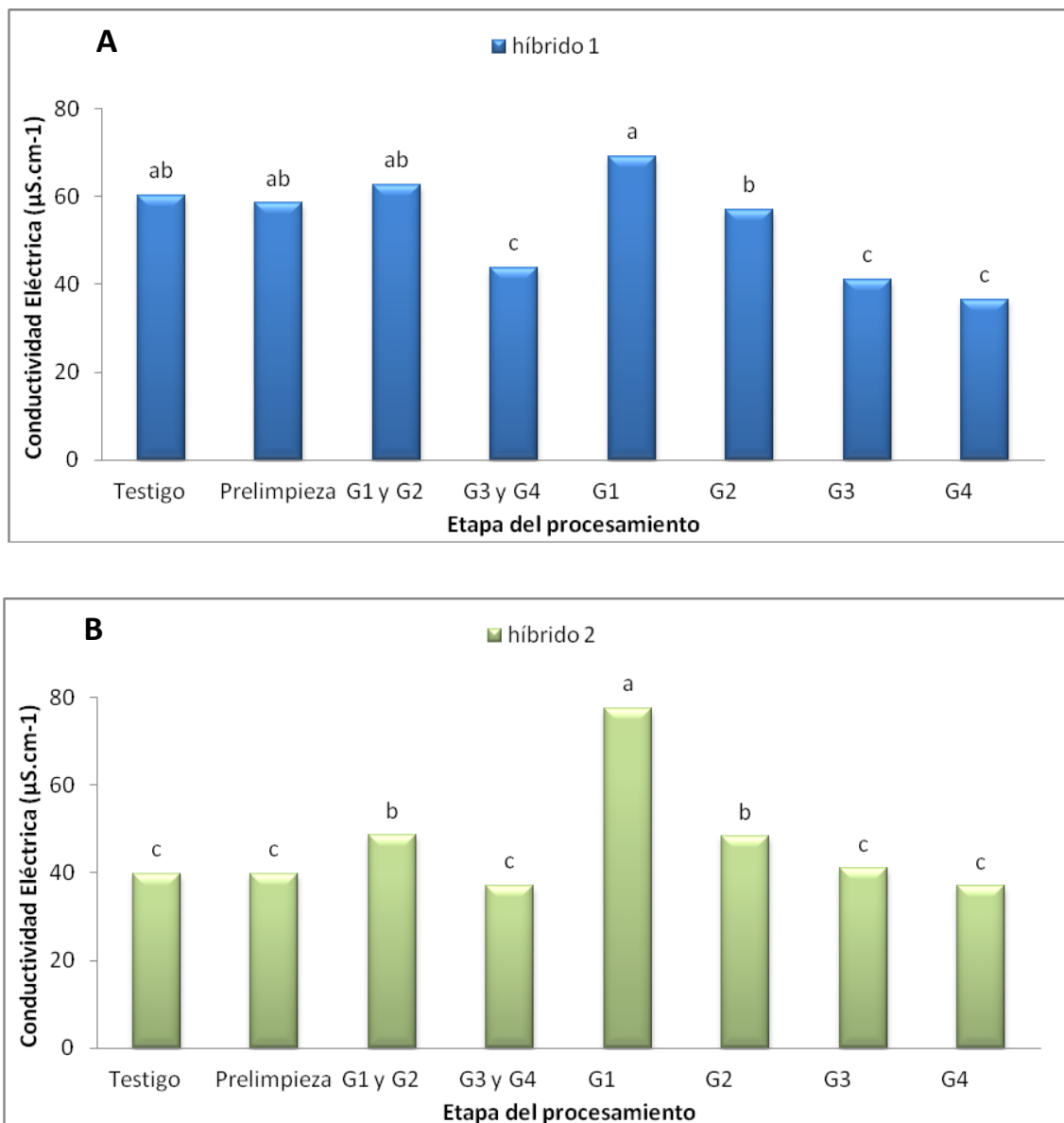
En el análisis de la variable conductividad eléctrica a las 4 horas de incubación se observa interacción híbrido x tratamiento a un nivel de significancia del 1%, indicando que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido. En el desglose de la interacción se verificaron diferencias significativas con el Test de Tukey para ambos híbridos.

Del análisis de los promedios surge que para el Híbrido 1 se distingue el mayor valor de conductividad para G1 ( $51 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) y el menor valor para G4 ( $30 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), mientras que para el Híbrido 2 el mayor valor de conductividad también lo presenta G1 ( $54 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) y el menor valor prelimpieza ( $28 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

En la medición de la CE a las 4 horas de lixiviación la pérdida de electrolitos fue menor, en términos generales, para el Híbrido 2 respecto al Híbrido 1 (Fig. 14A vs Fig. 14B).

### 20 horas de incubación:

En la Figura 15 se observa el valor de CE de semillas individuales luego de 20 horas de incubación expresados en  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , medido en cada uno de los tratamientos y para cada uno de los híbridos estudiados.



**Figura 15.** Valores promedios de prueba de conductividad eléctrica a las 20 h de incubación expresados en  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ , de muestras de semillas de los híbridos de girasol en estudio A) Híbrido 1 y B) Híbrido 2, obtenidas al final de cada una de las etapas del procesamiento a las que fueron sometidos. (Letras distintas sobre las barras muestran diferencias significativas, (Tuckey 0,01)).

En el análisis de la variable conductividad eléctrica a las 20 horas de incubación se observa interacción híbrido x tratamiento a un nivel de significancia del 1%, indicando que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido. En el desglose de la interacción se verificaron diferencias significativas con el Test de Tuckey para ambos híbridos.

Del análisis de los promedios surge que para el Híbrido 1 se distingue el mayor valor de conductividad para G1 (44 %) y el menor valor para G4 (37 %), mientras que para el Híbrido 2 el mayor valor de conductividad también lo presenta G1 (78 %) y el menor valor G4 (37 %) Fig. 15A y 15B).

De acuerdo a los datos obtenidos al cabo de 20 hs de imbibición se puede observar como tendencia, en términos generales para ambos híbridos, que la conductividad fue disminuyendo a medida que transcurrían los tratamientos, y que el Híbrido 1 presentó mayores valores de conductividad a lo largo de todos los tratamientos (Fig. 15A). Como se mencionó, cuanto mayor sea la velocidad con la que la semilla es capaz de restablecer su integridad de membrana, la fuga de electrolitos resultará inferior. Semillas de vigor más alto son capaces de reorganizar sus membranas con mayor rapidez, y reparar cualquier daño en mayor medida, que las semillas de bajo vigor. En consecuencia, la fuga de electrolitos medida a partir de las semillas de alto vigor es menor. Por ende el Híbrido 2, según este análisis, manifiesta mejores condiciones. No obstante y como un hecho para remarcar, el tratamiento G1 en ambos híbridos fue el que registró los mayores niveles de conductividad, confiriéndole una menor calidad fisiológica a esas semillas. Sin embargo, no debe perderse de vista que precisamente ese tratamiento es el que contiene las semillas de mayores dimensiones respecto al resto de los tratamientos, lo cual podría explicar en parte la mayor contribución de electrolitos lixiviados a la solución de imbibición, asociado al mayor tamaño de las semillas.

**Análisis comparativo entre híbridos de las pruebas de Calidad Fisiológica para cada etapa del procesamiento.**

**Recepción en planta (Testigo)**

En la Tabla 3 se muestran los valores promedios obtenidos en las distintas pruebas realizadas en los híbridos en estudio (Híbrido 1 e Híbrido 2) para la etapa de procesamiento correspondiente a la recepción del lote (Testigo).

**Tabla 3:** Valores promedios obtenidos, en los tratamientos de Prueba de germinación estándar (PG), Prueba de frío (CT), Prueba de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20), correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la etapa de procesamiento correspondiente a la recepción del material (Testigo). Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

Tratamiento	Variable analizada	Híbrido 1	Híbrido 2
<b>Testigo</b>			
	PG (% plántulas normales)	91 a	96 a
	CT (% plántulas normales )	89 a	97 a
	EA (% plántulas normales )	76 a	94 b
	Tz (% semillas viables)	89 a	93 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	49 a	31 b
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	61 a	40 b

Del análisis de las distintas pruebas de calidad fisiológica aplicadas al lote de semillas al recibo en planta, el testigo, se puede observar que para el Híbrido 1, los valores porcentuales de germinación estándar están próximos al 90 %. En el caso de vigor medido por Envejecimiento acelerado el valor de plántulas normales cayó al 76 % (Tabla 3) .Por su parte la Conductividad Eléctrica tuvo su menor registro a las 4 horas de incubación con  $49 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , aumentando ese valor hasta  $61 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , al cabo de 20 h de incubación.

El Híbrido 2 presentó valores semejantes en las distintas pruebas realizadas, manteniéndose en valores superiores al 93 % indicativos de buena calidad (Tabla 3) y con valores de lixiviación de iones menores que los observados para el Híbrido 1, reflejando la mejor calidad fisiológica inicial (Fig. 8A y 8B).

Las diferencias significativas entre híbridos se registraron para los test de Envejecimiento acelerado (EA), Conductividad eléctrica a las 4 y 20 h (CE 4) y (CE 20), (Tabla 3).

## Prelimpieza

En la Tabla 4 se muestran los valores promedios obtenidos en las distintas pruebas realizadas en la etapa de procesamiento correspondiente a la prelimpieza del lote para los híbridos en estudio.

Para la prelimpieza en el Híbrido 1 se lograron aumentos en PG, CT y EA respecto al tratamiento testigo, en tanto que para Tz el valor fue menor (Tabla 4), a la vez que la conductividad fue menor, reflejando una leve mejora en la calidad fisiológica al haber avanzado en una etapa del procesamiento de semillas. Para el Híbrido 2 los valores porcentuales disminuyeron levemente respecto al testigo pero se mantuvieron en niveles iguales o superiores al 92%, a la vez que la prueba de conductividad eléctrica fue similar a la registrada en la etapa previa del procesamiento (Tabla 4). En este caso la prueba de conductividad eléctrica a las 4 h y la de tetrazolio demostraron ser estadísticamente diferentes entre híbridos. Nuevamente se registra una mejor performance fisiológica de las semillas del Híbrido 2 respecto a las del Híbrido 1.

**Tabla 4:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la segunda etapa del procesamiento o prelimpieza. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

Tratamiento	Variable analizada	Híbrido 1	Híbrido 2
<b>Prelimpieza</b>			
	PG (% plántulas normales)	93 a	93 a
	CT (% plántulas normales )	94 a	92 a
	EA (% plántulas normales)	81 a	92 a
	Tz (% semillas viables)	83 a	97 b
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	44 a	28 b
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	58 a	40 a

### Separación conjunta G1/G2

En la Tabla 5 se observan los promedios obtenidos en las distintas pruebas de calidad fisiológica realizadas en los Híbridos 1 y 2 para la etapa de procesamiento correspondiente a la separación conjunta de grado 1 y grado 2.

En la etapa de procesamiento G1/G2, para el Híbrido 1 se registraron valores similares a los de la prelimpieza, siendo nuevamente la variable EA la más baja con un valor de 80%. En tanto que para la prueba de conductividad eléctrica se observó un incremento en los valores medidos respecto a la etapa anterior (Tabla 4 vs Tabla 5). En cuanto al Híbrido 2, nuevamente fue superior en esta etapa al Híbrido 1 y mantuvo los valores porcentuales similares a los de la prelimpieza. Sin embargo, para la prueba de conductividad eléctrica registró un incremento en ambos tiempos de análisis. La comparación entre híbridos arroja diferencias significativas para los test de EA, CE 4h y CE 20h (Tabla 5).

**Tabla 5:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la tercera etapa del procesamiento o separación conjunta de grado 1 y grado 2.

Tratamiento	Variable analizada	Híbrido 1	Híbrido2
<b>G1/G2</b>			
	PG (% plántulas normales)	93 a	93 a
	CT (% plántulas normales )	91 a	92 a
	EA (% plántulas normales)	80 a	96 b
	Tz (% semillas viables)	87 a	91 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	48 a	36 b
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	63 a	49 b

### Separación conjunta G3/G4

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en las distintas pruebas de calidad fisiológica realizadas para los Híbridos 1 y 2, para la etapa correspondiente a la separación conjunta de grado 3 y grado 4 del lote.

En esta etapa se verifica una leve mejora en la calidad fisiológica de las semillas del Híbrido 1 reflejada por un aumento, respecto a la etapa anterior, en los valores de PG, CT, EA y Tz, a la vez que disminuyó la conductividad eléctrica en 4 y 20 h. Nuevamente el tratamiento de EA vuelve a dar los menores valores. Respecto al Híbrido 2 se registra un aumento en los valores porcentuales obtenidos respecto al G1/G3, a la vez que también disminuyó la salida de iones de las semillas indicando una mejora en la calidad de sus membranas plasmáticas. Del análisis comparativo entre híbridos no se verifican diferencias significativas en ninguna de las pruebas de calidad fisiológica realizadas (Tabla 6).

**Tabla 6:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la cuarta etapa del procesamiento o separación conjunta de grado 3 y grado 4. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

Tratamiento	Variable analizada	Híbrido 1	Híbrido 2
<b>G3/G4</b>			
	PG (% plántulas normales)	94 a	93 a
	CT (% plántulas normales )	92 a	94 a
	EA (% plántulas normales)	84 a	91 a
	Tz (% semillas viables)	88 a	96 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	34 a	29 a
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	44 a	37 a

### **Grado 1 (G1)**

En la Tabla 7 se muestran los valores promedios de las distintas pruebas de calidad fisiológica realizadas en el Híbrido 1 e Híbrido 2, para la etapa de procesamiento correspondiente a separación del grado 1.

En la etapa de procesamiento durante la cual se obtienen las semillas de mayor tamaño o grado 1, se registraron los valores más bajos de calidad fisiológica para el Híbrido 1, excepto para el PG, a la vez que la prueba de conductividad eléctrica fue la de mayor valor. Esta situación es similar a lo observado en el Híbrido 2, donde también se registraron los menores valores de calidad fisiológica de las semillas, excepto para Tetrazolio.

Cuando se compararon estadísticamente los híbridos, solamente se encontraron diferencias significativas para la prueba de germinación (Tabla 7).

**Tabla 7:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la quinta etapa del procesamiento o grado 1. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

<b>Tratamiento</b>	<b>Variable analizada</b>	<b>Híbrido 1</b>	<b>Híbrido 2</b>
<b>G1</b>			
	PG (% plántulas normales)	93 a	81 b
	CT (% plántulas normales )	87 a	85 a
	EA (% plántulas normales)	85 a	90 a
	Tz (% semillas viables)	89 a	98 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	51 a	54 a
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	69 a	77 a

## **Grado 2 (G2)**

En la Tabla 8 se observan los promedios obtenidos en las pruebas de calidad fisiológica realizadas sobre las semillas de los Híbridos 1 y 2 para la etapa correspondiente a la separación del grado 2.

Se puede observar que en esta separación por tamaño, nuevamente se recuperan los valores porcentuales de calidad fisiológica del Híbrido 1, en PG, CT y Tz, iguales o superiores al 90%. En tanto que el test de Envejecimiento acelerado registró un valor más bajo, con 67%. La conductividad eléctrica fue menor que en G1 y semejante a los valores del resto de las etapas de procesamiento para el mismo híbrido. (Tabla 8).

Respecto al Híbrido 2, también se recuperaron los valores de PG, EA y Tz, en tanto que para el Test de frío el valor fue menor con 88% (Tabla 8). Al igual que para el Híbrido 1, también se recuperaron los valores de las etapas anteriores de procesamiento.

Del análisis comparativo entre híbridos surge que para la prueba de EA el Híbrido 1 difirió significativamente del Híbrido 2 67% vs 92%, respectivamente. Al igual que para CE 4h, con 46 y 33  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  para el Híbrido 1 y 2, respectivamente (Tabla 8).

**Tabla 8:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la sexta etapa del procesamiento o grado 2. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

<b>Tratamiento</b>	<b>Variable analizada</b>	<b>Híbrido 1</b>	<b>Híbrido 2</b>
<b>G2</b>			
	PG (% plántulas normales)	94 a	94 a
	CT (% plántulas normales )	90 a	88 a
	EA (% plántulas normales)	67 b	92 a
	Tz (% semillas viables)	90 a	99 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	46 a	33 b
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	57 a	48 a

### **Grado 3 (G3)**

En la tabla 9 se muestran los valores promedios obtenidos en las distintas pruebas de calidad fisiológica realizadas sobre las semillas de los Híbridos 1 y 2 para la etapa de procesamiento correspondiente a la separación del Grado 3.

En la separación de semillas del G3, para el Híbrido 1 se observa una caída en los porcentajes de plántulas normales en las pruebas de CT y EA respecto a los valores anteriores (88 y 83 %, respectivamente), en tanto que para PG y Tz se midieron valores que superaron el 90 %. La prueba de conductividad eléctrica fue baja, reflejando una mejor calidad (buena recuperación de las membranas plasmáticas durante la imbibición para este grado) (Tabla 9).

Para el Híbrido 2 todos los valores de las pruebas de calidad fisiológica confirman un muy buen comportamiento de las semillas en esta etapa del procesamiento. La comparación entre híbridos no arrojó diferencias significativas para las distintas pruebas de calidad fisiológica realizadas (Tabla 9).

**Tabla 9:** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20) correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la séptima etapa del procesamiento o grado 3. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey p <0,01).

<b>Tratamiento</b>	<b>Variable analizada</b>	<b>Híbrido 1</b>	<b>Híbrido 2</b>
<b>G3</b>			
	PG (% plántulas normales)	91 a	98 a
	CT (% plántulas normales )	88 a	95 a
	EA (% plántulas normales)	83 a	91 a
	Tz (% semillas viables)	92 a	91 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	34 a	32 a
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	41 a	41 a

#### **Grado 4 (G4)**

En la Tabla 10 se presentan los valores de las distintas pruebas de calidad fisiológica a las que fueron sometidas las semillas de los Híbridos 1 y 2 para la etapa de procesamiento correspondiente a la separación del Grado 4.

El último grado de la cadena de procesamiento de semillas de girasol es el 4 (G4) y corresponde a los aquenios de menor tamaño que se obtienen de toda la muestra ingresada para su clasificación. Los resultados de las pruebas de calidad fisiológica para el Híbrido 1 fueron los más altos de todas las etapas para Tz y para PG. No obstante, para las pruebas de CT y EA, los valores fueron bajos, especialmente para la Prueba de envejecimiento acelerado con 62%. Sin embargo, la prueba de conductividad eléctrica fue la que menores valores registró en todas las etapas del procesamiento (Tabla 10).

Respecto al Híbrido 2 todos los valores de calidad fisiológica fueron muy elevados, estando por encima del 91%, a la vez que la prueba de conductividad eléctrica, en ambos tiempos fue baja (Tabla 10). Según el análisis comparativo entre híbridos, la única prueba en que hubo diferencias significativas fue EA donde el Híbrido 1 tuvo un valor de 62%, en tanto que el Híbrido 2 registró 92%.

**Tabla 10.** Valores promedios obtenidos, en la Prueba de germinación estándar (PG), de frío (CT), de envejecimiento acelerado (EA), Viabilidad por Tetrazolio (Tz), Prueba de conductividad eléctrica a las 4 h (CE 4) y Prueba de conductividad eléctrica a las 20 h (CE 20), correspondientes al Híbrido 1 y al Híbrido 2, para la octava etapa del procesamiento o grado 4. Letras distintas muestran diferencias significativas para la prueba de calidad fisiológica considerada, entre híbridos (Tuckey  $p < 0,01$ ).

<b>Tratamiento</b>	<b>Variables analizada</b>	<b>Híbrido 1</b>	<b>Híbrido 2</b>
<b>G4</b>			
	PG (% plántulas normales)	93 a	91 a
	CT (% plántulas normales )	84 a	94 a
	EA (% plántulas normales)	62 b	92 a
	Tz (% semillas viables)	95 a	95 a
	CE 4h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	30 a	30 a
	CE 20h ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	37 a	37 a

## **DISCUSIÓN**

Se analizarán los resultados obtenidos durante el presente trabajo debido a la falta de información bibliográfica inherente al tema, que impide comparar resultados obtenidos.

Se presentó una característica particular respecto a los resultados de las distintas pruebas de calidad fisiológica utilizadas en el experimento entre los dos híbridos estudiados. En ellos se advierte que el Híbrido 1 presentó en la mayoría de las pruebas valores inferiores respecto al Híbrido 2 a partir del momento de la recepción del lote, en la mayoría de los análisis, y que esa relación se mantuvo a lo largo de las distintas etapas del procesamiento, reflejando que las características de calidad obtenidas durante la producción de las semillas definen su performance durante y luego del procesamiento.

Durante todos los análisis de las distintas etapas se destaca una diferencia importante a favor en los valores de Prueba de envejecimiento acelerado del Híbrido 2 respecto al otro. El Híbrido 1 manifiesta valores bajos de Prueba de envejecimiento acelerado y se mantiene en valores relativamente cercanos en cada una de las ocho etapas analizadas.

Se observó también, comparando el PG con la CE, a lo largo de los resultados analizados, que el grado 1 del Híbrido 1 presentaba una respuesta diferencial destacable en PG, lo que indicaría que el tamaño grande del fruto en particular influye en su respuesta. Se corrobora esa hipótesis en el análisis de prueba de conductividad eléctrica, donde se observa que el volumen inmerso en la celda es mayor que para otros grados obtenidos durante el procesamiento, lo que genera una pérdida de electrolitos mayor, manifestando elevados valores de prueba de conductividad eléctrica. En ensayos a campo, en los que se sembraron parcelas con semillas grandes y chicas por separado, se observó que el tamaño de los frutos no afecta la velocidad de germinación ni la emergencia. Sin embargo, las plantas provenientes de semillas más pequeñas registraron menor área foliar, altura y peso seco que las de semillas más grandes durante los días siguientes a la emergencia. Estas diferencias en el crecimiento de las plantas desaparecieron posteriormente, sin afectar el rendimiento, en ensayos (Aguirrezábal, 1996). En cambio, en siembras con semillas de diferentes tamaños mezcladas, la competencia entre plantas podría afectar el crecimiento de las plantas procedentes de semillas chicas cuando la densidad de siembra es alta. Por otra parte, si bien la germinación no fue afectada por el tamaño de los frutos, en condiciones de laboratorio, la velocidad de imbibición fue menor en frutos muy grandes, lo que puede ser debido a la mayor separación que estos poseen entre la semilla y el pericarpio del achenio. Esto podría ser desventajoso en condiciones de campo con escasa humedad del suelo o con contacto suelo-achenio restringido, ya que al tardar más tiempo en embeberse, la duración del período siembra-emergencia sería mayor en las semillas más grandes (Aguirrezábal, 1996).

En el caso de los resultados obtenidos en la Prueba de viabilidad por tetrazolio si bien se mencionó que es una prueba altamente dependiente de la habilidad de la persona que la analiza, se puede observar que el Híbrido 2 manifiesta mayores resultados q el Híbrido 1. Para la evaluación final del procesamiento (grado 4 en este caso) el tetrazolio muestra valores similares en ambos híbridos con el inicio del análisis (testigo).

En relación a lo observado en la prueba de EA, a través de notas tomadas durante el análisis, se hace referencia a que en los resultados del G2 del Híbrido 1 y G4 del Híbrido 1, hubo condensación de humedad en las minicámaras de ensayos y eso pudo haber afectado el resultado, provocando una disminución en el número de plantas normales, se confirma esto al ver que el grado 3 (G3) del Híbrido 1 manifiesta mejores resultados.

Comparando globalmente los resultados de las distintas pruebas, entre testigo (T) con el grado 4 (finalización) se observa que los valores de evaluación de la calidad fisiológica y vigor de la semilla, son muy similares en el ingreso a la planta y salida de la misma.

Se observó que el grado1 (G1) del Híbrido 2 presentó menores valores en las pruebas de evaluación de plántulas comparadas con el Tz. Esto último podría deberse a la interferencia en los resultados de germinación, por presencia de patógenos en la muestra. Es importante recordar que la que la técnica de tetrazolio no detecta la presencia de patógenos. Además, de hacer notar, que todo este material fue recibido de cosecha directo, sin ningún tratamiento de semilla previo. Luego en su salida comercial, en etapas posteriores al momento de realización de este trabajo, el material sale a la venta, con un tratamiento de semillas acorde a los requerimientos del mercado.

Las diferencias mínimas detectadas con respecto al PG podrían indicar además una diferencia de los híbridos en lo que respecta a la dureza del pericarpio. La aptitud al descascarado de los híbridos depende, entre otros factores, de las características estructurales del pericarpio tales como espesor, frecuencia de los radios parenquimáticos y nivel de lignificación de las células esclerenquimáticas, parámetros sujetos a variabilidad genética y ambiental. En general, los aquenios más pequeños (de híbridos comerciales), tienen menor porcentaje de cáscara y mayor vigor, sin embargo, no está comprobado que incida en la germinación (PG) (ASAGIR, 2002). En la mayoría de los trabajos investigados las diferencias no son atribuibles al pericarpio, sino al genotipo. No hay trabajos que avalen diferencias en germinación en cuanto a dureza de pericarpio. A través de los resultados obtenidos por el presente trabajo, se observó que no varió la calidad de germinación a través de las distintas etapas del procesamiento en el Híbrido 1, ya que se inició con un testigo en 91 % y se finalizó con un grado 4 con 93%. Por su parte, el Híbrido 2 si manifestó diferencia como salvedad en grado 1, aclarado previamente por temas inherentes al ensayo (que se le atribuyó a la posible presencia de hongos).

En términos generales se podría asumir que el procesamiento de la planta de Tecnoseeds SA, tuvo un bajo impacto sobre las distintas variables de calidad fisiológica para los dos híbridos analizados. Este comportamiento se podría atribuir a la alta resistencia al quebrado que muestran los aquenios de girasol cuyo pericarpio opera como una verdadera capa protectora de la semilla, siendo el bajo nivel de humedad de los mismos el factor que fundamentalmente condicionaría su ruptura cuando es sometido a fuerzas compresivas (Gupta and Das, 2000).

## **CONCLUSIÓN**

De acuerdo con estos resultados, en las condiciones de este ensayo, la secuencia operativa de la planta de procesamiento Tecnoseeds Venado Tuerto no incide negativamente sobre la calidad fisiológica de las semillas de girasol en los híbridos en estudio.

Por lo tanto, se descarta la hipótesis donde se plantea una incidencia negativa de la secuencia operativa del procesamiento de semillas sobre su calidad fisiológica.

Además, queda demostrado que se logra mantener buenos estándares de calidad durante todas las etapas analizadas, no siendo afectadas significativamente las variables que definen la calidad fisiológica de la semilla. Atribuible a la estructura de la semilla de girasol, que presenta alta rigidez en su pericarpio y un cámara de aire que opera amortiguando los impactos y que ayuda a soportar las caídas producidas durante las diversas etapas del procesamiento de semillas.

El presente trabajo confirma, que en la Planta Tecnoseeds Venado Tuerto, se utilizan adecuadas condiciones de manejo, procesamiento y acondicionamiento de semillas.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- \* AACREA, 1998. Evaluación de campaña 1997/98. Girasol zona Oeste. Servicio de informaciones de AACREA.
- \* AAPRESID. 2010. Asociación Argentina de Productores en Siembra directa. Disponible en: <http://www.aapresid.org.ar/index.asp> .
- \* Aguirrezábal, 1996, agosto. *Girasol: Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento*, 111 pp.
- \* Aguirrezábal, L. A. y Andrade F H. 1999. Calidad de productos agrícolas: Bases ecofisiológicas, genéticas y de manejo agronómico. 315 pp.
- \* Aguirrezábal, L.A.N. 2001. *Modificación: Girasol: Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento*, 97 pp.
- \* Aguirrezábal, L.A.N., Cardinali, F.J.; Orioli, G.A. y Teston, L.S. 1985. Influencia del tamaño de aquenio sobre el crecimiento y rendimiento de la planta de girasol (*Helianthus annuus* L.). Actas de la XI Cont. Internac. de Girasol. Mar del Plata, Argentina, 39-43. 43 pp.
- \* AOSA. 2000. Association of Official Seed Analysts. Tetrazolium Testing Handbook, 294 pp.
- \* ASAGIR. 2008. Historia: El girasol en la argentina. Disponible en: <http://www.asagir.org.ar/asagir2008/historia.asp>
- \* ASAGIR. 2002. Cuadernillo informativo N°3. Girasol /usos. 36 pp. Disponible en: [http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos\\_arcp/200884143429.pdf](http://www.asagir.org.ar/asagir2008/archivos_arcp/200884143429.pdf)
- \* BADIALI, O.J.J. 2016. Acondicionamiento de semillas.FCA U.N.C. 8 pp.
- \* Cardinali, F.J., Orioli, G.A. y Pereyra, V.R. 1985. Comportamiento de dos híbridos de girasol a bajas densidades de siembra. Rev. Fac. de Agron. (Bs. As.), 6: 131-139. (139 pp).
- \* Connor, D, J, y V.O Sadras, 1992. Physiology of yield expression in sunflower. Field Crops Res. 30. 333-389.
- \* Craviotto R. M. y Arango M.R. 2001. Calidad de semilla 2001. Odisea de la soja. Revista APOSGRAN, 2:10-13.
- \* Craviotto, R. M ; et al. 2010. Revista “análisis de semillas”.

- \* Departamento Noticias Institucionales. Centro de corredores y acarreadores de cereales, Buenos Aires, 2016. Disponible en: <http://www.centrodecorredores.com/index.php/girasol-en-argentina-y-el-mundo>
- \* Cortés, T. 2011. .Laboratorio Central de Referencia.
- \* Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.
- \* Diaz-Zorita et al. 2002. Manual práctico del cultivo de Girasol. Editorial Hemisferio Sur.
- \* Diaz-zorrita, M.; Duarte, G; Plante, E. 2003. El cultivo de Girasol. 10 pp. Disponible en: [http://d El Cultivo de Girasol ASAGIR, Asociación Argentina de Girasol, 2003](http://d.ElCultivo.deGirasol.ASAGIR,AsociaciónArgentina.deGirasol,2003)
- \* Emilio H. Satorre,E.; Benech ,R.; Slafer, G. Producción de granos, bases funcionales para su manejo. Julio 2012.
- \* Fior, M.; Craviotto, R.; Arango, M.; Gallo, C. Marzo 2012. Tecnología generada por el INTA de Oliveros recomendada en EEUU. Disponible en: <http://inta.gob.ar/noticias/tecnologia-generada-por-el-inta-de-oliveros-recomendada-en-eeuu>
- \* Giambastiani, G. 2013. FCA, U.N.C. PDF. Disponible en :<http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/ecofisiologia/establecimiento.pdf>
- \* Gonzales,S.; Valiengo, V. 2011. Prueba de la conductividad eléctrica en la evaluación fisiológica de la calidad de semillas en Zeyheria tuberculosa Bosque, vol. 32, núm. 2. 202 pp. Universidad Austral de Chile Valdivia, Chile Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=173119953010>
- \* Gupta, R.Ky Das S.K. 2000. Fracture resistance of sunflower seed and kernel to compressive loading. Journal of Food Engineering . 8 pp.
- \* Handbook of Vigour Test Methods. 1995. 3rd. edition. Edited by Hampton, J.G.; TeKrony, D.M. Chairperson and Deputy Chairperson, ISTA Vigour Test Committee. ISTA. Zurich, Switzerland. 117p.
- \* ISTA. 2016. International Rules for Seed Testing (ISTA), Vol. 2016. Full Issue I- 19-8284 pp.

- \* Laboratorio Consultar. 2010. Folleto técnico analizador de calidad de semillas según normas ISO 9001:2008 e ISO 17025. SAD-9000S. Disponible en: [http://laboratorioconsultar.com/equipos/SAD-9000-S/PDF/SAD-9000-S\\_es.pdf](http://laboratorioconsultar.com/equipos/SAD-9000-S/PDF/SAD-9000-S_es.pdf)
- \* Lange, A. 2012. Girasol en Siembra Directa: Dificultades y Soluciones. 130-135 pp.
- \* Manual de Evaluación de Plántulas en Análisis de Germinación. 1978. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Estación de Ensayos de Semillas. Carretera la Coruña. Km7.500- Madrid- España. 130p.
- \* Material didáctico en CD.2013. Especialización en producción de semillas. Escuela de posgrado. UNR.
- \* Montoya, J. 2016. Malezas en el cultivo de girasol: estrategias de manejo y control; Boletín de divulgación Técnica, EEA INTA Anguil.
- \* Morant A.; Salomón N. (2002) Apuntes de clase de la asignatura Procesamiento y análisis de semillas correspondiente a la tecnicatura en Manejo y Comercialización de Granos - UPSO-UNS. 160 pp
- \* Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. 2007. Disponible en: <http://www.fao.org/forestry/4995/es/>
- \* Pasda y Diepenbrock .1990, citados por Montoya J. C., 2016
- \* Pereyra, V.;Feoli, C.; Sarlangue, H. ASAGIR, Septiembre, 2001. Cuadernillo Técnico N° 1. GIRASOL EN SIEMBRA DIRECTA. Cuadernillo Técnico N° 1. Tomo 1 24 pp.
- \* Rosbaco, I.; Tuttoolomondo, G.; Salinas, A.; Bisaro, V.; Perigo, C. 2009. , Incidencia de la defoliación en la calidad fisiológica del aquenio de girasol (*Helianthus annuus* L.) Revista agromensajes N°27. ISSN: 16698584 .Facultad de Ciencias Agrarias. Disponible en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/27/4AM27.htm>
- \* Stepien, E. 2012. Cereales y oleaginosas. ISEA.
- \* Syngenta. 2014. Cultivos. Híbridos y soluciones para girasol. Disponible en: [http://www.syngentaenvivo.com.ar/2014/manual/files/girasol\\_eleccion\\_de\\_hibridos.htm](http://www.syngentaenvivo.com.ar/2014/manual/files/girasol_eleccion_de_hibridos.htm)
- \* Wyrzt, F. Algo sobre semilla y el secado de la misma. Disponible en: <http://www.los-seibos.com/SecadoSemilla.html>

## **ANEXO**

Tablas de resultados:

### **Pureza:**

		Inerte		dañado		Pepas
<b>Híbrido1</b>	% Sem.pura	% C. Ext	% Quebrado	% Daño	% Quebrado	
Testigo	98,9	1	0,1	5,4	0,2	0,7
Prelimpieza	99,6	0,3	0,1	4,1		
G3yG4	99,9	0,1		3,2	0,3	0,3
G1yG2	99	1		5,7	0,3	
G3	99,7	0,2	0,1	3,6	0,3	0,2
G4	97,9	1,3	0,8	5,4	0,3	3,8
G1	97,9	1,2	0,9	14,8	0,4	0,1
G2	99,4	0,4	0,2	4,9	0,6	
<b>Híbrido 2</b>						
Testigo	96,6	2,9	0,5	2,8	0,3	2
Prelimpieza	99,7	0,2	0,1	3,9	0,7	
G3yG4	99,3	0,3	0,4	4,5	0,7	
G1yG2	100			8,6	0,4	
G3	99,6	0,2	0,2	8	1,3	4
G4	96,6	1,4	2	10,1	2,9	26
G1	98,6	1,4		10,2	0,7	
G2	99,8	0,1	0,1	9,9	1,3	

<b>Híbrido1</b>	P. 100 sem	p1 sem p ingresar	resta	p1 sem p ingresar
Testigo	5,86	0,0586	0,81	<b>0,0505</b>
Prelimpieza	5,65	0,0565	0,27	<b>0,0538</b>
G3yG4	5,42	0,0542	0,49	<b>0,0493</b>
G1yG2	8,42	0,0842	1,42	<b>0,07</b>
G3	5,7	0,057	0,49	<b>0,0521</b>
G4	4,53	0,0453	0,68	<b>0,0385</b>
G1	9,43	0,0943	0,57	<b>0,0886</b>
G2	8,41	0,0841	1,29	<b>0,0712</b>

<b>Híbrido2</b>	P 100 sem	p1 sem p ingresar	resta	p1 sem p ingresar
Testigo	8,67	0,0867	0,81	<b>0,0786</b>
Prelimpieza	8,84	0,0884	0,27	<b>0,0857</b>
G3yG4	7,04	0,0704	0,49	<b>0,0655</b>
G1yG2	9,72	0,0972	1,42	<b>0,083</b>
G3	7,3	0,073	0,49	<b>0,0681</b>
G4	5,25	0,0525	0,68	<b>0,0457</b>
G1	10,14	0,1014	0,57	<b>0,0957</b>
G2	9,32	0,0932	1,29	<b>0,0803</b>

**Cuadro de Análisis de la Varianza por ANOVA para PG (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	731,44	15	48,76	4,00	0,0001
<b>Tratamiento</b>	312,94	7	44,71	3,67	0,0030
<b>Híbrido</b>	3,06	1	3,06	0,25	0,6185
<b>Tratamiento*Híbrido</b>	415,44	7	59,35	4,87	0,0003 **
<b>Error</b>	585,00	48	12,19		
<b>Total</b>	316,44	63			

\*\* Significativo al 1%

Según el ANOVA se aprecia la existencia de interacción significativa para híbrido x tratamiento. Por lo tanto se procedió a realizar el desglose de la interacción para ubicar si esa interacción corresponde a ambos híbridos o a uno en particular.

**Análisis de la interacción tratamiento/híbrido:**

<b>FV</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-value</b>
<b>Tratamientos/H1</b>	7	44,875	6,41071429	0,52589945	0,8105401
<b>Tratamientos/H2</b>	7	683,5	97,6428571	8,01007852	2,0176E-06 **
<b>Error</b>	48	585	12,19		

\*\* Significativo al 1%

Del análisis de interacción híbrido tratamiento se observa la existencia de diferencias significativas entre tratamientos dentro del híbrido 2. Esto significa que el PG promedio de al menos un tratamiento difiere del resto. Para interpretar este resultado se procedió a realizar un test de comparaciones múltiples mediante Tukey entre tratamientos para el híbrido 2:

**Híbrido 2:**

**Test: Tukey Alfa= 0,01 DMS= 7,60961**

Error: 7,1667 gl: 24

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
<b>Testigo</b>	95,50	4	1,34	A
<b>Prelimpieza</b>	93,00	4	1,34	A
<b>G1/G2</b>	93,00	4	1,34	A
<b>G3/G4</b>	93,00	4	1,34	A
<b>G1</b>	81,00	4	1,34	B
<b>G2</b>	93,50	4	1,34	A
<b>G3</b>	97,50	4	1,34	A
<b>G4</b>	90,50	4	1,34	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

**Cuadro de Análisis de la Varianza por ANOVA para CT (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	792,94	15	52,86	3,96	0,0001
<b>Tratamiento</b>	370,44	7	52,92	3,96	0,0017
<b>Híbrido</b>	126,56	1	126,5	69,48	0,0034
<b>Tratamiento*Híbrido</b>	295,94	7	42,28	3,17	0,0078 **
<b>Error</b>	641,00	48		13,35	
<b>Total</b>	1433,94	63			

\*\* Significativo al 1%

El resultado de la ANOVA revela que existe interacción entre híbrido y tratamiento, indicando que, para la variable analizada (Prueba de frío) los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido. Por lo tanto no se pueden analizar los factores híbrido y tratamiento por separado. En tanto, si es posible realizar el desglose de la interacción para determinar cómo se comportan los tratamientos dentro de cada híbrido.

**Análisis de la interacción tratamiento / híbrido:**

<b>FV</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-value</b>	
<b>Tratamientos/H1</b>	7	263,5	37,6428571	2,81968967	0,01523405	*
<b>Tratamientos/H2</b>	7	402,88	57,5535714	4,31112895	0,00090571	**
<b>Error</b>	48	641	13,35			

\*Significativo al 5% \*\* Significativo al 1%

Este análisis revela la existencia de diferencias significativas entre tratamientos tanto para el híbrido 1, como para el híbrido 2, a un nivel de significancia del 1 y 5%, respectivamente. Por lo tanto se realizó un test de comparaciones múltiples para poder evaluar cómo difieren los tratamientos dentro de cada híbrido.

**Comparaciones múltiples mediante test de Tukey entre tratamientos para los híbridos 1 y 2**

**Híbrido 1:**

**Test: Tukey Alfa= 0,05 DMS= 9,26941**

Error: 15,6667 gl: 24

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
<b>Testigo</b>	89,00	4	1,98	AB
<b>Prelimpieza</b>	94,00	4	1,98	A
<b>G1/G2</b>	90,50	4	1,98	AB
<b>G3/G4</b>	91,50	4	1,98	AB
<b>G1</b>	86,50	4	1,98	AB
<b>G2</b>	89,50	4	1,98	AB
<b>G3</b>	88,00	4	1,98	AB
<b>G4</b>	84,00	4	1,98	B

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

**Híbrido 2:**

**Test: Tukey Alfa= 0,01 DMS= 9,44541**

Error: 11,0417 gl: 24

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
<b>Testigo</b>	96,50	4	1,66	A
<b>Prelimpieza</b>	92,00	4	1,66	AB
<b>G1/G2</b>	91,50	4	1,66	AB
<b>G3/G4</b>	94,00	4	1,66	AB
<b>G1</b>	85,00	4	1,66	B
<b>G2</b>	88,00	4	1,66	AB
<b>G3</b>	95,00	4	1,66	A
<b>G4</b>	93,50	4	1,66	AB

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Con los resultados del test de Tukey se realizó la tabla de promedios y los gráficos correspondientes.

**Cuadro de Análisis de la Varianza por ANOVA para EA (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	5649,75	15	376,65	16,00	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	924,75	7	132,11	5,61	0,0001
<b>Híbrido</b>	3600,00	1	3600,00	152,92	<0,0001
<b>Tratamiento*Híbrido</b>	1125,00	7	160,71	6,83	<0,0001 **
<b>Error</b>	1130,00	48	23,54		
<b>Total</b>	6779,75	63			

\*\* Significativo al 1%

De acuerdo a la ANOVA se determina que existe interacción entre híbrido y tratamiento, indicando que los tratamientos se comportan de manera distinta dentro de cada híbrido en cuanto al EA. Por lo tanto se presenta el desglose de la interacción que permite evaluar cómo es ese comportamiento.

**Análisis de la interacción tratamiento / híbrido:**

<b>FV</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-value</b>	
<b>Tratamientos/H1</b>	7	1962,9	280,410714	11,9120949	1,0995E-08	**
<b>Tratamientos/H2</b>	7	86,875	12,4107143	0,52721811	0,8095427	
<b>Error</b>	48	1130	23,54			

\*\* Significativo al 1%

Dentro del híbrido 1 se observan diferencias significativas entre tratamientos, por lo que para el test de Prueba de envejecimiento acelerado al menos un tratamiento difiere del resto, para determinar el comportamiento de los distintos tratamientos para el híbrido 1 se realiza el test correspondiente.

**Comparaciones múltiples mediante Tukey entre tratamientos para el híbrido 1:**

**Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=17,87438**

Error: 39,5417 gl: 24

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
<b>Testigo</b>	75,50	4	3,14	AB
<b>Prelimpieza</b>	81,00	4	3,14	A
<b>G1/G2</b>	79,50	4	3,14	AB
<b>G3/G4</b>	84,00	4	3,14	A
<b>G1</b>	84,50	4	3,14	A
<b>G2</b>	67,00	4	3,14	AB
<b>G3</b>	83,00	4	3,14	A
<b>G4</b>	62,00	4	3,14	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

**Cuadro de Análisis de la Varianza por ANOVA para Prueba de Tetrazolio (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	1137,00	15	75,80	3,71	0,0003
<b>Tratamiento</b>	261,00	7	37,29	1,82	0,1045
<b>Híbrido</b>	552,25	1	552,25	26,99	<0,0001
<b>Tratamiento*Híbrido</b>	323,75	7	46,25	2,26	0,0451 *
<b>Error</b>	982,00	48	20,46		
<b>Total</b>	2119,00	63			

\* Significativo al 5%

**Análisis de la interacción tratamiento / híbrido**

<b>FV</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-value</b>
<b>Tratamientos/H1</b>	7	314,88	44,9821429	2,19854071	0,05086727*
<b>Tratamientos/H2</b>	7	269,88	38,5535714	1,88433878	0,0929514
<b>Error</b>	48	982	20,46		

\* Significativo al 5%

**Comparaciones múltiples mediante Duncan entre tratamientos para el híbrido 1**

**Test: Duncan Alfa= 0,05**

Error: 26,5417 gl: 24

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	
<b>Testigo</b>	88,50	4	2,58	AB
<b>Prelimpieza</b>	83,00	4	2,58	B
<b>G1/G2</b>	87,00	4	2,58	AB
<b>G3/G4</b>	88,00	4	2,58	AB
<b>G1</b>	89,00	4	2,58	AB
<b>G2</b>	90,00	4	2,58	AB
<b>G3</b>	91,50	4	2,58	AB
<b>G4</b>	94,50	4	2,58	A

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

**Cuadro de Análisis de la Varianza por ANOVA CE 4hs (SC tipo III)**

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	121218,57	15	8081,24	35,71	<0,0001
<b>Híbrido</b>	24297,02	1	24297,02	107,36	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	75463,16	7	10780,45	47,63	<0,0001
<b>Híbrido*Tratamiento</b>	21458,39	7	3065,48	13,54	<0,0001**
<b>Error</b>	358488,93	1584	226,32		
<b>Total</b>	479707,50	1599			

\*\* Significativo al 1%